



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Magistrale in
Rischio Ambientale e Protezione Civile

**LIVELLI DI NUTRIENTI E METALLI IN NORD ADRIATICO:
IMPATTO DEGLI IMPIANTI DI DEPURAZIONE SULLE ACQUE
MARINE**

**LEVELS OF NUTRIENTS AND METALS IN THE NORTH
ADRIATIC: IMPACT OF DEPURATION PLANTS ON MARINE
WATERS**

Tesi di Laurea Magistrale
di: Behixhe Ajdini

Relatore:
Dott.ssa Anna Annibaldi

Sessione Estiva (Luglio 2021)
Anno Accademico 2020-2021

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
1.1 Eutrofizzazione	13
1.1.1 Fasi del ciclo di eutrofizzazione	16
1.2 Nutrienti	19
1.2.1 Fonti di generazione di nutrienti	20
1.2.2 Silicati.....	21
1.2.3 Composti dell'azoto	22
1.2.4 Ammoniaca	25
1.2.5 Azoto nitrico e nitroso	26
1.2.6 Fosforo	27
1.2.7 Fattore limitante	32
1.2.8 Indice TRIX.....	34
1.2.9 Valori limiti di emissione di nutrienti in acque superficiali e in fognatura.....	37
1.3 Metalli pesanti.....	38
1.3.1 Fonti di generazione di metalli pesanti	39
1.3.2 Arsenico	42
1.3.3 Cadmio	45
1.3.4 Mercurio	48

1.3.5 Valori limiti di emissione di metalli in acque superficiali e in fognatura.	52
1.4 Caratteristiche del mar Adriatico	53
1.4.1 Le correnti marine dell'Adriatico	55
2. SCOPO DELLA TESI	60
3. MATERIALI E METODI	61
3.1 Siti di campionamento	61
3.1.1 Costa Italiana	62
3.1.2 Costa Croata	65
3.2 Campionamento dei nutrienti.....	67
3.3.1 Dati acquisiti durante il campionamento	72
3.4 Laboratorio.....	73
3.4.1 Sistema Milli-Q	74
3.4.2 Decontaminazione del materiale di laboratorio	75
3.4.3 Reagenti	75
3.5 Analisi dei nutrienti	76
3.5.1 Panoramica dell'analizzatore EasyChem Plus	78
3.5.2 Determinazione dei nutrienti	81
3.5.3 Determinazione dell'azoto e fosforo totale	86
3.6 Pretrattamento del campione per l'analisi dei metalli	88
3.6.1 Analisi dei metalli	90

3.6.1.1 Determinazione del cadmio, mercurio ed arsenico	92
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	95
4.1 Nutrienti	95
4.1.1 Nitrati	95
4.1.2 Nitriti	97
4.1.3 Azoto ammoniacale	99
4.1.4 Silicati.....	101
4.1.5 DIP	103
4.1.6 Distribuzione DIP/DOP.....	105
4.1.7 Distribuzione DIN	108
4.1.8 Confronto con dati di letteratura e limite di legge	111
4.1 Metalli disciolti	113
4.2.1 Cadmio	113
4.2.2 Mercurio	118
4.2.3 Arsenico	123
4.2.4 Confronto con dati di letteratura e limite di legge	126
5. CONCLUSIONI	129
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	131

1. INTRODUZIONE

Nonostante gli ultimi decenni del XX secolo siano stati caratterizzati dall'accelerata innovazione tecnologica e dal miglioramento degli impianti industriali, molte attività produttive continuano ad incidere intensamente sulla qualità delle diverse matrici ambientali (acqua, aria e suolo) a seguito della produzione continua delle emissioni idriche, atmosferiche e dei rifiuti. I processi di inquinamento e le altre forme di stress ambientali non hanno risparmiato gli ambienti marini e costieri, soprattutto quelli interessati da un'elevata pressione industriale. L'ambiente marino-costiero rappresenta il luogo di interfaccia tra habitat marini ed habitat terrestri che, pur avendo dinamiche fortemente diverse, sono tra gli ecosistemi più sfruttati e vulnerabili, costantemente sottoposti a molteplici pressioni antropiche (*L Orlandi et al., 2014; S Caeiro et al.,2005*) a causa dell'intensificazione delle aree metropolitane, del turismo e delle attività industriali e agricole (*M Tedetti et al., 2010*). Queste perturbazioni indotte dall'uomo causano in molti casi il rilascio di vari contaminanti, che possono essere trasportati nelle acque costiere attraverso diversi percorsi, come depositi atmosferici, fiumi, scarichi industriali, traffico marittimo o acque sotterranee sottomarine (*M Tedetti et al., 2010*), che rappresentano importanti pericoli per la salute dell'ecosistema (*S Caeiro et al.,2005*).

Secondo la Convenzione delle Nazioni Unite sul diritto del mare (UNCLOS, United Nations Convention on the Law Of the Sea) entrata in vigore il 16 Novembre 1994 l'inquinamento dell'ambiente marino è inteso come: "l'introduzione diretta o indiretta, a opera dell'uomo, di sostanze o energia nell'ambiente marino ivi compresi gli estuari, che provochi o possa presumibilmente provocare effetti deleterie quali il danneggiamento delle risorse biologiche e della vita marina, rischi per la salute umana, impedimenti alle attività marine, ivi compresa la pesca e altri usi legittimi del mare che ne compromettano l'utilizzazione, oppure il degrado delle attrattive ambientali".

L'inquinamento del mare può essere distinto in quattro principali categorie e in relazione alle quali è possibile individuare diverse strategie di intervento e diversi sistemi normativi di riferimento sia a livello nazionale che internazionale:

- a. inquinamento sistematico: immissione continua nel tempo di inquinanti quali scarichi fognari, reflui industriali, dilavamento dei terreni, immissioni autorizzate o consentite;
- b. inquinamento volontario: immissione in mare, da parte di navi ecc, di materiali, sostanze o energia (dumping);
- c. inquinamento operativo: esercizio di navi, imbarcazioni, natanti, piattaforme off-shore (rientrano in questa categoria il lavaggio delle

cisterne del carico, lo scarico delle acque di zavorra e di sentina, la ricaduta dei fumi, l'uso di vernici);

- d. inquinamento accidentale: incidenti in mare o in banchina (ad es. in fase di blow-out da piattaforme o per rotture di condotte) e dai quali derivi l'immissione a mare di sostanze inquinanti.

Al fine di tutelare questa risorsa la legislazione europea e italiana ha impostato secondo un approccio integrato le attività di monitoraggio, controllo e limiti predeterminati, il cui eventuale superamento si pone come presupposto sia per l'implementazione di specifici piani di intervento per la riduzione degli stress riscontrati che per l'adozione degli atti amministrativi volti ad impedire o limitare l'utilizzo delle acque marittime.

Il 17 giugno 2008 il Parlamento Europeo, insieme al Consiglio dell'Unione Europea hanno emanato la Direttiva quadro 2008/56/CE sulla strategia per l'ambiente marino. La "Marine Strategy" nasce dalla crescente consapevolezza delle sempre più elevate pressioni antropiche sugli ecosistemi marini e sulla necessità di tutelare l'ambiente marino e ripristinare il suo buono stato di salute ove necessario. L'obiettivo della direttiva è il raggiungimento del GES "Good Environmental Status" delle acque marine comunitarie entro il 2020. Per buono stato ambientale delle acque marine si intende la capacità di preservare la diversità ecologica e la produttività, mantenendo l'utilizzo dell'ambiente

marino entro i livelli di sostenibilità affinché venga salvaguardato il potenziale per gli usi e le attività delle generazioni presenti e future.

Per consentire agli Stati membri di raggiungere gli obiettivi prefissati, Marine Strategy individua undici descrittori che definiscono il buono stato ambientale una volta raggiunto:

Descrittore 1: La biodiversità è mantenuta. La qualità e la presenza di habitat nonché la distribuzione e l'abbondanza delle specie sono in linea con le prevalenti condizioni fisiografiche, geografiche e climatiche.

Descrittore 2: Le specie non indigene introdotte dalle attività umane restano a livelli che non alterano negativamente gli ecosistemi.

Descrittore 3: Le popolazioni di tutti i pesci e i molluschi sfruttati a fini commerciali restano entro i limiti biologicamente sicuri presentando una ripartizione della popolazione per età e dimensioni indicativa della buona salute dello stock.

Descrittore 4: Tutti gli elementi della rete trofica marina, nella misura in cui siano noti, sono presenti con normale abbondanza e diversità e con livelli in grado di assicurare l'abbondanza a lungo termine delle specie e la conservazione della loro piena capacità riproduttiva.

Descrittore 5: È ridotta al minimo l'eutrofizzazione di origine umana, in particolare i suoi effetti negativi, come perdite di biodiversità, degrado dell'ecosistema, proliferazione dannosa di alghe e carenza di ossigeno nelle acque di fondo.

Descrittore 6: L'integrità del fondo marino è ad un livello tale da garantire che le strutture e le funzioni degli ecosistemi siano salvaguardate e gli ecosistemi bentonici, in particolare, non abbiano subito danni.

Descrittore 7: La modifica permanente delle condizioni idrografiche non influisce negativamente sugli ecosistemi marini.

Descrittore 8: Le concentrazioni dei contaminanti presentano livelli che non danno origine a effetti inquinanti.

Descrittore 9: I contaminanti presenti nei pesci e in altri frutti di mare destinati al consumo umano non eccedono i livelli stabiliti dalla legislazione comunitaria o da altre norme pertinenti.

Descrittore 10: Le proprietà e le quantità di rifiuti marini non provocano danni all'ambiente costiero marino.

Descrittore 11: L'introduzione di energia, comprese le fonti sonore sottomarine, è a livelli che non hanno effetti negativi sull'ambiente marino.

La Direttiva quadro ha suddiviso le acque marine europee in quattro regioni: Mar Baltico, Oceano Atlantico nordorientale, Mar Mediterraneo e Mar Nero. Per alcune di queste ha predisposto ad un'ulteriore suddivisione individuando delle sotto-regioni.

Nel Mediterraneo sono state individuate tre sub-regioni:

- il Mediterraneo occidentale,
- il mar Adriatico,
- il mar Ionio e Mediterraneo centrale.

Le acque marine italiane appartengono a tutte e tre le sotto-regioni.

Nell'ambito degli impegni assunti dall'Italia a livello internazionale e comunitario il D. Lgs 13 ottobre 2010, n. 190 ha istituito un quadro diretto all'elaborazione di strategie per l'ambiente marino e all'adozione delle misure necessarie a conseguire e a mantenere un buono stato ambientale entro il 2020. Secondo il citato D. Lgs 190/2010 il buono stato ambientale delle acque marine si consegue quando le stesse presentano la diversità ecologica e la vitalità di mari ed oceani puliti, sani e produttivi nelle proprie condizioni intrinseche e quando l'utilizzo dell'ambiente marino si svolge in modo sostenibile, salvaguardandone le potenzialità per gli usi e le attività delle generazioni presenti e future; ai sensi dell'art. 9 del D. Lgs. 190/2010 il buono stato

ambientale viene definito sulla base di determinati descrittori qualitativi, quando:

- a. la struttura, la funzione ed i processi degli ecosistemi che compongono l'ambiente marino, unitamente ai fattori fisiografici, geografici, geologici e climatici, consentano a tali ecosistemi di funzionare pienamente e di mantenere la loro resilienza ad un cambiamento ambientale dovuto all'attività umana;
- b. le specie e gli habitat marini siano protetti in modo tale da evitare la perdita di biodiversità dovuta all'attività umana e da consentire che le diverse componenti biologiche funzionino in modo equilibrato;
- c. le caratteristiche idromorfologiche e fisico-chimiche degli ecosistemi, incluse le modifiche alle stesse causate dalle attività umane nella zona interessata, siano compatibili con le condizioni indicate nelle lettere a e b;
- d. gli apporti di sostanze ed energia, compreso il rumore, nell'ambiente marino, dovuti ad attività umane, non causino effetti inquinanti.

Sotto il profilo della tutela delle acque marittime deve inoltre essere evidenziato l'importanza della disciplina degli scarichi (Domestico - Industriale - Urbano - Acque di prima pioggia) che costituisce una delle componenti principali della normativa per la tutela delle acque dall'inquinamento ed è inserita nel Codice

dell'ambiente (D. Lgs. 152/2006; aggiornato con il D. Lgs 16 gennaio 2008, n. 4; Modificato con il D. Lgs 28 giugno 2010, n. 128) nella sua Parte III: (“la difesa del suolo e la lotta alla desertificazione, la tutela delle acque dall'inquinamento e la gestione delle risorse idriche”). La disciplina determina le modalità di trattamento ed i valori limiti associati alle acque per specifica destinazione d'uso, identificando appunto come prioritario il trattamento delle acque reflue urbane ed industriali al fine di preservare la naturale capacità di ripristino ambientale e preservare l'integrità degli ecosistemi e la fruizione degli stessi, minimizzando l'impatto antropico dovuto ad una cattiva gestione delle acque.

1.1 Eutrofizzazione

Il termine “eutrofizzazione” deriva dal greco eutrophia (eu = buona, trophòs = nutrimento). È un processo degenerativo dell’ecosistema acquatico dovuto all’eccessivo arricchimento in nutrienti (sali di azoto e fosforo) dell’ecosistema stesso tale da provocarne un’alterazione dell’equilibrio visto come un problema della metà e della fine del XX secolo (DM Harper - 1992) (figura 1).

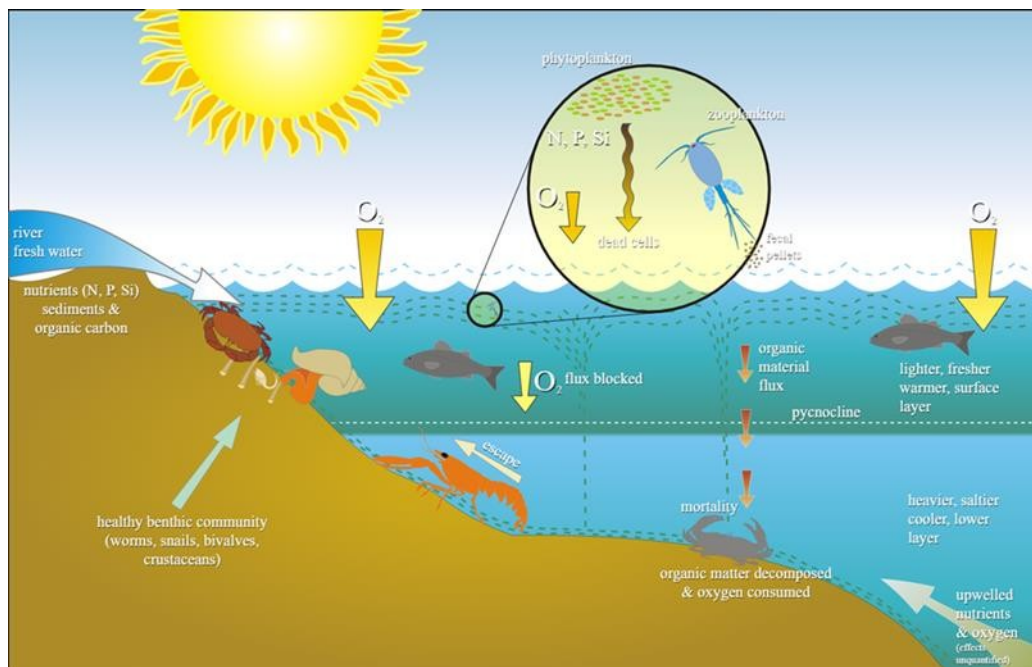


Figura 1. Schema del processo di eutrofizzazione

Una delle prime definizioni di eutrofizzazione risale agli anni '70 ad opera dell'OCSE (Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico):

"l'eutrofizzazione è un arricchimento delle acque dei sali nutritivi che provoca cambiamenti tipici quali l'incremento della produzione di alghe e piante"

acquatiche, l'impoverimento delle risorse ittiche, la generale degradazione della qualità dell'acqua ed altri effetti che ne riducono e precludono l'uso"(W Rast, JA Thornton -1996).

Elevate concentrazioni di sali di azoto e di fosforo immessi nelle acque favoriscono un abnorme sviluppo del numero delle microalghe (fitoplancton) normalmente presenti, che possono raggiungere anche milioni di cellule per litro. Ma attualmente tale processo è fortemente aggravato e accelerato dalle attività antropiche. L'attività antropica e la crescita della popolazione mondiale hanno determinato la trasformazione di circa un terzo della superficie terrestre, modificando profondamente gli ecosistemi acquatici e terrestri, attraverso l'attività agricola, zootecnica e industriale, l'urbanizzazione e l'alterazione del ciclo idrologico (*Vitousek et al., 1997*).

È uno degli 11 Descrittori della Marine Strategy dell'UE (Direttiva 2008/56/CE) descrittori per i quali deve essere raggiunto il Buono Stato Ambientale (Good Environmental Status o GES). La direttiva richiede, per il descrittore 5, che sia ridotta al minimo l'eutrofizzazione di origine umana, in particolare i suoi effetti negativi, come perdita di biodiversità, degrado dell'ecosistema, fioriture algali nocive e carenza di ossigeno nelle acque di fondo.

L'eutrofizzazione è un fenomeno recente, compare in forma acuta nell'Adriatico Nord-occidentale nella seconda metà degli anni '60. Si manifesta in molti altri mari nel mondo (Chesapeake Bay - USA, Mare del Nord e Mar Baltico, Baia di Tokio, ed altre aree). La condizione che accomuna questi casi è legata da un lato alla forte antropizzazione del territorio conseguente ad un rilevante sviluppo economico e sociale, dall'altro al fatto che i bacini idrografici che attraversano queste aree scaricano le loro acque in mari semichiusi.

La situazione dell'Adriatico è critica a causa delle condizioni geomorfologiche e degli apporti fluviali provenienti dall'entroterra:

- l'Adriatico è un mare poco profondo (la massima profondità che si raggiunge nel tragitto tra Rimini e Pola è di soli 50 m);
- condizioni idrodinamiche che non garantiscono sufficienti ricambi con acque pelagiche;
- bassi fattori di diluizione nei confronti dei carichi d'origine fluviale;
- il bacino idrografico del Po riceve 1/3 delle acque dolci che si immettono nel Mediterraneo (abbassamento di salinità) e sulla sua estensione gravita il 70% delle attività industriali italiane.

Per riuscire a ripristinare condizioni equilibrate, tali da ridurre la frequenza dei casi acuti di eutrofizzazione senza incidere sulla produttività/pescosità dell'Adriatico, è necessario mettere in atto misure atte a ridurre i carichi delle principali sostanze eutrofizzanti (azoto e fosforo).

1.1.1 Fasi del ciclo di eutrofizzazione

Le fasi del processo di eutrofizzazione sono indicate nella figura 2.

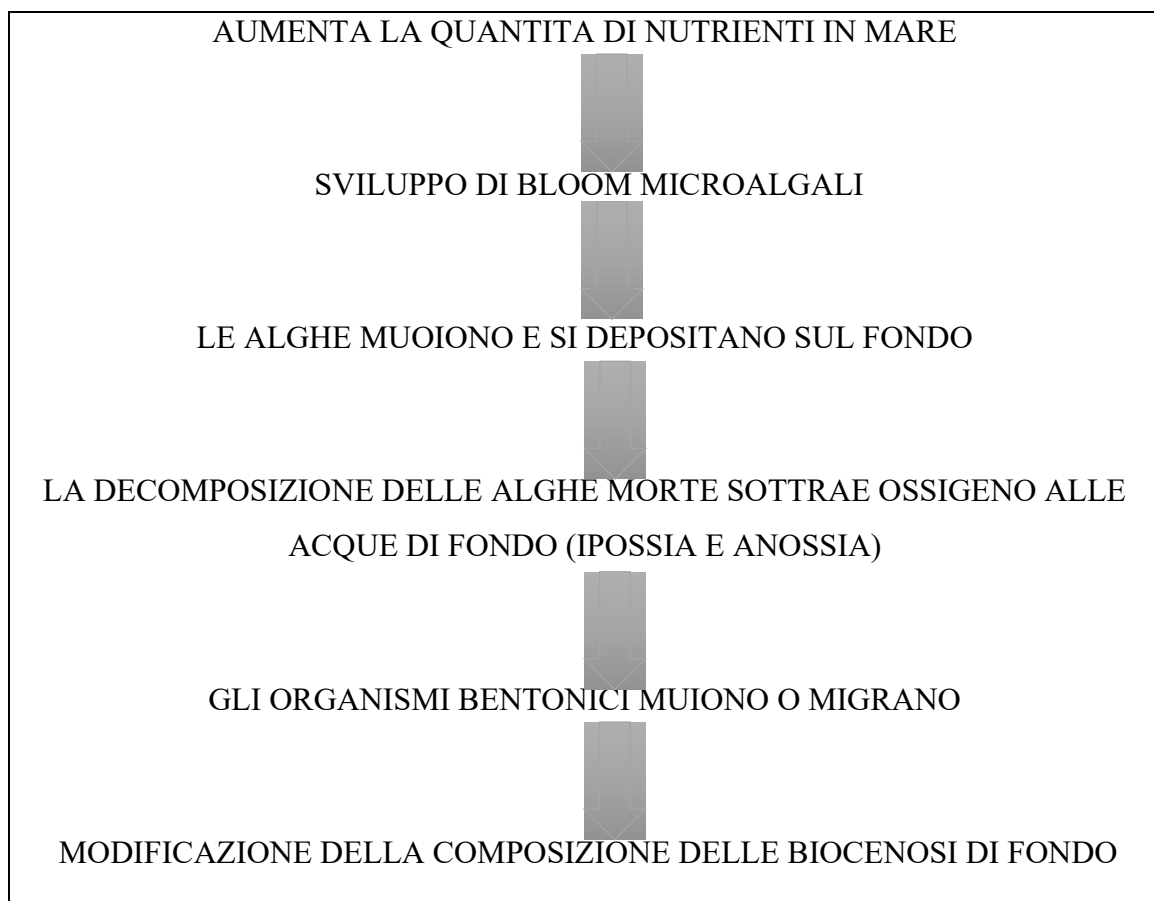


Figura 2. Fasi del ciclo di eutrofizzazione

L'eutrofizzazione è caratterizzata da un aumento notevole delle alghe dovuto alla maggiore disponibilità di uno o più fattori di crescita necessari per la

fotosintesi, come la luce solare, anidride carbonica e i nutrienti (azoto e fosforo). Quando le alghe iniziano a crescere in modo incontrollato si forma una biomassa sempre più consistente destinata al degrado. Nelle acque profonde si accumula una grande quantità di sostanza organica rappresentata dalle alghe giunte alla fine del loro ciclo di vita. Per demolire tutte le alghe morte è richiesto un consumo eccessivo di ossigeno, in alcuni casi quasi totale da parte dei microrganismi. Si crea così un ambiente anossico (privo di ossigeno) sul fondo, con la crescita di organismi capaci di vivere in assenza di ossigeno (anaerobi), responsabili della degradazione della biomassa. I microrganismi decomponendo la sostanza organica in condizioni anossiche, liberano composti che possono essere tossici, quali ad esempio l'ammoniaca e l'acido solfidrico (H₂S) (*Gainotti, A; Modelli, A (2007)*). L'assenza di ossigeno riduce la biodiversità determinando in alcuni casi addirittura la morte di specie animali e vegetali. Anche un evento di ipossia di breve durata ucciderà la maggior parte degli invertebrati viventi sul o all'interno del fondale marino, creando una "dead zone". Le zone morte negli ecosistemi marini sono raddoppiate di dimensioni a livello globale negli ultimi decenni. Tutto ciò accade quando la velocità di degradazione delle alghe da parte dei microrganismi è maggiore rispetto a quella di rigenerazione dell'ossigeno.

