



In questo numero:

Diffusive Gradients in Thin-films (DGT) per la valutazione della frazione labile di mercurio in sedimenti e acque di fiumi e laghi **2**

Determinazione di tensioattivi anionici in terreni provenienti dallo scavo in sotterraneo mediante Estrazione Liquida Pressurizzata (PLE) e metodo MBAS (Sostanze Attive al Blu di Metilene) modificato **15**

Buone pratiche per il campionamento delle acque sotterranee: proposta di un protocollo **23**

News:

Livelli di fondo naturale, origine ed evoluzione di alcuni elementi potenzialmente tossici nelle acque sotterranee (Tesi di Dottorato) **37**

Corso di Formazione "Processo a fanghi attivi: metodi di controllo delle disfunzioni tramite microscopia, verifiche di impianto e ottimizzazione del processo" **39**

MicroCokit Project Trainig School: "Methods for detecting and quantifying aquatic microbial communities" **40**

Editoriale

In questo primo numero del 2017 del Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News vengono presentati, nella prima sezione, due metodi per la determinazione di parametri chimici ed uno relativo al campionamento di acque sotterranee. I due contributi di tipo chimico-analitico riguardano, il primo, la valutazione della frazione labile di mercurio in sedimenti e acque superficiali (fiumi e laghi) mediante l'utilizzo di campionatori passivi di tipo DGT (Diffusive Gradients in Thin-films) dotati di specifica resina chelante (Spheron-Thiol) e, il secondo, la determinazione di tensioattivi anionici in terreni derivanti da procedure di scavo mediante estrazione liquida pressurizzata e successiva applicazione, sugli estratti ottenuti, del metodo ufficiale MBAS (APAT-IRSA 5170). Viene inoltre presentato un terzo contributo dedicato alla proposta di un protocollo per le buone pratiche per il campionamento delle acque sotterranee. Questo articolo costituisce un primo tentativo mirato a colmare la lacuna esistente nelle metodiche italiane in quanto, attualmente, non esiste un protocollo nazionale specifico sulle modalità di campionamento delle acque sotterranee, poiché le linee guida APAT-IRSA.CNR (2003), sebbene per alcuni aspetti applicabili anche alle acque sotterranee, sono in realtà destinate alle acque superficiali.

Nella seconda sezione (News) trovano spazio la presentazione di una tesi di dottorato svolta all'interno dell'Istituto, la presentazione del corso di formazione "Processo a fanghi attivi: metodi di controllo delle disfunzioni tramite microscopia, verifiche di impianto e ottimizzazione del processo" che si svolgerà dal 13 al 15 Giugno presso l'Università degli Studi di Brescia e, infine, la presentazione del progetto MicroCokit Training School "Methods for detecting and quantifying aquatic microbial communities", risultato di una stretta collaborazione tra gruppi accademici (CNR-IRSA-IT, EU-JRC, MBA-UK) e aziende private che operano nel campo ambientale (LGC-UK e NTBC-Spain).

Giuseppe Mascolo
Direttore del Notiziario

Diffusive Gradients in Thin-films (DGT) per la valutazione della frazione labile di mercurio in sedimenti e acque di fiumi e laghi

a cura di

Laura Marziali (*), Lucia Valsecchi, Istituto di Ricerca sulle Acque – CNR, Brugherio (MB)

RIASSUNTO

Viene descritto un metodo di determinazione delle concentrazioni di mercurio labile in acque superficiali e sedimenti, mediante utilizzo di campionatori passivi di tipo DGT dotati di specifica resina chelante (Spheron-Thiol). Nel lavoro sono discussi i vantaggi e i limiti di tale tecnica e sono presentati i risultati di alcune applicazioni nelle acque e sedimenti del Fiume Toce, anche in confronto con il bioaccumulo in organismi macrobentonici test (*Chironomus riparius*) e nativi.

SUMMARY

We describe a method for determining labile mercury concentration from surface waters and sediments by means of DGT passive samplers containing a Hg-binding resin gel (Spheron-Thiol). In the paper we discuss advantages and limitations of the procedure. The results of some applications in the water and sediments of the River Toce are presented. Comparison with bioaccumulation of mercury in benthic invertebrates such as *Chironomus riparius* and native macrobenthic taxa is also provided

1. INTRODUZIONE

Il mercurio è considerato una sostanza pericolosa prioritaria ai sensi della Direttiva europea 2013/39/UE sulle sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque, in quanto può raggiungere concentrazioni ambientali tali da rappresentare un rischio significativo per la vita acquatica e/o per la salute dell'uomo. Nell'ambito del monitoraggio della contaminazione nei corpi idrici d'acqua dolce, gli approcci attualmente utilizzati a livello globale prevedono l'analisi della concentrazione totale del metallo nelle acque, nel biota e, in alcuni Paesi, nei sedimenti. Per quanto riguarda l'Italia, il D.M. 260/2010, recentemente integrato dal D. Lgs. 172/2015, prevede l'analisi del mercurio totale nell'acqua e nel biota, mentre non è prevista l'analisi dei sedimenti negli ecosistemi d'acqua dolce. Per quanto riguarda l'analisi dell'acqua, lo Standard di Qualità Ambientale è stato fissato a 0,07 µg Hg/L, espresso come concentrazione massima ammissibile.

In un'ottica di rischio ecologico, è noto che la tossicità, la biodisponibilità, la capacità di bioaccumulo e di biomagnificazione del mercurio nei confronti degli organismi viventi sono parametri che dipendono strettamente dalla specie chimica. Questo elemento possiede infatti un ciclo biogeochimico complesso, che coinvolge numerose forme chimiche organiche e inorganiche, e vari comparti ambientali (atmosfera, acqua, suolo e biota) (Ullrich *et al.*, 2001). In particolare, la specie più tossica e bioaccumulabile è il metilmercurio, che nell'ambiente acquatico si origina prevalentemente attraverso la reazione di metilazione mediata da alcuni microrganismi (batteri solforiduttori), che sono in grado di produrre, in particolari condizioni chimico-fisiche, mono e dimetilmercurio a parti-

re dagli ioni bivalenti. Ciò rende difficile la valutazione del rischio associato alla contaminazione a partire dalla concentrazione totale di mercurio, in quanto la frazione biodisponibile sito-specifica può essere altamente variabile.

Inoltre, va considerato che il mercurio presenta una elevata affinità per la fase particolata e negli ecosistemi acquatici tende perciò ad accumularsi nei sedimenti, in particolare nelle frazioni a granulometria più fine, ricche di sostanza organica e argilla (Ullrich *et al.*, 2001). Il contaminante può essere rilasciato o adsorbito dai sedimenti secondo processi fisici, chimici o biologici influenzati principalmente dalle condizioni redox, di pH, temperatura, disponibilità di nutrienti e di agenti complessanti. Condizioni di ossigenazione favoriscono generalmente l'adsorbimento di Hg nei sedimenti, mentre condizioni di anossia favoriscono il rilascio dal sedimento in forma disciolta, in relazione rispettivamente alla precipitazione e dissoluzione di ossidi e idrossidi di ferro e magnesio; condizioni anossiche favoriscono anche il rilascio di Hg dai sedimenti in seguito alla formazione di complessi di zolfo solubili.

In questo contesto, l'utilizzo di campionatori passivi permette di determinare in modo semplice e standardizzato la frazione labile di mercurio direttamente in situ, fornendo una misura integrata nel tempo della biodisponibilità sia dalla matrice acqua che dai sedimenti. In particolare, i campionatori a gradiente diffusivo su film sottile (*Diffusive Gradients in Thin-films* - DGT) sono una tecnica relativamente consolidata per la determinazione delle specie metalliche labili negli ecosistemi acquatici (Davison e Zhang, 1995; Camusso *et al.*, 1996). A livello teorico, il principio che regola il funzionamento delle DGT è basato sulla capacità di diffusione dei metalli in un idrogel e sulla capacità di

* marziali@irsa.cnr.it

scambio di una resina chelante. Dato che la resina è selettiva per le specie libere o debolmente complessate, le DGT forniscono una misura integrata nel tempo della concentrazione labile dei metalli in soluzione (colonna d'acqua o acqua interstiziale). Concentrando mercurio nella resina, questi dispositivi permettono di superare le difficoltà analitiche legate all'analisi diretta delle concentrazioni, che possono essere prossime alle soglie di rilevabilità strumentale. Inoltre, permettono di superare i limiti del campionamento istantaneo, soprattutto in ecosistemi altamente variabili come quelli fluviali. Le DGT forniscono una concentrazione generalmente non paragonabile a quelle ricavate dall'analisi del mercurio totale in campioni istantanei di acqua o sedimento. Al contrario, però, esse forniscono una misura integrata nel tempo per il periodo di esposizione relativamente alla biodisponibilità, e quindi alla tossicità, paragonabile a quella ottenibile mediante esposizione diretta di organismi a sedimenti o acque contaminate (e.g. Clarisse *et al.*, 2012; Amirbahman *et al.*, 2013; Pisanello *et al.*, 2016).

1.1 Caratteristiche generali delle DGT per l'analisi del mercurio labile

Ciascuna unità di DGT, consiste in un contenitore di PVC, con una finestra aperta verso l'esterno (Fig. 1). Gli ioni metallici fluiscono per diffusione passiva attraverso una membrana filtrante a pori sottili (di solito 0,45 μm), migrano in uno strato di gel diffusivo e si legano ad una resina chelante. Il contenitore di PVC può avere diverse forme. In particolare, in commercio esistono unità di DGT di forma circolare, chiamate "pistons", generalmente con diametro di 2,5 cm e finestra di 2 cm, e unità rettangolari di tipo "probes", di dimensioni generalmente di 18 x 4 cm e finestra di 15 x 1,8 cm: queste ultime possono essere inserite verticalmente nei sedimenti per determinare i profili verticali dei metalli (Diviš *et al.*, 2005). Le due tipologie di campionatori differiscono solamente per la for-

ma e le dimensioni.

In particolare, per l'analisi del mercurio devono essere utilizzate unità di DGT con:

- un gel diffusivo che permetta una diffusione libera del mercurio. In particolare, è stato testato il gel di poliacrilammide, ma il mercurio tende a legarsi ai gruppi amminici (Dočekalová e Diviš, 2005; Amirbahman *et al.*, 2013). È quindi preferibile l'utilizzo di gel di agarosio 1,5%, nel quale l'accumulo di mercurio in eventuali impurezze è trascurabile;
- una resina chelante caratterizzata da gruppi funzionali sulfidrilici (-SH), che presentano elevata affinità per questo metallo rispetto ad altri elementi. In particolare, esistono in commercio diversi tipi di resina con queste caratteristiche, tra cui:
 - 1) la Spheron-Thiol, derivata dalla resina Spheron e funzionalizzata con gruppi -SH immobilizzati in gel di poliacrilammide: essa è stata testata in esperimenti di laboratorio e di campo con ottime rese rispetto al mercurio totale (Dočekalová e Diviš, 2005; Diviš *et al.*, 2005), anche se la disponibilità in commercio è ormai limitata; nel presente lavoro viene presentato un esempio di utilizzo di unità di DGT con resina Spheron-Thiol;
 - 2) la 3MFSG (3-mercapto-propyl-functionalized silica gel) in gel di poliacrilammide: essa è stata impiegata per analizzare le concentrazioni di monometilmercurio e mercurio totale (Clarisse e Hintelmann, 2006; Amirbahman *et al.*, 2013);
 - 3) la Ambersep GT74, una resina polistirenica di scambio cationico funzionalizzata con gruppi -SH legati ad una matrice macroretinale, es. gel di poliacrilammide: veniva utilizzata in passato per rimuovere metalli in processi industriali (Diviš *et al.*, 2005). Essa è stata utilizzata per investigare l'accumulo di specie



Figura 1. Unità di DGT impiegate per l'analisi del mercurio. A sinistra: unità di tipo "piston"; a destra: unità di tipo "probe".

organiche e inorganiche di mercurio (es. Pelcová et al., 2014).

Una peculiarità interessante di queste resine è che consentono di determinare la speciazione in soluzione del mercurio, permettendo di analizzare non solo le concentrazioni di mercurio totale, ma anche di specie inorganiche e organiche, tra cui il metilmercurio (Clarisse e Hintelmann, 2006; Amirbahman et al., 2013; Pelcová et al., 2014).

2. PRINCIPIO DEL METODO

La tecnica delle DGT è basata sulla prima legge di diffusione di Fick. La resina è separata dalla soluzione da una membrana (gel diffusivo) di spessore Δg. In seguito ad immersione in una soluzione, nell'arco di pochi minuti si crea uno stato stazionario del gradiente di concentrazione tra la soluzione e la resina. Il flusso (F) degli ioni metallici che diffondono dallo strato di gel alla resina chelante è espresso dalla seguente equazione:

$$F = \frac{D(C - C')}{\Delta g} \tag{1}$$

dove:

- D = coefficiente di diffusione nel gel (cm² s⁻¹);
- C = concentrazione libera dello ione metallico nella soluzione (mol cm⁻³);
- C' = concentrazione libera del metallo ionico nello strato di resina gel (mol cm⁻³);
- Δg = somma dello spessore dello strato diffusivo più quello della membrana filtrante (cm).

Se gli ioni metallici liberi sono in rapido equilibrio con la resina, con un'ampia costante di legame, C' è effettivamente zero a condizione che la resina non sia saturata. L'equazione 1 può quindi essere così semplificata:

$$F = \frac{D \cdot C}{\Delta g} \tag{2}$$

Poiché il flusso (F) rappresenta, per definizione, la massa (M) che passa attraverso una determinata sezione nell'unità di tempo, si avrà:

$$F = \frac{M}{t \cdot A} \tag{3}$$

dove:

- t = tempo di esposizione (s);
- A = area di esposizione (pari alla superficie della finestra, cm²).

Combinando la (2) e la (3) è possibile ricavare la concentrazione media, ponderata sul tempo, del mercurio nella soluzione (C_{DGT}):

$$C_{DGT} = \frac{M \cdot \Delta g}{D \cdot A \cdot t} \tag{4}$$

Nella pratica le condizioni di equilibrio non sono costanti durante tutto il tempo di esposizione (C cambia nel tempo), quindi C_{DGT} è un valore mediato nel tempo di C.

Se non si verifica una diminuzione della concentrazione degli ioni metallici nella soluzione circostante, questo flusso può essere utilizzato per calcolare la concentrazione di mercurio nel mezzo acquoso. Questo accade nelle acque naturali, dove i processi di mescolamento determinano generalmente un rifornimento continuo di ioni all'interfaccia DGT/acqua: in questo caso la concentrazione di mercurio rimane costante ed è effettivamente uguale a quella della soluzione (ossia C_{pw}, Fig. 2b). L'interpretazione delle misure mediante DGT nei sedimenti è invece più complessa, in quanto i processi di rifornimento del soluto nell'acqua interstiziale sono più lenti rispetto a quanto avviene nella colonna d'acqua e la concentrazione può calare nell'area circostante la DGT. In questi casi la

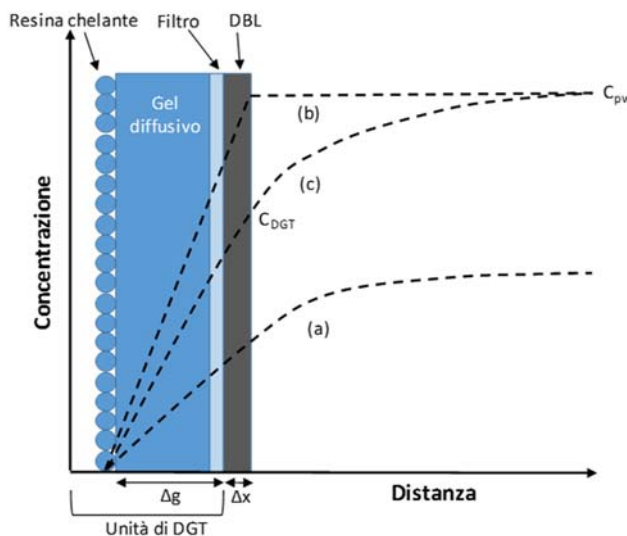


Figura 2. Rappresentazione schematica di una sezione di unità di DGT in contatto con il sedimento. Sono rappresentati i gradienti di concentrazione in tre casi: a) senza rifornimento dalla fase solida: in questo caso la concentrazione nell'acqua interstiziale all'interfaccia tra sedimento e DGT (C_{DGT}) diminuirà nel tempo e sarà quindi molto più bassa rispetto a quella effettiva nell'acqua interstiziale (C_{pw}); b) con rifornimento dalla fase solida: in questo caso C_{DGT} tenderà a rimanere costante grazie al rifornimento dalla fase solida, perciò il caso può essere assimilato a quello della DGT in una soluzione, in cui C_{DGT} = C_{pw}; c) con rifornimento parziale dalla fase solida: situazione intermedia, in cui la relazione tra C_{pw} e C_{DGT} dipende dall'intensità del rifornimento dalla fase solida: C_{DGT} ≤ C_{pw}. DBL = Diffusive Boundary Layer, vedi testo.

concentrazione misurata mediante le DGT va interpretata come la concentrazione media all'interfaccia DGT/sedimenti durante l'esposizione (ossia C_{DGT} in Fig. 2). La relazione tra C_{pw} e C_{DGT} dipende dall'intensità del rifornimento di ioni dalla fase solida, che può subentrare rimobilizzando mercurio legato in forma labile ai sedimenti (Fig. 2a, c) (Diviš *et al.*, 2005).

3. CAMPO DI APPLICAZIONE

Le DGT possono essere impiegate in acque e sedimenti, sia in laboratorio che in campo. Diversi esperimenti hanno mostrato la performance di queste resine al variare dei principali parametri chimico-fisici. In particolare, esse hanno mostrato un funzionamento ottimale a pH compresi tra 4 e 8 (Pelcová *et al.*, 2014), a temperature comprese tra 5 e 35 °C, in modo indipendente dalla forza ionica della soluzione e dal flusso della soluzione. In particolare, per soluzioni molto diluite (con forza ionica < 0,2 mmol/L), è generalmente sufficiente aumentare i tempi di esposizione. Le resine mostrano una sensibilità fino ai ng/L, con una buona ripetibilità tra repliche, mentre la massima concentrazione dipende dalla capacità della resina, ma permettono di determinare concentrazioni fino ai mg/L.

Le DGT di tipo probes permettono di ottenere i profili verticali nei sedimenti con una risoluzione di 1 mm lungo l'asse verticale.

4. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Le unità di DGT possono essere conservate al buio a 4 °C, generalmente per un massimo di 6 mesi dalla produzione, per evitare una perdita di idratazione del gel. Dopo l'utilizzo, esse possono essere riposte in sacchetti di polietilene chiusi e conservate al buio a 4 °C. È consigliabile effettuare l'analisi prima possibile, preferibilmente entro 10-15 giorni dall'utilizzo.

5. INTERFERENZE E CAUSE DI ERRORE

Alcuni importanti fattori vanno considerati per una messa a punto ottimale del sistema:

- bianco: almeno tre unità di DGT vanno analizzate per quantificare il bianco della "partita" di campionatori. Per quanto riguarda il mercurio, infatti, spesso il valore del bianco può risultare significativo e va dunque sottratto dal valore ottenuto nelle resine dopo l'esposizione. Inoltre nei casi di esposizione in campo è opportuno analizzare alcune unità di DGT trasportate come bianco di trasporto, per verificare che non si siano verificati fenomeni importanti di contaminazione durante la movimentazione.
- linearità nel tempo: prima dell'utilizzo delle unità di DGT, è opportuno verificare che il trasferimento di massa sia lineare nel tempo, effettuando una prova di esposizione in laboratorio in una soluzione a concentrazione nota (performance test). La prova, effettuata utilizzando più unità di DGT per tempo di esposizione, permette anche di verificare la precisione del metodo.

- tempi di esposizione: la scelta dei tempi di esposizione delle DGT rappresenta un punto critico. Tempi di esposizione troppo prolungati possono portare alla saturazione della resina o a fenomeni di biofouling; nel caso dell'esposizione nei sedimenti, ove la concentrazione di mercurio sia bassa potrebbe verificarsi l'esaurimento del flusso del metallo alla DGT. Al contrario, tempi di esposizione troppo brevi non permettono il raggiungimento di un equilibrio tra DGT e soluzione e quindi di un flusso costante, portando così a sottostimare l'effettiva concentrazione del metallo. Alcune prove preliminari possono aiutare a mettere a punto i tempi di esposizione ottimali per la matrice di indagine, ossia quelli che consentono di operare nel range di linearità.
- temperatura: la temperatura ambientale influenza la viscosità dell'acqua e pertanto influisce sulla diffusività del mercurio: per questo il coefficiente di diffusione D del mercurio da considerare nelle equazioni 1, 2, 4 e 6 va corretto per la temperatura misurata durante l'esposizione. Davison e Zhang (1995) hanno proposto la seguente formula, derivata dall'equazione di Stokes-Einstein:

$$\log D_t = \frac{1,37023(t-25) + 9,36 \cdot 10^{-4}(t-25)^2}{109+t} + \log \frac{D_{25}(273+t)}{298}$$

dove:

D_t = coefficiente di diffusione alla temperatura t ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$);

D_{25} = coefficiente di diffusione degli ioni in acqua a 25 °C ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$);

t = temperatura (°C).

- *Diffusive Boundary Layer (DBL)*: la resistenza esterna al trasferimento di massa, che può essere quantificata come lo spessore del DBL che si forma alla superficie di un oggetto solido in una soluzione che scorre, può teoricamente influenzare la misurazione delle concentrazioni della soluzione con le DGT, aumentando la distanza Δg che il metallo deve compiere per diffusione per raggiungere la resina (Fig. 2, Δx). Tale distanza Δx è risultata trascurabile in esperimenti di campo in acqua, mentre può risultare significativa in esperimenti di laboratorio oppure per esposizioni nei sedimenti: in quest'ultimo caso il DBL andrebbe quindi calcolato esponendo unità di DGT con diversi spessori di gel diffusivo (Davison e Zhang, 1995). In alternativa, i risultati ottenuti sono da interpretare come flusso massimo dalla fase solida a quella liquida, piuttosto che come concentrazioni.
- coefficiente di diffusione nei sedimenti: va considerato che nei casi di esposizione delle DGT nei sedimenti, il coefficiente di diffusione può risultare molto diverso da quello teorico, anche in relazione alla diversa capacità di rilascio dalla fase solida: per questo è necessario effettuare alcune

prove preliminari nel sedimento di interesse per calibrare il coefficiente di diffusione utile al calcolo della concentrazione media di mercurio labile. A questo scopo è necessario conoscere le concentrazioni nell'acqua interstiziale e calibrare il sistema esponendo alcune unità di DGT nei sedimenti a diversi tempi di esposizione.

