

## Capitolo 8 – Bioaccumulo su *Mytilus galloprovincialis*

### 8.1 Il Campionamento

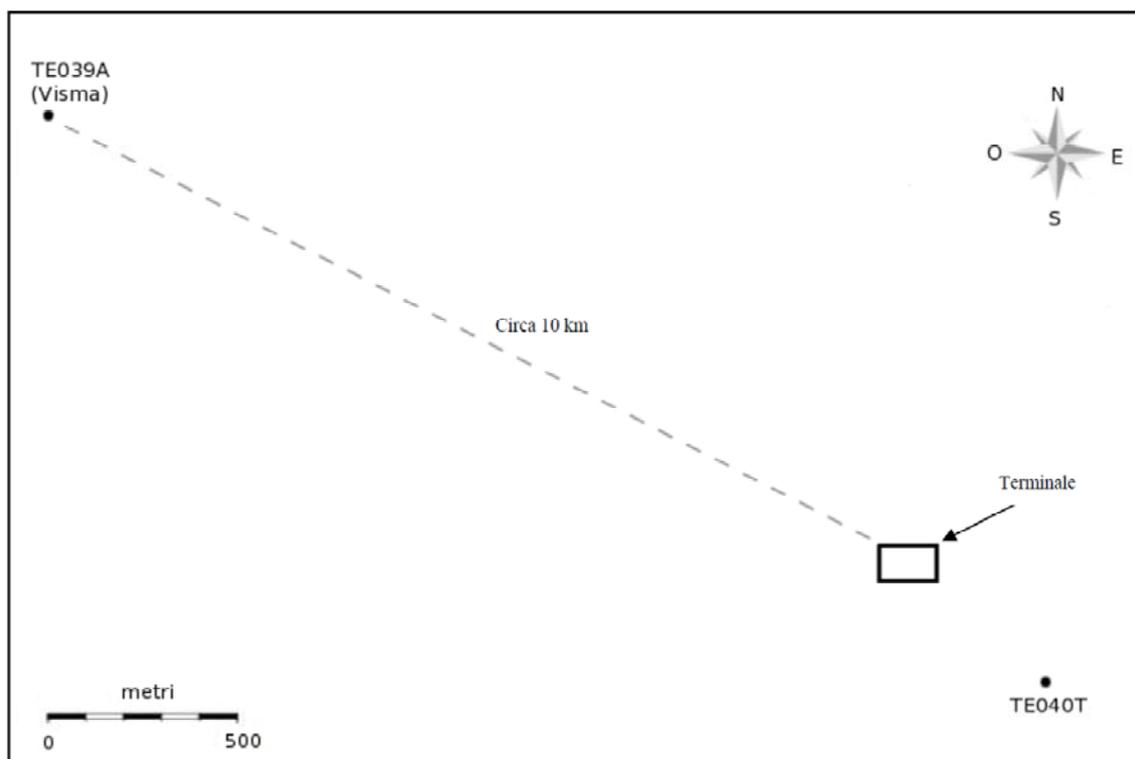
Il monitoraggio per il I anno di monitoraggio – fase di esercizio provvisorio ha previsto lo svolgimento di quattro campagne di campionamento nel 2011 (Settembre, Ottobre, Novembre e Dicembre), utilizzando un protocollo di trapianto di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) prelevati da una popolazione naturale (Cicero e Di Girolamo, 2001).

Gli organismi sono stati prelevati da una mitilicoltura di Portonovo (Ancona) e in parte immediatamente traslocati nella stessa area (TE041M), utilizzata come sito di riferimento per valutare l'effetto della procedura di traslocazione. Entro le 24 h, gli organismi sono stati traslocati in due siti posti nell'area del Terminale denominate rispettivamente TE040T (a circa 500 m Sud-Est dal Terminale) e TE039A (presso l'impianto di mitilicoltura VISMA, già precedentemente utilizzato come sito di indagine durante le campagne di bianco e cantiere).

La posizione delle stazioni con il dettaglio delle coordinate geografiche e la relativa cartina rappresentativa sono riportate rispettivamente in tabella e figura 8.1.1.

**Tabella 8.1.1:** Coordinate geografiche stazioni di campionamento di *Mytilus galloprovincialis*.

Posizione	Stazione	Latitudine Nord	Longitudine Est
Impianto mitilicoltura VISMA	TE039A	45°06'46,26"	12°27'19,74"
Circa 500m a Sud-Est dal terminale	TE040T	45°05'4,62"	12°35'36,36'
Controllo Portonovo	TE041M	43°34'27,00"	13°35'10,00"



**Figura 8.1.1:** Mappa con le stazioni di biomonitoraggio con mitili (*Mytilus galloprovincialis*).

In ciascun sito è stato trapiantato un numero di individui compreso tra 200 e 300, di taglia compresa approssimativamente tra il 70 % e il 90 % delle dimensioni massime della popolazione da cui sono stati raccolti. Il periodo di esposizione degli organismi, scelto in funzione del raggiungimento delle condizioni di equilibrio, è stato di circa 4 settimane. Al termine di tale periodo gli organismi sono stati recuperati e mantenuti ad una temperatura costante di circa +4°C, avvolti in panni umidi fino al momento della dissezione dei tessuti, avvenuta in laboratorio entro 24 ore dal momento del prelievo.

Per ogni stazione di campionamento, sono stati preparati, a seconda delle analisi di laboratorio da eseguire, un diverso numero di replicati, ciascuno costituito dalle intere parti molli di più organismi. Per la determinazione dei metalli, degli IPA, degli organostannici e dei PCB sono stati preparati tre replicati; per la determinazione degli Alometani, Aloacetoni e Composti Organici Volatili (VOC) due replicati; per la determinazione degli Acidi Aloacetici, Dalapon e dei parametri microbiologici è stato preparato un replicato. Subito dopo la dissezione e la relativa suddivisione nei replicati, i tessuti sono stati posti alla temperatura di -20°C fino alle successive fasi di preparazione per le analisi. Le analisi microbiologiche sono state condotte invece nel più breve tempo possibile senza ricorrere al congelamento dei tessuti.

## 8.2 Analisi chimiche

### 8.2.1 Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) costituiscono una classe di composti organici, che può avere origine sia naturale che antropica. Sono infatti tra i costituenti del petrolio, grezzo e raffinato (in particolare quelli di minor peso molecolare a due o tre anelli condensati) e possono derivare da processi di combustione incompleta di combustibili fossili o altro materiale organico (in particolare quelli di peso molecolare medio-alto, costituiti da quattro o cinque anelli condensati).

A causa di processi di trasporto ambientale gli IPA sono oggi considerati contaminanti ubiquitari nell'ambiente, presentando infatti livelli di concentrazione rilevabili (valori di "background") anche in zone lontane da possibili fonti dirette o indirette, comprese le aree marine. Tuttavia la presenza di IPA nell'ambiente costituisce sicuramente un indicatore dell'entità delle attività antropiche nella zona.

Le caratteristiche chimico-fisiche degli IPA (la limitata o scarsa solubilità in acqua, la relativa resistenza a degradazione chimica, fisica e biologica, il grado di lipofilità generalmente elevato) ne determinano la persistenza ambientale e la generale tendenza a non distribuirsi uniformemente nell'ambiente acquatico, ma ad accumularsi nei comparti sedimenti e biota. Ciò determina la possibilità di bioaccumulo di questi composti.

Per le ragioni esposte e per la comprovata tossicità e cancerogenicità perlomeno di alcuni IPA nei confronti di varie specie animali e dell'uomo, gli idrocarburi policiclici aromatici risultano una tra le classi di composti organici più significative dal punto di vista ambientale, frequentemente oggetto di indagine ai fini di caratterizzazione e monitoraggio.

#### **8.2.1.1 Materiali e metodi**

Per l'analisi degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) è stata seguita la procedura analitica di seguito riportata. Il campione è stato sottoposto ad un processo di liofilizzazione, quindi è stato omogeneizzato mediante un mulino elettrico con lama tagliente ed una aliquota (0,5 g circa) è stata sottoposta ad estrazione con una miscela di solventi (esano/diclorometano 40:60 v/v) tramite estrazione a fluido pressurizzato (PLE) impiegando uno strumento Dionex ASE 200. Contestualmente all'estrazione è stata effettuata anche una purificazione dai lipidi inserendo sul fondo della cella dell'estrattore uno strato di 8g di florisil purificato e disattivato al 7% con acqua purificata. Allo scopo di realizzare la saponificazione dei lipidi residui l'estratto è stato quindi concentrato a piccolo volume e poi sottoposto ad un trattamento con una soluzione metanolica di idrossido di sodio mediante dibattimento e immersione in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è stato quindi addizionato con acqua ed estratto tre volte

con una miscela esano-diclorometano. L'estratto è stato quindi leggermente concentrato prima di essere disidratato su colonna di sodio solfato anidro. L'estratto purificato e disidratato è stato quindi raccolto in vial prepesato, addizionato di un solvente meno volatile di esano e diclorometano ma con essi miscibile e compatibile con l'analisi HPLC (isopropanolo) ed è stato infine concentrato a piccolo volume. L'estratto non è stato mai portato a secchezza ed il volume finale è stato determinato gravimetricamente. L'estratto è stato infine filtrato in siringa su membrana inorganica di porosità 0.2µm e trasferito in un *vial* da autocampionatore.

La determinazione strumentale è stata condotta tramite un cromatografo liquido ad alte prestazioni (HPLC) con un rivelatore a fluorescenza in grado di acquisire segnali di emissione multipli programmabili. L'eluizione è stata condotta in gradiente binario eseguendo variazioni programmate delle lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione. La fase stazionaria della colonna impiegata è una WATERS PAH C18 (25 cm x 4,6 mm I.D. x 5 µm), specifica per l'analisi degli IPA. Durante l'analisi la colonna è stata termostata a 30°C per assicurare la costanza dei tempi di ritenzione e della risposta del rivelatore. Allo scopo di evitare quenching della fluorescenza da parte dell'ossigeno e bolle di gas nella fase mobile è stato impiegato un degassatore continuo in linea. I composti determinati sono stati i 15 IPA rivelabili tramite fluorescenza indicati dall' US-EPA (metodo 8310). Le lunghezze d'onda utilizzate per rivelare i composti sono riportate in tabella 8.2.1.1.1.

**Tabella 8.2.1.1.1:** Lunghezze d'onda utilizzate per rivelare gli IPA espresse in nm.

Tempo (minuti)	Eccitazione (nm)	Emissione A (nm)	Emissione B (nm)
0,00	220	329	323
9,18	240	310	323
11,01	240	310	365
11,92	240	402	365
13,07	240	402	467
14,00	240	378	467
16,50	270	390	367
18,54	295	436	407
21,17	295	495	407

L'identificazione dei composti avviene in base alla concordanza dei tempi di ritenzione fra i picchi del campione e quelli di uno standard esterno contenente i 15 IPA. La determinazione quantitativa è stata effettuata mediante l'uso di una curva di taratura a otto punti, usando la tecnica dello standard esterno. In ogni serie analitica sono stati inseriti degli standard per il controllo della risposta strumentale e dei bianchi strumentali per garantire la non contaminazione del sistema. Sono state eseguite repliche dei campioni in analisi, prove in bianco (bianchi di procedimento) e prove di fortificazione per assicurare la qualità dei dati analitici.

L'eluizione è stata effettuata mediante un gradiente binario acqua acetonitrile (50-50 % in 37 minuti), ad un flusso iniziale di 1,5 ml/min. L'eluizione in gradiente ha seguito lo schema indicato in tabella 8.2.1.1.2.

Le concentrazioni indicate nei risultati analitici sono state espresse in ng/g rispetto alla sostanza secca (s.s.) dei campioni analizzati. Il limite di quantificazione risulta di 0,5 ng/g.

**Tabella 8.2.1.1.2:** Eluizione in gradiente.

Tempi (minuti)	Acqua (%)	Acetonitrile (%)	Flusso (ml/min)
0,00	50	50	1,500
5,00	50	50	1,500
20,00	0	100	1,500
29,00	0	100	1,500
31,00	50	50	1,500

Il controllo di qualità sui risultati è stato effettuato, per ogni batch analitico, mediante l'analisi di repliche, campioni di controllo del laboratorio, bianchi di procedimento, bianchi strumentali, e campioni di verifica della validità della taratura.

Il laboratorio verifica periodicamente l'accuratezza dei propri risultati analizzando materiali di riferimento certificati sia di organismo che di biota, tra i quali NIST 1944, 1941b, 2977 e IAEA 406 e 383 a vari livelli di concentrazione.

Allo scopo di monitorare le proprie prestazioni analitiche il laboratorio partecipa dall'Ottobre 2003 al circuito di Laboratory Performance Studies organizzato dal QUASIMEME (Quality Assurance Laboratory Performance Studies for Environmental Measurements in Marine Samples) eseguendo, con cadenza semestrale, l'analisi di campioni incogniti a più livelli di concentrazione inviati dall'ente organizzatore e comunicando i propri risultati allo scopo di confrontarli con i valori assegnati.

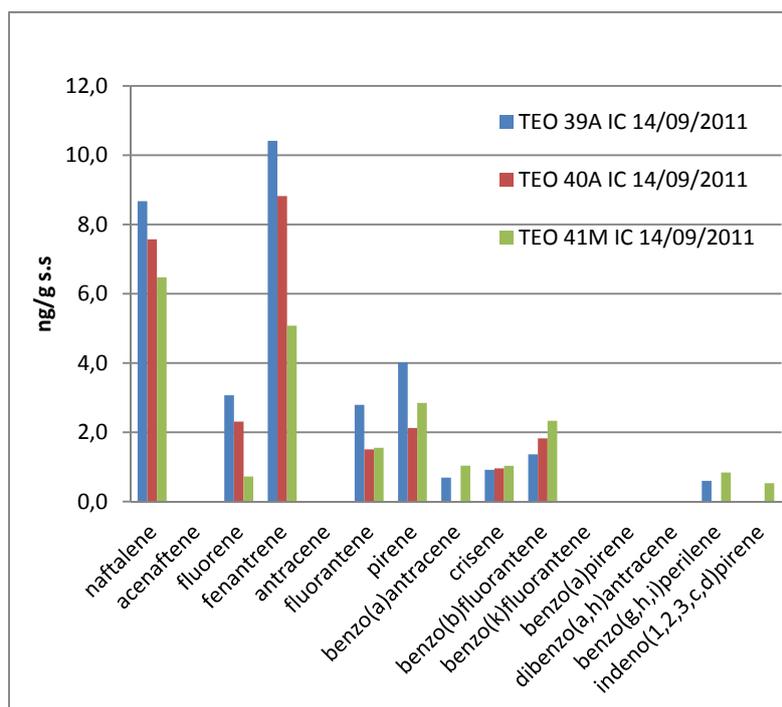
### 8.2.1.2 Risultati

#### I Campagna (settembre 2011)

Per ogni stazione sono stati ottenuti tre pool di *Mytilus galloprovincialis*, ognuno dei quali è stato sottoposto ad analisi per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici. Nella Tabella 8.2.1.2.1 sono riportate, per ciascuna stazione, le concentrazioni riscontrate nei singoli pool e le loro medie.

Nella campagna di campionamento di settembre le concentrazioni di IPA totali nei tessuti di mitili risultano contenute, oscillando tra circa 22 e 33 ng/g s.s. In tutte le stazioni, che mostrano risultati omogenei tra i tre pool, i composti più rappresentati sono quelli a basso peso molecolare. È presente un contributo contenuto da parte di composti a medio grado di condensazione aromatica mentre i composti più pesanti sono quasi completamente assenti (Figura 8.2.1.2.1).

Le differenze di contenuto di IPA tra le tre stazioni non sono particolarmente significative. La stazione che mostra i valori più bassi è la TE041 (mitilicoltura di Portonovo) ma la stazione vicina al terminale (TE040) presenta concentrazioni molto simili. La stazione TE039 presenta concentrazioni mediamente più elevate.



**Figura 8.2.1.2.1:** Concentrazioni medie dei singoli IPA espresse in ng/g nei mitili delle tre stazioni – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

**Tabella 8.2.1.2.1: Concentrazioni di IPA espresse in ng/g in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.**

Stazione	TE039A				TE040T				TE041M			
	I	II	III	media	I	II	III	media	I	II	III	media
u.m.	ng/g p.s.				ng/g p.s.				ng/g p.s.			
naftalene	7,6	7,8	10,6	8,7	9,1	5,9	7,7	7,6	6,9	6,0	6,5	6,5
acenaftene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,5	<0,5
fluorene	2,9	2,9	3,4	3,1	2,4	2,7	1,8	2,3	0,5	0,7	0,9	0,7
fenantrene	10,1	10,5	10,7	10,4	6,7	11,2	8,5	8,8	5,9	4,2	5,1	5,1
antracene	0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorantene	2,4	2,5	3,6	2,8	1,6	1,5	1,4	1,5	1,6	1,5	1,5	1,6
pirene	3,5	4,0	4,6	4,0	2,5	2,0	1,8	2,1	3,0	2,5	3,1	2,8
benzo(a)antracene	0,5	0,9	0,7	0,7	1,0	<0,5	<0,5	<0,5	1,1	1,1	1,0	1,0
crisene	0,7	0,9	1,1	0,9	0,8	1,2	0,9	1,0	1,1	0,9	1,1	1,0
benzo(b)fluorantene	1,1	1,1	1,8	1,4	2,2	1,7	1,5	1,8	2,2	2,7	2,2	2,3
benzo(k)fluorantene	<0,5	0,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
benzo(a)pirene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,5	<0,5
dibenzo(a,h)antracene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
benzo(g,h,i)perilene	<0,5	0,9	0,7	0,6	<0,5	0,6	0,5	<0,5	0,8	0,7	1,0	0,8
indeno(1,2,3,c,d)pirene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	<0,5	0,5
<b>Somma IPA</b>	<b>29,4</b>	<b>32,0</b>	<b>37,1</b>	<b>32,5</b>	<b>26,4</b>	<b>26,7</b>	<b>24,4</b>	<b>25,1</b>	<b>23,1</b>	<b>21,0</b>	<b>23,4</b>	<b>22,4</b>

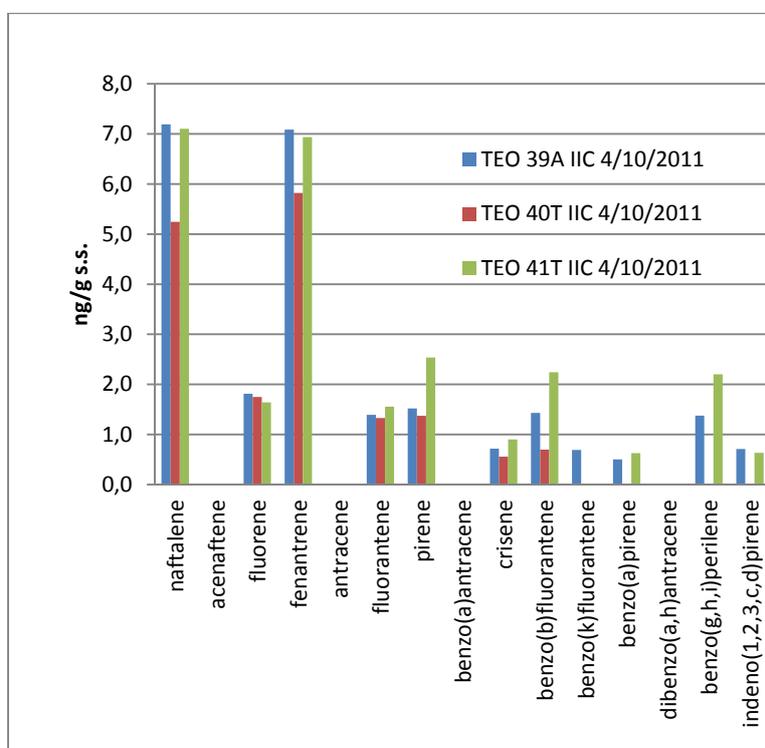
### II Campagna (ottobre 2011)

Per ogni stazione sono stati ottenuti tre pool di *Mytilus galloprovincialis*, ognuno dei quali è stato sottoposto ad analisi per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici. Nella Tabella 8.2.1.2.2 sono riportate, per ciascuna stazione, le concentrazioni riscontrate nei singoli pool e le loro medie.

