

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE NATURALI

Corso di laurea magistrale in SCIENZE PER L'AMBIENTE

**SPECIAZIONE DEL CROMO NEI SEDIMENTI DI UNA
LAGUNA COSTIERA**

Tesi di laurea in Prevenzione e controllo dell'impatto
ambientale

Relatore

Dott. ssa **Roberta Guerra**

Correlatore

Dott. **Denis Zannoni**

Presentata da

Silvestre Marcato

III Sessione
Anno Accademico 2010 – 2011

Indice

OBIETTIVI.....	1
1 INTRODUZIONE.....	3
1.1 Le lagune costiere	3
1.2 La contaminazione dei sedimenti.....	9
1.3 La mobilità dei metalli	17
1.4 Proprietà del cromo e destino nell'ambiente.....	21
1.4.1 Le proprietà del cromo	21
1.5 Origine del cromo e distribuzione nell'ambiente.....	23
1.5.1 La speciazione del cromo.....	27
1.5.2 Le tecniche analitiche per la determinazione del cromo esavalente	33
1.6 La tossicità del cromo	35
2 MATERIALI E METODI.....	42
2.1 La zona di studio	42
2.2 Il campionamento.....	44
2.3 Analisi di laboratorio	46
2.3.1 Determinazione di pH ed Eh.....	46
2.3.2 Mineralizzazione dei campioni	47
2.3.3 Analisi strumentale	49
2.3.4 Determinazione del cromo esavalente	51
3 RISULTATI E DISCUSSIONE.....	57
3.1 Analisi del cromo nei materiali certificati.....	57
3.2 Analisi del cromo nei sedimenti.....	59
3.3 Origine del cromo nei sedimenti	63
3.3.1 Evoluzione geologica delle pialasse	63
3.3.2 Provenienza dei sedimenti	67
3.4 Analisi del cromo esavalente in campioni ambientali	71
3.5 Analisi del cromo esavalente nei sedimenti	73
3.6 Valutazione del potenziale rischio ecologico del cromo	81
CONCLUSIONI.....	85
BIBLIOGRAFIA	87
Allegati.....	97

OBIETTIVI

Il presente lavoro di tesi affronta la problematica relativa alla speciazione del cromo, ed in particolare la sua forma esavalente che risulta particolarmente tossica per gli organismi acquatici.

La zona di indagine è una laguna costiera localizzata vicino alla costa ravennate, la Pialassa Baiona.

Il primo obiettivo del lavoro ha riguardato la messa a punto di una metodica standard della United States Environmental Protection Agency (US EPA) 'Method 3060A - Alkaline digestion for hexavalent chromium', per l'estrazione selettiva del cromo esavalente nei campioni di sedimento e suolo. A tale scopo sono state effettuate una serie di prove preliminari in replicato con matrici ambientali di diverse tipologie e con diversi livelli di contaminazione di cromo. Le prove sono state condotte su aliquote di campioni tal quali e su aliquote dove è stata aggiunta una quantità nota di cromo esavalente (spiked-sediment) al fine di calcolare la precisione e l'accuratezza del metodo.

Il secondo obiettivo del lavoro ha riguardato la determinazione del cromo esavalente e del contenuto di cromo definito *environmentally available* secondo la US EPA in campioni di sedimento prelevati dall'area di indagine in accordo ad un disegno di campionamento pianificato per ricerche già svolte riguardanti la componente bentonica.

A tale scopo, i campioni prelevati e opportunamente trattati secondo le metodiche standard US EPA, sono stati analizzati per il contenuto di cromo *environmentally available*, previa dissoluzione a caldo con acidi forti concentrati ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$). Gli stessi campioni sono stati anche analizzati per il contenuto di cromo esavalente mediante estrazione alcalina e successiva determinazione spettrofotometrica.

Il terzo obiettivo del lavoro ha riguardato il confronto dei livelli di concentrazione del contenuto di cromo *environmentally available* nei sedimenti della Pialassa Baiona e le linee guida internazionali per la valutazione della qualità dei sedimenti in relazione al potenziale rischio per biota acquatico. Un'ulteriore valutazione del potenziale rischio ecologico è stata effettuata confrontando il livelli di concentrazione di cromo e della sua forma esavalente presenti nei sedimenti, e le concentrazioni di effetto nei confronti di organismi acquatici ritrovate nella più recente letteratura scientifica.

1 INTRODUZIONE

1.1 *Le lagune costiere*

Le lagune sono ambienti in perenne evoluzione; sono composte da un bacino costiero dominato dalle maree, separato dal mare da un cordone litorale, ma comunicante con esso attraverso bocche lagunari. Fondamentale nell'esistenza di questi ambienti è la deposizione di una grande quantità di sedimenti che favorisce la creazione di cordoni litoranei e la presenza di maree, che differenzia le lagune dagli stagni costieri (Bramati, 1985).

Le complesse caratteristiche morfologiche e le ampie variazioni di salinità e temperatura condizionano la vita degli organismi animali e vegetali di quest'ambiente.

Il manuale tecnico di interpretazione degli habitat prioritari dell'allegato I della Direttiva 92/43/CEE (febbraio 1994) descrive le lagune costiere come “ distese di acque salate costiere, poco profonde, di salinità e di volume d'acqua variabile, separate dal mare da un cordone di sabbia e ghiaia o più raramente da una barriera rocciosa. La salinità può variare, andando dall'acqua salmastra all'acqua ipersalina secondo la piovosità, l'evaporazione e gli apporti di acqua marina fresca durante mareggiate e le invasioni marine invernali. Possono ospitare una vegetazione sommersa o esserne completamente prive”.

Gli apporti di acque dolci, la circolazione interna al bacino e gli scambi con il mare determinano il grado di vivificazione/sconfinamento dell'ecosistema (Guelorget e Perthuisot, 1983).

Le lagune costituiscono habitat in cui si realizzano equilibri ecologici che possono bruscamente variare in seguito a interventi di natura antropica; le acque lagunari presentano una salinità inferiore di qualche punto per mille a quella del mare antistante, influenzate generalmente da acque fluviali, quindi andando verso l'interno si assiste ad una graduale diminuzione della salinità (Bramati, 1988).

Le lagune costiere sono ambienti di confine fra ecosistemi marini e continentali, caratterizzate dalla molteplicità di interfacce e dalla complessità ecologica; le comunità biologiche presenti possiedono caratteristiche peculiari differenti dai biomi marini e continentali (Sarno et al., 1993).

Queste zone presentano un'elevata quantità di energia luminosa ma soprattutto di energia chimica, intrappolata nei sedimenti sotto forma di sostanza organica che per combustione chimica produce calore da dissipare; si trovano anche composti inorganici ridotti come gli AVS, composti solfuri volatili, dall'elevato contenuto energetico ma anche molto tossici, che in seguito ad improvvisi abbassamenti di pH, possono liberarsi nell'acqua sovrastante. I processi di degradazione

originano una diffusa anossia nei sedimenti, infatti queste attività, come la solfato riduzione (degradazione anaerobica), producono solfuri, che possono creare fenomeni di tossicità acuta.

L'aspetto fondamentale di una laguna è il ricambio idrico garantito dal mare, che penetra ritmicamente in un bacino poco profondo, permettendo l'ossigenazione, il trasporto di nutrienti e dei prodotti di scarto. I venti hanno un'influenza sulla circolazione delle acque all'interno del bacino lagunare, sommandosi o contrastando l'effetto delle maree, quindi nell'ecosistema lagunare il vento e le maree garantiscono lo scambio di energia.

In generale la dinamica delle acque genera fenomeni di erosione e sedimentazione che rimodellano l'ambiente. L'ossigeno disciolto presenta notevoli fluttuazioni, che vanno da condizioni di sovrassaturazione a condizioni di ipossia e anossia, il tutto dipende dalla attività fotosintetica delle alghe e dalla attività batterica, dove nel primo caso si hanno grandi concentrazioni di ossigeno e nel secondo basse concentrazioni dovute alla sottrazione di ossigeno nei processi di demolizione di sostanza organica. In una laguna c'è una forte immissione di nutrienti sotto forma di composti dell'azoto e del fosforo, tramite il mare, i fiumi e gli scarichi urbani; questi vengono trattenuti facilmente per motivi di sedimentazione e per la presenza di animali filtratori, quindi le lagune costituiscono un deposito di questi nutrienti e elementi indispensabili per la vita, che vi rimangono all'interno a lungo anche per l'alternarsi delle maree (Brambati, 1988).

Le lagune costiere quindi sono ambienti caratterizzati da rapidi processi evolutivi e dinamici e per questo hanno una breve persistenza temporale, per loro natura costituiscono delle realtà effimere, il cui perdurare nel tempo è connesso all'intervento conservativo da parte dell'uomo. La vita di una laguna si misura in tempi storici, dove si alternano processi di sedimentazione che portano ad una rapida colmata del bacino (Brambati, 1988).

Nei secoli si è assistito ad una drammatica riduzione dell'estensione di queste aree principalmente a causa degli interventi di bonifica, ma anche per fattori naturali. Gli ambienti lagunari rappresentano un patrimonio naturale di grandissimo pregio, come sottolineato dalla Convenzione internazionale di Ramsar (UNESCO, 1971) e dalle direttive Europee (UE, 1992). La riduzione e la frammentazione degli habitat salmastri hanno messo a rischio la sopravvivenza di numerose popolazioni vegetali ed animali, facendo emergere con forza l'esigenza di una loro gestione conservativa (Abbiati e Basset, 2001).

La morfologia articolata di questi aree rende complessa la salvaguardia degli ambienti salmastri (McComb, 1995), infatti la qualità dell'ambiente dipende dal complesso equilibrio fra componenti chimico-fisiche e processi biologici.

La diversità e la ricchezza dei popolamenti in un ambiente lagunare dipendono dall'interazione di fattori ambientali, quali fluttuazioni di salinità e temperatura, ossigeno disciolto,

vivificazione e idrodinamismo, con processi più strettamente ecologici, che determinano il livello trofico dei bacini e l'eventuale verificarsi di fenomeni distrofici (Lardicci et al., 1983).

Nella gestione integrata delle coste questi habitat ricoprono una rilevanza particolare (Abbiati e Basset, 2001). Gli ecosistemi lagunari presentano delle caratteristiche ambientali peculiari che li rendono delle entità uniche (Cognetti et al., 1998); l'unicità riguarda sia gli aspetti chimico-fisici che i popolamenti presenti, infatti troviamo specie esclusive che caratterizzano il popolamento e presentano adattamenti eco-fisiologici specifici (Cognetti e Maltagliati, 2000).

Gli interventi dell'uomo possono creare forti squilibri sull'equilibrio dell'ecosistema laguna, come l'accelerazione sui processi di erosione e il degrado della qualità delle acque, con conseguenze su tutti i processi biotici presenti in laguna (Brambati, 1985).

A livello mondiale, i sistemi lagunari si trovano lungo le coste basse di tutti i continenti ed occupano il 13% dello sviluppo costiero mondiale (Knoppers, 1994) e con gli altri ecosistemi costieri costituiscono una larga parte della ricchezza ecologica della biosfera (Costanza et al., 1997). Le lagune costiere forniscono servizi essenziali agli ecosistemi, come protezione del litorale, miglioramento della qualità delle acque, risorsa biologica, habitat e cibo per la fauna selvatica e aree ricreative per l'uomo (Levin et al., 2001). Grazie alla loro posizione tra il continente il mare e la loro bassa profondità, le lagune sono fra gli ecosistemi più produttivi (in media $300 \text{ g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$, Knoppers, 1994) ma sono anche molto sensibili alle variazioni climatiche e alle attività umane. Le lagune sono presenti in un tutte le coste del mondo, ma non sono ugualmente diffuse sulle differenti aree costiere.

Le aree salmastre, oltre al loro grande valore naturalistico, costituiscono un ambiente eccelso per gli insediamenti antropici e per lo sviluppo di attività produttive; sin dalla antichità si è sviluppato lo sfruttamento delle risorse ittiche delle valli e delle lagune che ha promosso le prime attività di acquicoltura. Le lagune sono da sempre fonte di sostentamento per le popolazioni locali e di pari passo con lo sviluppo economico del ventesimo secolo, si è assistito allo sviluppo di molteplici attività economiche, spesso in contrasto fra loro per l'uso delle risorse. Il folle sfruttamento delle risorse e l'utilizzo fatto di questi habitat per lo smaltimento di rifiuti, hanno portato al degrado di vaste aree dall'enorme interesse scientifico e economico ed alla rottura dei delicati equilibri ecologici (Cognetti et al., 1998; Salomons et al., 1999).

Le lagune costiere del Mediterraneo (figura 1.1) sono tra gli ecosistemi più produttivi con una grande biodiversità, ma sono anche intrinsecamente fragili e molto sensibili alle forzature esterne (Loubersac L. et al., 2007).



Figura 1.1 Lagune costiere presenti in Europa (<http://eunis.eea.europa.eu/habitats/10007/geo>)

L'elevata instabilità delle condizioni ambientali rende la vita possibile solo a poche specie che sono però presenti con un elevato numero di individui. Solitamente tra la fine dell'autunno e l'inizio della primavera, le correnti di marea, attraverso le quali la laguna "respira", introducono in laguna un grande numero di larve di numerose specie, provenienti dalle antistanti acque marine. Tale fenomeno, tuttavia, non porta ad un aumento del numero di specie e molte delle larve introdotte muoiono prima di completare il proprio ciclo biologico. La maggior parte dei pesci sono ospiti temporanei che si riproducono in mare ed entrano in laguna solo durante lo stadio larvale, utilizzandola cioè come "nursery", ricca di nutrimento e con scarsi predatori. Il ritorno al mare avviene, tranne che per le anguille che si fermano qualche anno, tra la fine dell'estate e l'inizio dell'inverno.

Le lagune costiere dell'area mediterranea possono considerarsi zone ad elevata produttività, esattamente come gli estuari, le piattaforme continentali e le zone interessate da acque di risalita. Gli elevati flussi di energia che investono l'ecosistema lagunare sono, oltre alla radiazione solare utilizzabile per la fotosintesi, varie forme di energia meccanica ausiliaria fornite dal vento e dalle maree. Gli scambi di acqua col mare e il flusso di acque dolci "continentali" garantiscono un continuo apporto di nutrienti che vengono utilizzati dalle alghe e dalle piante per la produzione primaria e successivamente vengono rinnovati dalla mineralizzazione batterica che avviene nei sedimenti del fondo. L'elevata produzione primaria sostiene un'altrettanta elevata produzione

secondaria a carico soprattutto della fauna bentonica composta da bivalvi, gasteropodi, policheti, crostacei e larve di insetti. Da questi poi traggono alimento i pesci. Gli organismi bentonici ed i pesci fungono da nutrimento per una ricchissima e peculiare avifauna che comprende ad esempio tuffetti, svassi, garzette, aironi, germani, morette, folaghe, sterne, avocette e cavalieri d'Italia. Tutto questo rende gli ambienti lagunari estremamente importanti ed interessanti dal punto di vista ecologico (Cerrano C. et al., 2004).

Queste aree nell'arco meridionale europeo sono interessate da forti pressioni antropiche che pongono al centro dell'attenzione la questione di sviluppo sostenibile e conservazione dell'ambiente. Gli impatti legati all'uomo, sono dovuti soprattutto all'aumento stagionale o permanente delle densità di popolazione, all'espansione della attività turistica, dell'acquacoltura e dell'agricoltura. Uno degli obiettivi più urgenti è quello di valutare l'influenza umana sulla struttura e sul funzionamento dei compartimenti biotici; particolare interesse rivolto alla composizione e alla struttura delle comunità macrofite, note per essere un buon indicatore dei cambiamenti ambientali (Bachelet et al. 2000, Kunii e Minamoto 2000). Inoltre numerosi studi hanno evidenziato l'importanza che le macrofite hanno per gli ecosistemi lagunari dall'effetto sugli assemblaggi epifaunali (Parker et al. 2001), sui processi microbici nei sedimenti (Hansen et al. 2000), o sui flussi di ossigeno, di nutrienti e solfuri (Viaroli et al. 1996, Plante-Cuny et al. 1998, Dhargalkar & Shaikh 2000).

Negli ultimi anni al centro della gestione delle lagune costiere è stato posto la problematica di conservazione e valorizzazione delle risorse naturali e biologiche, esclusive di questi ambienti. Queste esigenze hanno portato alla definizione della Convenzione di Ramsar nel 1971 a livello internazionale, mentre nel 2000 alla definizione di criteri specifici per la valutazione della qualità ambientale delle acque di transizione, nell'ambito della *Water Framework Directive* dell'Unione Europea (UE, 2000) che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acqua.

La Direttiva quadro in materia di tutela delle acque e dei sedimenti 2000/60/CE prevede la riduzione e la graduale eliminazione dell'inquinamento provocato dallo scarico, emissioni e rilascio di sostanze pericolose definite "prioritarie", istituendo, a livello europeo, un quadro di azione per raggiungere entro il 2015 un buono stato sia chimico che ecologico delle acque superficiali. Questa direttiva definisce anche gli standard di qualità ambientale (SQA) necessari per il raggiungimento nei corpi idrici di un buono stato chimico. Gli SQA indicano la concentrazione di un particolare inquinante o gruppo di inquinanti nelle acque, nei sedimenti e nel biota che non deve essere superata al fine di tutelare la salute umana e l'ambiente. A livello italiano, il DM 367/03 ha individuato standard di qualità per 160 sostanze pericolose nelle acque superficiali interne, di

transizione e marino-costiere e standard di qualità per 27 sostanze nei sedimenti di acque marino-costiere, lagunari e di stagni costieri.

1.2 La contaminazione dei sedimenti

Un sedimento può essere definito come “materiale solido accumulato sulla superficie della litosfera per opera di fattori che agiscono nell’atmosfera, nella idrosfera e nella biosfera”, è pertanto il prodotto di un ciclo sedimentario, definito come “una serie di eventi e trasformazioni che i materiali sedimentari subiscono ripetutamente nel tempo” (Angelucci, 1989):

- Degradazione meteorica
- Erosione, trasporto, sedimentazione
- Seppellimento
- Diagenesi
- Degradazione

I sedimenti costituiscono un ambiente chimico-fisico nel quale alcuni organismi possono vivere, ma dove possono essere presenti contaminanti in concentrazioni superiori a quelle del livello naturale (background). Questi contaminanti possono essere legati fisicamente e chimicamente, al punto da non essere più biodisponibili o facilmente rimobilizzabili, con conseguenze sulla vita nell’ecosistema (*U.S. COE e EPA, 1984*).

I principali costituenti dei sedimenti sono :

- Granuli o clasti
- Frammenti vulcanici o piroclastici
- Precipitati chimici
- Spoglie organogene resistenti
- Materiali organici
- Materiali meteorici o extraterrestri

I sedimenti sono definiti come un complesso di minerali a grana fine-media-grossa e di particelle organiche, che sono depositati sul fondo di laghi, fiumi, baie, estuari e oceani; questi sono in grado di assorbire ciò che è disperso nel corpo idrico, soprattutto quando si presentano condizioni idrodinamiche ottimali, come basso ricambio idrico e i sedimenti sono a grana fine.

Sono una componente importante dell’ecosistema acquatico perché forniscono nicchie per gli organismi bentonici acquatici che rientrano nella rete trofica (Burton, 1992a).

I processi chimico fisici e biologici che avvengono all'interno di questo sistema, possono modificare la biodisponibilità delle sostanze tossiche presenti, come metalli o composti organici.

Nel sedimento inquadrano come area attiva dell'ecosistema lo strato superficiale, di pochi centimetri, mentre gli strati più profondi in genere sono indisturbati e costituiscono una memoria storica sull'attività dell'ecosistema, consentendo valutazioni sull'eventuale inquinamento dell'area di interesse. Attività di dragaggio, forti tempeste ed eventi idrogeologici possono reintrodurre strati non superficiali nella porzione attiva del sedimento (Burton, 1992b).

I sedimenti rappresentano un punto di raccolta finale sia dei materiali provenienti da rocce nelle terre emerse, sia di materiali rilasciati nell'ambiente dalle attività umane.

I sedimenti contaminati sono un fenomeno tipico del 20° secolo. I contaminanti originatisi da fonti industriali locali o remote, residenziali e agricole sono dispersi nei fiumi e trasportati nelle zone costiere insieme al limo e la sabbia dei processi naturali. Molti contaminanti, in particolare molti metalli pesanti e composti organici ad alto peso molecolare, sono adsorbiti dal particolato a granulometria fine. I processi chimico-fisici di miscelazione delle acque dolci con quelle salate, che avvengono nelle zone costiere, sono la causa della flocculazione e della precipitazione di particolato carico di contaminanti. In passato questi sedimenti venivano stoccati in luoghi economicamente convenienti. Oggi sono meglio conosciuti i rischi per la salute umana e l'ambiente collegati alla presenza di certi contaminanti nei sedimenti. I diversi stati hanno quindi legiferato ponendo delle limitazioni ai metodi per il loro smaltimento, ponendo delle restrizioni al dragaggio e allo stoccaggio che hanno comportato un considerevole aumento dei costi per progetti di smaltimento dei sedimenti. Il problema dei sedimenti contaminati è prevalentemente associato con il dragaggio e lo smaltimento per la manutenzione dei porti o il miglioramento delle attività, ma esistono casi in cui il sedimento presenta un grado di contaminazione tale da richiederne la rimozione unicamente per cause ambientali (Fondazione BattelleItalia, 1996)

La valutazione dello stato di qualità dei sedimenti è resa difficile dalla loro natura complessa dove si ritrovano microambienti in cui variano le condizioni chimico, fisiche e biologiche che influenzano la tossicità e la biodisponibilità degli inquinanti. Il Decreto Legislativo 152/06 ha sostituito il DM 367/03, recependo la Direttiva 2000/69/CE; sono stati individuati nuovi standard di qualità elaborati tenendo conto degli effetti sulla salute umana e di quelli eco tossicologici, attraverso l'uso di saggi biologici acuti e cronici e attraverso l'applicazione di fattori di sicurezza. Il D.Lgs. 152/06 è stato successivamente modificato ed integrato dal Decreto Legislativo n.219 del 20/12/2010 che stabilisce delle specifiche tecniche per l'analisi chimica ed il monitoraggio delle acque e definisce i nuovi standard di qualità ambientale (SQA) per le sostanze definite prioritarie e per altri inquinanti come previsto all'articolo 16 della direttiva 2000/60/Ce (Tabella 1.1).

Nel caso specifico dei sedimenti, sono stati individuati standard di qualità specifici (SQG) per corpi idrici marino costieri e di transizione, che possono sostituire gli standard di qualità relativi alla colonna.

I principali metodi utilizzati per la definizione di standar di qualità dei sedimenti (SQG) si basano su approcci teorici , empirici e combinati (Figura 1.2).

a)

Denominazione	Approccio	SQG	Descrizione
Sediment Background Approach	Livelli di fondo naturale	SBA	Le caratteristiche chimiche dei sedimenti sono confrontate con quelle dei campioni di riferimento. Se i campioni di sedimento non presentano concentrazioni superiori a quelle di riferimento non sono classificati come pericolosi (MacDonald, 1994).
Spiked Sediment Toxicity Test	Test di tossicità su sedimenti drogati	SSTT	Si stabiliscono relazioni dose-risposta effettuando test ecotossicologici su sedimenti contaminati con quantità note di specifiche sostanze chimiche o di loro miscele (Lamberson e Shwartz, 1992)
Porewater Effect Concentration	Concentrazione nell'acqua interstiziale	PEC	La concentrazione di contaminanti nell'acqua interstiziale viene confrontata con le tabelle delle concentrazioni di effetto dell'acqua interstiziale ricavate dagli standard di qualità per le acque (Ankley e Thomas, 1992; Carr e Scott 1997)
Equilibrium Partitioning	Equilibrio di ripartizione	EqP	Si definisce un valore di qualità per ogni contaminante calcolando la concentrazione di quella sostanza nel sedimento che corrisponde ad una concentrazione nell'acqua interstiziale equivalente a quelle fissate per quel determinato contaminante in base ai criteri di qualità dell'acqua (Di Toro et al. 1991)
Acid Volatile Sulfides	Contenuto di solfuri volatili	AVS	Vengono confrontati i solfuri volatili in acido cloridrico (AVS) e i metalli estratti simultaneamente (SEM). Se la concentrazione molare dei SEM è inferiore a quella degli AVS il sedimento viene considerato non tossico per gli organismi bentonici (Hansen et al. 1996)
Tissue Residue Approach	Livello residuo nei tessuti	TRA	Si definiscono le concentrazioni di singole sostanze e/o miscele che si ritiene non diano luogo a concentrazioni inaccettabili nei tessuti degli organismi acquatici, basandosi su concentrazioni residue nei tessuti di riferimento e fattori di bioaccumulo sedimento-biota (Cook et al., 1992)

b)

Denominazione	Approccio	SQG	Descrizione
Screening Level Concentration (SLC)	Concentrazioni del livello di screening	LEL/SEL MET/TET	Il SLC è una stima della più alta concentrazione di un contaminante che può essere tollerata da una determinata percentuale di una specie bentonica. Viene valutata solamente la presenza o assenza di una specie. (Neff et al., 1986; Persaud et al., 1993)
Apparent Effects Threshold	Soglia degli effetti apparenti	AET	L'AET è la concentrazione di contaminanti in un sedimento al di sopra della quale ci si aspetta sempre che si verifichino degli effetti biologici significativi dal punto di vista statistico in base ai confronti con le caratteristiche chimiche e con vari indicatori di effetti biologici. (Cubbage et al., 1997)
Logistics Regression Method	Modello di regressione logistica	LRM	L'unione dei dati chimici e dei relativi effetti biologici per una determinata sostanza vengono analizzati statisticamente creando delle curve di regressione che possono definire la probabilità di ottenere una risposta tossica da un determinato campione (Field et al., 1999)

c)

Denominazione	Approccio	SQG	Descrizione
Effect Range Approach	Range di effetto	ERL/ERM	I valori dell' intervallo di effetto inferiore (ERL) e dell'intervallo d'effetto medio (ERM) vengono calcolati aritmeticamente da un database creato dall'unione dei dati sugli effetti chimici e biologici, includendo i dati di prove in campo e in laboratorio e i modelli dell'EqP (Long e Morgan, 1991; NOAA, 1999)
Effects Level Approach	Livelli di effetto	TEL/PEL	Modello simile a quello NOAA tranne che per inserimento dei dati di "no effetto" e l'uso di una media geometrica e non della media aritmetica per definire i livelli d'effetto (MacDonald, 1994)
Consensus Method	Basato sul consenso	TEC/PEC	I valori disponibili delle SQG che incontrano gli intenti descrittivi e altri criteri vengono mediati in modo geometrico, creando dei valori composti di SQG (MacDonald et al., 2000)

Figura 1.2 Metodi per la definizione di standar di qualità dei sedimenti (SQG); a) approcci teorici; b) approcci empirici; c) approcci combinati (<http://www.uniroma2.it/didattica/DIN/deposito/Sedimenti.pdf>)

A livello internazionale sono state elaborate delle linee guida che impiegano approcci combinati, fra le più utilizzate si trovano quelle sviluppate dal National Oceanic and Atmosphere Administration (NOAA) (Long & Morgan, 1990), che classificano il campione di sedimento in “tossico” e “non tossico” in base alla concentrazione dei metalli in traccia e classificano anche l’eventuale tossicità. La NOAA ha elaborato un approccio dei range di effetto dove sono stati definiti due livelli di riferimento ERL (Effect Range Low) e ERM (Effect Range Medium), che indicano rispettivamente la concentrazione al di sotto della quale raramente si presentano effetti avversi e la concentrazione al di sopra della quale frequentemente si verificano effetti negativi sugli organismi acquatici (Long et al., 1995). I valori di ERL e ERM sono calcolati aritmeticamente da un database dove sono presenti dati sugli effetti chimici e biologici dei singoli elementi (Tabella 1.1). Un altro modello è stato sviluppato dal Florida Department of Environmental Protection (MacDonald, 1994), definito “approccio dei livelli di effetto” (approccio Florida) e si basa sull’estensione del database definito dal NOAA per sviluppare gli SQG per i sedimenti marini. Questo approccio ha definito due livelli di effetto, il TEL, il livello soglia di effetto, e il PEL, livello di probabile effetto sugli organismi acquatici (Tabella 1.1).