- presenza di sostanze complessanti: è stato dimostrato che la concentrazione ottenuta mediante utilizzo delle DGT è in buon accordo con le misure dirette in acqua prelevata in situ e filtrata quando quest'ultima contiene bassi quantitativi di metallo sotto forma di colloidali o complessi forti (Dočekalová e Diviš, 2005; Clarisse *et al.*, 2012; Pelcová *et al.*, 2014). Altrimenti, la concentrazione ottenuta mediante le DGT può essere anche significativamente più bassa rispetto a quella del mercurio in acqua.

6. APPARECCHIATURE

- 6.1 Analizzatore di mercurio.
- 6.2 Unità di DGT: è possibile acquistare unità di DGT già assemblate presso laboratori chimici, su richiesta. In alternativa, è possibile produrle in laboratorio, seguendo i protocolli riportati in letteratura (es. Amirbahman *et al.*, 2013).
- 6.3 Supporti di plexiglass, polietilene ad alta densità o teflon per l'esposizione delle DGT in campo (es. Fig. 6).
- 6.4 Vetreria da laboratorio preventivamente lavata e condizionata in acido nitrico 1:10 v/v, sciacquata in acqua deionizzata prima dell'utilizzo, pinzette in teflon, lama in teflon o ceramica.
- 6.5 Acquari o recipienti di polietilene ad alta densità preventivamente lavati e condizionati in acido nitrico 1:10 v/v, sciacquati in acqua deionizzata prima dell'utilizzo.
- 6.6 Centrifuga e relative vials, filtri di policarbonato a pori da 0,45 μm .
- 6.7 pHmetro.
- 6.8 Termometro.
- 6.9 Conduttimetro.

7. REATTIVI

- 7.1 Acido nitrico 1 M (grado ultrapuro).
- 7.1 Acqua deionizzata e MilliQ.
- 7.3 Soluzione standard di mercurio: 1000 mg Hg L⁻¹ in HNO₃ 5%.
- 7.4 Materiale certificato per la determinazione di mercurio nei sedimenti: BCR-320R Channel Sediment, Institute for Reference Materials and Measurements del Joint Research Centre.

8. METODO

Il metodo è stato messo a punto per l'esposizione delle unità di DGT nei sedimenti del Fiume Toce in campo e in laboratorio nell'ambito delle attività di ricerca CIP AIS (CIP AIS, 2014, 2015). Viene di seguito descritto il metodo utilizzato.

8.1 Performance test

La performance delle DGT è stata testata in laboratorio esponendo i campionatori passivi ad una soluzione a concentrazione nota di mercurio in condizioni standard di temperatura.

A questo scopo è stata preparata una soluzione di mercurio con una concentrazione nominale di 10 $\mu\text{g Hg L}^{-1}$. La soluzione standard di partenza era di 1000 mg Hg L⁻¹ in HNO₃ 5%. Essa è stata diluita con acqua di rete fino alla concentrazione stabilita. La soluzione così ottenuta presentava pH di 7,02 unità, conducibilità elettrica di 553 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e concentrazione di 10,02 $\mu\text{g Hg L}^{-1}$. Due litri di soluzione sono stati travasati in un contenitore di polietilene ad alta densità, lasciato in agitazione su piastra magnetica in cella a 20 °C per una notte.

L'esperimento è stato condotto per 4 tempi di esposizione: 30 minuti, 1 ora, 2 ore e 4 ore. Sono state utilizzate 2 unità di DGT per ogni tempo di esposizione. Le unità di DGT sono state esposte alla soluzione nel recipiente mediante un supporto di Plexiglass preventivamente condizionato. Ad ogni tempo prestabilito sono state rimosse 2 unità di DGT dal supporto e analizzate immediatamente mediante analizzatore di mercurio AMA 254 (FKV). Inoltre, ad ogni tempo sono stati monitorati nella soluzione: temperatura, pH, conducibilità elettrica e concentrazione di mercurio totale, misurata mediante analizzatore AMA 254.

I risultati (Figura 3) hanno permesso di: 1) verificare la linearità dell'uptake nel tempo mediante calcolo del coefficiente di diffusione nella soluzione: sperimentalmente a 22 °C è risultato pari a $D = 8,63 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, un valore paragonabile a quello stimato per il mercurio nel gel di agarosio ($D = 8,36 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 22 °C) e simile al valore in acqua ($D = 8,41 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 22 °C) (Dočekalová e Diviš, 2005); 2) verificare la ripetibilità delle misure (quality assurance): il coefficiente di variazione tra le due misure effettuate ad ogni tempo con le unità di DGT è risultato compreso tra 0,1% e 9,6%. La prova ha permesso anche di escludere un'influenza significativa del DBL all'interfaccia tra l'unità della DGT e la soluzione.

8.2 Calibrazione dei tempi di esposizione nei sedimenti del Fiume Toce

I sedimenti del fiume Toce sono stati campionati il 25 gennaio 2014 in due stazioni di indagine (Bosco Ten-

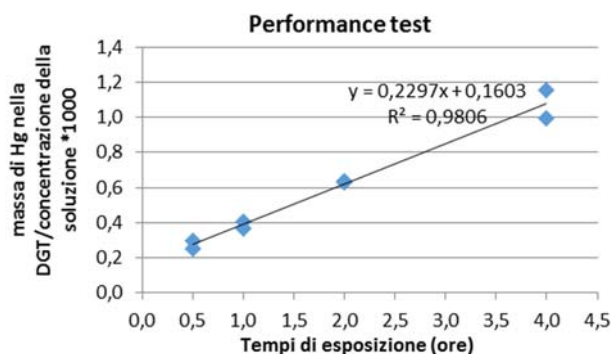


Figura 3. Risultati del performance test



Figura 4. Esposizione delle DGT nei sedimenti del Toce in laboratorio (sinistra) e sezionamento della resina prima dell'analisi (destra).

so e Ornavasso), raccogliendo aliquote di sedimento lungo un tratto di 50 m di sponda mediante cucchiaio metallico. Negli stessi siti sono stati prelevati campioni di acqua del fiume.

In laboratorio i sedimenti sono stati accuratamente omogeneizzati e trasferiti in due recipienti di polietilene ad alta densità, uno per ogni sito, coperti da uno strato di acqua del Toce (1,5 L di sedimento e 0,5 L di acqua per ogni recipiente). Ad ogni recipiente è stato fornito un sistema di aerazione per mantenere il livello di ossigenazione simile a quello del fiume. I recipienti sono stati chiusi con opportuni coperchi per evitare l'evaporazione durante il test. La prova è stata effettuata in cella termostata in condizioni costanti di temperatura (20 °C).

Dopo 24 ore, in ogni recipiente sono state inserite le unità di DGT, con la finestra rivolta verso il basso, leggermente infossata nei sedimenti (circa 1 cm) (Fig. 4). Le DGT sono state in seguito ritirate dopo tempi definiti: 1, 2, 4 e 7 giorni. Ad ogni tempo sono state ritirate 2 unità di DGT per ogni recipiente e sono stati misurati temperatura dell'acqua, pH e conducibilità

elettrica. La resina chelante è stata analizzata subito dopo l'estrazione, mediante analizzatore AMA 254.

I risultati sono riportati in Fig. 5. Dall'esperimento è risultato che i tempi migliori di esposizione sono 96 e 168 ore: l'equilibrio è stato raggiunto infatti dopo 96 ore. L'accumulo nelle resine non è stato lineare, in quanto la concentrazione di mercurio all'interfaccia sedimento/DGT può essere andata incontro a progressivo calo, oppure può essere intervenuto il rilascio dalla fase solida.

8.3 Calcolo del coefficiente di diffusione nei sedimenti del Fiume Toce

Un'aliquote dei sedimenti è stata centrifugata a 8000 rpm per 30 minuti per separare l'acqua interstiziale. Il surnatante è stato filtrato su filtri di policarbonato con pori da 0,45 µm preventivamente lavati con acido nitrico 1:10 v/v e sciacquati con acqua MilliQ. L'analisi ha permesso di determinare le concentrazioni di mercurio totale nell'acqua interstiziale (analizzata mediante AMA 254 utilizzando la funzione di preconcentrazione) e determinare sperimentalmente il coef-

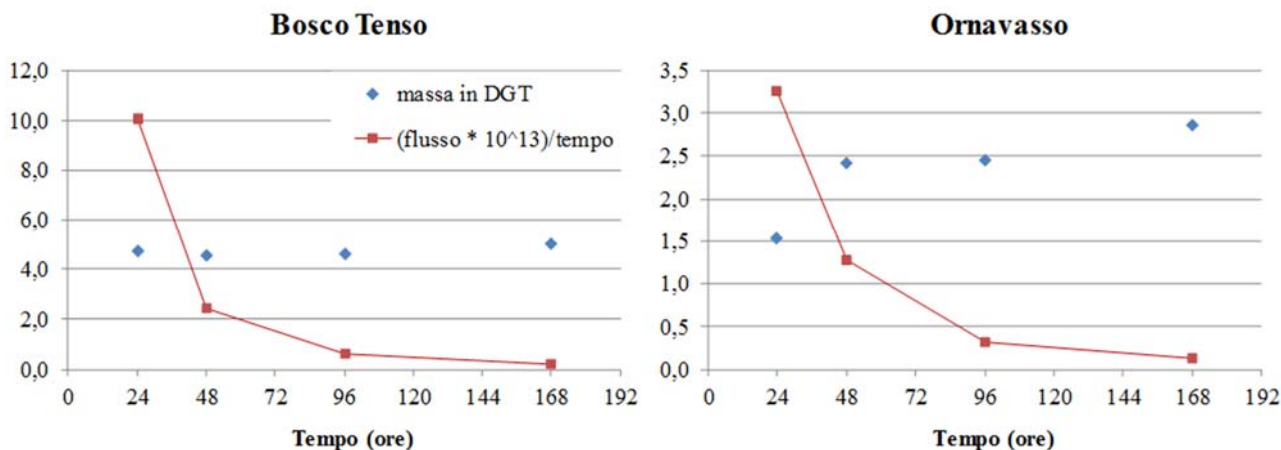


Figura 5. Risultati della prova di esposizione in laboratorio delle DGT ai sedimenti di due stazioni del Toce. Rombi azzurri: massa di Hg (ng) misurata nelle DGT ad ogni tempo di esposizione. Quadrati rossi: flusso di mercurio normalizzato sul tempo (nmol s⁻¹ cm⁻² s⁻¹); i valori di flusso sono moltiplicati per 10¹³.

ficiente di diffusione per le unità di DGT esposte nei sedimenti in laboratorio: il coefficiente di diffusione sperimentale è risultato compreso tra $7,01 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e $8,08 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, valori molto simili al coefficiente teorico di $7,46 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ alla temperatura di esposizione. Per le successive prove si è quindi deciso di utilizzare il coefficiente di diffusione teorico. La prova ha permesso anche di escludere l'influenza del DBL all'interfaccia tra l'unità della DGT e l'acqua interstiziale.

8.4 Analisi delle concentrazioni di mercurio totale nelle unità di DGT mediante analizzatore AMA 254

I supporti in teflon dei campionatori sono stati aperti ed è stata prelevata la resina chelante usando pinzette in teflon. La resina è stata tagliata in due utilizzando una lama di ceramica preventivamente lavata in HNO_3 1:10 v/v (Fig. 4). Le parti così ottenute sono state analizzate direttamente, senza ulteriore preparativa, mediante analizzatore di mercurio AMA 254 (Advanced Mercury Analyzer, FKV) (e.g. Fernández-Gómez et al., 2012; Pelcová et al., 2014).

La procedura adottata per l'analisi del mercurio nella resina segue il metodo US-EPA n. 7473 (US-EPA, 1997), basato sull'essiccamento e sulla successiva decomposizione termica ($750 \text{ }^\circ\text{C}$) del campione in corrente d'ossigeno (in presenza di un catalizzatore per la rimozione selettiva degli alogenuri e degli ossidi di azoto e zolfo). I vapori di mercurio liberati durante la decomposizione termica sono raccolti su un amalgamatore d'oro e quindi misurati per via spettrofotometrica a $253,65 \text{ nm}$. Il campo d'applicazione del metodo è compreso tra $0,05$ e 600 ng assoluti di Hg e permette di lavorare in due range distinti: il range basso, che misura valori di Hg non superiori a 50 ng assoluti, e il range alto, che misura valori superiori ai 50 ng assoluti. Il limite di rilevabilità dello strumento è pari a $0,01 \text{ ng}$ assoluti di Hg.

Il controllo della performance del metodo è stato effettuato mediante:

- 1) lettura di bianco strumentale (clean) prima dell'analisi, alla fine dell'analisi e dopo una sequenza di 4 letture;
- 2) lettura di un materiale certificato di conferma (BCR-320R Channel Sediment, Institute for Reference Materials and Measurements del Joint Research Centre) prima dell'analisi e alla fine dell'analisi.

Prima di effettuare i calcoli secondo l'equazione 4, ai valori assoluti di mercurio misurati nelle resine è stato sottratto il valore medio del bianco risultante dall'analisi di tre resine "bianche".

È possibile analizzare il mercurio totale o il metilmercurio anche mediante tecniche che prevedono l'eluizione della resina in soluzione acida (es. CVAFS, metodo US-EPA n. 1631, US-EPA 2002; metodo US-EPA n. 1630, US-EPA 1998; oppure GC-MS, Clarisse e Hintelmann, 2006); in questo caso il calcolo dovrà prevedere la diluizione nella soluzione acida di eluizione. M si calcolerà quindi come:

$$M = \frac{C_e(V_{\text{eluente}} + V_{\text{gel}})}{f_e} \quad (6)$$

dove:

M = massa di mercurio nella resina;

C_e = concentrazione di mercurio nella soluzione di eluizione ($\mu\text{g L}^{-1}$);

V_{eluente} = volume della soluzione eluente acida aggiunta alla resina (ml);

V_{gel} = volume della resina (ml);

f_e = fattore di eluizione.

8.5 Esposizione in campo delle unità di DGT nel Fiume Toce

Le unità di DGT sono state esposte in campo nei siti di Bosco Tenso e Ornavasso dal 22 febbraio all'1



Figura 6. Esposizione delle DGT in campo nel fiume Toce. Sinistra: supporto in Plexiglass in cui sono state inserite due unità di DGT rivolte verso l'alto e due rivolte verso il basso. Destra: per ogni sito sono stati installati due supporti, ritirati poi rispettivamente dopo 96 e 168 ore.

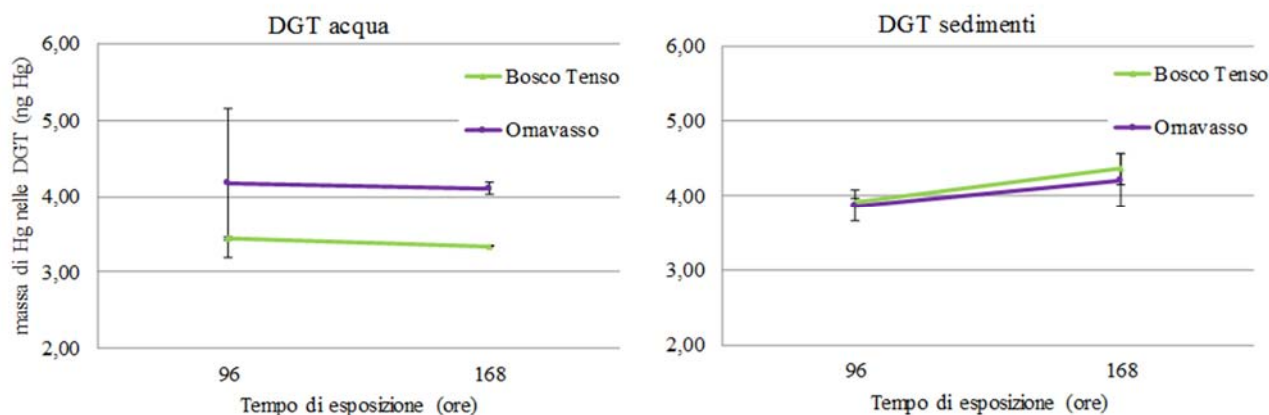


Figura 7. Massa di Hg (media ± deviazione standard) misurata nelle DGT ad ogni tempo di esposizione durante la prova in campo con i sedimenti di 2 stazioni del Toce. Sinistra: risultati ottenuti con le DGT esposte verso la colonna d’acqua. Destra: risultati ottenuti con le DGT esposte verso i sedimenti.

marzo 2014, con i due tempi di esposizione selezionati dopo la prova di laboratorio: 96 e 168 ore. In ogni stazione sono state esposte 8 unità di DGT orizzontalmente all’interfaccia acqua-sedimento: 4 rivolte verso la colonna d’acqua e 4 parzialmente infossate nei sedimenti (fino a 1 cm di profondità). Le DGT sono state posizionate utilizzando dei supporti in Plexiglass, come illustrato in Fig. 6.

Al momento del ritiro le due lamine dei supporti sono state separate, le unità di DGT sono state lavate con acqua MilliQ e poste in sacchetti di polietilene in frigo da campo a 4 °C.

Nei due siti di campionamento (Bosco Tenso e Ornavasso) sono stati misurati al momento dell’esposizione e ad ogni ritiro temperatura dell’acqua, conducibilità elettrica e pH mediante sonda multiparametrica. Negli stessi siti sono stati prelevati campioni di sedimento. L’analisi del mercurio totale nelle DGT e dei sedimenti è stata effettuata secondo le modalità sopra esposte per l’esperimento in laboratorio.

I risultati sono rappresentati in Fig. 7. Le unità di DGT esposte verso la colonna d’acqua e verso i sedimenti hanno fornito valori di massa confrontabili, in relazione al fatto che le DGT rivolte verso l’acqua sono state ritrovate parzialmente coperte da nuovi sedimenti trasportati dalla corrente durante il periodo di esposizione. Le unità rivolte verso la colonna d’acqua non hanno, inoltre, mostrato un gradiente di mercurio crescente nel tempo: probabilmente sarebbero necessari tempi di esposizione maggiori per l’accumulo; infatti, dai dati relativi al monitoraggio chimico delle acque del fiume condotti da ARPA Piemonte, risulta che la concentrazione di mercurio nelle acque è generalmente sotto il limite di rilevabilità strumentale (dati forniti da ARPA Piemonte per il periodo 2009-2013). Per queste ragioni i risultati non sono stati utilizzati per il calcolo della concentrazione di mercurio labile nella colonna d’acqua.

Le unità esposte verso il sedimento, invece, hanno mostrato una tendenza all’accumulo progressivo di Hg nel tempo, mostrando la biodisponibilità del contaminante nella matrice sedimenti: il contaminante è presente nell’acqua interstiziale, come evidenziato dagli esperimenti di laboratorio, ma può essere an-

che rilasciato dalla fase solida. Il coefficiente di diffusione è stato corretto per la temperatura media registrata in campo mediante la formula (5). Considerando tale coefficiente di diffusione e la massa media ottenuta dopo 96 e 168 ore di esposizione nelle DGT rivolte verso i sedimenti, sono state calcolate le concentrazioni di mercurio nei due siti mediate sul tempo di esposizione: i valori sono riportati in Tab. 1. I valori calcolati a 168 ore sono risultati significativamente inferiori rispetto a quelli calcolati a 96 ore, probabilmente a causa dello scarso rimescolamento dell’acqua interstiziale, che determina una diminuzione del rifornimento di mercurio nell’intorno delle DGT nel tempo.

Questo risultato dimostra che l’esposizione delle DGT in campo, dove le variabili in gioco sono molteplici e non sempre controllabili, fornisce dei dati di concentrazione media nel tempo che non sempre sono utilizzabili in senso assoluto per un confronto con lo SQA; questo vale soprattutto per le esposizioni nei sedimenti, una matrice complessa e generalmente molto eterogenea. Nel caso del mercurio, inoltre, il D. Lgs. 172/2015, ha recepito dalla Direttiva 2013/39/UE per la matrice acqua solamente lo SQA di 0,07 µg Hg/L espresso come concentrazione massima ammissibile: pertanto la concentrazione media nel tempo fornita dalle DGT non sarebbe direttamente confrontabile. Questi dispositivi costituiscono invece ottimi strumenti per valutazioni di rischio ecologico, nonché per casi di monitoraggio di indagine, in quanto

Tabella 1. Concentrazione di mercurio totale biodisponibile nell’acqua interstiziale nei due siti di studio del fiume Toce, misurata mediante l’esposizione in campo di unità di DGT per 96 e 168 ore (media ± deviazione standard).

	Concentrazione di Hg biodisponibile		
	Tempi	96 ore	168 ore
Sito	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹
Bosco Tenso		82 ± 2	56 ± 4
Ornavasso		80 ± 7	52 ± 7

permettono di quantificare la frazione labile di mercurio e monitorare le variazioni della biodisponibilità del contaminante per gli organismi acquatici, come meglio illustrato nel paragrafo seguente.

9. VALIDAZIONE DEL METODO: CONFRONTO DELL'ACCUMULO DI MERCURIO DA PARTE DI ORGANISMI MACROBENTONICI E UNITÀ DI DGT ESPOSTI AI SEDIMENTI DEL TOCE

La capacità delle DGT di mimare il comportamento di bioaccumulo di mercurio da parte degli organismi acquatici è stata testata in laboratorio e in campo. In particolare, data la rilevanza della matrice sedimenti nel Toce come sorgente di mercurio, è stato confrontato l'accumulo del contaminante nelle unità di DGT con quello in invertebrati bentonici esposti ai sedimenti: questi organismi, considerati ottimi indicatori di qualità ambientale negli ecosistemi d'acqua dolce, vivono a contatto con i sedimenti e in alcuni casi se ne nutrono (detritivori), risultando quindi esposti in maniera diretta e indiretta a questa matrice ambientale.

9.1 Esperimento di bioaccumulo in laboratorio con *Chironomus riparius*

È stato condotto un test per confrontare l'accumulo di mercurio totale da parte del macroinvertebrato *Chironomus riparius* (Insetti, Ditteri) con quello dei campionatori passivi di tipo DGT esposti ai sedimenti del Toce per 3 tempi di esposizione: 14, 21 e 26 giorni. *C. riparius* è un organismo detritivoro che vive infossato nei sedimenti, con un ciclo vitale quasi interamente acquatico della durata di 28 giorni.

I sedimenti e l'acqua del Toce sono stati prelevati nei siti di Ornavasso e Premosello in novembre 2015. Essi sono stati utilizzati per allestire il test di bioaccumulo con *C. riparius*, secondo un protocollo simile al metodo OECD n. 218 (OECD, 2004). Il test è stato condotto in cella a 20 °C. Sono stati allestiti 22 recipienti di vetro di dimensioni 19 x 19 x 18 cm, ossia 4-5 recipienti o repliche per ogni sito (Fig. 8). In ogni recipiente è stato aggiunto sedimento, fino ad un spessore di 1 cm e circa 1 L di acqua del fiume, ossia

per uno spessore di circa 4 cm. La concentrazione di ossigeno nell'acqua è stata mantenuta superiore al 60% del valore di saturazione utilizzando delle pompe di aerazione. Le repliche così allestite sono state lasciate condizionare per 35 giorni. Il numero degli organismi inseriti in ogni replica (larve di stadio I, inserite 5 giorni dopo la schiusa delle uova) è stato stabilito in modo da garantire una biomassa sufficiente per le analisi chimiche: 200 larve per il primo tempo di esposizione e 150 per gli altri due tempi. Alla fine dell'esposizione le larve di ogni replica sono state separate dai sedimenti con l'aiuto di setacci e pinzette, contate, asciugate con carta da filtro e congelate a -32 °C (Fig. 8). Gli organismi sono stati liofilizzati e omogeneizzati prima dell'analisi mediante analizzatore di mercurio AMA 254.