Si verificano, così due casi principali; casi di ipossia (scarsità di ossigeno) e di anossia (assenza di ossigeno) nelle acque di fondo.

Questo fenomeno avviene più spesso nel periodo estivo-autunnale poiché le condizioni meteo-marine lo favoriscono: infatti le acque più calde e stratificate, il mare calmo, la situazione idrodinamica statica.

Approfondendo, le condizioni di anossia si sviluppano in genere in estate (*Smith, T.M; Smith, R.L (2007)* perché:

- le basse temperature invernali rallentano i processi metabolici di degradazione e aumentano la quantità di ossigeno disciolto nell'acqua di mare;
- in estate le condizioni meteo-marine favoriscono il fenomeno della stratificazione delle acque e il limitato rimescolamento porta all'esaurimento dell'ossigeno sul fondo.

Gli effetti che si verificano sono:

- peggioramento della qualità delle acque con fenomeni di intorbidimento del fondo, di perdita di trasparenza generale e di coloritura delle acque (dal rosso al verde)
- produzione di cattivi odori
- morie di pesci e della fauna bentonica

- estrema semplificazione delle comunità
- impossibilità di utilizzo dell'acqua per uso potabile
- danni alle attività economiche, soprattutto turistiche (limitazioni alla balneazione).

1.2 Nutrienti

I composti del carbonio, dell'azoto e del fosforo prendono il nome di nutrienti in quanto sono essenziali per l'accrescimento in biomassa di tutti gli organismi viventi, nonché protagonisti di fondamentali reazioni metaboliche e costituenti delle principali molecole biologiche (acidi nucleici (DNA ed RNA), proteine, ormoni, clorofille e membrane cellulare). L'azoto e il fosforo sono gli elementi di base per la crescita degli organismi e i loro componenti disponibili (azoto inorganico, organico e fosforo) sono importanti per sostenere la crescita micro/macroalgale e la produttività primaria (*Lin et al., 2005; Glibert, 2017*). I nutrienti sono presenti nelle varie matrici ambientali in diverse forme chimiche, prevalentemente organiche e inorganiche. In ambiente marino si ritrovano solitamente in ordini della grandezza di ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$). Normalmente le concentrazioni degli stessi vengono mantenute in equilibrio nei sistemi naturali grazie ai loro cicli naturali, ad opera delle comunità biologiche e di normali trasformazioni abiotiche (*M. Loreau, 1995*).

1.2.1 Fonti di generazione di nutrienti

A livello globale, il carico di nutrienti nelle acque superficiali è elevato e in aumento, con fonti dall'inquinamento terrestre all'acquacoltura e alla deposizione atmosferica (*PM Glibert et al., 2018*). L'esportazione di (N) sta aumentando più rapidamente di quella di fosforo (P) su base globale, portando a condizioni nutritive stechiometricamente squilibrate. In tali condizioni, potrebbero proliferare alcuni tipi di fioriture algali dannose (HAB-Harmful Algal Bloom).

Nello specifico le fonti di nutrienti in ambiente acquatico possono essere suddivise in "diffuse" e in "localizzate" (*Howarth 2008; Selman and Greenhalgh 2010; UNEP and WHRC 2007*).

Sono classificate come fonti diffuse;

- le precipitazioni atmosferiche,
- gli scarichi degli automezzi, le ricadute dei fumi dei camini domestici e industriali, i rilasci dei suoli dei parchi, ecc.
- il suolo, considerato uno delle fonti più diffuse per N e P (*McDowell et al. 2008*).

Le fonti localizzati sono invece;

- effluenti domestici: deiezioni del metabolismo umano e prodotti usati per lavare,
- allevamenti animali: deiezioni animali,
- industria: scarichi ed emissioni industriali.

Quindi per il mare la principale fonte di fertilizzazione, pur essendo involontaria, ha origine antropica. A tale scopo diventa necessaria l'adozione delle misure di prevenzione e contenimento dell'eutrofizzazione che prevedono la riduzione della formazione dei carichi (rispettando i limiti imposti per gli scarichi in acque superficiali) oppure degli interventi che concernono l'adozione di nuove tecnologie alternative nell'industria, la razionalizzazione delle pratiche agricole e della conduzione degli allevamenti, la sostituzione dei polifosfati nei detersivi.

1.2.2 Silicati

I silicati (SiO_2) costituiscono oltre il 90% della crosta terrestre e presentano genesi magmatica metamorfica e sedimentaria. La concentrazione di silicati-silice nell'acqua marina naturale varia da tracce appena percettibili a 4 mg L^{-1} ; nell'acqua dolce naturale la concentrazione può avere gli stessi parametri, anche se in alcune località può superare 50 mg L^{-1} . I silicati sono il costituente fondamentale delle sabbie. La loro origine deriva da formazioni geologiche

vulcaniche e sono naturalmente ampiamente diffusi nei fondali oceanici. I silicati sono costituenti strutturali fondamentali per molte comunità biologiche, sia per organismi monocellulari, vegetali (es. diatomee) e batterici, che per piante e scheletri sponginei e conchiglie. Hanno bassa solubilità in acqua (0.5 g L^{-1} a 298 K). La disponibilità di acido silicico disciolto (dSi) è spesso il fattore limitante che controlla la crescita di diatomee e quindi modella la composizione delle specie nelle comunità marine.

1.2.3 Composti dell'azoto

L'azoto (N_2) è uno degli elementi più diffusi in natura e i suoi composti rivestono un ruolo fondamentale per la sopravvivenza degli esseri viventi in quanto sono costituenti di molecole quali proteine e DNA (*MR Aczel, 2019*).

L'azoto è presente in numerosi composti inorganici e composti organici ed è un elemento fondamentale nella biochimica dei viventi (ciclo biologico dell'azoto). I nutrienti azotati, provenienti dalle sorgenti puntiformi (città, aree urbane) e dal dilavamento dei terreni determinato dalle precipitazioni atmosferiche, arrivano a mare dai fiumi e porto canali. L'azoto è un microelemento nutritivo disciolto nell'acqua, le cui componenti azotate sono rappresentate da composti minerali solubili, quali azoto nitrico (N-NO_3), azoto nitroso (N-NO_2), azoto ammoniacale (N-NH_3) e dall'azoto totale (N-tot). Le componenti solubili possono essere rappresentate anche come DIN (Dissolved

Inorganic Nitrogen), che corrisponde alla somma delle concentrazioni delle singole componenti ($N-NO_3 + N-NO_2 + N-NH_3$).

Nel ciclo dell'azoto si possono distinguere tre processi:

Ammonificazione: è la decomposizione dell'azoto organico, presente in proteine. Batteri decompositori e funghi degradano l'azoto amminico e liberano ammonio nel terreno;

Nitrificazione: l'ammonio liberato può essere ossidato prima in nitrito e poi in nitrato. Il nitrato è la forma che può essere facilmente utilizzata dalle piante mentre i nitriti sono tossici sia per i vegetali che per i microorganismi e animali;

Denitrificazione: il nitrato subisce riduzioni successive ($NO_3 \rightarrow NO_2 \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$) fino alla liberazione in atmosfera, nuovamente in azoto elementare.

Molti batteri, nei processi di produzione di energia in assenza di ossigeno, utilizzano il nitrato come accettore finale della catena di trasporto degli elettroni nel processo di respirazione cellulare.

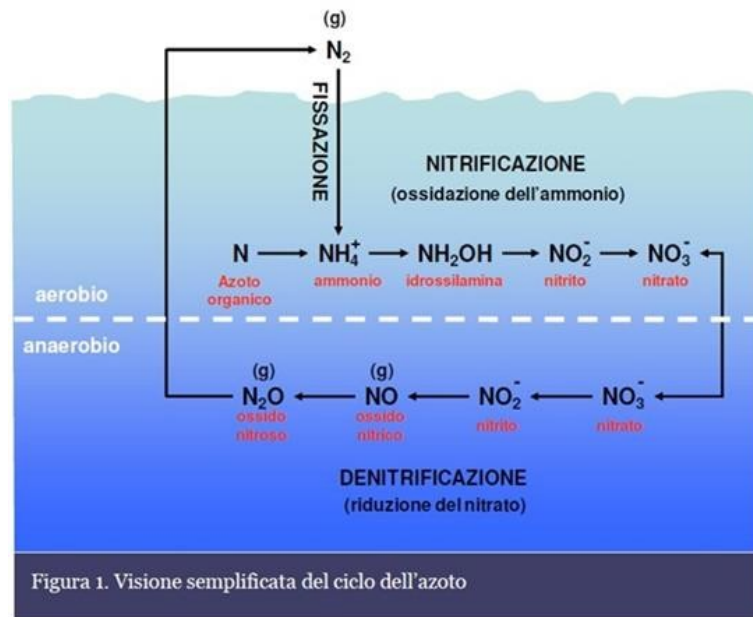


Figura 3. Le fasi del ciclo dell'azoto

Le componenti azotate presentano una elevata variabilità stagionale, con le concentrazioni minori registrate nel periodo estivo in coincidenza con i minimi di portata dei fiumi afferenti alla costa; di conseguenza l'andamento di questi parametri è in genere correlato con la salinità. L'azoto ammoniacale presenta anch'esso analogo andamento, ma risente, in alcuni casi in maniera evidente, anche di apporti provenienti dagli insediamenti costieri caratterizzati da elevata densità di popolazione. Un ulteriore incremento dell'azoto ammoniacale si registra negli strati profondi in prossimità dei fondali nei periodi estivo-autunnali, in concomitanza di fenomeni ipossici/anossici dovuti ai processi di degradazione della sostanza organica (in questo caso le concentrazioni maggiori sono ben correlate a bassi valori di ossigeno disciolto). Le concentrazioni di azoto totale sono, invece, strettamente collegate alla

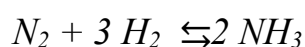
presenza di particolato organico in sospensione nella colonna d'acqua, di origine sia fitoplanctonica che detritica e quindi direttamente correlato agli apporti fluviali.

Il parametro “azoto inorganico solubile” rappresenta la somma delle concentrazioni dell'azoto inorganico presente nella matrice acquosa sotto forma di nitriti, nitrati ed azoto ammoniacale. La variazione della concentrazione dei composti inorganici azotati dipende principalmente dall'entità della piovosità e delle portate fluviali.

In aree antropizzate l'origine dell'azoto immesso nell'ambiente è principalmente di due tipi, i reflui civili e la fertilizzazione delle colture. L'azoto, la cui principale fonte di emissione è l'agricoltura, non crea problemi particolari nei fiumi, ma può causare notevoli difficoltà una volta giunto nel mare; le emissioni devono pertanto essere ulteriormente contenute al fine di tutelare l'ambiente marino.

1.2.4 Ammoniacale

L'ammoniaca (NH_3) è un gas incolore tossico, dall'odore pungente e solubile in acqua. È il più importante dei composti idrogenati dell'azoto. La sua fissazione è basata sulla sintesi diretta da idrogeno e azoto:



L'ammoniaca si scioglie molto facilmente in acqua, rendendo la soluzione alcalina per la formazione di idrossido d'ammonio NH_4OH , considerata la materia prima per preparare urea e acido nitrico. Da essa derivano sali ammoniacali come il solfato e il nitrato che, insieme all'urea sono importanti fertilizzanti.

È nota la tossicità dell'ammoniaca per tutti gli organismi viventi. Mentre a pH molto alcalino quasi tutto l'azoto ammoniacale è presente nella forma indissociata NH_3 , fortemente tossica, a pH 7,5 quasi tutto l'azoto ammoniacale è presente come ione ammonio NH_4^+ , forma assai meno tossica.

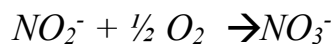
1.2.5 Azoto nitrico e nitroso

Nitriti e nitrati si originano da processi di nitrificazione, ossia dall'ossidazione di azoto ammoniacale ad opera principalmente di batteri autotrofi aerobi, quali *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (CS Gee et al., 1990).

I batteri *Nitrosomonas* sono responsabili della trasformazione dell'azoto ammoniacale in nitrito ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$) mediante la reazione:



I batteri *Nitrobacter* invece sono responsabili della trasformazione dei nitriti in nitrati ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) attraverso la reazione:



Questi batteri sono suscettibili all'azione di diversi meccanismi inibitori, quali la presenza di diversi agenti sia organici che inorganici e ad alte concentrazioni di ammoniaca o di acido nitroso. Il loro metabolismo è massimo a pH compreso tra 7.5 e 8.6 e necessitano di ossigeno in concentrazioni maggiori di 2 mg L⁻¹.

I nitrati (NO₃) rappresentano lo stato ossidativo più avanzato per quanto riguarda i composti azotati. Essi sono generalmente gli elementi presenti in concentrazione maggiore nelle acque marine.

I nitriti (NO₂) rappresentano il secondo stadio ossidativo dell'azoto. La loro concentrazione nelle acque marine è generalmente inferiore di oltre un ordine di grandezza rispetto al loro stadio ossidativo superiore, i nitrati.

1.2.6 Fosforo

Il fosforo (PO₄) è un metalloide multivalente del gruppo dell'azoto, normalmente trovato nelle rocce fosforose inorganiche naturali ed in tutte le cellule viventi. A causa della sua alta reattività, non si trova mai come elemento libero in natura. Si presenta in parecchie forme allotropiche, ed è un elemento essenziale per gli organismi viventi.

Il fosforo è diffuso alle acque di transizione principalmente dai fiumi. Le sorgenti principali sono individuate nei comparti civile e industriale. Inoltre, per quanto riguarda il settore agricolo, il fosforo in eccesso rispetto alle quote

di fertilizzante assimilate dalle piante, in determinate condizioni ambientali, può essere dilavato dai terreni agricoli e raggiungere i corsi d'acqua. Il fosforo è un microelemento nutritivo disciolto nell'acqua, le cui principali componenti sono rappresentate dal fosforo-ortofosfato (P-PO₄) e dal fosforo totale (P-tot). Il fosforo-ortofosfato è la forma fosfatica più facilmente assimilabile da parte della componente floristica, in particolare dal fitoplancton. In presenza di intense fioriture algali, quando l'ortofosfato disponibile nella colonna d'acqua viene rapidamente consumato, è sicuramente ipotizzabile l'insorgere di meccanismi di riciclo di questo nutriente (rapida mineralizzazione e successivo riutilizzo da parte della biomassa algale). Le concentrazioni di fosforo totale sono, invece, strettamente collegate alla presenza di particolato organico in sospensione nella colonna d'acqua, di origine sia detritica (quindi direttamente correlato agli apporti fluviali), sia fitoplanctonica. Alla fine del suo ciclo, tale elemento può essere immobilizzato nei sedimenti attraverso la formazione di complessi insolubili (in particolare con il calcio e con il ferro ossidato). In caso di situazioni di anossia a livello dell'interfaccia acqua-sedimento, il fosforo può essere rilasciato e può tornare in soluzione come ortofosfato biodisponibile.

Il DM 260/10 include il fosforo reattivo (P-P_D) tra gli elementi di qualità fisico-chimica rilevati nella colonna d'acqua e stabilisce un limite di 15 µg L⁻¹ per i corpi idrici con salinità >30 psu. (*ARPAE*)

Il contenuto di fosforo nell'acqua viene misurato in termini di fosforo totale o di fosforo disciolto. Sebbene le piante utilizzino il fosforo in forma disciolta, il fosforo totale è un buon indicatore della disponibilità di fosforo a lungo termine. Nei fiumi non inquinati, la concentrazione di fosforo totale è in genere inferiore a 25 µg L⁻¹. I minerali presenti naturalmente possono in alcuni casi determinare un certo aumento dei livelli, ma concentrazioni superiori a 50 µg L⁻¹ sono in genere imputabili alle attività umane. Tale livello viene superato in molto più della metà del totale delle stazioni di campionamento. Concentrazioni di fosforo disciolto superiori a 100 µg L⁻¹ possono dare luogo a una saturazione dell'acqua da parte di alghe e piante acquatiche che causano una forma di inquinamento organico secondario. (*AEA-ETC/IW- Agenzia Europea dell'ambiente-Centro Tematico Europeo sulle Acque Interne*)

Le acque reflue municipali possono contenere da 5 a 20 mg L⁻¹ di fosforo totale, di cui 1-5 mg L⁻¹ sono organico ed il resto è inorganico. Il contributo individuale tende ad aumentare, in quanto il fosforo è uno dei maggiori costituenti dei detergenti sintetici.

Il fosforo contenuto nelle acque reflue si riscontra normalmente in queste tre specie chimiche:

Ortofosfati: con la formula PO_4^{3-} , sono disponibili per il metabolismo biologico senza ulteriori scissioni

Polifosfati: molecole con due o più atomi di fosforo, atomi di ossigeno e qualche volta idrogeno, combinati in una molecola complessa ad esempio il trifosfato pentasodico, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$. Solitamente i fosfati vanno incontro ad idrolisi e si trasformano in ortofosfati, ma il processo è in genere piuttosto lento.

Fosfati organici: provenienti dai pesticidi, costituiti prevalentemente da esteri dell'acido ortofosforico che derivano da escrementi e residui di cibo o a seguito della scissione di pesticidi organici contenenti fosfati come il dietilestere dell'acido fosforico, ad esempio, acido 3-fosfoglicerico ($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_7\text{P}$).

Generalmente, tutte queste forme vengono ricondotte alla forma di ortofosfato in quanto, in soluzione, i polifosfati e i fosfati organici si idrolizzano più o meno velocemente dando origine a ortofosfati (PO_4^{3-}).

Gran parte dei problemi derivanti dalla presenza di questo anione inorganico nelle acque sono correlati alle fioriture algali. Nella maggior parte delle acque il fosforo agisce infatti come fattore che limita la crescita dei vegetali perché, in genere, esso è presente in concentrazioni molto basse. Poiché le alghe

richiedono solo piccole quantità di fosforo per vivere, un eccesso di fosforo può provocare una forte crescita algale, detta “fioritura”.

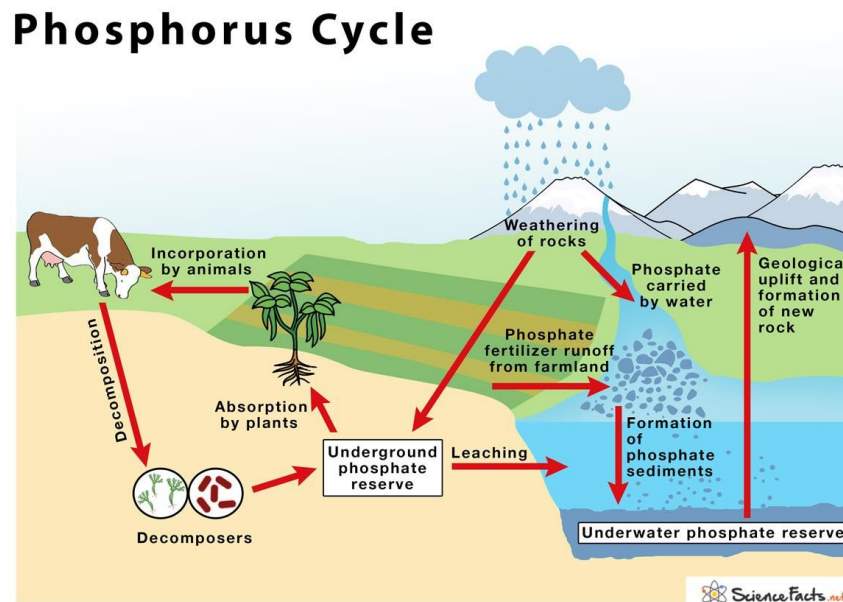


Figura 4. Ciclo del fosforo

Nelle acque marine ci sono prevalentemente 5 classi di P organico: (DS Baldwin, 2013)

- Acidi Nucleici (DNA, RNA). I nucleotidi sono il monomero costituente gli acidi nucleici. Sono caratterizzati da uno zucchero (generalmente mono o disaccaride), una base azotata ed un gruppo fosfato (PO_4^{2-}): per questo motivo ritroviamo gruppi fosfato in Adenina, Guanina, Citosina, Uracile e Timina.
- Altri Nucleotidi (ATP, GTP, AMP). Questi nucleotidi generano dei picchi in concentrazione in corrispondenza di bloom algali. Sono

composti la cui degradazione libera molta energia, direttamente utilizzabile dagli organismi (es. ATP).

- Inositolo fosfato (mioinoisitolato fosfato): il mioinoisitolato esafosfato è l'elemento predominante (myo-IHP), e rappresenta il principale composto di accumulo di fosforo nelle piante, specialmente nei semi.
- Fosfolipidi: componenti essenziali delle membrane cellulari, contengono gruppi fosfato mono o di-esteri nelle teste polari della molecola.
- Fosfonati (Phosphonates): i fosfonati sono composti organici di P che hanno legami diretti C-P. questa classe è in aumento grazie alla produzione artificiale di fosfonati sintetici, come il Glifosato, N-(fosfometil) glicina, noto erbicida.

1.2.7 Fattore limitante

Nell'ottocento il chimico e agronomo Justus von Liebig (*Darmstadt, 1803 – Monaco, 1873*), in relazione allo sviluppo vegetale, evidenzia che *“La crescita dei vegetali è determinata dall'elemento che è presente in quantità minore rispetto ai fabbisogni”* (legge del minimo di Liebig). In genere è uno solo il sale nutriente che limita la crescita di una pianta, in particolare quel nutriente che è presente in minore quantità nell'ambiente (acqua o terreno) rispetto alle necessità della pianta.

Tale fattore è detto fattore limitante perché determina il limite massimo di crescita delle popolazioni.

Nel caso del fitoplancton sono presenti i rapporti atomici tra carbonio, azoto e fosforo dati dal rapporto di Redfield (Redfield ratio): C: N:P=106:16:1 (*M Pahlow et al.,2000*). Il rapporto tra questi elementi nella biomassa fitoplanctonica viene espresso in moli e ovviamente rimane uguale. Il fitoplancton attinge questi elementi dall'ambiente circostante in questo stesso rapporto e la sua crescita si fermerà quando avrà consumato uno di essi. Una concentrazione carente, nell'ambiente, di un solo elemento del rapporto di Redfield è sufficiente per limitare la crescita del fitoplancton (legge di Liebig).

Il carbonio (C) non costituisce un fattore limitante in quanto le fonti di generazione (rifornimento di CO₂ dall'atmosfera, processi respiratori, carbonati) sono sempre sufficienti a sostenere crescite fitoplanctoniche elevate.

Perciò per l'individuazione del fattore nutritivo limitante va esaminato il rapporto N:P, in quanto la disponibilità di essi negli ecosistemi acquatici controlla o limita la formazione della biomassa (*Paerl 2009*). Se il rapporto N:P in un ambiente acquatico è superiore a 16 si afferma che il fosforo è il fattore limitante per la crescita algale e l'azoto in eccesso presente nelle acque non può essere utilizzato dalle alghe. Viceversa, un rapporto N:P minore di 16 indica che il fattore limitante è rappresentato dall'azoto.

Il mare Adriatico è caratterizzato da concentrazioni molto basse di fosforo inorganico con il rapporto N:P significativamente maggiore al rapporto di Redfield (N:P=16:1) e parecchi studi hanno indicato che sia il mare Mediterraneo che il mare Adriatico sono fosforo limitati.

Tra azoto e fosforo, è sostanzialmente il fosforo ad essere il fattore limitante la produzione primaria in ambienti lacustri. Infatti, in condizioni non perturbate dall'uomo, l'apporto di fosforo ai laghi è piuttosto piccolo, poiché vi è poco fosforo non solo nelle precipitazioni, ma anche negli afflussi superficiali, essendo il fosforo trattenuto dalla vegetazione e da reazioni chimiche nel suolo. È raro che l'azoto diventi limitante: una diminuzione della concentrazione di nitrati può verificarsi a causa del processo di denitrificazione, cioè di riduzione dello ione nitrato ad azoto atmosferico operato da alcuni batteri specializzati.