Tabella 1.1 Standar di qualità dei sedimenti per i metalli

Elemento	SQA-MA	NOAA		FLORIDA	
	mg/kg	ERL	ERM	TEL	PEL
As	12	8,2	70	7	41
Cd	0,3	1,2	9,6	0,68	4
Zn	-	150	410	124	271
Cu	-	34	270	18	108
Hg	0,3	0,15	0,71	0,13	0,7
Ni	30	20,9	51,6	16	43
Pb	30	46,7	218	30	112
Cr totale	50	81	370	52	160
Cr (VI)	2	-	-	-	-

I contaminanti più pericolosi sono quelli persistenti, resistenti cioè ai processi di degradazione naturale e i cui effetti diminuiscono scarsamente con il tempo e la diluizione, bioaccumulabili, che si accumulano dunque nei tessuti e negli organi, e tossici, in quanto sostanze che possono comportare rischi per la salute dell'organismo con cui entrano in contatto, fino a provocarne la morte (Barbuti et al., 2003)

Negli ultimi anni l'attenzione ai problemi ambientali si è concentrata sui composti chimici tossici, persistenti, con bioaccumulo (PBT, Persistent Bioaccumulative and Toxic), considerati i più dannosi per la salute umana e per l'ambiente. I composti chimici inorganici PBT, come arsenico, cadmio, cromo, mercurio, piombo e nichel, sono generalmente prodotti da industrie minerarie o attività industriali.

Quindi l'analisi dei livelli di contaminazione di un sedimento fornisce importanti informazioni sul livello di contaminazione dell'ambiente a cui è direttamente associato; in un ecosistema acquatico la contaminazione del sedimento riveste un'elevata importanza nel ciclo degli inquinanti.

I contaminanti seguono tutti i normali processi sedimentari dei composti naturali: trasporto, deposizione e rimobilizzazione. Si può quindi, in un certo senso, considerare la contaminazione dei sedimenti come un aspetto particolare dei processi sedimentari (Forstner, 1989). I contaminanti in base alla loro composizione e quantità possono alterare l'ambiente sedimentario; si considerano tali specie ioniche, composti organici, elementi, ecc.

La classe più vasta è quella dei microinquinanti organici, come PCB e IPA, poi si considerano i metalli e specie ioniche quali nitrati, nitriti, fosfati, cloruri, solfati ecc.

Gli elementi, infine sono divisi in tre classi: maggiori, minori e in traccia, quest'ultimi realmente rilevanti dal punto di vista tossicologico ed ambientale. Negli elementi in traccia, quelli

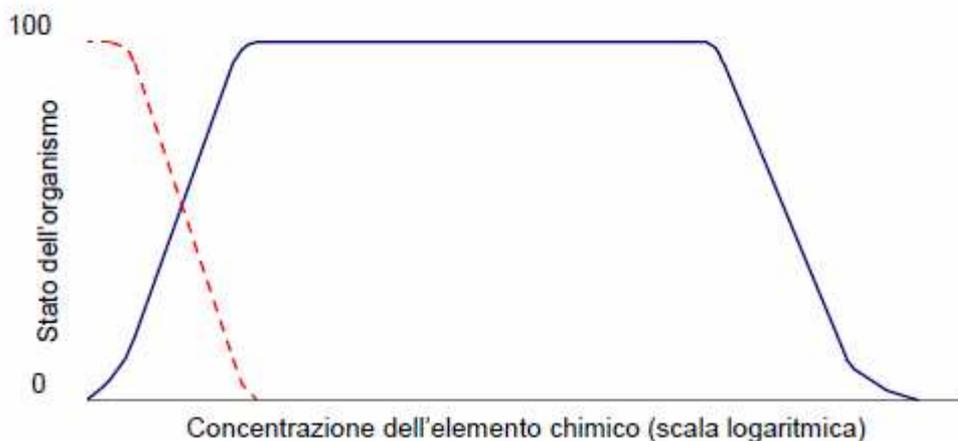


Figura 1.4 Curva di risposta alla dose per un elemento essenziale (linea continua blu) e per uno non essenziale (linea tratteggiata rossa) (Siegel e Siegel, 1986)

I metalli pesanti naturalmente appartengono a diversi minerali. Questi si dirigono verso i corpi idrici attraverso meccanismi diversi, come erosione delle rocce, lisciviazione di depositi minerali, eruzioni vulcaniche, dallo smaltimento di rifiuti solidi, da scarichi domestici e industriali e dalle attività che avvengono in acqua. Tra questi le industrie metallurgiche sono la fonte principale di metalli (tabella 1.2)

Tabella 1.2 Principali industrie che rilasciano metalli (Anteneh, 2010)

	Industries	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
1	Pulp, papermill; building paper, board mills			x	x			x	x
2	Organic chemicals, petrochemicals	x		x	x	x		x	x
3	Alkalis, chlorine, inorganic chemicals	x		x	x	x		x	x
4	Fertilizers	x		x	x	x	x	x	x
5	Petroleum refining	x		x	x	x		x	x
6	Steel works	x		x	x	x		x	x
7	Nonferrous metal works	x		x	x			x	x
8	Motor vehicle, aircraft plating	x		x	x				
9	Flat glass, cement, asbestos			x					
10	Textiles			x					
11	Leather tanning			x					
12	Steam generation			x					x

Generalmente le fonti inquinanti sono classificate in puntiformi e non puntiformi: le prime includono attività di industrie e di vita quotidiana (prati di casa, ornamenti, controllo parassiti, ecc.), mentre le seconde sono di origine geologica e provengono da attività agricole.

I metalli si possono presentare in varie forme in ambiente acquatico: sottoforma di ioni liberi quindi solubili in acqua, come complessi solubili organici e inorganici, come specie ioniche facilmente scambiabili, come precipitati di ossidi e idrossidi, co-precipitati con idrossidi colloidali di ferro e manganese, come complessi organici insolubili, come solfuri insolubili e come forme residuali della roccia madre.

1.3 La mobilità dei metalli

Gli elementi chimici sono mobilizzati da fattori fisici, chimici e biologici. Essi si muovono in soluzione sotto forma di cationi, anioni e complessi ionici che possono poi essere incorporati nelle fasi solide inorganiche oppure essere adsorbiti.

Con queste modalità, gli elementi chimici sono trasportati dalle acque, dal vento e dal ghiaccio seguendo il drenaggio superficiale, il percorso degli acquiferi e le correnti atmosferiche per poi essere depositati sulla terra ferma e nei bacini. I metalli pesanti mobilizzati possono essere trasportati in un ambiente di deposizione in concentrazioni superiori rispetto ai valori di fondo o di background naturali in diverse forme chimiche che possono essere biodisponibili e bioaccumularsi nei tessuti degli organismi; la biodisponibilità e il bioaccumulo dei metalli può dare origine ad effetti tossici (De Vivo et al., 2004)

La solubilità, la mobilizzazione e la deposizione di metalli potenzialmente tossici sono influenzati da diversi fattori, che agiscono da soli o in combinazione fra loro, come il potenziale redox, il pH, la temperatura, spesso associati ad attività batterica. Essi determinano anche le specie chimiche dei metalli in un ecosistema, oppure le loro variazioni all'interno dell'ambiente.

La mobilità dei metalli pesanti in un ambiente è influenzata anche dall'eterogeneità tessiturale dei suoli/sedimenti, dalla composizione della matrice dei suoli/sedimenti (minerali, materia organica), dall'interazione dei fluidi o delle particelle con le acque interstiziali e sovrastanti, e dalla attività degli organismi. Tutti questi fattori possono variare da un ambiente all'altro o addirittura all'interno di singole nicchie di un ecosistema, rendendo complicato predire come la loro diversa interazione si ripercuoterà sulla mobilità e sulla biodisponibilità dei metalli.

I metalli mobilizzati, in funzione delle specifiche condizioni ambientali, in prossimità del luogo dove avviene la decomposizione oppure possono essere adsorbiti sulle particelle solide fini, come idrossidi di ferro e manganese (amorfi e cristallini), minerali argillosi e particolato di materia organica (Tabella 1.3)

Tabella 1.3 Metalli potenzialmente tossici che si trovano normalmente in minerali secondari oppure in forme amorfe in suoli/sedimenti (da Sposito, 1983, modificata).

Minerale	Metalli precipitati o adsorbiti
Ossidi di Fe	V, Mn, Ni, Cu, Zn, Mo, As
Ossidi di Mn	Fe, Co, Ni, Zn, Pb
Minerali argillosi	
Smectiti/Montmorilloniti	Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb
Illiti	V, Ni, Co, Cr, Zn, Cu, Pb
Vermiculiti	Ti, Mn, Fe

Nei sedimenti i metalli sono presenti quindi nelle seguenti frazioni: disciolta, scambiabile, legata ai carbonati, agli ossidi di Fe-Mn, alla sostanza organica e la frazione residua. I siti dove si verifica l'adsorbimento possono diventare saturi determinando il rilascio di ioni H^+ che fanno diminuire il pH che a sua volta fa aumentare la mobilità degli elementi nella fase acquosa. Nei programmi ambientali è importante valutare la mobilità e la biodisponibilità di metalli potenzialmente tossici rispetto ai suoli/sedimenti e assumono grande importanza le tecniche di estrazione selettiva che stabiliscono in che modo i metalli sono legati nelle fasi solide (per esempio, come forme solubili, in posizione di scambio, in minerali carbonatici, come fasi facilmente o moderatamente riducibili, come solfuri, e come forme residuali). La forza di legame è direttamente proporzionale alla bio-disponibilità (De Vivo et al., 2004).

Gli organismi viventi possono partecipare alla ridistribuzione fisica dei metalli potenzialmente tossici nelle sequenze sedimentarie lacustri e marine; nel processo detto di bioturbazione, gli organismi detritivori per ottenere i nutrienti di cui hanno bisogno, disperdono e ridistribuiscono i sedimenti contenenti i metalli dalla superficie verso il basso. La bioturbazione, che movimentata la materia contaminata dalla superficie dei suoli/sedimenti verso il basso, ha due aspetti positivi di mobilità e accessibilità: diluisce i contaminati metallici nei sedimenti di ambienti acquatici, così che le concentrazioni di metalli biodisponibili, per organismi detritivori che vivono sul fondo, sono più basse e in campi irrigati diluisce la concentrazione dei metalli in superficie movimentandoli all'interno del sedimento.

Nei sistemi acquosi diversi metalli potenzialmente tossici possono essere mobilizzati in soluzione come cationi liberi, oppure come complessi ionici (per esempio $Cr_2O_7^{2-}$). Secondo Goldschmidt (1937) una guida per la mobilità dei metalli in soluzioni acquose può essere data dal loro potenziale ionico (Z/r) (Figura 1.5)

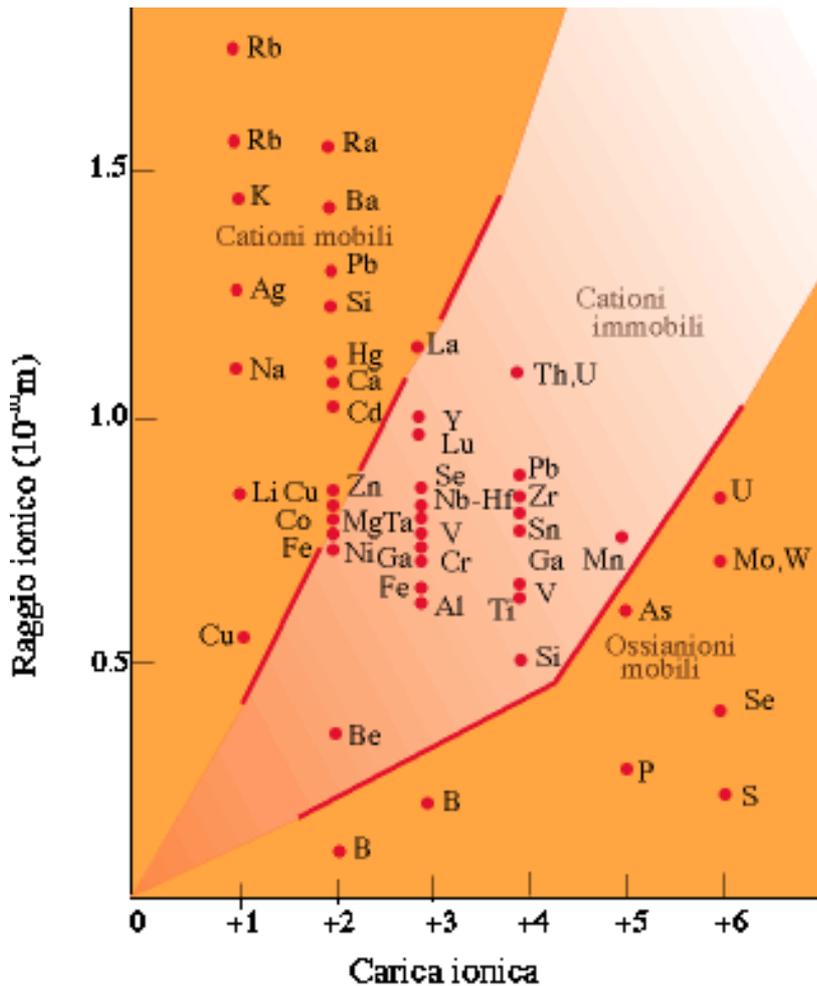


Figura 1.5 La mobilità degli elementi in traccia in funzione della carica ionica e del raggio ionico (Z/r) e le loro reazioni negli ambienti sedimentari e idrogeologici (da Siegel 1992; basata sul concetto di Goldschmidt, 1937)

Gli elementi come Pb, Hg, Cd, Cu, Co, Fe e Zn, con un basso potenziale ionico si rinvencono come cationi solubili mentre altri metalli pesanti come Mo, As, Cr, Se e V, con alto potenziale ionico, si rinvencono come complessi anionici solubili. La mobilità degli elementi nei sistemi acquosi è governata anche da altri fattori il pH, Eh e l'adsorbimento su particelle solide fini.

I cationi, gli anioni e/o i complessi anionici dei metalli pesanti, sia in soluzione che sotto forma di specie adsorbiti, possono costituire un rischio per la salute dell'ecosistema a seconda della loro biodisponibilità cioè la frazione di una specie chimica che si rende disponibile per essere ingerita, inalata o comunque assimilata da un organismo vivente.

La temperatura dell'acqua influenza la solubilità quindi la mobilizzazione degli elementi chimici. Ad un pH neutro, all'aumentare della temperatura, aumenta la solubilità degli elementi chimici derivante dalle fasi solide presenti nell'acqua. Alcuni metalli pesanti sono mobilizzati in condizioni acide mentre altri sono mobilizzati in condizioni basiche, perciò i valori del pH condizionano lo stato dei metalli pesanti nell'ambiente (De Vivo et al., 2004).

1.4 Proprietà del cromo e destino nell'ambiente

1.4.1 Le proprietà del cromo

I metalli, come in precedenza citato, sono molto diffusi nei sedimenti e un'alta concentrazione spesso si ripercuote in una tossicità dei sedimenti stessi. Fra quelli contaminati, un metallo frequentemente monitorato è il cromo.

Il cromo è un elemento con simbolo Cr e numero atomico 24; appartiene al gruppo 6 della tavola periodica, è un metallo di transizione e questo lo rende degno di nota perché possiede 5 orbitali d, quindi specifiche proprietà tipiche dei metalli del blocco d:

1. possono formare leghe fra loro e con i metalli del gruppo principale;
2. solitamente sono incolori, lucenti con alti punti di fusione e ebollizione;
3. possiedono alti punti di fusione perché gli elettroni degli orbitali d legano insieme gli atomi in reticoli cristallini;
4. formano dei composti che vengono comunemente colorati (ES. cloruro di Cr(III) è viola) dovuta alla capacità di assorbire fotoni di diversa frequenza per la presenza di orbitali d non totalmente occupati ;
5. come i metalli del gruppo principale formano sali. Tuttavia mentre i metalli principali formano sali con cationi e anioni in equilibrio, i metalli di transizione tendono a formare sali con predominanza di forme negative (Royal Society of Chemistry, 2000).

Il cromo si trova raramente come metallo libero in natura infatti tende a combinarsi con l'ossigeno, quindi è impossibile trovare Cr puro in ambiente contenente ossigeno e l'ossidazione lo rende fragile (IETEG, 2004). Tuttavia, la reazione si ferma a causa della formazione dell'ossido di cromo Cr_2O_3 , questo è il motivo per cui il cromo non si corrode e mantiene la sua lucentezza.

A temperatura ambiente il Cr metallico ha un colore argenteo, è molto duro, resistente alla corrosione e può essere facilmente lucidato. In natura i metalli pesanti sono quelli con densità superiore a 5 g/cm^3 a temperatura ambiente e il cromo può essere considerato sia come metallo pesante che come oligoelemento, cioè un elemento traccia. Infatti in ambiente naturale, come nelle rocce o nei terreni, il cromo può trovarsi in concentrazioni in traccia, ovvero inferiori a 100 parti per milione. L'ossido di Cr(III) è tra le dieci sostanze più abbondanti presenti sulla terra (IETEG, 2004).

1.5 Origine del cromo e distribuzione nell'ambiente

L'abbondanza di cromo sulla terra varia notevolmente; le rocce della crosta terrestre contengono una media di 140 ppm di Cr, l'acqua di mare contiene 6 ppb, l'acqua di ruscello ha 1 ppb e gli esseri umani hanno 30 ppb di cromo.

I principali minerali del cromo sono la cromite (FeCr_2O_4), la crocoite ($\text{Pb}[\text{CrO}_4]$) e l'uvarovite.

La cromite, FeCr_2O_4 , è il minerale più sfruttato per l'estrazione del cromo; appartenente alla famiglia degli spinelli presenta un alto contenuto di ossido di cromo Cr_2O_3 .

Tale minerale (duro, pesante, opaco e con lucentezza submetallica) (Figura 1.6), si ritrova in rocce femiche e ultrafemiche e si presenta in masse granulari e compatte oppure in piccoli cristalli neri ottaedrici. I giacimenti più importanti si trovano in Sud Africa, Turchia, Albania, Filippine, Russia, Brasile; in Italia sono state rinvenute concentrazioni modeste in Val Malenco e Valle della Vara in Liguria (Mertz, 1993).



Figura 1.6 Minerale ferrocromite (Wikipedia)

Il cromo è uno degli ingredienti principali di minerali e conferisce loro particolari colorazioni. Le sue caratteristiche fisiche e chimiche sono curiosamente rimaste in laboratorio per circa 100 anni (1800-1900). Piccole quantità sono stati utilizzati per indurire le leghe di acciaio ed i suoi composti sono stati utilizzati in numerosi altri settori. Un rapido aumento dell'uso di Cr è avvenuto tra 1915 e 1930, quando il Cr è divenuto un metallo industriale leader, insieme al ferro (Fe), rame (Cu), alluminio (Al), stagno (Sn), piombo (Pb) e nichel (Ni).

L'uso primario del cromo è stato per la produzione di leghe non ferrose, placcature di metalli ornamentali, colorazione verde del vetro. Prima dello sviluppo delle plastiche rigide, i parafranghi delle auto venivano frequentemente cromati. Il cromo è stato utilizzato anche come catalizzatore per particolari reazioni chimiche. Circa il 95% delle risorse a livello mondiale di cromo sono

concentrate nel Sud Africa, le rimanenti sono concentrate nelle Filippine nelle ex repubbliche sovietiche. Il Ferrocromo rappresenta circa 85% del consumo della cromite, il resto riguarda prodotti chimici, applicazioni in fonderia, refrattari. Circa il 12% del cromo viene consumato dagli Stati Uniti, sotto forma di varie forme. Il cromo ha rappresentato nel ventesimo secolo un metallo strategico per i suoi numerosi utilizzi in decine di processi industriali, attraverso la creazione di migliaia di prodotti di consumo. Il cromo è usato nella cromature, nella produzione di acciaio inox, leghe metalliche, pigmenti, catalizzatori, tintura, concia, impregnazione del legno, nastri magnetici e altro ancora (IETEG, 2004).

La concentrazione di questo elemento varia notevolmente a seconda dell'ambiente in cui si trova, infatti è presente in natura come minerale (principalmente come Cromite), disciolto nelle acque, presente nel suolo e negli organismi viventi in cui entra a far parte di processi metabolici.

(Figura 1.7).

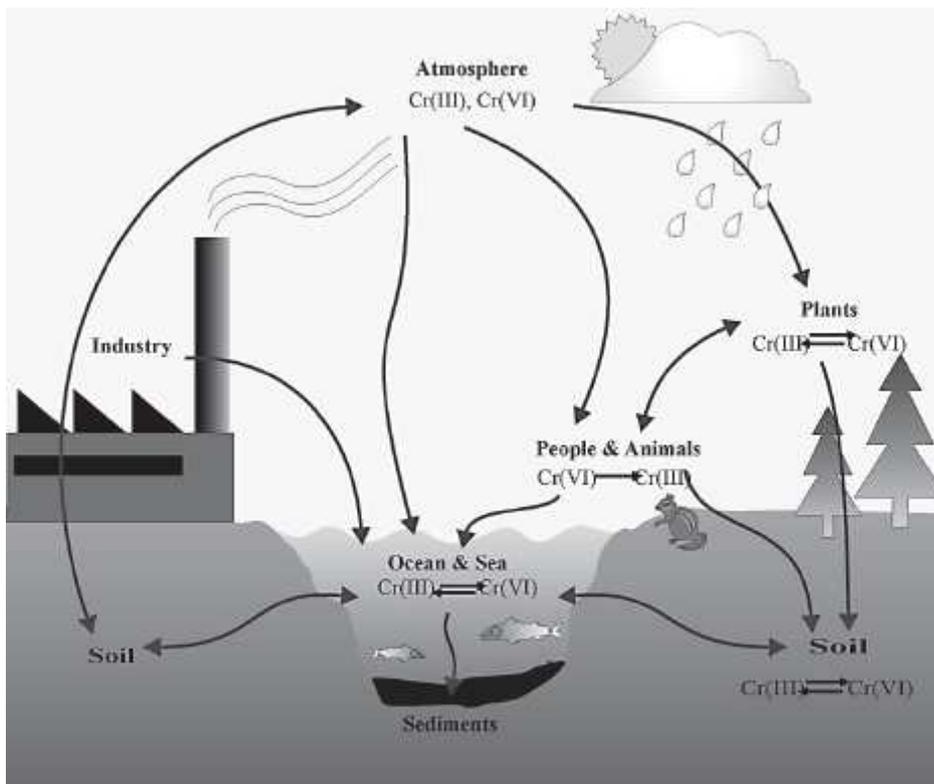


Figura 1.7 Destino ambientale del cromo (Bielicka et al., 2005)

La concentrazione di Cromo nella crosta terrestre varia da 80 a 300 mg/kg, in media risulta 125 mg/kg; nei suoli, invece, l'intervallo di concentrazione del metallo è compreso tra 5 e 3000 mg/Kg (Adriano, 1986).

La presenza di Cromo nell'aria è influenzata dall'esistenza di sorgenti inquinanti industriali, di inceneritori di rifiuti o di centrali termoelettriche. Nelle acque oceaniche il valore può oscillare da

0.0016 a 0.05 $\mu\text{g/l}$ (Bowen, 1979). Qui il Cromo disciolto è presente principalmente come Cromo esavalente, il cui contributo è indicato attorno al 75-93% del totale (Isshiki et al., 1989; Achterberg e van den Berg, 1997).

Nelle acque dolci la concentrazione di Cromo è estremamente variabile infatti dipende da numerosi fattori come presenza di scarichi industriali e non per esempio. In acque dolci non inquinate varia da 0.1 a 0.5 $\mu\text{g/l}$ (De Filippis and Pallaghy, 1994). Si può verificare anche inquinamento delle falde idriche, conseguenza di inquinamento ambientale di varia origine, recente o di vecchia data, dal momento che il cromo e i suoi sali possono persistere per lungo tempo nel terreno. Sono state registrate concentrazioni del metallo fino a 80 $\mu\text{g/l}$, in effluenti nei pressi di cartiere (Sudhakar et al., 1991).

Nella Tabella 1.4 sono riportate diverse concentrazioni del cromo in vari ambienti costieri.

Tabella 1.4 Concentrazioni di Cr (media e range) nelle aree costiere e marine in Europa e nel Mar Mediterraneo.

Area di indagine	matrice	unità di misura	Cromo	Riferimento bibliografico
Laguna di Venezia	Sedimento	mg/Kg	10.5-19.7 14-66	Coccioni et al., 2009; Zonta et al., 2007
Paramos lagoon (Portugal)	Sedimento	mg/Kg	<0,037-255	Fernandes et al., 2008
Nador lagoon (East Marocco)	Sedimento	mg/Kg	55 \pm 24 (9-139)	Bloundi et al., 2009
Thau lagoon (France)	Sedimento	mg/Kg	13,3-38,2	Rigollet et al., 2004
Adriatico settentrionale e centrale	Sedimento	mg/Kg	96,1 \pm 50,6 (3-247)	De Lazzari et al., 2005
Crosta terrestre		mg/Kg	80-300	Adriano, 1986

1.5.1 La speciazione del cromo

L'interesse per la speciazione del cromo (Cr) prende origine dall'uso diffuso di questo metallo in varie industrie, come il settore metallurgico (acciaio, ferro e leghe non ferrose), refrattari (cromo e cromo magnesite).