Parallelamente al test di bioaccumulo, nella stessa camera termostatica sono stati allestiti 2 recipienti (1 per sito) di polietilene per l'esposizione delle unità di DGT di tipo "piston" (Fig. 4). I recipienti sono stati riempiti con circa 1 L di sedimenti e 0,5 L di acqua del fiume. La concentrazione di ossigeno nell'acqua è stata mantenuta superiore al 60% del valore di saturazione utilizzando delle pompe di aerazione. Le repliche così allestite sono state lasciate condizionare per 35 giorni. Le unità di DGT sono state inserite orizzontalmente all'interfaccia acqua-sedimenti, con la finestra rivolta verso i sedimenti. In totale sono state utilizzate 6 unità di DGT per ogni sedimento (2 per ogni tempo di esposizione). Ad ogni tempo di esposizione le DGT sono state ritirate, sciacquate con acqua MilliQ e riposte in sacchetti di polietilene in cella a 4 °C al buio fino al momento dell'analisi mediante analizzatore AMA 254.

La Figura 9 mostra la correlazione tra le concentrazioni di mercurio nei chironomidi e nelle resine delle DGT esposti nei sedimenti prelevati a Premosello: i valori sono risultati strettamente correlati ($r = 0,94$; $p < 0,05$). In questo caso l'equilibrio è stato raggiunto velocemente al primo tempo di esposizione sia dagli organismi che dalle resine, mentre i valori sono rimasti pressoché stabili nei successivi tempi di esposizione: il rilascio di mercurio dalla fase solida è risultato infatti molto limitato.



Figura 8. Test di bioaccumulo con *Chironomus riparius*: allestimento delle repliche (sinistra) e separazione delle larve alla fine dell'esposizione per la l'analisi delle concentrazioni di mercurio (destra).

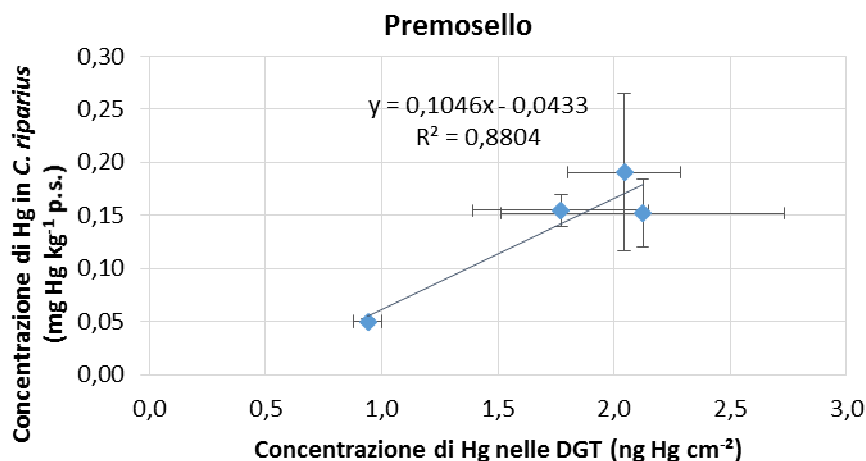


Figura 9. Correlazione tra le concentrazioni di mercurio nelle resine delle DGT e nei chironomidi (valori medi) per il sito di Premosello. Sono indicati l'R² (coefficiente di determinazione) e l'equazione della retta. Le barre verticali e orizzontali indicano la deviazione standard.

La Figura 10 mostra i risultati dell'esposizione nel sedimento prelevato a Ornavasso: anche in questo caso la correlazione è risultata molto forte ($r = 0,93$, $p < 0,05$) e i valori si dispongono in modo crescente lungo la retta di correlazione. Il rilascio dalla fase solida è risultato infatti continuo nel tempo, determinando un progressivo aumento di concentrazione sia negli organismi che nelle resine, mostrando quindi una maggiore biodisponibilità di mercurio.

In entrambi i casi, la risposta delle unità di DGT è risultata paragonabile a quella delle larve di *C. riparius*, dimostrando la capacità di questi dispositivi di mimare la cinetica di bioaccumulo degli organismi macrobentonici (Amirbahman *et al.*, 2013).

9.1 Accumulo di mercurio da parte di invertebrati bentonici nativi: esperimento in campo

Un secondo esperimento ha permesso di confrontare l'accumulo di mercurio da parte di macroinvertebrati nativi del Toce e da parte delle resine DGT esposte in campo.

Utilizzando retini immanicati, i macroinvertebrati nativi del Toce sono stati campionati in novembre 2012 e in aprile e ottobre 2014 in 4 siti (Domo, Prata, Bosco Tenso e Ornavasso) nelle zone di sedimentazione del fiume, caratterizzate da accumuli di sedimenti più fini (Fig. 11). Al momento del prelievo, gli invertebrati sono stati separati per taxon e lasciati spurgare in acqua del fiume per 6 ore. Gli organismi appartenenti ai gruppi tassonomici principali (Ditteri, Crostacei Gammaridae, Efemerotteri Heptageniidae, Efemerotteri Baetidae) sono stati poi colati, asciugati delicatamente su carta da filtro e congelati a -18°C. Successivamente, essi sono stati liofilizzati (Fig. 11) e sottoposti

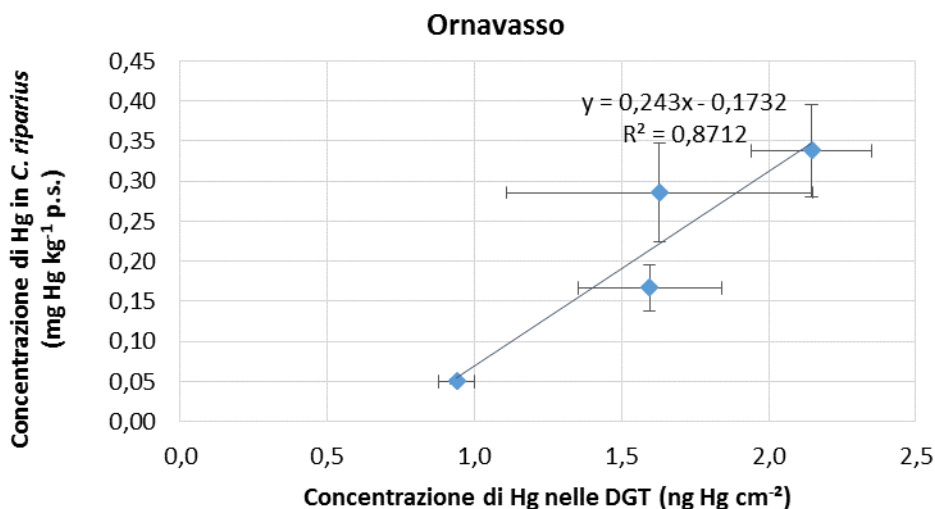


Figura 10. Correlazione tra le concentrazioni di mercurio nelle resine delle DGT e nei chironomidi (valori medi) per il sito di Ornavasso. Sono indicati l'R² (coefficiente di determinazione) e l'equazione della retta. Le barre verticali e orizzontali indicano la deviazione standard.



Figura 11. Campionamento dei macroinvertebrati bentonici nel Toce (sinistra), liofilizzazione degli organismi separati per gruppo tassonomico (destra).

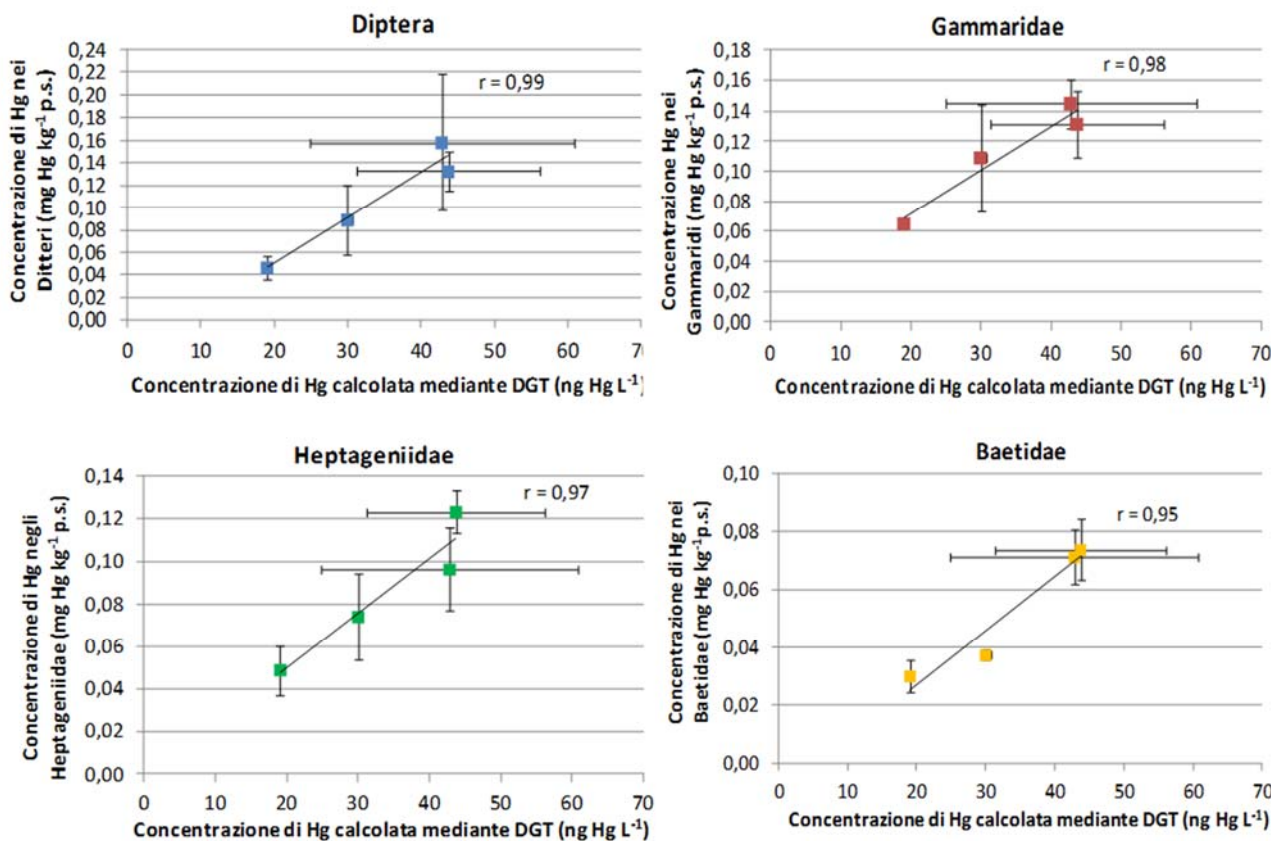
ad analisi della concentrazione di mercurio mediante analizzatore AMA 254.

Negli stessi siti sono state esposte nel Toce unità di DGT di tipo “piston”, posizionando la finestra rivolta verso i sedimenti, infossata di circa 1 cm: in febbraio 2014 sono state esposte 2 unità per sito per 7 giorni, in febbraio 2015 sono state impiegate 3 unità per sito per 11 giorni. L’analisi del mercurio nelle resine ha permesso di calcolare la concentrazione mediata per il tempo di esposizione.

In concomitanza alla raccolta del benthos e al posizio-

namento dei campionatori passivi, sono stati campionati i sedimenti del fiume per la determinazione delle concentrazioni di mercurio nella frazione fine, ossia quella passante al vaglio dei 63 µm.

La Figura 12 mostra il confronto tra le concentrazioni di mercurio misurate negli organismi e quelle calcolate mediante l’esposizione delle DGT nei sedimenti: la correlazione è risultata molto forte (r compresi tra 0,95 e 0,99, $p < 0,05$) per tutti i gruppi tassonomici. Al contrario, non è emersa una correlazione significativa tra le concentrazioni di mercurio totale nei sedi-



menti e negli organismi (r compresi tra -0,71 e -0,39, $p > 0,05$), né tra le concentrazioni nei sedimenti e quelle calcolate mediante esposizione delle DGT ($r = -0,59$, $p > 0,05$). Maggiori dettagli sono pubblicati in Pisanello *et al.* (2016).

Queste evidenze confermano che la concentrazione totale di mercurio nei sedimenti non è rappresentativa della frazione biodisponibile del contaminante. I risultati evidenziano invece la potenzialità delle DGT di misurare la biodisponibilità del mercurio per gli organismi acquatici anche in campo, fornendo una valutazione sito-specifica, standardizzata e altamente realistica difficilmente ottenibile mediante l'analisi di campioni puntuali di acqua o sedimento. Altre evidenze sono pubblicate in letteratura (es. Clarisse *et al.*, 2012; Amirbahman *et al.*, 2013).

10. CONCLUSIONI

Gli esperimenti dimostrano una correlazione forte tra l'accumulo di mercurio da parte delle DGT e quello negli organismi macrobentonici, sia in laboratorio che in campo. Entrambi rispondono in maniera paragonabile a diversi livelli di biodisponibilità del contaminante dalla matrice sedimenti e acqua. Rispetto all'utilizzo di organismi, le DGT sono uno strumento di facile applicazione, dai costi contenuti e più riproducibile, anche in situ. Per questo sono una tecnica promettente per valutare il primo step della biomagnificazione del mercurio nelle catene alimentari, ossia l'uptake del contaminante dalle matrici abiotiche al comparto biota. Il loro utilizzo per determinare le concentrazioni ambientali di mercurio va invece attentamente valutato mediante opportuni esperimenti preventivi di calibrazione, soprattutto per quanto riguarda le esposizioni nella matrice sedimenti.

RINGRAZIAMENTI

Grazie alla Dott.ssa Marina Camusso per aver trasferito la sua competenza ed esperienza sui campionatori passivi di tipo DGT.

BIBLIOGRAFIA

AMIRBAHMAN A., MASSEY D.I., LOTUFO G., STEENHAUT N., BROWN L.E., BIEDENBACH J.M., MAGAR V.S. (2013): "Assessment of mercury bioavailability to benthic macroinvertebrates using diffusive gradient in thin films (DGT)", *Env. Sci.: Processes Impacts* 15, 2104-2114.

CAMUSSO M., MARTINOTTI W., CRESCENZIO S. (1996): "Metodo di preconcentrazione mediante resina Chelex-100 per la determinazione di metalli in traccia in acque superficiali", *Notiziario dei metodi analitici*, IRSA-CNR. Marzo 1996, 6-13.

CIP AIS (2014): "Indagini sul DDT e sostanze pericolose nell'ecosistema del Lago Maggiore. Programma 2013-2015. Rapporto annuale 2013", Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere, www.cipais.org.

CIP AIS (2015): "Indagini sul DDT e sostanze pericolose nell'ecosistema del Lago Maggiore. Programma 2013-2015. Rapporto annuale 2014", Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere, www.cipais.org.

CLARISSE O., HINTELMANN H. (2006): "Measurements of dissolved methylmercury in natural waters using diffusive gradients in thin film (DGT)", *J. Environ. Monit.* 8, 1242-1247.

CLARISSE O., LOTUFO G.R., HINTELMANN H., BEST E.P.H. (2012): "Biomonitoring and assessment of monomethylmercury exposure in aqueous systems using the DGT technique", *Sci. Tot. Env.* 416, 449-454.

DAVISON W., ZHANG H. (1995): "Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution", *Anal. Chem.* 67, 3391-3400.

DIVIŠ P., LEERMAKERS M., DOČEKALOVÁ H., GAO Y. (2005): "Mercury depth profiles in river and marine sediments measured by diffusive gradients in thin films technique with two different specific resins", *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 1715-1719.

DOČEKALOVÁ H., DIVIŠ P. (2005): "Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems", *Talanta* 65, 1174-1178.

FERNÁNDEZ-GÓMEZ C., BAYONA J.M., DÍEZ S. (2012): "Laboratory and field evaluation of diffusive gradient in thin films (DGT) for monitoring levels of dissolved mercury in natural river water", *Int. J. Environ. Analytical Chem.*, 92: 1689-1698.

OECD (2004): "Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems. Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment", Organization for Economic Cooperation and Development.

PELCOVÁ P., DOČEKALOVÁ H., KLECKEROVÁ A. (2014): "Development of the diffusive gradient in thin

films technique for the measurement of labile mercury species in waters”, *Anal. Chim. Acta*, 819, 42-48.

PISANELLO F., MARZIALI L., ROSIGNOLI F., POMA G., ROSCIOLI C., POZZONI F., GUZZELLA L.(2016): “In situ bioavailability of DDT and Hg in sediments of the Toce River (Lake Maggiore basin, Northern Italy): accumulation in benthic invertebrates and passive samplers”, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23: 10542-10555.

ULLRICH S.M., TANTON T.W., ABDRAHITOVA S.A. (2001): “Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation”, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 31, 241-293.

US-EPA(1997): “Method 7473 - Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry”, US-Environmental Protection Agency.

US-EPA(1998): “Method 1630 - Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry”, US-Environmental Protection Agency.

US-EPA(2002): “Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry”, US-Environmental Protection Agency.

Determinazione di tensioattivi anionici in terreni provenienti dallo scavo in sotterraneo mediante Estrazione Liquida Pressurizzata (PLE) e metodo MBAS (Sostanze Attive al Blu di Metilene) modificato

a cura di

Jasmin Rauseo, Nicoletta Ademollo, Tanita Pescatore, Luisa Patrolecco (*), *Istituto di Ricerca sulle Acque – CNR, Montelibretti (RM)*

RIASSUNTO

Nel presente contributo viene descritta l'ottimizzazione di un metodo analitico per la determinazione dei tensioattivi anionici dal terreno che prevede una fase di estrazione liquida pressurizzata (PLE) e la successiva applicazione agli estratti ottenuti del metodo ufficiale MBAS (APAT-IRSA 5170) per l'analisi dei tensioattivi anionici nelle acque, parzialmente modificato. I tensioattivi anionici sono i principali costituenti, insieme ad altri componenti e additivi minoritari, di prodotti commerciali schiumogeni ampiamente utilizzati come agenti lubrificanti nella realizzazione di scavi meccanizzati in sotterraneo mediante frese. Essi si ritrovano in quantità significative nelle tonnellate di terre e rocce prodotte durante l'esecuzione di grandi opere ingegneristiche e il possibile riuso di tali ingenti quantità di terreno dipende dalla valutazione della loro compatibilità ambientale, altrimenti considerate rifiuto. La determinazione del contenuto di tensioattivi anionici nelle terre e rocce da scavo è uno dei parametri necessari alla verifica della loro eco-compatibilità.

In assenza di metodologie ufficiali per la determinazione di tensioattivi nella matrice terreno e, più in generale, nelle matrici ambientali solide, risulta di interesse sviluppare e validare una metodologia affidabile e accurata.

SUMMARY

Aim of the present work is the optimization of an analytical method for the determination of anionic surfactants from soil samples, which consists of a first phase of extraction of surfactants from the soil by the use of Pressurized Liquid Extraction (PLE) and the following analysis in the extract by the MBAS (Methylene Blue Active Substances- APAT-IRSA 5170) official method for waters, partially modified. The anionic surfactants are the main constituents of commercial foaming products widely used as lubricating agents in the mechanized excavation by means of tunnel boring machines.

Significant amount of these chemicals occur in the tons of soil debris produced during the execution of engineering works; the potential re-use of such huge amount of soil depends on the assessment of their environmental compatibility; otherwise, the produced debris must be treated as a waste. The determination of the anionic surfactants in the debris produced during excavation, is one of the mandatory parameters to assess their eco-compatibility. Given the absence of official methods, it has become necessary to develop and validate a reliable and accurate methodology to quantify these peculiar compounds in the soil matrix and, more in general, in the environmental solid matrices.

1. INTRODUZIONE

I tensioattivi sono composti di natura anfifilica, costituiti da un gruppo funzionale idrofilo e da un gruppo funzionale non polare idrofobo (catena idrocarburica). Tale peculiarità consente alla molecola di tensioattivo di ripartirsi nell'interfaccia tra due fasi (polare e apolare) immiscibili tra loro e di rendere specie solubili sia in solventi polari che apolari. Una ulteriore caratteristica dei tensioattivi è che, se presenti in concentrazioni sufficientemente elevate, possono aggregarsi tra di loro mediante la formazione di micelle (Concentrazione Micellare Critica, CMC) e conseguente formazione di schiuma.

In base alla natura del gruppo funzionale idrofilo, i tensioattivi si distinguono in anionici, cationici, anfoteri e non ionici. In particolare, i tensioattivi anionici

sono molecole caratterizzate da una struttura costituita da una catena alifatica idrocarburica predominante, generalmente costituita da 8 a 20 atomi di carbonio (Castro et al., 2014), e un gruppo funzionale ionico carico negativamente (anione solfonato o solfato) neutralizzato da un contro ione (es. Na^+ , K^+ , NH_4^+). Le peculiari caratteristiche chimico-fisiche, l'elevato potere detergente ed i bassi costi di fabbricazione rendono i tensioattivi anionici tra i composti organici più prodotti e diffusi nel mondo, per la molteplicità delle loro applicazioni in ambito farmaceutico (Lawrence, 1994), nei formulati agricoli (Edser, 2007) nella preparazione di alcuni pesticidi, nell'estrazione del petrolio (Scott e Jones, 2000) e nei prodotti cosmetici e detersivi (Zoller, 2009).

I tensioattivi anionici sono suddivisi in diverse classi, le più comuni sono: alchil benzeni solfonati (ABS), alchil solfati (AS) e alchil eteri solfati (AES).

* patrolecco@irsa.cnr.it



Figura 1. Tunnel Boring Machine (TBM) utilizzata nelle operazioni di scavo in sotterraneo per la realizzazione di grandi opere ingegneristiche.

L' European Committee of Organic Surfactants and their Intermediates (CESIO, 2015) ha stimato che nel 2013 in Europa occidentale sono state prodotte circa 2,8 milioni di tonnellate di tensioattivi e tra questi, si tratta per la maggior parte di tensioattivi anionici. Inoltre è stato stimato che il consumo europeo di AES è stato di 456.160 tonnellate, mentre il consumo di AS è stato di 65.885 tonnellate (Jackson et al., 2015).

I tensioattivi anionici sono i componenti principali nella preparazione di prodotti schiumogeni utilizzati nelle operazioni di scavo in sotterraneo mediante frese TBM (Tunnel Boring Machine, Fig. 1), per migliorare ed aumentare le caratteristiche di escavabilità del terreno, rendendo agevole sia il sostegno e lo scavo del fronte di avanzamento, sia l'accumulo e il trasporto del terreno scavato (Baderna et al., 2015).