1.2.8 Indice TRIX

L'indice TRIX definisce lo stato di qualità ambientale delle acque marino-costiere sulla base di parametri che correlano la crescita algale con la presenza di nutrienti quali azoto e fosforo. L'indice è stato incluso nel D.Lgs 152/99 ed è un valore obbligatorio per la classificazione delle acque in termini di qualità ambientale. È attualmente in uso in tutte le regioni italiane e nel corso degli anni sta venendo valutato anche dagli altri Stati Membri dell'UE.

Il TRIX per rappresentare le condizioni trofiche di una data area di mare, si avvale di una serie di parametri fondamentali, quali: (*F GIOVANARDI, RA Vollenweider- 2004*)

1. Fattori che sono diretta espressione di produttività:

- Ossigeno disciolto: $|D\%O|$ come deviazione in valore assoluto della saturazione di ossigeno dal 100%. È un ottimo indicatore dell'intensità della produzione del sistema in quanto dipende sia dall'attività fotosintetica degli organismi sia dai processi di respirazione.
- Clorofilla "a": Cha, espressa in $\mu\text{g L}^{-1}$. La clorofilla "a" è il principale pigmento fotosintetico presente negli organismi fitoplanctonici, di conseguenza è un ottimo indicatore misurabile, sostitutivo della biomassa ed indice di produttività.

2. Fattori nutrizionali:

a) Totali

- Azoto totale: [NT: mg m^{-3}] - Fosforo totale: [PT: mg m^{-3}]

b) Disponibili

- Azoto inorganico disciolto come $\text{N}-(\text{NO}_3+\text{NO}_2+\text{NH}_3)$: [DIN = Min N: mg m^{-3}]
- Fosforo inorganico disciolto come P- PO_4 : [DIP = P- PO_4 : mg m^{-3}]

3. Fattore supplementare di qualità delle acque:

- Trasparenza

L'indice di stato trofico TRIX, come da allegato 1 del D.Lgs 152/99, è calcolato sulla base delle concentrazioni di clorofilla “a”, azoto inorganico, fosforo totale e ossigeno disciolto, secondo la formula:

$$\text{Indice Trofico TRIX} = [\text{Log}(\text{Cha} \cdot \text{OD}\% \cdot \text{N} \cdot \text{P}) - (-1.5)] / 1.2$$

Cha = clorofilla “a” ($\mu\text{g dm}^{-3}$)

D%O = ossigeno disciolto come deviazione % assoluta della saturazione (100-O₂D%)

N = azoto inorganico disciolto, P = fosforo totale ($\mu\text{g dm}^{-3}$)

Ai fini dell'applicazione dell'indice trofico TRIX, nella classificazione dello stato ecologico delle acque marino costiere, il DM 260/10 definisce i limiti di classe per il TRIX. Per le acque marino costiere il limite di classe per il TRIX fra lo stato “buono” e “sufficiente” è 5.

Valori di TRIX < 5 indicano uno stato trofico “Buono”, che corrisponde ad acque moderatamente produttive, livello di trofia media, buona trasparenza delle acque, occasionali intorbidimenti, occasionali anomale colorazioni, occasionali ipossie sul fondo.

Valori di $TRIX \geq 5$ indicano uno stato trofico “Sufficiente”, che corrisponde ad acque molto produttive, livello di trofia elevato, scarsa trasparenza delle acque, anomale colorazioni, ipossie e occasionali anossie sul fondo, stati di sofferenza degli organismi sul fondo.

1.2.9 Valori limiti di emissione di nutrienti in acque superficiali e in fognatura

Ai fini dell’eliminazione dei fenomeni di inquinamento diventa importante la gestione delle acque reflue. Il trattamento delle acque di scarico è il processo di rimozione dei contaminanti da un’acqua reflua di origine urbana o industriale, ovvero di un effluente che è stato contaminato da inquinanti organici e/o inorganici.

La disciplina degli scarichi è trattata nella parte terza del D.Lgs 152/06 in allegato 5. Questa disciplina individua il rispetto dei limiti di legge per le acque di scarico da attività civili e industriali, il controllo e la corretta gestione degli impianti di depurazione specificando che il trattamento e l’uso razionale delle acque di processo richiedono forte impegno di gestione tecnica e procedurale.

La tabella 1 indica i limiti di legge di emissione dei nutrienti nelle acque superficiali e in fognatura.

Tabella 1. Valori limite di emissione dei nutrienti in acque superficiali e in fognatura

Parametri	Unità di misura	Scarico in acque superficiali	Scarico in rete fognaria
Fosforo totale (come P)	mg/L	≤10	≤10
Azoto ammoniacale (come NH ₄)	mg/L	≤15	≤30
Azoto nitroso (come N)	mg/L	≤0,6	≤0,6
Azoto nitrico (come N)	mg/L	≤20	≤30

1.3 Metalli pesanti

Ad oggi, non è ancora disponibile una chiara definizione del termine "metalli pesanti". Il termine è stato ampiamente usato in chimica, ma nessuna autorità come l'Unione Internazionale di Chimica Pura e Applicata (IUPAC) lo ha mai definito (*JH Duffus, 2002*). Anche se il suo uso è fortemente scoraggiato, il termine è sempre più usato nella letteratura scientifica specialmente negli articoli relativi a questioni ambientali multidisciplinari (*O Porret et al., 2019*). Su base chimica, il gruppo di HMs (heavy metals) comprende tutti gli elementi di transizione (blocco d della tavola periodica), gli elementi delle terre rare (la serie di lantanidi e la serie di attinidi, compresi gli stessi La e Ac), e tutti gli elementi che presentano le caratteristiche tipiche dei metalli (blocco p), insieme

ad alcuni metalloidi (Ge, As e Te) e alcuni non metalli (Se) (*JH Duffus, 2002, KJ Appenroth, 2010*).

Alcuni metalli pesanti (ad esempio Fe, Cu, Co, Mn e Zn) sono elementi essenziali per gli organismi, giocando ruoli chiave nel funzionamento dei sistemi enzimatici. I metalli, in modo particolare quelli essenziali, sono presenti nel corpo umano in concentrazioni molto basse, nell'ordine di ppb (parti per miliardo), sono pertanto definiti oligoelementi o elementi in traccia. Gli oligoelementi essenziali devono essere presenti nei tessuti in concentrazioni costanti, carenze alimentari possono provocare alterazioni strutturali e fisiologiche analoghe in più specie animali. Le funzioni svolte dagli elementi in traccia sono varie: stabiliscono le differenze di potenziale attraverso le membrane, consentono reazioni enzimatiche di ossidoriduzione, agiscono come cofattori di reazioni enzimatiche e mantengono la struttura di proteine e ormoni (*Costantini et al., 2016*). Tuttavia, alte concentrazioni inducono effetti dannosi negli organismi e nell'ambiente. Altri metalli (ad esempio, Al, As, Ba, Bi, Cd, Pb, Hg, Ni, Pt e Ag) non hanno funzioni biologiche specifiche e sono considerati metalli non essenziali (*LW Chang et al., 1996*).

1.3.1 Fonti di generazione di metalli pesanti

Diverse possono essere le fonti di metalli pesanti in mare; queste possono avere sia origine naturale che antropica (*Modaihsh et al., 2004, Chehregani and*

Malayeri, 2007, Fulekar et al., 2009, Sabiha-Javied et al., 2009, Wuana and Okieimen, 2011).

Le fonti naturali sono rappresentate da:

- erosione geologica (delle rocce);
- eruzioni vulcaniche (sorgenti di alcuni metalli).

Le fonti antropiche sono:

- effluenti industriali (raffinerie, acciaierie, fertilizzanti, materie plastiche, industria fotografica, concia delle pelli, pitture...);
- scarichi domestici, dilavamento dei suoli;
- deposizioni atmosferiche (per sostanze volatili come ad esempio il Hg⁰);
- apporti fluviali.

I metalli, a differenza degli altri composti analizzati durante questa ricerca, non sono degradabili (*MS Islam, M Tanaka, 2004*). Per questo motivo sono considerati una fonte di inquinamento tra le più pericolose negli ecosistemi acquatici chiusi, come laghi e lagune. Questi metalli includono, in ordine decrescente di tossicità (*Davies, 1978*): mercurio, cadmio, argento, nichel, selenio, piombo, rame, cromo, arsenico e zinco.

Per valutare la reattività fisica, la biodisponibilità e la tossicità degli elementi in tracce, è essenziale studiare la speciazione degli elementi stessi. Il termine "speciazione chimica" è stato definito nelle "Raccomandazioni IUPAC 2000" come la forma specifica di un elemento: composizione isotopica, stato di ossidazione e struttura complessa o molecolare. Si può affermare che la formazione di complessi del metallo svolge un ruolo significativo nei confronti dei comportamenti biogeochimici negli ambienti marini (*Hirose, 2006*). I fenomeni di speciazione sono particolarmente importanti perché possono implicare o la detossificazione del composto o addirittura l'attivazione dell'elemento. I metalli presenti nelle acque più superficiali derivano dall'erosione di fonti naturali, dall'apporto dovuto alle precipitazioni atmosferiche e dall'attività industriale (*Goyer, 1993*).

I metalli pesanti, essendo sostanze xenobiotiche, sono riconosciuti come tali dall'organismo e possono essere soggetti a bioaccumulo e biomagnificazione. Il bioaccumulo è definito come l'assorbimento di una sostanza chimica da parte di un organismo dall'ambiente abiotico o biotico. Una volta che i contaminanti si trovano all'interno di un organismo, possono essere metabolizzati e/o escreti in modo che la concentrazione sia in equilibrio tra assunzione ed escrezione (*Diener et al., 2015*). La biomagnificazione è il processo in cui le sostanze xenobiotiche vengono trasferite dal cibo a un organismo con concentrazioni

risultanti più elevate rispetto alla fonte. Entrambi i fenomeni non avvengono sempre negli ecosistemi marini; infatti, spesso i metalli vengono eliminati dagli organismi, e soltanto per alcuni sono noti fenomeni di biomagnificazione (Hg) eliminazione (Gray, 2002).

1.3.2 Arsenico

L'arsenico (As) è un elemento moderatamente tossico, naturalmente abbondante, senza ruoli nutrizionali o metabolici noti. L'arsenico esiste come costituente principale in più di 200 minerali, dei quali approssimativamente il 60% sono arseniati, il 20% solfati e il restante 20% arseniti, ossidi, silicati ed arsenico elementare (BK Mandal et al.,2002). I minerali più comuni sono arsenopirite (FeAsS), realgar (As₄S₄), orpimento (As₂S₃) ed enargite (Cu₃AsS₄) nei quali è associato con lo zolfo (D Lukasz et al.,2014).

L'arsenico elementare si trova in due diverse forme solide; gialla e grigia/metallica (figura 5.6), le cui densità relative sono rispettivamente 1,97 e 5,73 g cm⁻³.

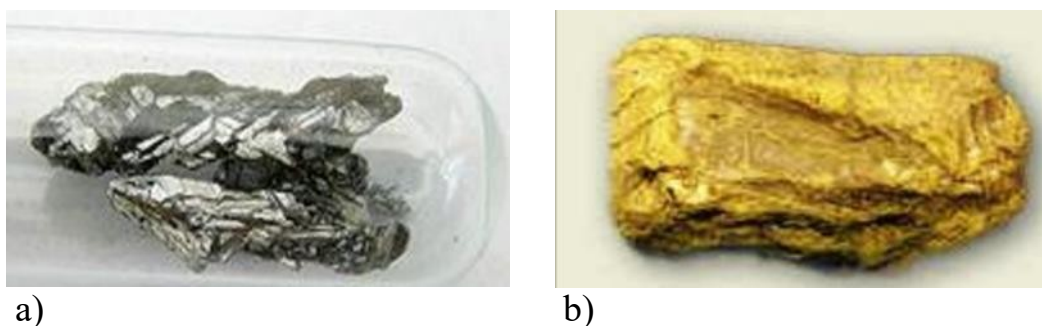


Figura 5.6- L'arsenico nelle sue due principali forme allotropiche: (a) grigia; (b) gialla

L'arsenico può essere rinvenuto in natura sia in forme organiche che inorganiche. Le forme inorganiche sono costituite principalmente da arsenite, mentre l'arseniato è tossico per la salute umana (*Mazumder, 2008*). Generalmente l'arsenite è più tossica dell'arsenato (*EA Rangel-Montoya et al., 2015*). La tossicità dell'arsenico dipende quindi dalla sua forma. I composti organici dell'As sono meno tossici dei composti inorganici (*Bissen and Frimmel, 2003*).

Il triossido di arsenico (As_2O_3) è l'arsenico inorganico più diffuso nell'aria, mentre una varietà di arseniati inorganici (AsO_4^{3-}) o arseniti (AsO_2^-) si trovano in acqua, suolo e cibo. In soluzione acquosa si formano i corrispondenti acidi, arsenioso (H_3AsO_3) per As (III) e arsenico (H_3AsO_4) per As (V). La conversione dall'acido arsenioso a quello arsenico può avvenire facilmente perché lo stato di ossidazione +5 è quello termodinamicamente più stabile.

Le principali fonti naturali di arsenico atmosferico sono l'erosione del suolo, le emissioni vulcaniche (3000 ton/anno) e il rilascio di metilarsine volatili da parte di microorganismi (20000 ton/anno) (INAIL 2010). Il ciclo atmosferico si conclude con la deposizione secca e umida sulla superficie (*Balakrishna 2011*). A meno che non siano significativamente contaminate da fonti industriali, le precipitazioni atmosferiche contribuiscono poco all'arricchimento in As dei corpi d'acqua superficiali e sotterranei (*Smedley 2006*).

La maggior parte dei mammiferi metabolizza l'arsenico inorganico mediante metilazione in acido metilarsonico (MMA) e acido dimetilarsinico (DMA). Questi prodotti sono meno reattivi con i costituenti dei tessuti e sono più facilmente escreti nelle urine rispetto all'arsenico inorganico. La metilazione agisce quindi come meccanismo di detossificazione (*Vahter, 2002*).

Le acque presentano concentrazioni tipicamente inferiori al valore guida di 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ consigliato dalla WHO, tuttavia esistono numerosi casi documentati di acque contaminate da arsenico (*Smedley 2006*). Generalmente le acque superficiali presentano concentrazioni minori delle acque sotterranee in quanto quest'ultime hanno maggiori interazioni con l'acquifero. Le acque marine generalmente, sono povere in arsenico, le concentrazioni media è di 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (*Sturchio et al., 2009*). Solo una piccolissima quota dell'arsenico totale presente nei mari rimane disciolto nell'acqua, la maggior parte, infatti si lega alle particelle di materiale in sospensione (*Mandal B.K. e Suzuki K.T., 2002*). L'importanza della presenza di arsenico in soluzione acquosa e della sua speciazione, non è limitata ai corpi idrici propriamente detti, ma va estesa anche alle soluzioni circolanti nei suoli. In questo caso la speciazione sarà il risultato delle condizioni chimico-fisiche della soluzione circolante, a sua volta influenzata dalle caratteristiche del substrato in cui si trova (*PL Smedley 2008*).

1.3.3 Cadmio

Il cadmio (Cd) è un elemento metallico di colore bianco-argenteo (figura 7), duttile e malleabile, di simbolo Cd e numero atomico 48; è uno degli elementi di transizione ed appartiene al gruppo IIB (o 12) della tavola periodica (E Addae 2013).

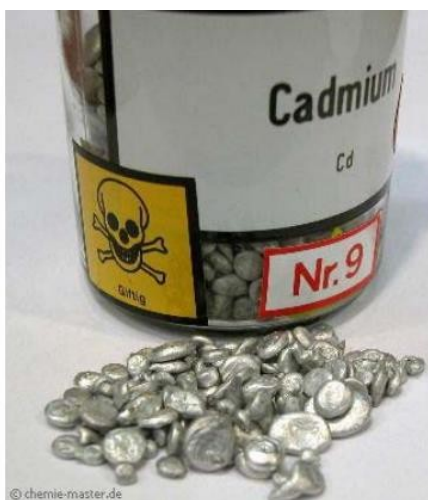


Figura 7. Cadmio

Il cadmio fu scoperto in Germania nel 1817 da F. Stromejer in un campione del minerale calamina; la parola cadmio deriva dal latino “cadmia” e dal greco “kadmeia” ovvero calamina o cadmia. È uno dei metalli più tossici per l’uomo (MP Waalkes, 2003): la sua solubilità in acqua lo rende disponibile all’assorbimento da parte delle piante ed entra quindi facilmente nella catena alimentare.

A temperatura ambiente viene attaccato facilmente dagli acidi, anche deboli, si discioglie nelle soluzioni concentrate dei sali di ammonio con formazione di un complesso, reagisce con ammoniaca e con biossido di zolfo, e all'aria umida

perde la propria lucentezza ricoprendosi lentamente di uno strato superficiale di ossido che lo protegge da un attacco in profondità.

A temperature elevate brucia all'aria formando l'ossido, reagisce con vapor d'acqua, si combina direttamente con lo zolfo (*H Mohamed, 2013*), con gli alogeni e con il fosforo e l'arsenico. Fonde a 321 °C, bolle a 765 °C, ha densità relativa 8,64 e peso atomico 112,412. A temperatura ambiente si conserva inalterato per lungo tempo, ma se riscaldato in presenza d'aria si incendia facilmente e si trasforma nel corrispondente ossido, CdO, generando una fiamma brillante.

La tossicità del Cd per le specie acquatiche dipende dalla speciazione; la concentrazione di Cd nei tessuti è proporzionale alla biodisponibilità. La tossicità è ridotta dalla complessazione di Cd da parte di anioni inorganici e organici.

Il cadmio è stato classificato come ottavo nella Top 20 dell'elenco delle sostanze pericolose (*ATSDR, 1999*) e l'attività umana ha aumentato notevolmente la distribuzione del Cd nell'ambiente globale. Infatti, le fonti principale di assunzione da parte dell'uomo sono il cibo ed il fumo (*Jarup, 2003*).

Il Cd è presente in tracce nei fertilizzanti inorganici a base di P, deriva inoltre dai processi industriali, emissioni da auto e acque di scarico. Inoltre, questo metallo pesante è usato come stabilizzante nei prodotti del PVC, come pigmento nei coloranti (nello specifico si usa solfuro di cadmio) e recentemente anche in alcune batterie ricaricabili di nickel-cadmio; la cadmiatura, cioè il rivestimento di un materiale metallico con cadmio, è usata per l'anticorrosione dello stesso.

Il cadmio esercita effetti tossici in differenti modi: è altamente reattivo con i gruppi tiolici di proteine, può sostituire lo zinco in alcuni enzimi e compete con il calcio sia nei canali dello stesso che nelle proteine leganti il calcio intracellulare. Il cadmio induce inoltre la sintesi di metallotioneine. Alcuni studi suggeriscono che il cadmio sfrutti i canali del calcio voltaggio-dipendenti per l'ingresso nella cellula (*Hinkle et al., 1987*).

È assorbito facilmente grazie alla sua mobilità e alla solubilità in acqua, per cui si distribuisce in ambiente, entra facilmente nelle radici delle piante e attraverso lo xilema, complessato con acidi organici o fitochelatine, raggiunge le parti aeree (*Dal Corso et al., 2008*). La tossicità del cadmio è dovuta alla sua capacità di interferire con il metabolismo dello zinco e di reagire con i gruppi sulfidrilici delle proteine, oltre che di danneggiare la membrana cellulare (*Barbieri and Bestetti, 2008*); inoltre, fattore di alto rischio è anche la produzione di ROS

(specie reattive dell'ossigeno) come sottoprodotti di vie metaboliche interferite dalla presenza del metallo, che portano al danneggiamento dei lipidi di membrana e alla perdita di ioni e quindi a stress ossidativo (*Uruç et al., 2013*).

La concentrazione del cadmio nelle acque marine varia tra 0.01-0.1 ppb.

La sindrome di Itai itai, malattia che è legata all'esposizione da Cd e che comporta seri danni all'apparato scheletrico, fu descritta per la prima volta nel 1970 in Giappone, quando alcune acque di scarico ricche di Cd contaminarono campi agricoli raggiungendo piante edibili e quindi l'uomo (*T Inaba et al., 2005*).

1.3.4 Mercurio

Mercurio (Hg) deriva dalla parola latina "hydrargyrus" che significa "argento liquido" o "argento veloce". È un metallo che presenta proprietà uniche: è l'unico metallo liquido (figura 8) a temperatura ambiente e i legami tra gli atomi hanno una bassa energia, determinando bassi punti di fusione (38.91° C) ed ebollizione (356.581° C) e una volatilità più elevata rispetto ad altri metalli (*JD Blum, 2013*).



Figura 8. Mercurio proveniente da un termometro

Il mercurio è stato impiegato a lungo in vari settori, come catalizzatore per reazioni chimiche (Zhu *et al.*, 2015), per la produzione di amalgame dentali (Guzzi *et al.* 2006) e come conservante in prodotti cosmetici e farmaceutici (Barregard *et al.*, 2011). È usato in termometri, barometri, sfigmomanometri, coulombometri, pompe a diffusione (e molti altri strumenti da laboratorio) e in interruttori, elettrodi e pile. In campo medico, l'amalgama di mercurio è stato ampiamente utilizzato per realizzare otturazioni dentali. Nell'industria chimica il mercurio (nelle cosiddette "celle a mercurio") si utilizza per condurre l'elettrolisi di cloruro di sodio in acqua, come componente del liquido di raffreddamento in alcuni tipi di centrale elettronucleare e per realizzare telescopi a specchio liquido. Inoltre, i vapori di mercurio sono utilizzati in diversi tipi di lampade a fluorescenza (C Raposo *et al.*, 2003).

Oltre al mercurio come tale, numerosi suoi composti chimici vengono usati come catalizzatori, coloranti, insetticidi, erbicidi e farmaci, anche se al giorno

d'oggi molti di questi composti sono stati vietati poiché altamente tossici (*WHO, 2010*).

Fino al 90% del Hg presente nei reflui industriali può essere associato alle particelle in sospensione mentre la restante parte è in forma disciolta (*MASER TI & FERRARA, 1991*). La produzione delle vernici, la lavorazione del legno o della carta (*SMITH & LORING, 1981; CRAIG & MORETON, 1983*) e i processi industriali che utilizzano il mercurio elementare come elettrodo nelle celle elettrolitiche per la produzione di cloro e di soda caustica (*BOTHNER ET AL., 1980; RAE & ASTON, 1981; BALDI & BARGAGLI, 1984; KROM ET AL., 1994*), sono stati in passato tra quelli maggiormente imputati nel contribuire alla diffusione di Hg antropogenico nell'ambiente. In agricoltura, l'utilizzo per decenni di fungicidi contenenti composti organici ed altamente tossici di Hg (*LACERDA ET AL., 1993*) o, in generale, di antiparassitari a base di cloruro di Hg, hanno determinato ad aumentarne i tenori nei terreni agricoli e quindi anche nelle acque di dilavamento superficiale da essi provenienti.

La principale fonte di Hg nell'oceano proviene dalla deposizione atmosferica (*Mason et al., 1994a, Mason and Sheu, 2002, Sunderland and Mason, 2007, Soerensen et al., 2010*). Il mercurio è presente sia in forma disciolta che legata al particolato e comprende Hg⁰, Hg (II), MeHg (I) e dimetilmercurio (Me₂Hg), una forma non presente nelle acque dolci.