Gli stati di ossidazione del cromo vanno da -4 a +6 (figura 1.8) e ognuno si comporta in modo diverso nell'ambiente formando composti diversi; i diversi stati d'ossidazione sono importanti per determinare quali composti del Cr si formano in natura. Gli stati di ossidazione -2, -1, 0 e +1 si trovano soprattutto in composti organici sintetici del cromo e complessi organometallici (IETEG, 2004).

Gli stati d'ossidazione del Cr che comunemente si ritrovano in natura però sono solo tre:

1. Cr (0) che si presenta nel cromo naturale o metallico.
2. Cr (III) o cromo trivalente che si presenta nei composti del cromo (generalmente Cr^{3+}).
3. Cr (VI) o cromo esavalente che si presenta in composti come ione cromato CrO_4^{2-} e ione dicromato $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

Il cromo (0) si trova raramente in natura, come cromo naturale lo troviamo nelle inclusioni metalliche in diamanti, in frammenti di meteoriti e come leghe metalliche in giacimenti fluviali.

Cromo(III) si presenta come insolubile nei composti chimici ossido di cromo (III) Cr_2O_3 e idrossido di cromo $[\text{Cr}(\text{OH})_3]$, ma troviamo anche cromo (III) come idrossido solubile in cationi come CrOH^{2+} e $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$. Cr(VI) si trova in composti altamente solubili come gli anioni CrO_4^{2-} e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

Chromium Oxidation States

Oxidation State	Example Compound	
	Name	Formula
-2	Sodium chromium(-II) carbonyl	Na ₂ [Cr(CO) ₅]
-1	Sodium chromium(-I) carbonyl	Na ₂ [Cr ₂ (CO) ₁₀]
0	Chromium(0) (elemental, metal)	Cr ⁰
	Chromium(0) carbonyl	Cr(CO) ₆
+1	Chromium bipyridil (=L)	[Cr(L) ₃]
+2	Chromium(II) oxide	CrO
	Chromium(II) fluoride	CrF ₂
	Chromium(II) chloride	CrCl ₂
	Chromium(II) sulfide	CrS
+3	Chromium(III) oxide	Cr ₂ O ₃
	Chromium(III) fluoride	CrF ₃
	Chromium(III) chloride	CrCl ₃
	Chromium(III) hydroxide	Cr(OH) ₃
+4	Chromium(IV) oxide	CrO ₂
	Chromium(IV) fluoride	CrF ₄
+5	Barium chromate	Ba ₃ (CrO ₄) ₂
	Chromium pentafluoride	CrF ₅
+6	Barium chromate	BaCrO ₄
	Chromate anion	CrO ₄ ²⁻
	Sodium dichromate	Na ₂ Cr ₂ O ₇
	Dichromate anion	Cr ₂ O ₇ ²⁻

Figura 1.8 Stati di ossidazione del cromo (IETEG, 2004)

Gli stati più comuni di ossidazione del cromo nell'ambiente sono quindi il Cr (III) e il Cr (VI) drasticamente diversi in carica, proprietà fisico-chimiche e reattività biochimica. Cr(III) è considerato come un elemento essenziale per il corretto funzionamento degli organismi viventi, mentre il Cr(VI) esercita effetti tossici sui sistemi biologici.

Non solo la tossicità ma anche la mobilità e la biodisponibilità del Cr dipendono dalla sua forma chimica. I composti del Cr(VI), di solito sono altamente solubili, mobili e biodisponibili, rispetto alle poche specie trivalenti del Cr che sono invece solubili. Così una conoscenza dettagliata di ogni specie del Cr, piuttosto che il livello del Cr totale, permette di valutare correttamente gli effetti fisiologici e tossicologici di questo metallo, le sue trasformazioni chimiche in acqua, suolo e atmosfera, così come la sua distribuzione e il suo trasporto nell'ambiente.

Il comportamento del Cr (III) e del Cr (VI) in mezzi acquosi è principalmente influenzata da potenziale redox e pH, come mostra la figura 1.9.

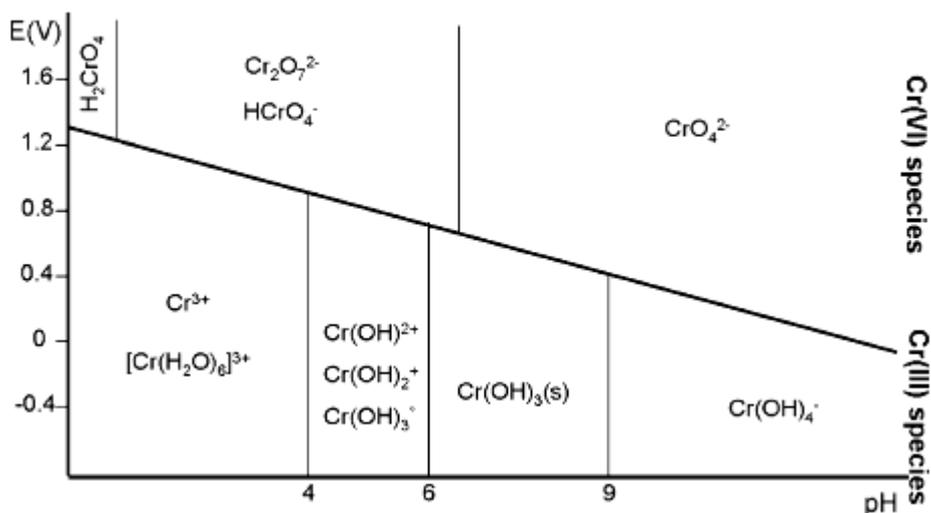


Fig1.9 Specie chimiche del Cr in funzione del pH e del potenziale redox (Unceta et al., 2010)

Ad un valore di pH compreso fra 0 e 4, il cromo trivalente tende a formare complessi esacoordinati con agenti complessati come l'acqua, ammoniaca, solfati, urea e acidi organici. A valori fra 4 e 6, Cr (III) tende a formare prodotti di idrolisi quali CrOH^{2+} , Cr(OH)_2^+ e Cr(OH)_3^\ominus . A pH superiore a 6 invece il cromo trivalente precipita a formare $\text{Cr(OH)}_3(\text{s})$ che è una specie stabile e una delle forme dominanti del Cr (III) presenti nell'ambiente. Sopra pH 9, questo precipitato si trasforma in un complesso solubile Cr(OH)_4^- . A causa dell'alto valore di E^\ominus (valore del potenziale redox a pH di zero) della coppia redox Cr(VI)/Cr (III), l'ossidazione della forma trivalente del cromo alla forma esavalente da parte di ossidanti naturali non è usuale; solo l'ossido di manganese sembra essere un ossidante efficace presente nell'ambiente (Unceta et al., 2010).

A seconda della concentrazione e del valore del pH, le specie chimiche del Cr (VI) vanno dal cromato (CrO_4^{2-}) (pH 6.5-14), attraverso idrogeno cromato (HCrO_4^-), dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) (pH 0.7-6,5) e acido cromico (H_2CrO_4) (pH < 0.7). HCrO_4^- e CrO_4^{2-} possono essere facilmente ridotti a Cr (III) da differenti agenti riducenti, per esempio Fe(II), fosfato, solfuro e materia organica come per esempio acidi umici (Pettine M. et al., 2005).

Il comportamento delle specie del cromo nell'ambiente è complessa e può essere riassunta nel ciclo biogeochimico della figura 1.10:

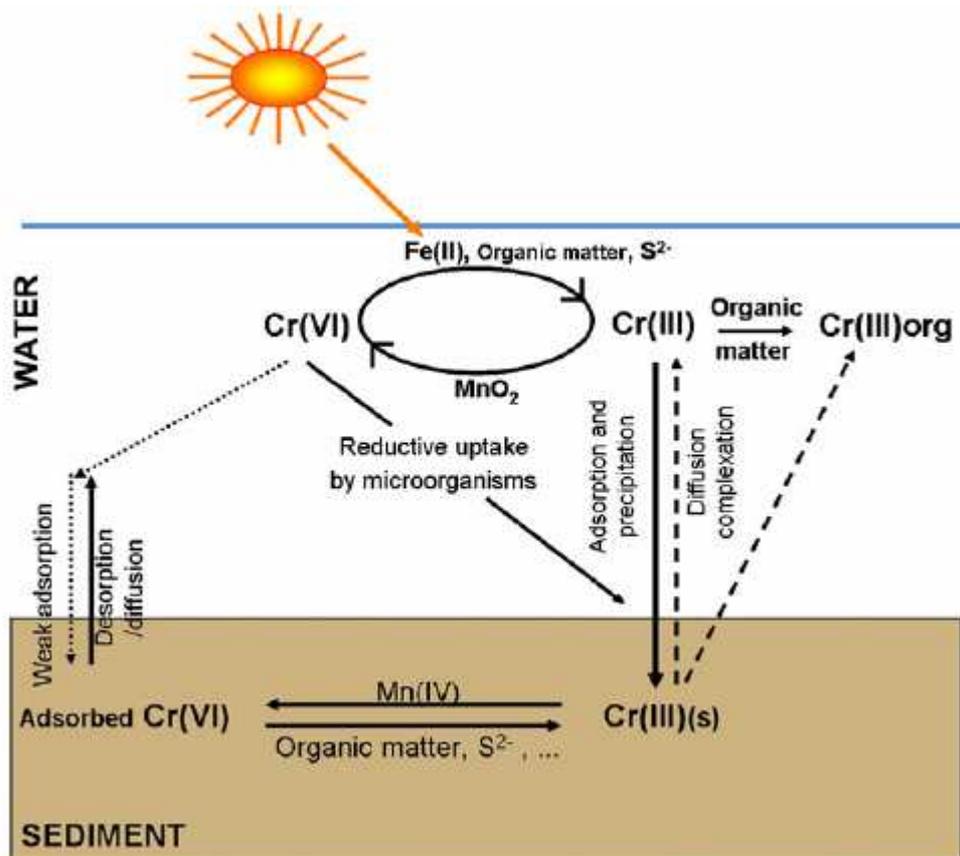


Figura 1.10 Processi biogeochimici che interessano le specie del cromo nel sistema acqua-sedimento (Unceta et al., 2010)

La forma chimica del Cr abbiamo detto che condiziona la sua mobilità e quindi la sua biodisponibilità. Le forme di Cr(III) maggiormente inerti, precipitano vicino a pH neutro e sono facilmente adsorbite sulla fase solida. Tuttavia, è stato dimostrato che il cromo trivalente può formare complessi solubili con liganti organici e quindi possiamo trovarlo nelle acque naturali (Kotas et al., 2000).

Il Cr(VI) può essere presente sotto forma di minerali solidi in associazione con diversi cationi; questi costituiscono diversi composti caratterizzati da una vasta gamma di solubilità, con piombo, calcio e bario cromato che è il più insolubile, mentre i dicromati in generale sono altamente solubili. Nei terreni in cui i minerali delle argille hanno una carica negativa predominante, gli anioni del Cr(VI) vengono respinti dalle cariche negative delle particelle del suolo, rendendo il cromo esavalente abbastanza mobile (Unceta et al., 2010). Pertanto, si potrebbe dire che la forma esavalente del cromo è più mobile e più biodisponibile di quella trivalente nei sistemi suolo-acqua.

La distribuzione fra Cr(III) e Cr(VI) in ambiente è regolata dalle condizioni redox; Cr(VI) è termodinamicamente stabile in ambienti ricchi di ossigeno, ma è instabile in ambienti anaerobici, comunemente riscontrati nei sedimenti, dove il Cr(III) predomina (Martello et al., 2007; Berry et al., 2004). Nei sedimenti, il Cr(III) è la forma favorita, perché in genere la concentrazione degli agenti riducenti (ad esempio Fe(II), solfuri, sostanza organiche naturali) superano le concentrazioni degli agenti ossidanti conosciuti per ossidare Cr(III) a Cr(VI) (Magar et al., 2008) e perché la cinetica nella riduzione del Cr(VI) a Cr(III) tende ad essere più veloce dell'ossidazione del Cr(III) a Cr(VI). La decomposizione della materia organica e la riduzione di solfati e del ferro, genera H₂S e Fe(II), i donatori primari di elettroni che riducono il Cr(VI) a Cr(III) nell'ambiente. Cr(VI) può essere ridotto anche da materia organica come gli aminoacidi semplici o da acidi umici e fulvici (Magar et al., 2008). La riduzione del Cr(VI) è molto rapida, dipende dall'agente riducente coinvolto, ma può avvenire anche in condizioni di ambiente ossidante (Berry et al., 2004).

Masscheleyn et al. (1992) riporta che Cr(VI) si riduce in condizioni di nitrato riduzione con un potenziale redox molto alto come 500 mV, a dimostrazione della grande instabilità del cromo esavalente anche in condizioni leggermente ossidanti. Cr(VI) viene ridotto a Cr(III) ad un potenziale redox di 350mV sia in terreni che in sedimenti (Delaune et al., 1998). Si è osservata una rapida riduzione del Cr(VI) e per opera di Fe(II) in acqua con valori di pH compresi fra 2-10, anche in condizioni ossidanti. Al contrario, l'ossidazione del Cr(III) è molto lenta, settimane o mesi (Eary e Rai, 1987).

Il diossido di manganese (MnO₂) e il perossido di idrogeno (H₂O₂), sono gli unici ossidanti naturali comprovati del Cr(III) a pH<9 nell'ambiente, tuttavia l'ossidazione del Cr(III) da parte di MnO₂ in condizioni ambientali, è limitata dalla bassa solubilità del cromo trivalente (Saleh et al., 1989), dalla presenza di materia organica naturale e di cationi, come Ca²⁺ e Mg²⁺, che competono con i siti di assorbimento sulle particelle di MnO₂ (Schroeder e Lee, 1975). Di conseguenza, in terreni umidi, la riduzione del Cr(VI) è dominante sull'ossidazione del cromo, anche in presenza di alte concentrazioni di MnO₂ (Masscheleyn et al., 1992).

Un certo numero di studi hanno dimostrato che i sedimenti contenenti acidi solfuri volatili (AVS) in genere non contengono Cr(VI), in quanto il Cr(VI) che entra nel sedimento viene rapidamente ridotto a Cr(III). AVS, un componente comune dei sedimenti anossici, è composto da solfuri di idrogeno, polisolfuri, mackinawite (FeS), greigite (Fe³S⁴) e solfuri metallici. La mackinawite si pensa sia il principale componente della fase solida di AVS nei sedimenti anossici. Recenti studi hanno dimostrato come il mackinawite (sintetico) può essere un efficiente riducente del cromo esavalente.

Anche in studi con spiking di Cr(VI), la riduzione a Cr(III) in presenza di AVS si verifica abbastanza rapidamente. Altri studi hanno evidenziato, tuttavia, che quando AVS non sono presenti o quando la concentrazione di Cr(VI) supera la capacità di ridurre degli AVS, il Cr(VI) persisterà (Berry et al., 2004;. Besser et al., 2004;. Becker et al., 2006). Quando si verifica questa situazione, la tossicità è attesa. Altri studi sulla tossicità del cromo hanno dimostrato che il Cr (III) che si trova nei sedimenti, non è tossico per gli organismi di estuario. Sia anfipodi e policheti sono stati utilizzati in test di tossicità in sedimenti spikati con Cr (III) e nessuna specie ha evidenziato reazioni osservabili con l'aumento di concentrazione di questa forma del cromo. (Berry et al, 2002;. Berry et al., 2004).

Si è concluso che quando sono presenti sufficienti concentrazioni di AVS, quasi tutto il cromo nel sedimento si troverà nella forma trivalente, e sarà non tossico per gli organismi acquatici.

Molti ricercatori hanno elaborato procedure di estrazione sequenziale per identificare le frazioni sedimentarie fisico-chimiche con le quali i metalli sono associati, nel tentativo di capire la disponibilità biologica dei metalli nei sedimenti.

1.5.2 Le tecniche analitiche per la determinazione del cromo esavalente

Il cromo nei vari comparti ambientali può trovarsi nelle forme trivalente e esavalente e le tecniche per la speciazione hanno lo scopo di separare e quantificare le forme chimiche di quest'elemento. Negli ultimi anni si è richiesta una sempre maggiore ricerca per migliorare le tecniche di speciazione per limitare i problemi legati alle reazioni di interconversione fra la forma trivalente e esavalente del cromo. Esistono diverse metodiche analitiche per l'analisi del cromo e delle sue specie chimiche che utilizzano diversi tipi di strumenti. I principali metodi per la determinazione del cromo totale, utilizzano spettroscopia di assorbimento atomico (AAS), spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) e la spettroscopia di emissione atomica (ICP-AES). Diverse tecniche colorimetriche e elettrochimiche invece sono usate per analizzare il Cr(VI) (Rahman et al., 2005).

Nell'analisi di speciazione del cromo, filtrazione, acidificazione e estrazione sono le comuni procedure di pre-trattamento soprattutto quando sono coinvolti campioni ambientali.

L'estrazione selettiva della specie di cromo dalla massa del campione è applicata principalmente alle matrici solide quali sedimenti, suoli e particolato. La rimozione del cromo da solidi può essere effettuata con una singola fase di lisciviazione o con un sistema di estrazione sequenziale. Gli agenti estraenti possono essere sali di elettroliti come CaCl_2 o MgCl_2 , buffer o acidi deboli, come acido acetico o acido ossalico, agenti chelanti, come EDTA e DTPA, acidi forti, come HCl, HNO_3 , HClO_4 o basi quali NaOH o Na_2CO_3 . Per la speciazione del cromo andrebbero evitati l'uso di forti agenti estraenti, uniti alle temperature alte e ai tempi lunghi, poiché la riduzione del Cr(VI) è favorita con estrazioni in mezzi acidi mentre in soluzioni alcaline è favorita l'ossidazione del Cr(III) (Kotas e Stasicka, 2000).

Una tecnologia di estrazione promettente che limita la conversione della specie è l'estrazione fluida supercritica (SFE); l'estrazione eseguita a basse temperature e in tempi più brevi può risultare vantaggiosa per i composti del cromo termolabili e facilmente ossidabili (Vela et al., 1993).

La metodica analitica più utilizzata per l'analisi del Cr(VI) è la digestione in ambiente alcalino secondo il metodo EPA 3060A (EPA, 1996) mentre le tecniche analitiche più usate per la determinazione del cromo esavalente dopo l'estrazione da matrici solide, sono quelle previste dai metodi EPA 7196 e EPA 7199 (EPA, 1996); entrambi si basano sull'impiego di difenilcarbazide (DPC) che reagisce formando composti con il Cr(VI) rilevati spettrofotometricamente ad una

lunghezza di 540 nm. Nonostante la sua semplicità, il metodo DPC soffre della presenza di diversi interferenti che possono portare a una sovrastima o a una sottostima dei livelli di Cr(VI), come Fe(III), Fe(II), Hg, V, solfuri, solfati e materia organica presenti nella matrice (Unceta et al., 2010).

Kingston et al. (1998) hanno presentato la tecnica del SIDMS, speciated isotope-dilution mass spectrometry del cromo in campioni di acqua. SIDMS è il primo metodo usato per valutare la conversione delle specie che possono verificarsi durante le procedure di campionamento e pretrattamento. SIDMS così come la diluizione isotopica di massa (IDMS) può essere applicata per lo sviluppo di materiali standard di riferimento per la speciazione del Cr nell'ambiente (Kotas e Stasicka, 2000).

Un handicap evidente nell'analisi di speciazione del cromo è legato alla sua presenza nei comparti ambientali in traccia o ultratraccia, di conseguenza le sue specie chimiche locali sono ancora più sfuggenti.

I principali metodi di speciazione del cromo sono raggruppati in Off-line e On-line.

I metodi off-line prevedono una separazione e preconcentrazione della specie del cromo prima di inserire il campione nello strumento; le tecniche di pre-trattamento del campione sono diverse e vanno da tecniche di scambio ionico, utilizzo di resine chelanti e agenti estraesti, metodi elettrochimici ecc. Per il rilevamento, i metodi spettroscopici sono i più utilizzati e comprendono spettrometria UV-visibile, AAS e ICP-AES. Questi strumenti però hanno moltissimi svantaggi: sono complicati, hanno tempi lunghi e spesso comportano perdita dell'analita. Per tali motivi si preferiscono tecniche miste più avanzate o le tecniche on-line (Kotas e Stasicka, 2000).

Nelle tecniche On-line la separazione della forma chimica è accoppiata al sistema di rivelazione, questo diminuisce i tempi rispetto alle tecniche off-line ma presuppone l'impiego di strumenti più costosi: analisi di iniezione di flusso (FLW) e cromatografia liquida da alta prestazione (HPLC) inclusa la cromatografia ionica (IC) (Kotas e Stasicka, 2000).

1.6 La tossicità del cromo

Il cromo nelle sua forma trivalente Cr(III) non è considerato un elemento tossico, ed è un nutriente richiesto nelle dieta, con dosi giornaliere raccomandate di 0,5/2 mg, infatti è stato segnalato per il suo ruolo nel controllo del metabolismo del glucosio e dei lipidi nei mammiferi (Anderson, 1989). Questa ipotesi è stata sostenuta dalla scoperta del cosiddetto Glucose Tolerance Factor (CrGTF) che contiene Cr(III), acido nicotinico, glicina, acido glutammico e cisteina (Nieboer e JUSYS, 1988). Tuttavia è stato dimostrato che a basse concentrazioni, il Cr(III) è in grado di indurre eczema (Hansen et al, 2003) e di causare danni al DNA in sistemi di coltura cellulare (Eastmond et al., 2008).

L'ipotesi che il Cr(III) sia la forma meno tossica rispetto al cromo esavalente, non è stata confermata da altri studi, in cui sono dimostrati alcuni effetti biologici della forma trivalente del cromo, come danni al DNA e altri effetti subletali collegati (Berry et al.,2004), ridotta crescita di cianobatteri (Thompson et al., 2002) e riduzione del tasso di crescita dei policheti (Mauri et al., 2002).

Nella forma esavalente, Cr(VI), il cromo ha effetti tossici (IETEG et al., 2004) (figura1.11)

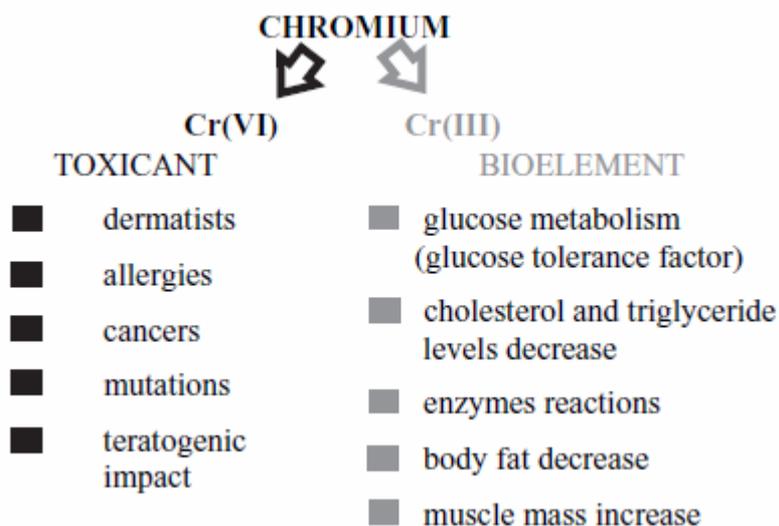


Figura 1.11 Effetti negativi del Cr(VI) e positivi del Cr(III) sull'uomo (Bielicka et al.,2004)

Un'esposizione acuta a polveri cariche di Cr(VI) può comportare eruzioni cutanee, ulcere, piaghe ed eczema sugli operai coinvolti in una delle sue numerose applicazioni industriali.

Le proprietà tossiche dei cromati sono legate alla facilità di diffusione attraverso le membrane biologiche e al forte potere di ossidazione.

L'impatto tossicologico del Cr (VI) deriva dall'azione di questa forma come agente ossidante oltre che dalla formazione di radicali liberi durante la riduzione del Cr(VI) a Cr(III) all'interno della cellula; la stessa formazione intracellulare, in concentrazioni significative, di Cr(III) può causare effetti negativi sull'inibizione di alcuni enzimi.

Nei lavoratori impiegati in industrie dove si produce e utilizza cromato è stato riscontrato che una marcata esposizione a Cr(VI) causa irritazione delle vie respiratorie, ulcerazione e perforazione del setto nasale; l'ingestione da 1,0 g a 5,0 g di cromo esavalente come cromato (CrO_4^{2-}) si traduce in gravi disturbi gastrointestinali, diatesi emorragica e convulsioni. La morte può verificarsi in seguito a shock cardiovascolare. In animali, dosi di Cr(VI) superiori a 10 mg/kg su massa corporea colpiscono soprattutto l'apparato gastrointestinale, reni e sistema ematopoietico (IPCS, 1988). Il Cr(VI) nei topi provoca tumori per inalazione ed è considerato un possibile agente cancerogeno umano perché in lavoratori impiegati nella produzione di sali e pigmenti di cromato (CrO_4^{2-}) comporta un aumento del rischio di insorgenza del carcinoma bronchiale. Tuttavia, si crede che il Cr(VI) ingerito venga ridotto a Cr(III) nel tratto gastrointestinale, quindi il tutto è ancora materia di indagine (IETEG et al., 2004).

Per la sua pericolosità, i composti del Cr(VI) sono regolamentati dalla Direttiva sulle sostanze pericolose (67/548/CEE e successivi adeguamenti), in più il cromo esavalente è stato riconosciuto come specie altamente tossica e classificato come cancerogeno per l'uomo dalla US Environmental Protection Agency (USEPA, 1998) e come cancerogeno di classe I per l'uomo, dalla agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) (IARC (1990).

Il meccanismo cancerogeno della forma esavalente del cromo non è ancora chiaro, ma è stato solo ipotizzato, il Cr(VI) sarebbe in grado di legarsi al doppio filamento di DNA causando un alterazione della replicazione, riparazione e duplicazione (figura 1.12).