Nella campagna di campionamento di ottobre le concentrazioni di IPA totali nei tessuti di mitili si mantengono decisamente contenute, oscillando tra circa 17 e 26 ng/g s.s. Diversamente dalla campagna di settembre la stazione che mostra i valori più bassi è quella vicina al terminale (TE040) mentre quelle poste in corrispondenza della mitilicoltura di Portonovo (TE041) e dell'allevamento VISMA (TE039) presentano concentrazioni maggiori.

Le tre stazioni mostrano risultati omogenei tra i tre pool e, in generale, i composti più rappresentati sono quelli a basso peso molecolare con un contributo più contenuto da parte di composti a medio grado di condensazione aromatica (Figura 8.2.1.2.2). La stazione (TE039) in particolare presenta un contributo leggermente maggiore da parte di composti ad alto peso molecolare. Molto meno presenti, soprattutto nella stazione TE040, risultano gli IPA più pesanti.

Pur tenendo conto delle lievi differenze menzionate le concentrazioni di IPA rilevate indicano un bioaccumulo limitato e non significativamente differente tra le tre stazioni.



**Figura 8.2.1.2.2:** Concentrazioni medie dei singoli IPA espresse in ng/g nei mitili delle tre stazioni – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

**Tabella 8.2.1.2.2:** Concentrazioni di IPA espresse in ng/g in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

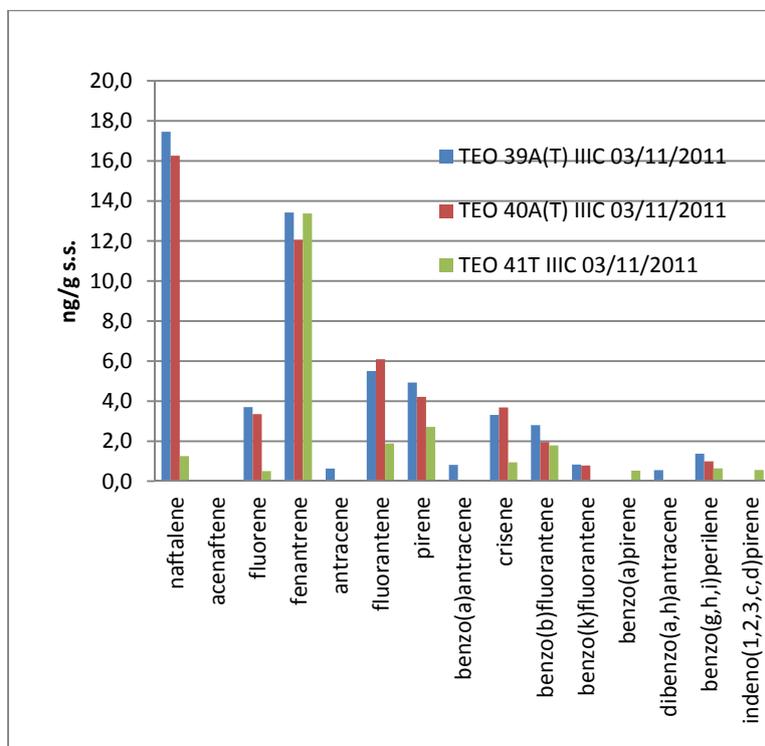
Stazione	TE039A				TE040T				TE041M			
	I	II	III	media	I	II	III	media	I	II	III	media
u.m.	ng/g p.s.				ng/g p.s.				ng/g p.s.			
naftalene	6,6	7,2	7,8	7,2	4,8	4,3	6,6	5,2	5,6	5,7	10,0	7,1
acenaftene	<0,5	0,8	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorene	1,5	1,6	2,4	1,8	1,8	1,3	2,1	1,7	1,6	1,6	1,8	1,6
fenantrene	8,6	6,7	6,0	7,1	5,8	7,0	4,7	5,8	6,6	8,3	5,9	6,9
antracene	<0,5	0,6	0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorantene	1,0	1,7	1,5	1,4	1,2	1,5	1,3	1,3	2,0	1,3	1,4	1,6
pirene	1,1	2,0	1,5	1,5	1,2	1,4	1,6	1,4	3,0	2,4	2,1	2,5
benzo(a)antracene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
crisene	<0,5	0,9	0,8	0,7	0,5	<0,5	0,6	0,6	1,0	0,8	0,9	0,9
benzo(b)fluorantene	1,0	1,6	1,7	1,4	0,7	0,6	0,8	0,7	2,2	1,9	2,7	2,2
benzo(k)fluorantene	0,7	0,7	0,7	0,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,6	<0,5
benzo(a)pirene	<0,5	0,5	0,5	0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,8	0,7	0,6
dibenzo(a,h)antracene	<0,5	<0,5	0,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,6	<0,5
benzo(g,h,i)perilene	1,1	1,5	1,5	1,4	<0,5	0,5	<0,5	<0,5	2,1	2,4	2,1	2,2
indeno(1,2,3,c,d)pirene	<0,5	1,0	0,7	0,7	<0,5	<0,5	0,5	<0,5	0,8	0,6	0,6	0,6
<b>Somma IPA</b>	<b>21,6</b>	<b>26,6</b>	<b>26,3</b>	<b>24,4</b>	<b>16,0</b>	<b>16,5</b>	<b>18,3</b>	<b>16,8</b>	<b>24,9</b>	<b>25,6</b>	<b>29,5</b>	<b>26,4</b>

### III Campagna (novembre 2011)

Per ogni stazione sono stati ottenuti tre pool di *Mytilus galloprovincialis*, ognuno dei quali è stato sottoposto ad analisi per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici. Nella Tabella 8.2.1.2.3 sono riportate, per ciascuna stazione, le concentrazioni riscontrate nei singoli pool e le loro medie.

Nella campagna di campionamento di novembre si manifesta una netta differenza di bioaccumulo di IPA tra le stazioni TE039 e TE040 e la stazione di Portonovo (TE041). Nelle stazioni più vicine al Terminale infatti le concentrazioni di Naftalene, Fluorene, e in misura minore anche degli IPA a medio peso molecolare, sono nettamente maggiori rispetto alla stazione TE041 (Figura 8.2.1.2.3). Mentre le concentrazioni degli IPA nella stazione dell'allevamento di Portonovo sono rimaste simili a quelle rilevate nelle due precedenti campagne quelle delle stazioni TE039 e TE040 sono aumentate in generale per tutti i composti.

Anche in questa campagna le stazioni mostrano risultati abbastanza omogenei tra i tre pool e, in generale, i composti più rappresentati sono quelli a basso peso molecolare. Il contributo dei composti a medio grado di condensazione aromatica è più contenuto anche se, per le stazioni TE039 e TE040, risulta maggiore rispetto alle campagne precedenti.



**Figura 8.2.1.2.3:** Concentrazioni medie dei singoli IPA espresse in ng/g nei mitili delle tre stazioni – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

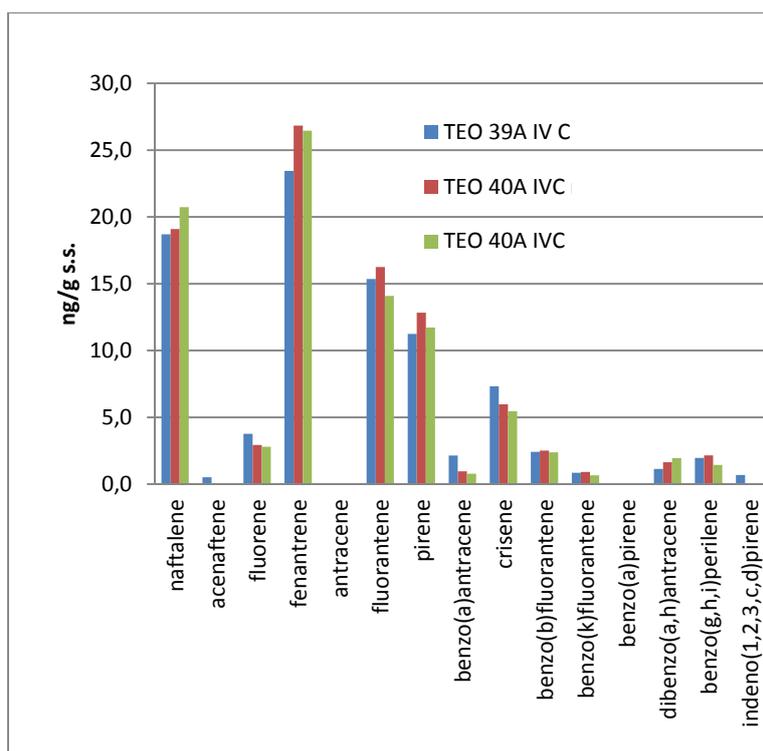
**Tabella 8.2.1.2.3:** Concentrazioni di **IPA** espresse in ng/g in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – **III** campagna **Novembre 2011**.

Stazione	TE039A				TE040T				TE041M			
	I	II	III	media	I	II	III	media	I	II	III	media
u.m.	ng/g p.s.				ng/g p.s.				ng/g p.s.			
naftalene	14,9	18,5	19,0	17,5	14,4	16,6	17,8	16,3	1,7	2,1	<0,5	1,3
acenaftene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorene	3,6	4,1	3,4	3,7	3,5	3,6	3,0	3,4	<0,5	0,6	<0,5	0,5
fenantrene	13,2	13,1	14,0	13,4	14,5	10,3	11,4	12,1	10,0	13,3	16,9	13,4
antracene	0,6	<0,5	1,3	0,6	<0,5	<0,5	0,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorantene	6,2	4,7	5,6	5,5	6,7	5,6	5,9	6,1	2,2	1,9	1,6	1,9
pirene	4,8	4,9	5,1	4,9	4,4	4,9	3,4	4,2	3,2	2,7	2,2	2,7
benzo(a)antracene	0,7	0,7	1,0	0,8	<0,5	<0,5	0,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
crisene	2,9	3,6	3,3	3,3	3,5	4,5	3,1	3,7	0,7	1,2	1,0	0,9
benzo(b)fluorantene	2,8	2,6	3,0	2,8	2,0	2,1	1,9	2,0	1,1	1,6	2,7	1,8
benzo(k)fluorantene	0,9	0,8	0,8	0,8	0,7	0,9	0,8	0,8	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
benzo(a)pirene	0,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,6	0,5
dibenzo(a,h)antracene	0,7	<0,5	<0,5	0,6	<0,5	0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
benzo(g,h,i)perilene	1,2	1,8	1,0	1,4	0,9	1,0	1,0	1,0	<0,5	0,7	0,8	0,6
indeno(1,2,3,c,d)pirene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	0,6
<b>Somma IPA</b>	<b>53,3</b>	<b>54,9</b>	<b>57,6</b>	<b>55,3</b>	<b>50,7</b>	<b>50,0</b>	<b>49,3</b>	<b>49,4</b>	<b>18,8</b>	<b>24,0</b>	<b>26,5</b>	<b>24,2</b>

#### ***IV Campagna (dicembre 2011)***

Per ogni stazione sono stati ottenuti tre pool di *Mytilus galloprovincialis*, ognuno dei quali è stato sottoposto ad analisi per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici. Nella Tabella 8.2.1.2.4 sono riportate, per ciascuna stazione, le concentrazioni riscontrate nei singoli pool e le loro medie.

Nella campagna di campionamento di dicembre le concentrazioni di IPA nelle tre stazioni sono estremamente simili, sia per quanto riguarda il contenuto complessivo sia per quanto riguarda i livelli dei singoli composti. Come nelle precedenti campagne continuano a predominare gli idrocarburi a basso e medio peso molecolare (Figura 8.2.1.2.4). Le concentrazioni risultano, per tutte le stazioni, decisamente più elevate che nei mesi precedenti ma con ogni probabilità ciò è dovuto non ad un aumento della biodisponibilità di IPA ma alle fluttuazioni legate al ciclo biologico stagionale dei mitili. Le concentrazioni infatti, tenuto conto del periodo di prelievo, non sono indice di particolare contaminazione.



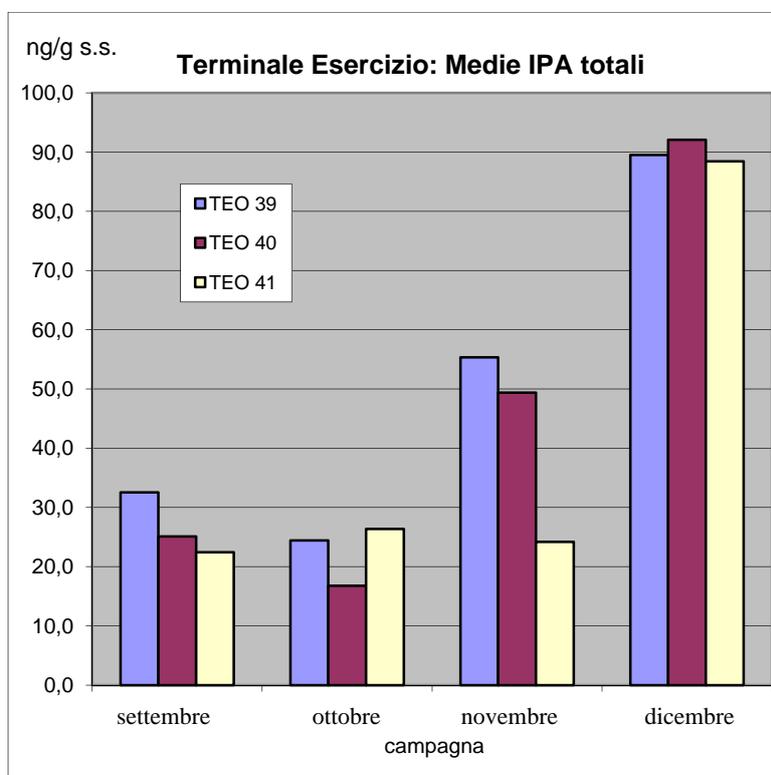
**Figura 8.2.1.2.4:** Concentrazioni medie dei singoli IPA espresse in ng/g nei mitili delle tre stazioni – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.

**Tabella 8.2.1.2.4:** Concentrazioni di IPA espresse in ng/g in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.

Stazione	TE039A				TE040T				TE041M			
	I	II	III	media	I	II	III	media	I	II	III	media
u.m.	ng/g p.s.				ng/g p.s.				ng/g p.s.			
naftalene	19,1	17,9	19,1	18,7	18,9	19,8	18,6	19,1	18,5	20,2	23,5	20,7
acenaftene	<0,5	<0,5	1,1	0,5	0,8	<0,5	0,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorene	2,8	4,2	4,3	3,8	2,7	2,8	3,2	2,9	3,4	2,2	2,8	2,8
fenantrene	21,2	24,0	25,2	23,4	22,3	29,1	29,1	26,8	26,7	26,7	26,0	26,5
antracene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
fluorantene	14,1	14,9	17,1	15,4	18,3	16,1	14,4	16,2	13,0	17,9	11,4	14,1
pirene	10,9	11,9	11,0	11,3	13,7	14,7	10,1	12,8	9,9	12,7	12,6	11,7
benzo(a)antracene	2,0	1,5	2,9	2,1	2,1	<0,5	<0,5	1,0	0,7	0,6	1,0	0,8
crisene	7,2	7,7	7,1	7,3	6,3	6,8	4,8	6,0	3,7	5,0	7,7	5,5
benzo(b)fluorantene	1,5	3,0	2,7	2,4	2,6	2,6	2,3	2,5	1,9	3,7	1,5	2,4
benzo(k)fluorantene	0,5	1,1	0,9	0,8	0,9	0,8	1,0	0,9	0,6	0,5	0,8	0,7
benzo(a)pirene	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
dibenzo(a,h)antracene	0,9	0,9	1,6	1,1	1,3	2,1	1,6	1,6	1,8	2,0	2,0	1,9
benzo(g,h,i)perilene	1,4	1,8	2,7	2,0	2,1	2,4	1,9	2,1	1,1	1,9	1,3	1,4
indeno(1,2,3,c,d)pirene	0,7	0,9	<0,5	0,7	<0,5	<0,5	0,9	<0,5	<0,5	0,6	<0,5	<0,5
<b>Somma IPA</b>	<b>82,5</b>	<b>89,7</b>	<b>95,6</b>	<b>89,5</b>	<b>92,8</b>	<b>97,8</b>	<b>88,6</b>	<b>92,1</b>	<b>81,4</b>	<b>93,8</b>	<b>90,7</b>	<b>88,5</b>

### Considerazioni conclusive

Confrontando le concentrazioni medie di IPA totali riscontrate nelle quattro campagne di monitoraggio di settembre, ottobre, novembre e dicembre 2011 (Figura 8.2.1.2.5), si nota come le differenze tra una campagna e l'altra e tra una stazione e l'altra siano dovute essenzialmente all'andamento stagionale legato al ciclo biologico degli organismi e come non si evidenzino, se non per l'eccezione della stazione di Portonovo nella terza campagna, differenze significative di bioaccumulo tra le tre aree di monitoraggio. Le concentrazioni inoltre risultano sempre contenute non evidenziando situazioni di contaminazione nelle varie stazioni.



**Figura 8.2.1.2.5:** Confronto delle concentrazioni medie degli **IPA totali** espresse in ng/g nei mitili delle tre stazioni nelle **quattro campagne di indagine – fase di esercizio**.

I valori risultano inferiori ai livelli riportati in letteratura per organismi dell'Adriatico centro settentrionale (257 ng/g p.s.) (Widdows et al, 1997) e sempre inferiori ai valori riscontrati nella fase di bianco e di cantiere. Per quanto riguarda il rischio sanitario, i valori di benzo(a)pirene risultano sempre inferiori al limite riportato nel regolamento CE 1881/2006 di 10 µg/kg p.u.

## ***8.2.2 Metalli***

### **8.2.2.1 Materiali e metodi**

#### *Campionamenti e prelievo degli organismi*

Per ogni stazione di campionamento, sono stati preparati 3 replicati, ciascuno costituito dalle intere parti molli di più organismi, dei quali sono stati registrati i parametri relativi alla dimensione delle valve (lunghezza) ed al peso dei tessuti. Subito dopo la dissezione e la relativa suddivisione nei replicati, i tessuti sono stati posti alla temperatura di -20°C fino alle successive fasi di preparazione per le analisi.

#### *Procedura analitica*

Una volta scongelati, i tessuti sono essiccati in stufa a ventilazione forzata per 48h alla temperatura di 35°C, quindi omogeneizzati mediante un mulino a lame.

Il metodo prevede la digestione dei tessuti mediante mineralizzazione. Vengono prelevati 0,5g circa di campione (peso secco) e trasferiti in reattori di teflon, dove si aggiungono 1ml di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 7ml di HNO<sub>3</sub>. I contenitori prima di essere inseriti nel forno a microonde, vengono chiusi utilizzando una coppia serraggio di 22 m/N. Ciò permette alla miscela acido-campione di raggiungere temperature e pressioni molto elevate. Il ciclo operativo impiegato per la mineralizzazione prevede 4 min a 800 Watt e 100°C, 0 min a 800 Watt e 120° C, 5 min a 1000 Watt 200 °C , 15 min a 1000 Watt e 200 °C, ventilazione e raffreddamento (20 min).

Dopo il ciclo di mineralizzazione i campioni sono raffreddati a temperatura ambiente e portati al volume di 25 ml.

I Bianchi Analitici sono preparati con soluzioni composte da 1ml di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 7 ml di HNO<sub>3</sub> e processati con le stesse modalità operative utilizzate per la mineralizzazione dei campioni.