Le sostanze presenti nei prodotti schiumogeni sono in genere idrocolloidi e tensioattivi (es. glicoli etilenici, alchil etossi solfati, carbossimetil cellulosa, gomma di guar ecc.).

Il sodio lauril etere solfato, comunemente denominato SLES (Fig. 2), è il principale tensioattivo anionico presente in tali formulati, in quantità comprese tra il 10 e 50% del prodotto (Milligan, 2000). Ulteriori additivi presenti in quantità minoritarie (<5%) possono essere: polimeri sintetici o naturali che aumentano la viscosità dello schiumogeno, biocidi, anti-congelanti o pigmenti di varia natura e funzione che prevengono la crescita microbica e quindi la degradazione biologica dei diversi componenti della schiuma (Milligan, 2000).

Lo SLES, è un sale sodico che appartiene al gruppo degli alcoli etossisolfati (alcohol ethoxysulfates, AES) ed è ottenuto tramite etossilazione dell'1-dodecanolo o alcol laurilico $C_{12}H_{25}OH$ (Cserhàti et al., 2002). Tale composto presenta un gruppo etereo all'interno della catena alchilica, che lo rende meno irritante/aggressivo sulla pelle rispetto ad altri tensioattivi anionici e per questo è un diffuso ingrediente nella produzione di cosmetici, prodotti detergenti e prodotti per la cura della persona con contenuti variabili tra lo

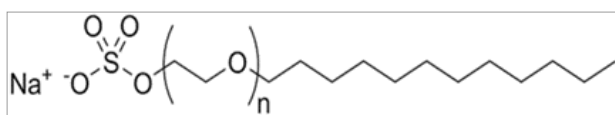


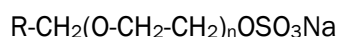
Figura 2. Struttura molecolare del sodio lauril etere solfato (SLES).

0,1 ed il 50 % (Robinson et al., 2010).

Lo SLES è caratterizzato da un elevato peso molecolare e in base alla lunghezza della catena lineare idrocarbura (parte idrofobica della molecola, che varia da 10 a 16 atomi di carbonio) e del numero di gruppi etossilati (parte idrofilica della molecola, in genere 2 o 3) viene indicato con diversi numeri di CAS (Chemical Abstract Service number, è un codice numerico che individua in maniera univoca una sostanza chimica). In particolare, il peso molecolare dello SLES è circa 420 g/mol considerando 3 gruppi etossilati (Cowan-Ellsberry et al., 2014).

Per queste sue caratteristiche di variabilità nella struttura molecolare, lo SLES appartiene alla categoria dei composti "Unknown or Variable composition, Complex reaction products or Biological materials" (UVCB) come definito dall'agenzia europea delle sostanze chimiche (ECHA).

La formula molecolare è:



con R (catena alchilica) = $C_{10}-C_{16}$

ed n (numero di unità etossiliche) = 2-3 ma anche maggiore

In Tabella 1 sono riassunte le principali proprietà chimico-fisiche dello SLES.

Tabella 1. Principali caratteristiche chimico-fisiche dello SLES

Proprietà	Valori
Peso molecolare	420 g/mol
Stato fisico	Liquido viscoso o polvere
Punto di fusione/congel.	10-15 °C
pH (20 °C; 100g/L)	7,5
Colore	Giallo paglierino
Solubilità in acqua (20 °C)	450 g/L
Viscosità (25 °C)	25.000 m Pa s
Densità relativa (20 °C)	1,1 g/cm ³
Log Kow (calcolato)	1,62

Le tonnellate di terre e rocce, prodotte per la realizzazione di opere ingegneristiche mediante TBM, contengono quantità significative di SLES e residui di altri componenti minori dei prodotti lubrificanti. I prodotti schiumogeni sono generalmente utilizzati nelle operazioni di scavo in sotterraneo in quantità comprese tra 0,1 e 3 L/m³ di terreno ed è possibile stimare una concentrazione di SLES nelle terre e rocce risultanti dallo scavo tra le 40 e le 500 ppm.

Per poter considerare riutilizzabili tali terre come sottoprodotto (ad esempio in rilevati stradali, argini di fiumi, dighe, riempimento di cave etc.), con un conseguente notevole vantaggio per l'ambiente ed il paesaggio, queste devono rispettare determinati requisiti di compatibilità ambientale. Nel caso in cui il materia-

le scavato non possedesse le idonee caratteristiche ambientali per il riuso, verrebbe considerato rifiuto, con un conseguente aumento dei costi di realizzazione dell'opera stessa per il suo smaltimento, nonché un depauperamento della risorsa suolo. La caratterizzazione del contenuto di tensioattivi anionici nelle terre e rocce da scavo è uno degli aspetti che devono essere presi in considerazione nelle procedure di verifica della loro eco-compatibilità.

In tale contesto e in assenza di metodi ufficiali per la determinazione dei tensioattivi anionici in matrici solide, il presente contributo descrive la messa a punto e validazione di una metodologia affidabile e accurata per la misura della concentrazione di SLES nel terreno. Il metodo proposto combina la tecnica di estrazione pressurizzata con solvente (PLE), che opera a pressione e temperatura elevate per aumentare l'efficienza del processo, e la successiva determinazione del tensioattivo nell'estratto con il metodo ufficiale MBAS (Sostanze Attive al Blu di Metilene - APAT-IRSA 5170); inoltre, il metodo MBAS è parzialmente modificato, in quanto si utilizza come standard di calibrazione proprio il tensioattivo anionico SLES in sostituzione di quello previsto dal metodo stesso, il sodio dodecil solfato (SDS), come descritto in dettaglio nei successivi paragrafi.

2. PRINCIPIO DEL METODO

E' stato messo a punto un metodo per l'estrazione quantitativa dello SLES da terreno condizionato con schiumogeno e successiva applicazione del metodo MBAS all'estratto ottenuto per la determinazione analitica del tensioattivo anionico. L'estrazione solido-liquido è stata realizzata mediante utilizzo dello strumento Thermo Scientific Dionex ASE 150 (*Accelerated Solvent Extraction*), un sistema automatizzato per l'estrazione di una vasta gamma di composti organici da matrici solide di diversa natura dove è possibile variare parametri quali pressione e temperature per aumentare l'efficienza del processo. L'aumento della temperatura velocizza la cinetica di estrazione accelerando il desorbimento degli analiti dal campione e la loro solubilizzazione nel solvente, mentre l'alta pressione mantiene il solvente allo stato liquido, sotto il punto di ebollizione, consentendo in tal modo estrazioni rapide e sicure (Naviglio & Ferrara, 2008). Il vantaggio della tecnica PLE risiede nella minimizzazione delle possibili interferenze combinando estrazione e purificazione in un unico passaggio; richiede, inoltre, l'utilizzo di una minore quantità di solventi spesso costosi e tossici e riduce notevolmente i tempi di analisi rispetto ad altri metodi estrattivi.

Il metodo ufficiale di estrazione dei tensioattivi anionici MBAS (*Sostanze Attive al Blu di Metilene*-APAT-IRSA 5170) determina globalmente tali composti sia in acque di scarico urbane ed industriali che in acque superficiali e sotterranee e si basa sul principio che i tensioattivi anionici, reagendo con il blu di metilene (colorante cationico), formano un sale di colore blu che viene estratto quantitativamente in cloroformio. L'assorbimento della fase cloroformica è proporzionale alla concentrazione del tensioattivo anionico e viene misurata, per via spettrofotometrica.

Nel presente contributo, il metodo ufficiale MBAS è stato applicato agli estratti in solvente dei campioni di terreno, ottenuti mediante tecnica PLE a temperatura e pressione elevate, utilizzando come standard di calibrazione lo SLES (C₁₀-C₁₆) (5.1).

3. PULIZIA VETRERIA E MATERIALE DA LABORATORIO

L'accurata pulizia della vetreria e, in generale, del materiale di laboratorio è un aspetto che non deve essere sottovalutato.

E' opportuno evitare l'uso di detersivi per il lavaggio della vetreria in quanto i saponi stessi costituiscono una fonte di contaminazione. A tale proposito tutta la vetreria da utilizzare nell'applicazione del metodo, è stata preliminarmente lavata con acqua ultrapura (4.9), successivamente è stata lasciata in immersione per almeno 4 ore in una soluzione di acido cloridrico 1 M (5.18) ed infine risciacquata con abbondante acqua ultrapura. Al termine di tale lavaggio, la vetreria costituita da vetro Duran o Pyrex è stata posta in muffola (4.5) a 550 °C per 4 ore. La vetreria non idonea al trattamento in muffola dopo il trattamento in acido e acqua ultrapura è stata accuratamente solventata prima con acetone (5.4), per la rimozione di residui (contaminanti) di natura polare, e poi con n-esano (5.5) per la rimozione di residui di natura apolare.

Analogamente, le celle utilizzate per l'estrazione dei campioni di terreno a temperatura e pressione elevate (4.2), sono state lavate dopo ogni utilizzo, con acqua ultrapura e successivamente sottoposte ad un trattamento con ultrasuoni (4.6) per 15 minuti utilizzando come solvente il metanolo (5.3).

Possibili cause di errore ed interferenza sono descritte nel metodo ufficiale MBAS (*Sostanze Attive al Blu di Metilene*-APAT-IRSA 5170). Interferenze positive sono prevalentemente associate alla presenza di sostanze organiche che, reagendo con il blu di metilene, formano dei sali estraibili in cloroformio. Interferenze negative sono invece associate a sostanze che inibiscono o ostacolano la formazione del sale di blu di metilene con il tensioattivo anionico considerato (SLES).

4. APPARECCHIATURE

- 4.1 ASE (Accelerated Solvent Extraction- Dionex ASE 150, Thermo Scientific);
- 4.2 Celle di estrazione ASE in acciaio inossidabile, volume 10 mL;
- 4.3 Filtri di cellulosa per celle di estrazione ASE da 1-22 mL;
- 4.4 Spettrofotometro (Perkin Elmer UV/Vis Spectrometer Lambda 25); predisposto per misure di $\lambda=650$ nm e corredato di celle in quarzo con cammino ottico da 1 cm e 5 cm;
- 4.5 Muffola (Heraeus® M 110 Muffle Furnaces);
- 4.6 Sonicatore (Branson 2510MT Ultrasonic Cleaner);
- 4.7 Bilancia analitica (Mettler Toledo, modello XPE105);

- 4.8 Imbuti separatori in vetro Duran (250 mL);
 4.9 Acqua ultrapura (qualità 18 MΩ/cm) generata mediante sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, 137 MA, USA).

5. REATTIVI

Al fine di evitare potenziali fonti di errore ed interferenza, tutti i solventi utilizzati erano di purezza HPLC (HPLC grade). Di seguito sono elencati tutti i reattivi considerati per l'applicazione del metodo descritto nel presente contributo.

- 5.1 Sodio lauril etere solfato (SLES, C₁₀-C₁₆), liquido viscoso, purezza grado analitico, BOC Sciences (US, Canada);
 5.2 Sodio dodecil solfato (SDS), purezza 99%, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany);
 5.3 Metanolo HPLC grade;
 5.4 Acetone HPLC grade;
 5.5 n-Esano HPLC grade;
 5.6 Soluzione concentrata di SLES (C₁₀-C₁₆) (1000 mg/L): dissolvere 133,33 mg (4.7) di sodio lauril etere solfato (5.1) in 100 mL di metanolo (5.3);
 5.7 Soluzione diluita di SLES (C₁₀-C₁₆) (50 mg/L): trasferire 5 mL della soluzione 5.6 in un matraccio tarato da 100 mL e portare a volume con acqua ultrapura;
 5.8 Soluzione concentrata di SDS (1000 mg/L): dissolvere 100 mg (4.7) di sodio dodecil solfato (5.2) in 100 mL di metanolo;
 5.9 Soluzione diluita di SDS (50 mg/L): trasferire 5 mL della soluzione 5.8 in un matraccio tarato da 100 mL e portare a volume con acqua ultrapura;
 5.10 Idrogeno carbonato di sodio (NaHCO₃);
 5.11 Carbonato di sodio anidro Na₂CO₃;
 5.12 Soluzione tampone a pH=10: sciogliere 24 g di idrogeno carbonato di sodio NaHCO₃ (5.10) e 27 g di carbonato di sodio anidro Na₂CO₃ (5.11) in 1000 mL di acqua ultrapura;
 5.13 Acido solforico concentrato (H₂SO₄) al 98%;
 5.14 Blu di metilene (cloruro di 3,7-bis(dimetilammino)fenazationio), Sigma-Aldrich;
 5.15 Soluzione neutra di blu di metilene: sciogliere 0,35 g di blu di metilene (5.14) in 1000 mL di acqua ultrapura. Tale soluzione deve essere preparata almeno 24 ore prima del suo utilizzo;
 5.16 Soluzione acida di blu di metilene: sciogliere 0,35 g di blu di metilene (5.14) e 6,5 mL di acido solforico concentrato (5.13) in 1000 mL di acqua ultrapura. Tale soluzione deve essere preparata almeno 24 ore prima del suo utilizzo;
 5.17 Cloroformio (CHCl₃) HPLC grade;
 5.18 Soluzione 1 M di acido cloridrico in acqua ultrapura;
 5.19 Terra di diatomee, (Thermo Scientific).

6. MESSA A PUNTO DEL METODO

6.1 Metodo MBAS modificato

Il metodo ufficiale MBAS per le acque (*Sostanze Attive al Blu di Metilene* APAT-IRSA 5170) determina globalmente i tensioattivi anionici di tipo solfonati in soluzione. Questo metodo non separa i diversi tensioattivi né in base alla lunghezza della catena alchilica né in base al numero delle unità etossiliche, in quanto la determinazione avviene sulla base del solo gruppo solfato ed è, quindi, aspecifica.

Come di seguito riportato, sono state eseguite diverse prove sperimentali finalizzate ad identificare lo standard di riferimento più opportuno per l'applicazione del metodo ufficiale MBAS alla determinazione del tensioattivo anionico SLES negli estratti di campioni di terreno condizionati con prodotti schiumogeni lubrificanti. In particolare, sono stati considerati il sodio dodecil solfato (SDS), standard di riferimento del metodo MBAS, e il sodio lauril etere solfato (SLES C₁₀-C₁₆) comunemente presente negli agenti schiumogeni lubrificanti utilizzati per migliorare le condizioni di escavabilità per la realizzazione di grandi opere ingegneristiche.

6.1.1 Quantificazione

Due rette di taratura per concentrazioni di tensioattivo anionico comprese rispettivamente nell'intervallo 0,05-0,5 mg/L e 0,5-4 mg/L, sono state ottenute sottoponendo aliquote degli standard SLES (5.7) e SDS (5.9) ad una tripla estrazione con cloroformio (5.17), prima in soluzione alcalina e successivamente in soluzione acida.

La prima fase estrattiva (soluzione alcalina) è stata effettuata agitando, in imbuti separatori da 250 mL, una miscela costituita da:

- 100 mL di soluzione acquosa di SLES o SDS a concentrazione finale compresa nell'intervallo tra 0,05 e 4 mg/L, per la costruzione della retta di taratura; ogni soluzione è stata ottenuta per diluizione della soluzione SLES (5.7) o SDS (5.9) 50 mg/L come riportato in Tabella 2.

Tabella 2. Volume (mL) di soluzione di SLES o SDS a concentrazione 50 mg/L prelevato per costruire le rette di taratura

Volume di SLES o SDS (mL)	Concentrazione di tensioattivo anionico (mg/L)
0,1	0,05
0,2	0,1
0,4	0,2
0,8	0,4
1	0,5
2	1
4	2
6	3
8	4

- 10 mL di soluzione tampone (5.12)
- 5 mL di soluzione neutra al blu di metilene (5.15)
- 20 mL di cloroformio (5.17).

La miscela è stata agitata per un minuto e lasciata stratificare. La fase cloroformica, che si separa nella parte inferiore dell'imbuto separatore, è poi stata sottoposta ad una estrazione acida in una seconda serie di imbuto separatori contenenti:

- 110 mL di acqua
- 5 mL di soluzione acida di blu di metilene (5.16).

La miscela è stata agitata per un minuto, lasciata stratificare e la fase cloroformica è stata a questo punto trasferita in matracci di vetro da 50 mL.

L'estrazione alcalina e acida è stata ripetuta altre due volte utilizzando 10 mL di cloroformio. Gli estratti cloroformici sono stati, infine, trasferiti in matracci da 50 mL e portati a volume con lo stesso solvente (Fig. 3).

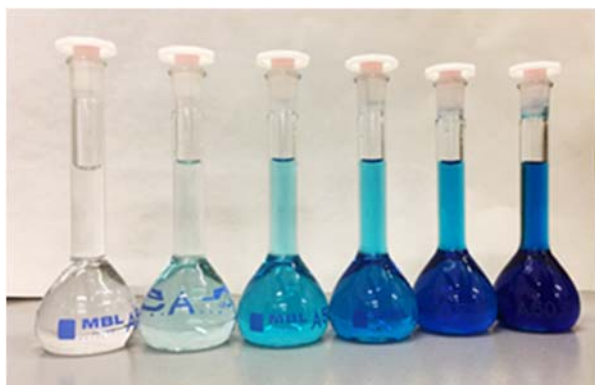


Figura 3. Soluzioni standard di sodio lauril etere solfato (SLES C₁₀-C₁₆), estratte con il metodo MBAS, e utilizzate per la costruzione della retta di taratura (lettura assorbanza alla lunghezza d'onda di 650 nm).

I valori di assorbanza degli estratti sono stati misurati mediante spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 650 nm (4.4), utilizzando celle con cammino ottico da 5 cm, per l'intervallo di concentrazione di tensioattivo

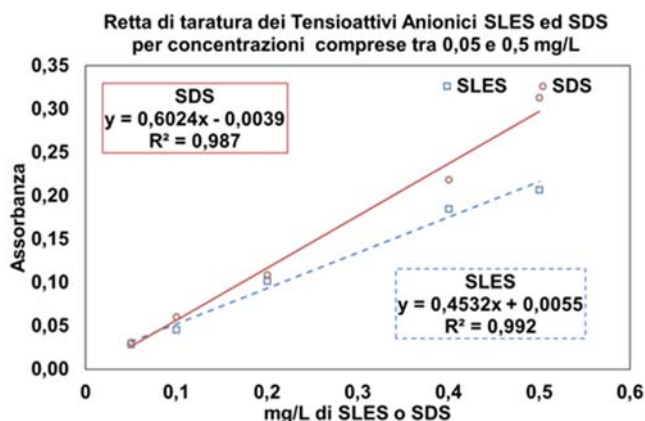


Figura 4. Retta di taratura per concentrazioni di tensioattivo anionico (SLES e SDS) comprese tra 0,05 e 0,5 mg/L.

di 0,05-0,5 mg/L e da 1 cm, per l'intervallo di concentrazione più elevato (0,5-4 mg/L).

Le due rette di taratura sono state costruite riportando in ascissa la concentrazione di SLES o SDS espressa in mg/L e in ordinata i corrispondenti valori di assorbanza (Fig. 4 e 5).

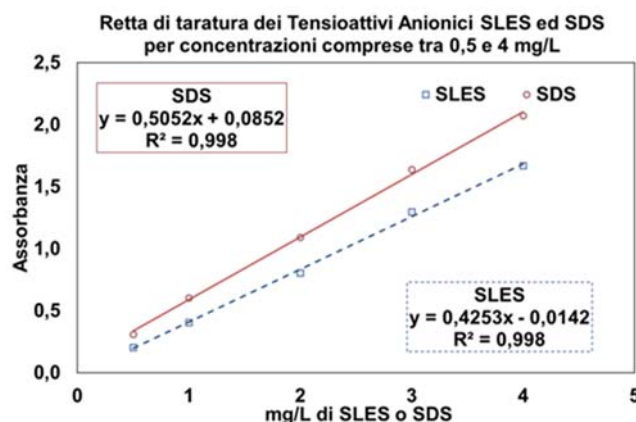


Figura 5. Retta di taratura per concentrazioni di tensioattivo anionico (SLES e SDS) comprese tra 0,5 e 4 mg/L.

Campioni acquosi simulati a concentrazione nota di SLES (C₁₀-C₁₆) nell'intervallo 0,25-3 mg/L sono stati preparati in acqua ultrapura e sottoposti ad una tripla estrazione con cloroformio in soluzione alcalina ed acida (come descritto precedentemente), in tre repliche per ogni concentrazione. Utilizzando entrambe le rette di taratura costruite con lo standard SLES (C₁₀-C₁₆) e SDS (Fig. 4 e 5), è stata determinata la concentrazione di SLES (mg/L) nei campioni simulati dal valore delle relative assorbanze. Le concentrazioni misurate sperimentalmente sono state quindi confrontate con quelle teoriche per verificare il recupero (in percentuale) e la precisione (deviazione standard delle tre repliche) della misura ottenuta utilizzando i due diversi standard di calibrazione (Tabella 3).

Tabella 3. Recupero (%) di quantità note di SLES in campioni acquosi simulati e precisione (\pm dev.st.) della misura (n=3) utilizzando le rette di taratura costruite con lo standard SLES e SDS

Concentrazione SLES campione simulato (mg/L)	Standard di calibrazione	Recupero (% \pm dev. st.)
0,25	SDS	85,2 \pm 11,3
	SLES	98,0 \pm 1,2
0,5	SDS	87,8 \pm 14,1
	SLES	96,6 \pm 1,8
1,0	SDS	70,1 \pm 1,1
	SLES	97,9 \pm 1,2
3,0	SDS	80,1 \pm 5,6
	SLES	99,0 \pm 1,0

I risultati ottenuti hanno indicato un recupero percentuale compreso nell'intervallo 70,1 ($\pm 1,1$) - 87,8 ($\pm 14,1$) % nel caso dell'utilizzo del SDS come standard di calibrazione e nell'intervallo 96,6 ($\pm 1,8$) - 99,0 ($\pm 1,0$) % nel caso dell'utilizzo dello standard SLES. E' stato quindi adottato lo SLES come standard di riferimento per l'applicazione del metodo MBAS alle successive misure del tensioattivo anionico negli estratti di terreno. I recuperi ottenuti dimostrano infatti che il metodo MBAS così modificato consente di determinare quantitativamente e con una migliore precisione il tensioattivo anionico SLES presente in soluzione.

6.2 Ottimizzazione dell'estrazione dello SLES da terreno

L'estrazione del tensioattivo dal suolo è stata realizzata mediante tecnica PLE (Estrazione Liquida Pressurizzata) utilizzando lo strumento Thermo Scientific Dionex ASE 150.