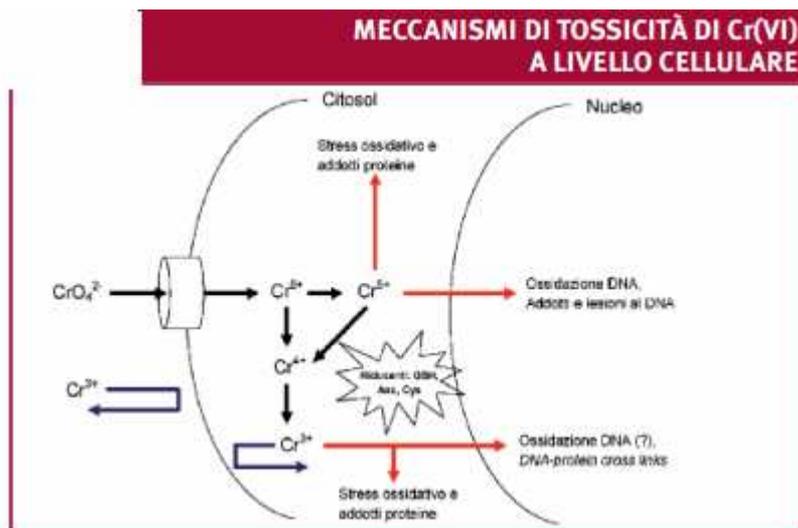


figura 1.12 Meccanismo di tossicità del Cr(VI) a livello cellulare (De Flora et al., 2000)

Proprio a causa dei suo elevato uso industriale, il Cr(VI) ha creato problemi in molti distretti urbanizzati, con ripercussioni sulla fornitura di acqua potabile e sul suo utilizzo agricolo (da parte di “The Independent Environmental Technical Evaluation Group” (IETEG) .

Sono stati istituiti numerosi gruppi di ricerca al fine di valutare i problemi legati alla contaminazione da Cr(VI), in modo da poter procedere allo sviluppo di idonee politiche ambientali; quindi bisogna individuare fattori quali persistenza nelle acque sotterranee, rischio per la salute, trasporti e destino finale nell’ambiente.

I problemi sanitari legati all’ingestione di Cr(VI), bevendo acqua contaminata per esempio, sono ancora oggetto di dibattito all’interno della comunità scientifica. Un'altra via d’esposizione è il contatto cutaneo, che si può verificare con un bagno o un lavaggio con acqua contaminata.

Il cromato (CrO₄²⁻), è un minerale che contiene lo ione cromato Cr₄²⁻; un esempio di cromato è il potassio di cromato K₂CrO₄²⁻ . I cromati possono entrare nel flusso sanguigno attraverso delle ferite e composti come K₂CrO₄²⁻ provocano un avvelenamento del sangue distruggendo i globuli rossi.

Anche l’inalazione è un'altra via d’esposizione importante legata a processi industriali di saldatura, taglio e riscaldamento di leghe del Cr.

Legata all’esposizione cutanea, è l’arseniato di rame cromato (CCA), un composto chimico ampiamente usato come antisettico del legno nelle zone residenziali; questo legname è usato per costruzione di ponti, panchine, tavoli da picnic, ed è perciò onnipresente.

Molte agenzie governative ne hanno limitato o vietato l’utilizzo, come l’US EPA che dal 1° gennaio 2004 ha vietato l’uso di legno trattato con CCA per nuovi complessi residenziali, ma non ha affrontato il problema del legno trattato già presente nei parchi e nei cortili. La pioggia acida o altre soluzioni acide possono dilavare il cromo presente sul legno trattato, per questo si stanno studiando

trattamenti opportuni come oli speciali per evitare processi di lisciviazione. Le concentrazioni di cromo superiori ai livelli di fondo sono molto diffuse nei sedimenti in prossimità di poli industriali e dei grandi centri abitati, a causa di scarichi industriali e urbani (Paul et al., 2002), con ripercussioni sulla vita del benthos. Lo studio sui potenziali impatti ecologici che il cromo ha nei sedimenti, per prima cosa tiene conto dell'accumulo delle specie chimiche del sedimento stesso e di fattori quali pH e potenziale redox, che influenzano la mobilità e la speciazione del Cr nell'ambiente di studio. Negli ultimi due decenni, il problema della contaminazione dei sedimenti è emerso sempre più in modo preoccupante a causa dei potenziali impatti ecologici e sulla salute umana. I sedimenti contaminati minacciano la vita acquatica attraverso la bioconcentrazione, l'ingestione e il bioaccumolo nella catena alimentare. La presenza di metalli o di sostanze organiche nei sedimenti però non si traduce necessariamente in risposte tossiche (Watlington et al. 2008).

Le proprietà fisiche e chimiche dei sedimenti quali carbonio organico totale, la granulometria e la concentrazione di solfuri acidi volatili (AVS) influenzano la biodisponibilità degli inquinanti quindi la tossicità del sedimento in un dato sito. Gli organismi bentonici possono essere esposti agli agenti inquinanti presenti nei sedimenti attraverso il trasporto in fase disciolta nelle membrane degli organismi (ad esempio, le branchie, pelle) e / o attraverso l'ingestione di sedimenti contaminati (US EPA 2001, USEPA 2004a). Nelle acque naturali, le due forme del cromo, Cr(III) e Cr(VI), presentano un diverso grado, di biodisponibilità e tossicità; la forma trivalente può rappresentare un rischio per gli organismi a livello cellulare, ma la forma esavalente del cromo rimane la più tossica perché è molto solubile in acqua ed è un forte agente ossidante che provoca gravi danni alla membrana cellulare (Mei et al. 2002). Il Cr(III) può risultare tossico per la sua capacità di formare complessi con acidi nucleici, proteine e composti organici (Su et al. 2005) ma non costituisce un rischio a concentrazioni ambientali (Watlington et al. 2008). La tossicità ambientale di un composto nei confronti di un qualsiasi animale presente in un qualsiasi sub sistema dell'ecosistema può esprimersi in termini acuti o cronici. La valutazione ecotossicologica è chiaramente più interessata a quella cronica soprattutto per composti persistenti che possono accumularsi nell'organismo animale. Peraltro gli effetti acuti hanno grande importanza nei casi di inquinamento grave conseguente ad un incidente (sversamento di un in un fiume, incidenti di petroliere o mezzi nautici di trasporto marino di composti chimici, ecc.).

In letteratura sono presenti numerosi lavori dove si è cercato di valutare il reale impatto ambientale di uno stressore come il cromo, nei sedimenti; sono stati condotti diversi test bio-assay o test biotossicologici, procedure che permettono di valutare se il contaminante può causare effetti negativi sulla salute dell'organismo posto in una matrice ambientale in condizioni controllate. E' misurata una specifica risposta biologica (end point) come morte, variazione del successo riproduttivo,

alterazione della crescita e alterazione del comportamento. Questi tipi di test di tossicità implicano un confronto fra un trattamento di controllo (campione privo di sostanze tossiche) e un trattamento in cui è presente la sostanza da saggiare e una caratterizzazione completa della risposta definendo un certo numero di livelli di esposizione (concentrazioni, dosi) e effettuando osservazioni ripetute nel tempo. Molto importante è la scelta dell'organismo test da utilizzare, che deve essere idoneo in base alla matrice di indagine; si possono utilizzare microrganismi, come il batterio marino *Vibrio fischeri* per valutare l'EC50, utilizzato nei test di rivelazione della tossicità Microtox, o crostacei, come la *Hyalella azteca* che viene utilizzato nei bioassay dai quali si vogliono avere informazioni sulla qualità dei sedimenti, in quanto è un organismo epibentico detritivoro ed erbivoro che vive sulla superficie del fondo (normalmente d'acqua dolce o estuarino) alla ricerca di cibo. Besser et al.(2004) ha utilizzato la *Hyalella azteca* in test di tossicità cronica esponendo questo crostaceo per 28 e 42 giorni, in acqua e in "spiked-sediment", cioè sedimenti con concentrazioni note di Cr(III) e Cr(VI) indotta artificialmente; in questo studio è stata riscontrato che in acqua arricchita con Cr(VI) si verifica una riduzione della sopravvivenza con una concentrazione letale media LC₅₀ di 40µg/L. Nei spiked-sediment, con alti valori di Cr(VI) si è vista una significativa mortalità degli anfipodi, mentre nei sedimenti arricchiti con alte concentrazioni di Cr(III) non si sono evidenziate ripercussioni sulla sopravvivenza, ma si sono visti effetti sulla crescita e sulla riproduzione. Un altro test di laboratorio effettuato su l'anfipode *Tiburonella viscana*, per valutare la tossicità di sedimenti ricchi in Cr, ha evidenziato una significativa riduzione nella sopravvivenza di questo organismo con un valore di LC₅₀ a 48 h paria a 5,85 mg/L (Melo et al., 2007). Con sedimenti del porto di Baltimora sono stati effettuati diversi studi sulla tossicità acuta (10 giorni) e cronica (28 giorni) in spiked-sediment con Cr(VI), utilizzando come organismi un anfipode indigeno il *L. plumulosus*; questo report (Watlington et al., 2008) voleva dimostrare il collegamento fra l'ecotossicità e l'ingestione nei sedimenti contaminati, infatti *L. plumulosus* è stato selezionato per la sensibilità mostrata ai contaminati e la tendenza a risiedere e ingerire i sedimenti.

Diversi studi hanno evidenziato gli effetti biologici dovuti a Cr(III), ma riportano tutti effetti subletali o si manifestano dopo 10 giorni, quindi nessuno di essi dovrebbe verificarsi in fase acuta (Berry et al., 2004). Piante acquatiche vascolari svolgono un ruolo importante nella diffusione, stoccaggio e riciclaggio di metalli. L'assorbimento di metalli dipende dalla forma chimica presente nel sistema e ciò si ripercuote sulla vita delle macrofite. L'aumento della concentrazione di cromo nell'acqua può aver effetti sul metabolismo delle piante acquatiche influenzando per esempio sulla crescita andando ad alterare cicli biochimici nell'organismo. Valori di EC50 per alcune specie acquatiche sono segnalati con effetti che riguardano per esempio l'alterazione dell'attività fotosintetica (Chandra e Kulshreshtha, 2004).

Per ottenere un quadro completo della disponibilità totale dei metalli pesanti in un ambiente acquatico si utilizzano anche biomarkers che rispondono in modo differente alle varie sorgenti di metalli pesanti biodisponibili (Rainbow, 1995).

I biomarkers sono definiti come indicatori biochimici, fisiologici o istologici che segnalano l'esposizione o l'effetto di sostanze inquinanti a livello di organismo e suborganismo. L'utilizzo di biomarkers non sostituisce le strategie chimiche e tossicologiche, ma le completa fornendo loro informazioni qualitative e semiquantitative sul danno e la sua natura. Il biomonitoraggio di ecosistemi, quali lagune costiere, si basa sulla scelta di organismi sentinella e biomarkers, quindi integra i dati biologici e geochimici dei sedimenti raccolti (Donnini et al., 2007).

Tuttavia, l'individuazione di potenziali biomarkers per il biomonitoraggio delle lagune costiere ha destato minore interesse.

Osservando le concentrazioni del Cr nei tessuti di organismi acquatici si ottengono informazioni sull'eventuale bioaccumulo; l'organismo, con esperimenti condotto in vitro, viene esposto a concentrazioni note di cromo, spiked-sediment, in condizioni standard di pH, Eh, temperatura e nutrienti. Si passa poi ad analizzare la concentrazione del Cr totale e del Cr(VI) confrontandola con quelle presente nei tessuti degli stessi organismi, prelevati dai sedimenti in campo (Martello et al., 2007).

Numerosi lavori presenti in letteratura sulla tossicità del cromo riguardano il rapporto che intercorre fra questo metallo e i livelli di AVS.

Nei sedimenti anossici il cromo è molto instabile e gli AVS si formano nei sedimenti che presentano condizioni di anossia. Sulla base di esperimenti presenti in letteratura, la presenza di alte concentrazioni di AVS nei sedimenti, diminuisce le concentrazioni di Cr(VI) e la mortalità degli organismi acquatici (Hansen et al., 2005). Una buona comprensione degli effetti biologici negativi del cromo nei sedimenti, ci permette di ricavare le concentrazioni che rappresentano un rischio per il benthos. Leslie et al. (1999) ha scoperto che un affluente sotto un impianto di trasformazione di sali di cromo sale era incapace di supportare la macrofauna bentonica, presumibilmente a causa della lisciviazione del cromo dai pali del magazzino lungo le rive dell'affluente, ma ha concluso che granparte del cromo potesse provenire dall'acqua piuttosto che dal sedimento.

Diversi altri studi hanno trovato elevate concentrazioni di cromo nei tessuti del benthos di sedimenti contaminati con alti livelli di cromo proveniente da attività minerarie (Bervoets et al., 1998) o da rifiuti di concerie (Catsiki et al., 1994), ma queste concentrazioni nei tessuti non erano collegate ad effetti biologici, forse per la forma chimica del cromo presente.

2 MATERIALI E METODI

2.1 La zona di studio

La Pialassa Baiona è una laguna salmastra localizzata lungo la costa adriatica; ha un'estensione di 1.596 ha, compresa fra il porto della città di Ravenna e la foce del fiume Lamone. Argini artificiali dividono la laguna in diversi specchi d'acqua poco profondi collegati da canali. Il ricambio idrico di alcuni stagni è controllato da dighe regolabili. I canali interni convergono in un canale principale collegato al mare attraverso il Canale Candiano (Figura 2.1)

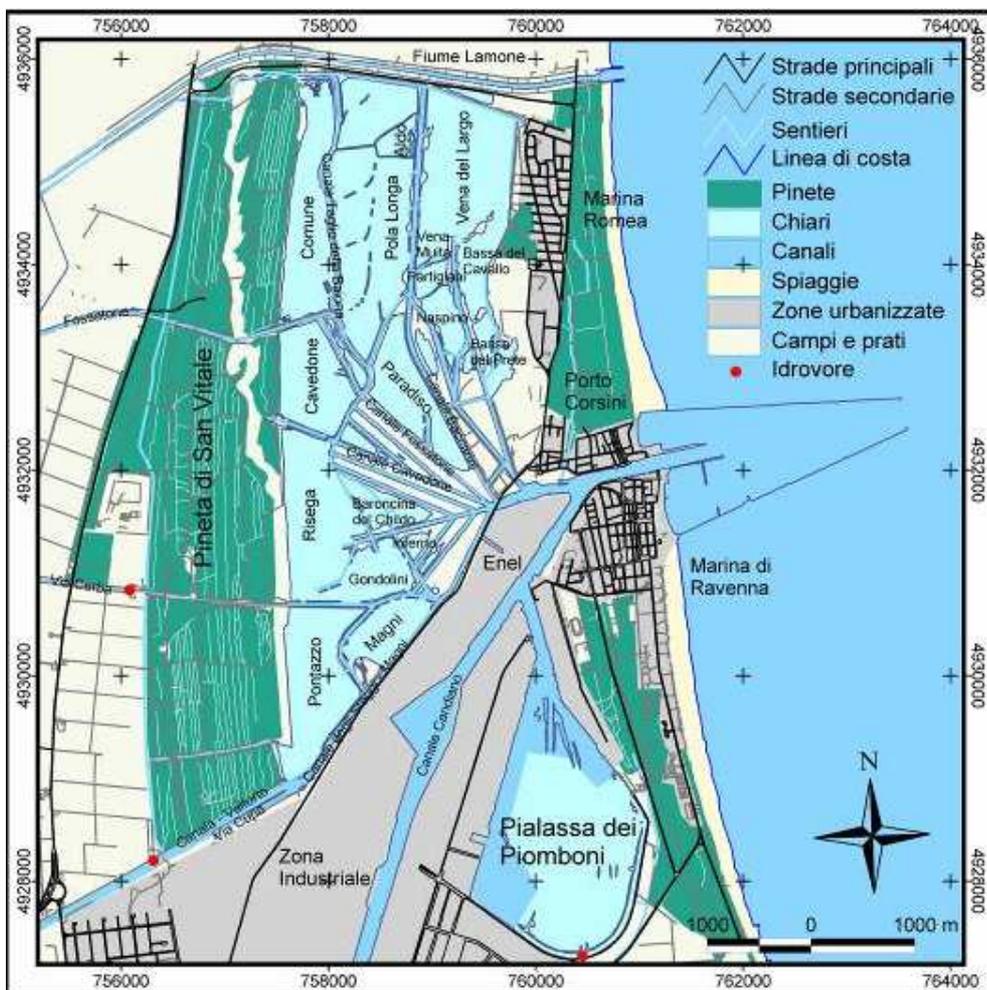


Figura 2.1 Mappa della Pialassa Baiona

La profondità media varia da 0,5 m in aree poco profonde a 3 m di canali con una gamma di marea che varia da 0,3 a 1 m, escludendo eventi estremi. Le Maree causano grandi variazioni nei

livelli di acqua e vaste aree poco profonde emergono durante la bassa marea. Il volume totale di acqua è ripartito equamente tra stagni e canali. Il clima della regione è mediterranea con influenze continentali. Le precipitazioni sono di circa 600 mm per anno, con picchi in tarda primavera e in autunno. La laguna riceve acqua dolce provenienti da cinque canali principali (Figura 2.1). Taglio della Baiona e Fossatone raccoglie l'acqua rilasciata dal bosco umido Punta Alberete originata dal fiume Lamone. Via Cerba, Canala - Valtorto e Via Cupa scaricano uno spartiacque di 264 km², compreso in aree urbane (9%) e agricole (87%). Il flusso d'acqua in due canali è controllato da stazioni di pompaggio. Inoltre, la laguna riceve acqua dolce da impianti di trattamento delle acque reflue urbane e industriali e acqua salata da due centrali elettriche che richiamano l'acqua come liquido di raffreddamento dal Canale Candiano alla laguna (EniPower ed Enel). La laguna quindi è influenzata da eutrofizzazione antropica, che provoca un'estesa crescita di alghe, in particolare la *Chlorophyceans Ulva*, *Enteromorpha* e la *Gracilaria rhodophyceans*. La crescita di macroalghe e le fioriture di fitoplancton, che occasionalmente si verificano in estate sono responsabili di eventi di anossia e distrofia. Le strutture e gli impianti per la depurazione delle acque reflue sono collocati nella parte finale del canale di Via Cupa e lungo il lato sud della laguna (Ponti et al., 2003). La laguna è caratterizzata da ampie zone di fondo fangoso, con percentuali variabili di argilla, limo e materia organica. Una pineta si estende lungo il bordo occidentale della laguna. Sedimenti sabbiosi sono abbondanti vicino alle dune relitte. Le dune sono coperte da una vegetazione alofila di *Salicornia* e *Arthrocnemum*. Gli argini sono coperti da vegetazione erbacea alofila. Ci sono canneti di *Phragmites australis*, zone marginali con *Juncus maritimus* e *J. acutus* prati umidi (Corbetta 1990; Corticelli et al 1999). La specie più abbondante nel fitoplancton è la diatomea *Skeletonema costatum*. Diatomee prevalgono dall'autunno alla primavera, mentre l'abbondanza di dinoflagellati sorge in estate. Le attività umane prevalenti nell'area sono la pesca sportiva, la raccolta di molluschi, la caccia, le escursioni e la canoa.

Il Piano Regolatore Generale (PGR) del comune di Ravenna include la Pialassa nell'ambito delle zone di tutela di vincolo L3 (zone umide: pialasse, valli, paludi), quindi qualsiasi opera che possa compromettere l'ecologia della zona, è vietata.

La Pialassa Baiona è inserita nella lista delle zone umide d'importanza internazionale ai sensi della Convenzione di Ramsar (D.M. 13 luglio 1981), è tra le zone protezione speciale (ZPS- direttiva 79/409 CEE) e tra i siti di interesse comunitario (SIC- direttiva 92/43/CEE).

In seguito ad una forte industrializzazione negli anni del boom economico, l'area ha risentito di considerevoli problemi d'inquinamento dovuti agli scarichi che le varie industrie riversavano al suo interno. Per questo motivo la Pialassa fa parte delle aree sensibili.

L'area è anche riconosciuta a livello nazionale come zona di Pre-Parco nel Parco del Delta del Po.

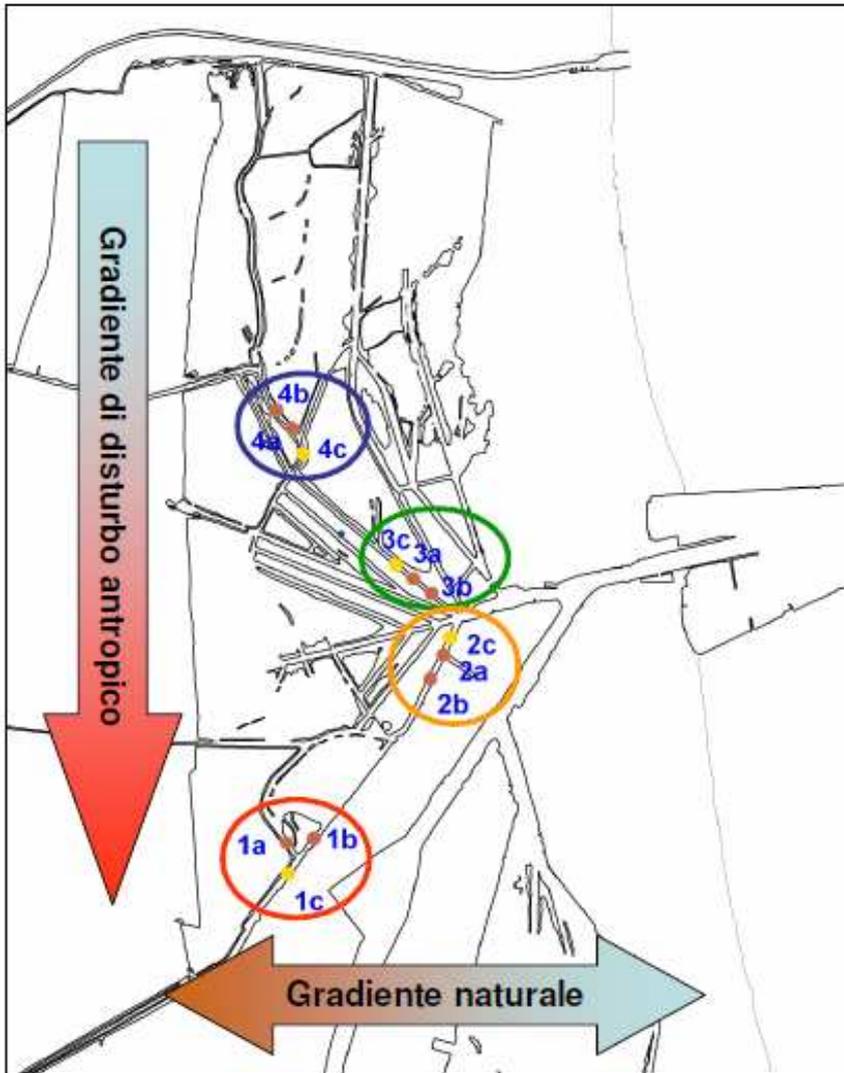
Studi compiuti in passato sui sedimenti della Baiona da Fabbri et al. (1998) hanno evidenziato la presenza di inquinanti quali mercurio, idrocarburi policiclici aromatici (PAHs). Le concentrazioni mostrano alti valori nella zona sud della laguna con una diminuzione spostandosi verso nord. Uno studio recente, Ponti et al. (2010) ha evidenziato come i sedimenti superficiali dell'area lagunare siano ancora contaminati da mercurio. Per quanto riguarda il cromo dalle analisi svolte da Donnini et al. (2007) risulta una concentrazione media di 245,4 mg/kg nella zona centro-sud, mentre Guerra et al. (2009) riporta una concentrazione media di 132 ± 31 mg/kg nella zona centro-nord della Pialassa Baiona.

2.2 Il campionamento

Il sistema lagunare della Pialassa Baiona risente di un gradiente naturale terra mare, tipico degli ambienti lagunari e di un gradiente antropico, legato alla vicinanza con il porto, con le centrali termoelettriche e con il polo industriale.

Tenendo conto della presenza di questi due gradienti il disegno di campionamento seguito è misto: ortogonale e gerarchico (Figura 2.2). Sono state identificate 4 aree di campionamento (1,2,3,4) l'area 1 e 2, vicino al disturbo antropico, localizzate lungo i canali Magni e Staggi, e le aree 3 e 4 lontano dall'influenza antropica, situate lungo i canali Fossatone e Taglio della Baiona. Per quanto riguarda il gradiente naturale le aree 2 e 3 risentono del gradiente terra mare e le aree 1 e 4 sono lontane. Per ciascuna area sono stati scelti casualmente 3 siti di campionamento (A,B,C) e per ogni sito 3 campioni replica per un totale di 36 campioni.

Una parte dei campioni raccolti sono stati essiccati a bassa temperatura $<40\text{C}^\circ$ e setacciati a $63\ \mu\text{m}$, mentre un'altra è stata congelata per le determinazioni di pH ed Eh.



2.2 Area e siti di campionamento con gradienti

2.3 *Analisi di laboratorio*

2.3.1 **Determinazione di pH ed Eh**

Prima di analizzare il contenuto di cromo nei campioni, sono stati misurati i valori di pH ed Eh, in questo modo si ottengono informazioni su fattori che determinano la speciazione e la mobilità degli elementi in traccia.

Seguendo il metodo analitico più ottimale alla matrice di indagine si pongono in agitazione per 1 ora 10 g di campione più 50 ml di acqua deionizzata allo scopo di separare le due fasi; successivamente si mettono i campioni in centrifuga per 10 minuti a 3000 giri/min al termine dei quali si hanno due fasi distinte. Dopo aver tarato il pHmetro e la sonda Eh (Figura 2.3), si immerge la sonda nella fase liquida e si procede alla lettura. Il valore di Eh è espresso in mV dove E rappresenta il valore della f.e.m. (Istituto di ricerca sulle acque, 2006).



Figura 2.3 Sonde Eh e pHmetro

2.3.2 Mineralizzazione dei campioni

I metalli possono essere presenti sia nella fase liquida sia nella fase solida; pur non essendoci nella realtà separazioni nette tra disciolto e particolato, ma piuttosto un “continuo” di dimensioni, nella pratica si sono adottate per convenzione le seguenti definizioni:

- metallo disciolto: il metallo presente nella fase liquida di un campione non acidificato passato attraverso un filtro avente una porosità di 0,45 µm;
- metallo sospeso (o in sospensione): il metallo presente nella fase solida di un campione non acidificato trattenuta da un filtro avente porosità di 0,45 µm;
- metallo totale: la somma delle concentrazioni del metallo disciolto e del metallo sospeso;
- metallo estraibile con acido: la concentrazione di metallo in soluzione dopo trattamento di un campione non filtrato con acido. Questo trattamento può essere più o meno forte, secondo lo scopo delle indagini; ovviamente quanto più il trattamento è forte, tanto più la concentrazione del metallo estraibile con acido diventa prossima alla concentrazione del metallo totale.