#### *Determinazioni analitiche*

La determinazione di Cu, Fe, Ni, Mn, Zn, Cr e Ba è stata effettuata mediante Spettrofotometria in Emissione Atomica ICP-OES Sequenziale (Varian- Liberty AX); il Cd, l'As e il Pb sono stati analizzati mediante Spettrofotometria in Assorbimento Atomico con sistema di atomizzazione a fornetto di grafite e correzione del fondo mediante effetto Zeeman (Varian, SpectrAA 220Zeeman); per il mercurio si è utilizzata la tecnica della concentrazione su amalgama d'oro, desorbimento e rivelazione con spettrofotometro UV (spettrometria atomica DMA-80).

Per valutare l'adeguatezza del metodo analitico sono stati stimati alcuni parametri di qualità come l'accuratezza, il limite di quantificazione ed il recupero. Il limite di quantificazione per ciascun metallo, relativo alla metodica impiegata, viene riportato in tabella 8.2.2.1.1.

**Tabella 8.2.2.1.1:** Metalli: limiti di quantificazione.

Parametro	Limite di quantificazione (mg/kg)
<b>Fe</b>	10,00
<b>Mn</b>	1,50
<b>Ni</b>	1,00
<b>Cr</b>	1,00
<b>Ba</b>	2,00
<b>Zn</b>	1,00
<b>Cu</b>	1,00
<b>As</b>	2,00
<b>Pb</b>	0,050
<b>Cd</b>	0,010
<b>Hg</b>	0,0005

L'accuratezza è stata valutata mediante l'analisi di materiali di riferimento certificati: Standard Reference Material 2976 (mussel tissue); i risultati ottenuti sono riportati in tabella 8.2.2.1.2.

**Tabella 8.2.2.1.2:** SRM 2976: Valori certificati e relative percentuali di recupero.

Elemento	Valore certificato (mg/kg)	Recupero %
Arsenico	13.3 ± 1.8	89
Cadmio	0.82 ± 0.16	94
Rame	4.02 ± 0.33	92
Ferro	171.0 ± 4.9	87
Mercurio	0.0610 ± 0.0036	97
Piombo	1.19 ± 0.18	93
Zinco	137 ± 13	87

Allo scopo di monitorare le proprie prestazioni analitiche il laboratorio partecipa dall'Ottobre 2003 al circuito di Laboratory Performance Studies organizzato dal QUASIMEME (Quality Assurance Laboratory Performance Studies for Environmental Measurements in Marine Samples) eseguendo, con cadenza semestrale, l'analisi di campioni incogniti inviati dall'ente organizzatore e comunicando i propri risultati allo scopo di confrontarli con i valori assegnati.

### **8.2.2.2 Risultati**

Si discutono di seguito i risultati analitici delle quattro campagne di monitoraggio eseguite nel primo anno della fase di Esercizio del Terminale GNL. I risultati riportati nelle tabelle 8.2.2.2.1-4 si riferiscono ai valori di concentrazione dei diversi analiti, espressi come mg/kg di peso secco, nelle quattro campagne d'indagine.

***I Campagna (Settembre 2011)***
**Tabella 8.2.2.2.1: Concentrazioni di metalli espresse in mg/kg in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.**

Stazione	Replicato	Fe	Mn	Ni	Cr	Ba	Zn	Cu	As	Pb	Cd	Hg
		mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.
TE039A	I	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	83,763	3,803	17,961	14,990	0,119	0,098
	II	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	104,396	3,694	16,173	10,464	0,107	0,115
	III	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	90,050	3,689	19,979	13,810	0,097	0,095
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>92,736±10,576</b>	<b>3,729±0,064</b>	<b>18,038±1,904</b>	<b>13,088±2,348</b>	<b>0,108±0,011</b>	<b>0,103±0,011</b>
TE040T	I	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	117,993	< 1,0	13,133	12,307	0,061	0,057
	II	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	97,948	< 1,0	15,306	12,937	0,051	0,058
	III	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	91,574	< 1,0	15,889	10,571	0,057	0,054
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>102,505±13,786</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>14,776±1,452</b>	<b>11,938±1,225</b>	<b>0,056±0,005</b>	<b>0,056±0,002</b>
TE041M	I	79,693	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	79,964	< 1,0	14,490	15,018	0,064	0,080
	II	107,487	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	103,876	< 1,0	11,804	17,267	0,070	0,067
	III	79,157	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	104,621	< 1,0	11,199	17,801	0,084	0,069
	media±dev.std	<b>88,779±16,204</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>96,154±14,026</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>12,498±1,752</b>	<b>16,695±1,477</b>	<b>0,073±0,010</b>	<b>0,072±0,007</b>

Le concentrazioni misurate risultano essere omogenee tra le stazioni esposte e anche con la stazione di controllo. Non si osservano concentrazioni medie significativamente differenti tra la stazione di controllo e le altre due stazioni, ad eccezione del Hg.

Confrontando le due stazioni esposte, si evidenziano per elementi come As, Cd, Cu e Hg concentrazioni leggermente maggiori nella stazione TE039A, mentre per il Fe e Pb la stazione con valori più alti risulta essere la stazione di controllo. Per elementi come Mn, Ni, Cr e Ba si registrano sempre concentrazioni inferiori al Limite di Rivelabilità Strumentale.

***II Campagna (Ottobre 2011)***

**Tabella 8.2.2.2.2: Concentrazioni di metalli espresse in mg/kg in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.**

Stazione	Replicato	Fe	Mn	Ni	Cr	Ba	Zn	Cu	As	Pb	Cd	Hg
		mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.
TE039A	I	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	53,565	< 1,0	8,551	11,408	0,040	0,039
	II	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	64,627	< 1,0	9,077	11,182	0,046	0,041
	III	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	57,897	< 1,0	10,232	9,404	0,039	0,035
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>58,696±5,574</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>9,287±0,860</b>	<b>10,665±1,098</b>	<b>0,042±0,004</b>	<b>0,038±0,003</b>
TE040T	I	< 10,0	2,879	< 1,0	< 1,0	< 2,0	89,233	2,847	10,761	13,467	0,066	0,035
	II	< 10,0	3,193	< 1,0	< 1,0	< 2,0	102,346	2,932	11,526	12,543	0,071	0,043
	III	< 10,0	3,490	< 1,0	< 1,0	< 2,0	121,839	3,228	12,400	20,683	0,052	0,041
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>3,187±0,306</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>104,473±16,407</b>	<b>3,002±0,200</b>	<b>11,562±0,820</b>	<b>15,564±4,457</b>	<b>0,063±0,010</b>	<b>0,040±0,004</b>
TE041M	I	76,373	4,968	< 1,0	< 1,0	< 2,0	111,250	2,379	11,071	12,785	0,074	0,023
	II	97,487	6,023	< 1,0	< 1,0	< 2,0	103,876	2,217	11,669	12,354	0,059	0,024
	III	79,157	4,795	< 1,0	< 1,0	< 2,0	76,617	2,319	10,516	14,852	0,060	0,026
	media±dev.std	<b>84,339±11,471</b>	<b>5,262±0,665</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>97,248±18,243</b>	<b>2,305±0,082</b>	<b>11,085±0,577</b>	<b>13,330±1,335</b>	<b>0,064±0,008</b>	<b>0,024±0,002</b>

Le concentrazioni misurate risultano omogenee tra le stazioni esposte e anche con la stazione di controllo. Non si osservano concentrazioni medie significativamente differenti tra la stazione di controllo e le altre due stazioni.

Confrontando le due stazioni esposte, si evidenziano per elementi come il Pb, Cu, Zn e Hg concentrazioni leggermente maggiori nella stazione TE040T, mentre per il Fe e Mn la stazione con valori più alti risulta essere la stazione di controllo. Per elementi come Ni, Cr e Ba si registrano sempre concentrazioni inferiori al Limite di Rivelabilità Strumentale.

***III Campagna (Novembre 2011)***

**Tabella 8.2.2.2.3: Concentrazioni di metalli espresse in mg/kg in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.**

Stazione	Replicato	Fe	Mn	Ni	Cr	Ba	Zn	Cu	As	Pb	Cd	Hg
		mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.
TE039A	I	< 10,0	6,482	< 1,0	< 1,0	4,134	120,072	5,030	39,790	20,933	0,091	0,051
	II	< 10,0	5,770	< 1,0	< 1,0	4,904	153,398	4,718	29,803	21,694	0,082	0,064
	III	< 10,0	6,177	< 1,0	< 1,0	4,858	104,410	4,341	32,443	24,185	0,084	0,057
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>6,143± 0,357</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>4,632±0,432</b>	<b>125,960±25,019</b>	<b>4,696±0,345</b>	<b>34,012±5,175</b>	<b>22,271±1,701</b>	<b>0,086±0,005</b>	<b>0,057±0,007</b>
TE040T	I	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	96,174	< 1,0	28,274	17,954	0,076	0,039
	II	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	81,518	< 1,0	26,859	14,896	0,062	0,041
	III	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	79,780	< 1,0	33,353	18,332	0,071	0,046
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>85,824±9,005</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>29,495±3,415</b>	<b>17,061±1,884</b>	<b>0,070±0,007</b>	<b>0,042±0,004</b>
TE041M	I	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	148,201	< 1,0	18,675	23,186	0,987	0,021
	II	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	132,950	< 1,0	14,901	17,213	0,707	0,027
	III	< 10,0	< 1,5	< 1,0	< 1,0	< 2,0	116,316	< 1,0	15,684	13,300	0,651	0,018
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>&lt; 1,5</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>132,489±15,947</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>16,420±1,992</b>	<b>17,900±4,979</b>	<b>0,782±0,180</b>	<b>0,022±0,005</b>

Le concentrazioni misurate risultano per la grande maggioranza dei metalli omogenee tra la stazione di controllo e le stazioni esposte. Si osserva per la maggior parte dei metalli analizzati valori leggermente maggiori nel sito TE039A, in particolare per Mn, Ba, Cu, As, Pb e Hg.

Nella stazione di controllo si osserva una concentrazione di Cadmio (valore medio 0,782 mg/kg s.s.) circa un ordine di grandezza superiore rispetto al valore medio riscontrato per lo stesso metallo nelle stazioni TE039A e TE040T.

***IV Campagna (Dicembre 2011)***

**Tabella 8.2.2.2.4: Concentrazioni di metalli espresse in mg/kg in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.**

Stazione	Replicato	Fe	Mn	Ni	Cr	Ba	Zn	Cu	As	Pb	Cd	Hg
		mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.	mg/kg p.s.
TE039A	I	50,406	6,848	< 1,0	< 1,0	5,783	143,991	5,742	3,641	0,420	0,889	0,158
	II	54,057	6,730	< 1,0	< 1,0	5,527	125,736	6,143	3,911	0,376	0,749	0,130
	III	67,740	9,098	< 1,0	< 1,0	7,657	156,081	6,937	4,382	0,368	0,952	0,122
	media±dev.std	<b>57,401±9,138</b>	<b>7,559±1,334</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>6,322±1,163</b>	<b>141,936±15,277</b>	<b>6,274±0,608</b>	<b>3,978±0,375</b>	<b>0,388±0,028</b>	<b>0,863±0,104</b>	<b>0,137±0,019</b>
TE040T	I	< 10,0	2,724	< 1,0	< 1,0	4,208	58,915	4,513	2,501	0,226	0,540	0,053
	II	< 10,0	2,753	< 1,0	< 1,0	3,818	60,555	4,467	2,470	0,247	0,600	0,057
	III	< 10,0	2,607	< 1,0	< 1,0	3,736	59,684	4,840	2,402	0,205	0,539	0,051
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>2,695±0,077</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>3,921±0,252</b>	<b>59,718±0,821</b>	<b>4,607±0,203</b>	<b>2,458±0,051</b>	<b>0,226±0,021</b>	<b>0,560±0,035</b>	<b>0,054±0,003</b>
TE041M	I	< 10,0	2,313	< 1,0	< 1,0	< 2,0	122,490	4,717	2,072	0,232	0,963	0,081
	II	< 10,0	2,613	< 1,0	< 1,0	< 2,0	129,038	5,442	2,025	0,261	0,957	0,079
	III	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
	media±dev.std	<b>&lt; 10,0</b>	<b>2,463±0,212</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 1,0</b>	<b>&lt; 2,0</b>	<b>125,764±4,630</b>	<b>5,080±0,513</b>	<b>2,049±0,033</b>	<b>0,247±0,021</b>	<b>0,960±0,004</b>	<b>0,080±0,001</b>

(\*) tessuto insufficiente per eseguire il terzo replicato

Le concentrazioni misurate risultano per la grande maggioranza dei metalli omogenee tra la stazione di controllo e le stazioni esposte. Si osserva per la quasi totalità dei metalli analizzati valori leggermente maggiori nel sito TE039A. Le concentrazioni di Cd risultano superiori nel controllo (0,960mg/kg s.s) rispetto alle stazioni esposte.

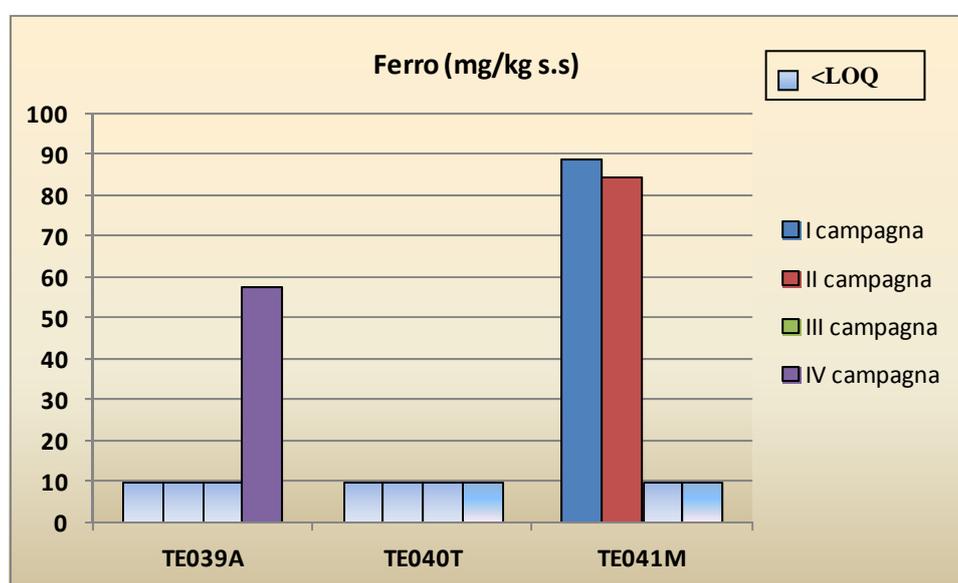
**Confronto tra le quattro campagne del I anno di monitoraggio – esercizio provvisorio**

Nelle Figure 8.2.2.1-11 sono rappresentate le concentrazioni medie ottenute nelle diverse campagne nel corso del primo anno di esercizio.

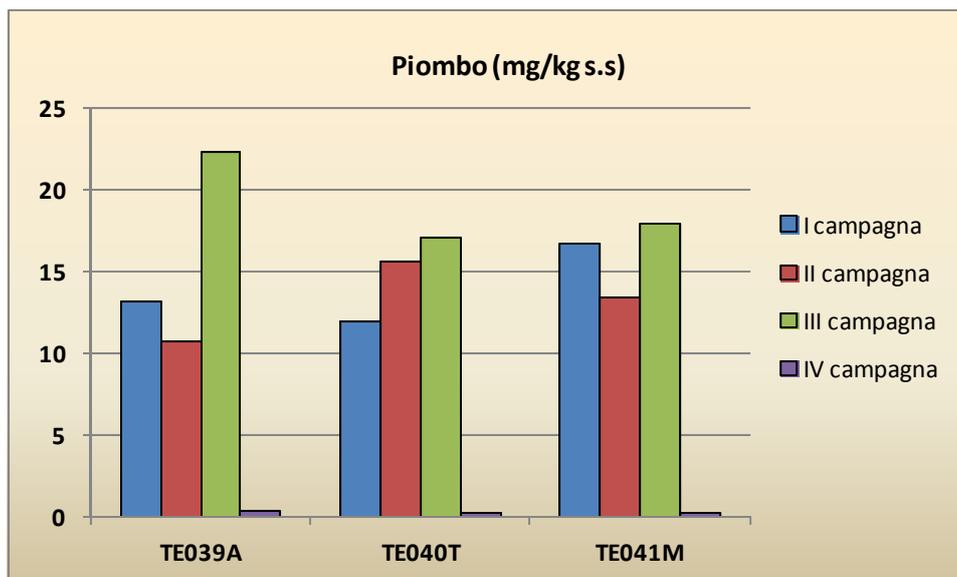
Per quasi tutti i metalli, si registrano valori medi superiori nella IV campagna, in particolare per Mn, Hg, Cd e Cu. Per il Ferro invece le campagne che presentano valori maggiori sono le prime due (settembre e ottobre 2011). Per Ni e Cr i valori sono sempre inferiori al LOQ in tutte e quattro le campagne d'indagine.

Un'attenzione particolare presentano i valori di cadmio, che nel corso della quarta campagna risultano più alti in tutte le stazioni, rispetto alle altre campagne, sebbene il confronto con il bianco non risulti significativo (il valore medio della stazione di controllo è addirittura superiore); arsenico e piombo, al contrario, mostrano nella quarta campagna valori medi molto inferiori rispetto a quelli registrati nelle campagne precedenti.

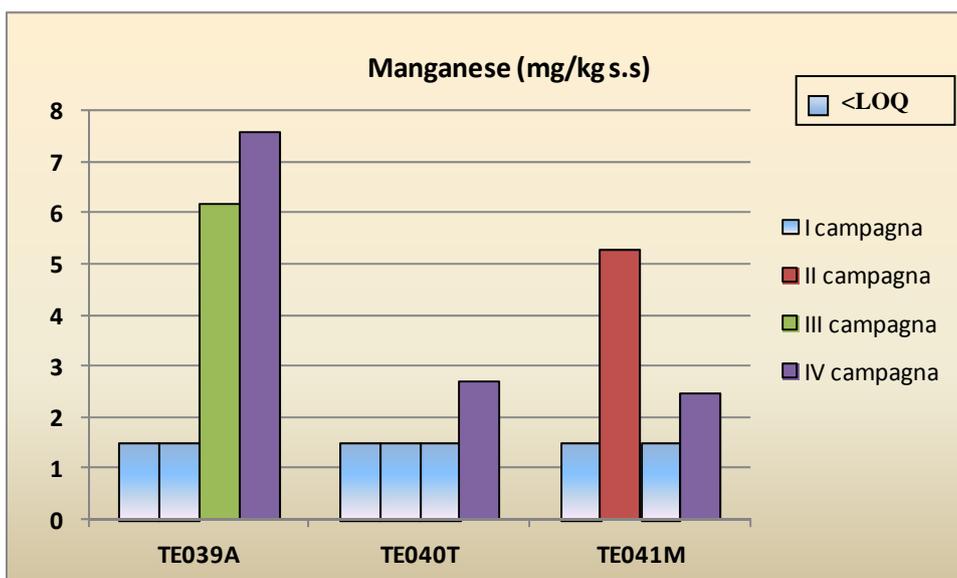
Le oscillazioni registrate nel corso delle quattro campagne rientrano, comunque, nella variabilità naturale legata alla fisiologia dell'organismo. Le differenze registrate rispetto al controllo non evidenziano criticità legate all'attività del Terminale.