Per verificare l'efficienza di recupero della tecnica estrattiva, diverse aliquote di soluzione concentrata di SLES C₁₀-C₁₆ in metanolo (1000 mg/L) (5.6) sono state addizionate ad 1 g di terreno, precedentemente essiccato e omogeneizzato in mortaio d'agata, in modo da ottenere una concentrazione finale di SLES nel terreno compresa nell'intervallo 20 e 2000 mg/Kg (tre repliche per ogni concentrazione). I campioni di terreno addizionati con il tensioattivo sono stati lasciati asciugare per circa 15 minuti sotto cappa. Le celle di estrazione dello strumento (4.2) sono state preparate ponendo un filtro di cellulosa (4.3) in corrispondenza della sezione di uscita del solvente di estrazione. Dopo questa operazione, le celle sono state riempite con una miscela omogenea costituita dal campione di terreno additivato dello SLES (circa 1 g) e da materiale inerte (5.19) (2,5 g).

Sui campioni così preparati, sono state eseguite di-

verse prove di estrazione con metanolo (5.3) variando i parametri operativi strumentali quali temperatura, tempo statico (ossia il tempo in cui il contenuto della cella- campione e solvente- è mantenuto alla temperatura impostata) e numero di cicli in cui viene ripetuta l'estrazione. I diversi parametri strumentali testati sono riportati in Tabella 4.

Gli estratti metanolici ottenuti sono stati quindi analizzati con il metodo MBAS modificato (6.1). Dal valore dell'assorbanza dei campioni analizzati, è stata ricavata la concentrazione di SLES (mg/Kg) presente nel terreno, utilizzando la seguente formula:

$$C_s = \frac{a * V_e}{V * m}$$

dove:

C_s = concentrazione (mg/Kg) di SLES;

a = quantità di tensioattivi anionici (mg), come SLES, ricavati dalla retta di taratura;

V = volume (L) di estratto prelevato per l'analisi;

V_e = volume totale (L) di estratto PLE;

m = quantità di suolo analizzato (peso secco in Kg).

Confrontando le concentrazioni teoriche iniziali di SLES nel terreno con le concentrazioni misurate sperimentalmente, sono stati calcolati i recuperi di tensioattivo per ogni estrazione effettuata (espressi in percentuale) e la precisione delle misure ottenute in replicato (deviazione standard delle tre repliche) (Tabella 4).

Il recupero ottimale dello standard SLES additivato al terreno è stato ottenuto, indipendentemente dalla concentrazione iniziale di SLES nel terreno, impostando una temperatura di esercizio dello strumento ASE 150 di 100°C, una pressione di 1500 psi, un tempo statico di 5 minuti e 3 cicli di estrazione consecutivi, e

Tabella 4. Parametri strumentali di estrazione dello SLES dal terreno testati mediante la tecnica PLE

Condizioni operative ASE	Concentrazione SLES (mg/Kg)	Volume estratto (mL)	Recupero (% + dev.st.)
Solvente: MeOH, pressione: 1500 psi, T: 100°C, Tempo stat.: 5 min, N° di cicli: 3	20	30 ± 1	98,3 ± 1,4
	200	30 ± 1	96,5 ± 1,6
	2000	30 ± 1	99,1 ± 1,9
Solvente: MeOH, pressione: 1500 psi, T: 120°C, Tempo stat.: 5 min, N° di cicli: 3	20	30 ± 1	77,4 ± 1,6
	200	30 ± 1	83,2 ± 1,7
	2000	30 ± 1	90,3 ± 1,6
Solvente: MeOH, pressione: 1500 psi, T: 100°C, Tempo stat.: 5 min, N° di cicli: 4	20	35 ± 1	81,3 ± 1,9
	200	35 ± 1	81,4 ± 1,6
	2000	35 ± 1	83,1 ± 1,3
Solvente: MeOH, pressione: 1500 psi, T: 100°C, Tempo stat.: 10 min, N° di cicli: 3	20	30 ± 1	87,9 ± 1,1
	200	30 ± 1	86,9 ± 1,6
	2000	30 ± 1	98,6 ± 2,1

compreso nell'intervallo tra 96,5 ($\pm 1,6$) e 99,1 ($\pm 1,9$) % (Tabella 4).

Il metodo ottimizzato è stato successivamente applicato all'estrazione dello SLES da campioni di terreno condizionati con prodotti schiumogeni presenti in commercio e normalmente utilizzati come agenti lubrificanti nello scavo meccanizzato. In particolare sono stati esaminati 4 prodotti schiumogeni contenenti SLES in percentuale variabile, come illustrato in Tabella 5.

Tali prove sono state effettuate additivando a circa 2 g di terreno essiccato e omogeneizzato, una quantità nota del prodotto schiumogeno considerato (tre repliche per ogni prodotto commerciale), tale da simulare le quantità reali di utilizzo in fase di scavo. La concentrazione teorica del tensioattivo SLES nei terreni così condizionati era compresa nell'intervallo 18 - 750 mg/kg. I campioni sono stati quindi estratti con la tecnica ASE alle condizioni operative ottimizzate (solvente: metanolo, temperatura: 100 °C, pressione: 1500 psi, tempo statico: 5 minuti, cicli di estrazione: 3). Gli estratti metanolici sono stati poi analizzati per il contenuto di tensioattivo con il metodo MBAS modificato (6.1). In Tabella 5 sono riportati i risultati ottenuti dalle prove sperimentali eseguite sui terreni condizionati con gli agenti schiumogeni selezionati.

Tabella 5. Prove di recupero di estrazione dello SLES da terreno condizionato con prodotti commerciali con diverso contenuto di tensioattivo anionico nel formulato.

Prodotto commerciale	Concentrazione teorica SLES nel terreno (mg/Kg)	Recupero (% \pm dev.st.)
A: SLES 10%	70	95,4 \pm 3,2
B: SLES 10-20%	250-500	96,3 \pm 2,9
C: SLES 10-30%	18-56	99,6 \pm 1,1
D: SLES <30%	750	99,9 \pm 1,2

I recuperi ottenuti erano compresi tra il 95,4 ($\pm 3,2$) % e il 99,9 ($\pm 1,2$) %. Il limite di rilevabilità (LOD) dell'intera procedura di estrazione e analisi del tensioattivo è stato calcolato come tre volte la deviazione standard dei bianchi, ottenuti sottoponendo alla stessa procedura di estrazione e analisi campioni di terreno, in 10 repliche, non condizionato (IUPAC, Harmonized guidelines for in-house validation of methods of analysis, Technical Report,). Il LOD è risultato essere di 0,013 mg/L e il LOQ (Limite di Quantificazione) pari a 0,05 mg/L.

7. APPLICAZIONE DEL METODO OTTIMIZZATO A STUDI DI PERSISTENZA DELLO SLES NELLE TERRE E ROCCE PROVENIENTI DA SCAVI MECCANIZZATI

La realizzazione di operazioni di scavo in sotterraneo mediante TBM, comporta l'utilizzo di ingenti quantità di prodotti schiumogeni lubrificanti per il condizionamento del terreno (soil conditioning). Tali schiumogeni hanno come componenti principali i tensioattivi

anionici.

In passato le terre e rocce provenienti dallo scavo erano trattate come rifiuto, con conseguente aumento dei costi a causa del trasporto, trattamento e smaltimento in discariche specializzate. Nel tempo, si è invece riconsiderata la possibilità di poter recuperare tali terreni di scarto per un successivo riutilizzo (coperture stradali, materiale di riempimento di cave, verde pubblico), sfruttando la degradazione naturale (biotica e abiotica) dei composti contenuti negli agenti schiumogeni.

Alla luce di quanto detto, monitorare la concentrazione dei tensioattivi anionici nelle terre e rocce da scavo è un aspetto cruciale sia da un punto di vista economico sia da un punto di vista ambientale, poiché il suolo è una risorsa limitata e non rinnovabile a causa dei suoi tempi di formazione estremamente lunghi.

A titolo di esempio, vengono riportate alcune applicazioni del metodo ottimizzato e precedentemente descritto per la determinazione del tensioattivo anionico SLES nelle terre e rocce da scavo prodotte nella costruzione di gallerie autostradali e ferroviarie. Tali terreni possono essere posti in depositi temporanei (vasche o piazzole) all'interno del cantiere stesso e all'aperto per facilitare la degradazione naturale degli agenti schiumogeni, e in particolare dello SLES. La concentrazione dello SLES in tali terreni è stata monitorata nel tempo (28 giorni) applicando il metodo descritto in questo contributo. In Tabella 6 vengono riportati alcuni risultati ottenuti dalla determinazione dello SLES in studi di compatibilità ambientale di terre e rocce condizionate con diversi prodotti schiumo-

Tabella 6. Esempi di applicazione del metodo descritto per il monitoraggio dello SLES in due diverse litotipologie di terre e rocce da scavo condizionate con quattro agenti schiumogeni lubrificanti.

Prodotto commerciale	Tipo di terreno	Concentrazione di SLES (mg/Kg)	
		t=0 giorni	t=28 giorni
A: SLES 10%	argilloso	62,3 \pm 1,5	9,06 \pm 0,4
	sabbioso		
B: SLES 10-20%	argilloso	26,6 \pm 0,9	4,62 \pm 0,7
	sabbioso	85,2 \pm 1,5	2,46 \pm 0,5
C: SLES 10-30%	argilloso	82,8 \pm 1,8	0,7 \pm 0,1
	sabbioso	98,3 \pm 1,9	0,9 \pm 0,1
D: SLES 30%	argilloso	126,6 \pm 2,5	40,2 \pm 1,4
	sabbioso	263,5 \pm 2,2	98,0 \pm 1,5

geni. In tali studi, il monitoraggio dello SLES durante il tempo di "maturazione" di due diverse lito-tipologie di terre e rocce da scavo (una a matrice prevalentemente argillosa, l'altra prevalentemente sabbiosa) è stato eseguito secondo il metodo descritto.

I risultati ottenuti evidenziano come tale metodo sia adeguato per monitorare nel tempo la concentrazione residua del tensioattivo anionico SLES nelle terre e rocce provenienti da scavi meccanizzati.

BIBLIOGRAFIA

APAT-IRSA, (2003). Tensioattivi anionici. Metodo 5170. Metodi analitici per le acque.

Baderna, D., Lomazzi, E., Passoni, A., Pogliaghi, A., Petoumenou, M. I., Bagnati, R., Lodi M., Viarengo A., Sforzini A., Benfenati E., Fanelli, R. (2015). Chemical characterization and ecotoxicity of three soil foaming agents used in mechanized tunneling. *J. hazardous materials*, 296, 210-220.

Castro, M. J., Ojeda, C., & Cirelli, A. F. (2014). Advances in surfactants for agrochemicals. *Environmental chemistry letters*, 12(1), 85-95.

Cowan-Ellsberry, C., Belanger, S., Dorn, P., Dyer, S., McAvoy, D., Sanderson, H., Versteeg, D., Ferrer, D., Stanton, K. (2014). Environmental safety of the use of major surfactant classes in North America. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.* 44(17), 1893-1993.

Cserhàti, T., Forgács, E., Oros, G. (2002). Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environ. Int.* 28, 337-348.

Edser C (2007) Multifaceted role for surfactants in agrochemicals. *Focus Surfact* 3,1-2.

European Chemical Agency (ECHA), a. (2016). Substance information reports for Alcohols, C12-14, ethoxylated, sulfates, sodium salts. <http://echa.europa.eu/it/substance-information/-/substanceinfo/100.105.723> (accessed 17.07.16). European Chemical Agency (ECHA).

European Committee of Organic Surfactants and their Intermediates (CESIO, 2015)

IUPAC, Harmonized guidelines for in-house validation of methods of analysis, Technical Report, 1999 http://www.iupac.org/projects/1997/501_8_97.htm.

Jackson, M., Eadsforth, C., Schowanek, D., Delfosse, T., Riddle, A., & Budgen, N. (2015). Comprehensive review of several surfactants in marine environment: Fate and ecotoxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*.

Lawrence, M. J. (1994). Surfactant systems: microemulsions and vesicles as vehicles for drug delivery. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 19(3), 257-269.

Milligan, G. (2000). Lubrification and soil conditioning in tunnelling, pipe-jacking and microtunnelling. A state-of-the-art-review. Geotechnical consulting group, London. <http://www.eng.ox.ac.uk/geotech/research/pipejack/reports/soilcond.pdf>.

Naviglio, D., & Ferrara, L. (2008). Tecniche estrattive solido-liquido. Teoria e pratica. Aracne editrice, Roma, Italy.

Robinson, V.C., Bergfeld, W.F., Belsito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., Marks, J.G., Shank, R.C., Slaga, T.J., Snyder, P.W., Andersen, F.A. (2010). Final Report of the Amended Safety Assessment of Sodium Laureth Sulphate and Related Salts of Sulphated Ethoxylated Alcohols. *Int. J. Toxicol.* 29, 151S.

Scott M.J., Jones M.N. (2000). The biodegradation of surfactants in the environment. *BBA - Biomembranes*, 1508 (1-2), 235-251.

Zoller U. (2009). Detergents application: Current Realities and Future Perspectives. Handbook of detergents. Part E: Application. Edited by Taylor & Francis group, Boca Raton, Florida. 141,1-4.

Buone pratiche per il campionamento delle acque sotterranee: proposta di un protocollo

a cura di

Elisabetta Preziosi (*), Stefano Ghergo, Eleonora Frollini, Daniele Parrone, *Istituto di Ricerca sulle Acque – CNR, Montelibretti (RM)*

RIASSUNTO

Il documento qui presentato è nato per definire, sulla base dell'analisi della letteratura nazionale e internazionale, le procedure di campionamento da seguire nel monitoraggio della qualità delle acque sotterranee. La stesura di tale documento si è resa necessaria dal momento che, attualmente, in Italia non esiste un protocollo nazionale specifico sulle modalità di campionamento delle acque sotterranee, in quanto le linee guida APAT-IRSA.CNR (2003), sebbene per alcuni aspetti applicabili alle acque sotterranee, sono in realtà destinate alle acque superficiali. Inoltre, l'incertezza associata al campionamento può contribuire anche in maniera sostanziale (30-50%) all'incertezza associata al risultato analitico finale. Viste quindi queste premesse, si è deciso di elaborare una proposta di protocollo da seguire, in cui ci si occupi di tutti gli aspetti che vanno dalla ricostruzione del modello concettuale, e quindi dalla fase progettuale, fino alla fase di realizzazione del campionamento e controllo della qualità. La fase di realizzazione è costituita da una sequenza di azioni piuttosto articolata comprendente: 1) individuazione del punto di campionamento; 2) censimento e ispezione del punto di campionamento e raccolta delle informazioni a corredo che vengono riportate sulla scheda di campagna; 3) misura del livello piezometrico nel caso di piezometro o pozzo e misura della portata nel caso di sorgente; 4) spurgo del piezometro/pozzo fino a stabilizzazione dei parametri chimico-fisici; 5) misura dei parametri chimico-fisici con sonda multiparametrica in cella di flusso; 6) raccolta del campione in contenitori idonei, opportunamente etichettati, filtrazione (quando richiesto) e trattamento (quando richiesto); 7) trasporto del campione al laboratorio in borse refrigerate; 8) conservazione del campione in laboratorio fino ad analisi. Il controllo della qualità include la raccolta di bianchi di campo, bianchi di trasporto e bianchi dell'attrezzatura.

SUMMARY

The aim of this paper is to define, starting from a national and international literature review, a sampling procedures for monitoring groundwater quality and for the characterization of contaminated sites. The necessity to write this paper is due to the current lack of a specific national guidelines for groundwater sampling, as APAT-IRSA.CNR (2003) guidelines for the superficial water, although sometimes applicable also to groundwater, are focused on surface waters. In addition, the error linked to sampling procedures brings a far greater contribution (up to 50%) to the final error than that linked to the analytical procedures. Therefore, a proposal for GW sampling guidelines was developed; these include all aspects such as the reconstruction of conceptual model, the planning phase, the sampling phase and the quality control. The sampling phase includes: 1) selection of sampling point; 2) census and inspection of sampling point and collection of relative information; 3) piezometric level measurement in monitoring wells / piezometers or measurement of discharge in springs ; 4) purging of monitoring wells /piezometers until chemical-physical parameters stabilization; 5) measure of chemical-physical parameters through multiparameter probes with flow cell; 6) collection of GW samples in suitable containers, filtration and preservation; 7) transport of samples in refrigerate box; 8) preservation of samples in laboratory until analysis. The suggested quality control consists of field blanks, transportation blanks and rinsate blanks

1. L'IMPORTANZA DI UN PROTOCOLLO PER LE ACQUE SOTTERRANEE

In Italia un protocollo nazionale specifico sulle modalità di campionamento delle acque sotterranee non è al momento disponibile, per quanto esista un'ampia letteratura in ambito internazionale (Cal-EPA, 2008; EPA, 2000; EPA/540/S-95/504 April 1996; ISO 5667 -11, 2009; Barcelona et al., 1985). Le linee guida APAT-IRSA.CNR del 2003 sono infatti indirizzate alle acque superficiali, sebbene alcuni aspetti siano applicabili anche alle risorse sotterranee. A causa di questo, diverse Agenzie si sono dotate in modo autonomo di protocolli interni da applicare nelle attività di moni-

toraggio (ad es. ARPA Umbria, Peruzzi 2007) o per progetti specifici. Il presente documento vuole contribuire al processo di valutazione dello stato chimico delle acque sotterranee, definendo delle procedure di campionamento sulla base dell'analisi della letteratura nazionale ed internazionale, da applicare nelle diverse attività di monitoraggio previste dalla normativa nazionale.

Il campionamento ha come obiettivo quello di acquisire una aliquota "indisturbata", ovvero rappresentativa, di acqua proveniente dal corpo idrico sotterraneo di cui si vuole conoscere lo stato chimico e fisico in un dato momento. E' quindi essenziale che le procedure di prelievo, conservazione, trasporto, preparazio-

* preziosi@irsa.cnr.it

Glossario

Abbassamento: diminuzione del livello piezometrico durante la fase di emungimento (differenza fra livello dinamico e livello statico)

Acque sotterranee: acque contenute all'interno della zona satura e/o insatura di una formazione geologica o di un deposito artificiale

Acquifero: unità idrogeologica costituita da materiali a permeabilità medio alta

Aquiclude: unità idrogeologica costituita da materiali a bassa permeabilità

Bentonite: argilla utilizzata in forma di pellet o polvere per sigillare il piezometro/pozzo nei tratti in cui è posizionato il tubo cieco

Bocca pozzo: estremità superiore della tubazione del piezometro/pozzo che viene generalmente usata come punto di riferimento per la misura del livello piezometrico

Casing: rivestimento del piezometro/pozzo installato al fine di mantenere il foro aperto

Cementazione: sigillatura con cemento della parte più superficiale del piezometro/pozzo al fine di evitare l'infiltrazione di acqua proveniente dalla superficie

Dreno: materiale granulare, di opportune dimensioni, posizionato tra il filtro e la parete del foro

Filtro: tubo fessurato che permette l'entrata dell'acqua all'interno del piezometro/pozzo impedendo però il passaggio dei sedimenti

Livello dinamico: livello piezometrico registrato durante l'emungimento

Livello statico: livello piezometrico registrato in assenza di emungimento

Packer: strumento che viene inserito nel piezometro/pozzo per isolare temporaneamente una specifica sezione verticale del foro al fine di campionare le acque sotterranee a specifiche profondità

Piezometro: dispositivo formato da un tubo di materiale variabile (es. PVC, acciaio inox...) con un elemento poroso o una sezione perforata (filtro) installato nel sottosuolo in corrispondenza della zona satura al fine di misurare il livello piezometrico della falda e/o campionare l'acqua

Pozzo: foro realizzato nel terreno, tramite perforazione, per il prelievo di acque sotterranee

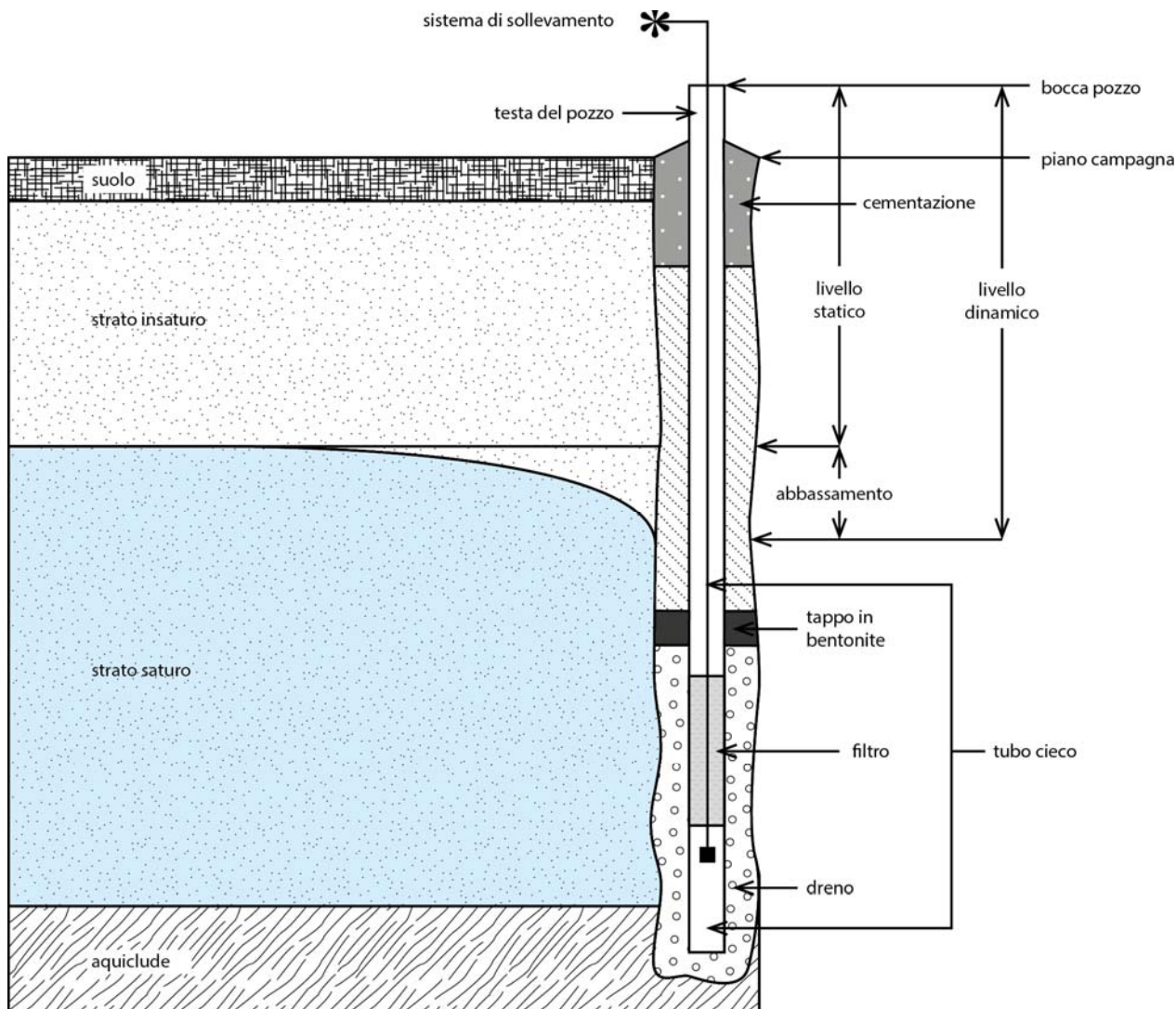
Sistema di sollevamento: insieme della pompa e dei relativi cavi elettrici e tubi di adduzione predisposti al prelievo delle acque sotterranee

Sorgente: emergenza naturale delle acque sotterranee

Strato insaturo: Porzione di terreno i cui pori non sono completamente riempiti da acqua

Strato saturo: Porzione di terreno i cui pori sono completamente riempiti da acqua

Tubo cieco: tubo privo di fessurazioni, installato in corrispondenza della zona insatura e degli strati per i quali non si vogliono captare le acque presenti



ne e analisi del campione siano idonee a mantenere intatta la sua rappresentatività. Come evidenziato da APAT-IRSA.CNR (2003), l'incertezza associata al campionamento può contribuire anche per il 30-50% all'incertezza associata al risultato analitico finale. Un aspetto non trascurabile è che tale incertezza non è quantificabile, mentre l'incertezza relativa all'analisi chimica dei componenti inorganici è quantificabile attraverso il confronto rispetto a standard certificati e il calcolo del bilancio ionico. In particolare, come sottolineato da ARPA Umbria (Peruzzi, 2007), in tutte le fasi del campionamento sono insite delle possibili fonti di errore.