La mineralizzazione consiste in una digestione con una miscela di acidi concentrati a caldo in recipienti chiusi o aperti di campioni tal quali per portare in soluzione i metalli associati al particolato o presenti in forma colloidale e/o organica. La digestione di campioni tal quali, che può avvenire con modalità più o meno drastiche, dà una stima del metallo totale, che è funzione oltre che delle condizioni sperimentali anche delle proprietà specifiche del metallo. I metalli così ottenuti possono essere analizzati con spettrometria di assorbimento atomico in fiamma (FAAS), mediante atomizzazione elettrotermica con fornello di grafite (GF-AAS), spettrometria di emissione atomica al plasma ICP-OES o spettrometria di massa ICP-MS.

Per l'analisi del cromo totale, il metodo prevede la digestione totale del sedimento mediante mineralizzazione con una miscela di acidi forti a caldo secondo la metodica EPA 3052 modificata (U.S. EPA, 2007a).

Un altro metodo utilizzato è la digestione in acqua regia, che non è totale, infatti la frazione solubile in acqua regia rappresenta il contenuto di metalli presenti nel suolo, ma esclude quelli legati ai silicati. In questo lavoro di tesi i campioni di sedimento sono stati disgregati su piastra a caldo con acqua regia, una miscela di HNO₃/HCl (1:3) di grado analitico. In ogni batch di digestione sono stati trattati 10 campioni di sedimento più un bianco di laboratorio. Un'aliquota di

sedimento secco di circa 0,5 g è stata pesata, introdotta in tubi di vetro, ed addizionata con 5 ml di acqua regia; successivamente su ogni tubo di reazione viene montato un refrigerante a ricaduta. Il campione di sedimento è stato poi digerito per 6 ore su di una piastra riscaldante a 85 ± 2 °C. Una volta raffreddato, l'estratto del campione è stato filtrato con filtri Whatman 42, portato a volume di 50 ml e conservato a 4 °C fino al momento dell'analisi.

2.3.3 Analisi strumentale

Le analisi successive sono state svolte allo strumento di assorbimento atomico in fiamma (PerkinElmer AAnalyst 100) per misurare le concentrazioni di cromo digerito in acqua regia.

A seconda della concentrazione attesa per l'elemento in esame, si può scegliere quella tecnica sia ottimale, assorbimento atomico in fiamma o la più sensibile atomizzazione elettrotermica .

Lo stadio più difficile nei processi di assorbimento atomico è certamente rappresentato dalla conversione del metallo dallo stato ionico o molecolare allo stato atomico. Questo viene realizzato nel bruciatore. Esistono sostanzialmente due differenti tipi di bruciatore: il bruciatore a consumo totale ed il bruciatore a flusso laminare o con camera di premiscelazione. Nel primo il gas combustibile ed il gas ossidante (di supporto) vengono mescolati e bruciati in corrispondenza della punta del bruciatore. Il campione è aspirato nella fiamma per "effetto Venturi" dal gas di supporto. Nel secondo tipo il gas combustibile e quello di supporto vengono mescolati in una camera prima di entrare nella testa del bruciatore. Anche in questo caso il campione viene aspirato per "effetto Venturi" attraverso un capillare usando per l'aspirazione il gas di supporto. Generalmente tutti i tipi di bruciatore consentono degli aggiustamenti rotazionali e verticali per scegliere l'area di assorbimento più sensibile della fiamma in relazione all'elemento in esame. L'aggiustamento verticale è probabilmente quello che conta di più nel passaggio da un elemento ad un altro. Il sistema di atomizzazione con fiamma (aria-acetilene, aria-protossido d'azoto con i quali si raggiungono temperature, rispettivamente, di 2200°C e 2600°C, sufficienti per la formazione di un vapore atomico) può essere vantaggiosamente sostituito da quello che impiega un fornetto di grafite.

Per eseguire misure di assorbimento atomico allo scopo di determinare la concentrazione di un elemento è necessario disporre di: una sorgente che emetta la radiazione di risonanza dell'elemento, un dispositivo per polverizzare e vaporizzare la soluzione, uno spettrofotometro per isolare la radiazione di risonanza assorbita e per misurare l'intensità prima e dopo il passaggio attraverso il vapore atomico. La sorgente di emissione più comunemente impiegata è la lampada a catodo cavo, un'ampolla di vetro, internamente speculare, all'interno della quale si provoca una scarica elettrica in atmosfera di gas rarefatto (2-3 mm di Hg) mediante due elettrodi (un anodo costituito generalmente da una bacchetta di tungsteno ed un catodo costituito da un cilindretto cavo del metallo che interessa determinare) fra i quali si stabilisce una differenza di potenziale di qualche centinaio di volts di corrente continua livellata. Lo spettro emesso dipende dal potenziale di

eccitazione del gas raro (argon, elio) presente nell'ampolla. Per ogni elemento da determinare è quindi necessaria una lampada diversa.

Esistono lampade per singoli elementi e lampade multielemento fino a 6 elementi per lampada.

Le analisi dei campioni sono state precedute da una serie di prove preliminari per il controllo dell'accuratezza e della precisione della metodica di estrazione effettuata con acqua regia ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$). Le prove sono state condotte estraendo il materiale *IAEA 2010-02 (Sewage sludge, International Atomic Energy Agency)*, utilizzato per un il test di intercalibrazione internazionale della IAEA, per 2 e 6 ore a $80 \pm 5^\circ\text{C}$ su piastra riscaldante.

Una serie di ulteriori prove di estrazione in acqua regia sono state condotte anche con il materiale certificato *BCR-146R (Sewage sludge from industrial origin, European Commission – Institute for Reference Materials and Measurements)*, per le quali sono state certificate le concentrazioni di metalli estraibili in acqua regia.

All'inizio di ogni sessione analitica lo strumento viene calibrato misurando l'assorbanza di soluzioni standar di metalli con concentrazioni note, ed un bianco, preparate da una soluzione multielemento certificata (1000 ppm); i risultati di assorbanza sono stati riportati in un grafico assorbanza/concentrazione corrispondente, per ottenere una retta di calibrazione. La figura 2.4 riporta una retta di calibrazione del cromo eseguita con l'analisi di soluzioni standar di metalli a concentrazioni di 0,1,2 ,5,10 ppm.

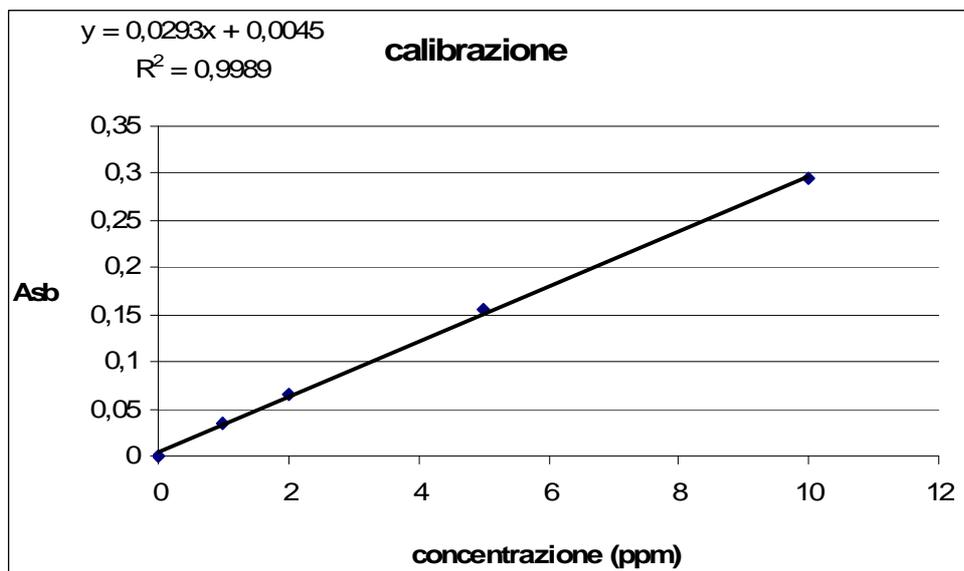


Figura 2.4 Retta di calibrazione del cromo

L'intensità dei segnali misurata nei campioni analizzati, ha permesso per interpolazione della retta di calibrazione di ottenere le concentrazioni del cromo.

2.3.4 Determinazione del cromo esavalente

Per estrarre il Cr(VI) nei campioni di sedimento, è stato utilizzato il metodo EPA 3060A (US EPA, 1996) che consiste in una digestione in ambiente alcalino per solubilizzare le forme solubili e insolubili in acqua di Cr(VI) presenti in campioni solidi di suolo e sedimento. La metodica di estrazione impiegata consiste in una digestione a caldo di un'aliquota del campione di sedimento (2,5 g) a temperatura controllata, compresa tra 90 e 95 °C, per 60 minuti mediante una soluzione estraente basica (0.28 M Na₂CO₃/0.5 M NaOH) (Figura 2.5).



Figura 2.5 Estrazione alcalina su piastra riscaldante

L'estratto del campione è stato successivamente raffreddato, filtrato su filtri di carta Whatman 42 e portato ad un pH compreso tra 7.5 ± 0.5 con acido nitrico 5 M.

L'aggiunta di Mg²⁺ e di un tampone fosfato alla soluzione alcalina, in accordo alla metodica EPA 3060A, hanno evitato la sovrastima del Cr(VI) presente nei campioni dovuta all'ossidazione del cromo trivalente a cromo esavalente che può verificarsi durante la digestione alcalina.

Altri composti possono interferire nella determinazione analitica del Cr(VI) estratto mediante digestione alcalina; infatti il Cr(VI) può reagire con numerosi riducenti inorganici come Fe(II) e solfuro, ed organici, come acidi umici e fulvici. È da tenere presente che le sostanze umiche ed il ferro rappresentano componenti basilari di suoli e sedimenti e possono essere da questi facilmente rilasciati in processi di digestione effettuati in condizioni nettamente alcaline.

Per la determinazione del Cr(VI) invece in matrici solide il metodo è quello indicato dalla EPA Method 7196 (USEPA, 1995). Il metodo si basa sulla reazione del Cr(VI) con difenilcarbazide (DPC) a pH 2.0 ± 0.3 dove si viene a formare un composto che assorbe ad una lunghezza d'onda di

540 nm. Questo metodo spettrofotometrico ha il pregio di essere semplice, selettivo ed estremamente sensibile ma risente di due tipi di interferenze:

- Positive, quelle dovute alla presenza di specie che assorbono a 540 nm.
- Negative, quelle legate alla presenza di riducenti in grado di ridurre il Cr(VI) a Cr(III) ai valori di pH previsti dal metodo.

Al primo gruppo di interferenti appartengono alcuni metalli. Tra questi, Mo(VI) e mercurio, che formano con DPC complessi che danno luogo a significativa interferenza quando presenti in concentrazioni molto elevate (200 mg/L), il vanadio che interferisce quando la sua concentrazione è 10 volte superiore a quella del Cr(VI), il Fe(III), che, a concentrazioni superiori a 1 mg/L, fornisce valori di assorbenza apprezzabili a 540 nm. Al secondo gruppo appartengono quei composti che reagiscono con il Cr(VI) in ambiente acido trasformandolo in Cr(III) e sottraendolo alla reazione con DPC. Perossido di idrogeno, Fe(II), solfuro, solfito, numerosi composti organici rappresentano possibili riducenti del Cr(VI) nelle condizioni di applicazione del metodo.

Per la messa a punto e la verifica della metodica adottata in questo lavoro di tesi sono state effettuate una serie di prove preliminari di laboratorio con campioni solidi di diversa natura ai quali sono state aggiunte aliquote note di Cr(VI). Tali campioni sono stati successivamente analizzati con la metodica impiegata per i campioni di sedimento al fine di determinare precisione, accuratezza e recupero del metodo.

2.3.4.1 Procedura di estrazione (EPA Method 3060A)

1. Si pesano 2.5 ± 0.1 g di campione solido direttamente in una beuta da 250 ml o in una navicella da pesata;

2. Si aggiungono 50 ml di soluzione alcalina con un cilindro graduato, 0,9 g di $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ anidro, poi 0,5 ml di tampone fosfato.

3. Si mettono immediatamente in agitazione le beute su piastre riscaldanti, con ancorette e termometro; si porta gradualmente la temperatura fino a $90^\circ C$ poi si copre con vetrini d'orologio mantenendo a $90^\circ C$ (max $95^\circ C$) per 60 minuti. Si spegne e si tolgono le beute dalle piastre per raffreddarle, si estraggono le ancorette e i termometri sciacquando con poca acqua deionizzata.

4. Si filtra con carta Whatman 42 e si raccoglie l'estratto, ottenuto in condizioni fortemente alcaline, nelle beute con acqua deionizzata; si aggiungono le ancorette e si mette in agitazione; si passa alla correzione di pH a 7.5 ± 0.5 con HNO_3 5M. Il pH non deve andare fuori dall'intervallo di 7-8, altrimenti bisogna estrarre nuovamente il campione; si aggiunge acqua deionizzata sino a raggiungere un volume di 80 ml e si procede con la seconda correzione di pH a 2.0 ± 0.5 con H_2SO_4 1:1; infine si porta a volume finale con acqua deionizzata in matracci da 100 ml.

5. Si preparano degli spike, aggiungendo direttamente 1 ml di soluzione di Cr(VI) 100 mg/l al campione pesato nelle beute e si procede con le già citate operazioni di digestione alcalina.

2.3.4.2 Procedura analitica (EPA Method 7196)

Ad ogni sessione di lavoro si preparano gli standard di calibrazione a 0-100-250-500-750-1000 $\mu\text{g/l}$ di Cr(VI) introducendo 95 ml di acqua deionizzata in matracci tarati da 100 ml e aggiungendo rispettivamente 100-250-500-750-1000 μl di soluzione di Cr(VI) a 1000 $\mu\text{g/l}$. Successivamente si aggiunge 1 ml di H_2SO_4 1:1 e si porta a volume con acqua deionizzata. La determinazione colorimetrica del Cr(VI) viene effettuata mediante l'aggiunta di 2 ml di difenilcarbazide (DPC) in acetone (Figura 2.6)



Figura 2.6 Soluzione di calibrazione a 100-250-500 $\mu\text{g/l}$ di Cr(VI) con DPC

Dopo un tempo di attesa di 15 minuti vengono effettuate le letture allo spettrofotometro (HATCH DR/2010) a 540 nm utilizzando celle con cammino ottico di 10 mm. Lo strumento viene preliminarmente azzerato mediante la misura di un bianco preparato con acqua deionizzata e H_2SO_4 . La retta di calibrazione viene costruita mediante la lettura dell'assorbanza delle soluzioni di calibrazione a concentrazione nominale nota.

Se la curva di calibrazione mi restituisce un valore di R^2 accettabile si passa alla lettura dei campioni con la stessa metodica utilizzata per la retta di calibrazione. Ad ogni estratto del campione o una sua aliquota opportunamente diluita a volume finale di 100 ml, si aggiungono 2 ml di DPC, e dopo un tempo di attesa di 15 minuti e si procede con le letture allo spettrofotometro.

3 RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 *Analisi del cromo nei materiali certificati*

Dall'analisi dei dati ottenuti con il materiale IAEA 2010-02 (*Sewage sludge*, International Atomic Energy Agency) si può osservare che l'accuratezza della metodica di estrazione in acqua regia è risultata soddisfacente per Cd, Cu, Ni, Pb e Zn, con % di recupero che variano dal 90 al 120% (Tabella 3.1). Non sono state osservate particolari differenze prolungando il tempo di estrazione da 2 a 6 ore. Anche la precisione della metodica è risultata più che soddisfacente, con una deviazione standard percentuale (Coefficiente di variabilità, CV) tra le repliche che è risultata inferiore al 5% per tutti i metalli analizzati.

Per quello che riguarda il Cr, la % di recupero pur risultando soddisfacente rispetto ai valori certificati, è risultata leggermente inferiore a quella ottenuta per gli altri metalli e a quella ottenuta con il materiale certificato BCR-146R (Tabella 3.1 e Tabella 3.2). Questo effetto potrebbe essere dovuto alla diversa composizione del materiale IAEA-2010-02 rispetto al BCR-146R, dove la dissoluzione in acqua regia è risultata più efficace per portare in soluzione il Cr presente nella matrice solida. Inoltre, per il materiale BCR-146R si fa riferimento alle concentrazioni certificate ottenute mediante dissoluzione in acqua regia, mentre per il materiale IAEA-2010-02 si fa riferimento alle concentrazioni certificate ottenute con una dissoluzione totale del materiale.

Per gli altri metalli (Cd, Cu, Ni, Pb e Zn), le % di recupero ottenute con il materiale BCR-146R sono risultate confrontabili a quelle ottenute con il materiale IAEA 2010-02 (Tabella 3.2). Anche la precisione del metodo in questo caso è risultata più che soddisfacente con un CV tra le repliche compreso tra 1 e 3% per tutti i metalli analizzati, confermando l'efficacia della metodica di estrazione in acqua regia impiegata in questo lavoro di tesi.

Tabella 3.1 Analisi dei metalli nel materiale certificato IAEA 2010-02 riportate come media e deviazione standard. Le prove sono state condotte estraendo 4 repliche di campione per ogni tempo di estrazione.

	Concentrazioni misurate				Concentrazioni certificate
	Tempo di estrazione				
	2 ore		6 ore		
	mg/kg	Recupero (%)	mg/kg	Recupero (%)	mg/kg
Cd	2,18 ± 0,12	120	2,19 ± 0,03	120	1,78 ± 0,12
Cu	291 ± 4	90	287 ± 1	90	310 ± 14
Cr	78 ± 3	70	75 ± 1	70	110 ± 7
Ni	80 ± 1	100	83 ± 3	110	80 ± 5
Pb	117 ± 7	120	104 ± 2	105	100 ± 4
Zn	1810 ± 52	100	1870 ± 48	105	1800 ± 60

Tabella 3.2 Analisi dei metalli nel materiale certificato BCR-146R riportate come media e deviazione standard. Le prove sono state condotte estraendo 4 repliche di campione per 6 ore.

	Concentrazioni misurate		Concentrazioni certificate
	mg/kg	Recupero (%)	mg/kg
Cd	12,9 ± 0,2	70	18,4 ± 0,4
Cu	768 ± 3	90	831 ± 16
Cr	147 ± 2	85	174 ± 7
Ni	48,7 ± 0,6	75	65.0 ± 3.0
Pb	547 ± 8	95	583 ± 17
Zn	3110 ± 49	100	3040 ± 60

3.2 *Analisi del cromo nei sedimenti*

Le concentrazioni di cromo misurate nei campioni di sedimento della Pialassa Baiona sono riportate in Tabella 3.3 e Figura 3.1. Tali valori fanno riferimento all'estrazione effettuata con acqua regia e successiva determinazione analitica degli estratti di sedimento in assorbimento atomico in fiamma.

Dall'analisi dei risultati ottenuti riportati si può osservare come le concentrazioni di cromo presenti nei sedimenti risultino più elevate nella zona sud della Pialassa Baiona (Figura 2.3) (Tabella 3.3), dove gli impatti antropici dovuti a sorgenti diffuse e sorgenti puntuali di inquinamento, quali per esempio la presenza del polo industriale, hanno quasi certamente contribuito ad un innalzamento dei livelli di questo metallo nel sedimento rispetto ad altre zone meno soggette all'influenza delle attività antropiche.

Nell'area di campionamento 1, le concentrazioni variano da un minimo di 38 ad un massimo di 81 mg/kg con un valor medio di 56 ± 14 mg/kg. Nelle restanti aree 2, 3 e 4, tali valori variano in un intervallo di concentrazioni di 14 – 28, 16 - 25 e 16 – 28 mg/kg, rispettivamente, con valori medi di concentrazione sensibilmente inferiori a quelli riscontrati nell'area 1 e pari a 20 ± 5 , 21 ± 3 e 23 ± 4 mg/kg rispettivamente. Le concentrazioni maggiori sono state rilevate nei campioni di sedimento 1Ad e 1Cb (68 e 81 mg/kg) localizzati nella zona più a sud della Pialassa Baiona, soggetta ad influenza di fattori antropici e lontano dal mare, mentre le concentrazioni minori sono state misurate nei campioni di sedimento 2Aa, 2Ab e 2Cc (15, 15 e 14 mg/kg, rispettivamente) localizzati nella zona vicino al disturbo antropico e soggetta all'influenza del mare (Tabella 3.4 in allegato).

Come ci si poteva aspettare, i valori di concentrazione di Cr ottenuti con la dissoluzione in acqua regia sono risultati inferiori al contenuto totale del metallo ottenuto mediante disgregazione dei campioni con una miscela di HNO₃/HCl/HF (Tabella 3.3, Figura 3.1). Infatti, la dissoluzione in acqua regia (HNO₃/HCl 1:3 w/v) viene considerata indicativa delle concentrazioni ambientali dei metalli in matrici solide quali suoli e sedimenti o *environmental available* come indicato in EPA Method 3050b (US EPA, 1999), mentre la disgregazione con aggiunta HF viene considerata indicativa del contenuto totale dei metalli nei sedimenti, inclusa la frazione residuale legata ai silicati.

In generale, le concentrazioni di cromo determinate in questo lavoro di tesi risultano inferiori al valore mediano tipico dei sedimenti dell'Adriatico (85.8 mg/kg, De Lazzari et al., 2004),

ad eccezione dei valori più elevati ritrovati nell'area soggetta al disturbo antropico che risultano confrontabili con quelli determinati nei campioni superficiali di sedimento misurati in prossimità del Delta del Po con la stessa metodica di estrazione in acqua regia (Fabbri et al., 2001).

Tabella 3.3 Concentrazioni di cromo (estratto in acqua regia) nei campioni di sedimento della Pialassa Baiona. Le concentrazioni sono riportate in mg/kg ed espresse come media ed errore standard ($n = 3$).

	Cr aqua regia		Cr totale ¹		Cr(VI)	
	Media	err.st	media	err.st	Media	err.st
1A	62	4.9	120	2.0	1.7	0.1
1B	43	4.2	93	2.2	1.4	0.1
1C	63	9.9	119	11.9	1.1	0.2
2A	16	1.7	63	3.4	0.6	0.2
2B	26	1.2	71	0.7	1.0	0.1
2C	17	1.4	62	4.2	1.1	0.1
3A	19	1.8	73	3.5	0.7	0.0
3B	23	0.8	75	3.5	0.6	0.1
3C	21	0.8	78	3.2	0.8	0.0
4A	26	0.7	96	0.5	0.6	0.1
4B	22	3.4	84	0.3	1.8	0.3
4C	20	0.7	78	3.0	1.4	0.1
Mediana	22,8		80.8		1,0	
Range	14,4 – 81,4		53,3 – 142		<0,4 – 2,1	
ER-L	81					
ER-M	370					
TEL	52,3					
PEL	160					

¹ Contenuto totale di cromo determinato con disgregazione a caldo in forno a microonde con una miscela di HNO₃/HCl/HF (Bonaiuti, 2011)

I livelli di cromo nei sedimenti della Pialassa Baiona determinati in questo lavoro di tesi sono risultati confrontabili o superiori a quelli rilevati in lagune costiere contaminate, quali la laguna Ria Formosa in Portogallo (0,5 – 31,4 mg/kg; Bebianno, 1995), la laguna Thau in Francia (13.3 – 38.2 mg/kg; Rigollet et al.; 2004), di quella di Oualilia localizzata nella costa atlantica del Marocco (46 – 62 mg/kg; Zourarah et al., 2007), e quella Nador sulla costa mediterranea del Marocco (55 ± 24 mg/kg; Bloundi et al., 2009), la laguna di Venezia (10.5 – 29.7 mg/kg e 14 – 66 mg/kg; Coccioni et al., 2009; Zonta et al., 2007), le lagune di Orbetello e Lesina (10 – 57 mg/kg; Frontalini et al., 2010) e quella di Santa Gilla a Cagliari (12 -53 mg/kg; Frontalini et al., 2009). Al contrario, le concentrazioni di cromo sono risultate inferiori a quelle rilevate nelle lagune di Szczecin in Polonia (97 – 128 mg/kg; Glasby et al., 2004), di Berre, in Francia (38 – 428 mg/kg; Accorsero et al., 2008) e di Rodrigo de Freitas a Rio de Janeiro (10 – 152.5 mg/kg; Gutterres Villa; 2011), quest'ultima contaminata da scarichi civili.

Altre attività antropiche possono rappresentare una sorgente di contaminazione da cromo nei sedimenti. Infatti, nel lavoro di Hon Wah Lam et al. (1997) è stata valutata la distribuzione e i livelli di contaminazione dei sedimenti nell'area costiera di Hong Kong mediante estrazione sequenziale dei metalli derivanti dalle numerose attività industriali presenti in quest'area, tra i quali figura il cromo. L'indagine ha riguardato due differenti corpi idrici, il Porto Victoria che è quello principale della città attorno al quale vivono 6 milioni di persone e riceve scarichi industriali e civili, e il Porto di Tolo dove vivono 0,7 milioni di persone, interessato più marginalmente da scarichi domestici e industriali. I risultati di questo studio mostrano come il contenuto di cromo legato alla fase labile dei sedimenti e quindi biodisponibile, sia significativamente più alto nel Porto di Victoria. Questi risultati hanno mostrato come i diversi regimi di scarichi rappresentino la sorgente di contaminazione da cromo rilevata nei sedimenti.

Nella costa orientale del Qatar sono state individuate diverse fonti di contaminazione da cromo dovute alla presenza di impianti di smaltimento di rifiuti solidi, di porti mercantili e di scarichi in acque superficiali (Dahab et al., 1997). Le concentrazioni di cromo nelle acque e nei sedimenti provenienti da siti adiacenti all'impianto di smaltimento sono, infatti, risultate più elevate (36 - 46 mg/kg) rispetto ad altre aree della costa; inoltre è stato osservato come i livelli di cromo decrescono andando verso mare evidenziando come l'area portuale rappresenti un'altra sorgente di contaminazione da cromo.