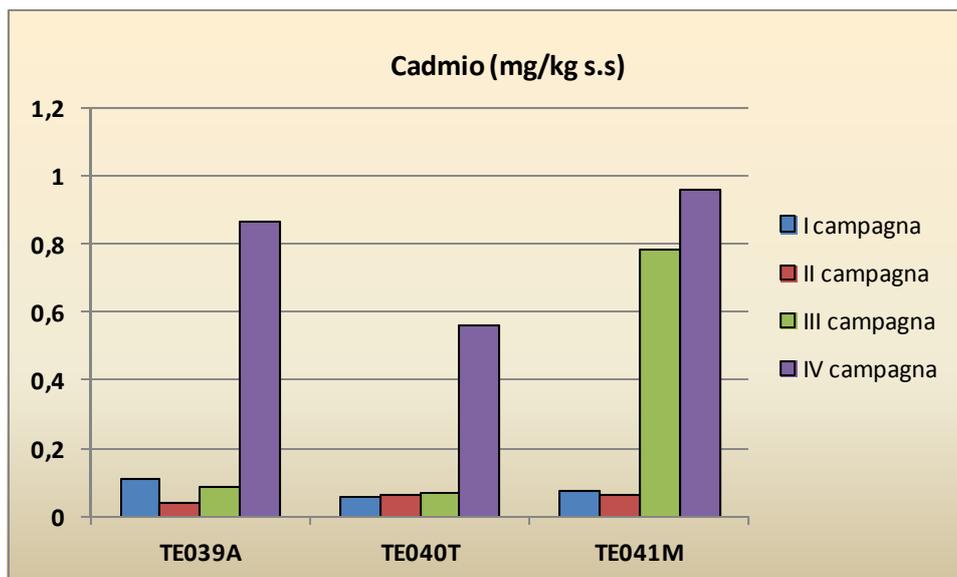
**Figura 8.2.2.1:** Concentrazioni medie di **Ferro** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I - settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



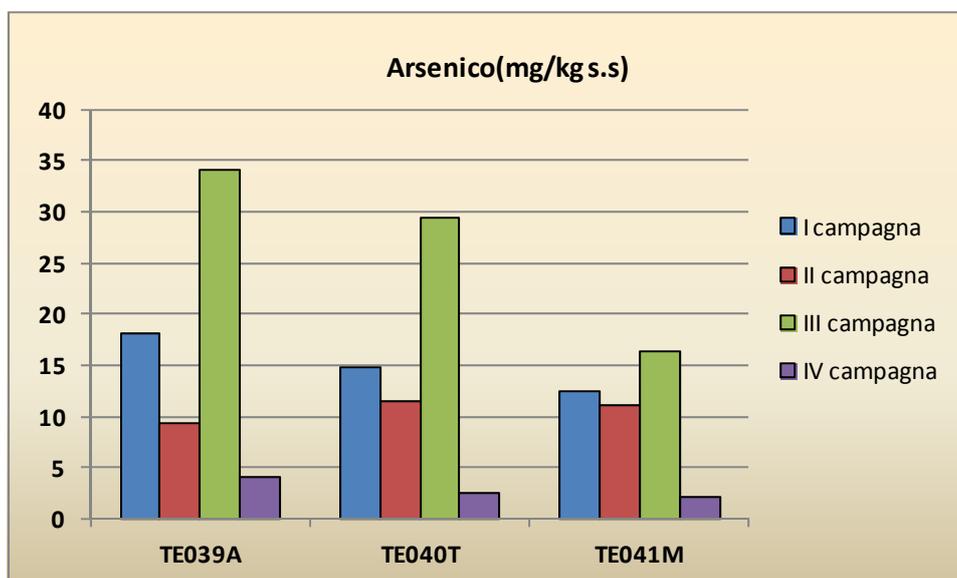
**Figura 8.2.2.2.2:** Concentrazioni medie di **Piombo** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



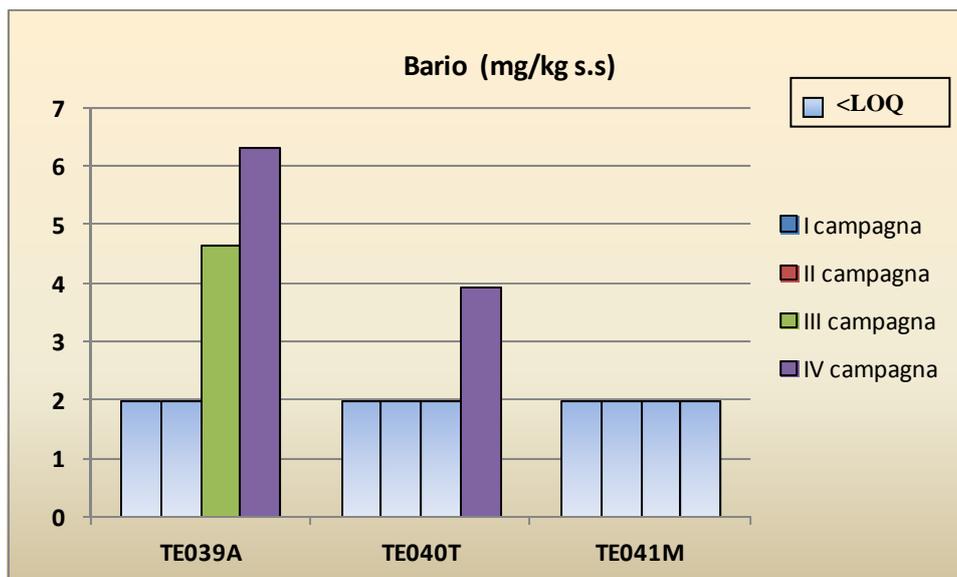
**Figura 8.2.2.2.3:** Concentrazioni medie di **Manganese** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



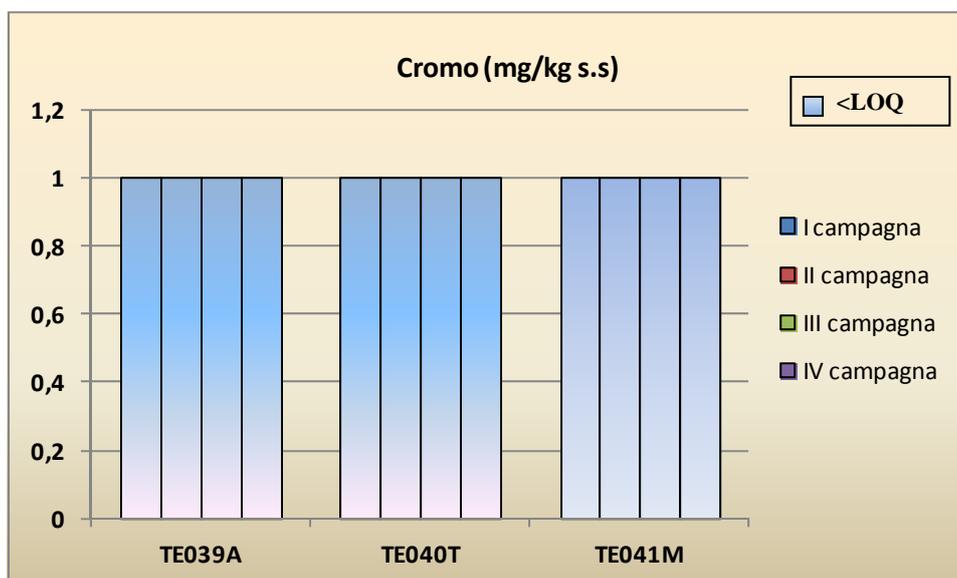
**Figura 8.2.2.2.4:** Concentrazioni medie di **Cadmio** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



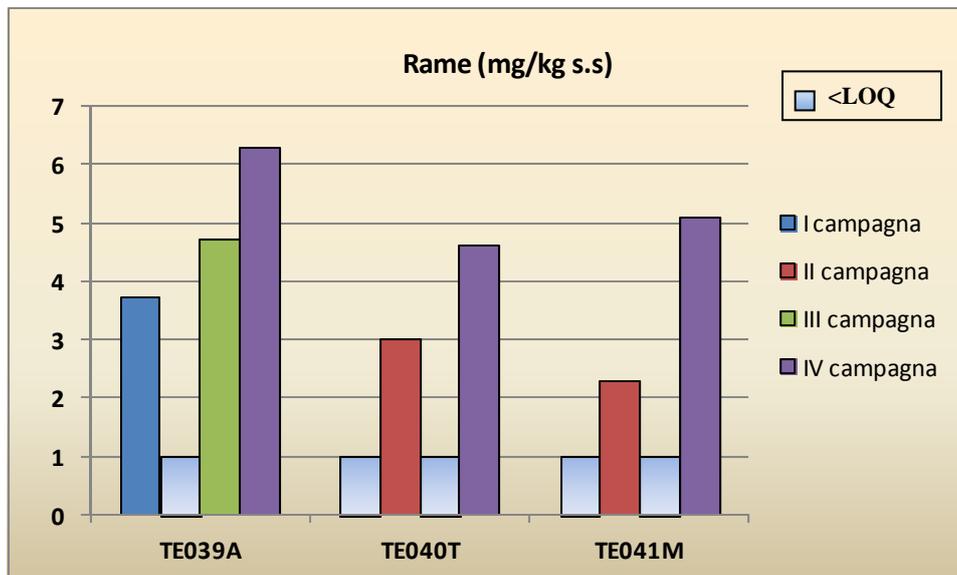
**Figura 8.2.2.2.5:** Concentrazioni medie di **Arsenico** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



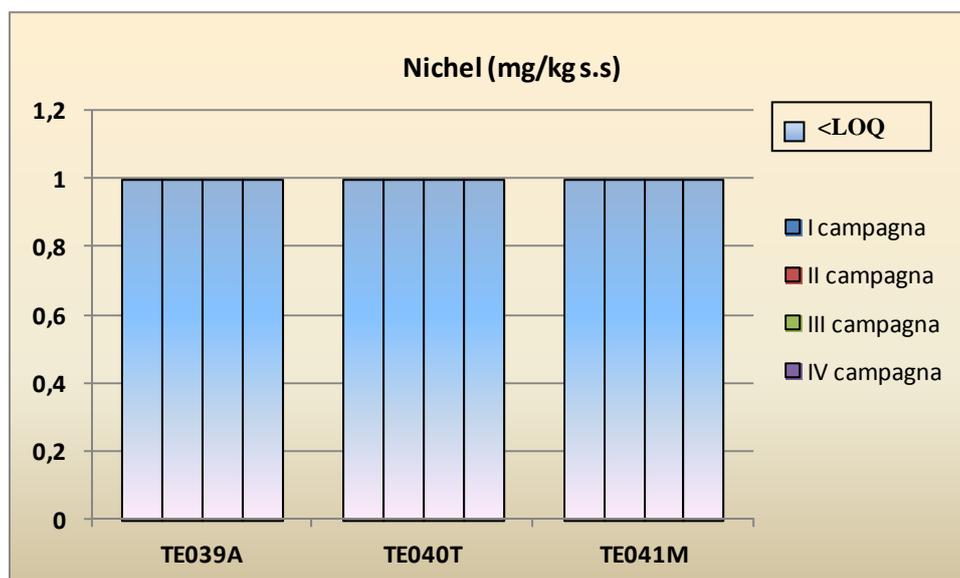
**Figura 8.2.2.6:** Concentrazioni medie di **Bario** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



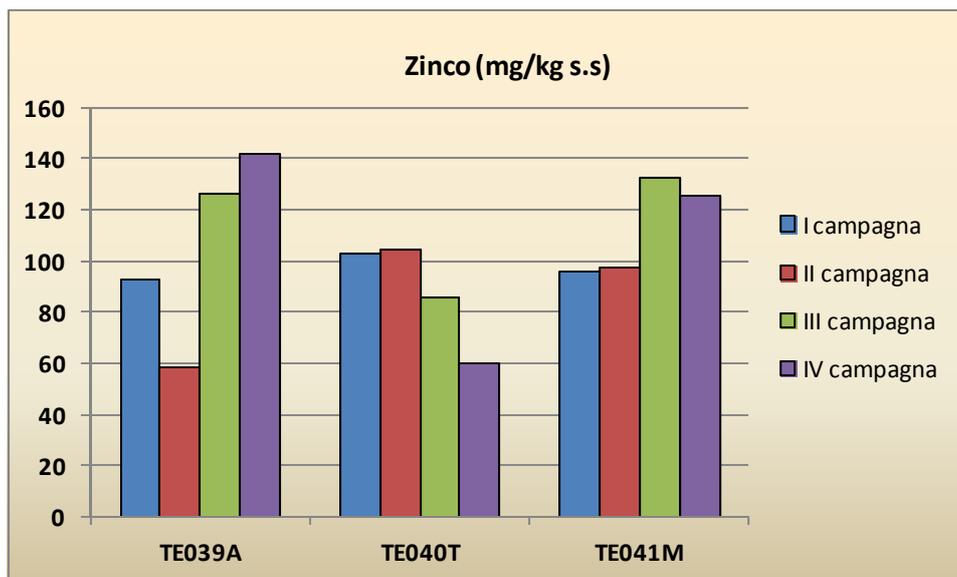
**Figura 8.2.2.7:** Concentrazioni medie di **Cromo** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



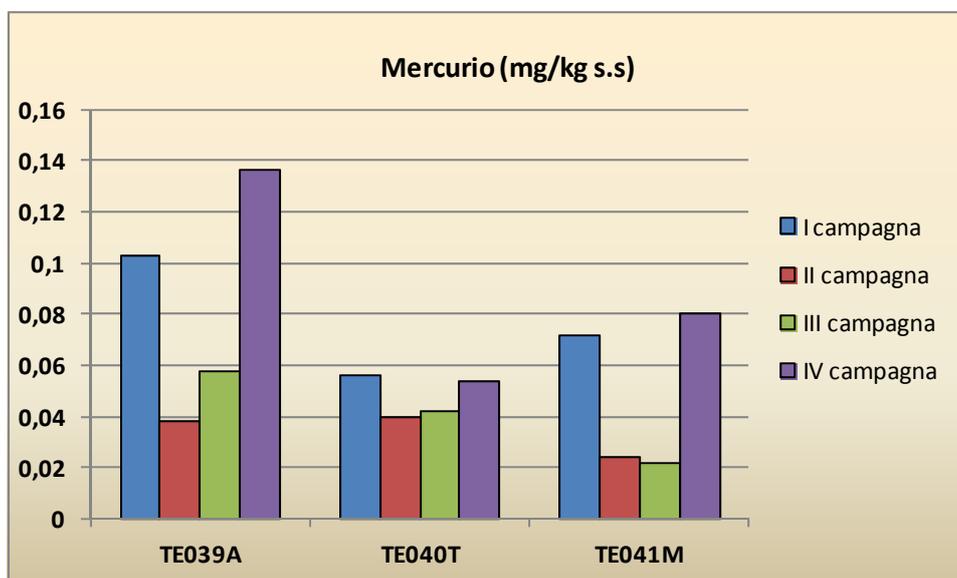
**Figura 8.2.2.8:** Concentrazioni medie di **Rame** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I - settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



**Figura 8.2.2.9:** Concentrazioni medie di **Nichel** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



**Figura 8.2.2.2.10:** Concentrazioni medie di **Zinco** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).



**Figura 8.2.2.2.11:** Concentrazioni medie di **Mercurio** (mg/kg p.s.) in tessuti di *Mytilus galloprovincialis*, campagne di esercizio (I -settembre 2011, II - ottobre 2011, III - novembre 2011, IV - dicembre 2011) ) nelle tre stazioni (TE039A, TE040T e TE041M).

### **8.2.3 Policlorobifenili (PCB)**

I Policlorobifenili (PCB) sono una classe di sostanze di origine antropica molto utilizzata in passato per le particolari proprietà dielettriche che li rendono ottimi isolanti termo-elettrici e quindi adatti ad una grande varietà di usi (fluidi dielettrici negli accumulatori, trasformatori, fluidi idraulici, oli lubrificanti, additivi, ecc). Sono sostanze persistenti, tossiche e bioaccumulabili, che sono diventate ubiquitarie nell'ambiente, ragione per cui si trovano livelli di “background” diversi da zero anche in zone lontane da possibili fonti dirette o indirette. I PCB che hanno una conformazione co-planare “diossina simili” suscitano particolare interesse per la loro tossicità.

I pesticidi organoclorurati sono sostanze di origine antropica ad attività insetticida il cui meccanismo d'azione è prevalentemente a danno del sistema nervoso; le loro caratteristiche chimico-fisiche li rendono, unitamente ai PCB, sostanze di elevata rilevanza ambientale per le loro caratteristiche di persistenza e tossicità. Alcuni di questi composti, come per esempio i DDT, danno origine a prodotti metaboliti (DDD e DDE) che risultano altrettanto tossici e persistenti dei prodotti di partenza.

Queste sostanze organoclorurate sono caratterizzate da una elevata stabilità chimica, ragione per cui nell'ambiente vengono scarsamente degradati per azione chimica o biologica, hanno bassa solubilità in acqua ed elevata lipofilità. Per queste caratteristiche queste sostanze tendono, nell'ambiente acquatico, ad accumularsi nei sedimenti e nel biota.

#### **8.2.3.1 Materiali e metodi**

Il principio del metodo prevede l'estrazione con solvente dei PCB e pesticidi clorurati da organismi marini, successiva purificazione e determinazione gas-cromatografica con rivelatore a cattura di elettroni (ECD). Si tratta di un rivelatore selettivo particolarmente sensibile a sostanze elettroaffini e quindi, adatto all'analisi di composti alogenati che possiedono questa caratteristica.

L'estrazione dagli organismi (mitili o vongole) è stata effettuata mediante sonicazione con miscela di solventi utilizzando un bagno ad ultrasuoni termostato. Si pesano 1-2 g di campione liofilizzato ed omogeneizzato, si aggiungono una spatola di sodio solfato anidro (trattato in muffola a 400°C per 6 ore) e 20 ml di una miscela n-esano/diclorometano (70:30 v/v). Si aggiunge il surrogato e dopo aver agitato bene, il campione viene posto in un bagno ad ultrasuoni per 30 minuti alla temperatura di 40°C; si dibatte per 30 minuti, si centrifuga e si allontana l'estratto organico raccogliendolo in una beuta. Si effettuano quindi due successive estrazioni del campione aggiungendo 10 ml della stessa miscela e ripetendo la procedura con ultrasuoni e dibattimento; gli estratti, separati dal campione dopo centrifugazione, vengono riuniti nella stessa beuta di raccolta, portati a piccolo volume mediante

rotavapor e purificati.

L'estratto concentrato è ripreso con 3x1 ml di n-esano e trasferito su colonna cromatografica impaccata con 2,5 g di gel di silice disattivato al 15% e 1 cm di sodio solfato anidro. Il gel di silice utilizzato nella purificazione è stato preparato nel seguente modo: attivato in stufa a 130°C per 16 ore, quindi posto a raffreddare in essiccatore e disattivato mediante aggiunta del 15% di acqua bidistillata estratta con diclorometano; il gel così trattato non viene utilizzato prima di 24 ore.

Si lascia percolare la soluzione avendo cura di non mandare a secco la colonna e si effettua quindi la ripartizione dei PCB e pesticidi in due frazioni ottenute eluendo la colonna prima con 10 ml di n-esano e poi con 10 ml di una miscela n-esano/diclorometano (50:50). Le due frazioni separate, raccolte in beuta, vengono concentrate a piccolo volume con l'evaporatore rotante, quindi vengono addizionate con il PCB 209 in qualità di standard interno e portate ad un volume finale di 1 ml con isoottano; infine si trasferiscono in un *vials* per autocampionatore, per l'analisi gas-cromatografica.

In alcuni casi per i campioni di mitili aventi maggiore contenuto lipidico, si è resa necessaria una prima purificazione su Florisil. L'estratto organico, concentrato a piccolo volume, viene trasferito su colonna cromatografica impaccata con 2,5 g di questo adsorbente e 1 cm di sodio solfato anidro; il Florisil utilizzato è attivato in stufa a 130°C fino al momento dell'analisi. A questo punto si ripartiscono i PCB e i pesticidi in un'unica frazione eluendo la colonna con 20 ml di Diclorometano; la frazione, concentrata su rotavapor, è pronta per la purificazione su gel di silice.

I singoli congeneri di PCB analizzati (28, 31, 35, 52, 77, 81, 101, 105, 110, 118, 126, 128, 138, 153, 156, 169, 180) sono stati scelti tra quelli ritenuti più significativi sotto il profilo sanitario ed ambientale e segnalati nell'allegato 1 del DM Ambiente n.56 del 14/04/2009. Tra questi, i PCB "diossina simili" 81, 77, 118, 105, 126, 156 e 169, rivestono particolare interesse per la loro tossicità.