Negli anni '50 e '60 i tragici episodi di Minamata e Nigata in Giappone richiamarono per la prima volta l'attenzione della comunità internazionale sulla pericolosità dei composti mercuriferi. Il mercurio introdotto nell'ambiente marino attraverso gli scarichi incontrollati di alcuni impianti chimici che lo utilizzavano in qualità di catalizzatore nella produzione del PVC e dell'acetaldeide si trasformò nella forma metilata. Accumulatosi nei pesci attraverso la catena trofica marina, il metil-Hg produsse degli effetti devastanti sia sugli esseri umani che sugli animali, la cui alimentazione era esclusivamente basata sul consumo di pesce contaminato (*FUJIKI, 1980; GOLDBERG, 1992*).

Oggi è noto che la tossicità del mercurio sull'uomo è data principalmente dall'assunzione attraverso l'alimentazione di un composto organico del mercurio, il metilmercurio (MeHg).

La metilazione del mercurio è un processo che avviene in natura ad opera di diversi taxa batterici, soprattutto Gram negativi e Hg-resistenti (*Colwell et al., 1976*), i quali introducono così il metilmercurio nella rete trofica globale, sia in ambiente terrestre e sia in quello marino (*Buffoni et al., 1982; Bernhard, 1985*).

Le concentrazioni nell'acqua di mare sono $< 0.01 \mu\text{L}^{-1}$ (*Eisler, 1987*).

Il metilmercurio è uno dei pochi metalli noti per biomagnificare attraverso le reti alimentari ed è questo processo che comporta la presenza di concentrazioni

elevate e talvolta tossiche nei pesci, specialmente livelli superiori nella catena trofica (*Wood et al., 2012*).

Per quanto riguarda la tossicità acuta, i bersagli del metilmercurio si trovano a livello del sistema nervoso. L'apoptosi è la teoria proposta come meccanismo per la morte neuronale, in particolare delle cellule granulari nel cervelletto (*Nakamura et al., 1993*). Si ipotizza che l'assunzione continua di piccole dosi di metilmercurio, possa causare la malattia cronica di Minamata. Inoltre, anche piccole dosi possono lasciare lievi danni al cervello, poiché i quali possono accumularsi e provocare patologie, poichè possono accumularsi e provocare patologie evidenti anche dopo diversi anni dall' esposizione (*Eto, 2000*).

1.3.5 Valori limiti di emissione di metalli in acque superficiali e in fognatura.

La quantità massima di metalli che possono essere sversati nelle acque superficiali e fognarie è regolamentata in Italia dal Decreto legislativo 152/06. La tabella 2 indica i limiti di legge per i metalli in esame in acque superficiali e in fognatura.

Tabella 2. Limiti di legge per arsenico, cadmio e mercurio in acque superficiali e fognarie secondo il D.Lgs 152/06.

Parametri	Unità di misura	Scarico in acque superficiali	Scarico in rete fognaria
Arsenico (As)	mg/L	≤ 0,5	≤ 0,5
Cadmio (Cd)	mg/L	≤ 0,02	≤ 0,02
Mercurio (Hg)	mg/L	≤ 0,005	≤ 0,005

1.4 Caratteristiche del mar Adriatico

Il Mar Adriatico è un bacino semichiuso del Mar Mediterraneo compreso tra la penisola italiana ad Ovest e la penisola balcanica ad Est e collegato al Mediterraneo Orientale mediante il Canale di Otranto. È uno dei sottobacini principali del Mar Mediterraneo, ed estendendosi fino alla latitudine di 45°47' Nord ne costituisce la parte più settentrionale. Si contraddistingue per la sua forma stretta e allungata in direzione nord-ovest sud-est per una lunghezza di 800 km e per una larghezza di 200 km con una profondità media di 250 m ed una profondità massima di 1.200 m, possiede un'area superficiale di circa 138.600 km² ed un volume di circa 35.000 km³ (*Dolenec et al., 1998*).

Le caratteristiche biochimiche dell'Adriatico sono delineate da alcuni fattori principali: l'apporto di sostanze organiche, inorganiche e nutritive dai fiumi, la

forma semichiusa del bacino che limita gli scambi con il resto del Mediterraneo, la forte pressione antropica esercitata sulle aree costiere e le dinamiche degli ecosistemi in esso presenti.

La salinità è nel Mar Adriatico settentrionale minore (35‰) che nella sua parte meridionale (38‰) a causa dell'afflusso di acqua dolce proveniente da numerosi fiumi alpini e dal fiume Po. Le concentrazioni saline dipendono anche dai cambiamenti temporali: annuali (a causa dei quali d'estate la salinità è minore), semestrali (a causa dello scambio di masse d'acqua tra l'Adriatico e la parte orientale del Mar Mediterraneo) e di molti anni (si rileva un lieve aumento della salinità nel corso degli ultimi decenni).

La temperatura del mare è influenzata maggiormente dal flusso di calore superficiale, che porta al riscaldamento dell'Adriatico nel periodo caldo dell'anno e al suo raffreddamento nel periodo freddo dell'anno. D'inverno la temperatura superficiale dell'Adriatico settentrionale è minore di 8 °C (è stata anche registrata una temperatura attorno i 4 °C), mentre nell' Adriatico meridionale intorno ai 13 °C. La temperatura superficiale estiva è più uniforme e si aggira tra i 24 °C - 25 °C (massimo 28 °C). L'acqua negli strati più profondi dell'Adriatico è praticamente sempre più calda di 11-12 °C. L'Adriatico meridionale, durante l'inverno, è 8 - 10 °C più caldo rispetto alla parte centrale

e settentrionale e, in generale, il mare aperto è più caldo rispetto alle acque costiere orientali (*Gacic et al., 2001*).

1.4.1 Le correnti marine dell'Adriatico

Il Mar Adriatico ha un volume complessivo di circa 35.000 km³, rappresentato per circa un 5% dal bacino settentrionale, un 15% dalle acque del bacino centrale e il restante 80% dal bacino meridionale (*UNEP/MAP-RAC/SPA, 2015*). Si stima che il turnover, ovvero lo scambio dell'intero volume di acqua del mare Adriatico nel mare Mediterraneo avvenga in tempi molto rapidi, all'incirca in 3-4 anni (*Franić, 2005*), e i tempi di permanenza delle particelle alla deriva nel mare Adriatico sono stimati essere di circa 150-160 giorni (*Poulain e Hariri, 2013*).

Tre sono le masse di acqua principali presenti nel bacino Adriatico: le acque adriatiche superficiali o “Adriatic Surface Water (AdSW)”, le acque intermedie levantine o “Levantine Intermediate Water (LIW)” e le acque profonde adriatiche o “Adriatic Deep Water (AdDW)”. La circolazione è ciclonica e in senso antiorario, con almeno tre celle di circolazione chiusa (rispettivamente nei bacini settentrionale, centrale e meridionale) come mostrato nella figura 9.

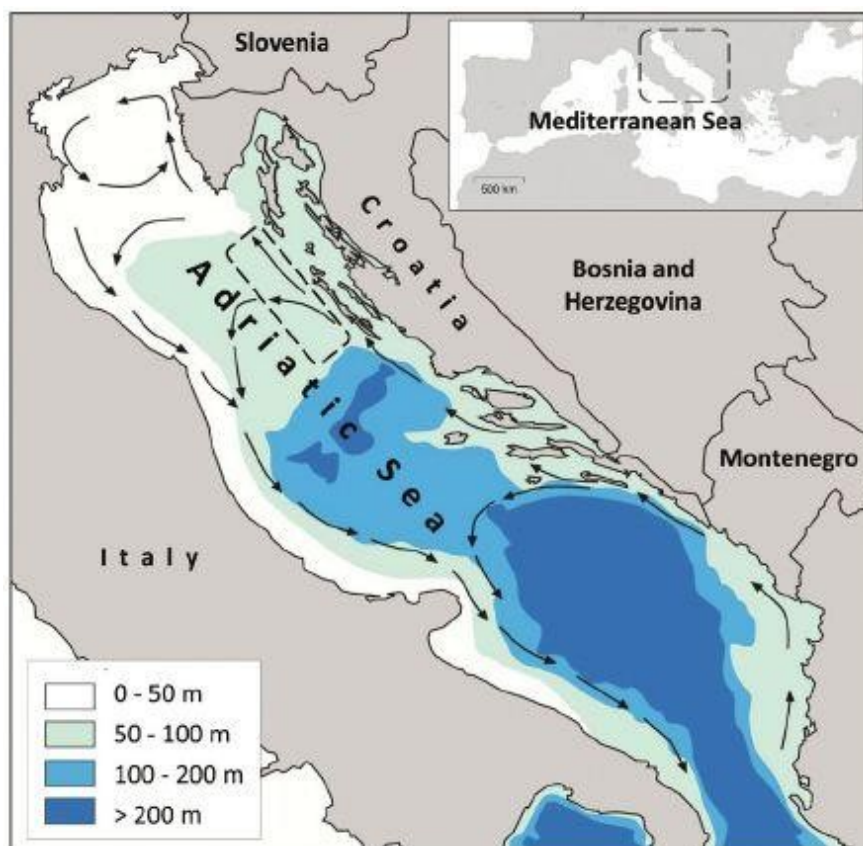


Figura 9. I principali tipi di circolazione presenti nel bacino nord, centro e sud Adriatico. La morfologia del fondo e le caratteristiche fisiche delle acque hanno portato la suddivisione convenzionale dell'area in tre sottobacini come indicato in figura 10 (Artegiani et al., 1997 e Kourafalou, 1999): l'Adriatico Settentrionale, Centrale e Meridionale.

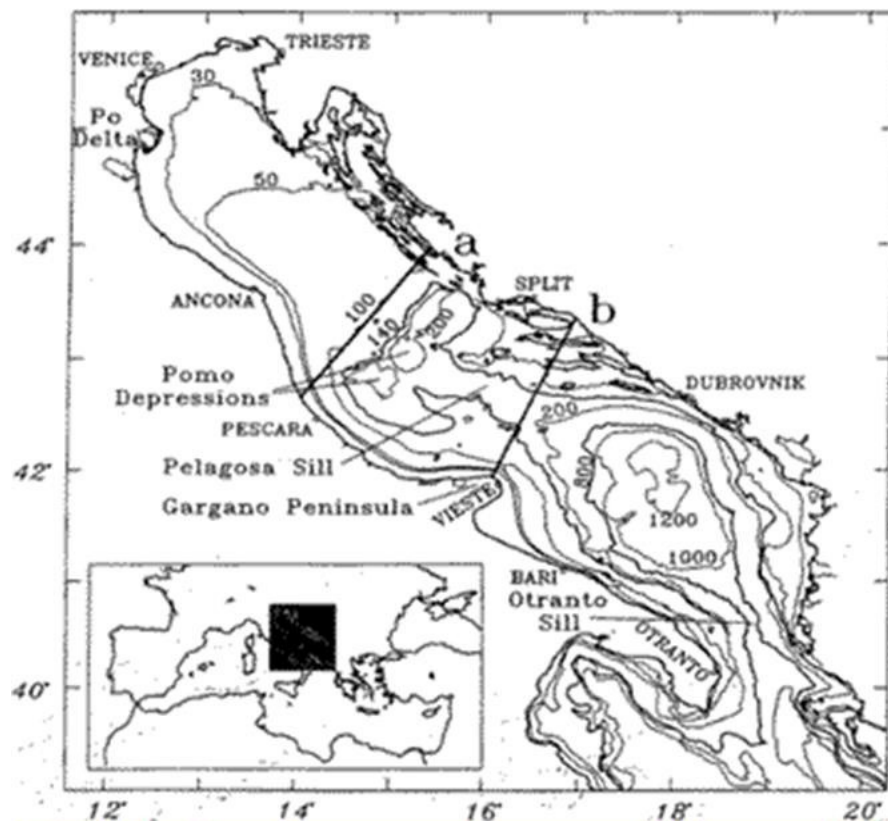


Figura 10. La carta batimetrica del Mare Adriatico: la linea a e b divide il mare Adriatico in tre sottobacini settentrionale, centrale, meridionale (Mod. da Artegiani et al., 1997b e Kourafalou, 1999).

Il bacino settentrionale è un sottobacino del Mar Adriatico, delimitato a Ovest dalla penisola italiana e a Est dai Balcani, rappresenta la parte più settentrionale del Mediterraneo (ad esclusione del Mar Nero), ed è caratterizzato da fondali bassi (con una profondità media di 35 m), regolari e gradualmente pendenti verso Sud-Est fino all'isobata dei 100 m (*M Bastianini et al., 2017; CNR., 2017*). L'alto Adriatico è sottoposto ad un ingente apporto di acque dolci dal fiume Po, che con il suo delta molto sviluppato caratterizza fortemente tutta la morfologia e l'idrodinamica della zona. Il Po influenza, inoltre, la temperatura superficiale apportando acqua più fredda di qualche grado di quella in loco. La

salinità varia da zero, alla bocca del fiume, fino a valori massimi attorno ai 38 psu dovuti invece all'arrivo di masse d'acqua più salate da sud, lungo la costa orientale.

Sulla base dei profili stagionali di temperatura e salinità e di diagrammi T-S sono state identificate in Adriatico tre principali tipi di acque (*Artegiani et al., 1997*): acque superficiali, acque profonde e acque levantine Intermedie Modificate (Modified Levantine Intermediate Water, MLIW).

Il bacino centrale, che da Ancona giunge sino al traverso dell'isola di Pianosa, presenta una profondità media un po' più elevata ed è caratterizzata dalla presenza della fossa medio adriatica "Fossa di Pomo" che raggiunge i 250 m di profondità. La colonna d'acqua dell'Adriatico Centrale presenta un diverso tipo di struttura stratificata. Sono presenti le Acque Superficiali (MAdSW) fino a 50 m di profondità, da 50 a 150 m si trovano invece le Acque Levantine Intermedie Modificale e oltre i 150 m nelle depressioni di Pomo, le Acque Profonde.

Il bacino meridionale è la zona più profonda di tutto il bacino, caratterizzato da un'estesa depressione che raggiunge i 1225 m di profondità. Il bacino meridionale presenta caratteristiche ecologiche e talassografiche del tutto peculiari che lo differenziano nettamente dal restante bacino Adriatico. Le sue acque, a causa dell'assenza di rilevanti apporti fluviali, si presentano

particolarmente trasparenti e povere di sali nutritivi. I fondali raggiungono profondità elevate; a sud del Gargano è ubicata la "Fossa del basso Adriatico" che è costituita da un'ampia depressione, con ripide pareti ed una estesa piattaforma alla profondità di circa 1.200 m. Nell'Adriatico Meridionale si riscontrano fino a 50 m le Acque Superficiali (SAdSW), da 150 a 400 m di profondità le MLIW e oltre gli 800 m le Acque Profonde (SAdDW).

2. SCOPO DELLA TESI

La ricerca condotta è parte del progetto europeo INTERREG Italia- Croazia “AdSWiM” (Managed use of treated urban wastewater for the quality of the Adriatic Sea) di cui l’Università Politecnica delle Marche è partner progettuale. Il progetto ha come obiettivo il miglioramento della qualità delle acque del mare Adriatico attraverso la gestione delle acque reflue (Waste Water) depurate dai rispetti impianti di depurazione (Depuration Plant) sversate in esso, al fine di raggiungere gli obiettivi di qualità riportati dalla Direttiva UE 2000/60/EC (Direttiva Europea sulla Qualità delle Acque). A tale scopo, tale ricerca mira a valutare se l’immissione in mare delle acque depurate possa influenzare l’apporto di nutrienti e metalli pesanti per l’ecosistema, alla luce della problematica dell’eutrofizzazione che affligge in modo notevole il nord Adriatico.

A tal proposito, sono stati determinati i livelli di nutrienti e metalli pesanti sia nelle acque reflue depurate che nelle acque marine di diversi impianti di depurazione. I siti monitorati sono ubicati nel Golfo di Marano (Udine) in Italia e nei pressi delle città di Zara e Spalato in Croazia.

Lo scopo di questa tesi è acquisire informazioni sull’ impatto che lo scarico delle acque reflue depurate ha sui livelli di nutrienti e metalli in ambiente marino al fine di migliorare la qualità delle acque di balneazione.

3. MATERIALI E METODI

In questo lavoro di tesi sono state determinate le concentrazioni di nutrienti quali azoto nitrico (N-NO₃), azoto nitroso (N-NO₂), azoto ammoniacale (N-NH₃), fosforo organico ed inorganico come ortofosfato (P-PO₄³⁻) e silicati (Si-SiO₂) ed i livelli di metalli pesanti quali cadmio (Cd), mercurio (Hg) e arsenico (As) nei campioni delle acque reflue depurate e nelle acque di mare delle rispettive aree di studio. Per l'analisi dei nutrienti è stata utilizzata la colorimetrica mentre per l'analisi dei metalli in traccia è stata utilizzata la tecnica spettrofotometrica di fluorescenza atomica.

3.1 Siti di campionamento

Nell'ambito del progetto AdSWiM sono stati identificati cinque siti di campionamento nel Adriatico settentrionale e centrale: due siti nella Laguna di Marano (Lignano Sabbiadoro e San Giorgio di Nogaro), un sito nella città di Zara (depuratore UPOV Centar) e due nella città di Spalato (depuratore Katalinića Brig e depuratore Stupe) (Figura 11).

Per ogni sito è stato prelevato un campione direttamente a valle dallo scarico dell'impianto di depurazione (indicato di seguito con sigla DP, *depuration plant*) e un campione di acqua di mare in prossimità della fuoriuscita dalle condotte di scarico (indicato con sigla *sea*).

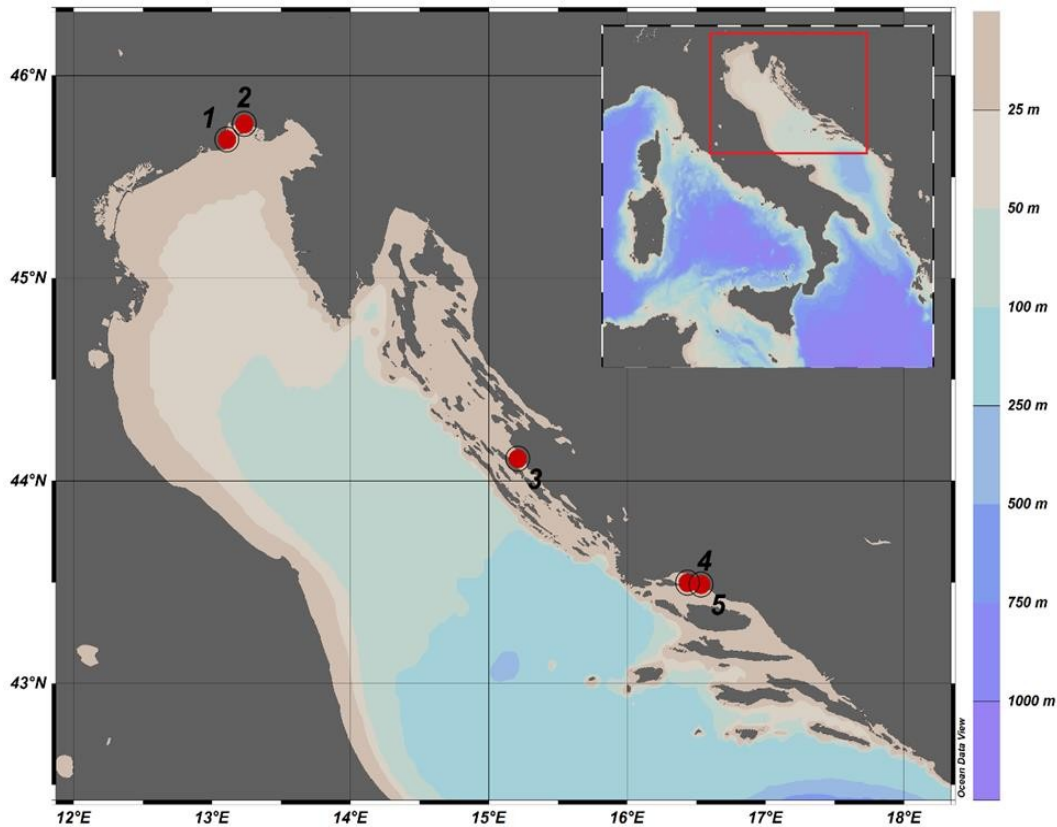


Figura 11. Rappresentazione dei punti di campionamento nella provincia di Udine e in Croazia.

1) Lignano Sabbiadoro 2), San Giorgio di Nogaro, 3) Zara, 4) Spalato 1, 5) Spalato 2

3.1.1 Costa Italiana

I due siti della Laguna di Marano ricadono all'interno della provincia di Udine e sono, rispettivamente, Lignano Sabbiadoro e San Giorgio di Nogaro. In questi punti, a differenza di quelli lungo la costa croata, il lavoro di tesi ha previsto una caratterizzazione sia del livello dei nutrienti che di quello di metalli in fase disciolta in campioni prelevati all'interno del depuratore (post trattamento di depurazione) ed in ambiente marino in prossimità dei punti di scarico dei reflui stessi, indicati nella figura 12.



Figura 12. Costa Italiana, visuale complessiva dei siti di campionamento della città di Udine: Lignano DP (13.107832E, 45.684943N), Lignano sea (13.1708E, 45.64305N) e San Giorgio DP (13.232233E, 45.76189N), San Giorgio sea (13.242984E, 45.655317N).

Questi siti sono caratterizzati da un fondale poco profondo (circa 15 m) e da costa piatta e sabbiosa, grazie anche alle alte temperature estive queste caratteristiche hanno favorito lo sviluppo delle attività turistiche, in special modo nella località di Lignano dove, durante i mesi più caldi, la popolazione aumenta considerevolmente, incrementando il carico dei reflui in ingresso nei depuratori stessi (*P Saccon et al., 2013*).

I due depuratori utilizzano la stessa tipologia di trattamento, costituita da un trattamento meccanico - biologico a fanghi attivi e chimico di disinfezione.

- Il depuratore di San Giorgio di Nogaro è stato progettato per trattare i reflui provenienti da 700.000 abitanti equivalenti (riceve oggi reflui per circa 140.000 abitanti equivalenti) pari a circa 83.000 m^3 di reflui, costituiti da scarichi di natura principalmente industriali. Qui vengono trattati i reflui provenienti dalla zona Industriale Aussa- Corno oltre alle acque reflue urbane provenienti dai comuni di Carlino, Cervignano del Friuli, Marano Lagunare, Muzzana Turgnano, San Giorgio di Nogaro e Torviscosa. Gli outflow del processo depurativo vengono scaricati a mare attraverso una condotta translagunare della lunghezza totale di circa 12 Km rispetto all'argine maestro di cui circa 5 in laguna e circa 7 in mare aperto e si conclude con un diffusore marino ad Y, dotato di numerosi torrini di dispersione.
- Il depuratore di Lignano Sabbiadoro è progettato per la gestione dei reflui di 250.000 abitanti equivalenti e raccoglie i reflui provenienti dalle zone abitate e quelle industriali. L'impianto è costituito da una tubazione di scarico che si estende per 9.9 km di lunghezza, dei quali 2.5 km sono In-shore ed i restanti 7.5 km sono Off-Shore. Al termine della tubazione, per 1.5 km, si articola il diffusore, al fine di distribuire con maggior diluizione i reflui trattati, in mare.

I campionamenti in entrambi i siti sono stati effettuati da persone terze, afferenti comunque al progetto AdSWiM.