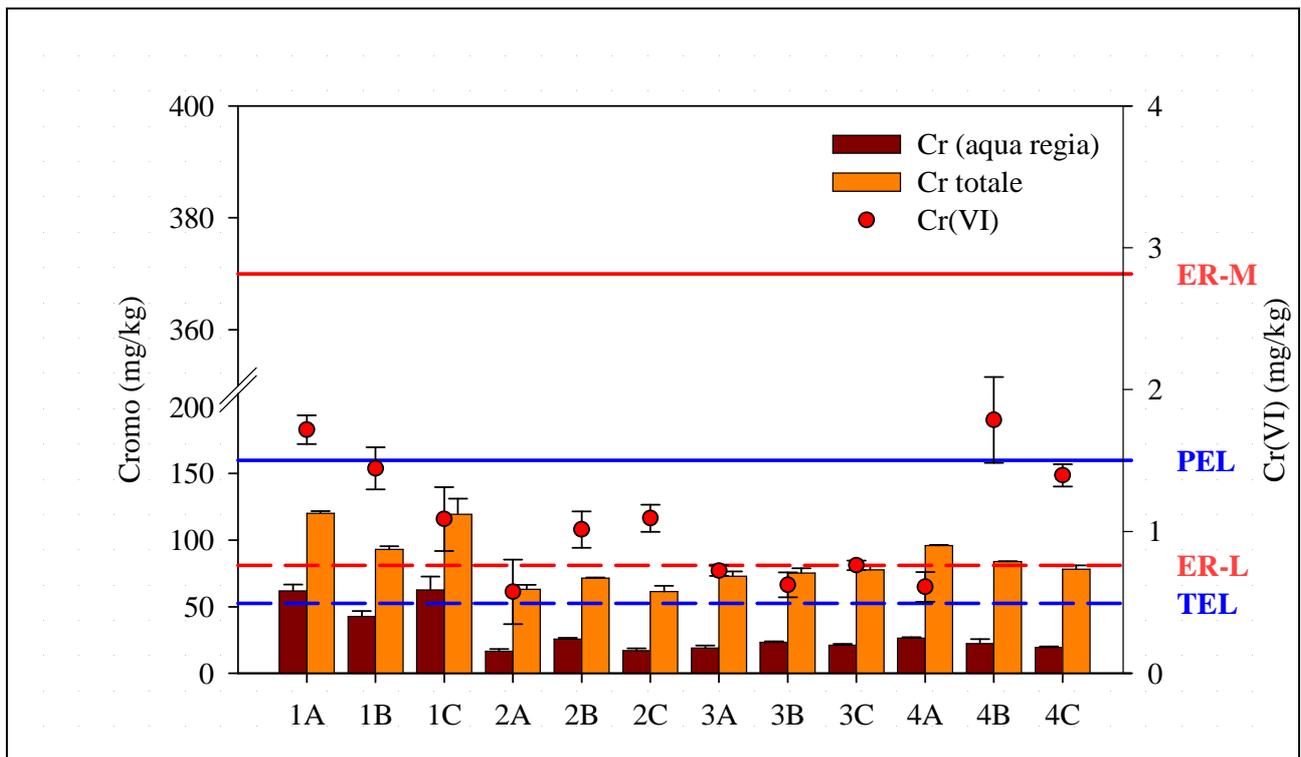


Figura 3.1 Concentrazioni di cromo estratto in acqua regia nei campioni di sedimento della Piasa Baiona. Il contenuto di cromo totale si riferisce ai risultati di un precedente lavoro dove la disagregazione dei campioni è stata effettuata con una miscela di $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{HF}$ (Bonaiuti, 2011). Le concentrazioni sono riportate in mg/kg ed espresse come media ed errore standard.

3.3 *Origine del cromo nei sedimenti*

3.3.1 *Evoluzione geologica delle pialasse*

L'attuale geografia dell'area è il risultato di una serie di modifiche dovute sia all'evoluzione naturale degli ambienti costieri, sia all'intervento dell'uomo. Dal punto di vista dell'evoluzione geomorfologica, l'area costiera ravennate rappresenta una zona di transizione fortemente condizionata dalle dinamiche fluviali in ambiente deltizio legate alla trasgressione Olocenica, successiva all'ultima glaciazione. Intorno a 5000-6000 anni fa, la linea di costa raggiunse un arretramento di circa 20 km rispetto a quella attuale. Successivamente gli apporti sedimentari del sistema deltizio del fiume Po, associato a quello degli attuali Fiumi Uniti, hanno determinato la progradazione della linea di costa ravennate sino a raggiungere le attuali posizioni. Questo ha portato alla formazione di una serie di cordoni litorali sabbiosi e retrostanti spazi lagunari progressivamente disattivati, colmati ed in parte sepolti. La Figura 3.2 mostra la tipologia di sedimenti presenti nell'area ed è possibile notare come nella zona della Pialassa Baiona si trovino depositi di palude salmastra (Buscaroli et al., 2011).

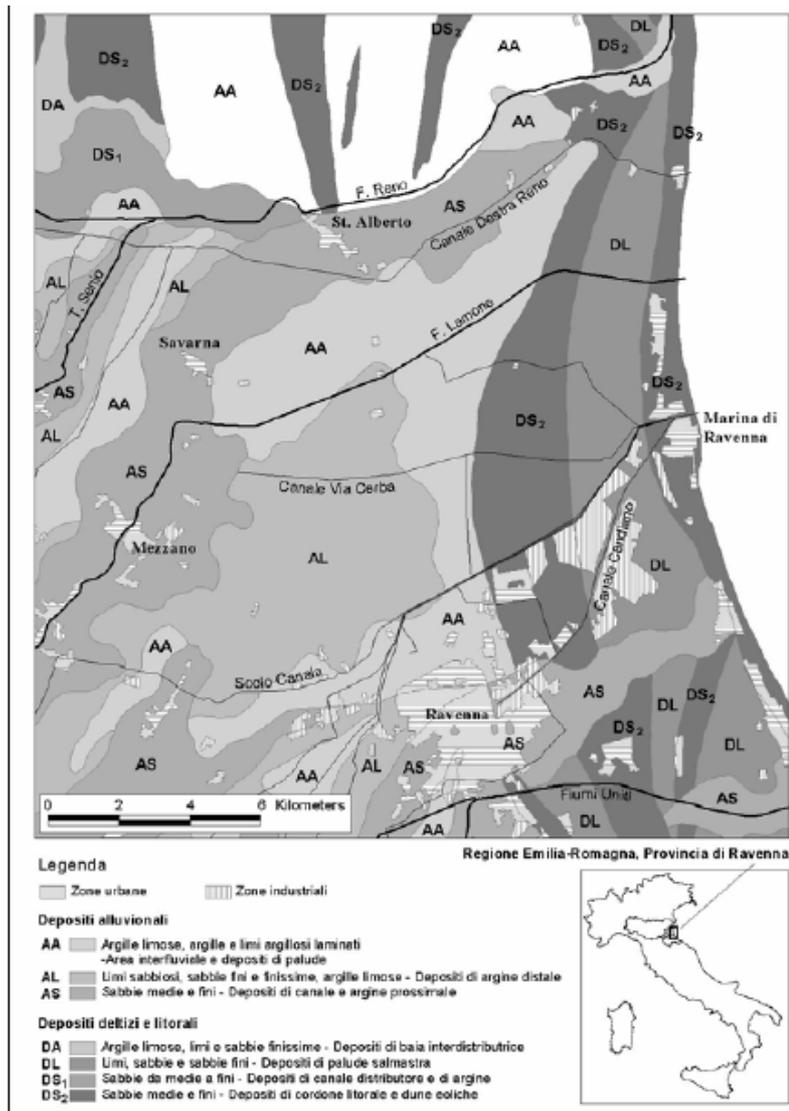


Figura 3.2 Geologia di superficie dell'area oggetto di studio (Dalla carta geologica della regione Emilia Romagna, scala 1:250.000).

Come è possibile notare dalla Figura 3.3. la linea di costa ha subito un'evoluzione nel corso del tempo dovuta sia ad eventi naturali che ad interventi antropici. I primi specialmente legati alle variazioni climatiche nel corso dei secoli (massimi e minimi climatici) ed alla subsidenza naturale (Bondesan, 1985), i secondi alle opere di regimazione delle acque (derivazione dei fiumi, bonifiche) (Nardi, 1987).

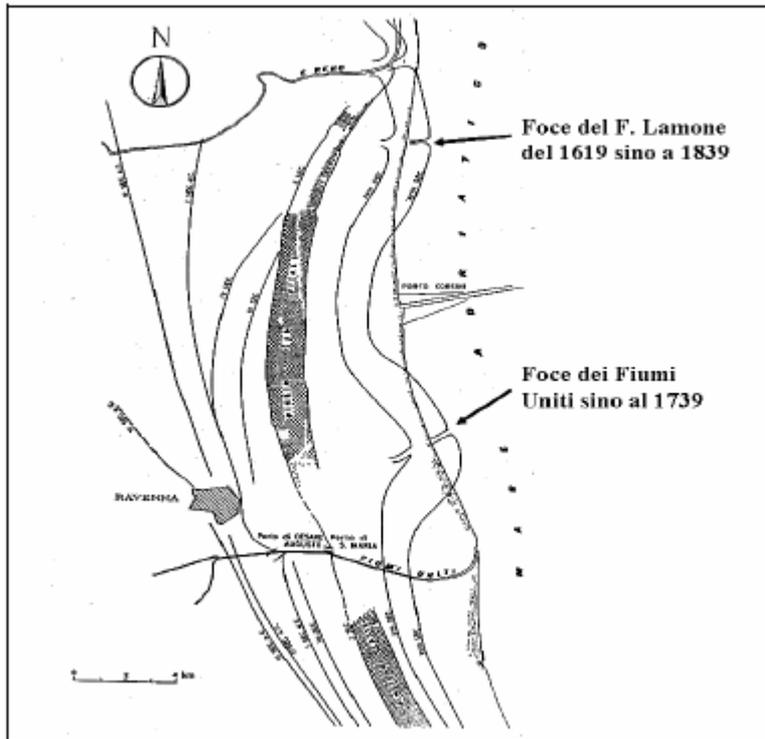


Figura 3.3 Evoluzione della linea di costa nel ravennate in epoca storica (Veggiani, 1974).

Le pialasse ravennate sono corpi idrici di formati nel XVIII sec. e la loro evoluzione è ben descritta da documentazioni archivistiche e topografiche (Veggiani, 1974). In tale periodo la progradazione del fiume Lamone a nord e dei Fiumi Uniti a sud portarono alla formazione di due grosse cuspidi (Figura 3.3). Dopo la deviazione dei Fiumi Uniti a sud di Ravenna la vecchia cuspidi venne rapidamente erosa ad opera della corrente di riva che proveniva da sud verso nord. I sedimenti furono trasportati a nord portando all'occlusione di un braccio di mare, dando così origine alle pialasse (Buscaroli et al., 2011).

3.3.2 Provenienza dei sedimenti

La zona di studio delle piassase per la sua posizione geografica e la sua evoluzione geologica è un'area dove si trovano sedimenti di origine appenninica apportati dai fiumi emiliani (Reno) e romagnoli (Lamone) e sedimenti più antichi derivanti dal sistema deltizio del Po (Po di Primaro). Uno studio svolto da Amorosi e Sammartino, (2007), evidenzia che il contenuto di Cr e Ni nei sedimenti del bacino del Po hanno valori di fondo superiori a quelli nazionali e infatti quelli più antichi derivati dal Po di Primaro presentano alte concentrazioni di questi due elementi.

Cr e Ni sono metalli indicatori per la provenienza dei sedimenti perché riflettono il contributo di minerali di rocce dove sono più presenti, per esempio rocce ultrafemiche derivanti dai complessi ofiolitici delle alpi occidentali ricadenti nel bacino idrografico del Po. Il bacino di drenaggio dei fiumi dei fiumi appenninici e romagnoli invece si sviluppa su un misto di torbiditi, strati di argille ed arenarie, infatti i sedimenti di origine appenninica presentano concentrazioni di cromo più basse. Per verificare l'origine dei sedimenti in letteratura sono riportati diversi indicatori geochimici quali il rapporto Cr/V, Ni/V e Cr/Ni (Amorosi e Sammartino, 2007). La tabella 3.5 mostra le medie dei rapporti Cr/V, Ni/V e Cr/Ni ottenuti con i valori misurati nei sedimenti della Pialassa Baiona.

Tabella 3.5 Medie dei rapporti Cr/V, Ni/V e Cr/Ni nei sedimenti della Pialassa Baiona

	sedimenti della Pialassa		
	Cr/Ni	Ni/V	Cr/V
media	1,94	0,86	1,63
dev.st	0,38	0,26	0,41

I valori del contenuto totale del cromo nei sedimenti della Pialassa Baiona (53.3 – 142 mg/kg) rientrano in parte nel range di quelli osservati per i sedimenti dei fiumi appenninici (106-111 mg/kg) (Dinelli et al. 1999), in quanto quelli di provenienza del Po sono sensibilmente più elevati (184-239 mg/kg). Se messi a confronto con i valori medi dei sedimenti presenti nell'Adriatico settentrionale si osservano invece delle discordanze secondo le fonti bibliografiche: il livello medio di Cr osservato nel presente studio ($84,3 \pm 23,5$ mg/kg) risulta simile a quello

osservato da De Lazzari et al. (2004) ($96,1 \pm 50,6$ mg/kg), ma maggiore rispetto a quanto indicato da Guerzoni et al. (1984) (44 mg/kg).

Osservando il grafico Cr/V nella Figura 3.4, il coefficiente di regressione lineare R^2 non è molto alto e la disposizione di diversi punti è un po' distante dalla retta, questo peraltro è messo in evidenza dai limiti fiduciali (L.F.) dell'intercetta, calcolati per un livello di incertezza $\alpha = 0,05$, i quali si trovano ad una certa distanza dalla retta di regressione. Tuttavia se confrontato con quelli ottenuti in altri studi svolti (Amorosi e Sammartino, 2007 e Buscaroli et al., 2010) (Figura 3.4) si osserva che i parametri che ne definiscono la retta di regressione, specialmente il coefficiente angolare basso, sono tali da ricondurre i sedimenti osservati ad un ambito di provenienza prevalentemente appenninica anziché deltizia.

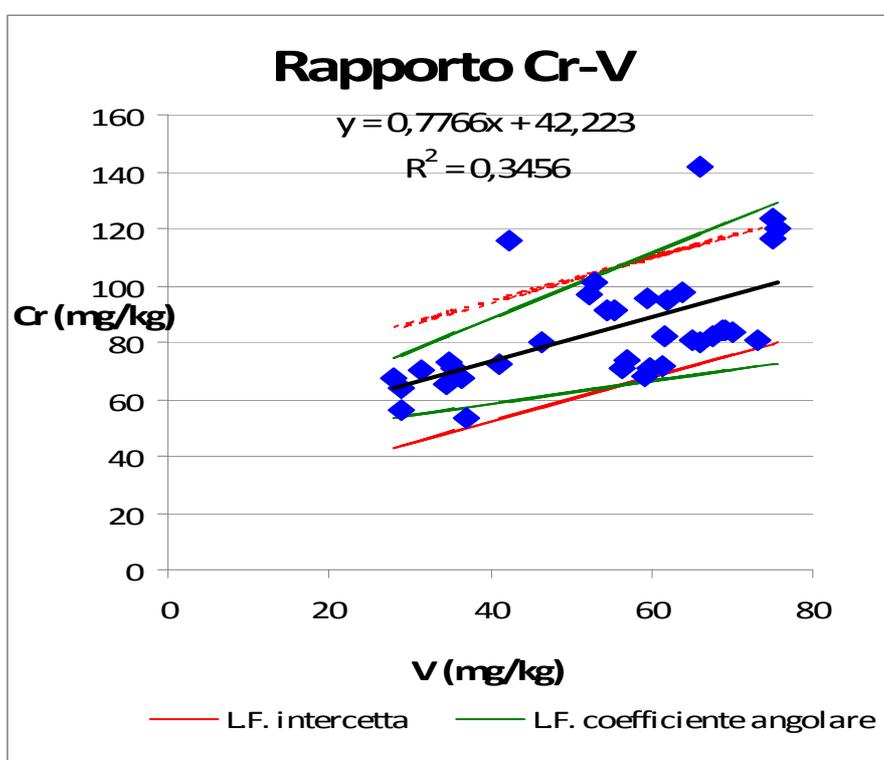


Figura 3.4 rapporto cromo vanadio sedimenti della Pailassa della Baiona.

Sebbene il rapporto Cr/V presenti una certa variabilità, nel complesso il suo valore medio (1,94) è più simile a quelli osservati da Dinelli et al (1999) e Amorosi et al. (2002) sui sedimenti dei fiumi appenninici di Reno, Lamone e Fiumi Uniti. I rapporti Ni/V (tabella 3.4) si possono confrontare con i rapporti dei dati numerici di Ni e V di Dinelli et al. (1999) misurati in sedimenti fluviali di Po e fiumi appenninici: si riscontra che la media dei rapporti Ni/V dei sedimenti della Pailassa (0.86) è più simile a quella dei sedimenti dei fiumi appenninici (0.66-0.73) come osservato in Dinelli et al (1999) e Amorosi et al. (2002) .

Anche i rapporti Cr/Ni dei sedimenti della Pialassa (Tabella 3.5) confrontati con i Cr/Ni trovati nei lavori Dinelli et al. 1999 e Amorosi et al 2002 presentano valori più simili a quelli dei fiumi appenninici.

In conclusione i valori di Cr e Ni e dei sopracitati indicatori geochimici, sono quindi in linea con quanto ottenuto nei lavori precedentemente svolti e sembrerebbero confermare l'ipotesi che la principale sorgente di apporto sedimentario sia da imputare ai fiumi appenninici. Questo sarebbe quindi in accordo con le informazioni storiche relative alla formazione della Pialassa dove peraltro l'intervento dell'uomo sulla deviazione del corso dei fiumi ha influito sull'apporto dei sedimenti dell'area.

Non è stato possibile utilizzare gli indici Cr/Al₂O₃ e Ni/Al₂O₃ perché, come già osservato da Bonaiuti (2009) per i medesimi dati, i valori di alluminio ottenuti con ICP sono molto più bassi rispetto a quelli ottenuti da Donnini et al. (2007) in Fluorimetria a Raggi X (XRF) su siti vicini e pertanto forniscono dei rapporti inattendibili.

3.4 *Analisi del cromo esavalente in campioni ambientali*

Sono state effettuate una serie di prove in replicato ($n=4$) per la determinazione del Cr(VI) utilizzando diverse matrici ambientali, in modo da verificare la precisione della metodica di estrazione alcalina e la determinazione spettrofotometrica (EPA 3060, 1996; EPA 7196, 1996). I campioni utilizzati sono stati un sedimento (Pialassa Baiona) e un rifiuto contaminato; su questi stessi campioni sono anche state misurate le concentrazioni di cromo mediante digestione in acqua regia. La tabella 3.6 raccoglie i risultati ottenuti per le concentrazioni di cromo e cromo esavalente dei campioni ambientali oggetto delle prove.

Le concentrazioni di cromo sono risultate pari a 360 ± 27 e 5800 ± 172 mg/kg, e quelle di cromo esavalente pari a $2,3 \pm 0,1$ mg/kg e 4140 ± 110 mg/kg, rispettivamente nei campioni di prova di sedimento e rifiuto.

Dall'analisi dei risultati, si può osservare che il coefficiente di variabilità ottenuto dalle analisi condotte in replicato varia da 3 a 7 % per il cromo, e da 3 a 9 % per la determinazione del Cr(VI) confermando la precisione di entrambe le metodiche su campioni ambientali di diversa tipologia e con concentrazioni variabili dell'elemento indagato.

Osservando il contenuto di cromo e Cr(VI) si nota come il loro rapporto vari notevolmente in base alla matrice ambientale analizzata; nel campione di sedimento, il cromo esavalente rappresenta una frazione ridotta rispetto al contenuto totale, mentre nel campione di rifiuto, la forma esavalente del cromo è quella predominante. Questi risultati sono in accordo a quanto ritrovato da numerosi autori in campioni di sedimento, dove la forma trivalente del cromo risulta essere la principale forma chimica di questo elemento.

Secondo Graham et al. (2010), Cr(III) è molto stabile nei sedimenti; per avvalorare tale ipotesi sono stati effettuati vari test per ricreare condizioni favorevoli all'ossidazione del Cr(VI) che non si è verificata. I campioni utilizzati in questa indagine sono sedimenti del porto di Baltimora dove si sono trovate alte concentrazioni di cromo ma bassi livelli di cromo esavalente. Le indagini condotte da Quafaku et al. (2010) hanno cercato di documentare il grado di riduzione del Cr(VI) e la sua mobilità all'interno di sedimenti contaminati; i risultati evidenziano la bassa concentrazione e mobilità del Cr(VI) nella matrice, dovute alla naturale presenza di agenti riducenti, come Fe(II)

legato ai minerali contenuti nel sedimento, che portano alla formazione di soluzioni solide di [Cr(III) Fe(III)].

Tabella 3.6 Analisi del contenuto di cromo e Cr(VI) in diverse tipologie di matrici ambientali. I risultati sono riportati come media e deviazione standard. Le prove sono state condotte estraendo 3 repliche.

Matrici ambientali	Cromo		Cr(VI)	
	mg/kg	CV (%)	mg/kg	CV (%)
Sedimento (Pialassa Baiona)¹	360 ± 27	7	2,3 ± 0,1	3
Rifiuto contaminato¹	5800 ± 172	3	4140 ± 110	3

¹ le digestione dei campioni è stata effettuata in acqua regia

3.5 *Analisi del cromo esavalente nei sedimenti*

Le concentrazioni di Cr(VI) misurate nei campioni della Pialassa Baiona sono riportate nella Tabella 3.3. Tali valori fanno riferimento all'estrazione effettuata con il metodo EPA 3060 (1996) e alla successiva analisi analitica con il metodo EPA 7196 (1996) adottata in questo lavoro di tesi.

In generale, dall'analisi dei valori ottenuti si può osservare come le concentrazioni di Cr(VI) nei sedimenti della Pialassa Baioni siano risultate basse, con valori leggermente più elevati in campioni delle aree 1 e 4. Il range delle concentrazioni di cromo esavalente delle quattro aree di campionamento va 0,4 mg/kg in un campione di sedimento del sito 2A (limite di rilevabilità) ad un massimo di 2,1 mg/kg in un campione del sito 4B. Per l'area 1 i valori appaiono più elevati, compresi fra un minimo di 0,6 mg/kg e un massimo di 1,9 mg/kg, in analogia con valori più elevati del contenuto di cromo misurato; infatti, questa zona è caratterizzata dall'influsso di impatti antropici dovuti a sorgenti diffuse e sorgenti puntuali di inquinamento. Le aree 2 e 3, che risentono del gradiente terra mare, presentano delle concentrazioni di Cr(VI) mediamente più basse rispetto all'area 1, con valori compresi fra 0,4 e 1,2 mg/kg. Ci si potrebbe aspettare che la componente tidale influenzi il potenziale redox favorendo condizioni ossidanti, in realtà diversi lavori hanno dimostrato che una volta che il Cr viene ridotto allo stato III di valenza è molto stabile e non c'è interconversione. Secondo (Magar et al., 2008) anche in condizioni ambientali ossidanti, favorite da eventi quali esposizione del sedimento all'aria durante fenomeni di bassa marea o risospensione di quest'ultimo durante eventi naturali di tempesta o attività antropiche come opere di dragaggio; le prove in laboratorio di risospensione e ossigenazione lo hanno dimostrato. Altri studi presenti in letteratura (Graham e Bouwer, 2010) riportano che la riduzione del Cr(VI) a Cr(III) è un processo permanente, per dimostrare questo sono state effettuate prove di rilascio in laboratorio con "spiked-sediment"; aggiungendo alte concentrazioni di soluzioni di cromo esavalente a campioni di sedimento, si è riscontrata la rapida riduzione del Cr(VI) in pochi minuti, e l'aumento della concentrazione di cromo trivalente.

La zona 4, lontana dal disturbo antropico e dagli effetti della marea, presenta delle concentrazioni di cromo esavalente che variano da un minimo di 0,6 mg/kg a un massimo di 2,1 mg/kg, dove i valori del sito 4A risultano mediamente più bassi di quelli dei siti 4B e 4C.

Osservando i risultati ottenuti dai campioni di sedimento della Pialassa Baiona, la concentrazione del Cr(VI) è risultata molto bassa (0,4 - 2,1 mg/kg); risultati simili sono stati trovati da altri autori in sedimenti provenienti da ambienti costieri dove a fronte di elevate concentrazioni

di cromo totale quelle di cromo esavalente sono risultate molto basse o non rilevabili. Infatti, l'articolo di Andrew et al. (2009) riporta le analisi condotte sui sedimenti del porto di Baltimora, dove si sono riscontrate alte concentrazioni di cromo totale (2,5 – 1050 mg/kg) ma basse concentrazioni di Cr(VI) (0,1 – 0,38 mg/kg) che in alcuni campioni non è stato rilevato. Gli autori hanno ipotizzato che le elevate concentrazioni di solfuri presenti nei sedimenti potessero essere il fattore rilevante per la riduzione della forma esavalente in quella trivalente del Cr e quindi la causa dei bassi valori di Cr(VI) ritrovati. In altro lavoro di ricerca riportato da Magar et al. 2008, dalle analisi su diversi sedimenti della zona di Newark Bay, la concentrazione del cromo è risultata variabile ma elevata (1235-4100 mg/kg), il Cr(VI) però non è stato rilevato e i test di ossigenazione e risospensione hanno dimostrato la stabilità del cromo nella forma trivalente. In campioni ambientali, come il sedimento Pialassa, i valori di concentrazioni del cromo esavalente sono molto variabili (Tabella 3.5) e difficilmente rilevabili poiché entrano in gioco numerose interferenze dovute a fattori presenti nella matrice ambientale in esame. Nel campione di rifiuto invece si ottengono altissime concentrazioni di cromo totale e di Cr(VI) e un basso coefficiente di validità (Tabella 3.5), quindi in una matrice ambientale fortemente inquinata la componente del cromo esavalente risulta essere molto elevata.

I campioni di sedimento, oggetto di questo lavoro di tesi, sono caratterizzati da un pH compreso fra i valori di 8 e 9 e da valori di potenziale redox compresi fra 0,15 e 0,20 volt, come mostrato in Figura 3.2. La specie di cromo presente in condizioni di pH ed Eh risulterebbe essere quella del Cr(III) che precipita a formare $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, una specie stabile e una delle forme dominanti del cromo trivalente in ambiente naturale (Unceta et al., 2010). Le condizioni redox dei campioni di sedimento della Pialassa Baiona ricadono in un ambiente riducente, come mostra la Figura 3.5; in queste condizioni dovrebbero prevalere le specie del Cr(III), poiché la cinetica associata alla riduzione del Cr(VI) dovrebbe essere favorevole.