L'identificazione dei singoli composti è stata effettuata mediante il confronto dei tempi di ritenzione dei picchi incogniti con quelli di standard di riferimento; inoltre, la loro presenza nel campione è stata confermata iniettando gli estratti su due colonne cromatografiche a diversa polarità.

L'analisi quantitativa viene eseguita con il metodo dello standard interno rapportando l'area del picco da quantificare con l'area del picco del PCB 209 aggiunto al campione a concentrazione nota; la curva di calibrazione, è preparata con soluzioni standard di PCB e pesticidi clorurati, che coprono l'intervallo di concentrazione atteso nei campioni.

Il limite di quantificazione del metodo (LOQ) per ciascuna sostanza corrisponde a 0,10 ng.

Lo strumento e le condizioni gas-cromatografiche utilizzate sono le seguenti:

GC/ECD 6890N Agilent Technologies; colonna 1: RTX<sup>®</sup>CLP, lunghezza 60 m, D.I. 0,25 mm, Film Thickness 0,25 µm; colonna 2: RTX<sup>®</sup>PCB, lunghezza 60 m, D.I. 0,25 mm, Film Thickness 0,25 µm;

gas di trasporto: elio flusso di 1,2 ml/min. in entrambe le colonne; iniettori: *split/splitless* in modalità *splitless*, temperatura di 250°C.; temperatura del forno: isoterma a 75°C per 1 min., quindi rampa di 10°C/min. fino a 200°C, a seguire rampa di 2,5°C/min. fino a 300 °C 10 minuti; rivelatori: ECD temperatura 320°C.

Le procedure per il controllo di qualità sono state le seguenti:

- ✓ aggiunta al campione prima dell'analisi, di una quantità nota dei PCB 112 e 155 in qualità di surrogato; la stima del recupero di questi congeneri, normalmente assenti nei campioni ambientali, viene utilizzata per verificare la bontà della procedura analitica nei vari passaggi. Un recupero stimato inferiore al 70% del surrogato porta alla ripetizione dell'analisi;
- ✓ esecuzione di bianchi di processo per ogni serie di campioni analizzati;
- ✓ uso di standard di controllo per ogni sequenza di campioni analizzati;
- ✓ stima della accuratezza del metodo mediante utilizzo di materiali di riferimento certificati e partecipazione semestrale al circuito interlaboratorio "QUASIMEME" per gli analiti PCB e pesticidi in matrice biota.

### **8.2.3.2 Risultati**

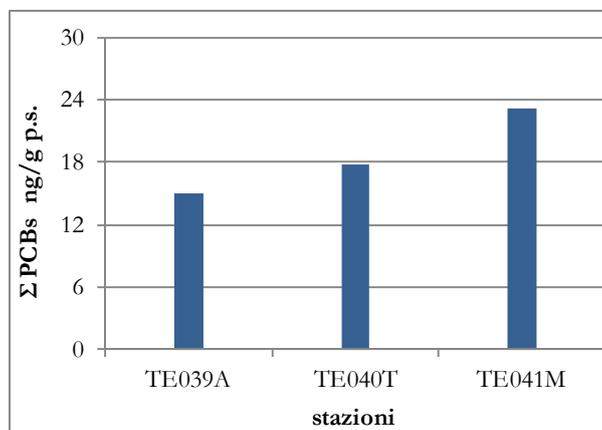
#### **I Campagna (Settembre 2011)**

I risultati dei policlorobifenili determinati nei mitili, durante la I campagna di esercizio del Terminale sono mostrati in tabella 8.2.3.2.1.

Tabella 8.2.3.2.1: Concentrazione dei policlorobifenili (PCB) – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

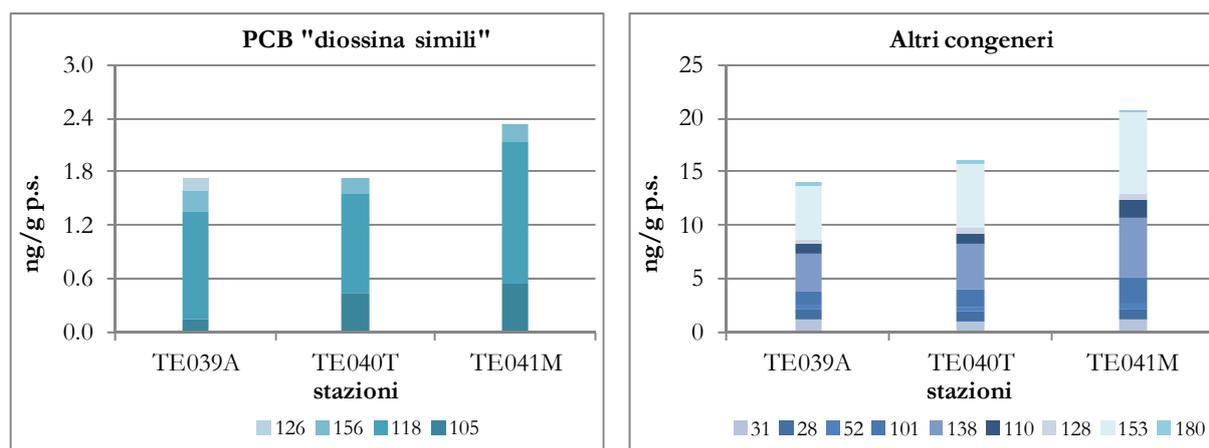
Stazioni	Repl.	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	Σ
		31	28	52	35	101	110	81	77	118	153	105	138	126	128	156	180	169	PCBs
		<i>ng/g</i>																	
TE039A	I	1,09	1,04	0,37	<0,10	1,24	1,02	<0,10	<0,10	1,33	5,17	0,17	3,70	0,13	0,31	0,22	0,34	<0,10	13,99
	II	1,05	0,98	0,38	<0,10	1,30	1,06	<0,10	<0,10	1,22	5,18	0,10	3,81	<0,10	0,27	0,30	0,29	<0,10	15,95
	III	1,34	1,01	0,37	<0,10	0,97	1,00	<0,10	<0,10	1,09	4,78	0,13	3,33	0,12	0,36	0,23	0,46	<0,10	15,19
	<b>media</b>																		
TE040T	I	1,13	1,24	0,46	<0,10	1,89	1,04	<0,10	<0,10	1,23	6,22	0,43	4,51	<0,10	0,41	0,14	0,42	<0,10	19,13
	II	0,81	0,90	0,28	<0,10	1,68	1,08	<0,10	<0,10	1,15	6,79	0,37	4,73	<0,10	0,54	0,24	0,27	<0,10	18,85
	III	0,99	0,95	0,29	<0,10	1,23	0,90	<0,10	<0,10	1,00	5,11	0,47	3,62	<0,10	0,36	0,19	0,56	<0,10	15,65
	<b>media</b>																		
TE041M	I	1,11	0,65	0,56	<0,10	2,43	1,59	<0,10	<0,10	1,84	8,36	0,51	5,79	<0,10	0,61	0,14	0,20	<0,10	23,80
	II	1,32	0,87	0,54	<0,10	2,67	1,92	<0,10	<0,10	1,49	7,73	0,62	5,65	<0,10	0,47	0,19	0,22	<0,10	23,66
	III	1,34	1,03	0,51	<0,10	2,56	1,63	<0,10	<0,10	1,42	6,61	0,52	5,01	<0,10	0,64	0,29	0,36	<0,10	21,92
	<b>media</b>																		

La sommatoria dei PCB, mostrata in Figura 8.2.3.2.1, è compresa tra i 15,04 ng/g p.s. rilevati nella stazione TE039A e i 23,13 ng/g p.s. della stazione di controllo TE041M.



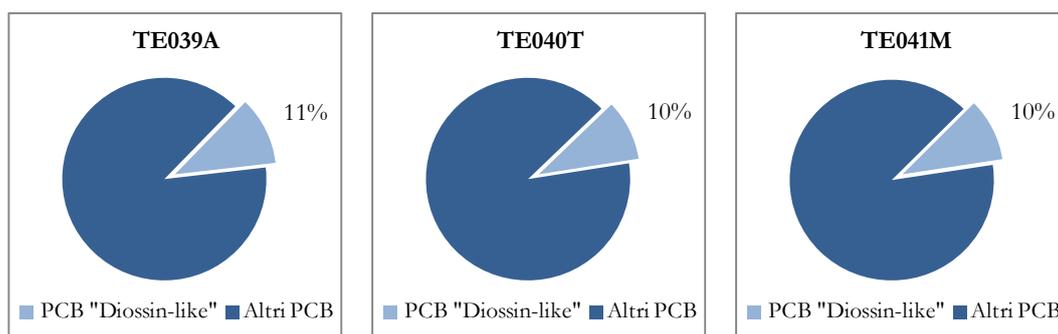
**Figura 8.2.3.2.1:** Bioaccumulo dei **PCBs** nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – **I** campagna Settembre 2011.

Analizzando i singoli PCB, rappresentati nella figura sottostante (Figura 8.2.3.2.2), si evidenzia la presenza dei congeneri 31, 28, 52, 101, 110, 128, 180 e, in particolare, del 138 e 153; per quanto riguarda i congeneri “diossina simili” (81, 77, 118, 105, 126, 156 e 169) sono stati rilevati, in tracce, i PCB 105, 118, 156 in tutte le stazioni mentre nella stazione TE039A è stato rilevato anche il PCB 126 con valori di poco superiori al limite di quantificazione.



**Figura 8.2.3.2.2:** Bioaccumulo dei diversi **congeneri** nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – **I** campagna Settembre 2011.

Confrontando la percentuale relativa ai congeneri “diossina simili” rispetto agli altri PCB (Figura 8.2.3.2.3) si nota come questa sia molto simile tra i diversi campioni variando tra il 10 e l’11%.



**Figura 8.2.3.2.3:** Percentuale dei congeneri “diossina simili” rilevati nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

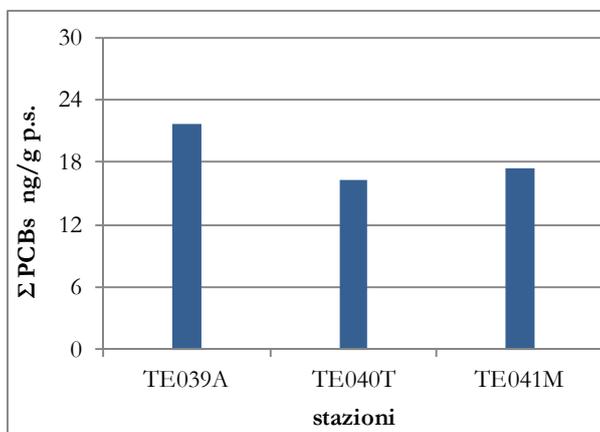
### II Campagna (Ottobre 2011)

I risultati dei policlorobifenili determinati nei mitili, durante la II campagna di esercizio del Terminale sono mostrati in tabella 8.2.3.2.2.

**Tabella 8.2.3.2.2: Concentrazione dei policlorobifenili (PCB) – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.**

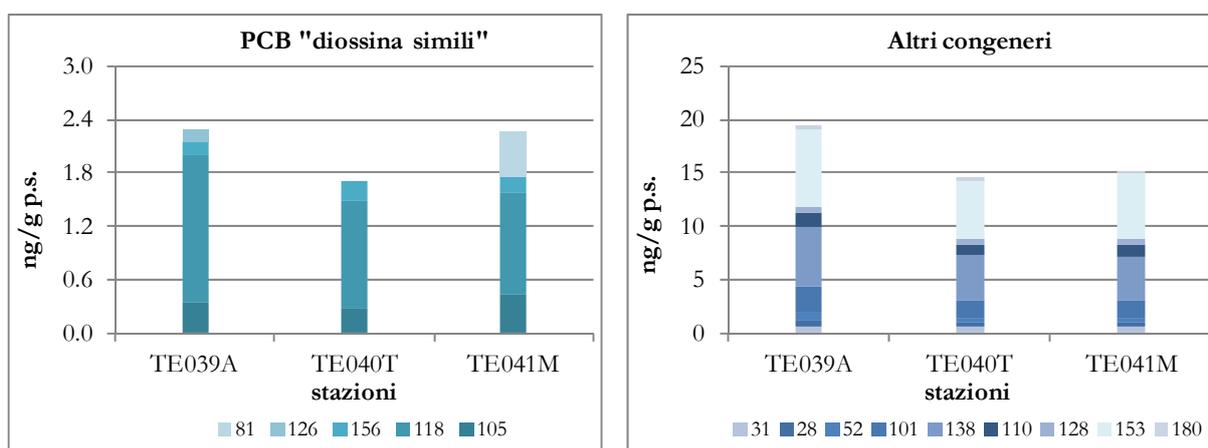
Stazioni	Repl.	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	Σ
		31	28	52	35	101	110	81	77	118	153	105	138	126	128	156	180	169	PCBs
		<i>ng/g</i>																	
TE039A	I	0,75	0,61	0,51	<0,10	2,70	1,45	<0,10	<0,10	1,85	7,62	0,41	5,96	<0,10	0,53	0,25	0,23	<0,10	22,87
	II	0,59	0,56	1,11	<0,10	2,40	1,41	<0,10	<0,10	1,53	6,68	0,28	4,92	0,13	0,48	0,13	0,37	<0,10	20,58
	III	0,56	0,59	0,61	<0,10	2,34	1,37	<0,10	<0,10	1,54	7,46	0,38	5,51	<0,10	0,54	0,13	0,42	<0,10	21,45
	media																		
TE040T	I	0,57	0,33	0,73	<0,10	1,92	0,87	<0,10	<0,10	1,18	6,14	0,35	4,21	<0,10	0,48	0,25	0,29	<0,10	17,35
	II	0,60	0,31	0,39	<0,10	1,29	0,96	<0,10	<0,10	1,18	5,19	0,29	4,05	<0,10	0,40	0,17	0,34	<0,10	15,15
	III	0,59	0,39	0,42	<0,10	1,85	0,94	<0,10	<0,10	1,26	5,07	0,19	4,48	<0,10	0,53	0,29	0,25	<0,10	16,27
	media																		
TE041M	I	0,57	0,38	0,21	<0,10	1,44	1,30	0,45	<0,10	0,86	5,52	0,46	3,79	<0,10	0,64	0,13	0,34	<0,10	16,08
	II	0,64	0,56	0,30	<0,10	1,69	0,86	0,61	<0,10	1,10	6,11	0,41	4,09	<0,10	0,51	0,23	0,30	<0,10	17,46
	III	0,49	0,41	0,43	<0,10	2,07	1,20	0,46	<0,10	1,45	6,45	0,43	4,51	<0,10	0,51	0,19	0,33	<0,10	19,03
	media																		

La sommatoria dei PCBs, mostrata in Figura 8.2.3.2.4, è compresa tra i 16,26 ng/g p.s. della stazione TE040T e i 21,63 ng/g p.s. della stazione TE039A.



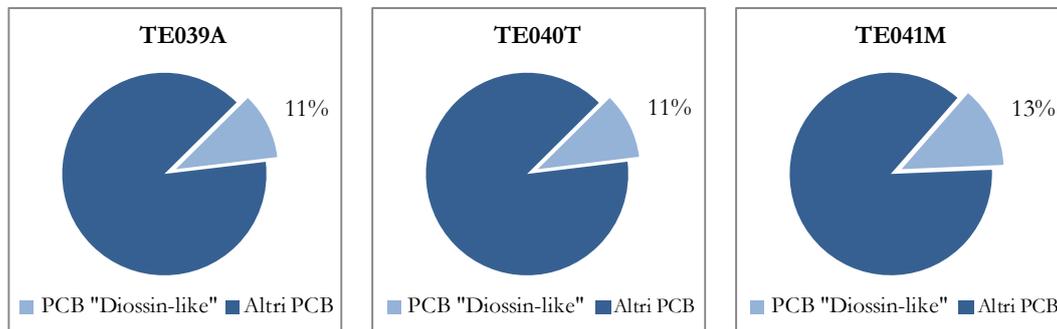
**Figura 8.2.3.2.4:** Bioaccumulo dei PCBs nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

Analizzando i singoli congeneri (Figura 8.2.3.2.5) si conferma la presenza dei PCB 31, 28, 52, 101, 110, 128, 153, 138 e 180 mentre, dei congeneri “diossina simili” oltre ai PCB 105, 118, 156 e 126 rilevati nella prima campagna si riscontra anche il bioaccumulo del congenere 81 nella sola stazione di controllo TE041M; sono sempre inferiori al LOQ i PCB 77 e 169.



**Figura 8.2.3.2.5:** Bioaccumulo dei diversi congeneri nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

Come nei campioni trapiantati nella prima campagna, si nota che la concentrazione dei congeneri “diossina simili”, espressa in percentuale (Figura 8.2.3.2.6), è simile nei tre pool di mitili ma è leggermente più alta nella stazione TE041M dove è stato rilevato anche il PCB 81.



**Figura 8.2.3.2.6:** Percentuale dei congeneri “diossina simili” rilevati nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

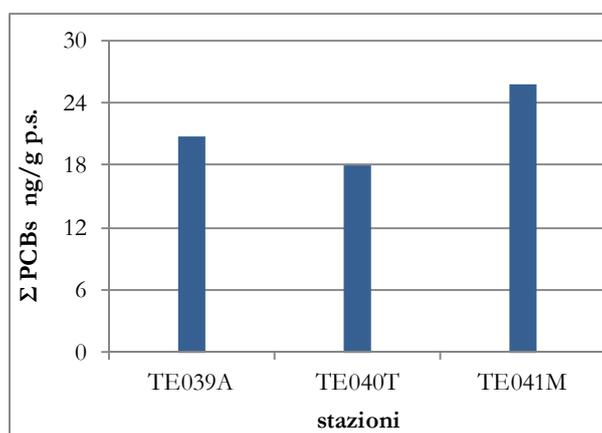
### III Campagna (Novembre 2011)

I risultati dei policlorobifenili determinati nei mitili, durante la III campagna di esercizio del Terminale sono mostrati in tabella 8.2.3.2.3.