3.1.2 Costa Croata

Nella costa croata i siti di campionamento (per la sola analisi dei metalli) sono situati nelle seguenti città: Zara (presso il depuratore UPOV Centar e rispettivo sito a mare di Punta Bajlo), Spalato 1 (presso il depuratore Katalinića Brig e il rispettivo sito a mare) e Spalato 2 (presso il depuratore Stupe e sito a mare di Stobreč) come indicato nella figura 13-14. Tre campioni sono stati prelevati per ogni sito, ovvero, uno all'interno del depuratore (post trattamento di depurazione) e due in ambiente marino, sia in superficie che in profondità, in prossimità dello scarico delle acque reflue depurate.



Figura 13. Rappresentazione dei punti di campionamento della città di Zara: UPOV Centar DP (15.256733E, 44.105802N) e Punta Bajlo (15.250125E, 44.093351N).

- L' impianto di trattamento delle acque reflue - UPOV "Centar" è un complesso composto da 21 edifici e 16 piscine aperte, distribuite su 5.500 metri quadrati con una capacità di purificazione circa 100.000 es. Il dispositivo purifica le acque reflue domestiche dal 70 al 90% e l'acqua viene espulsa dallo scarico sottomarino, lunga quasi due chilometri nel canale di Zara fino a una profondità di 35 metri. l'impianto UPOV "Center" purifica efficacemente le acque reflue attraverso i processi di trattamento meccanici (grezzo e griglia fine), dissabbiatura, disoleatura e trattamenti biologici. Vengono sottoposte al sistema di trattamento le acque reflue provenienti dall' agglomerato di Zara-Petrčane.



Figura 14. Indicazione dei punti campionamento nella città di Spalato: Katalinića Brig DP (16.443372E, 43.509327N), Katalinića Brig sea (16.444528E, 43.499473N) e Stupe DP (16.525714E, 43.520630N), Stobreč (16.524722E, 43.503849N).

- L'impianto di trattamento delle acque di scarico chiamato Stupe DP ha una capacità di purificazione circa 138.000 es. Utilizzando i processi di trattamento meccanico (grezzo e griglia fine) insieme alla rimozione di sabbia e olio, purifica efficacemente le acque di scarico principalmente quelle domestiche. Le acque reflue trattate vengono scaricate con sbocco marino (2,75 km).
- Il depuratore Katalinića Brig ha una capacità di depurazione circa 122.000 es. L'impianto è un sistema combinato che prevede il trattamento delle acque reflue provenienti dalle zone abitanti e dal deflusso delle piogge. Attraverso i processi di trattamento meccanico (grezzo e griglia sottile), garantisce la depurazione dei reflui e lo scarico avviene con uno sbocco marino di 2,75 km.

3.2 Campionamento dei nutrienti

Il campionamento per l'analisi dei nutrienti è stato effettuato con cadenza mensile durante la stagione balneare 2019, nella provincia di Udine. Lo schema mensile dei campionamenti è riportato nella tabella sottostante;

Tabella 3. Mesi di campionamento dell'anno 2019

	Apr	Mag	Giu	Lug	Ago	Sett	Ott
Lignano sea	X	X	X	X	X	-	X
Lignano DP	X	X	X	X	X	-	X
San Giorgio sea	X	X	X	X	X	-	X
San Giorgio DP	X	X	X	X	X	-	X

I campionamenti nei depuratori di Lignano Sabbiadoro e San Giorgio di Nogaro vengono eseguiti manualmente, mentre i campionamenti a mare vengono effettuati da idonee imbarcazioni, in date con condizioni meteo favorevoli (al fine di evitare i fenomeni di rimescolamento della colonna d'acqua ed eccessiva torbidità). Inoltre, le procedure di campionamento nel depuratore e a mare vengono eseguite secondo il seguente schema:

- l'acqua depurata viene raccolta manualmente utilizzando delle provette Falcon da 50 ml e filtrata con un filtro da 0.2 μm direttamente sul posto.
- a mare si effettua il campionamento dello strato profondo della colonna d'acqua in prossimità dello scarico del refluo mediante l'utilizzo della bottiglia di Ruttner (figura 15-16).



Figura 15-16. Bottiglia Ruttner (chiusa e aperta)

La bottiglia può essere di materiale plastico o vetro per il corpo cilindrico, mentre la struttura è generalmente di acciaio. Essa ha una forma più o meno cilindrica, con coperchi di chiusura superiore e inferiore apribili e chiudibili attraverso un sistema a distanza. Nella bottiglia è incluso un termometro funzionale alla raccolta dei valori di temperatura al momento del prelievo del campione.

Viene calata alla profondità stabilita attraverso una corda metrata su cui scorre un peso (messaggero) perpendicolarmente alla superficie dell'acqua. Durante l'immersione della bottiglia il tappo inferiore rimane aperto, per essere in seguito chiuso automaticamente attraverso un peso messaggero. Appena si avverte nella corda la vibrazione provocata dalla chiusura della bottiglia si

procede al recupero della stessa in superficie. In seguito attraverso un rubinetto situato ad una estremità viene trasferito il campione di acqua negli appositi contenitori (figura 17 a-b).



a)



b)

Figura 17a-b. Operazioni di recupero della bottiglia Ruttner e il prelievo dell'acqua

3.3 Campionamento di metalli

Il campionamento è stato effettuato durante la stagione balneare dell'anno 2019 come da tabella 4.

Tabella 4. Campioni prelevati nell'anno 2019

		Apr	Mag	Giu	Lug	Ago	Set	Ott	Nov
2019	Laguna di Marano	X	X	-	X	X	-	X	-
	Zara	-	-	-	X	-	X	-	X
	Spalato	-	-	-	X	-	-	-	-

I campioni di acqua marina sono stati prelevati con una procedura diversa rispetto ai campioni di acqua di depuratore. Per quanto concerne i campioni croati raccolti in mare aperto, essi sono stati presi sia in superficie che in profondità a differenza di quelli nella Laguna di Marano, che sono stati campionati unicamente in profondità. Il campionamento dello strato superficiale viene effettuato manualmente tramite bottiglie da 500 ml in PET, precedentemente decontaminate con una specifica procedura (Illuminati et al., 2015). Per i campionamenti profondi per la costa croata è stata usata la bottiglia Niskin.

3.3.1 Dati acquisiti durante il campionamento

In concomitanza con i campionamenti vengono raccolti i parametri chimico-fisici utilizzando la sonda multi-parametrica CTD (Conductivity, Temperature, Depth) (figura 18).



Figura 18. Sonda CTD

Attraverso la sonda CTD sono stati determinati i valori delle proprietà fisiche dell'acqua quali la conduttività, temperatura e profondità.

3.4 Laboratorio

Il trattamento dei campioni raccolti e le successive analisi dei nutrienti e dei metalli sono stati effettuati in un laboratorio denominato *clean room*, ISO 14644-1 Classe 6, con aree ISO Classe 5 sotto flusso laminare (Tabella 5). La temperatura del laboratorio è impostata a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ durante l'inverno e a $23 \pm 1^\circ\text{C}$ durante l'estate (Illuminati, S et al., 2014). Recent temporal variations of trace metal content in an Italian white wine. *Food chemistry*, 159, 493-497.

Camici, calzari e guanti da *clean room* vengono indossati seguendo scrupolosamente tutte le procedure previste per questo tipo di laboratorio durante tutte le fasi più critiche del trattamento e della preparazione dei campioni.

Tabella 5. Classi ISO relative alla clean room

Classe Area	0.1 μm	0.2 μm	0.3 μm	0.5 μm	1 μm	5 μm
5	100,000	23,700	10,200	3,520	832	29
6	1,000,000	237,000	102,000	35,200	8,320	292

Il funzionamento della *clean room* si basa sul principio di ricircolo forzato di aria super-filtrata in una stanza sigillata.

Il sistema è costituito da grandi ventilatori operanti a bassa velocità, che immettono nella stanza attraverso il soffitto un flusso laminare di aria

precedentemente filtrata da poderosi filtri ad alta efficienza (HEPA), posizionati all'esterno della stessa, ed aspirata attraverso griglie poste sul pavimento.

L'analisi dei campioni è stata effettuata in laboratorio mediante l'utilizzo dell'analizzatore discreto di nutrienti SYSTEA EasyChem Plus e lo spettrofotometro a Fluorescenza Atomica FULLTECH AFS Titan 8220.

3.4.1 Sistema Milli-Q

L'acqua che viene utilizzata per la preparazione di soluzioni standard, per il lavaggio dei materiali e per gli usi generali del laboratorio viene prodotta attraverso un sistema Milli-Q di Merck Millipore (Darmstadt, Germania) con trattamento a due stadi, che produce rispettivamente acqua deionizzata nel primo stadio (sistema Elix) e acqua elettrodeionizzata Milli-Q nel secondo stadio (sistema Milli-Q) rappresentate nelle figure 19 (a - b).

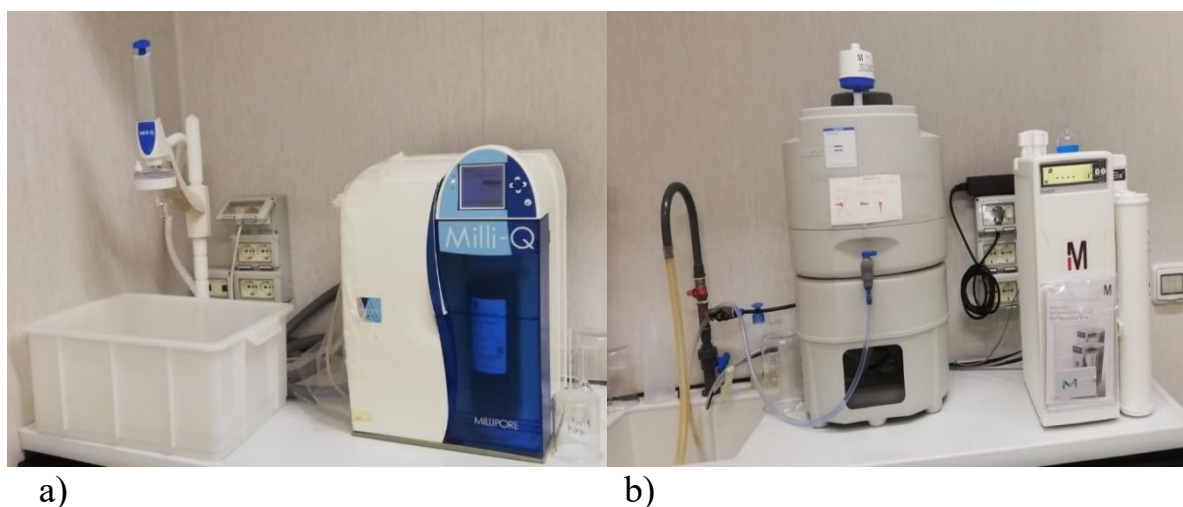


Figura 19 (a-b). Sistema Milli-Q (sinistra) ed Elix (destra)

3.4.2 Decontaminazione del materiale di laboratorio

Per evitare la contaminazione dei materiali utilizzati in laboratorio, in particolare modo per i metalli, i materiali subiscono un ciclo di lavaggi in acido a diverse diluizioni come descritto da Illuminati et al., 2013.

3.4.3 Reagenti

Tutti i reagenti utilizzati per la determinazione dei nutrienti sono stati acquistati dalla Merck (Darmstadt, Germania). Tutti i reagenti hanno grado di purezza \geq 95% secondo le normative dell'American Chemical Society (ACS).

I reagenti utilizzati per l'analisi dei metalli sono HBNa ($\geq 98,0\%$) proveniente da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germania), NaOH (99,99%, base metallica) da Alfa Aesar (Thermo Fisher, Kandel, Germania), COCl_2 (97%) da Acros Organics (Thermo Fisher, Kandel, Germania), Acido ascorbico (grado RPE), KI (grado RPE), $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$ (grado RPE) e HCl (grado ultrapuro 32,35% RS) da Carlo Erba (Milano, Italia).

Gli acidi grado reagente sono stati utilizzati soltanto nei primi stadi del lavaggio dei materiali, gli acidi di grado superpuro nelle fasi finali del lavaggio degli stessi, mentre gli acidi di grado ultrapuro sono stati utilizzati per la preparazione delle soluzioni, dei bianchi e degli standard.

I reagenti sono stati pesati utilizzando la bilancia analitica AT261 Mettler Toledo (Greifensee, Svizzera, risoluzione 0,01 mg, ripetibilità SD = 0,015 mg) (figura 22).



Figura 20. Bilancia analitica AT261

3.5 Analisi dei nutrienti

La determinazione della concentrazione dei nutrienti nelle acque di mare è stata effettuata tramite il colorimetro SYSTEA: *EasyChem Plus* (figura 21). Si tratta di un analizzatore completamente automatizzato basato sulla tecnologia di analisi discreta.

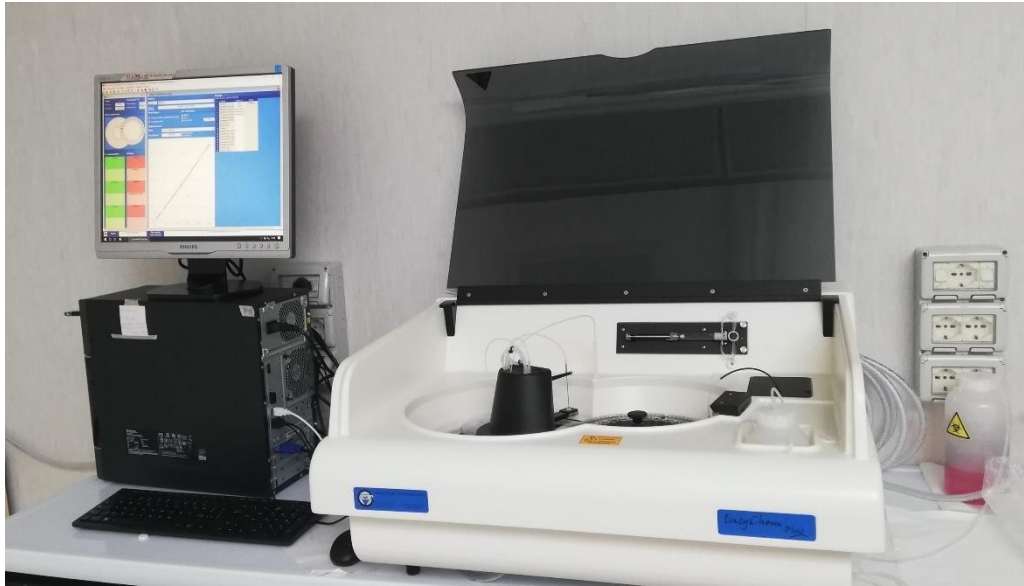


Figura 21. Colorimetro SYSTEA, EasyChem Plus

L'analizzatore determina la concentrazione dei nutrienti con metodi spettrofotometrici attraverso una distribuzione programmata di reagenti chimici liquidi all'interno di cuvette di incubazione e successivamente effettuare la lettura ad una predefinita lunghezza d'onda dell'assorbanza di colore sviluppata in due principali modalità:

- *cella di flusso estrattiva*, dove il prodotto di reazione colorato viene estratto dalla cuvetta di incubazione e spostato in una cella di flusso per la lettura spettrofotometrica; la cella di flusso è successivamente lavata per la prossima misura, ma la cella di incubazione non viene riutilizzata ed è quindi sostituita al termine della sessione di misura;

- *lettura diretta*, che significa lettura del colore generato dalla reazione chimica nella stessa cuvetta di incubazione, che è quindi lavata automaticamente per essere riutilizzata.

3.5.1 Panoramica dell'analizzatore EasyChem Plus

Le componenti dell'analizzatore EasyChem Plus sono rappresentate nella figura 22.

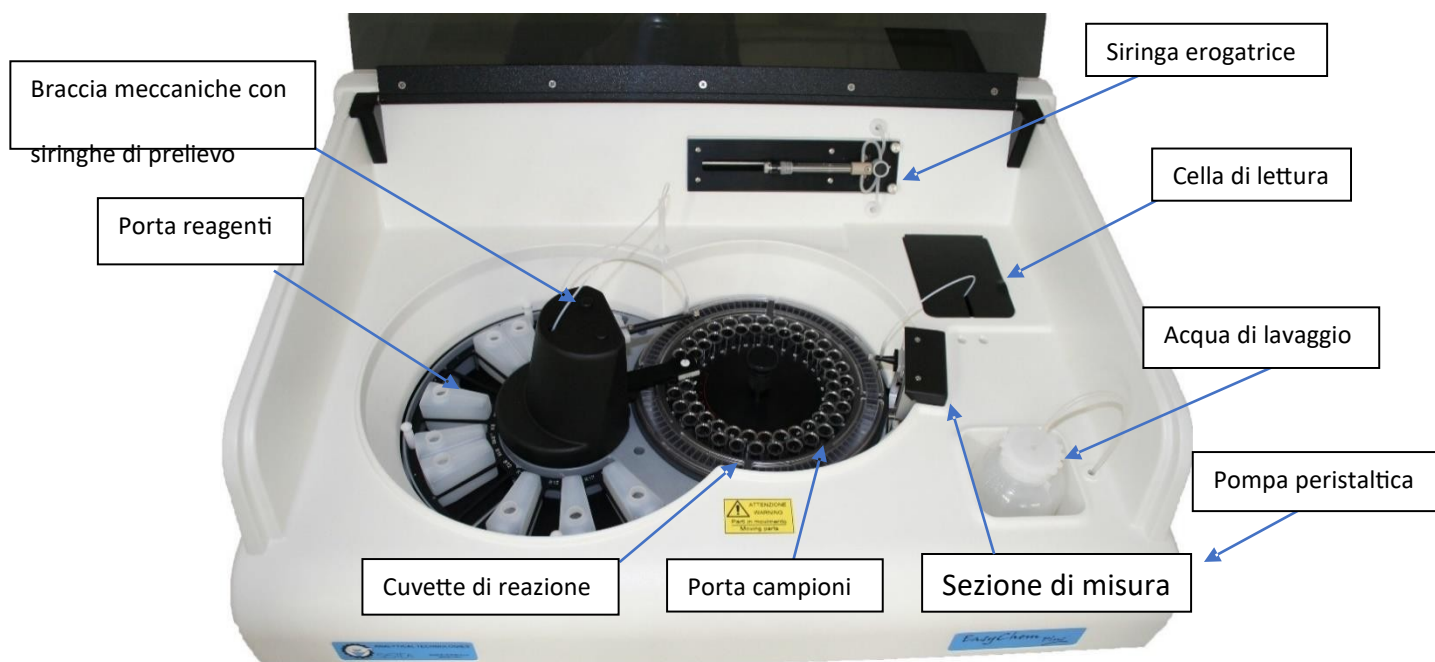


Figura 22. Componenti del colorimetro

- Piatto porta campioni si trova al centro dello strumento ed ha la capacità massima di ottenere 60 provette-campioni. Ogni posizione assume l'identità del tipo di analita indicato nella lista di lavoro inserita nel software, quali: campione, calibrante, controllo, bianco.

- Vano reagenti si trova nella parte sinistra dello strumento e può contenere fino a 18 reagenti. Il vano reagenti è refrigerato tramite effetto Peltier, garantendo una temperatura di circa 10°C inferiore rispetto a quella ambientale.
- Braccia meccaniche con siringhe di prelievo nella sinistra consente il campionamento dei reagenti e dei campioni.
- Cuvette di reazione si trovano intorno del piatto porta campioni. All'interno delle cuvette di reazione verranno dispensati i reagenti ed il campione prelevati dalla siringa sopra citata; qui permarranno per il tempo indicato nel metodo di lavoro fino alla lettura nella cella di flusso. La temperatura viene regolata intorno ai 50°C dal software, per ottimizzare le reazioni impostate nel metodo di lavoro.
- Colorimetro: un secondo ago collegato ad una pompa peristaltica permette il campionamento della soluzione interna alla cuvetta di reazione nella cella di flusso. Nella cella di flusso, mantenuta a temperatura controllata grazie ad un sistema di riscaldamento controllato, avviene la misurazione dell'assorbanza (O.D.), dopo aver selezionato la lunghezza d'onda a cui vogliamo effettuare la lettura, in funzione del tipo di analisi impostata.

- Pompa peristaltica si trova nella parte destra dello strumento e consente l'introduzione del campione all'interno della cella di flusso e lo scarico dopo la misura.
- Sezione di misura rappresentato come il braccio destro è funzionale al prelievo delle soluzioni Campione-Reagente, e del deposito dell'aliquota nella cella di lettura.
- Acqua di lavaggio è necessaria per garantire il lavaggio di tutte le misure analitiche al fine di evitare i fenomeni di contaminazione.

Per la quantificazione dei nutrienti è stato utilizzato il metodo della retta di taratura (*calibration curve*) che consiste nella preparazione di soluzioni standard (5 soluzioni standard) a concentrazione nota crescente, in modo che la concentrazione dei campioni incogniti cada all'interno dell'intervallo di concentrazione degli standard utilizzati. La retta di taratura ideale ha un andamento lineare e viene espressa mediante l'equazione $y = a + bx$. In generale si effettuano tre repliche per ogni soluzione standard.

Inoltre, sono calcolati:

- i limiti di rilevabilità LOD (Limit of detection) che rappresenta la minima concentrazione di analita rivelabile ma non quantificabile.

- i limiti di quantificazione LOQ (Limit of quantification) che determina la minima concentrazione di analita determinabile con precisione e accuratezza accettabili.

3.5.2 Determinazione dei nutrienti

- Nitriti (N-NO₂) sono determinati con il metodo numero 354.1 del United States Environmental Protection Agency (EPA). La concentrazione dei nitriti cade nell'intervallo 0-50 µg L⁻¹. Il metodo consiste nel far reagire i Nitriti presenti nei campioni da analizzare con la sulfanilamide (C₆H₈N₂O₂S) in ambiente acido, generando un composto diazoico e con la N- (1-Naftil) etilenediamina formando un composto con colore rosa. Le misurazioni colorimetriche vengono effettuate alla lunghezza d'onda di 546 nm.

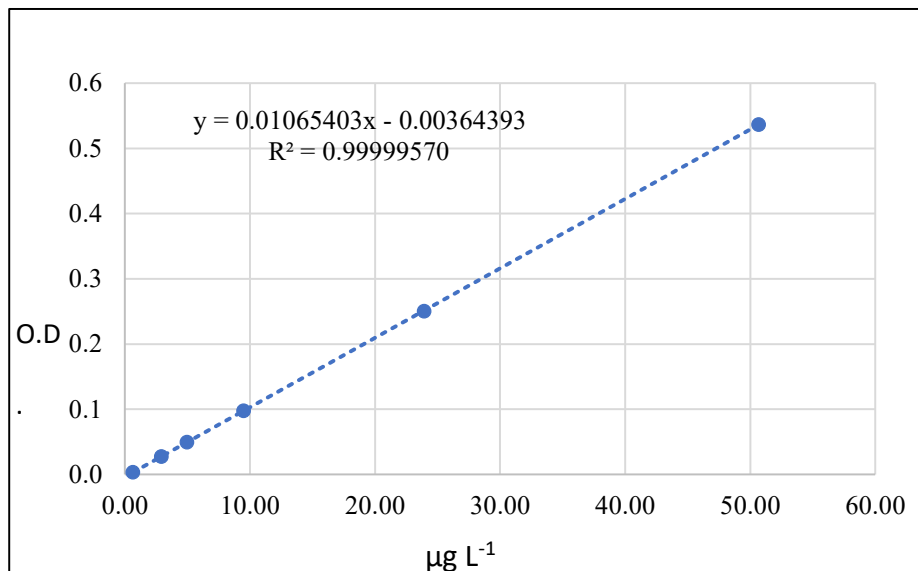


Figura 23. Retta di calibrazione dei Nitriti (N-NO₂)

- Nitrati (N-NO₃) sono determinati attraverso il metodo 354.1 del United States Environmental Protection Agency (EPA). La variazione della concentrazione è nel range 0-0.1 mg L⁻¹. Il metodo consiste nella riduzione dei nitrati a nitriti tramite una soluzione acida di Cloruro di Vanadio (VCl₃). I nitriti (NO₂) vengono fatti reagire con la Sulfanilamide (C₆H₈N₂O₂S) in ambiente acido formando un composto diazoico e con la N-(1-Naftil) Etilenediamina generando un composto con colore rosa. Questo metodo misura direttamente la concentrazione di Nitrati (NO₃), in quanto i Nitriti (NO₂) vengono sottratti automaticamente come parte del bianco. Le misurazioni colorimetriche vengono effettuate alla lunghezza d'onda di 546 nm.