L'unico modo per ridurre quindi l'incertezza relativa al campionamento è quello di eseguire le procedure in modo scrupoloso, seguendo protocolli riconosciuti internazionalmente e che siano condivisi dai vari sog-

getti che effettuano attività di monitoraggio e controllo, al fine di ottenere risultati confrontabili.

Se il campionamento ha per obiettivo quello di fornire un'istantanea dello stato chimico delle acque di un determinato punto o corpo idrico, l'attività di monitoraggio delle acque sotterranee mira a tracciare l'evoluzione di un processo nello spazio e nel tempo. Per fare ciò è necessario che venga definita una rete di monitoraggio che sia effettivamente rappresentativa del corpo idrico sotterraneo in studio e la cui progettazione deve considerare gli obiettivi del monitoraggio stesso e il modello concettuale del sito che viene aggiornato ed eventualmente modificato via via che si raccolgono nuovi dati.

Aspetti comuni ad ogni programma di monitoraggio, indipendentemente dagli obiettivi specifici, includono (EPA, 1996):

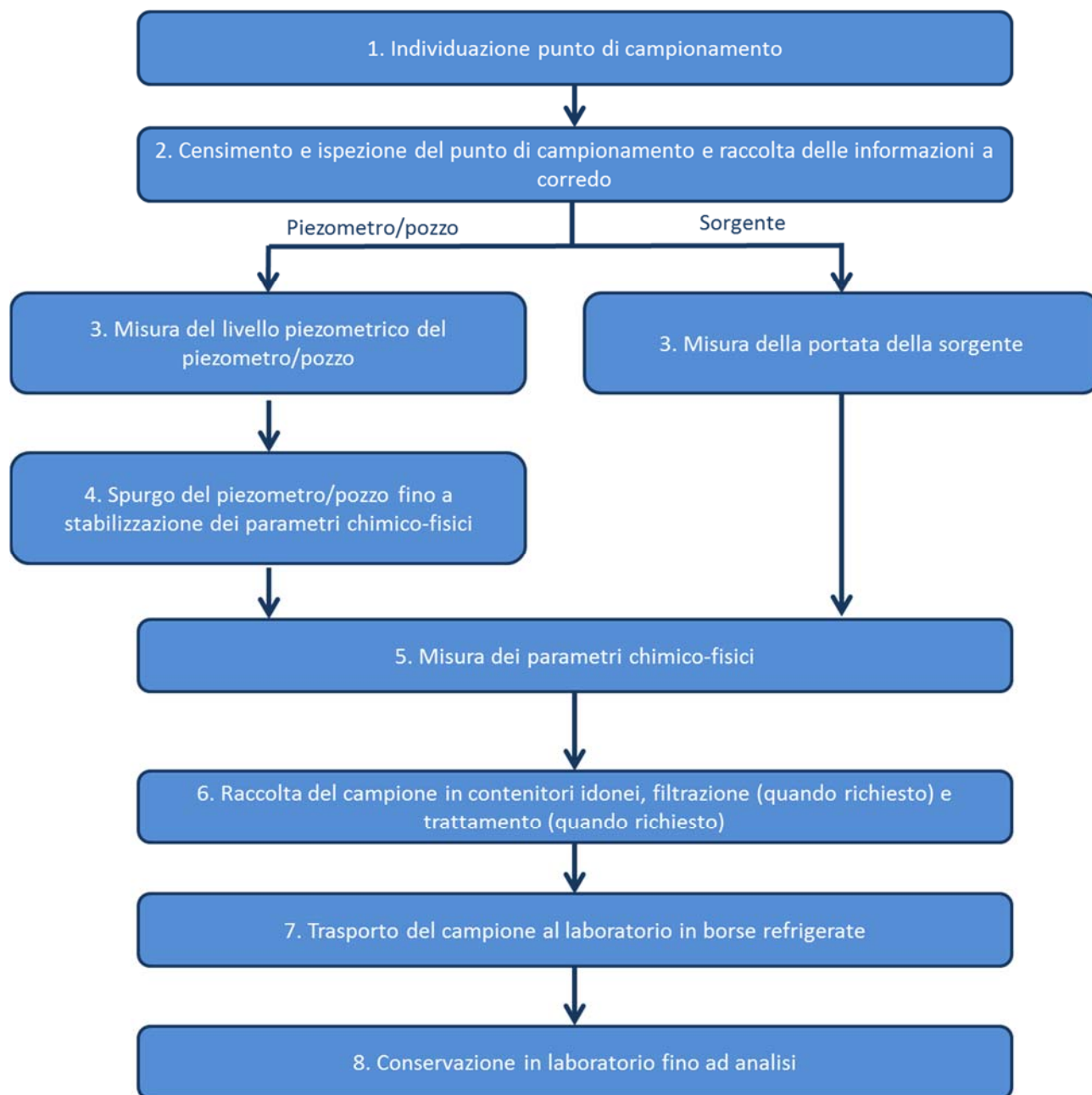


Figura 1. Sequenza delle diverse fasi del campionamento

- 1) Sviluppo di un modello concettuale che integri elementi di geologia regionale nel contesto geologico locale. Questa attività include anche una caratterizzazione iniziale del sito, sulla base dei dati di sondaggi e pozzi disponibili, per identificare le unità idrostratigrafiche locali e i possibili percorsi delle acque sotterranee.
- 2) Raccolta di dati di alta qualità, ben documentata, utilizzando tecniche accurate e riproducibili.
- 3) Affinamento del modello concettuale sulla base dei dati supplementari raccolti nel corso dell'indagine.

2. DEFINIZIONE DEL MODELLO CONCETTUALE

La ricostruzione del modello concettuale preliminare, che è alla base di tutte le attività necessarie alla definizione del piano di campionamento, viene ricostruito sulla base della raccolta e organizzazione dei dati disponibili in merito a:

- 1) identificazione, delimitazione, inquadramento geografico e tipologia dell'area in esame;
- 2) ricostruzione dell'assetto geologico e idrogeologico regionale e locale sulla base della bibliografia e/o di indagini realizzate nell'area di studio;
- 3) studio delle pressioni esistenti: uso del suolo, attività antropiche, eventuali contaminazioni segnalate;
- 4) individuazione delle caratteristiche dei materiali geologici che controllano il comportamento geochimico e il trasporto delle sostanze in esame (estensione laterale e verticale, direzione orizzontale e verticale del flusso, conducibilità idraulica e contrasti di conducibilità tra i differenti materiali geologici) (Cal-EPA, 2008).

Il modello concettuale preliminare si rende necessario per definire la strategia di campionamento, la quale è funzione di:

- 1) obiettivi del campionamento;
- 2) inquadramento geologico e idrogeologico;
- 3) numero di pozzi/piezometri e sorgenti da campionare (anche in funzione del budget disponibile);
- 4) accessibilità dei punti di campionamento;
- 5) caratteristiche dei pozzi/piezometri (diametro, profondità, intervallo tratto filtrato, livello di falda atteso, acquifero intercettato);
- 6) caratteristiche delle sorgenti (portata, note geologiche);
- 7) parametri analitici richiesti e concentrazioni attese;
- 8) disponibilità di dati storici relativi ai punti di campionamento.

Sulla base del modello concettuale, se necessario,

viene individuato l'ordine di campionamento dei vari punti d'acqua (ad esempio da monte a valle).

Successivamente, sulla base dei risultati derivanti dal campionamento e dalle analisi effettuate, si procederà con l'aggiornamento del modello concettuale che permetterà di comprendere con maggior dettaglio i processi che avvengono nel sito in esame e quindi di affinare il piano per i campionamenti successivi.

3. DISEGNO DELLA RETE DI MONITORAGGIO

Al fine di monitorare lo stato qualitativo delle acque sotterranee è necessario disegnare una rete di monitoraggio che sia effettivamente rappresentativa del corpo idrico sotterraneo in studio e del processo che si intende seguire, che sia costituita da punti di monitoraggio che mantengano una vita medio-lunga, così da avere delle serie temporali significative per poter identificare eventuali tendenze considerevoli e durature (ISPRA, 2014). Le caratteristiche ottimali della rete di monitoraggio, che comprenderà piezometri, pozzi, sorgenti e fontanili, dovranno essere definite prima che abbia inizio la fase di campionamento sulla base del modello concettuale.

4. METODOLOGIA DI CAMPIONAMENTO

Il protocollo di campionamento delle acque sotterranee adottato da IRSA-CNR segue le procedure descritte dai metodi APAT-IRSA.CNR (2003), dove applicabili, basandosi inoltre su procedure consolidate quali quelle descritte da EPA (Cal-EPA, 2008; EPA, 2000; EPA/540/S-95/504 April 1996; Barcelona et al., 1985).

La fase di campionamento consiste in una sequenza molto articolata di operazioni (Fig.1) che include la pianificazione accurata di una strategia che, una volta fissata, deve essere rigorosamente seguita al fine di ottenere un campione rappresentativo delle acque sotterranee presenti nell'acquifero, che rimanga tale fino alla determinazione analitica. Le attrezzature ed il materiale di consumo che si possono rendere necessari sono elencati nella *check list* di Appendice 1

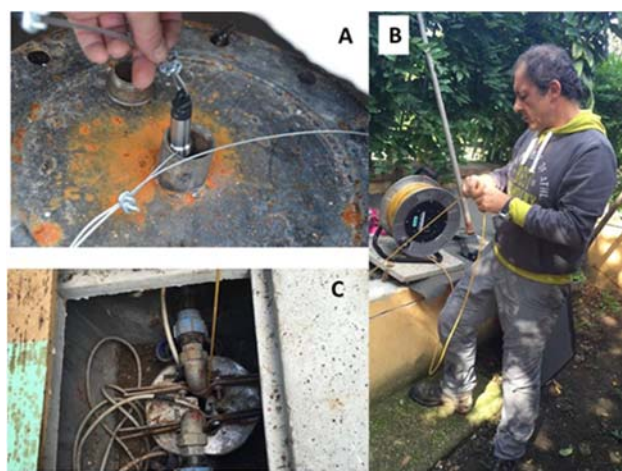


Figura 2. A) Installazione del diver per la misura in continuo del livello piezometrico; B) e C) Misura del livello piezometrico tramite freaticmetro

Tabella 1. Criteri di stabilizzazione dei parametri chimico-fisici delle acque sotterranee durante lo spurgo .

Parametro	Criterio di stabilizzazione	Riferimento bibliografico
Temperatura	±3% della lettura (minimo di ±0,2°C)	Cal-EPA, 2008; U.S. OSMRE, 2012
pH	± 0,1	EPA, 1996; Cal-EPA, 2008; U.S. OSMRE, 2012
Conducibilità elettrica	±3%	EPA, 1996; Cal-EPA, 2008; U.S. OSMRE, 2012
Potenziale redox	± 10 mV	EPA, 1996; Cal-EPA, 2008; U.S. OSMRE, 2012
Ossigeno disciolto	± 10%; ±0,3 mg/L	EPA, 1996; Cal-EPA, 2008; U.S. OSMRE, 2012

4.1 Individuazione del punto di campionamento

Il punto di campionamento viene selezionato in campo sulla base del progetto della rete di monitoraggio e in funzione delle finalità del campionamento.

In particolare, dovranno essere valutate le seguenti caratteristiche:

- Rappresentatività rispetto alle caratteristiche individuate nel modello concettuale in termini di litologia e di profondità dell'acquifero individuato;
- Disponibilità di un adeguato sistema di sollevamento dell'acqua, di una feritoia sulla testa pozzo per le misure piezometriche e di un dispositivo che permetta la raccolta del campione prima di eventuali impianti di trattamento o serbatoi;
- Assenza di possibili perturbazioni antropiche: attività impattanti, sistemi di potabilizzazione, attrezzature obsolete.

4.2 Censimento e ispezione del punto di campionamento e raccolta delle informazioni a corredo

Ad ogni punto d'acqua in cui si effettua il campionamento viene associata una scheda di campagna (per un possibile modello, vedi Appendice 2), sulla quale sono annotati i dati relativi a:

- nome di chi effettua il campionamento;
- data del campionamento;
- identificativo del punto di campionamento (generalmente composto da una combinazione di lettere e numeri che dovrebbero essere applicati secondo un metodo standard, es. acronimo dell'area di studio seguite dal numero del punto campionato);
- eventuale nome del punto di campionamento;
- posizione (provincia, comune, località, riferimento cartografico, coordinate, quota);
- proprietà dell'opera (gestore e/o proprietario e relativi contatti);
- accessibilità e stato di conservazione;
- caratteristiche costruttive (per pozzi/

piezometri/captazioni) quali, profondità, diametro, materiale del rivestimento, altezza del bocca pozzo rispetto al piano campagna (positiva o negativa a seconda se è sopraelevato o meno rispetto al piano campagna), profondità dei filtri;

- note geologiche (per le sorgenti schema del sistema acquifero-aquiclude, per i pozzi e piezometri le formazioni coltivate dal piezometro/pozzo);



Figura 3. Sonde multiparametriche in celle di flusso per la misura dei parametri chimico-fisici *in situ*



Figura 4. A) bailer; B) e C) packer

- livello piezometrico statico/dinamico (per pozzi/piezometri) e portate (per sorgenti/fontanili);
- dati chimico-fisici misurati nel corso del campionamento;
- durata e portata dello spurgo effettuato;
- numero e tipologia delle aliquote di campione raccolte (parte relativa a ciascun campionamento).

4.3 Misura del livello piezometrico del piezometro/pozzo e portata della sorgente

La misura del livello piezometrico in un piezometro/pozzo viene effettuata tramite freaticometro (misura istantanea) o tramite diver (misura in continuo) (Fig. 2) e va fatta prima di qualsiasi altra operazione prevista nella procedura di campionamento, per misurare

il livello inalterato. In questa fase è fondamentale annotare sulla scheda di campagna se si tratta del livello statico o dinamico e qual è il punto di riferimento della misura (bocca pozzo o quota del piano campagna).

Nel caso di sorgenti e fontanili si procede con la misura della portata tramite recipienti tarati.

4.4 Spurgo del piezometro/pozzo

I campioni d'acqua da pozzo/piezometro devono essere prelevati dopo lo spurgo del pozzo, ovvero dopo aver fatto fluire per un tempo adeguato l'acqua presente nelle diverse tubazioni e prima di un eventuale impianto di clorazione o serbatoio di accumulo. Questo è particolarmente importante in pozzi che non vengono utilizzati quotidianamente, quali ad esempio i piezometri dedicati al monitoraggio o i pozzi per uso

Tabella 2. Descrizione di alcuni modelli di pompe a basso flusso

Tipo pompa	Descrizione
Pompe a 12V	Sono pompe immergibili a 12 V (alimentabili con la batteria del veicolo), leggere, compatte e facilmente trasportabili. Grazie alla presenza di un controllore low-flow permettono di fare campionamenti a basse portate, fino ad un minimo di 40 mL/min.
Pompe a Vescica	Consentono il prelievo di campioni particolarmente rappresentativi, in quanto costituiscono un sistema chiuso che evita ogni tipo di agitazione e di contatto con l'aria. Per questi motivi rappresentano un valido metodo per il prelievo di campioni contenenti composti organici disciolti (VOC) e campionamenti low flow. Il sistema è composto da tre componenti principali: la pompa vera e propria, il controller (e relativa alimentazione) per la regolazione del flusso ed un compressore ad aria. Il compressore spinge l'aria tra la parete della pompa e la vescica; questa inizialmente riempitasi di acqua, viene quindi compressa dall'aria spingendo il liquido verso l'alto, con un flusso ad impulsi, che può essere regolato tramite il controller.
Pompe peristaltiche	Sono caratterizzate dal fatto che il fluido campionato non entra mai in contatto con alcun meccanismo o materiale diverso da quello con cui viene prelevato. Il limite fisico di queste pompe è costituito da una prevalenza nominale di circa 10 m, ma può essere facilmente superato portando l'acqua a livello per mezzo di una pompa a valvola di diametro adeguato, e consentendo poi alla pompa peristaltica di pescare all'interno del tubo della pompa a valvola.



Figura 5. Microburetta portatile per la determinazione in campo dell'alcalinità.

irriguo stagionale. Viceversa, nel caso di pozzi in uso costante (ad esempio quelli utilizzati per uso potabile o domestico), l'uso quotidiano solitamente garantisce la buona rappresentatività delle condizioni chimico-fisiche in falda anche con uno spurgo di breve durata. Come descritto in EPA (1996) e APAT (2006) la necessità di effettuare lo spurgo è dovuta:

- 1) alla presenza dell'interfaccia aria/acqua che porta ad un gradiente di concentrazione dell'ossigeno con la profondità;
- 2) alla perdita dei composti volatili che si può avere nella colonna d'acqua;
- 3) alla lisciviazione/assorbimento che interessano il casing e/o il dreno;
- 4) all'interazione chimica con la bentonite e il riempimento;
- 5) all'infiltrazione dalla superficie.

Mentre i pozzi ad uso produttivo sono generalmente installati in formazioni trasmissive, alcuni piezometri di monitoraggio possono essere ubicati in formazioni a bassa permeabilità (ad es. argille o limi).

Ambientazioni idrogeologiche a bassa permeabilità possono richiedere spurghi a portate estremamente basse (< 0,1 L/min, EPA, 1996) per evitare di movimen-

tare materiale argilloso e rendere l'acqua torbida. L'utilizzo di tecniche di spurgo e campionamento a basso flusso hanno infatti il vantaggio di minimizzare il mescolamento tra l'acqua stagnante sovrastante presente dove si ha il casing e l'acqua presente nel tratto filtrato (EPA, 1996) e di ridurre il disturbo (aerazione) del campione (Barcelona et al., 2005). È inoltre importante evitare di mettere a secco i filtri (EPA, 1996), per questo è a volte necessario attendere il recupero dei livelli durante lo spurgo senza estrarre la pompa. In alcuni casi però, come quando si hanno tassi di ricarica molto modesti, lo spurgo può non essere praticabile anche a basse portate. Nel caso di siti contaminati inoltre, lo spurgo a basso flusso evita anche la produzione di ampi volumi di acqua contaminata che deve poi essere opportunamente trasportata e trattata (Barcelona et al., 2005)

Nel caso di spurgo a basso flusso, lo svuotamento di 3 o più volumi del pozzo, come veniva indicato da molti manuali, non è ritenuto una garanzia di avere un campione rappresentativo della falda (EPA, 1996), mentre va certamente verificata la stabilizzazione dei parametri chimico-fisici con apposita strumentazione da campo (preferibilmente sonda multiparametrica in cella di flusso). La stabilizzazione di tali parametri chimico-fisici deve essere registrata a $\pm 10\%$ in almeno 2 volumi consecuzionali del pozzo (Barcelona et al., 1985) o per almeno tre letture consecutive a diversi minuti di distanza (da 3 a 5 minuti) (EPA, 1996; U.S. OSMRE, 2012) secondo le indicazioni riportate in tabella 1.

In generale, l'ordine di stabilizzazione è pH, conducibilità elettrica e temperatura seguiti da ossigeno disciolto, potenziale di ossido-riduzione e torbidità.

I dettagli dello spurgo di ciascun pozzo (tempo e portata) vanno riportati nella scheda di campagna al fine di poterli poi usare come indicazione per i campionamenti successivi.

Durante lo spurgo potrebbe essere opportuno misurare la torbidità dell'acqua estratta mediante apposita strumentazione o valutarla visivamente. Infatti, nel caso di eccessiva torbidità la successiva filtrazione non garantisce il prelievo di un campione rappresentativo dell'acqua di falda e quindi il campionamento

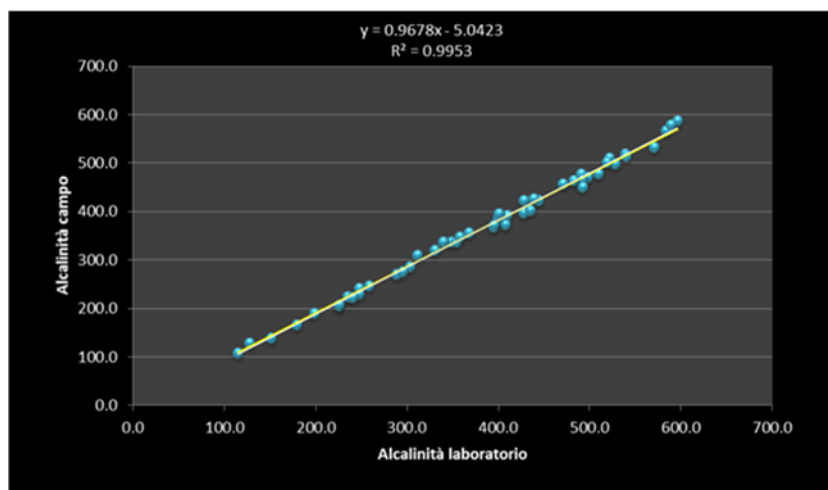


Figura 6. Confronto tra i valori di alcalinità determinati in campo con microburetta portatile e le determinazioni di alcalinità effettuate in laboratorio entro 24/48 ore (dati IRSA).

non raggiunge i suoi scopi di rappresentatività.

4.5 Misura dei parametri chimico-fisici

Considerando che alcune delle caratteristiche chimico-fisiche dei campioni prelevati sono soggette a variazioni non trascurabili nel tempo, la determinazione di pH, Eh, conducibilità elettrica, ossigeno disciolto e temperatura vanno fatte in situ, immediatamente prima del campionamento.

Gli strumenti da campo (preferibilmente sonde multiparametriche in cella di flusso, figura 3) vanno calibrati su standard di riferimento, seguendo le indicazioni della casa, ed in funzione delle caratteristiche delle matrici da esaminare. La calibrazione della sonda per la misura dell'ossigeno disciolto va fatta preferibilmente in campo o comunque considerando la pressione barometrica del sito di monitoraggio.