Tabella 8.2.3.2.3: Concentrazione dei policlorobifenili (PCB) – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

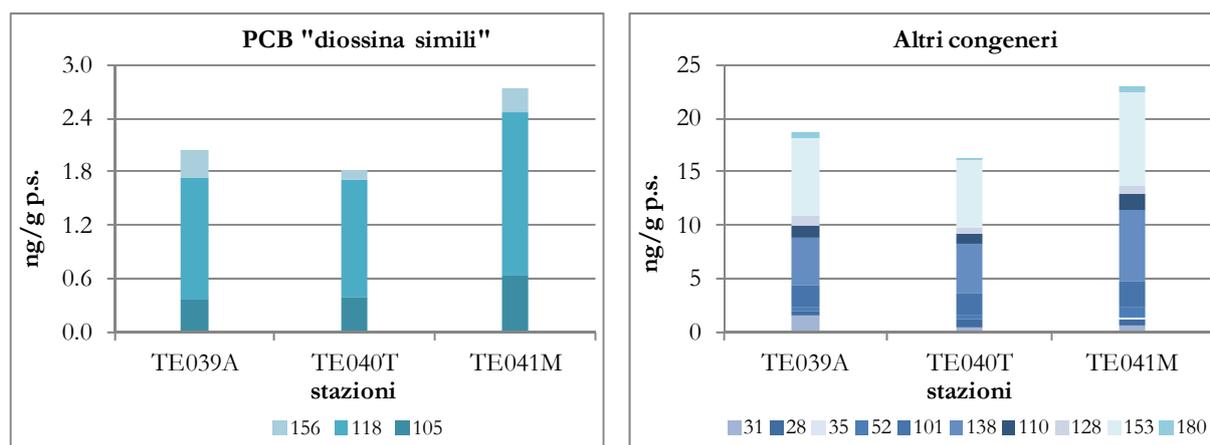
Stazioni	Repl.	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	PCB	Σ
		31	28	52	35	101	110	81	77	118	153	105	138	126	128	156	180	169	PCBs
		<i>ng/g</i>																	
TE039A	I	1,57	0,49	0,31	<0,10	2,06	1,12	<0,10	<0,10	1,34	7,94	0,49	4,71	<0,10	0,79	0,25	0,73	<0,10	21,82
	II	1,33	0,39	0,32	<0,10	2,20	1,29	<0,10	<0,10	1,38	7,60	0,34	4,29	<0,10	0,88	0,35	0,62	<0,10	21,06
	III	1,66	0,40	0,34	<0,10	1,78	0,98	<0,10	<0,10	1,37	6,20	0,29	4,66	<0,10	0,91	0,30	0,68	<0,10	19,56
	media																		
TE040T	I	0,73	0,95	0,42	<0,10	2,23	1,21	<0,10	<0,10	1,38	6,40	0,45	4,67	<0,10	0,48	0,15	0,19	<0,10	19,25
	II	0,37	0,45	0,46	<0,10	1,92	1,10	<0,10	<0,10	1,33	5,79	0,42	4,33	<0,10	0,45	0,10	0,18	<0,10	16,90
	III	0,44	0,46	0,39	<0,10	1,99	0,91	<0,10	<0,10	1,20	6,78	0,33	4,79	<0,10	0,43	0,11	0,15	<0,10	17,98
	media																		
TE041M	I	0,44	0,52	0,80	0,28	2,60	1,56	<0,10	<0,10	1,85	8,34	0,61	6,28	<0,10	0,59	0,31	0,60	<0,10	24,78
	II	0,50	0,65	1,05	0,19	2,48	1,79	<0,10	<0,10	1,92	9,13	0,70	6,79	<0,10	0,71	0,25	0,59	<0,10	26,77
	III	0,71	0,74	0,80	0,23	2,04	1,53	<0,10	<0,10	1,76	9,13	0,57	6,98	<0,10	0,62	0,26	0,47	<0,10	25,85
	media																		

La sommatoria dei PCBs analizzati nei tre pool di mitili è rappresentata in Figura 8.2.3.2.7. In particolare i valori di concentrazione sono compresi tra 18,04 ng/g p.s. della stazione TE040T e i 25,85 ng/g p.s. della stazione di controllo TE041M.



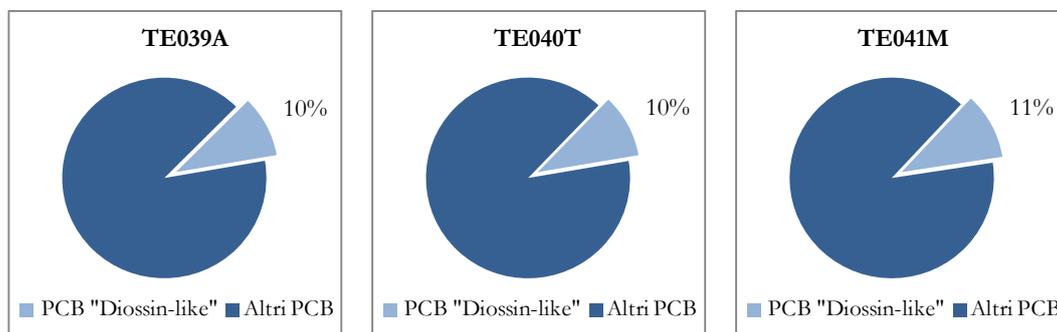
**Figura 8.2.3.2.7:** Bioaccumulo dei PCBs nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

Analizzando i singoli PCB, mostrati nella Figura 8.2.3.2.8, si nota la presenza in tutti i campioni dei congeneri 31, 28, 52, 101, 110, 153, 138, 128, 180 e del 35 nella sola stazione TE041M. Per quanto riguarda i congeneri “diossina simili” sono stati quantificati il 118, 105 e il 156 in tutte e tre le stazioni mentre sono sempre inferiori al LOQ i PCB 77, 81, 126 e 169.



**Figura 8.2.3.2.8:** Bioaccumulo dei diversi congeneri nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

Confrontando la percentuale relativa ai congeneri “diossina simili” rispetto agli altri PCBs (Figura 8.2.3.2.9) anche nella terza campagna si nota una variazione minima tra il 10 e l’11% tra i vari pool.



**Figura 8.2.3.2.9:** Percentuale dei congeneri “diossina simili” rilevati nei pool dei mitili trapiantati– fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

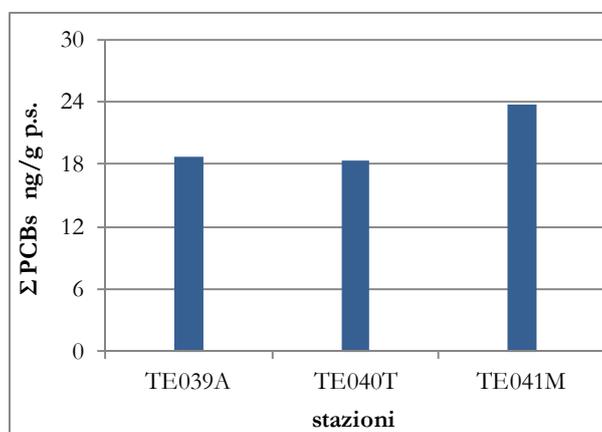
#### IV Campagna (Dicembre 2011)

I risultati dei policlorobifenili determinati nei mitili, durante la IV campagna di esercizio del Terminale sono mostrati in tabella 8.2.3.2.4.

**Tabella 8.2.3.2.4: Concentrazione dei policlorobifenili (PCB) – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.**

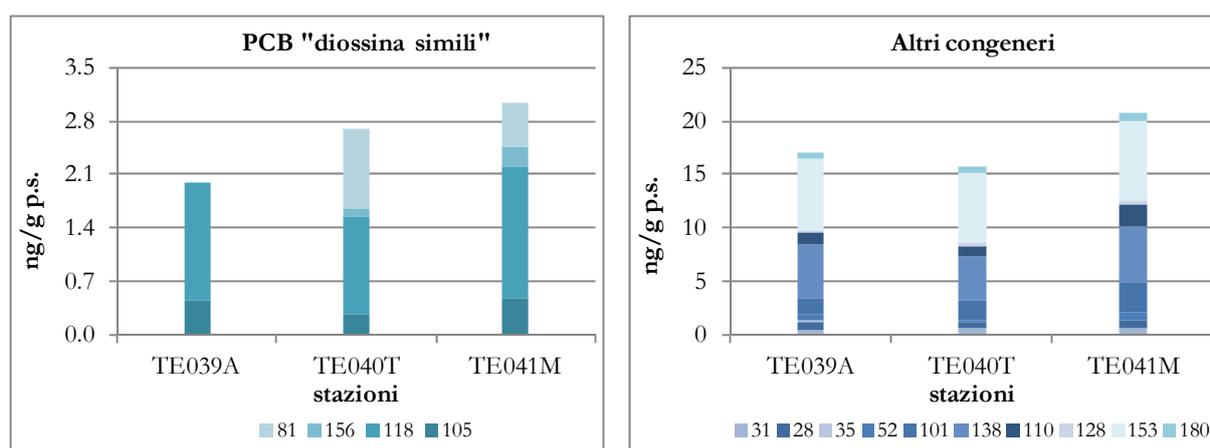
Stazioni	Repl.	PCB 31	PCB 28	PCB 52	PCB 35	PCB 101	PCB 110	PCB 81	PCB 77	PCB 118	PCB 153	PCB 105	PCB 138	PCB 126	PCB 128	PCB 156	PCB 180	PCB 169	Σ PCBs
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
TE039A	I	0,45	0,65	0,46	<0,10	1,55	1,10	<0,10	<0,10	1,50	6,86	0,50	4,68	<0,10	0,30	<0,10	0,66	<0,10	18,77
	II	0,45	0,74	0,59	<0,10	1,74	1,19	<0,10	<0,10	1,82	7,53	0,51	5,68	<0,10	0,28	<0,10	0,44	<0,10	21,20
	III	0,63	0,65	0,52	0,15	1,65	1,03	<0,10	<0,10	1,25	5,75	0,37	4,48	<0,10	0,17	<0,10	0,48	<0,10	16,09
	<b>media</b>																		
TE040T	I	0,62	0,69	0,29	<0,10	1,74	1,03	1,09	<0,10	1,22	7,13	0,26	4,06	<0,10	0,35	0,11	0,44	<0,10	19,02
	II	0,57	0,80	0,20	<0,10	1,75	0,88	0,95	<0,10	1,39	6,42	0,22	4,47	<0,10	0,35	<0,10	0,31	<0,10	18,35
	III	0,47	0,44	0,23	<0,10	1,67	0,85	1,05	<0,10	1,26	6,39	0,31	4,13	<0,10	0,25	0,10	0,47	<0,10	17,63
	<b>media</b>																		
TE041M	I	0,67	0,79	0,80	<0,10	2,54	1,92	0,63	<0,10	1,58	6,99	0,48	4,84	<0,10	0,46	0,25	0,85	<0,10	22,80
	II	0,56	0,79	0,89	<0,10	2,80	1,96	0,56	<0,10	1,83	7,33	0,43	5,66	<0,10	0,52	0,21	0,95	<0,10	24,48
	III	0,48	0,75	0,69	<0,10	2,95	1,83	0,54	<0,10	1,78	7,60	0,53	5,41	<0,10	0,53	0,26	0,90	<0,10	24,25
	<b>media</b>																		

La sommatoria dei PCB, mostrata in Figura 8.2.3.2.10, è compresa tra i 18,33 ng/g p.s rilevati nella stazione TE040T e i 23,85 ng/g p.s. della stazione di controllo TE041M.



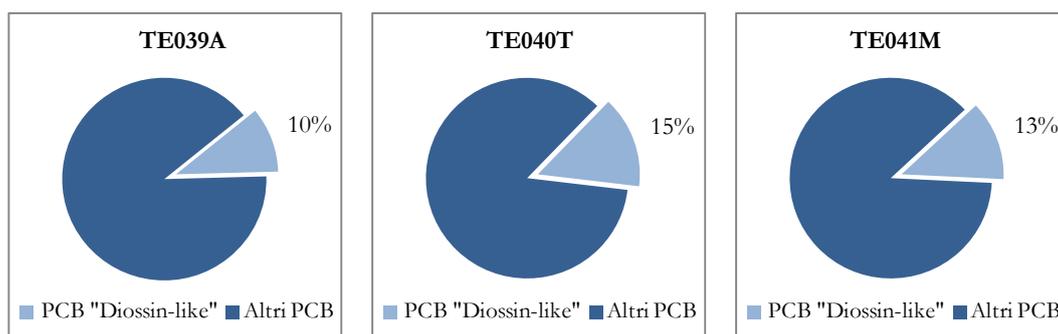
**Figura 8.2.3.2.10:** Bioaccumulo dei **PCBs** nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – **IV** campagna Dicembre 2011.

Analizzando i singoli congeneri, rappresentati in Figura 8.2.3.2.11, si rileva la presenza nei tre campioni dei PCB 31, 28, 52, 101, 110, 153, 138, 128, 180 e, nel campione TE039A, anche del PCB 35. Dei congeneri “diossina simili” si evidenzia il bioaccumulo dei PCB 105, 118, 156 ed in particolare dell’81 nelle stazioni TE040T e TE041M; sono inferiori al LOQ i congeneri 77, 126 e 169.



**Figura 8.2.3.2.11:** Bioaccumulo dei diversi **congeneri** nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – **IV** campagna Dicembre 2011.

Nei campioni trapiantati nella quarta campagna di esercizio, si nota che la concentrazione dei congeneri “diossina simili”, espressa in percentuale, varia dal 10 al 15% ed è più alta nei mitili dove è stato rilevato il PCB 81 (Figura 8.2.3.2.12).

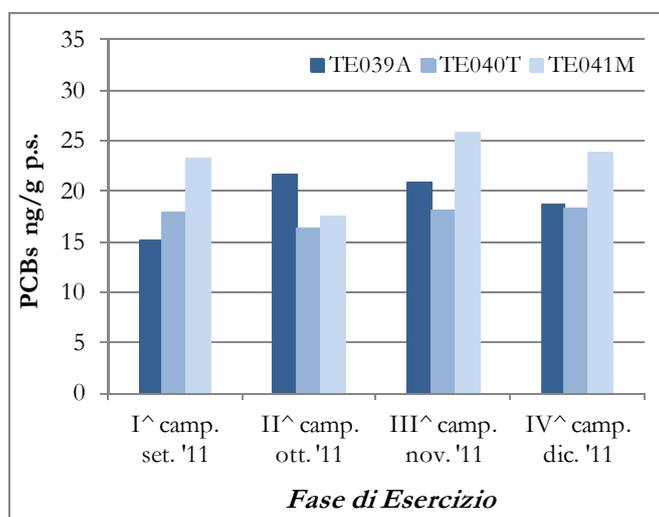


**Figura 8.2.3.2.12:** Percentuale dei congeneri “diossina simili” rilevati nei pool dei mitili trapiantati – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.

**Confronto tra le quattro campagne del I anno di monitoraggio – esercizio provvisorio**

Per la valutazione del bioaccumulo di PCB su bivalvi filtratori durante la fase di esercizio del Terminale, sono stati messi a confronto i risultati ottenuti dall’analisi di pool di organismi, appartenenti alla specie *Mytilus galloprovincialis*, trapiantati sia nelle stazioni interessate dalla struttura, TE039A e TE040T, sia nella stazione di controllo TE041M, nelle diverse campagne di esercizio.

I valori medi della sommatoria dei PCBs determinati nei pool mitili trapiantati, sono riportati in Figura 8.2.3.2.13.



**Figura 8.2.3.2.13:** Bioaccumulo di PCBs nei campioni trapiantati di *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio.

Dalla figura si nota come i valori dei PCBs determinati nelle quattro campagne di esercizio siano piuttosto omogenei tra loro variando tra i 15,04 e i 21,63 ng/g p.s. della stazione TE039A, tra i 16,26 e i 18,33 ng/g p.s. della stazione TE040T e tra i 17,52 e i 25,80 ng/g p.s. della stazione TE041M; in tre delle quattro campagne di esercizio (I<sup>a</sup>, III<sup>a</sup> e IV<sup>a</sup>) i valori riscontrati nella stazione di controllo TE041M sono leggermente più alti di quelli riscontrati nelle stazioni interessate dall’attività del Terminale mentre, nella seconda campagna, il valore più alto è stato rilevato nella stazione TE039A.

## **8.2.4 Composti Organostannici**

### **8.2.4.1 Materiali e metodi**

Il periodo di esposizione degli organismi, scelto in funzione del raggiungimento delle condizioni di equilibrio, è stato di circa 4 settimane. Al termine di tale periodo gli organismi sono stati recuperati, immediatamente dissezionati e suddivisi in pool, ciascuno costituito dall'insieme delle parti molli di almeno 6-10 individui. I campioni per la determinazione dei composti organostannici, ottenuti dall'unione delle parti molli di più individui, sono stati omogeneizzati con Ultraturrax (IKA), liofilizzati e quindi conservati ad una temperatura di -20° C fino al momento dell'analisi.

La determinazione dei composti organostannici (TBT – tributilstagno, DBT – dibutilstagno e MBT – monobutilstagno) nei campioni di bivalvi è stata effettuata basandosi sulle metodiche adottate da Binato *et al.* (1998) e Morabito *et al.* (1995, 2001).

La procedura analitica consiste in una serie di fasi sequenziali: estrazione, derivatizzazione, purificazione e infine determinazione analitica mediante analisi gascromatografica accoppiata a un rivelatore a spettrometria di massa a trappola ionica (GC-MS/MS).

Al campione liofilizzato e omogeneizzato è stato aggiunto come standard interno TTBT (tetrabutilstagno).

Il campione è stato estratto in bagno a ultrasuoni con una soluzione di tropolone 0,05% p/v in metanolo, previa acidificazione. Il surnatante è stato separato mediante centrifugazione e quindi sottoposto a estrazione con diclorometano, previa aggiunta di una soluzione di NaCl 10% p/v in acqua Milli-Q. L'estratto è stato concentrato e quindi ripreso in *n*-esano. L'estratto è stato derivatizzato con reattivo di Grignard (cloruro di metilmagnesio). Dopo eliminazione del reattivo in eccesso, la fase organica è stata concentrata e purificata su colonnine riempite di florisil. L'eluato (*n*-esano) è stato concentrato a volume noto e iniettato al GC-MS/MS. Tutti i solventi usati sono di grado per analisi di pesticidi residui.

La determinazione analitica è stata effettuata mediante gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa (GC-MS/MS):

- ✓ gascromatografo: modello TRACE GC (ThermoQuest);
- ✓ rivelatore: spettrometro di massa a trappola ionica modello PolarisQ (ThermoFinnigan).

Per la quantificazione sono state utilizzate curve di calibrazione preparate con soluzioni standard di TBT, di DBT e di MBT, con TTBT come standard interno. L'accuratezza della metodica è stata valutata da analisi ripetute di materiale certificato di riferimento (ERM CE 477).

Ai fini del controllo di qualità del dato analitico sono state effettuate regolarmente analisi di bianchi di procedura e di materiale di riferimento per ogni serie di campioni analizzati.

Per ciascun composto, i dati di concentrazione riportati sono espressi sia come catione per grammo di peso secco (rispettivamente  $(C_4H_9)_3Sn^+$  per il TBT,  $(C_4H_9)_2Sn^{2+}$  per il DBT e  $(C_4H_9)Sn^{3+}$  per l'MBT), sia come stagno (Sn) per grammo di peso secco. Per ogni campione, ottenuto dall'unione di tutte le parti molli di più individui, omogeneizzate e liofilizzate, sono state analizzate tre repliche.

Il limite di quantificazione della metodica è 4 ng TBT g<sup>-1</sup> s.s. pari a 2 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., 8 ng DBT g<sup>-1</sup> s.s. pari a 4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., 6 ng MBT g<sup>-1</sup> s.s. pari a 4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.

Nei campioni dove almeno una delle repliche ha rivelato valore inferiore al limite di quantificazione della metodica, per calcolare la media e la deviazione standard è stato usato il valore pari a metà del limite di quantificazione.

#### 8.2.4.2 Risultati

##### I Campagna (Settembre 2011)

I valori di concentrazione di TBT, di DBT e di MBT determinati nei campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) prelevati nel corso della campagna di campionamento di Settembre 2011 sono elencati nella tabella 8.2.4.2.1.

**Tabella 8.2.4.2.1:** Concentrazioni di **TBT**, di **DBT** e di **MBT** nei *Mytilus galloprovincialis*. Valori espressi come concentrazioni sul peso secco (s.s.) – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

Stazione	Specie	Replica	TBT		DBT		MBT	
			ng TBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng DBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng MBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.
TE039A	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	13	5	<8	<4	<6	<4
		II	11	4	<8	<4	<6	<4
		III	13	5	<8	<4	<6	<4
		Media	12	5	<8	<4	<6	<4
		dev. std.	1	1	-	-	-	-
TE040T	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	10	4	<8	<4	<6	<4
		II	9	4	<8	<4	<6	<4
		III	11	5	<8	<4	<6	<4
		Media	10	4	<8	<4	<6	<4
		dev. std.	1	1	-	-	-	-
TE041M	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	9	4	<8	<4	<6	<4
		II	10	4	<8	<4	<6	<4
		III	9	4	<8	<4	<6	<4
		Media	9	4	<8	<4	<6	<4
		dev. std.	1	0	-	-	-	-

In tutte le stazioni indagate TBT risulta l'unico composto rilevato nei campioni di mitili durante la campagna di settembre 2011 con un intervallo di valori compreso tra 9 e 13 ng TBT g<sup>-1</sup> s.s. (4-5 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.), mentre DBT e MBT hanno sempre presentato concentrazioni inferiori ai limiti di quantificazione della metodica analitica, rispettivamente <8 ng DBT g<sup>-1</sup> s.s., pari a <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; <6 ng MBT g<sup>-1</sup> s.s. pari a <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s..