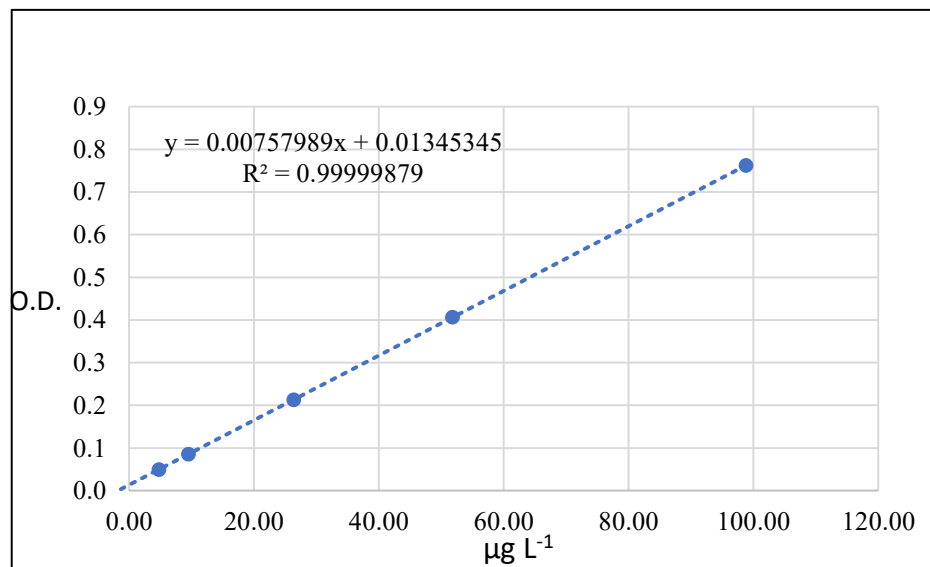


Figura 24. Retta di calibrazione dei Nitrati (N-NO₃)

- Azoto ammoniacale (N-NH₃) è stato determinato attraverso il metodo APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 4500 NH₃ G Automated Phenate. L'ammoniaca (NH₃) reagisce in condizioni alcaline a pH di circa 12.6 con Fenolo (C₆H₅OH) ed Ipoclorito (ClO⁻) in presenza di Nitroprussiato di Sodio (Na₂[Fe(CN)₅NO] · 2H₂O) per formare Blu Indofenolo (C₁₂H₉NO₂). Le misure vengono effettuate alla lunghezza d'onda di 660 nm.

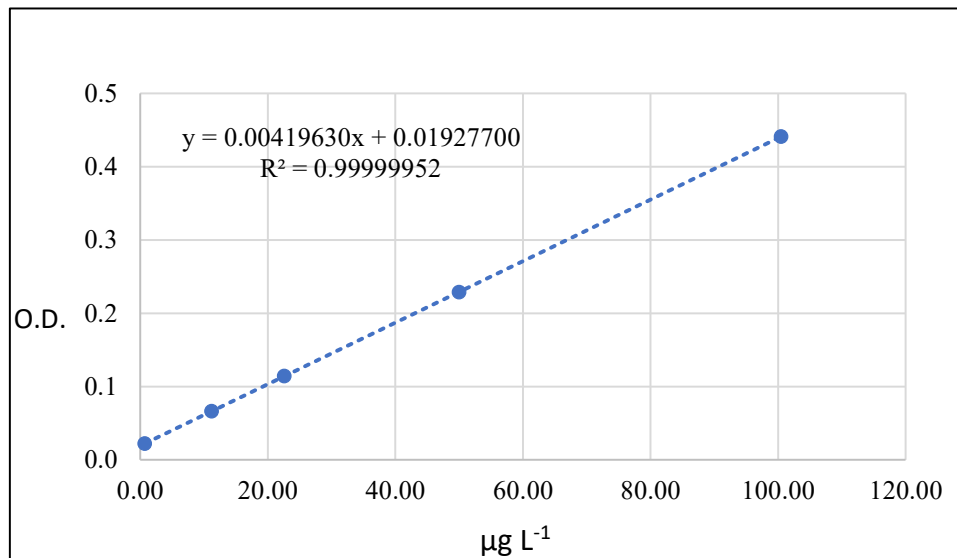


Figura 25. Retta di calibrazione dell'Ammoniaca (N-NH₃)

- Fosfati: la misurazione prevede la determinazione degli Ortofosfati (PO₄³⁻), in quanto si tratta di una specie chimica significativamente rilevante. Il metodo di riferimento è quella del International Standard Organization 15923. Gli ortofosfati vengono miscelati in soluzione

acida di Molibdato di Sodio (Na_2MoO_4), per produrre un poliossometallato $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ (α -Keggin-type hetero-polyoxometalates). In presenza di Antimonio per catalizzare la reazione, questo anione viene ridotto dall'Acido Ascorbico per formare lo ione β -Keggin, di colorazione blu. La lettura spettrofotometrica avviene a 880 nm.

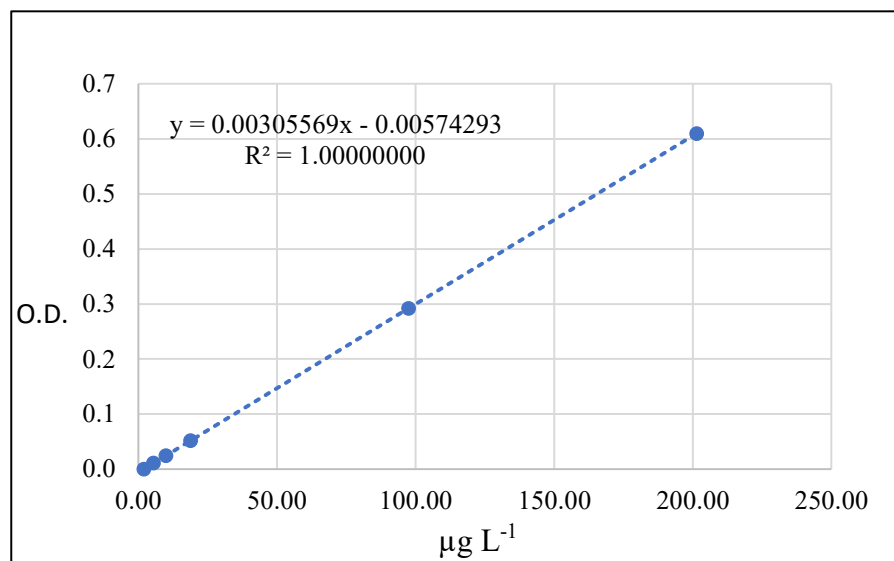


Figura 26. Retta di calibrazione dei fosfati (PO_4)

- Silicati: la determinazione dei silicati è basata sul metodo di analisi della APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 4500 SiO_2 . I silicati vengono miscelati con una soluzione acida di Molibdato di Ammonio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ per produrre α -Keggin-type hetero-polyoxometalates $\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}^{4-}$. Si utilizza Acido Ossalico ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) per mascherare l'interferenza dei fosfati. Questo anione viene

poi ridotto dall'acido ascorbico per formare lo ione β -Kegging, di colorazione blu. La lettura spettrofotometrica viene effettuata a 880 nm.

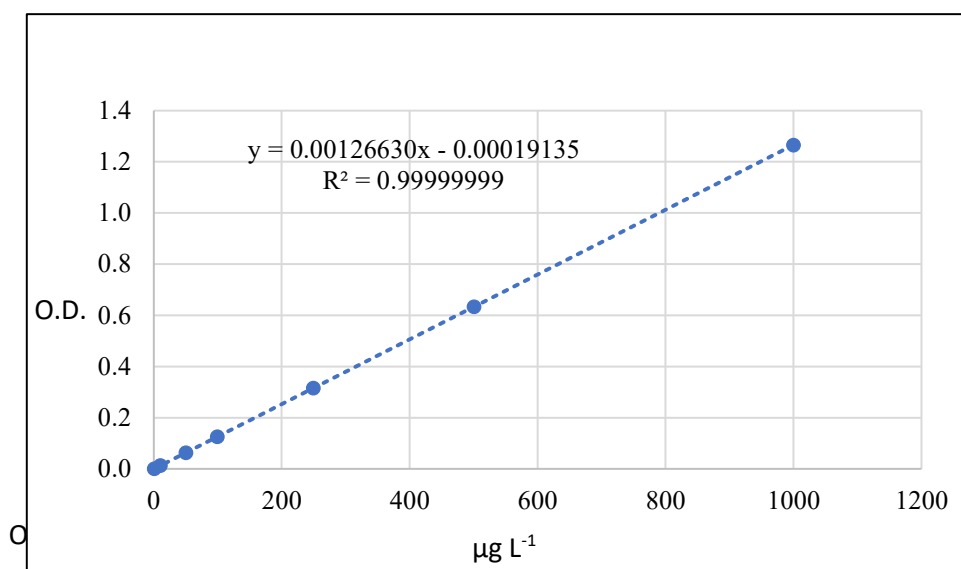


Figura 27. Retta di calibrazione dei Silicati (SiO_2)

D

I valori di LOD e LOQ per i nutrienti sono presentati in tabella 6.

Tabella 6. Valori di LOD e LOQ per i nutrienti

	LOD		LOQ	
	μM	$\mu\text{g L}^{-1}$	μM	$\mu\text{g L}^{-1}$
N- NO_2	0.02853	0.40	0.0864	1.21
N- NO_3	0.0663	0.015	0.201	0.0454
N- NH_3	0.08	1.45	0.244	4.41
PO_4	0.0482	1.493	0.1446	4.079
SiO_2	0.0789	2.20	0.2392	6.71

3.5.3 Determinazione dell'azoto e fosforo totale

I campioni dell'acqua vengono sottoposti sulla digestione ad umido con persolfato di potassio ($K_2S_2O_8$) alla temperatura di 120° in autoclave.

Il processo della digestione prevede le seguenti fasi:

- Filtrazione del campione tramite setto poroso $0.45\ \mu m$;
- Prelievo di 5 ml di acqua-campione ed inserimento in una provetta Pyrex di capienza 7 ml. Per ciascun campione, per ridurre la contaminazione, provetta e puntale utilizzato vengono avvinati con un'aliquota del campione (figura 28a);
- Aggiunta con la pipetta di 0.7 ml di reagente (persolfato di potassio);
- Copertura delle provette-campione con un tappo in foglio d'alluminio (figura 28b);
- Nominazione delle provette;
- Inserimento delle provette campione in un beaker in vetro Pyrex e copertura del beaker contenente le provette con un ulteriore foglio d'alluminio, per prevenire la possibilità di infiltrazione dell'acqua contenuta nell'autoclave nel campione (figura 28c);
- Inserimento in autoclave per 45 minuti a $120^\circ C$ (figura 28(d- e));
- Una volta digeriti i campioni, vengono lasciati raffreddare e successivamente conservati in frigorifero a $4^\circ C$;

- Le analisi sui campioni digeriti devono essere effettuate entro 28 giorni dalla digestione.



Figura 28a. Prelievo del campione e l'inserimento nelle provette



Figura 28b. Copertura delle provette con tappo in alluminio

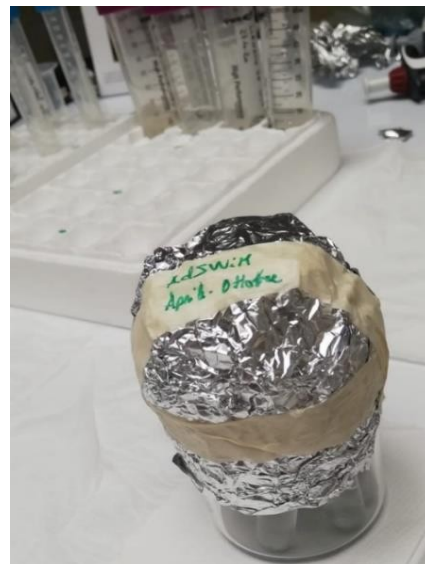


Figura 28c. Copertura del beaker contenente le provette



Figura 28d. Autoclave 760



Figura 28e. Il beaker in autoclave

La determinazione quantitativa viene effettuata tramite il colorimetro SYSTEA -EasyChemPlus, con il metodo dei Fosfati (Ref. International Standard Organization 15923). Nei risultati è stato considerato il fattore di diluizione 14% dovuto al reagente di digestione (persolfato).

3.6 Pretrattamento del campione per l'analisi dei metalli

I campioni di acqua di mare sono stati filtrati con l'utilizzo dei filtri di cellulosa decontaminata di $0,45\ \mu\text{m}$ e di 47 mm di diametro provenienti da ChemBio (Camerino, Italia) e la successiva diluizione con HCl di grado ultrapuro al 2% usato per la determinazione del Cd e Hg e di HCl al 5% per la determinazione

del As (v / v) (figura 29 a,b,c). I campioni trattati vengono analizzati con uno spettrofotometro AFS Titan 8220 (Fulltech Instruments, Roma, Italia).



Figura 29a. Strumento di filtrazione



Figura 29b. Montaggio filtro



Figura 29c. Dopo la filtrazione di un campione (DP)

3.6.1 Analisi dei metalli

La determinazione dei metalli è stata effettuata attraverso una tecnica di analisi di Spettrofotometria a Fluorescenza Atomica Titan Mod 8220 & AS 60 (figura 30).

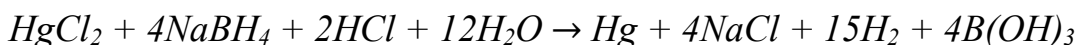
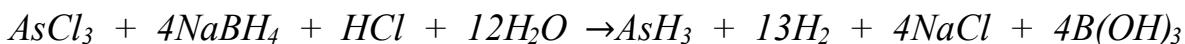


Figura 30. Spettrofotometro a Fluorescenza Atomica

L'analisi in Fluorescenza Atomica è una tecnica analitica che misura una emissione atomica, indotta da una eccitazione monocromatica, rilevata ad un angolo e ad una lunghezza d'onda diversi da quelli di eccitazione.

Per il funzionamento dello spettrofotometro viene utilizzato un gas carrier (Argon 5 con una purezza del 99.999%) e una soluzione riducente (NaBH_4 in NaOH) che vengono inviati per mezzo di una pompa peristaltica ad un Mixer nel quale arriva un basso (c.a 300 ml/min) flusso di Argon.

Nel Mixer di Reazione avviene la reazione della specie da determinare (formazione dell'Idruro o del Mercurio metallico) e la fase eterogenea liquido/gas così prodotta viene inviata ad un Gas Liquid Separator per la completa estrazione dell'Idruro o del Mercurio volatili.



La fase gas contenente quindi le specie estratte, passa ad un secondo Gas Liquid Separator per il completamento della separazione liquido/gas per arrivare infine alla torcia dove viene misurato il segnale di Fluorescenza relativo all' elemento o agli elementi da determinare (figura 31).

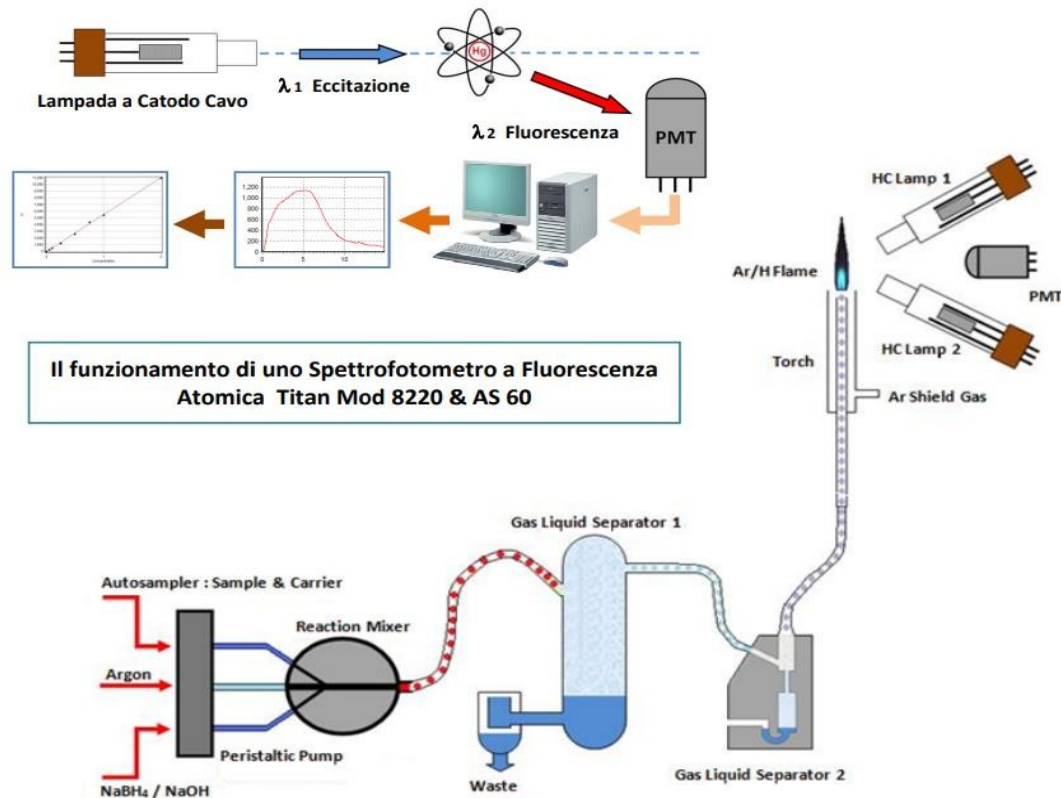


Figura 31. Schema di funzionamento dello Spettrofotometro a Fluorescenza Atomica

Inoltre, sono stati determinati i valori del LOD e LOQ dallo strumento per ognuno dei metalli indicati in tabella 7.

Tabella 7. Valori di LOD e LOQ per i metalli

Element	Instrument	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Name	CRM	
					Certified value ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Measured value ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Hg	AFS	0.0006	0.006	DORM-2	4.64 \pm 0.26 ^a	4.84 \pm 0.22
Cd	AFS	0.0005	0.005	NASS-6	0.0311 \pm 0.0019	0.031 \pm 0.008
As	AFS	0.01	0.13	SLEW-3	1.36 \pm 0.09	1.47 \pm 0.27

3.6.1.1 Determinazione del cadmio, mercurio ed arsenico

- Cadmio (Cd): Per la determinazione di cadmio nei campioni di acqua di mare è stato utilizzato come reagente riducente il H₂BNa 4.0 % in NaOH 0.4 %, CH₄N₂S 1.0 % (m/v) e COCl₂ 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e come carrier HCl 2% (v/v), quest'ultimo è stato usato anche come diluente. Per la quantificazione del cadmio nel campione è stato utilizzato il metodo della retta di calibrazione come rappresentata nella (figura 32).

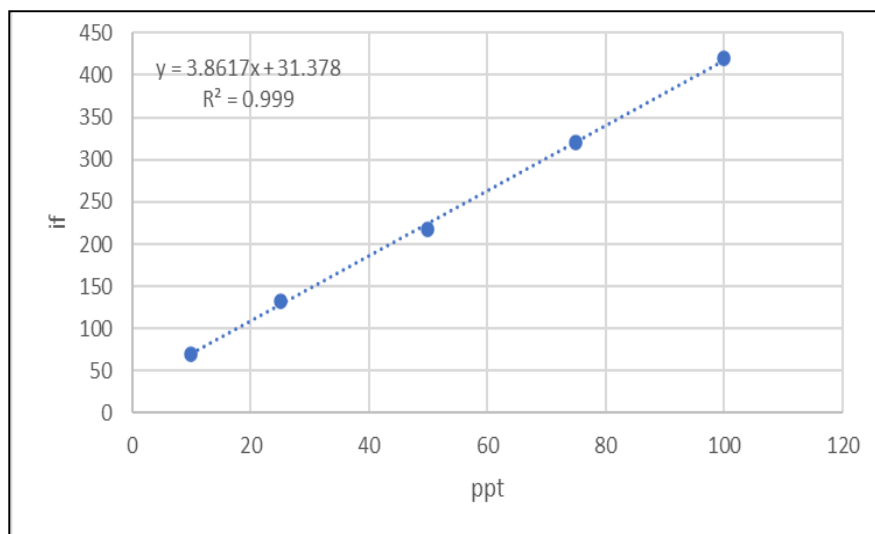


Figura 32. Curva di calibrazione di cadmio

- Mercurio (Hg): Per la determinazione del mercurio come riducente viene usato NaBH_4 0.05 % in NaOH 0.4 % (m/v) e come carrier HCl 5% (v/v). I campioni da analizzare sono acidificati con HCl 2% (v/v). Nella figura 33 è mostrato la retta di calibrazione per il mercurio.

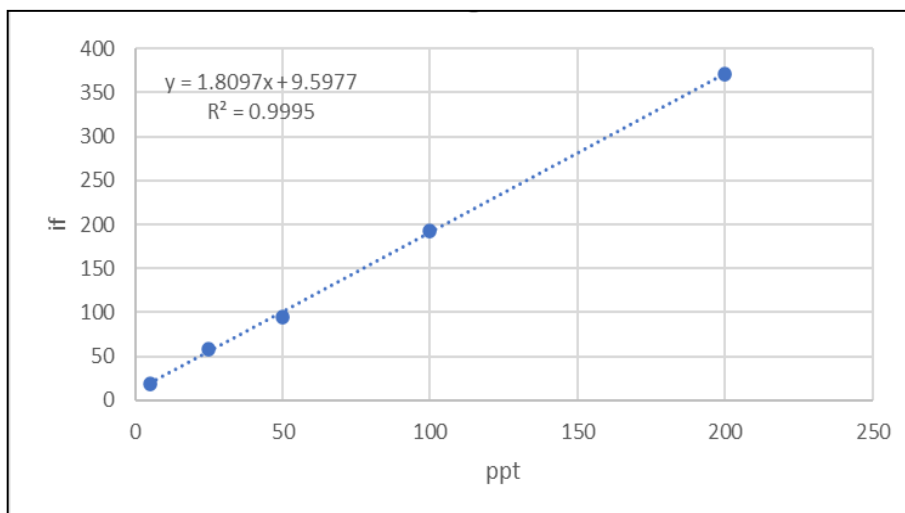


Figura 33. Curva di calibrazione del mercurio

- Arsenico (As): Per la determinazione dell'arsenico, come riducente viene utilizzato H_4BNa 2 % in $NaOH$ 0.5 % (m/v) e come carrier HCl 5% (v/v). Inizialmente i campioni vengono diluiti con HCl al 10% (v/v), KI 1% (m/v) e Acido Ascorbico 0.5% (m/v) e lasciati agire per un'ora a temperatura ambiente. Sulla base del metodo della curva di calibrazione viene determinato la quantità dell'arsenico utilizzando lo strumento AFS (figura 34).