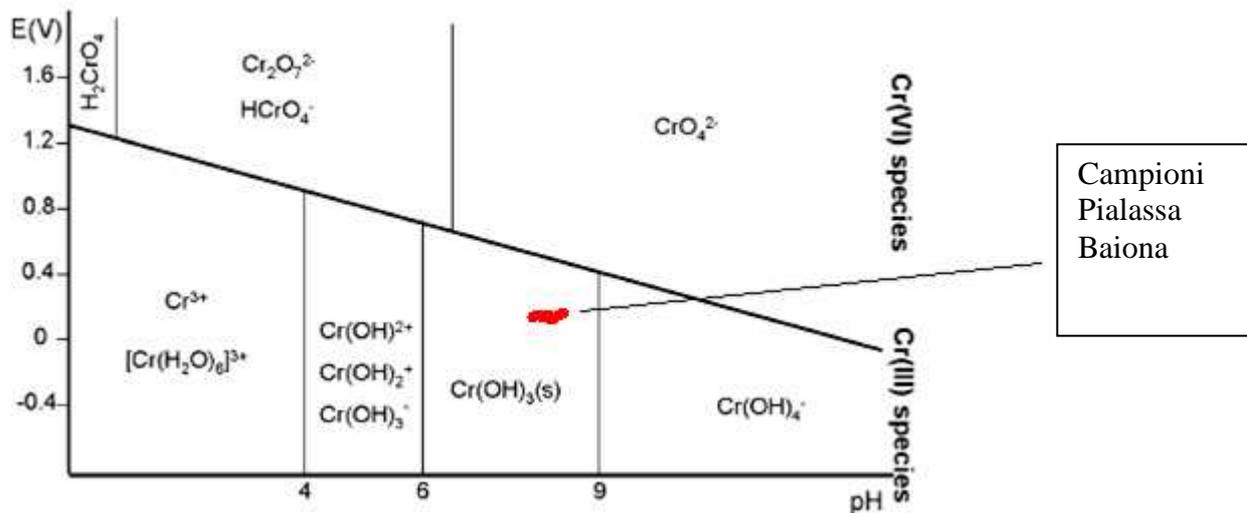


Figura 3.5 Speciazione del cromo in funzione del pH e del potenziale redox (Eh) dei campioni di sedimento della Pialassa Baiona (modificato da Unceta et al., 2010)

L'articolo Andrew et al. (2009) riporta analisi di cromo totale e Cr(VI) condotte su sedimenti costieri andando a considerare i valori di pH. Sono stati misurati i tassi di riduzione del Cr(VI) utilizzando sedimenti dalla zona portuale di Baltimora, che presentano condizioni anossiche e un pH di 7, evidenziando come questa forma di cromo si riduca in pochi minuti nella forma trivalente, in matrici ambientali come i sedimenti.

La forte instabilità della forma esavalente del cromo, in sedimenti con condizioni riducenti, è stata osservata anche nel lavoro di Martello et al. (2007). In campioni di sedimenti di estuario, presente in un'area fortemente industrializzata, si sono riscontrate basse concentrazioni di ossigeno, con valori di pH compresi fra 7-9; oltre alla misura del pH e dell'ossigeno disciolto, sono stati considerati altri potenziali parametri geochimici dei sedimenti che influiscono sulla speciazione del cromo, quali contenuto di solfuri (AVS), Fe(II), Eh e contenuto di materia organica. In queste condizioni riducenti si sono misurate basse concentrazioni di Cr(VI) rispetto al contenuto di cromo, dimostrando come sia favorita la riduzione della forma esavalente del cromo; test in laboratorio con l'obiettivo di riprodurre condizioni ossidanti sugli stessi campioni di sedimento, mostrano che il Cr(III) presente è molto stabile ed è altamente improbabile la sua ossidazione a Cr(VI).

Dall'analisi dei coefficienti di correlazione di Pearson, appare una relazione positiva e significativa ($p < 0.05$) tra le concentrazioni di cromo esavalente presente nei sedimenti e il contenuto di sostanza organica (LOI, $r = 0.58$), di ossidi di calcio (CaO, $r = 0.39$), i solfuri labili (AVS, $r = 0.50$) e lo zolfo ($r = 0.60$), ma anche il nichel ($r = 0.51$), lo zinco ($r = 0.52$), il vanadio ($r = 0.34$), il bario ($r = -0.47$) e lo stronzio ($r = 0.35$) come mostrato in Tabella 3.6.

Ai fini di questo studio risultano particolarmente interessanti le correlazioni con il contenuto di sostanza organica e lo zolfo nelle sue diverse forme (AVS, S) che rappresentano i così detti

fattori riducenti, ovvero quelli che influenzano la presenza e le concentrazioni del cromo esavalente nei sedimenti. Infatti, questi interferenti, quando presenti in concentrazioni elevate portano ad una riduzione del cromo esavalente presente nel sedimento nella sua forma trivalente. Secondo EPA (2005) è fondamentale rilevare la presenza di AVS poiché costituiscono un valido indicatore sulle condizioni riducenti nel sedimento. Il grafico riportato dalla figura 3.3 evidenzia che le concentrazioni di AVS misurate nei campioni della Pialassa hanno un trend simile ai livelli del cromo esavalente; questo però è in parziale disaccordo con diversi studi presenti in letteratura. I solfuri sono considerati una fase chiave vincolante nei sedimenti anossici perché sono coinvolti nel ciclo biogeochimico dei metalli pesanti; la quantità di solfuro che reagisce con acidi in fase acquosa a temperatura ambiente porta alla formazione di AVS come H_2S (Fabbri et al., 2001) considerato un agente riducente del cromo esavalente. Nel caso studio di Watlington et al. (2008) è stato dimostrato come il rapporto $Cr(VI)/AVS$ influisca sulle concentrazioni della forma esavalente del cromo, infatti per AVS composti da $FeS(s)$ e H_2S è stato ipotizzato che siano in grado di ridurre il $Cr(VI)$ con un rapporto stechiometrico di 1:1, sui risultati di test di tossicità eseguiti su “spiked-sediment”. Lo studio condotto da Andrei et al. (2010) ha verificato i tassi di riduzione cinetica nei sedimenti anossici, constatando che in presenza di concentrazioni alte di solfuri le concentrazioni di $Cr(VI)$ diminuiscono anche di due ordini di grandezza. Nell’articolo Berry et al. (2004) sono stati effettuati diversi test in laboratorio con sedimenti contaminati, in cui è stato aggiunto soluzioni con $Cr(III)$ e $Cr(VI)$, per verificare se la forma esavalente del cromo era instabile in ambienti riducenti, soprattutto in sedimenti anossici dove le concentrazioni di AVS sono alte. I risultati ottenuti erano in accordo con l’ipotesi del cromo, dove la concentrazione di AVS era rilevante diminuivano i valori di cromo e della sua forma esavalente. Nel lavoro di Hall e Pullium (1995) sono state eseguite delle analisi su sedimenti di estuario del fiume Hackensack, fortemente inquinati da cromo proveniente da attività industriali; i risultati riportano basse concentrazioni di $Cr(VI)$ poiché dominano le condizioni riducenti, dovute a fattori, quali basse concentrazioni di ossigeno disciolto e rilevanti concentrazioni di solfuri e carbonio organico che favoriscono la forma trivalente del cromo. La respirazione microbica riduce O_2 favorendo le condizioni riducenti, in più negli ultimi anni diversi studi hanno evidenziato la capacità di batteri solfato riduttori (SRB) marini, di ridurre $Cr(VI)$, in processi fotosintetici anaossigenici; in situazioni di carenza di accettori di elettroni come solfati (SO_4^{2-}) questi microrganismi sarebbero in grado di utilizzare Cr^{6+} nella fotosintesi anaossigenica (Cheung e Ji-Dong, 2003). Nelle analisi condotte in Kozuh et al. 2000 sedimenti con valori di $Eh < 200$, simili ai campioni analizzati in questa tesi, mostrano una rapida riduzione di $Cr(VI)$ ad opera di $Fe(II)$.

Come si può osservare dalla tabella 3.6, il cromo esavalente, che rappresenta la forma più solubile e disponibile del cromo presente nel sedimento, mostra un coefficiente di correlazione negativo con gli ossidi di alluminio (Al_2O_3 , $r = -0.44$). Questo risultato è in linea con le proprietà del cromo esavalente e il suo comportamento ambientale. Infatti, questa forma del metallo è quella più disponibile e quindi meno legata alla matrice del sedimento rappresentata dai minerali alluminosilicatici. Zayed e Terry, 2002 riporta come il cromo trivalente è adsorbito dalle 30 alle 300 volte in più del Cr(VI) dai minerali in terreni argillosi. Dalla tesi di Simona Bonaiuti emerge che nonostante l'elevata precisione e accuratezza del metodo analitico impiegato, per la misura della concentrazioni di Al_2O_3 , i valori sono risultati sensibilmente inferiori a quelli riportati da Donnini et al. (2007) per la stessa zona. Probabilmente una possibile spiegazione di questi risultati potrebbe essere dovuta al fatto che la miscela di acidi e il programma di potenze utilizzato per la mineralizzazione al microonde, efficace sui materiali di riferimento certificati, non ha avuto gli stessi risultati sui campioni della Pialassa Baiona, forse a causa di una diversa composizione dei sedimenti presi in esame che ne ha limitato la dissoluzione.

Tabella 3.6 Matrice di correlazione Pearson (in colonna cromo totale cromo estratto in acqua regia e cromo VI; nelle righe valori del sedimento misurati da Bonaiuti (2011)).

	CRTOT	CR_AR	CR_ESA
LOI	0,826 p=.000	0,8243 p=.000	0,5788 p=.000
AL2O3	-0,2842 p=.093	-0,3284 p=.051	-0,44 p=.007
FE2O3	0,3562 p=.033	0,0741 p=.668	0,3139 p=.062
CAO	0,4747 p=.003	0,4686 p=.004	0,3894 p=.019
MGO	-0,3283 p=.051	-0,1399 p=.416	-0,0154 p=.929
S%	0,8016 p=.000	0,7281 p=.000	0,5964 p=.000
AVS	0,5842 p=.000	0,5121 p=.001	0,5035 p=.002
NI	0,6376 p=.000	0,5234 p=.001	0,5094 p=.002
ZN	0,8069 p=.000	0,857 p=.000	0,5184 p=.001
V	0,5879 p=.000	0,3321 p=.048	0,3397 p=.043
BA	-0,5638 p=.000	-0,4596 p=.005	-0,4671 p=.004
SR	0,5022 p=.002	0,6622 p=.000	0,3526 p=.035

**** correlazioni significative ($p < 0.05$)**

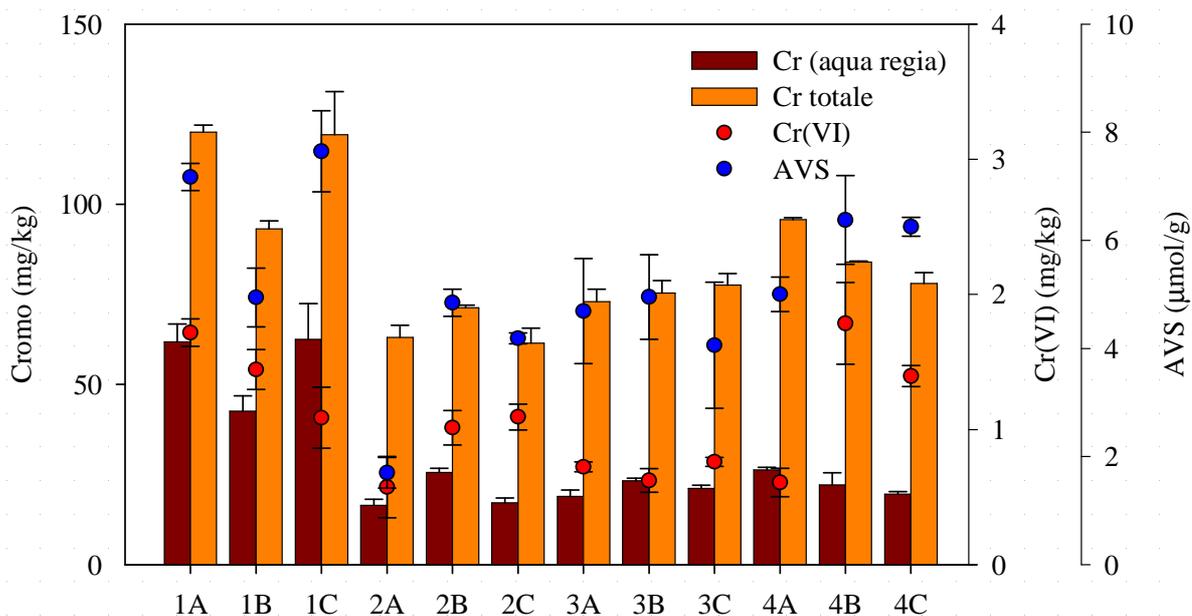


Figura 3.6 Concentrazioni di cromo estratto in acqua regia e di cromo esavalente, Cr(VI) nei campioni di sedimento della Pialassa Baiona. Il contenuto di cromo totale si riferisce ai risultati di un precedente lavoro dove la disgregazione dei campioni è stata effettuata con una miscela di HNO₃/HCl/HF (Bonaiuti, 2011). Le concentrazioni sono riportate in mg/kg ed espresse come media ed errore standard. I risultati relativi agli AVS ed espressi come μmol/g sono di Borgognoni (2011).

Il grafico nella figura 3.7 mostra i livelli del cromo estratto in acqua regia e del cromo esavalente rispetto al cromo totale, presente nei campioni, sottolineando come nella zona 1 la percentuale di cromo ambientalmente disponibile sia maggiore rispetto alle altre zone.

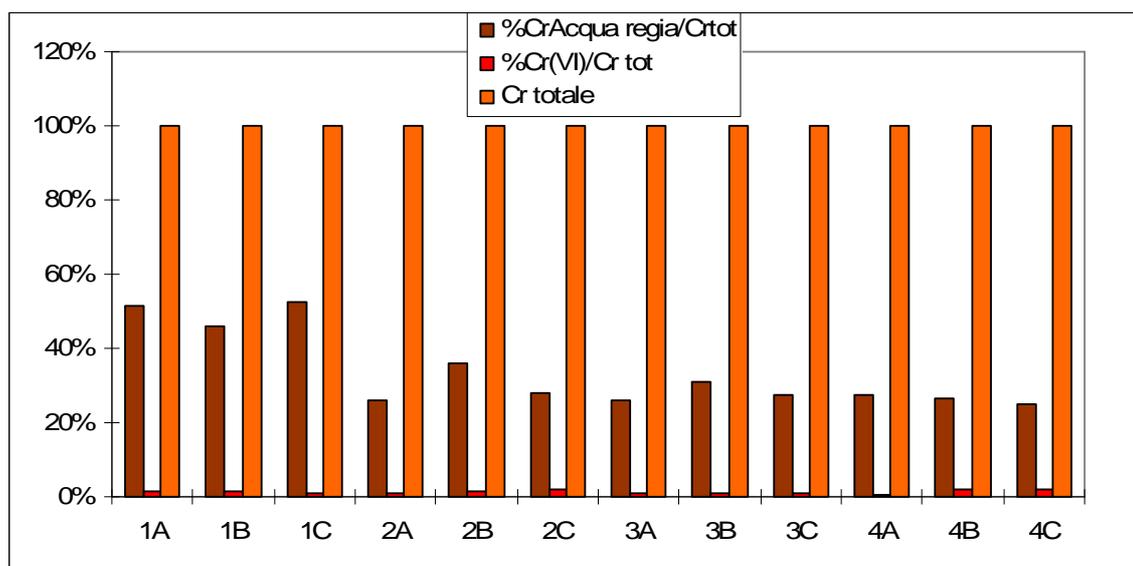


Figura 3.7 Percentuali di cromo estratto in acqua regia e di cromo esavalente rispetto al cromo totale.

Negli ultimi anni numerosi studi hanno cercato di portare miglioramenti alle tecniche di separazione del cromo trivalente e esavalente migliorando le metodiche di analisi analitiche più utilizzate per la determinazione del cromo esavalente in matrici solide (EPA 7916, 1996; EPA 7199, 1996). L'utilizzo di resine come "Ambersorb 563" può migliorare la tecnica analitica spettrofotometrica, riducendo al minimo le interferenze legate alla naturale presenza di materia organica dei sedimenti (Narin et al., 2006). Diversi studi recentemente hanno cercato di testare tecniche analitiche spettrometriche e cromatografiche, come ICP-MS o tecniche X-ray, con esiti non soddisfacenti mentre altre tecniche quali SIDMS, hanno dato risultati migliori (Unceta et al., 2010); infatti molti studi suggeriscono come la speciazione di diluizione isotopica spettrofotometrica può essere un valido strumento per le correzioni legate al fenomeno di interconversione delle forme chimiche del cromo.

3.6 Valutazione del potenziale rischio ecologico del cromo

I livelli di concentrazione di cromo misurati in questo lavoro di tesi sono stati confrontati con i valori di riferimento delle linee guida internazionali per la qualità dei sedimenti - Sediment Quality Guidelines (SQGs) - al fine di evidenziare un eventuale rischio per il biota acquatico (Buchman, 2008).

In generale, le concentrazioni di cromo misurate sono risultate inferiori al livello di effetto ER-M (Effect Range Median) e PEL (Probable Effect Level), livelli al di sopra dei quali sono prevedibili effetti negativi sul biota residente (Figura 3.1).

Ad eccezione di alcuni campioni localizzati nei siti 1A e 1C, le concentrazioni di cromo sono risultate anche inferiori ai livelli di non effetto ER-L (Effect Range Low) e TEL (Threshold Effect Level), al di sotto dei quali non sono prevedibili effetti negativi sul biota.

In base all'approccio relativo al confronto con le linee guida per la qualità dei sedimenti SQGs, si può osservare che i campioni di sedimento per i quali è necessario approfondire le indagini al fine di escludere probabili effetti tossici sul biota, risultano essere localizzati nei siti 1A e 1C (62 ± 4.9 e 63 ± 9.9 mg/kg), nella zona della laguna soggetta ad impatti antropici e lontana dall'influenza del mare (Tabella 3.3).

In un lavoro effettuato nella laguna di Venezia, effetti tossici medi ed elevati sono stati osservati nel batterio marino *Vibrio fischeri* e nel riccio di mare *P. lividus* esposti a campioni di sedimento concentrazioni di cromo anche inferiori a quelle misurate nei nostri campioni e comprese tra 45 e 59 mg/kg. Secondo gli autori di questo lavoro (Volpi et al., 1999), tale effetto tossico è probabilmente dovuto al fatto che le concentrazioni totali o pseudo totali misurate nel sedimento non sempre sono indicative della frazione biodisponibile dei metalli presenti nelle acque interstiziali.

Probabilmente sono le condizioni redox del sedimento, e di conseguenza la presenza di Cr(III) e Cr(VI), quelle che influenzano maggiormente la biodisponibilità del Cr come evidenziato da un lavoro di Wang et al. (2002) sugli invertebrati bentonici.

In letteratura si trovano numerosi esempi di analisi e tests effettuati con sedimenti dalle proprietà chimico fisiche, simili ai campioni analizzati in questo lavoro di tesi, allo scopo di ottenere informazioni sulla biodisponibilità del cromo e sugli effetti letali e subletali che possono verificarsi sul biota in relazione allo stato di ossidazione dell'elemento presente nelle matrici ambientali, Cr(III) o Cr(VI).

L'EPA raccomanda di utilizzare la concentrazione dei metalli biologicamente attiva come base per lo sviluppo di criteri per stabilire la qualità delle acque e per proteggere la vita acquatica.

Per il cromo esavalente e trivalente sono stati condotti degli studi sul campo e in laboratorio con spiked-sediment per valutare limiti di soglia per la tossicità. Berry et al. (2002) e Boothman et al. (1999) hanno utilizzato sedimenti marini e l'organismo *Ampelisca abdita*, per valutare la tossicità del Cr(III) e Cr(VI); sono stati condotti dei test di tossicità acuta (10 giorni) con spiked-sediment a concentrazioni crescenti di Cr(III) (<100mg/kg - >20g/kg) e di Cr(VI), riassunti nella figura 3.8.

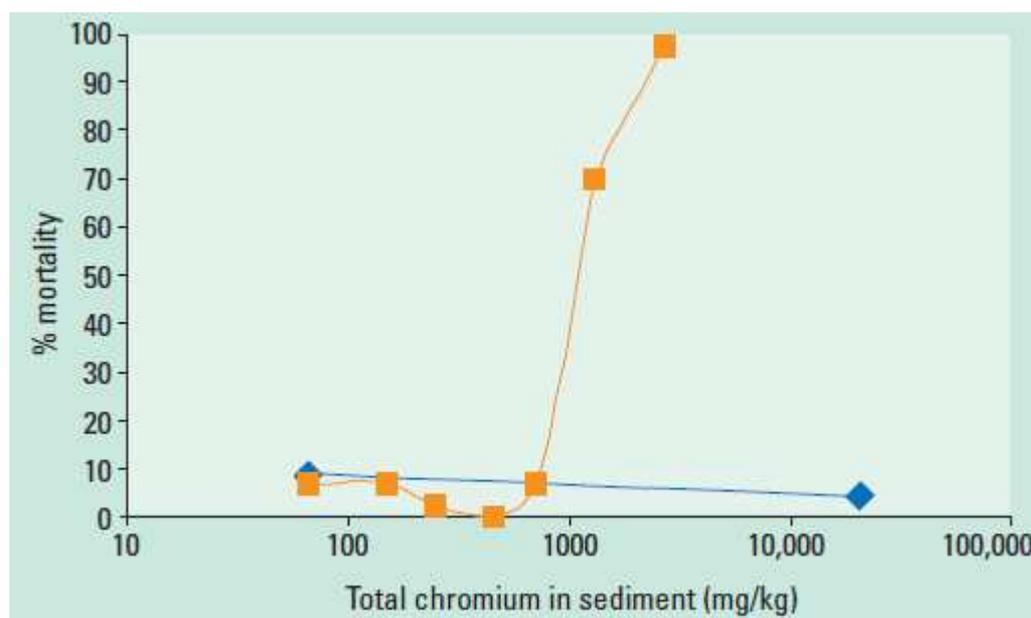


Figura 3.8 Cromo e anfipodi, Cr(III) ◆ , Cr(VI) ■ (Berry et al., 2002).

Dal grafico presente nella Figura 3.5 non si osservano aumenti di mortalità nell'organismo legati al Cr(III), al contrario per il Cr(VI) si è riscontrata tossicità acuta quando la concentrazione di cromo esavalente ha superato i 789 mg/kg.

La figura 3.9 mostra un grafico a dispersione della percentuale media di sopravvivenza di *Leptocheirus plumulosus* rispetto alle concentrazioni di cromo misurate in sedimenti da McGee et al. (1999) dopo test di tossicità acuta e paragonati a saggi effettuati su sedimenti di riferimento.

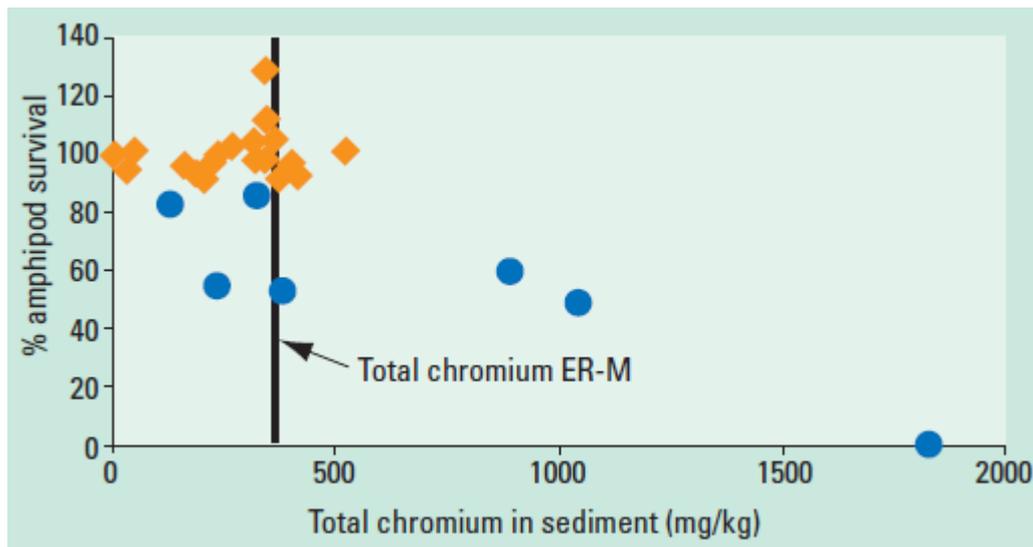


Figura 3.9 Sopravvivenza (*Leptocheirus plumulosus*) e cromo totale, i cerchi blu indicano i campioni con percentuali più basse di sopravvivenza rispetto ai campioni di riferimento

Di otto campioni con concentrazioni di cromo sopra il livello di ER-M, solo quattro mostrano una decrescita della sopravvivenza rispetto ai siti di riferimento; interessante è che in tre campioni con concentrazioni di cromo sotto il livello di ER-M si noti una decrescita di sopravvivenza. Quest'analisi suggerisce che spesso i livelli di cromo in eccesso superiori a ER-M, non sono significativamente tossici per gli organismi bentonici marini e la presenza di altri contaminanti possono essere responsabili degli effetti tossici osservati. Nelle analisi svolte da Martello et al.,(2007), in sedimenti contaminati da cromo, i risultati indicano una bassa biodisponibilità del cromo in sedimenti sotto condizioni riducenti (pH, Fe(II), AVS), simili a quelle ritrovate nei sedimenti di studio di questo elaborato (ipotesi in accordo con altri studi); per verificare il rilascio di cromo dal sedimento alla colonna d'acqua sovrastante sono stati effettuati test di bioaccumulo (28 giorni) con policheti (*Nereis virens*) e vongole (*Macoma nasuta*). Lo studio evidenzia che non c'è correlazione fra le concentrazioni di cromo (135-1780 mg/kg) e Cr(VI) (>0.47-31 mg/kg) misurate nei sedimenti e le concentrazioni di cromo misurate nei tessuti degli animali dopo il test di bioaccumulo (1.2-14.8 mg/kg); la bassa percentuale di mortalità negli organismi test, indicherebbe che il Cr(VI) viene ridotto nella forma trivalente poco disponibile e elemento essenziale nei tessuti biologici.

Test di tossicità acuta e cronica su *Leptocheirus plumulosus* riportati da Watlington et al.(2008) in sedimenti contaminati da cromo (2.5-1050 mg/kg) e con basse concentrazioni di Cr(VI) (0.1-0.38), mostrano che l'aggiunta di cromo esavalente a concentrazioni ambientali rilevanti non causa tossicità acuta o cronica e le concentrazioni attuali di cromo non sono responsabili della tossicità osservata nei campioni di riferimento.