Le concentrazioni di composti organostannici (TBT, DBT e MBT) determinate nelle due stazioni poste a diverse distanze dal Terminale (TE039 e TE040) e nella stazione di controllo (TE 041), sono risultate molto simili tra loro.

L'unico composto rilevato in questa prima campagna risulta il TBT in tutte e le stazioni indagate; la sua predominanza rispetto a DBT ed MBT nei campioni di *M. galloprovincialis* è in linea con quanto riportato in letteratura scientifica (Bortoli *et al.*, 2003; Chandrinou *et al.*, 2007). Le concentrazioni rilevate per TBT nei mitili durante la fase di esercizio nell'area del Terminale a settembre 2011 sono risultate più basse di quanto riportano da alcuni autori nell'alto Adriatico (tra 118-3456 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.), in aree marine costiere (Nemanic *et al.*, 2002; Boscolo *et al.*, 2004) e nella laguna di Venezia (16-3290 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s. di TBT; Binato *et al.*, 1998; Gallina *et al.*, 2000; Bortoli *et al.*, 2003; Boscolo *et al.*, 2004).

Tuttavia considerando le basse concentrazioni di composti butilstannici determinate sia nei mitili trapiantati nella stazione di controllo che nelle due stazioni più vicine all'area del Terminale si può ragionevolmente supporre che l'area del Terminale durante la I campagna nella fase di esercizio di settembre 2011 presenti un basso o del tutto assente livello di contaminazione da composti organostannici.

### **II Campagna (Ottobre 2011)**

I valori di concentrazione di TBT, di DBT e di MBT determinati nei campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) prelevati nel corso della campagna di campionamento di Ottobre 2011 sono riportati nella tabella 8.2.4.2.2.

Il TBT è stato rilevato in tutti i campioni analizzati di *Mytilus galloprovincialis* ed è sempre risultato il composto butilstannico più abbondante. Il TBT è stato determinato anche in tutte le repliche del campione di controllo TE041M seppur con bassi valori di concentrazione. Sia il DBT che il MBT sono risultati inferiori o poco superiori al limite di quantificazione della metodica analitica (per il DBT: <8 ng DBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., per il MBT: <6 ng MBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.). Le possibili differenze di concentrazione nelle diverse repliche dello stesso campione potrebbero derivare dal fatto che ogni singola replica è costituita da un pool di individui diversi.

**Tabella 8.2.4.2.2:** Concentrazioni di **TBT**, di **DBT** e di **MBT** nei *Mytilus galloprovincialis*. Valori espressi come concentrazioni sul peso secco (s.s.) – fase di esercizio – **II campagna Ottobre 2011**.

Stazione	Specie	Replica	TBT		DBT		MBT	
			ng TBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng DBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng MBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.
TE039A	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	9	4	<8	<4	<6	<4
		II	12	5	<8	<4	<6	<4
		III	12	5	<8	<4	<6	<4
		media	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>&lt;8</b>	<b>&lt;4</b>	<b>&lt;6</b>	<b>&lt;4</b>
		dev. std.	2	1	-	-	-	-
TE040T	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	12	5	<8	<4	<6	<4
		II	10	4	13	7	8	6
		III	9	4	<8	<4	<6	<4
		media	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3</b>
		dev. std.	1	1	5	3	3	2
TE041M	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	8	3	<8	<4	7	5
		II	10	4	<8	<4	<6	<4
		III	9	4	<8	<4	<6	<4
		media	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>&lt;8</b>	<b>&lt;4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
		dev. std.	1	0	-	-	2	1

Le concentrazioni di composti organostannici sono risultate molto simili in tutti e tre i siti, sia nelle due stazioni in vicinanza del Terminale (TE039A e TE040T), sia nell'area di controllo (TE041M) indicando quindi un ridotto o assente bioaccumulo da composti organostannici nei mitili posizionati nell'area del Terminale durante il periodo di esposizione.

Le concentrazioni di TBT, comprese tra 3 e 5 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., nei mitili nella II campagna di esercizio presso l'area del Terminale ad ottobre 2011 risultano basse anche se confrontate con valori di TBT riportati in bibliografia su campioni di mitili sia campionati in aree marine costiere adriatiche (TBT compreso tra <6 e 3456 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s. (Nemanic *et al.*, 2002; Boscolo *et al.*, 2004, Furdek *et al.*, 2012) che in ambienti lagunari, come la Laguna di Venezia (TBT compreso tra 16 e 3290 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; Binato *et al.*, 1998; Gallina *et al.*, 2000; Bortoli *et al.*, 2003; Boscolo *et al.*, 2004; ARPAV, 2004).

La predominanza del TBT nei campioni di *Mytilus galloprovincialis* prelevati nell'area del terminale rispetto a DBT e MBT potrebbe essere attribuita, come riportato da diversi riferimenti bibliografici, ad una scarsa capacità di degradazione da parte dei molluschi (Bortoli *et al.*, 2003; Chandrinou *et al.*, 2007) anche se non si può escludere a priori una recente seppur ridotta immissione di TBT nell'area.

Tuttavia considerando le basse concentrazioni di composti butilstannici determinate nei mitili trapiantati nella stazione di controllo che nelle due stazioni più vicine all'area del Terminale si può ragionevolmente supporre che l'area del Terminale durante la II campagna nella fase di esercizio di

ottobre 2011 presenti un basso o del tutto assente livello di contaminazione da composti organostannici., come già osservato per la I campagna.

### III Campagna (Novembre 2011)

I valori di concentrazione di TBT, di DBT e di MBT determinati nei campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) prelevati nel corso della campagna di campionamento di Novembre 2011 sono riportati nella tabella 8.2.4.2.3.

**Tabella 8.2.4.2.3:** Concentrazioni di TBT, di DBT e di MBT nei *Mytilus galloprovincialis*. Valori espressi come concentrazioni sul peso secco (s.s.) – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

Stazione	Specie	Replica	TBT		DBT		MBT	
			ng TBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng DBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng MBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.
TE039A	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	13	5	<8	<4	<6	<4
		II	19	8	<8	<4	<6	<4
		III	15	6	<8	<4	<6	<4
		media	16	6	<8	<4	<6	<4
		dev. std.	3	1	-	-	-	-
TE040T	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	12	5	<8	<4	<6	<4
		II	12	5	<8	<4	<6	<4
		III	13	5	<8	<4	<6	<4
		media	12	5	<8	<4	<6	<4
		dev. std.	1	0	-	-	-	-
TE041M	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	16	7	19	10	11	8
		II	15	6	<8	<4	<6	<4
		III	14	6	<8	<4	<6	<4
		media	15	6	9	5	6	4
		dev. std.	1	1	9	4	5	3

Durante la III campagna di esercizio il TBT è stato determinato in tutti i campioni analizzati di *Mytilus galloprovincialis* ed è sempre risultato il composto butilstannico più abbondante. Il TBT è stato rilevato con bassi valori di concentrazione anche in tutte le repliche del campione di mitili nella stazione di controllo. Sia DBT che MBT sono risultati inferiori al limite di quantificazione della metodica in tutte le stazioni del Terminale (per il DBT: <8 ng DBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., per il MBT: <6 ng MBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.), mentre nella stazione di controllo TE041T la prima replica ha dimostrato una bassa contaminazione. Le differenze di concentrazione nelle diverse repliche dello stesso campione potrebbero derivare dal fatto che ogni singola replica è costituita da pool di individui diversi.

Come nelle campagne precedenti, le concentrazioni di composti organostannici rilevate nei mitili nella campagna di novembre 2011 sono risultate molto simili tra tutti i tre siti, sia nelle due stazioni più vicine al Terminale (TE039A e TE040T), sia nella stazione di controllo (TE041T) indicando un ridotto o quasi del tutto assente bioaccumulo da composti organostannici nei mitili posizionati nell'area del Terminale durante il periodo di esposizione.

Rispetto alle campagne di settembre e ottobre, il TBT durante la campagna di novembre presenta valori, anche se di poco, più elevati (concentrazioni comprese tra 5 e 8 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.). Le concentrazioni di TBT osservate nelle tre campagne (settembre, ottobre, novembre) risultano basse anche se confrontate con valori di TBT riportati in bibliografia su campioni di mitili sia campionati in aree marino costiere adriatiche (TBT compreso tra <6 e 3456 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; Nemanic *et al.*, 2002; Boscolo *et al.*, 2004, Furdek *et al.*, 2012) che in ambienti lagunari, come la Laguna di Venezia (TBT compreso tra 16 e 3290 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; Binato *et al.*, 1998; Gallina *et al.*, 2000; Bortoli *et al.*, 2003; Boscolo *et al.*, 2004; ARPAV, 2004).

La predominanza del TBT nei campioni di *Mytilus galloprovincialis* prelevati nell'area del terminale rispetto a DBT e MBT potrebbe essere attribuita, come riportato da diversi riferimenti bibliografici, ad una scarsa capacità di degradazione da parte dei molluschi (Bortoli *et al.*, 2003; Chandrinou *et al.*, 2007) anche se non si può escludere a priori una recente immissione, seppur bassa, di TBT nell'area.

Tuttavia come già osservato nella I e II campagna, anche nella campagna di novembre 2011, in considerazione delle basse concentrazioni di composti butilstannici determinate nei mitili trapiantati sia nelle due stazioni più vicine all'area del Terminale che in quella di controllo, si può supporre un basso livello di contaminazione da composti organostannici nell'area del Terminale.

#### **IV Campagna (Dicembre 2011)**

I valori di concentrazione di TBT, di DBT e di MBT determinati nei campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) prelevati nel corso della campagna di campionamento di Dicembre 2011 sono riportati nella tabella 8.2.4.2.4.

Durante la campagna di dicembre 2011 il TBT, rilevato seppur in basse concentrazioni in tutti i campioni analizzati di *Mytilus galloprovincialis*, è sempre risultato il composto butilstannico più abbondante mentre DBT ed MBT sono risultati inferiori al limite di quantificazione nelle stazioni del Terminale (per il DBT: <8 ng DBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s., per il MBT: <6 ng MBT g<sup>-1</sup> s.s., <4 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.), mentre nella stazione di controllo due delle tre repliche hanno dimostrato una bassa contaminazione da DBT. Le differenze di concentrazione nelle diverse repliche dello stesso campione potrebbero derivare dal fatto che ogni singola replica è costituita da pool di individui diversi.

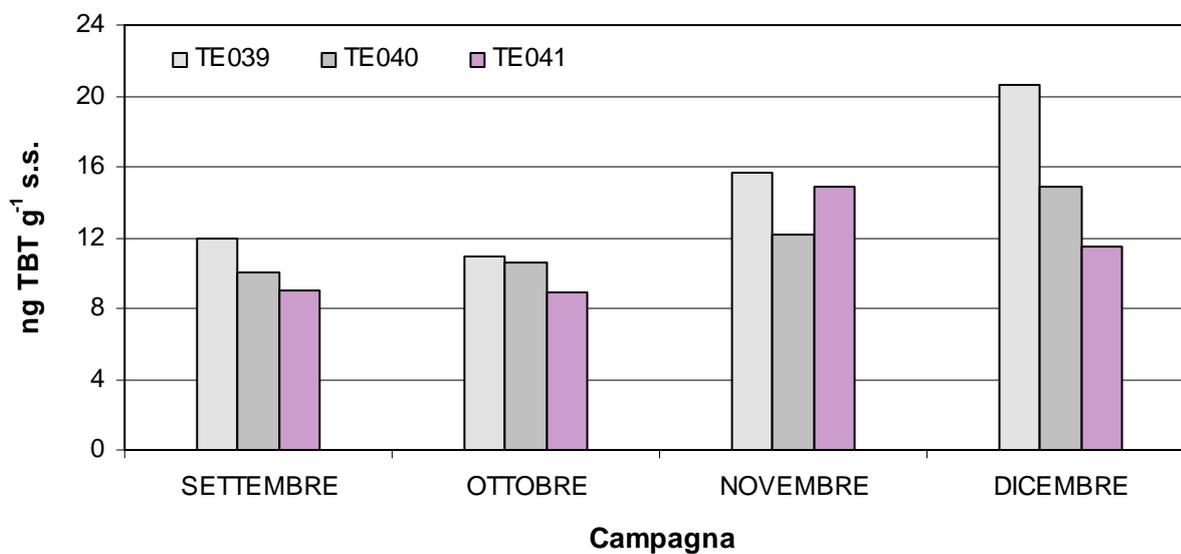
**Tabella 8.2.4.2.4:** Concentrazioni di **TBT**, di **DBT** e di **MBT** nei *Mytilus galloprovincialis*. Valori espressi come concentrazioni sul peso secco (s.s.) – fase di esercizio – **IV campagna Dicembre 2011**.

Stazione	Specie	Replica	TBT		DBT		MBT	
			ng TBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng DBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.	ng MBT g <sup>-1</sup> s.s.	ng Sn g <sup>-1</sup> s.s.
TE039A	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	24	10	<8	<4	<6	<4
		II	20	8	<8	<4	<6	<4
		III	18	7	<8	<4	<6	<4
		media	<b>21</b>	<b>8</b>	<b>&lt;8</b>	<b>&lt;4</b>	<b>&lt;6</b>	<b>&lt;4</b>
		dev.std.	3	1	-	-	-	-
TE040T	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	16	7	<8	<4	<6	<4
		II	18	7	<8	<4	<6	<4
		III	11	4	<8	<4	<6	<4
		media	<b>15</b>	<b>6</b>	<b>&lt;8</b>	<b>&lt;4</b>	<b>&lt;6</b>	<b>&lt;4</b>
		dev.std.	4	2	-	-	-	-
TE041M	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	I	13	5	10	5	<6	<4
		II	11	4	8	4	<6	<4
		III	11	4	<8	<4	<6	<4
		media	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>&lt;6</b>	<b>&lt;4</b>
		dev.std.	1	1	3	1	-	-

Durante la IV campagna di campionamento, le concentrazioni di composti organostannici determinate nei mitili nelle due stazioni più vicine all'area del Terminale (TE039A e TE040T), erano leggermente più elevate rispetto alla stazione di controllo (TE041M). Si osserva un possibile e basso accumulo di TBT nei mitili durante l'intervallo di esposizione nella stazione di allevamento VISMA (TE039A). La predominanza del TBT nei campioni di *Mytilus galloprovincialis* prelevati nell'area del terminale rispetto a DBT e MBT potrebbe essere attribuita, come riportato da diversi riferimenti bibliografici, ad una scarsa capacità di degradazione da parte dei molluschi (Bortoli *et al.*, 2003; Chandrinou *et al.*, 2007) anche se non si può escludere a priori un recente immissione di TBT nell'area.

#### **Confronto tra le quattro campagne del I anno di monitoraggio – esercizio provvisorio**

Rispetto alle tre campagne precedenti, a dicembre 2011 le concentrazioni di TBT risultano leggermente più elevate (Figura 8.2.4.2.1). Tuttavia tali concentrazioni sono basse (tra 4 e 10 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.) anche se confrontate con valori di TBT riportati in bibliografia su campioni di mitili sia campionati in aree marine costiere adriatiche (TBT compreso tra <6 e 3456 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; Nemanic *et al.*, 2002; Boscolo *et al.*, 2004, Furdek *et al.*, 2012) che in ambienti lagunari, come la Laguna di Venezia (TBT compreso tra 16 e 3290 ng Sn g<sup>-1</sup> s.s.; Binato *et al.*, 1998; Gallina *et al.*, 2000; Bortoli *et al.*, 2003; Boscolo *et al.*, 2004; ARPAV, 2004).



**Figura 8.2.4.2.1:** Concentrazioni di **TBT** (ng TBT g<sup>-1</sup> s.s) in campioni di *Mytilus galloprovincialis* nelle 4 campagne di settembre, ottobre, novembre e dicembre 2011 nelle tre stazioni TE039A, TE040T, TE041M indagate.

Considerando le basse concentrazioni di composti butilstannici, in particolare di TBT, determinate nei mitili trapiantati sia nelle due stazioni più vicine all'area del Terminale che in quella di controllo in tutte le campagne si può supporre che l'area del Terminale presenti un basso livello di contaminazione da composti organostannici.

### ***8.2.5 Sottoprodotti della disinfezione***

I sottoprodotti della disinfezione sono composti organici derivanti dalla reazione del cloro in eccesso, aggiunto all'acqua in qualità di agente disinfettante, con i composti organici naturalmente presenti nell'acqua di mare. Di questa classe di composti fanno parte gli Alometani, gli Aloacetoni-trili, gli acidi Aloacetici e gli Alofenoli, sostanze tossiche ed alcune sospette cancerogene.

Gli Alometani sono composti derivati dal metano (formula  $\text{CH}_4$ ) in cui uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti da uno o più atomi di cloro e/o di bromo. Sono sostanze volatili sospettate anche di provocare danni epatici, ai reni e al sistema nervoso centrale.

Gli acidi Aloacetici sono sostanze a bassa volatilità che si formano preferenzialmente quando il pH dell'acqua è basso. Sono derivati dell'acido acetico ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) in cui uno o più idrogeno metilico è sostituito da uno o più atomi di cloro e/o di bromo.

Gli Aloacetoni-trili sono composti generalmente presenti in concentrazioni inferiori rispetto agli altri sottoprodotti, in quanto subito dopo la formazione tendono a decomporsi per meccanismi di idrolisi. Sono composti in cui l'aceto nitrile (formula chimica  $\text{CH}_3\text{CN}$ ), ha gli idrogeni sostituiti da uno o più atomi di cloro e/o di bromo.

#### **8.2.5.1 Materiali e metodi**

##### **Alometani, Aloacetoni-trili e Composti Organici Volatili (VOC)**

Sono stati analizzati in campioni di mitili i seguenti composti volatili: Cloroformio, Tetracloruro di Carbonio, Tricloroetilene, Tetracloroetilene, Clorodibromometano, Bromodiclorometano, Bromoformio, 1,1,1 Tricloroetano, 1,2 Dibromoetano, Tricloroacetoni-trile, Dicloroacetoni-trile, mediante tecnica dello spazio di testa statico. Tale tecnica permette l'estrazione di composti volatili da campioni liquidi o solidi senza l'utilizzo di solventi.

La tecnica prevede la raccolta del campione in un vial apposito, che viene subito tappato. I composti volatili diffondono nella fase di vapore occupando il volume sovrastante il campione, fino a che viene raggiunto l'equilibrio. Questo processo viene favorito attraverso il riscaldamento e l'agitazione del vial. Raggiunto l'equilibrio, viene prelevato un volume esatto di fase vapore dallo spazio di testa sovrastante il campione, per essere analizzato.

I campioni di mitili sono stati campionati in appositi vials di vetro pre-pesati per auto campionatore per spazio di testa da 20 ml, muniti di tappo a vite e setto in Silicone e Teflon a tenuta.

Sono stati prelevati almeno tre individui di *Mytilus galloprovincialis*, corrispondenti a un peso non inferiore a 5 grammi, rapidamente sminuzzati e introdotti nel vial, che è stato quindi immediatamente sigillato e congelato.

Prima della determinazione, i vials sono stati ripesati ed il contenuto di tessuto analizzato calcolato per differenza.

La procedura descritta è stata ottimizzata impiegando un auto campionatore Gerstel multifunzione MPS2 montato su un gas cromatografo Agilent Technologies 6890N con rivelatore a spettrometria di massa 5973.

Lo strumento e le condizioni gas-cromatografiche utilizzate sono state le seguenti:

Auto campionatore Gerstel: Temperatura di incubazione del campione: 60°C; tempo di incubazione e di agitazione del campione: 15 minuti; T ago della siringa: 60°C; volume di fase vapore campionato ed iniettato in testa alla colonna gas-cromatografica: 1000 µl.