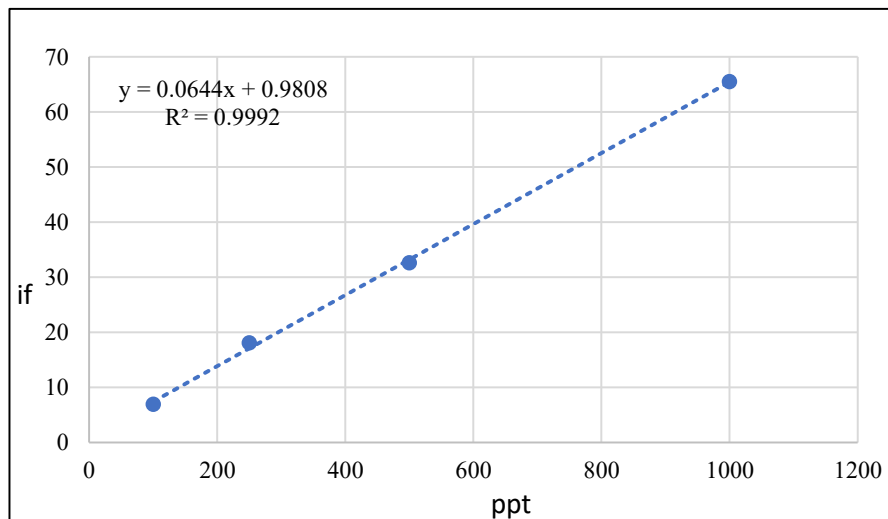


Figura 34. Curva di calibrazione dell'arsenico

Per effettuare le analisi l'arsenico, cadmio e mercurio in acqua di mare i parametri i parametri sperimentali impostati sono riportati in tabella 8.

Tabella 8. Parametri strumentali impostati per le analisi del cadmio, mercurio e arsenico

Parametri strumentali	Cd	Hg	As
PMT (Volts)	280	275	320
Lamp current (mA)	60/30	30/0	60/30
Carrier Gas (mL min ⁻¹)	500	300	300
Shield Gas (mL min ⁻¹)	800	1000	800
Reading time (s)	15	15	15
Delay Time (s)	0.5	0.5	0.5
Blank Judgement Value (if)	10	5	10
Torch height (mm)	8	10	8
IFS Step (s x rpm, a=analyte; c=carrier. r=reading)	(a) 10 x 100 (c) (r) 16 x 120	(a) 10 x 100 (c) (r) 16 x 120	(a) 10 x 100 (c) (r) 18 x 120

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Nutrienti

I risultati dei nutrienti sono espressi in ppb ovvero in $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.1.1 Nitrati

La figura 35 mostra le concentrazioni di NO_3 relative ai depuratori di Lignano e San Giorgio nel periodo aprile- ottobre 2019.

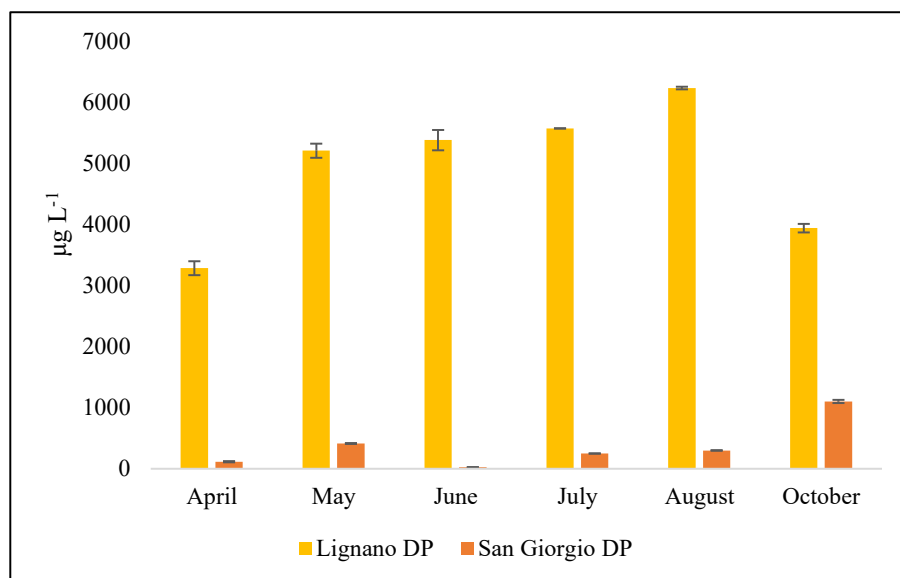


Figura 35. Concentrazioni di NO₃ a Lignano e San Giorgio DP

I valori variano da un minimo di 25.1 µg L⁻¹ a San Giorgio DP nel mese di giugno e ad un massimo di 6239.5 µg L⁻¹ a Lignano DP durante il mese di agosto. Si evidenzia un incremento della concentrazione a Lignano durante tutta la stagione balneare, da maggio ad agosto. Questo aumento potrebbe essere dovuto all' aumento della popolazione nella zona durante il periodo estivo, essendo questa una località turistica.

Per quanto riguarda i siti di mare (figura 36), i valori variano da un minimo di 3.9 µg L⁻¹ a Lignano sea nel mese di maggio e ad un massimo di 106.5 µg L⁻¹ sempre a Lignano sea durante aprile. Per quanto riguarda questi due siti non si riscontrano particolari differenze di nitrati se non nei mesi di aprile e ottobre; ad aprile si riscontra una concentrazione di nitrati maggiore a Lignano (106.5 µg L⁻¹), mentre ad ottobre a San Giorgio con un valore di 59.4 µg L⁻¹.

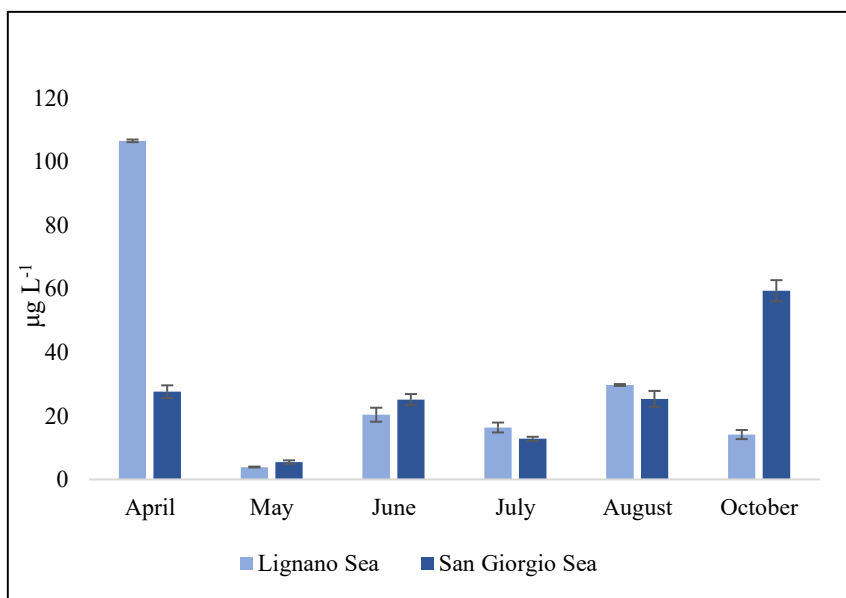


Figura 36. Concentrazioni di NO₃ nei siti di mare di Lignano e San Giorgio

Le concentrazioni dei nitrati nei siti di depurazione mostrano dei valori più alti rispetto ai siti in mare aperto in genere di uno-due ordini di grandezza. In tutti i siti i valori riscontrati sono inferiori al limite di legge per i nitrati secondo il D. Lgs 152/2006.

4.1.2 Nitriti

La figura 37 mostra le concentrazioni di NO₂ relative ai depuratori di Lignano e San Giorgio; dalla figura si evince un andamento simile tra i due siti nei mesi di aprile, giugno, agosto ed ottobre. I valori variano da un minimo di 13.8 µg L⁻¹ a San Giorgio (ottobre) e ad un massimo di 831 µg L⁻¹ a Lignano durante il mese di maggio.

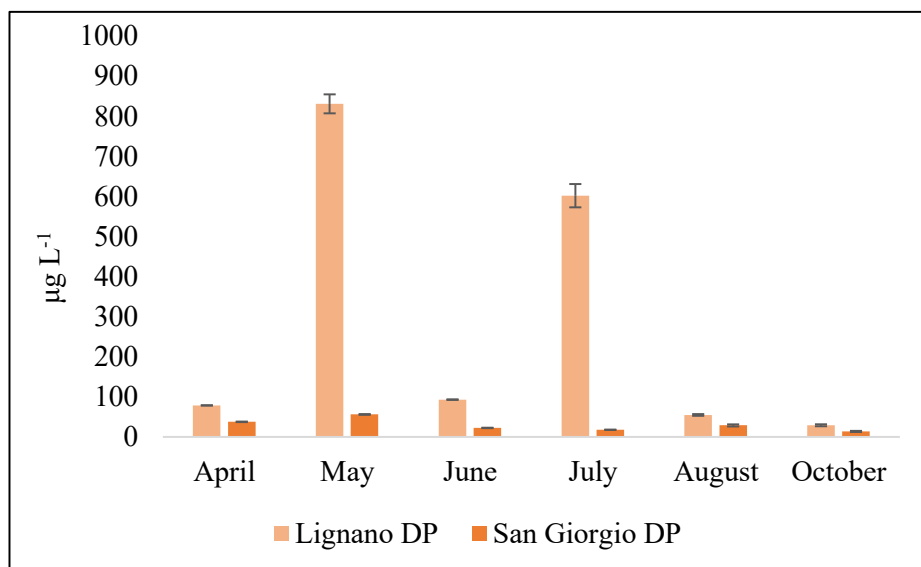


Figura 37. Concentrazione di NO₂ a Lignano e San Giorgio DP

Invece durante il mese di maggio e luglio, relativamente al depuratore di Lignano la concentrazione di NO₂ presenta degli aumenti considerevoli di 6-8 volte con valori di 831 µg L⁻¹ a maggio e 602 µg L⁻¹ nel mese di luglio.

Per quanto riguarda i siti di mare (figura 38), le concentrazioni non mostrano particolari variabilità. I valori oscillano da un minimo di 5.6 µg L⁻¹ presso San Giorgio nel mese di luglio e ad un massimo di 11.5 µg L⁻¹ a San Giorgio nel mese di agosto. Anche in questo caso i due siti di mare non mostrano differenze significative fra loro.

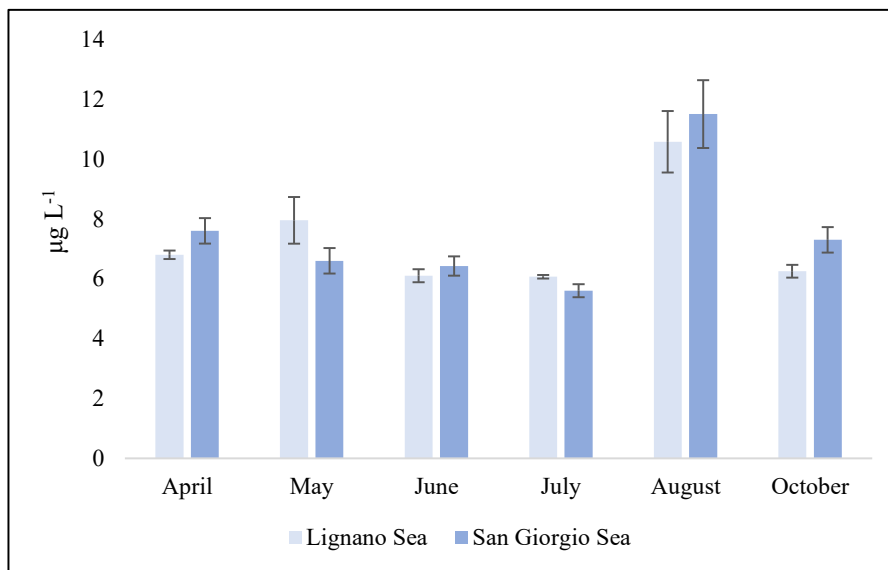


Figura 38. Concentrazioni di NO₂ a Lignano e San Giorgio sea

Dalle figure si nota invece che esiste una differenza tra i siti DP e sea, con valori ovviamente più alti nei siti di depurazione. Tuttavia, in entrambi i siti i valori risultano al di sotto di limite di legge per i nitriti.

4.1.3 Azoto ammoniacale

Nei siti DP le concentrazioni di NH₃ oscillano da un minimo di 6.9 – 7.6 µg L⁻¹ presso Lignano DP nel mese di aprile- agosto ad un massimo di 1167 µg L⁻¹ a San Giorgio DP, giugno (figura 39). Nei due depuratori emergono differenze significative nelle concentrazioni riscontrate in particolare nei primi tre mesi (aprile, maggio, giugno) dove il depuratore di San Giorgio mostra concentrazioni nettamente maggiori circa (294 µg L⁻¹, 490 µg L⁻¹, 1167 µg L⁻¹) probabilmente dovuto alla differenza di tipologia del refluo in ingresso.

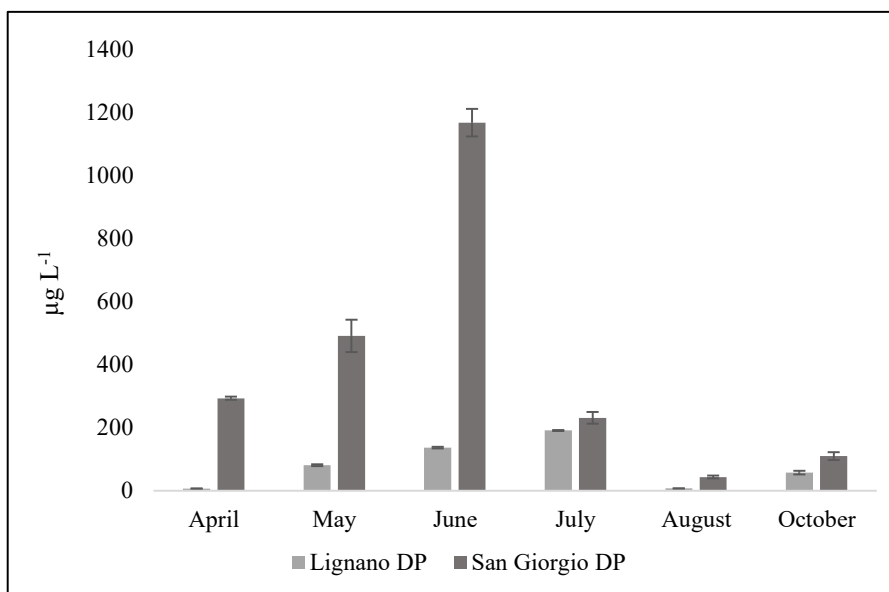


Figura 39. Concentrazione di NH₃ a Lignano e San Giorgio DP

Le concentrazioni del NH₃ in ambiente marino oscillano da un minimo di 0.7 µg L⁻¹ a Lignano sea nel mese di maggio ad un massimo di 11.6 µg L⁻¹ a San Giorgio nel mese di giugno (figura 40), mostrando un incremento nella seconda parte della stagione estiva in entrambi i siti, probabilmente dovuta ad una maggiore affluenza turistica.

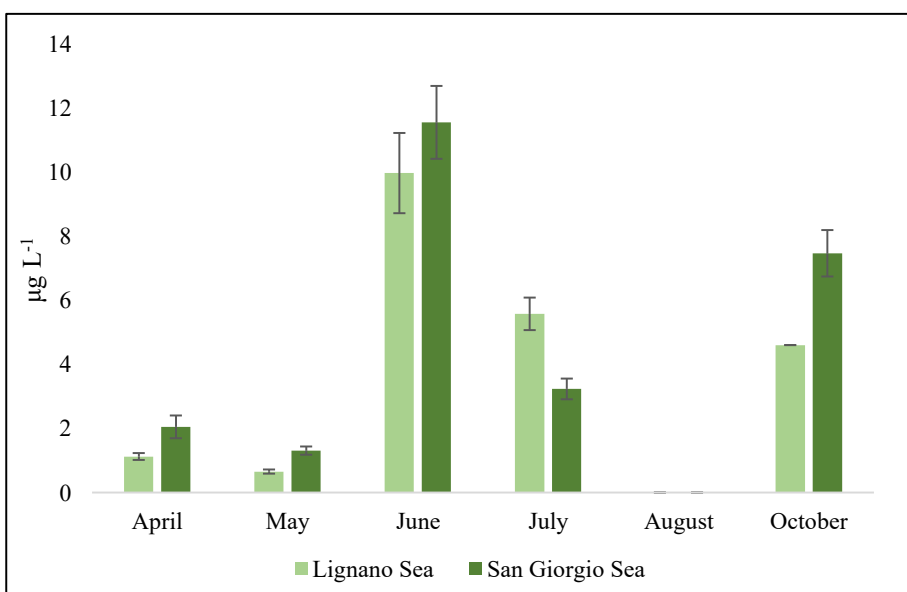


Figura 40. Concentrazione di NH₃ a Lignano e San Giorgio sea

I valori di NH_3 come ipotizzabile sono maggiori nei siti DP che quelli dell'ambiente marino di circa due ordini di grandezza. In entrambi i siti di depurazione e di mare i valori rimangono al di sotto del limite di legge per le acque reflue depurate di 15 mg L^{-1} (D. Lgs 152/2006).

4.1.4 Silicati

La concentrazione di SiO_2 nei siti DP è rappresentata nella figura 41; si nota un andamento simile durante tutta la stagione (media $4008 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), con un incremento dei valori nel sito di San Giorgio DP nella seconda parte della stagione.

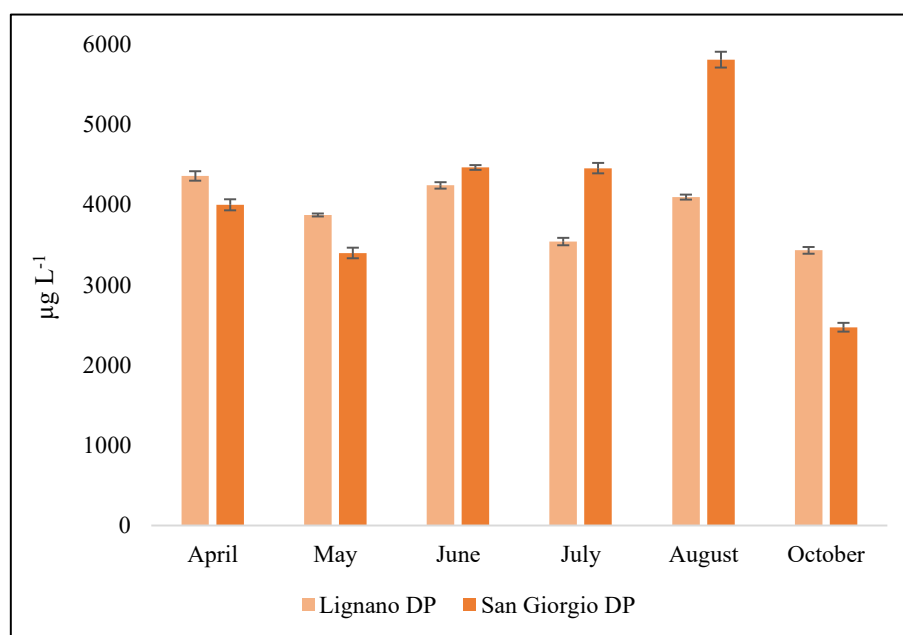


Figura 41. Concentrazione di SiO_2 a Lignano e San Giorgio DP

I valori variano da un minimo di $2470 \mu\text{g L}^{-1}$ a San Giorgio DP nel mese di ottobre ad un massimo di $5804 \mu\text{g L}^{-1}$ sempre a San Giorgio durante il mese di agosto.

In ambiente marino (figura 42) i valori risultano molto inferiori, di circa un ordine di grandezza rispetto a quelli riscontrati nel depuratore e mostrano concentrazioni simili per entrambi i siti di campionamento.

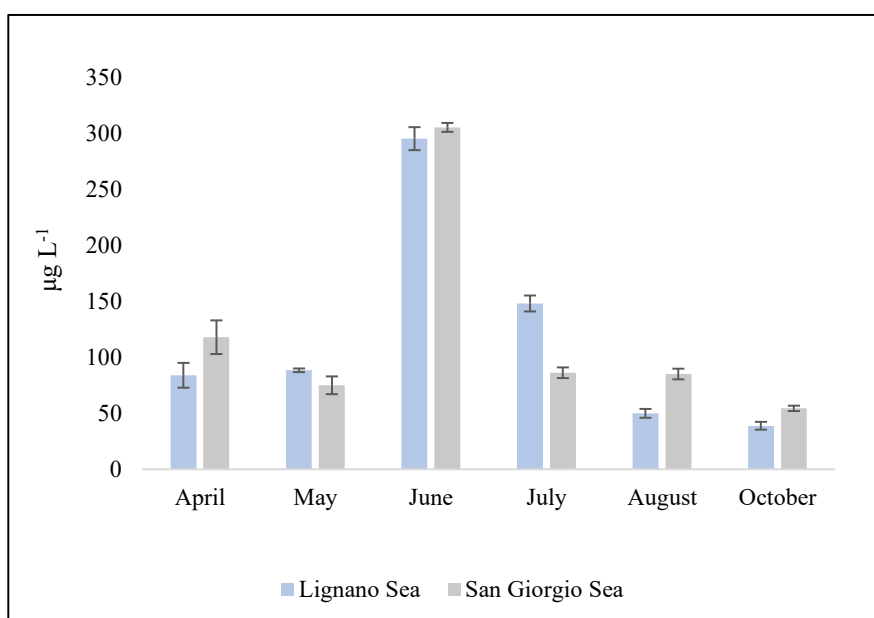


Figura 42. Concentrazione di SiO_2 a Lignano e San Giorgio sea

Si può notare un andamento a campana della concentrazione con un aumento nel mese di giugno in cui si raggiunge il massimo del valore intorno a $300 \mu\text{g L}^{-1}$. La concentrazione minima è di $38.9 \mu\text{g L}^{-1}$ riscontrata a Lignano nel mese di ottobre.

Sia nei siti di depurazione che in mare i valori di SiO_2 risultano in accordo con i valori determinati in altri studi di letteratura sul nord Adriatico (tabella 9).

4.1.5 DIP

Nella figura 43 sono presentate le concentrazioni del fosforo inorganico disciolto nei siti DP.

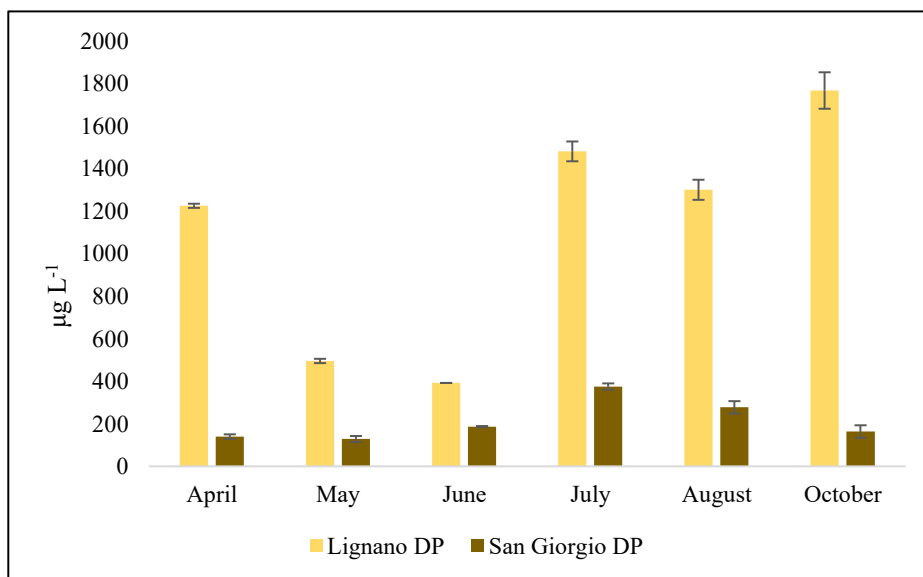


Figura 43. Concentrazione del DIP a Lignano e San Giorgio DP

Le concentrazioni del DIP nel depuratore sono comprese in un range tra 128.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ a San Giorgio nel mese di maggio e 1766 $\mu\text{g L}^{-1}$ a Lignano ad ottobre.