4.6 Raccolta del campione, filtrazione e trattamento

Il campionamento può avere inizio una volta che si è raggiunta la stabilizzazione dei parametri chimico-fisici.

Per tutti i tipi di analiti è suggerito l'uso di una pompa a basso flusso (0,1-0,5 L/min) per il prelievo, in particolare nelle formazioni a bassa permeabilità. La scelta della pompa a basso flusso (di cui esistono vari tipi, come descritto nella tabella 2) si basa sul fatto che l'acqua si muove orizzontalmente attraverso l'intervallo fenestrato e quindi, estraendo a basse portate, si evita il mescolamento tra l'acqua proveniente dalla falda e l'acqua stagnante che si trova al di sopra dell'intervallo filtrato (EPA, 2000). Inoltre, in tal modo si previene la possibilità di mettere a secco i filtri e quindi di aerare il dreno anulare. In funzione dei diversi analiti, si procederà con il prelievo di differenti

Tabella 3 Tipologia di contenitori, trattamento e conservazione campioni acque sotterranee. (Da APAT-IRSA.CNR, 2003 - EPA, 1983 - EPA South AU, 2007).

Parametro	Tipo di contenitore	Trattamento	Modalità di conservazione
Alcalinità	HDPE, vetro	Riempire completamente il contenitore per rimuovere l'aria	4°C, da 24 h a 14 gg
Anioni	HDPE		4°C, 24/48 h
Solfuri	Plastica, vetro	Riempire completamente il contenitore per rimuovere l'aria. Se analizzato in laboratorio va aggiunto acetato di zinco	4°C, 7 gg
Cationi maggiori	HDPE	Filtrato e acidificato HNO ₃ fino a pH<2	4°C, 1 mese
Elementi in traccia	HDPE	Filtrato e acidificato HNO ₃ fino a pH<2	4°C, 1 mese
Ione ammonio	HDPE, vetro		Refrigerato, 6 h
		Filtrato	4°C, 24 h
		Acidificato H ₂ SO ₄ fino a pH<2	4°C, 28 gg
		Filtrato in campo	Congelato, 1 mese
Nitrati	Plastica, vetro	Filtrato in campo con filtro in acetato di cellulosa 0,45 µm	4°C, 48 h; Congelato, 1 mese
DOC	HDPE o vetro	Filtrato in campo con filtri in fibra di vetro 0,7 µm e acidificato con H ₂ SO ₄ o HCl fino a pH<2	4°C, 7 gg, 1 mese
TOC	Vetro ambrato con tappo in PTFE	Acidificato con H ₂ SO ₄ o HCl fino a pH<2	4°C, buio, 7 gg
	Plastica		Congelato, 1 mese
VOC (inclusi solventi alogenati)	Vetro con chiusura a tenuta di gas con tappo in teflon	Nessuno	T<4°C, buio, 7 gg
Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)	Vetro scuro, lavato con solvente	Non riempire completamente il contenitore, non avvinare	4°C, buio, 7 gg; 40 gg dopo estrazione SPE
PCB	Vetro scuro, lavato con solvente e tappo in PTFE	Non riempire completamente il contenitore, non avvinare	4°C, buio, 7 gg; 40 gg dopo estrazione SPE

quantitativi di campione che verranno sottoposti a differenti trattamenti. Come già detto per lo spurgo, nel caso di terreni a bassa permeabilità (limi e argille) è necessario procedere con portate molto basse (<0,1 L/min) e non sempre è possibile eseguire uno spurgo efficace. In questi casi può essere opportuno procedere allo spurgo il giorno precedente al campionamento (USGS, 1995), al fine di ottenere campioni rappresentativi delle acque di falda.

L'uso di *bailers* (Fig. 4A), la cui immersione disturba la stratificazione della colonna d'acqua, non garantisce il prelievo di campioni indisturbati in caso di spurgo inefficace. L'interpretazione dei dati analitici ottenuti su campioni raccolti con tale tecnica, deve tenere conto delle condizioni di raccolta non ottimali.

I limiti del monitoraggio in ambientazioni caratterizzata da permeabilità basse delle formazioni investigate, includono: la possibile sottostima della concentrazione di contaminanti volatili, possibili falsi negativi per metalli nel filtrato e falsi positivi per i metalli nel non filtrato (EPA, 1996).

In caso di più livelli produttivi potrebbe essere opportuno eseguire il campionamento dopo aver isolato, tramite *packer* (Fig. 4B), il tratto che si intende campionare.

In alcuni casi, come per esempio nei pozzi già attrezzati con pompa a flusso non modulabile, può rendersi necessario procedere al campionamento con la pompa già presente nel pozzo. In questo caso dovrà essere utilizzata la portata più bassa ottenibile, per garantire il minor intorbidamento possibile del campione. La diminuzione della portata, in tali pompe, non è causata da una diminuzione del numero di giri degli elementi rotanti e quindi si può verificare un surriscaldamento dell'acqua prelevata portando così ad una possibile perdita dei composti volatili.

Per garantire la minore alterazione fisica e chimica del campione si raccomanda l'uso di dispositivi costi-

tuiti da materiale inerte come acciaio inossidabile e/o Teflon e PVC e/o HDPE per le componenti flessibili (tubi). L'ideale sarebbe usare, per ogni punto di campionamento, un dispositivo dedicato installato permanentemente nel piezometro/pozzo. Questo, permetterebbe di ridurre i tempi impiegati nelle fasi di set-up, campionamento e decontaminazione.

Per quanto riguarda le sorgenti e i fontanili, il campionamento viene effettuato direttamente al punto di emergenza.

Durante la fase di raccolta del campione è possibile procedere con la determinazione dell'alcalinità tramite microburetta portatile (Fig. 5). Nel caso in cui tale determinazione non venga fatta in campo è necessario effettuarla in laboratorio entro 24 ore (EPA South AU, 2007) dal prelievo (EPA 1983, autorizza l'analisi entro 14 giorni). La determinazione dell'alcalinità entro le 24/48 ore garantisce, nella maggioranza dei casi, che non ci sia variazione significativa rispetto ai valori che si otterrebbero nel caso in cui la determinazione venisse effettuata in campo (Fig. 6).

I contenitori utilizzati per il prelievo e la conservazione dei campioni devono rispondere a requisiti generali di robustezza e idoneità alle condizioni di conservazione e a requisiti specifici che riguardano l'inerzia dei materiali costituenti il contenitore al fine di:

- non cedere od adsorbire sostanze, che alterino la composizione del campione o le proprietà degli analiti;
- essere resistenti ai vari costituenti presenti nel campione;
- garantire la perfetta tenuta dei gas disciolti e dei composti volatili se oggetto di determinazioni.

In funzione della natura dell'analita, della tipologia di analisi e della tecnica analitica adottata si dovrà ese-

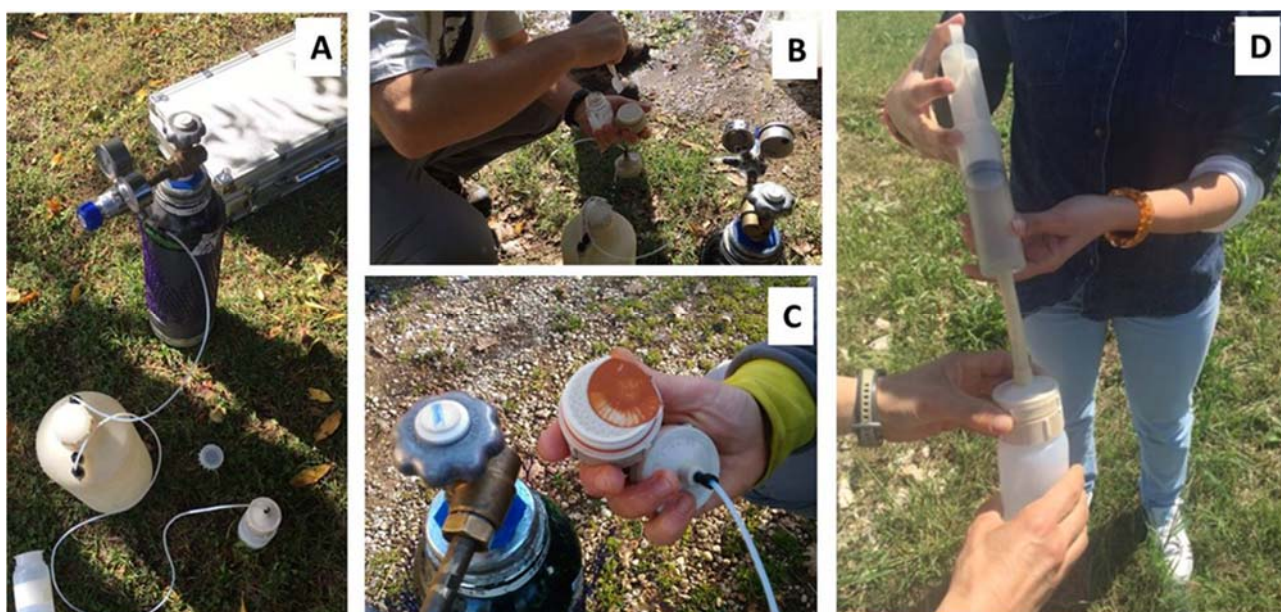


Figura 7. Filtrazione del campione in campo sotto modesta pressione di azoto (A, B, C) e con siringa collegata ad un portafiltra (D) .

guire il prelievo utilizzando i contenitori di materiale adeguato, che saranno stati precedentemente sottoposti a pulizia ordinaria e/o seguendo, ove indicato, procedure specifiche richieste dal metodo analitico (ISS, 2007) (Tab. 3), e opportunamente avvinati immediatamente prima del prelievo del campione, dove non espressamente sconsigliato.

Per la raccolta dei campioni destinati all'analisi di cationi ed elementi in traccia si utilizzano contenitori in polietilene ad alta densità (HDPE) precedentemente condizionati con HNO₃ fino a pH<2 per almeno 24 ore e successivamente risciacquati con acqua ad elevato grado di purezza (18 MΩcm) fino a pH neutro. I contenitori in HDPE per gli anioni possono essere risciacquati anche solo con acqua ultrapura. Il ricorso ai contenitori in HDPE presenta il vantaggio di avere una buona resistenza agli agenti chimici ed alle variazioni termiche e inoltre una buona resistenza all'urto. In particolare, quando si campionano acque destinate alle analisi di metalli è bene evitare l'utilizzo di contenitori metallici o di alcuni tipi di vetro (*soda glass*). Per i campioni destinati alle analisi dei principali componenti del vetro (es. Na, K, Bo e Si) si raccomanda invece di evitare l'utilizzo di contenitori e attrezzature in vetro (EPA, South Au 2007). Nella fase di riempimento del contenitore, soprattutto per i campioni che dovranno essere analizzati per la quantificazione degli anioni, è bene assicurarsi che non venga lasciato spazio di testa in quanto questo può comportare un'alterazione dei risultati analitici.

I campioni d'acqua per la determinazione di composti organici non volatili e TOC devono essere raccolti in bottiglie di vetro scuro, preferibilmente con sottotappo in teflon, pretrattate con HNO₃ o HCl diluito per 24 ore, risciacquate e lavate con solvente quale acetone e quindi risciacquate con acqua ultrapura. Nel caso si debbano determinare composti organici perfluorurati, i contenitori devono essere in HDPE, senza parti in teflon. L'uso di contenitori in vetro ambrato protegge le molecole fotosensibili dalla luce. Anche per questi campioni è bene evitare di lasciare lo spazio di testa poiché ciò potrebbe comportare un'alterazione dei risultati analitici.

Per i campioni d'acqua per la determinazione di composti organici volatili (VOC), inclusi i solventi clorurati, si usano contenitori in vetro, con sottotappo in teflon, che devono essere riempiti fino all'orlo per evitare la presenza di uno spazio di testa.

I campioni per le analisi isotopiche di ¹⁸O, Deuterio e Trizio non necessitano di nessun tipo di trattamento,

il campione deve essere preso tal quale, senza spazio di testa, per evitare evaporazione che produrrebbe processi di frazionamento isotopico. Per altri isotopi consultare il sito della IAEA (<http://www.iaea.org/water>)

Una volta prelevato il campione, sul contenitore devono essere riportati, con un'etichetta e/o con pennarello indelebile, l'identificativo del punto di campionamento, la data di campionamento, la sigla del campione, il tipo di trattamento effettuato e la destinazione analitica.

4.6.1 Filtrazione

La necessità di effettuare la filtrazione del campione in campo dipende dalle esigenze analitiche e dalla presenza di solidi sospesi che potrebbero adsorbire il materiale disciolto (USGS, 2011) o, dopo l'acidificazione, potrebbero andare in soluzione alterando la composizione naturale del disciolto (Tab. 3).

La scelta dei filtri, dei quali esiste un'ampia gamma che include filtri in policarbonato, in nitrato di cellulosa, in acetato di cellulosa, in fibra di vetro, va fatta in funzione degli analiti da ricercare.

Per la determinazione di TOC e composti organici, è da evitare la filtrazione dei campioni poiché potrebbe provocare la perdita dei costituenti di interesse e si consiglia invece di eventualmente separare i solidi sospesi per decantazione (Peruzzi, 2007). Per la determinazione del DOC il campione viene filtrato a 0,7 μm con filtri in fibra di vetro precombusti in muffola a 480 °C per 4 ore.

Per la determinazione dei costituenti inorganici (in particolare metalli) nelle acque sotterranee, i manuali APAT-IRSA.CNR 2003 e ISPRA 2009 (come specificato anche dal D.lgs. 30/2009) prevedono che i campioni vengano filtrati in campo, immediatamente dopo il prelievo, preferibilmente sotto modesta pressione di azoto che limita l'alterazione del campione per ossidazione (EPA, 1994), con filtri da 0,45 μm. In alternativa si usano siringhe di volume adeguato collegate ad un portafiltra o sistemi a vuoto (Fig. 7). Soprattutto nel caso di campioni scarsamente ossigenati, si consiglia di eseguire sia la filtrazione che il campionamento in linea, a vuoto o in pressione di azoto, per evitare che il campione venga a contatto con l'ossigeno e ne vengano alterate le condizioni redox.

La porosità nominale dei filtri a 0,45 μm (consigliata da USGS, 2015 e Barcelona et al., 1985) è dovuta al fatto che, per convenzione, il materiale solido che è

Filtrazione dei campioni d'acqua sotterranea

Obiettivo:

Assicurare che i campioni prelevati non siano influenzati dalla presenza dei solidi sospesi

Punti chiave:

- La filtrazione deve essere effettuata se l'obiettivo è quello di determinare le concentrazioni degli analiti effettivamente disciolti in acqua.
- La filtrazione non deve essere usata per compensare una inadeguata tecnica di campionamento (es. eccessiva torbidità).
- Se la filtrazione è necessaria, va effettuata in campo, immediatamente dopo aver prelevato il campione e prima di aggiungere sostanze conservanti (es. acido). Si consiglia di effettuare la filtrazione in linea.

trattenuto dai filtri è definito materiale in sospensione, mentre quello che passa attraverso la membrana filtrante è definito materiale disciolto (APAT-IRSA.CNR 2003). A seconda del produttore, in commercio, sono reperibili filtri con valore nominale 0,45 o 0,4 μm (una sola cifra significativa) che possono essere assimilabili.

L'uso dei filtri a 0,45 μm è oramai largamente diffuso a livello internazionale e viene considerato lo standard per i monitoraggi della acque sotterranee. Tuttavia, occorre sottolineare che diversi Autori (ad es. Kennedy & Zellweger, 1974; EPA, 2000) evidenziano come l'utilizzo di filtri da 0,45 μm non impedisca del tutto il passaggio di particolato di dimensioni minori di 0,45 μm e arricchito di alcuni elementi allo stato colloidale, quali Al, Fe, Mn e Ti, e quindi, specie per questi metalli, la filtrazione potrebbe non assicurare che il campione sia rappresentativo esclusivamente dell'elemento disciolto in falda. Tale aspetto viene invece notevolmente ridotto nel caso vengano utilizzati filtri da 0,1 μm , o 0,05 μm , senza aumentare eccessivamente i tempi di filtrazione.

I filtri comunemente usati per le analisi dei composti inorganici sono in policarbonato, per i quali viene seguita la stessa procedura utilizzata per i contenitori in HDPE: trattamento con HNO_3 fino a $\text{pH} < 2$ per 24 ore e successivo risciacquo con acqua ad elevato grado di purezza (18 $\text{M}\Omega\text{-cm}$) fino a pH neutro. Una volta trattati e pronti all'uso, i filtri possono essere conservati in un contenitore in HDPE in acqua deionizzata

4.6.2 Trattamento

Il trattamento per i campioni destinati alla determinazione dei cationi e degli elementi in traccia prevede sia la filtrazione che l'acidificazione con HNO_3 fino a $\text{pH} < 2$. Per alcuni elementi in traccia (As, Fe, Sb e Se), il campione può essere acidificato fino a $\text{pH} < 2$ anche con HCl (EPA South AU, 2007).

I campioni destinati alle analisi di DOC devono essere filtrati e acidificati con H_2SO_4 o con HCl fino a $\text{pH} < 2$ (EPA, 1983); tale acidificazione deve essere effettuata anche per i campioni destinati alle analisi di TOC, i quali però non devono essere sottoposti a filtrazione (EPA South AU, 2007). Nel caso in cui i campioni per le analisi di TOC vengano congelati, non è previsto alcun tipo di trattamento (EPA South AU, 2007).

Per la determinazione dello ione ammonio sono previsti diversi tipi di trattamento in funzione anche dei tempi di conservazione del campione, infatti se il campione viene analizzato entro le 6 ore non deve essere sottoposto a nessun tipo di trattamento e deve solo essere refrigerato (EPA South AU, 2007), se viene analizzato entro le 24 ore deve essere semplicemente filtrato e refrigerato (EPA South AU 2007), altrimenti, nel caso in cui venga conservato per 28 giorni o un mese, deve essere rispettivamente acidificato con H_2SO_4 fino a $\text{pH} < 2$ e refrigerato (EPA, 1983) oppure filtrato in campo e poi congelato (EPA South AU, 2007).

Per i composti organici non sono previsti né il filtraggio né trattamenti specifici, ma si raccomanda di

esporre i campioni alla luce per il minor tempo possibile. Inoltre per gli IPA e i PCB, EPA South AU (2007) raccomanda di non riempire completamente il contenitore di vetro e di non avvinarlo.

4.7 Trasporto e conservazione del campione

Il trasporto viene effettuato in contenitori refrigerati ed i campioni vengono poi conservati in frigorifero al buio a $T < 4^\circ\text{C}$, salvo diverse indicazioni (es. congelato). È di fondamentale importanza che la fase di trasporto sia adeguatamente progettata, e che quindi il laboratorio sia avvertito dell'arrivo dei campioni, al fine di evitare che i campioni restino stoccati per periodi di tempo molto lunghi prima di essere analizzati.

Si consiglia di procedere nel più breve tempo possibile all'estrazione dei campioni acquosi per la determinazione di composti organici. Nel caso si utilizzi la procedura di estrazione in fase solida (SPE), le cartucce di estrazione possono essere poi conservate in frigorifero per 40 giorni prima della determinazione analitica

I campioni per analisi isotopiche possono essere conservati a temperatura ambiente, purché al buio.

5. CONTROLLO QUALITÀ

Al fine di effettuare un controllo di qualità del campionamento o per identificare possibili contaminazioni ambientali, vengono effettuati periodicamente dei "bianchi di campo". Questi sono ottenuti mediante la raccolta e stoccaggio di aliquote di acqua ultrapura (18 $\text{M}\Omega\text{-cm}$) negli stessi contenitori utilizzati per i campioni, con filtrazione (l' aliquota da analizzare in IC) e acidificazione (l' aliquota da analizzare in ICP-MS per i metalli) in campo. I contenitori di questi campioni vanno tenuti aperti in campo per tutto il tempo in cui viene effettuato il prelievo dei campioni da analizzare, per una valutazione della possibile contaminazione ambientale atmosferica. Essi sono successivamente sottoposti a tutte le fasi di trasporto, conservazione ed analisi previste per i campioni.

Altri campioni di controllo sono i cosiddetti "bianco di trasporto" e "bianco dell'attrezzatura". Il "bianco di trasporto" viene in genere usato quando si prelevano campioni per l'analisi di VOC e idrocarburi leggeri. Questo bianco è costituito da fiale contenenti acqua pura, preconfezionate dal laboratorio analitico, che vengono trasportate nei contenitori termici utilizzati per i campioni al fine di misurare eventuali effetti di contaminazione indotti dalle fasi di trasporto (APAT, 2006). Esso non deve essere mai aperto fino alla determinazione analitica.

Il "bianco dell'attrezzatura", che si ottiene facendo scorrere acqua potabile o deionizzata attraverso l'attrezzatura usata per il prelievo e la conservazione dei campioni, serve invece a valutare l'efficacia delle procedure di decontaminazione dell'attrezzatura usata per il campionamento e l'eventuale rilascio di contaminanti da parte dell'attrezzatura monouso (APAT, 2006).

I dati ottenuti dai diversi “bianchi” possono essere plottati in carte di controllo allo scopo di individuare anomalie con criteri statistici predefiniti.

Altri sistemi adoperati per il controllo della qualità del campionamento consistono nella predisposizione di dispositivi che assicurino la protezione di ciascun campione per evitare la contaminazione esterna e nell'avvinamento regolare, dove non espressamente sconsigliato, dei recipienti al momento del prelievo

BIBLIOGRAFIA

APAT-IRSA.CNR (2003) - Metodi analitici per le acque. Manuali e Linee Guida 29/2003, ISBN 88-448-0083-7

APAT (2006) - Manuale per le indagini ambientali nei siti contaminati, Manuali e Linee guida 43/2006, www.apat.gov.it

Barcelona M.J., Gibb J.P., Helfrich J.A., and Garske E.E., (1985) - Practical Guide for Ground-Water Sampling. Contract Report No. 374, Illinois State Water Survey, Champaign, IL.

Barcelona, M.J., M.D. Varljen, R.W. Puls, and D. Kaminski, (2005). Ground Water Purging and Sampling Methods: History vs. Hysteria, Ground Water Monitoring and Remediation, 25(1), Winter 2005, pp. 52-62.

Cal-EPA (2008) - Representative Sampling of Groundwater for Hazardous Substances. Guidance Manual for Groundwater Investigations. California EPA Department of Toxic Substances Control. July 1995, Revised February 2008.

EPA (1983) - Methods for chemical analysis of water and wastes. EPA/600/4-79/020, March 1983.

EPA (1994) - Evaluation of Sampling and Field-Filtration Methods for the Analysis of Trace Metals in Ground Water. EPA/600/R-94/119, Oct 1994

EPA (1996) - Low-flow (minimal drawdown) groundwater sampling procedures. EPA/540/S-95/504, April 1996

EPA (2000) - Groundwater Sampling Guidelines. EPA Publication 669, April 2000.