Il gas-cromatografo montava una colonna per analisi di composti volatili DB624, lunghezza 30 m, D.I. 0,25 mm, film thickness 1,4 µm; gas di trasporto Elio a 0,9 ml/min a flusso costante. Iniettore *split/splitless* in modalità *split* alla temperatura di 200°C. Temperatura del forno: isoterma a 40°C per 10 min., quindi rampa di 22°C/min. fino ad arrivare alla temperatura finale di 240°C a cui resta per 1 minuto. Il rivelatore a spettrometria di massa è utilizzato in modalità SIM (selected ion monitoring).

L'identificazione dei composti è stata effettuata mediante confronto dei tempi di ritenzione dei picchi incogniti con quelli degli standard e mediante confronto delle abbondanze relative degli ioni secondari più rappresentativi.

La determinazione quantitativa è stata effettuata per interpolazione da una curva di calibrazione a 5 punti ottenuta da miscele standard a concentrazioni variabili, che hanno subito la stessa procedura dei campioni.

Il metodo analitico utilizzato e i limiti di quantificazione (LOQ) per ciascuna sostanza sono elencati nelle Tabelle 8.2.5.1.1 e 8.2.5.1.2.

**Tabella 8.2.5.1.1:** Metodo analitico e limiti di quantificazione degli **Aloacetoni**trili nel biota.

Parametro	Metodo analitico	Limite di quantificazione (ng/g)
<b>Tricloroacetone</b> nitrile	Metodo interno ISPRA	<0,50
<b>Dicloroacetone</b> nitrile	Metodo interno ISPRA	<0,50

**Tabella 8.2.5.1.2:** Metodo analitico e limiti di quantificazione degli Alometani e VOC nel biota.

Parametro	Metodo analitico	Limite di quantificazione (ng/g)
<b>Cloroformio</b>	Metodo interno ISPRA	0,20
<b>Tetracloruro di carbonio</b>	Metodo interno ISPRA	0,20
<b>Tricloroetilene</b>	Metodo interno ISPRA	0,25
<b>Tetracloroetilene</b>	Metodo interno ISPRA	0,15
<b>Clorodibromometano</b>	Metodo interno ISPRA	0,20
<b>Bromodichlorometano</b>	Metodo interno ISPRA	0,20
<b>Bromoformio</b>	Metodo interno ISPRA	0,50
<b>1,1,1 Tricloroetano</b>	Metodo interno ISPRA	0,20
<b>1,2 Dibromoetano</b>	Metodo interno ISPRA	0,25

### Acidi Aloacetici e Dalapon

Il metodo prevede l'estrazione a caldo degli acidi aloacetici dagli organismi marini in ambiente acido; quindi si esegue una estrazione liquido/liquido con solvente organico, successiva derivatizzazione con metanolo acidificato, neutralizzazione e determinazione quantitativa degli acidi metilati, mediante gascromatografia capillare con rivelatore a cattura di elettroni (ECD).

Il campione di organismo, mantenuto a  $-20^{\circ}\text{C}$  dopo il campionamento, viene scongelato al momento dell'analisi e viene finemente omogeneizzato.

Si pesa circa 1 grammo di campione umido in un vial di vetro da 60 ml, con tappo a vite in Teflon e si fortifica con il surrogato a concentrazione nota; si aggiungono 40 ml di una soluzione di acido solforico a  $\text{pH} \leq 0,5$  e trasferisce il tutto in un bagno agitatore, termostato a  $50^{\circ}\text{C}$ , per circa un'ora.

Lasciar raffreddare e centrifugare. Prelevare la soluzione acida e filtrarla; aggiungere circa 18 g di sodio solfato anidro e agitare bene fino a scioglierlo quasi completamente.

Addizionare 4 ml di MTBE (Metil-ter-butiletere) in cui è presente lo standard interno a concentrazione nota ed agitare vigorosamente per 3 minuti. Lasciare che le fase organica e la fase acquosa si separino per circa 5 minuti. Trasferire 3 ml dell'estratto organico in una provetta conica da 15 ml con tappo a vite in Teflon.

Per la derivatizzazione aggiungere 3 ml di metanolo acidificato al 10% con acido solforico concentrato e chiudere bene il tappo a vite. Porre il campione nel bagno termostato alla temperatura di  $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e lasciare a reagire per 2 ore ( $\pm 10$  minuti). La reazione di metilazione è la fase critica del metodo quindi controllare attentamente sia il tempo che la temperatura di reazione; se necessario utilizzare un termometro per verificare la temperatura del bagno. Rimuovere la provetta dal bagno e lasciarla raffreddare prima di aprirla.

Aggiungere 7 ml di una soluzione di sodio solfato alla concentrazione di 150 g/l. Agitare il campione vigorosamente con l'aiuto di un agitatore meccanico per pochi minuti, quindi lasciar separare le due fasi. Utilizzando una pipetta Pasteur con punta lunga, rimuovere con cura la fase acquosa acida che si trova nella parte inferiore della provetta. Non lasciare più di 0,3 ml di soluzione acquosa e procedere alla neutralizzazione della fase organica.

Aggiungere 1 ml di una soluzione satura di bicarbonato di sodio e agitare vigorosamente per diversi secondi per almeno quattro volte. Svitare il tappo della provetta dopo la prima agitazione per permettere la fuoriuscita della CO<sub>2</sub> prodotta.

Trasferire 1 ml di estratto, contenente gli acidi aloacetici metilati, nel *vial* per autocampionatore GC e conservare a -10°C, o meno, fino al momento dell'analisi che deve essere eseguita il prima possibile e non oltre i 21 giorni dall'estrazione. Si può preparare un duplicato con l'estratto rimante.

La determinazione quali - quantitativa è stata effettuata su un gas cromatografo Agilent Technologies 6890 con rivelatori a cattura di elettroni iniettando su due colonne a diversa polarità per la conferma della sostanza. Il metodo cromatografico utilizzato per l'analisi degli acidi aloacetici metilati è il seguente:

Colonna 1: DB-1701, lunghezza 30 m, d.i. 0.25 mm, film 0.25 µm; colonna 2: DB-5, lunghezza 30 m, d.i. 0.25 mm, film 0.25 µm; gas di trasporto elio flusso di 1,0 ml/min; iniettore *split/splitless* in modalità *splitless*, temperatura di 200°C; rampa di temperatura: isoterma a 35°C per 10 min., rampa fino a 75°C a 5°C/min. per 15 min., rampa fino a 100°C a 5°C/min. per 5 min., a seguire rampa fino a 135°C a 5°C/min. per 2 min; rivelatore micro ECD temperatura 260°C, gas di make-up azoto 30.0 ml/min.

L'identificazione degli acidi aloacetici metilati viene condotta per confronto dei tempi di ritenzione ottenuti iniettando, nelle stesse condizioni, soluzioni standard degli stessi composti su entrambe le colonne. La determinazione quantitativa dei composti identificati e confermati dalla doppia colonna, è effettuata mediante la tecnica dello standard interno iniettando almeno 5 soluzioni standard di calibrazione, a diversa concentrazione, nel range atteso nei campioni da analizzare.

Le soluzioni standard degli acidi aloacetici, così come i bianchi di processo, sono preparate nella soluzione di acido solforico a pH ≤0,5 e subiscono lo stesso procedimento analitico del campione reale per essere sottoposte alla metilazione.

Per il controllo del dato analitico si effettuano bianchi di processo per ogni serie di campioni analizzata giornalmente. Il bianco di processo, deve avere un livello di background accettabile per poter procedere alla quantificazione; nel caso in cui il picco di un interferente cada nella stessa finestra del tempo di ritenzione dei nostri analiti deve essere ricercata ed eliminata la causa della contaminazione prima di ripetere l'analisi. L'aggiunta del surrogato nel campione, prima dell'analisi, serve a valutare le prestazioni

dell'intero metodo dall'estrazione alla determinazione gas cromatografica. Se il recupero del surrogato è inferiore al 70% o superiore al 130% si deve correggere il problema e ripetere l'analisi del campione. Inoltre sono stati inseriti nella sequenza di analisi standard di controllo, ad intervalli regolari, per la verifica continua delle prestazioni strumentali.

Il metodo analitico utilizzato e i limiti di quantificazione per ciascun composto sono elencati nella Tabella 8.2.5.1.3.

**Tabella 8.2.5.1.3:** Metodo analitico e limiti di quantificazione degli acidi Aloacetici nel biota.

Parametro		Metodo analitico	Limite di quantificazione (ng/g)
Sigla	Dicitura estesa		
MCAA	MonoCloroAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	3
MBAA	MonoBromoAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	1
Dalapon	Dalapon	Metodo interno ISPRA	1
DCAA	DiCloroAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	1,5
TCAA	TriCloroAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	0,5
BCAA	BromoCloroAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	1
BDCAA	BromoDiCloroAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	2
DBAA	DiBromoAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	0,5
CDBAA	CloroDiBromoAcet Acid	Metodo interno ISPRA	5
TBAA	TriBromoAcetic Acid	Metodo interno ISPRA	10

### 8.2.5.2 Risultati

#### *I campagna (Settembre 2011)*

I valori di concentrazione degli Aloacetoniitrili, determinati nei campioni prelevati nella prima campagna di esercizio, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.1 mentre i valori dei composti organici volatili e Alometani sono inseriti nella Tabella 8.2.5.2.2.

I risultati ottenuti hanno rivelato valori sempre inferiori al limite di quantificazione del metodo per ciascun composto.

**Tabella 8.2.5.2.1:** Concentrazione degli **Aloacetoni**trili – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

Stazione	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
replica						
u.m.	ng/g p.u.					
Tricloroacetone	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Dicloroacetone	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50

**Tabella 8.2.5.2.2:** Concentrazione di **Alometani e VOC** – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

Stazione	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
replica						
u.m.	ng/g p.u.					
Cloroformio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tetracloruro di carbonio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tricloroetilene	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
Tetracloroetilene	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Clorodibromometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromodiclorometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromoformio	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
1,1,1 Tricloroetano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
1,2 Dibromoetano	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25

I risultati degli acidi Aloacetici determinati nei mitili trapiantati prelevati nella prima campagna di esercizio sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.3.

Si segnala la presenza dell'acido Dicloroacetico (DCAA) nelle tre stazioni, dell'acido Monocloroacetico (MCAA) nelle stazioni TE039A e TE040T e degli acidi Clorodibromoacetico (CDBAA) e Dibromoacetico (DBAA) nella sola stazione TE039A.

**Tabella 8.2.5.2.3:** Concentrazione degli **acidi Aloacetici** – I campagna Settembre 2011.

Stazione	TE039A	TE040T	TE041M
u.m.	ng/g p.u.		
MCAA	3,5	3,6	<3
MBAA	<1	<1	<1
Dalapon	<1	<1	<1
DCAA	9,7	9,6	8,2
TCAA	<0,5	<0,5	<0,5
BCAA	<1	<1	<1
BDCAA	<2	<2	<2
DBAA	0,6	<0,5	<0,5
CDBAA	8,5	<5	<5
TBAA	<10	<10	<10

### ***II campagna (Ottobre 2011)***

I valori di concentrazione degli Alocetonitrili, determinati nei campioni prelevati nella prima campagna di esercizio, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.4 mentre i valori dei composti organici volatili e Alometani sono inseriti nella Tabella 8.2.5.2.5.

Anche nella seconda campagna i risultati acquisiti sono sempre inferiori al limite di quantificazione del metodo per ciascun composto.

**Tabella 8.2.5.2.4:** Concentrazione degli Alocetonitrili – fase di esercizio – **II campagna Ottobre 2011.**

Stazione replica	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Tricloroacetone nitrile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Dicloroacetone nitrile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50

**Tabella 8.2.5.2.5:** Concentrazione di Alometani e VOC – fase di esercizio – **II campagna Ottobre 2011.**

Stazione replica	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Cloroformio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tetracloruro di carbonio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tricloroetilene	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
Tetracloroetilene	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Clorodibromometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromodiclorometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromoformio	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
1,1,1 Tricloroetano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
1,2 Dibromoetano	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25

I dati relativi agli acidi Alocetici determinati nella seconda campagna di esercizio dei mitili trapiantati, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.6.

Anche nella seconda campagna viene rilevato nei tre campioni l'acido Dicloroacetico (DCAA) e, nelle stazioni TE039A e TE040T, l'acido Monocloroacetico (MCAA). Nella stazione TE041M viene invece quantificato anche l'acido Clorodibromoacetico (CDBAA).

**Tabella 8.2.5.2.6:** Concentrazione degli acidi Aloacetici – fase di esercizio – II campagna Ottobre 2011.

Stazione	TE039A	TE040T	TE041M
u.m.	ng/g p.u.		
MCAA	3,2	11,5	<3
MBAA	<1	<1	<1
Dalapon	<1	<1	<1
DCAA	7,1	18,9	6,2
TCAA	<0,5	<0,5	<0,5
BCAA	<1	<1	<1
BDCAA	<2	<2	<2
DBAA	<0,5	<0,5	<0,5
CDBAA	<5	<5	5,9
TBAA	<10	<10	<10

**III campagna (Novembre 2011)**

I valori di concentrazione degli Aloacetoni-trili, determinati nei campioni prelevati nella prima campagna di esercizio, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.7 mentre i valori dei composti organici volatili e Alometani sono inseriti nella Tabella 8.2.5.2.8.

I risultati acquisiti hanno rivelato valori sempre inferiori al limite di quantificazione del metodo per ciascun composto.

**Tabella 8.2.5.2.7:** Concentrazione degli Aloacetoni-trili – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

Stazione	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Tricloroacetone-trile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Dicloroacetone-trile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50

**Tabella 8.2.5.2.8:** Concentrazione di Alometani e VOC – fase di esercizio – III campagna Novembre 2011.

Stazione	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Cloroformio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tetracloruro di carbonio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tricloroetilene	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
Tetracloroetilene	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Clorodibromometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromodibromometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromoformio	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
1,1,1 Tricloroetano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
1,2 Dibromoetano	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25

La concentrazione degli acidi Aloacetici determinata nei mitili trapiantati nella terza campagna di esercizio, è mostrata nella Tabella 8.2.5.2.8.

Come nelle campagne precedenti viene quantificato l'acido Dicloroacetico (DCAA) nelle tre stazioni e l'acido Monocloroacetico (MCAA) nelle stazioni TE039A e TE040T.

**Tabella 8.2.5.2.9:** Concentrazione degli **acidi Aloacetici** – fase di esercizio – **III campagna Novembre 2011.**

Stazione	TE039A	TE040T	TE041M
u.m.	ng/g p.u.		
MCAA	3,8	6,3	<3
MBAA	<1	<1	<1
Dalapon	<1	<1	<1
DCAA	7,7	14,3	12,4
TCAA	<0,5	<0,5	<0,5
BCAA	<1	<1	<1
BDCAA	<2	<2	<2
DBAA	<0,5	<0,5	<0,5
CDBAA	<5	<5	<5
TBAA	<10	<10	<10

#### ***IV campagna (Dicembre 2011)***

I valori di concentrazione degli Aloacetoniitrili, determinati nei campioni prelevati nella prima campagna di esercizio, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.10 mentre i valori dei composti organici volatili e Alometani sono inseriti nella Tabella 8.2.5.2.11.

Nella quarta campagna si ottengono risultati superiori al limite di quantificazione del metodo solo per il cloroformio, in entrambe le repliche.

**Tabella 8.2.5.2.10:** Concentrazione degli **Aloacetoniitrili** – fase di esercizio – **IV campagna Dicembre 2011.**

Stazione	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Tricloroacetoneitrile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
Dicloroacetoneitrile	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50

**Tabella 8.2.5.2.11:** Concentrazione di Alometani e VOC – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.

Stazione replica	TE039A		TE040T		TE041M	
	I	II	I	II	I	II
u.m.	ng/g p.u.					
Cloroformio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	0,31	0,45
Tetracloruro di carbonio	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Tricloroetilene	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
Tetracloroetilene	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Clorodibromometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromodiclorometano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Bromoformio	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50
1,1,1 Tricloroetano	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
1,2 Dibromoetano	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25

I dati relativi agli acidi Aloacetici determinati nella quarta campagna di esercizio dei mitili trapiantati, sono mostrati nella Tabella 8.2.5.2.12.

Nella quarta campagna vengono rilevati gli acidi Monocloroacetico (MCAA) e Dicloroacetico (DCAA) in tutte e tre le stazioni mentre nella TE039A, viene quantificato anche l'acido Bromodicloroacetico (BDCAA) e nella TE041M l'acido Dibromoacetico (DBAA).

**Tabella 8.2.5.2.12:** Concentrazione degli acidi Aloacetici – fase di esercizio – IV campagna Dicembre 2011.

Stazione	TE039A	TE040T	TE041M
u.m.	ng/g p.u.		
MCAA	4,8	3,6	3,3
MBAA	<1	<1	<1
Dalapon	<1	<1	<1
DCAA	12,1	7,4	15,7
TCAA	<0,5	<0,5	<0,5
BCAA	<1	<1	<1
BDCAA	3,1	<2	<2
DBAA	<0,5	<0,5	0,6
CDBAA	<5	<5	<5
TBAA	<10	<10	<10

## 8.3 Analisi microbiologiche

### 8.3.1 Materiali e metodi

I campioni prelevati per le analisi microbiologiche sono stati conservati in contenitori sterili a 4°C per l'immediato trasferimento in laboratorio per le analisi. I metodi analitici adottati sono riportati nella Tabella 8.3.1.

**Tabella 8.3.1.1:** Microbiologia: metodiche di riferimento e limiti di quantificazione.

Parametro	Metodo analitico	Limite di quantificazione (g)
Coliformi totali	RAPPORTI ISTISAN 1996/35-3	10 UFC/g
Coliformi fecali	DM 31/07/95	200 MPN/100g
Streptococchi fecali	MPI-25-2004	10 UFC/g
Salmonella	DM 31/07/95	-

### 8.3.2 Risultati

Nelle tabelle 8.3.2.1-4 vengono riportati i risultati delle analisi microbiologiche effettuate in *Mytilus galloprovincialis* nella fase di esercizio provvisorio – I anno di monitoraggio nelle quattro campagne di indagine.

I coliformi fecali e gli streptococchi fecali sono risultati generalmente bassi o sotto il limite di rilevabilità del metodo. I risultati mostrano valori di concentrazione per i coliformi totali variabili ma comunque generalmente bassi. Non è stata registrata una contaminazione microbiologica da salmonella.

**Tabella 8.3.2.1:** Risultati delle analisi microbiologiche in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – I campagna Settembre 2011.

Stazione	u.m.	TE039A	TE40T	TE041M
Coliformi totali	UFC/g	60	330	40
Coliformi fecali	MPN/100g	<200	<200	<200
Streptococchi fecali	UFC/g	20	<10	<10
Salmonella	A-P/25g	assente	assente	assente

**Tabella 8.3.2.2:** Risultati delle analisi microbiologiche in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – **II** campagna Ottobre 2011.

Stazione	u.m.	TE039A	TE40T	TE041M
Coliformi totali	UFC/g	10	30	150
Coliformi fecali	MPN/100g	<200	<200	<200
Streptococchi fecali	UFC/g	<10	<10	<10
Salmonella	A-P/25g	assente	assente	assente

**Tabella 8.3.2.3:** Risultati delle analisi microbiologiche in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – **III** campagna Novembre 2011.

Stazione	u.m.	TE039A	TE40T	TE041M
Coliformi totali	UFC/g	350	<10	10
Coliformi fecali	MPN/100g	<200	<200	<200
Streptococchi fecali	UFC/g	<10	20	<10
Salmonella	A-P/25g	assente	assente	assente

**Tabella 8.3.2.4:** Risultati delle analisi microbiologiche in *Mytilus galloprovincialis* – fase di esercizio – **IV** campagna Dicembre 2011.

Stazione	u.m.	TE039A	TE40T	TE041M
Coliformi totali	UFC/g	<10	<10	<10
Coliformi fecali	MPN/100g	<200	<200	<200
Streptococchi fecali	UFC/g	<10	<10	<10
Salmonella	A-P/25g	assente	assente	assente