Per valutare l'impatto del cromo sulla vita di organismi residenti in sedimenti, sono stati creati microcosmi dove gli organismi sono sottoposti a concentrazioni crescenti di cromo (500,800,1300 ppm) (Boufahja et al., 2010); i risultati hanno mostrato una notevole diversità di risposte al cromo a seconda della specie di organismo coinvolto. Quindi fra le diverse specie, come nel caso studio i nematodi con una posizione di rilievo nella catena alimentare, si possono osservare risposte diverse (variazione nella ricchezza della specie) a uguali concentrazioni di cromo, mostrando effetti negativi o una resistenza.

Analisi di cromo e Cr(VI) su sedimenti in una zona di estuario sono state condotte nel lavoro di Hall e Pulliam (1995), sia in sedimenti distanti da potenziali sorgenti di inquinamento (Cr 33-180 mg/kg / Cr(VI) 0.35-1.1 mg/kg) che vicino (Cr 153-1760 mg/kg / Cr(VI) 1.2-2.7 mg/kg); le analisi sulla concentrazioni di cromo nei tessuti di *Phragmites* (pianta), *Fundulus* (pesce) hanno mostrato una bassa concentrazione e le caratteristiche chimico fisiche del sedimento indicano che il cromo è ben legato al sedimento e difficilmente biodisponibile per essere assorbito dagli organismi acquatici.

Nel lavoro svolto nelle Pialassa Baiona da Guerra et al., (2009), sono stati effettuati test di tossicità sull'anfipode *Corophium insidiosum* e il batterio marino *Vibrio fisheri* prima e dopo operazioni di dragaggio per valutare i cambiamenti della popolazione bentonica. Le concentrazioni di cromo trovate prima e dopo l'intervento antropico sono risultate superiori ad ER-L ma inferiori ER-M ; i test di tossicità su *Corophium insidiosum* prima e dopo l'operazione dragaggio non hanno mostrato grandi variazioni di sopravvivenza, solo due siti sono stati classificati come tossici ma non è stata riscontrata correlazione con la concentrazione di metalli . L'EC50 calcolato per *Vibrio fisheri*, è altamente variabile fra i punti di campionamento e dopo il dragaggio diminuisce; dalle analisi di correlazione risulterebbero altri i metalli responsabili della decrescita di EC50.

Quindi le concentrazioni di cromo ambientalmente disponibile e di cromo esavalente misurate nell'area di studio, in base ai lavori presenti in letteratura non dovrebbero costituire un pericolo per la vita degli organismi acquatici, poiché, concentrazioni superiori in sedimenti con caratteristiche fisico-chimiche simili, da test ecotossicologici non hanno evidenziato tossicità. Altri contaminanti possono costituire un rischio

CONCLUSIONI

La messa a punto di una metodica standar per l'analisi del cromo esavalente nei suoli e nei sedimenti è ancora in fase di sviluppo e rimangono aperte questioni circa le sostanze interferenti quali solfuri, ferro divalente, acidi carbossilici e materia organica in particolare acidi umici, che nelle condizioni di applicazione del metodo di estrazione possono rappresentare possibili riducenti del Cr(VI); questi interferenti per le loro caratteristiche riducenti possono portare ad una sottostima del contenuto di Cr(VI) nel campione.

Dal punto di vista analitico il problema chiave è rappresentato dalla separazione della forma trivalente del cromo, predominante naturalmente in queste matrici ambientali, da quella esavalente.

Infatti recentemente sono state testate diverse metodiche analitiche avanzate (LC-MS, TXRF, SFE) che non sempre hanno dato risultati soddisfacenti, mentre altre hanno portato a risultati più consistenti (SIDMS).

I risultati del contenuto di cromo e cromo esavalente sono risultati simili a valori rilevati in lagune costiere contaminate in particolare i livelli di cromo sono confrontabili con quelli misurati in sedimenti di lagune costiere del mediterraneo. Il contenuto di cromo ambientale *environmentally available* è risultato inferiore al contenuto totale di cromo mostrando che una frazione di questo elemento è legata alla matrice più refrattaria del sedimento e non è disponibile dal punto di vista ambientale. Il contenuto di cromo è a livelli di fondo naturale, simile alle concentrazioni tipiche dei sedimenti del mare Adriatico (De Lazzari et al., 2004) e quindi non costituisce un potenziale rischio per l'ambiente e il biota. Le zone soggette ad impatti antropici dovuti alla presenza di siti industriali, presentano valori più elevati che risultano confrontabili con valori ritrovati in sedimenti in prossimità del Delta del Po (Fabbri et al., 2001).

I livelli di concentrazione del cromo esavalente misurati sono bassi in accordo con valori misurati in altre aree costiere, dove sono stati trovati bassi livelli di Cr(VI) nonostante alte concentrazioni di cromo totale (Adrew et al., 2009, Magar et al., 2008). Dai risultati ottenuti appare evidente che la forma prevalente di cromo presente nell'ambiente è quella trivalente e le condizioni riducenti tipiche dei sedimenti ne favoriscono la sua presenza; questo è in linea con quanto riportato in letteratura scientifica. Le condizioni redox presenti in ambienti di transizione come quella di studio possono cambiare per eventi naturali, come le maree e l'alternarsi delle stagioni, o attività antropiche, quali dragaggio, tuttavia sembra che l'interconversione del Cr(III) nella sua forma esavalente sia altamente improbabile dato la sua stabilità anche in condizioni ossidanti, in accordo con lavori precedentemente pubblicati da altri autori (Magar et al. 2008, Graham e Bouwer, 2010). Sulla base delle linee guida internazionali per la qualità dei sedimenti, Sediment Quality Guidelines (SQGs), i livelli di cromo misurati in questo lavoro non costituiscono un rischio potenziale per gli

organismi acquatici, ad eccezione di alcuni campioni misurati nella zona più soggetta ad impatti antropici sopra il livello di TEL; questi meriterebbero ulteriori indagini accoppiate di tipo chimico e ecotossicologico, al fine di escludere qualsiasi rischio per il biota residente. Purtroppo le decisioni di gestione dei sedimenti contaminati con cromo e altri metalli potenzialmente tossici sono difficoltose per l'assenza di criteri normativi per la protezione degli organismi bentonici (Besser et al., 2004).

I livelli di cromo esavalente trovati sono molto bassi e a queste concentrazioni, sulla base di test tossicologici svolti su diversi organismi bentonici, non dovrebbero costituire un rischio per il biota acquatico. Studi effettuati su sedimenti con simili concentrazioni di cromo e Cr(VI) mostrano come il metallo sia poco biodisponibile e ben legato alla matrice, quindi difficilmente assorbibile dagli organismi acquatici (Hall e Pulliam, 1995).

Il presente lavoro ha permesso di discriminare la forma esavalente del cromo nei sedimenti di indagine, considerata la più tossica nelle matrici ambientali e di poter quindi escludere un potenziale effetto tossico sulle specie acquatiche.

La messa a punto di metodiche analitiche più avanzate che permettano di separare il cromo trivalente da quello esavalente è una direzione in cui operare per eliminare i problemi di interconversione fra Cr(III) e Cr(VI) legati ai metodi più utilizzati per la determinazione del Cr(VI) in matrici solide (EPA 7196, 1996; EPA 7199, 1996). L'obiettivo quindi è quello di ottenere una valutazione più adeguata del potenziale rischio ecologico sviluppando metodologie sempre più precise. Inoltre, in base ai lavori pubblicati nella più recente letteratura scientifica, pare che anche la forma trivalente del cromo possa esercitare effetti tossici sul biota.

I risultati ottenuti sulla riduzione del cromo esavalente ad opera di batteri solfato riduttori hanno aperto alla ricerca sulla detossificazione microbica del Cr(VI), poiché le strategie biologiche basate su tale fenomeno rientrano nella natural attenuation, ufficialmente riconosciuta dalla US EPA come "un approccio di risanamento basato sulla conoscenza e l'analisi quantitativa dei processi naturali a protezione dell'uomo contro i rischi derivanti dall'esposizione a pericolosi contaminanti"(USEPA, 2001).

BIBLIOGRAFIA

Abbiati M. e Basset A, (2001), Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems. Ecological Research and Conservation of Coastal Ecosystems 11: 233-234.

Accornero A., Gnerre R., Manfra L. (2008) Sediment Concentrations of Trace Metals in the Berre Lagoon (France): An Assessment of Contamination. Arch Environ Contam Toxicol 54, 372–385.

Achterberg E.P. and van den Berg C.M.G. – 1997 - Chemical speciation of Chromium and Nickel in the western Mediterranean. *Deep-Sea Res. II* (44), pp: 693 – 720.

Adriano DC. – 1986 - Trace Elements in the Terrestrial Environment. New York. Springer Verlag. Pp: 105 – 230

Angelucci A., 1989 “Guida allo studio della sedimentologia” Edizione Nuova Cultura

Anteneh Taye Assefa (2010) Speciation of chromium in Algeciras Bay Facoltà di scienze dell'Università di Cadiz.

Bachelet, G., de Montaudouin, X., Auby, I. and Labourg, P.J., 2000. Seasonal changes in macrophyte and macrozoobenthos assemblages in three coastal lagoons under varying degrees of eutrophication. *Ices Journal of Marine Science* 57, 1495-1506.

Barbuti S., Bellelli E., Fara G.M., Giammarco G. – 2003 – Igiene e medicina preventiva. Volume II, Monduzzi Editore, Bologna. pp:481.

Bebianno, M.J., 1995. Effects of pollutants in the Ria Formosa Lagoon, Portugal. *The Science of the Total Environment* 171, 107-115.

Becker DS, Long ER, Proctor DM, Ginn TC (2006) Evaluation of potential toxicity and bioavailability of chromium in sediments associated with chromite ore processing residue. *Environ Toxicol Chem* 25(10):2576–83

Berry WJ, Boothman WS, Serbst JR, Edwards PA (2004) Predicting the toxicity of chromium in sediments. *Environ Toxicol Chem* 23(12):2981–92

Bloundi M. K., J. Duplay, G. Quaranta (2009) Heavy metal contamination of coastal lagoon sediments by anthropogenic activities: the case of Nador (East Morocco). *Environmental Geology*, 56: 833–843.

Bonaiuti, S. (2011) Distribuzione e biodisponibilità dei metalli in traccia nei sedimenti della Pialassa Baiona. Laurea Magistrale in Scienze per l’Ambiente, Università di Bologna, Anno Accademico 2009-2010.

Bowen H.J.M. – 1979 - Environmental chemistry of the elements. Academic Press, London. 7th ed. pp: 290 - 297.

Brambati A., (1988). Lagune e stagni costieri: due ambienti a confronto”. In: G.C. Carrada, F. Cicogne e E. Fresi (Eds.), *Le lagune costiere: Ricerca e gestione*, p. 9-33, CLEM, Massa Lubrense (NA).

Burton A. G. Jr., (1992a) “Assessing contaminated aquatic sediments”. *Environ. Sci. Technol.*, 26 (10), 1862-1875.

Burton A. G. Jr., (1992b) “Sediment Collection and Processing: Factors Affecting Realism”. In *Sediment Quality Assessment*, edited by Allen Burton G. Jr., Lewis Publishers USA.

Buchman, M. F. (2008) NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA OR&R Report 08-1, Seattle WA, Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, pp. 34.

Cerrano C., Ponti M., Silvestri S. (2004) Guida alla biologia marina del Mediterraneo. Anenke Edizioni, Torino: 320p.

Cognetti G et al. (1998) “Valutazione comparativa delle caratteristiche ecologiche di ambienti lagunari ai fini di una loro specifica e corretta utilizzazione per l’acquacoltura” Relazione finale del progetto finanziato dal Ministero delle Risorse Alimentari, Agricole e Forestali, Pisa, voll. 1, 2 e 3.

Cognetti G., Maltagliati F. (2000) Biodiversity and adaptive mechanisms in brackish water fauna, *Marine Pollution Bulletin* 40: 7-14.

Costanza, R., Darge, R., Degroot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., Oneill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P. and Vandenbelt, M. (1997). “The value of the worlds ecosystem services and natural capital”. *Nature* 387, 253-260.

Coccioni, R., Frontalini, F., Marsili, A., Mana, D., 2009. Benthic foraminifera and trace element distribution: A case-study from the heavily polluted lagoon of Venice (Italy). *Marine Pollution Bulletin* 59, 257–267.

De Filippis L.F. and Pallaghy C.K. – 1994 – Heavy Metals: sources and biological effects. In: *Advances in Limnology Series: Algae and water Pollution* (Rai C.L, Gaur J.P., Soeder C.J. Eds.). Scheizerbartsche E. Press, Stuttgart. Pp: 31 – 77.

De Lazzari A., Rampazzo G., Pavoni B. (2004) Geochemistry of sediments in the Northern and Central Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 59: 429-440.

De Vivo Benedetto, Lima Annamaria Siegel Frederic 2004- *Geochimica ambientali. Metalli potenzialmente tossici*. Liguori Editore. Capitolo 6.

Donnini, F., Dinelli, E., Sangiorgi, F., & Fabbri, E. (2007). A biological and geochemical integrated approach to assess the environmental quality of a coastal lagoon (Ravenna, Italy). *Environment International*, 33: 919–928.

Eary LE, Rai D (1987) Kinetics of chromium(III) oxidation to chromium(VI) by reaction with manganese dioxide. *Environ Sci Technol* 21:1187–1193

Eastmond DA, MacGregor JT, Slesinski RS (2008) *Crit Rev Toxicol* 38:173–190

Fabbri D., Felisatti O., Lombardo M., Trombini C., Vassura I., (1998), The lagoon of Ravenna (Italy): Characterisation of mercury-contaminated sediments, *The Science of the Total Environment*, 213: 121-128.

Fabbri, D., Gabbianelli, G., Locatelli, C., Lubrano, D., Trombini, C., Vassura, I. (2001) Distribution of mercury and other heavy metals in core sediments of the Northern Adriatic Sea. *Water, Air, and Soil Pollution*, 129: 143–153.

Fernandes C., Fontainhas-Fernandes A., Cabral M. Salgado (2008) Heavy metals in water, sediment and tissues of *Liza saliens* from Esmoriz–Paramos lagoon, Portugal. *Environmental Monitoring and Assessment*, 136:267–275.

Frontalini, F., Buosi, C., Da Pelo, S., Coccioni, R., Cherchi, A., Bucci, C., 2009. Benthic foraminifera as bio-indicators of trace element pollution in the heavily contaminated Santa Gilla lagoon (Cagliari, Italy). *Marine Pollution Bulletin* 58, 858-877.

Frontalini, F., Coccioni, R., Bucci, C. (2010) Benthic foraminiferal assemblages and trace element contents from the lagoons of Orbetello and Lesina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 170: 245–260.

Geldmacher-vonn Mollinkrodt M., “Acute Metal Toxicity in Humans”. Edit by E. Merian, 1990.

Guelorget O, Perthuisot JP (1983) Le domain paralique. *Trav Lab Geol*, 16: 1-136.

G.P. Glasbya, P. Szefera, J. Geldona, J. Warzocha (2004) Heavy-metal pollution of sediments from Szczecin Lagoon and the Gdansk Basin, Poland. *Science of the Total Environment*, 330: 249–269

R. Guerra, A. Pasteris, M. Ponti (2009) Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: Effects on sediment properties, contamination and toxicity. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85: 134–142.

C. Gutterres Villa, D. Silva Batista, J. A. Baptista Neto, R. O. Ghiselli (2011) Benthic foraminifera distribution in a tourist lagoon in Rio de Janeiro, Brazil: A response to anthropogenic impacts. *Marine Pollution Bulletin*, 62: 2055–2074.

Hall WS, Pulliam GW (1995) An assessment of metals in an estuarine wetlands ecosystem. *Arch Environ Contam Toxicol* 29:164–173.

Hansen, J.W., Udy, J.W., Perry, C.J., Dennison, W.C. and Lomstein, B.A., 2000. Effect of the seagrass *Zostera capricorni* on sediment microbial processes. *Marine Ecology Progress Series* 199, 83-96.

Hansen MB, Johansen JD, Menne T (2003) *Contact Dermatitis* 49:206–212

How Wha Lam M., Yuk-Wai A., Chun-Chun C., Woon-Pong Chan e Wai- Sheung (1997) Speciation study of chromium, copper and nickel in coastal estuarine sediment polluted by domestic and industrial effluents . *Marine pollution bulletin* vol 34 pp.949-959.

IARC (1990) *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol 49. Chromium, Nickel and Welding, International Agency for Cancer Research, Lyon

Isshiki K., Sohrin Y., Karatani H., Nakayama E. – 1989 - Preconcentration of Chromium(III) and chromium(VI) in sea water by complexation with quinolin-8-ol and adsorption on macroporous resin. *Anal. Chim. Acta* (224), pp: 55 – 64.

Kotas J, Stasicka Z (2000) *Environ Pollut* 107:263–283

Knoppers, B., (1994). “Aquatic primary production in coastal lagoons”. In, *Coastal Lagoon Processes* ed. Kjerfve, B., p. 243-286, Elsevier Science Publishers, Amsterdam

Kunii,H. and Minamoto,K.(2000) Temporal and spatial variation in the macrophyte distribution in coastal lagoon Lake Nakaumi and its neighboring waters. *Journal of Marine Systems*, 26:223-231.

Levin, L. A., D. F. Boesch, A. Covich, C. Dahm, C. Erseus K. C. Ewel, R. T. Kneib, A. Moldenke, M. A. Palmer P. Snelgrove, D. Strayer & J. M. Weslawski, 2001. The function of marine critical transition zones and the importance of sediment biodiversity. *Ecosystems* 4: 430–451.

Lardicci C, Abbiati M, Crema R, Morri C, Bianchi CN, Castelli A (1993) The distribution of polychaetes along environmental gradients: a examples from the Ortobello Lagoon, Italy. *P.S.Z.N.I:Marine Ecology*, 14:35-52.

Long E.R., Morgan L.G., (1990), The potential for biological effects of sedimentsorbed contaminants tested in the National Status and Trends Program. NOAA Tec. Memo. NOS OMA 52. US National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, Washington. pp. 175.

Long E.R., MacDonald D.D., Smith F.D., Calder F.D., (1995), Incidence of adverse biological effects within range of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Menagement*, 19-1: 81-97.

Loubersac L, Do-Chi T, Fiandrino A, Jouan M, Derolez V, Lemsanni A, Rey-Valette H, Mathe S, Page S, Mocenni C, Casini M, Paoletti S, Pranzo M, Valette F, Serais O, Laugier T, Mazouni N, Vincent C, Troussellier M, Aliaume C (2007) Microbial contamination and management scenarios in a Mediterranean coastal lagoon (Etang de Thau, France): Application of a decision support system within the Integrated Coastal Zone Management context. *Transitional Waters Bulletin* 1(1):107–127.

MacDonald D.D., (1994), Approach to the Assessment of Sediment Quality in Florida Coastal Waters. Volume 1 - Development and Evaluation of Sediment Quality Assessment Guidelines. Florida Department of Environmental Protection Office of Water Policy, FL, USA, 126 pp.

Magar S., Martello L., Southworth B., Fuchsman P., Sorensen M., Wenning R. (2008) Geochemical stability of chromium in sediments from the lower Hackensack River, New Jersey. *Science of the total environmental* 394 103-111.

Martello L., Fuchsman P., Sorensen M., Magar V., Wenning R. J. (2007) Chromium Geochemistry and Bioaccumulation in Sediments from the Lower Hackensack River, New Jersey *Arch Environ Contam Toxicol* 53, 337–350

Mauri M, Simonini R, Baraldi E. 2002. Demographic responses of the polychaete *Dinophilus gyrociliatus* to chromium exposure. *Environ Toxicol Chem* 21:1903–1907.

Masscheleyn PH, Pardue JH, DeLaune RD, Patrick Jr WH (1992) Chromium redox chemistry in a lower Mississippi Valley bottomland hardwood wetland. *Environ Sci Technol* 26(6):1217–1226.

McComb AJ (1995) *Eutrophic shallow estuaries and lagoons*. CRC Press, Inc Lewis Publishers, Boca Roton, pp. 240.

Parker, J.D., Duffy, J.E. and Orth, R.J., 2001. Plant species diversity and composition, experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 224, 55-67.

Paul JF, Comeleo RL, Copeland J (2002) Landscape metrics and estuarine sediment contamination in the mid-Atlantic and southern New England regions. *J Environ Qual* 31:836–45

Salomons W, Turner RK, Drude de Lacerda L, Ramachandran S, eds (199) *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management*. Springer Verlag Berlin: 1-386.

Sarno D., Zingone A., Saggiomo V., Carrada G. C., (1993), “Phytoplankton biomass and species composition in a Mediterranean Coastal Lagoon”. *Hydrobiologia*, 271, 27-40.

Sudhakar G., Jyothi B., Venkateswarlu V. - 1991 – Metal pollution and its impact on algae in flowing waters. *Arch. Environ. Contam. Toxol.* (21), pp: 556 – 566.

Schroeder DC, Lee GF (1975) Potential transformations of chromium in natural waters. *Water Air Soil Pollut* 4:355–365

Thompson SL, Manning FCR, McColl SM. 2002. Comparison of the toxicity of chromium III and chromium VI to cyanobacteria. *Bull Environ Contam Toxicol* 69:286–293.

Unceta N., Seby F., Malherbe J., (2010) Chromium speciation in solid matrices and regulation; a review. *Anal Bioanal Chem* 397: 1097-1111.

USEPA (1998) *Toxicological Review of Hexavalent Chromium*. U.S. Government Printing Office, Washington

UE (2000) *Direttiva 2000/60/CE del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque*.

UE (1992) Direttiva 92/43/CEE del 21 maggio 1992 relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche.

UNESCO (1971) Ramsar Convention on Wetlands of International Importance Especially as Waterflow Habitat, UNESCO, Paris.

U.S. Army Corps of Engineers (COE) and Environmental Protection Agency (EPA), Region II, "Guidance for performing tests on dredged material to be disposed of ocean waters". New York December 1984.

Viaroli, P., Bartoli, M., Bondavalli, C., Christian, R.R., Giordani, G. and Naldi, M., 1996. Macrophyte communities and their impact on benthic fluxes of oxygen, sulphide and nutrients in shallow eutrophic environments. *Hydrobiologia* 329, 105-119.

Sigel H. and Sigel A. – 1986 – Concepts on Metal Ion Toxicity. Vol 20 of Metal Ions in Biological Systems. Martin R.B. Marcel Dekker, New York. Chapter 2, p.21.

Mertz W. – 1993 – Chromium in human nutrition: a review. *J. Nutr.* (123): 623 - 633.

Rahman M., Kingston S., Towns T., Vitale R., Clay K., (2005) Determination of hexavalent chromium by using speciated isotope-dilution mass spectrometry after microwave speciated extraction of environmental and other solid materials. *Anal Bioanal Chem* 382: 1111–1120

Rigollet, V., Sfriso, A., Marcomini, A., De Casabianca, M.L., 2004. Seasonal evolution of heavy metal concentrations in the surface sediments of two Mediterranean *Zostera marina* L. beds at Thau lagoon (France) and Venice lagoon (Italy). *Bioresource Technology* 95, 159–167.

The Independent Environmental Technical Evaluation Group IETEG (2004) Chromium (VI) handbook Edit Guertin J., Jacobs J. e Avakian C.

US EPA (1996a) Alkaline Digestion for Hexavalent Chromium - Method 3060A. In: Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods. SW-846, Second Edition. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.

US EPA (1996b) Chromium, Hexavalent (Colorimetric) – Method 7196A. In: Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods. SW-846, Second Edition. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.

USEPA (1996) Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ionchromatography, Method 7199A, in Test Methods for Evaluating Solid Waste-Physical/Chemical Methods, SW-846, update 3. U.S. Government Printing Office, Washington

US EPA (1999) Acid digestion of sediments, sludges, and soils – Method method 3050b. In: Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods. SW-846, Second Edition. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.

Volpi Ghirardini, T. Birkemeyer, A. Arizzi Novelli, E. Delaney, B. Pavoni, P.F. Ghetti (1999) An integrated approach to sediment quality assessment: the Venetian lagoon as a case study. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 2: 435–447.

W. X. Wang, Q. L. Yan, W. Fan, Y. Xu (2002) Bioavailability of sedimentary metals from a contaminated bay. *Marine Ecology Progress Series*, 240: 27–38.

R. Zonta, M. Botter, D. Cassin, R. Pini, M. Scattolin, L. Zaggia (2007) Sediment chemical contamination of a shallow water area close to the industrial zone of Porto Marghera (Venice Lagoon, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 55: 529–542.

Zourarah, B., Maanan, M., Carruesco, C., Aajjane, A., Mehdi, K., Conceição Freita, M., 2007. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution in the lagoon of Oualidia (Moroccan Atlantic coast). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72, 359-369.

Fondazione Battelleitalia, 1996 “<http://web.tiscali.it/battelleitalia/sedimenti.htm>”

Dinamica degli inquinanti “<http://www.uniroma2.it/didattica/DIN/deposito/Sedimenti.pdf>”

European Enviromental Agency “<http://eunis.eea.europa.eu/habitats/10007/geo>”

Allegati

Tabella 3.4 allegato I Concentrazioni cromo totale cromo estratto in acqua regia e cromo (VI)

	Cr(VI)	Cr acqua regia	Cr totale
	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1Ab	1,7	65	120
1Ac	1,9	52	117
1Ad	1,5	68	123
1Ba	1,4	39	98
1Bb	1,2	38	91
1Bc	1,7	51	91
1Ca	1,3	48	101
1Cb	0,6	81	115
1Cc	1,3	59	142
2Aa	0,4	15	67
2Ab	0,3	15	56
2Ac	1,0	20	65
2Ba	0,9	28	71
2Bb	0,9	24	70
2Bc	1,3	25	73
2Ca	1,1	18	64
2Cb	1,2	19	53
2Cc	0,9	14	67
3Aa	0,7	22	80
3Ab	0,7	16	68
3Ad	0,8	19	71
3Ba	0,5	23	73
3Bb	0,8	25	82
3Bc	0,5	22	71
3Ca	0,8	22	81
3Cb	0,7	22	81
3Cc	0,8	20	71
4Aa	0,6	26	97
4Ab	0,8	25	95
4Ac	0,4	28	96
4Ba	2,1	16	83
4Bb	1,2	22	84
4Bc	2,1	28	84
4Ca	1,4	18	72
4Cb	1,5	21	82
4Cc	1,2	20	80