EPA South Australia (2007). EPA Guidelines: Regulatory monitoring and testing. Groundwater sampling. (http://www.epa.sa.gov.au/xstd_files/Water/Guideline/guide_gws.pdf , last accessed May 2013)

ISPRA (2009) - Protocollo per la Definizione dei Valori di Fondo per le Sostanze Inorganiche nelle Acque Sotterranee.

ISPRA (2014) - Progettazione di reti e programmi di monitoraggio delle acque ai sensi del D. Lgs. 152/2006 e relativi decreti attuativi. ISPRA, Manuali e Linee Guida 116/2014. ISBN 978-88-448-0677-4

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i colleghi di Istituto David Rossi e Domenico Mastroianni per le loro preziose indicazioni e supporto nonché Stefano Polesello della sede dell'IRSA di Brugherio.

Importanti indicazioni e revisioni ci sono state inoltre fornite da Nicola Morgantini e Luca Peruzzi (ARPA Umbria) e da Stefania Balzamo e Paolo De Zorzi (ISPRA, D.to Stato dell'Ambiente e Metrologia ambientale).

ISS (2007) - Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi chimici. Rapporti ISTISAN 07/31.

ISO (2009) International standard 5667-11. Guidance on sampling of groundwaters

Kennedy V. C. & Zellweger G.W. (1974) - Filter pore-size effects on the analysis of Al, Fe, Mn and Ti in Water. Water Resources Research, Vol. 10., no. 4, pp. 785-790.

Peruzzi L. (2007) - Monitoraggio delle acque sotterranee: criteri per l'elaborazione di protocolli di campionamento e per la valutazione della qualità dei dati, Arpa Umbria, Dicembre 2007.

USGS (1995) - Ground-Water Data-Collection Protocols and Procedures for the National Water-Quality Assessment Program: Selection, Installation, and Documentation of Wells, and Collection of Related Data

USGS (2011) - Quality assurance and quality control of geochemical data: a primer for the research scientist. Open-File Report 2011-1187

USGS (2015) - National Field Manual for the Collection of Water-Quality Data. <http://water.usgs.gov/owq/FieldManual/>

U.S. OSMRE (2012) - Well purging procedures for obtaining valid water samples from domestic and monitoring wells. U.S. Office for Surface Mining Reclamation and Enforcement 05/21/2012. Disponibile al sito https://www.arcc.osmre.gov/about/techDisciplines/hydrology/docs/techGuidance/2012/tsd-wggb-Well_Purging.pdf

Check list materiale da campo

- Freatimetro
- GPS
- Sonda multiparametrica e relativa cella di flusso, soluzioni standard per eventuali tarature
- Recipiente tarato per la misura della portata delle sorgenti
- Dispositivo per la filtrazione (es. bombola di azoto con relativi portafiltri) e in alternativa/riserva siringa e filtri monouso
- Tubi e raccordi per il collegamento della cella di flusso e della filtrazione in linea al sistema di sollevamento dell'acqua
- Contenitori per la raccolta di campioni per ogni punto di campionamento previsto (diverse aliquote per punto)
- Filtri da 0,45 µm per la filtrazione dei campioni destinati alle analisi degli inorganici e filtri da 0,7 µm per la filtrazione dei campioni destinati alle analisi del DOC
- Pinzette per il prelievo e il posizionamento dei filtri
- Acido nitrico e acido cloridrico di grado analitico per la stabilizzazione dei campioni, microburette e relativi puntali
- Guanti
- Pennarelli indelebili
- Schede di campagna per ogni punto di campionamento
- Spruzzetta con acqua ad elevato grado di purezza
- Contenitore con acqua deionizzata per lavaggi
- Contenitore con acqua ad elevato grado di purezza per i bianchi di campo
- Contenitore termico ed elementi refrigeranti
- Contenitori per la raccolta del materiale di consumo monouso (guanti, puntali, etc) utilizzato
- Set di chiavi, cacciaviti ed quant'altro necessario per la manutenzione delle diverse attrezzature
- Set completo di batterie di ricambio per le diverse attrezzature elettroniche (freatimetro, GPS, sonda multiparametrica)
- Guarnizioni di ricambio per i diversi raccordi, nastro autovulcanizzante

NB: Prevedere una ridondanza almeno del 25% rispetto al numero di punti d'acqua programmati nella numerosità dei contenitori, filtri e dell'altro materiale di consumo

SCHEDA CENSIMENTO DEI PUNTI D'ACQUA

Compilatore	Data censimento	Nome risorsa	Cod. IRSA (sito)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Provincia	Comune	Località/Indirizzo risorsa	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Rif. cartografico	Longitudine GPS	Latitudine GPS	Precisione GPS (m)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	33T <input type="text"/>
Quota GPS (m slm)	Quota altimetro (m slm)	Quota cartografia (m slm)	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Gestore/Proprietario	Indirizzo	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Telefono	Fax	e-mail
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Anno di realizzazione	Stato di conservazione	Accessibilità
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Informazioni pozzo reperite in situ (riferite)

Uso	Profondità (m)	Diametro (mm)	Rivestimento
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Profond. pompa (m da pc)	Filtri da a (m)	Portata esercizio	Prof. Livello stat. (m da pc)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Informazioni pozzo – misure odierne

Prof. livello Stat. (m da BP)	prof. livello Din. (m da BP)	Altezza BP da PC (m)	Spurgo: Q (l/s) – dur. (min)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Informazioni sorgente reperite in situ (riferite/misurate)

Presenza sfioro	Q sfioro misurata (L/sec)	Q totale (L/s)	note geologiche
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Codice campione	Temperatura acqua (°C)	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Campione</th> <th rowspan="2">Capacità (mL)</th> <th colspan="3">Trattamento</th> </tr> <tr> <th>Avv</th> <th>Filtr</th> <th>Acid</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Anioni</td><td>250</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Metalli</td><td>100</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Riserva (da cong.)</td><td>100</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Sterili</td><td>100</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Citometria</td><td>1500/2000</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>DOC</td><td>20/100</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>IPA/PCB.</td><td>5000</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>VOC</td><td>250 vetro</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>	Campione	Capacità (mL)	Trattamento			Avv	Filtr	Acid	Anioni	250				Metalli	100				Riserva (da cong.)	100				Sterili	100				Citometria	1500/2000				DOC	20/100				IPA/PCB.	5000				VOC	250 vetro																		
Campione	Capacità (mL)				Trattamento																																																												
			Avv	Filtr	Acid																																																												
Anioni	250																																																																
Metalli	100																																																																
Riserva (da cong.)	100																																																																
Sterili	100																																																																
Citometria	1500/2000																																																																
DOC	20/100																																																																
IPA/PCB.	5000																																																																
VOC	250 vetro																																																																
Modello pH metro	pH																																																																
<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																
Modello Conducimetro	Conducibilità (µS/cm)																																																																
<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																
Modello Ossimetro	O ₂ (mg/L) (%)																																																																
<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																
Modello Eh meter	Eh (mV)																																																																
<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																
Alcalinità (decimi di ml HCl 0,01N)	media																																																																
<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																

Note



Livelli di fondo naturale, origine ed evoluzione di alcuni elementi potenzialmente tossici nelle acque sotterranee

XXIX ciclo di Dottorato in Scienze della Terra

Università degli Studi Roma Tre

Dott. Daniele Parrone

L'argomento di questa ricerca include lo studio dei livelli di fondo naturale di elementi potenzialmente tossici nelle acque sotterranee, accompagnato da un'indagine sull'origine e i processi che determinano la loro presenza negli acquiferi, unitamente all'identificazione di una procedura per la definizione dei livelli di fondo naturale da utilizzare per la valutazione dello stato chimico dei corpi idrici sotterranei, come attualmente richiesto dalla Direttiva Acque Sotterranee (2006/118/CE). La presenza di elementi inorganici potenzialmente tossici nelle acque sotterranee può derivare sia da contaminazioni antropiche che da processi naturali che interessano gli acquiferi

(interazione acqua-roccia, processi chimici e biologici, relazioni con altri corpi idrici, ecc.): è quindi importante determinare la concentrazione di fondo naturale di queste sostanze, in modo da distinguere eventuali contributi legati ad attività umane. Si tratta certamente di un problema attuale, in particolare per alcune sostanze (es. arsenico, fluoruri, metalli pesanti) la cui presenza in soluzione può creare un rischio significativo per la salute umana e l'ambiente. Considerate le prospettive di ricerca e la contemporanea esistenza di un rilevante contesto applicativo, questo problema ha suscitato ampio interesse a livello internazionale e numerosi casi studio sono stati presentati in diversi paesi. Le alte concentrazioni di contaminanti di origine naturale nelle acque sotterranee rappresentano un problema significativo nel Lazio centro-settentrionale, con importanti ricadute economiche e ambientali, e questa ricerca vuole affrontare il problema attraverso tre approcci a scala differente.

A scala regionale o di corpo idrico sottoraneo sono stati studiati gli elementi che rappresentano un problema diffuso per la gestione delle risorse idriche nel Lazio centro-settentrionale, in particolare arsenico e fluoro, con l'obiettivo di definire, attraverso un approccio di tipo geochimico, statistico e geospaziale, la distribuzione nel territorio di questi elementi, le aree più critiche, l'origine naturale e i possibili processi comuni che ne determinano la co-presenza nelle acque sotterranee. A scala locale è stata poi testata una metodologia mirata a quantificare la contaminazione naturale legata a questi elementi in aree dove insistono attività

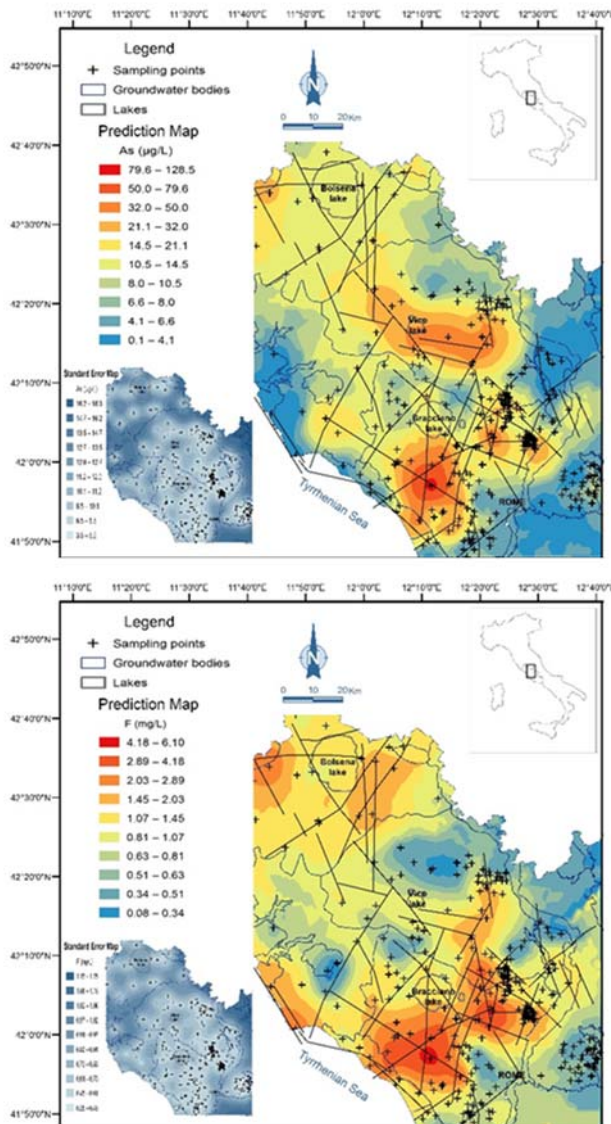


Figura 1. Risultati dell'applicazione dell'Ordinary Kriging: Prediction Map e Standard Error Map per As (sinistra) e F (destra). Alle mappe ottenute è stato sovrapposto un livello caratterizzato dai lineamenti fragili.

News

antropiche potenzialmente impattanti e dove è possibile riscontrare processi naturali facilmente estensibili a buona parte dell'area vulcano-sedimentaria del Lazio centro-settentrionale. Si tratta di un aspetto operativo della ricerca, cruciale soprattutto in aree dove questi elementi risultano essere particolarmente critici e mostrano frequenti superamenti dei limiti di legge. Infine, a scala di laboratorio ci si è focalizzati sulla possibile sorgente mineralogica dell'arsenico, studiando la sua abbondanza e distribuzione all'interno della matrice acquifera, le frazioni più facilmente mobilizzabili e i possibili meccanismi di rilascio, il tutto attraverso diversi tipi di analisi e test di laboratorio eseguiti su una matrice solida rappresentativa (Tufo Giallo della Via Tiberina).

Sebbene siano ipotizzabili importanti contributi locali legati a risalite di fluidi geotermici di origine profonda in corrispondenza di lineamenti strutturali (Fig. 1), in aggiunta ad aree anomale caratterizzate da processi specifici per As e F, nel Lazio centro-settentrionale esiste un fondo geochimico diffuso per entrambi gli elementi risultante da processi di interazione acqua-roccia e responsabile della loro buona correlazione nelle acque sotterranee.

Lungo un transetto di studio selezionato è stata definita e applicata una metodologia in grado di integrare gli approcci utilizzati comunemente oggi per la definizione dei livelli di fondo naturale nelle acque sotterranee, limitando alcune importanti criticità. La procedura proposta, che include la preselezione di campioni incontaminati e l'analisi delle distribuzioni residue, ha confermato anche a scala locale l'esistenza di un fondo geochimico elevato nelle acque sotterranee per As e F, con valori di concentrazione ben al di sopra dei limiti di legge previsti per il consumo umano.

I test di laboratorio effettuati su alcuni campioni di Tufo Giallo della Via

Tiberina hanno mostrato che, sebbene la maggior parte dell'arsenico sia legata ad ossi-idrossidi di Fe a bassa cristallinità (Fig. 2), la mobilizzazione in condizioni ossidanti deriva probabilmente da fenomeni di desorbimento in presenza di ioni specifici (es. fosfati) e/o da calcite.

Gli ossi-idrossidi di Fe mantengono un ruolo importante per la mobilità dell'arsenico sia in condizioni alcaline (per desorbimento / adsorbimento, anche dalle abbondanti zeoliti) che in ambiente riducente (per dissoluzione riduttiva degli ossidi di Fe).

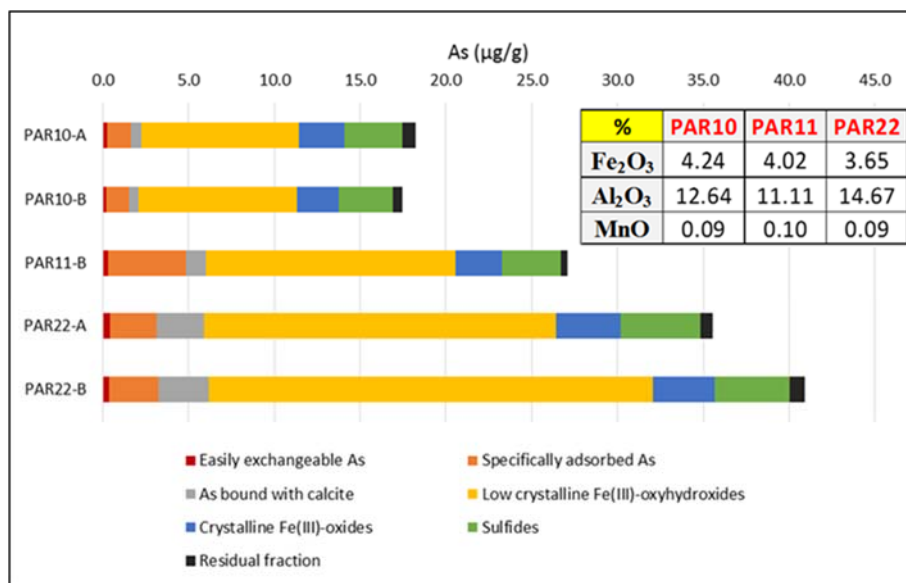


Figura 2. Frazionamento dell'As risultante da procedura di estrazione sequenziale selettiva eseguita su tre campioni di Tufo Giallo della Via Tiberina (due repliche per PAR10 e PAR22). La tabella di destra mostra le percentuali in peso di ossidi significativi nella roccia



CORSO di FORMAZIONE

“Processo a fanghi attivi: metodi di controllo delle disfunzioni tramite microscopia, verifiche di impianto e ottimizzazione del processo”.

13 - 15 giugno

Università degli Studi di Brescia

Il Corso, il 27° della serie, e che ha ora assunto un carattere itinerante, è incentrato sulla ottimizzazione del processo a fanghi attivi, che è tuttora il più utilizzato dei metodi biologici per il trattamento delle acque di scarico, nonostante siano trascorsi più di cento anni dalla sua prima introduzione. Il corso avrà la durata di tre giorni, nei quali saranno esaminate le varie innovazioni introdotte (Rimozione Biologica dei Nutrienti (BNR), Reattori Sequenziali (SBR), Bioreattori a Letto Mobile (MBBR),

Bioreattori a Membrana (MBR), Fanghi Granulari etc. Il corso affronterà le problematiche legate all'Ingegneria dei processi, nonché quelle più prettamente legate agli aspetti Microbiologi.

Il Corso, nelle due prime giornate comuni, oltre a fornire una panoramica delle tecnologie disponibili e delle interazioni che avvengono all'interno di complesse comunità microbi-

che, propone approfondimenti di carattere impiantistico, che combinati con appropriate tecniche di caratterizzazione microbiologica, consentono una adeguata conduzione del processo. Nella terza giornata i Partecipanti, a loro scelta, seguiranno uno dei due Moduli Operativi specialistici: uno sulle metodiche microscopiche di caratterizzazione del fango attivo (tradizionale e avanzata tramite la tecnica di ibridazione fluorescente in situ (FISH)), o, in alternativa, quello sulle misure di fondamentali proprietà e parametri (capacità di areazione, sedimentabilità dei fanghi, interpretazione dei risultati, etc.).

Il Corso è diretto a progettisti, tecnici ed operatori di impianti di trattamento biologici industriali ed urbani, a ricercatori e studenti di Dottorato.

Segreteria Scientifica

Carlo Collivignarelli, Giorgio Bertanza, *Università di Brescia*
Simona Rossetti, *CNR-IRSA*
Michele Torregrossa, *Università di Palermo*

Segreteria Organizzativa

Roberta Pedrazzani: roberta.pedrazzani@unibs.it
Valter Tandoi: tandoi@irsa.cnr.it

Per maggiori informazioni

www.irsa.cnr.it/index.php/ita/news/item/149-bs-2017

News



MicroCokit Project TRAINING SCHOOL

Methods for detecting and quantifying aquatic microbial communities

4 - 6 aprile

Istituto di Ricerca sulle Acque, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Area della Ricerca RM1, Roma

MicroCokit - *Microbial Community-based sequencing analysis linked to anthropogenic pressures: MicroCoKit to address the water quality* - è un Progetto "Marie Curie Industry - Academia Partnerships and Pathways" FP7-PEOPLE-2012-IAPP (Project 324518).



Si tratta di una stretta collaborazione tra gruppi accademici (CNR-IRSA-IT, EU-JRC, MBA-UK) e aziende private che operano nel campo ambientale (LGC-UK e NTBC-Spain). Il Progetto MicroCokit (coordinato da Anna Barra Caracciolo dell'IRSA-CNR) ha come principale obiettivo quello di studiare ed identificare

indicatori microbiologici per le acque che possano essere correlati a pressioni antropiche differenti. Nell'ambito del Progetto è stato promosso il trasferimento delle metodologie utilizzate tra i diversi Partner (IRSA-CNR, LGC, NTBC, MBA, JRC) attraverso distaccamenti del personale per alcuni mesi tra gruppi accademici e imprese e viceversa. Lo scopo finale è stato quello di individuare indicatori microbiologici per le acque, attraverso metodi molecolari quali FISH, qPCR, Microarray, da utilizzare per



Partecipanti alla Training School: oltre venti ragazzi da sette Paesi differenti (Regno Unito, Svezia, Germania, Repubblica Ceca, Francia, Repubblica del Sud Africa, Italia) hanno partecipato al corso

valutarne la sua qualità.

Nell'ambito dell'obiettivo del Progetto di diffusione dei principali risultati ottenuti e dei metodi utilizzati è stato realizzato il Training Course di tre giorni presso l'IRSA-CNR. Sono state offerte gratuitamente lezioni teoriche e lezioni pratiche in inglese. Le lezioni in laboratorio sono state interattive e gli studenti hanno avuto la possibilità di sperimentare le metodiche illustrate con i docenti appartenenti ai cinque Partner del Progetto. L'IRSA-CNR ha pertanto messo a disposizione i laboratori e diverse strumentazioni dell'Istituto, nonché diverse agevolazioni (es. il trasporto con una navetta da Roma all'Area della Ricerca a Piana bella di Montelibretti). Gli organizzatori del corso

News

di formazione sono stati Anna Barra Caracciolo e Paola Grenni. Durante il primo giorno del corso, le lezioni teoriche si sono focalizzate sulla descrizione dei principali metodi molecolari adatti a caratterizzare le comunità microbiche naturali, con

particolare riferimento alle seguenti tecniche: qPCR/RT-qPCR, Metodi diretti che si avvalgono della microscopia ad epifluorescenza, Microarray e Metagenomica. Gli insegnanti del progetto MicroCokit sono stati Anna Barra Caracciolo e Paola Grenni dell'IRSA-CNR, Rebecca Sanders dell'LGC, D. Conduto del JRC, L. Medlin dell'MBA e G. Mengs dell'NTBC.

Il secondo e terzo giorno si sono svolte le lezioni dimostrative in laboratorio durante le quali le diverse metodologie sono state illustrate passo a passo seguendo dei protocolli descrittivi di dettaglio (ad esempio la preparazione del campione, l'utilizzo della strumentazione, l'elaborazione di dati). Due ricercatrici Post-Doc Marie Curie (M.L. Saccà and M. Di Lenola), che hanno partecipato al progetto MicroCokit, hanno illustrato la loro esperienza e supportato le lezioni pratiche in laboratorio. Gli studenti hanno mostrato grande interesse per i temi affrontati.





Consiglio Nazionale delle Ricerche

Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News

**Pubblicazione quadrimestrale telematica dell'Istituto di Ricerca sulle Acque
del Consiglio Nazionale delle Ricerche**

ISSN 2465-017X

Autorizzazione Tribunale di Tivoli n°5/2015

Direzione e Redazione

Istituto di Ricerca sulle Acque, Area della Ricerca RM1, Montelibretti, via Salaria km 29+300.

C.P. 10 - 00015 Monterotondo (RM)

Telefono: 06 90672 850

Fax: 06 90672 787

e-mail: notiziario@irsa.cnr.it

Direttore responsabile

Giuseppe Mascolo

Comitato di Redazione

L. Campanella, L. Guzzella, S. Polesello, L. Patrolecco, S. Valsecchi

Segreteria di Redazione

S. Ghergo

<http://www.irsa.cnr.it/Notiziario>