Si nota che il contenuto di DIP aumenta maggiormente a Lignano rispetto a San Giorgio, dove invece mostra un andamento stabile durante tutta la stagione.

Per quanto riguarda l'ambiente marino (figura 44), i siti non mostrano differenze. I valori variano da un minimo di 5.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ a San Giorgio nel mese di ottobre ad un massimo di 8.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ sempre a San Giorgio nel mese di luglio.

In generale si nota un lieve incremento dei valori a San Giorgio (ad esempio $6.7 \mu\text{g L}^{-1}$ a maggio e $7.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ad agosto) con l'eccezione di giugno in cui le concentrazioni più alte circa $8.2 \mu\text{g L}^{-1}$ sono riscontrate a Lignano.

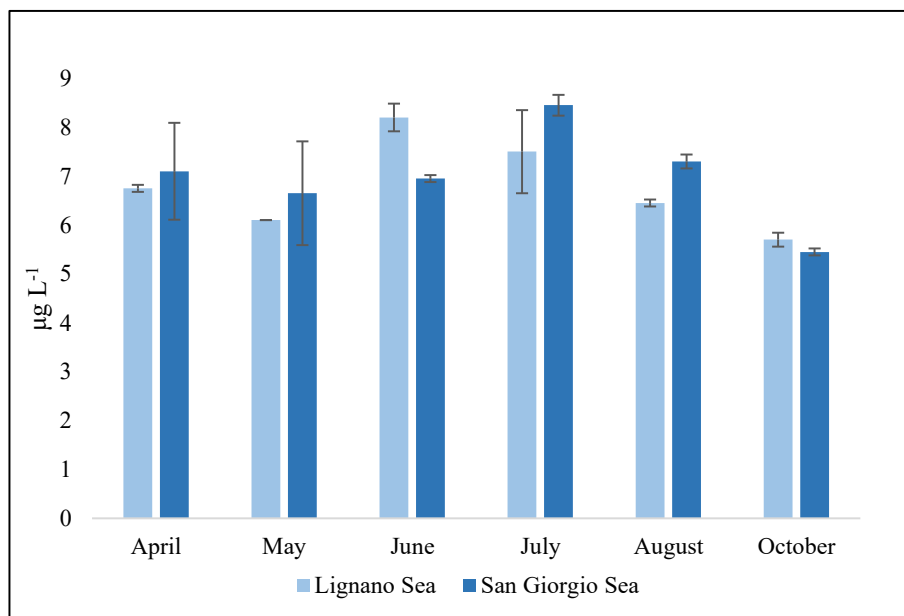


Figura 44. Concentrazione del DIP in ambiente marino

I siti di depurazione e di mare mostrano concentrazioni e andamenti molto diversi. Nei siti di depurazione si può notare un aumento del DIP nella seconda parte della stagione, mentre nei siti di mare non si rilevano andamenti particolari. A livello di concentrazioni in mare si riscontrano concentrazioni 100-1000 volte inferiori rispetto ai DP.

4.1.6 Distribuzione DIP/DOP

Nelle figure (45-46) è presentata la distribuzione in percentuale del Fosforo inorganico (DIP) e organico (DOP) disciolto, nei siti DP.

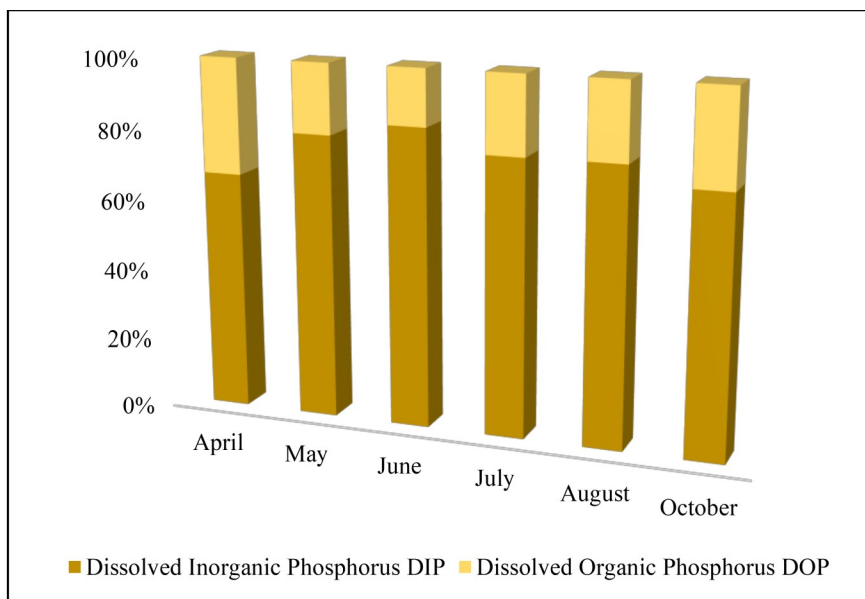


Figura 45. Distribuzione in % del DIP/DOP a Lignano DP

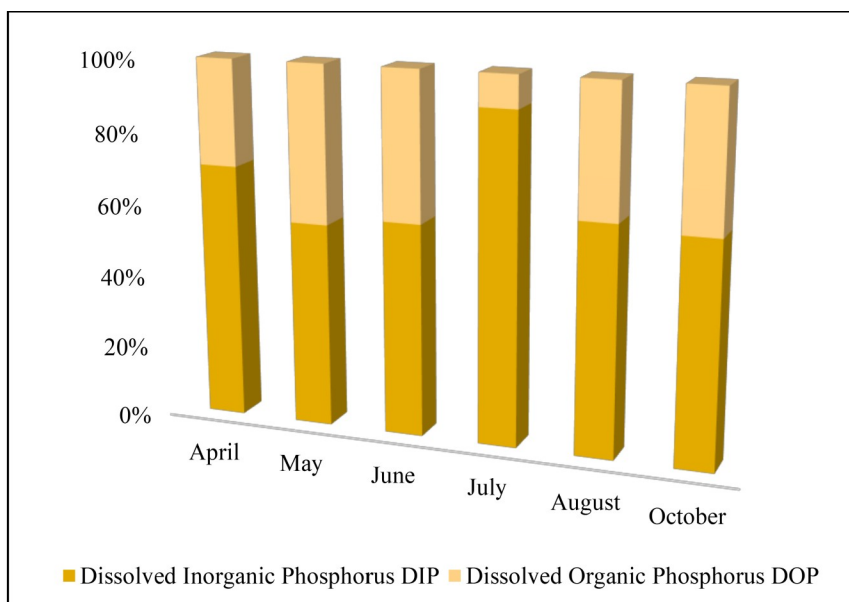


Figura 46. Distribuzione in % del DIP/DOP a San Giorgio DP

Dal grafico è evidente che la quota di DIP è assolutamente prevalente rispetto al DOP: questo può essere attribuito al fatto che la frazione organica rimane maggiormente adesa ai flocculi e grani presenti nel refluo, ed essendo le analisi effettuate solamente sulla frazione disciolta, non viene quantificato tale contributo del DOP. Nello specifico il depuratore di San Giorgio presenta valori percentuali di DIP di 75/80% mediamente più alti rispetto al depuratore di Lignano (60/70%); questo potrebbe essere dovuto alla differente tipologia del refluo all'ingresso dell'impianto.

In ambiente marino la distribuzione cambia radicalmente come mostrato nelle figure 47-48. Dai grafici è evidente che la quota di DIP è assolutamente inferiore rispetto al DOP. I due siti di mare hanno una distribuzione simile mostrando dei valori percentuali di DOP di 90% più alti rispetto al DIP (10%). È evidente l'inversione di distribuzione DIP/DOP passando dal depuratore al mare aperto, probabilmente imputabile ad un effetto di diluizione.

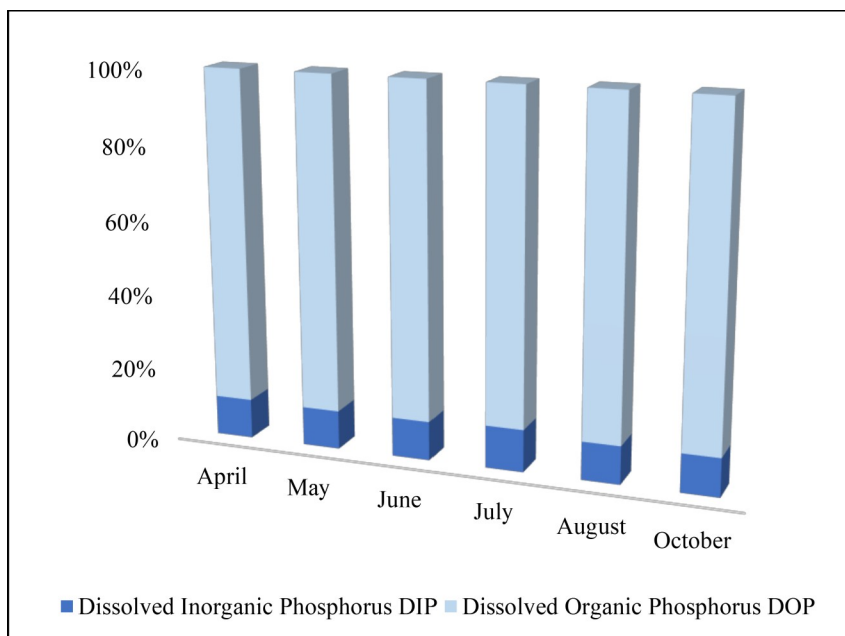


Figura 47. Distribuzione in % del DIP/DOP a Lignano sea

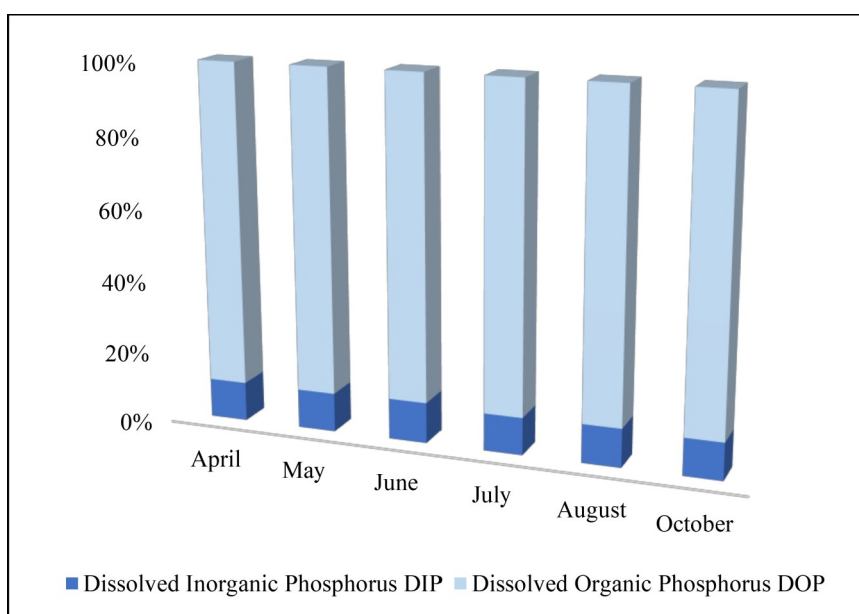


Figura 48. Distribuzione in % del DIP/DOP a San Giorgio sea

4.1.7 Distribuzione DIN

Nelle figure (49-50) è mostrata la distribuzione in percentuale dell'azoto inorganico disciolto nei siti DP.

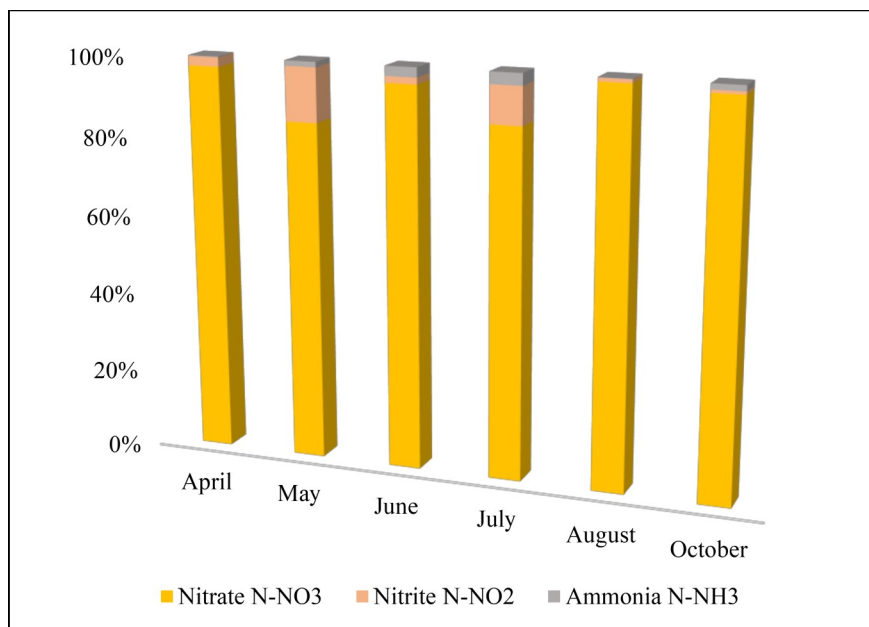


Figura 49. Distribuzione in % del DIN a Lignano DP

Le acque in uscita dal depuratore di Lignano (figura 49), relativamente alla ripartizione dei composti costituenti l'azoto inorganico disciolto (DIN), sono costituite prevalentemente da Azoto nitrico ($N-NO_3$), oscillando da un minimo dell'82% (maggio) e del 99% (agosto), senza evidenziare particolari tendenze. L'azoto nitroso ($N-NO_2$) rappresenta la seconda frazione dominante, oscillando da valori inferiori all'1% (agosto) ad un massimo del 16% (maggio). L'azoto

ammoniacale (N-NH₃) occupa quasi sempre una frazione minimale, inferiore al 2% sul contenuto totale di DIN.

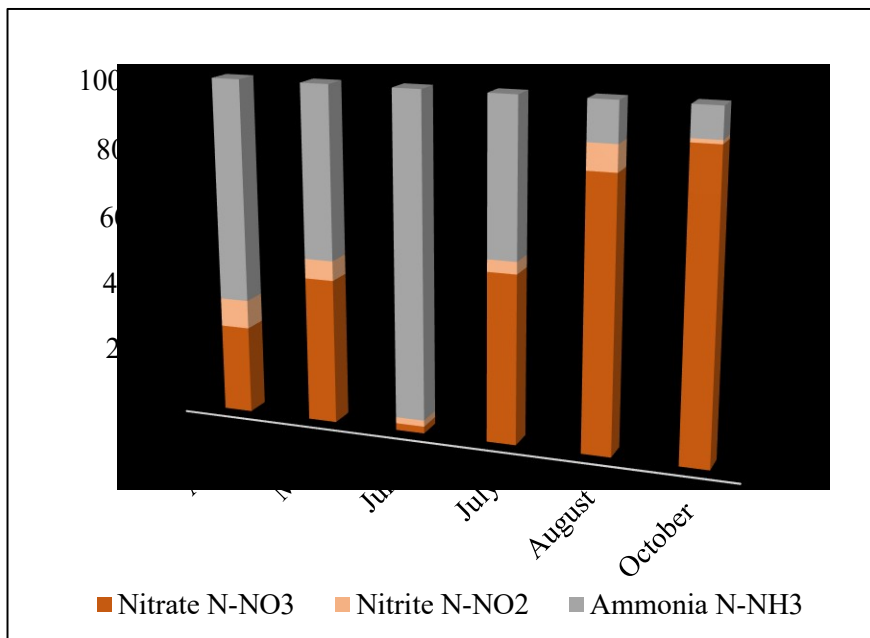


Figura 50. Distribuzione in % del DIN a San Giorgio DP

Le acque in uscita dal depuratore di San Giorgio (figura 50), rispetto al DIN, invece, mostrano un andamento variabile: l'azoto ammoniacale, nella prima parte della stagione occupa la frazione maggioritaria del DIN, arrivando anche al 99% del totale. Nella seconda parte della stagione la composizione si inverte e i nitrati diventano i principali costituenti del refluo, oscillando da un minimo del 50% (luglio) ad un massimo di circa il 90% (ottobre). I nitriti rappresentano sempre la frazione minoritaria, variando da valori minori all'1% ad un massimo dell'8% circa (agosto).

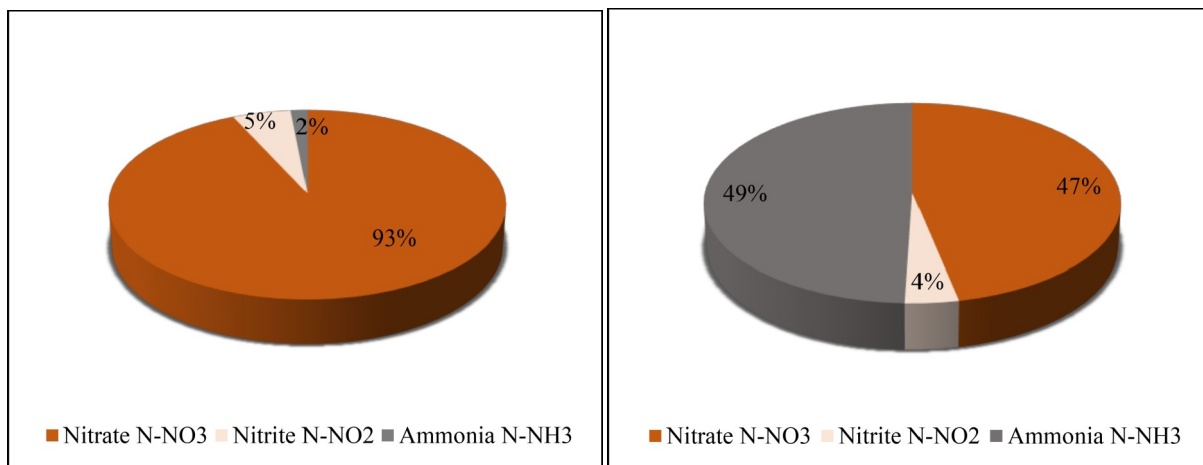


Figura 51. Distribuzione DIN a Lignano DP

Figura 52. Distribuzione DIN a San Giorgio DP

Nelle figure (51-52) vengono evidenziate le differenze sostanziali tra i DP, valutando la composizione media del refluo in merito alla distribuzione delle frazioni azotate, tutto il periodo di studio. Si nota da subito come nel depuratore di Lignano (figura 51) la quasi totalità del refluo è costituita da azoto nitroso N-NO₃ (93%), mentre l'azoto ammoniacale risulta estremamente basso (2%). Nel depuratore di San Giorgio (figura 52) il refluo è invece costituito per circa metà (49%) da azoto ammoniacale, e l'altra metà circa (47%) è rappresentata da azoto nitroso. Questa differenza è dovuta alla differente tipologia di reflui in ingresso al depuratore: le acque di raccolta del DP di Lignano, infatti, sono prettamente di origine domestica, mentre il DP di San Giorgio tratta in maggior parte acque di origine industriale.

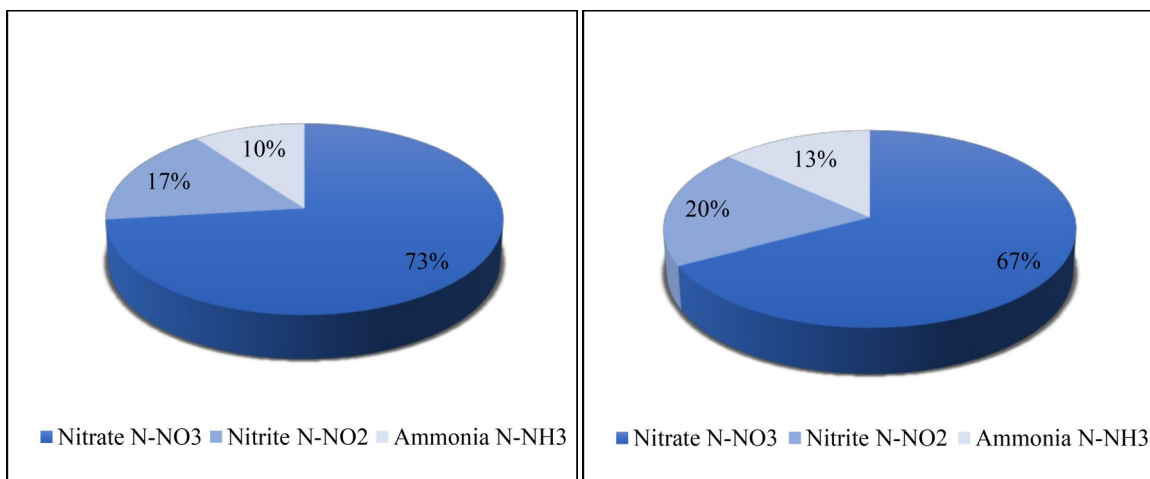


Figura 53. Distribuzione DIN a Lignano sea

Figura 54. Distribuzione DIN a San Giorgio sea

A differenza di quanto visto per i depuratori (figura 51-52), in mare la composizione delle acque relativamente alle frazioni azotate costituenti il DIN (figura 53-54) non mostra differenze sostanziali ed anzi, risulta estremamente comparabile. La frazione maggioritaria è costituita dal N-NO₃ (67 e 73%), seguito da N-NO₂ (17-20%) e la frazione minoritaria è rappresentata da N-NH₃ (10-13%). La composizione del refluo, dunque, non influisce eccessivamente sulla composizione percentuale delle frazioni di DIN dell'acqua marina; ciò è imputabile all'effetto di diluizione del corpo idrico.

4.1.8 Confronto con dati di letteratura e limite di legge

In tabella 9 sono presentate le concentrazioni dei nutrienti determinate da diversi studi dalla letteratura in Nord Adriatico.

Tabella 9. Selezione dei dati della letteratura per la concentrazione dei nutrienti nelle acque marine

Sito anno	P _{tot}	P-PO ₄	N-NO ₂	N-NO ₃	N-NH ₃	DIN	SiO ₂	Riferimento
Laguna di Marano (2019)	64.5± 7.9	6.9± 0.9	7.4± 1.396	28.9± 28.39	4± 3.94	40.2± 28.5	119± 89.6	Questo studio
Nord Adriatico (1991)		3.097± 5.88	2.66± 2.94	21.85± 26.75	28.99± 18.91	52.2± 39.64		Kaltenböck et al, 1992
acque Nord Adriatico (1993- 1994)		3.72- 6.50		14.43- 46.64	6.44- 14.28		20.22- 118.8	Granèli et al, 1999
Nord Adriatico superficiale		1.55- 3.72		8.12- 44.54			14.32- 158.1	Zavatarelli et al, 1998
Nord Adriatico profondo		0.62- 2.17		5.60- 17.51			37.63- 70.77	Zavatarelli et al, 1998
Golfo di Trieste (1992- 1993)		<3.09		<70.03 - ~350.2	~14- ~70.03		<140. 4 ~702. 13	Reisenhofer et al, 1996
Golfo di Trieste (2006- 2007)	0.31- 3.72		0- 13.02	0- 122.55	<7.42- 47.76		0- 190.9	Cibic et al, 2018

Per quanto riguarda il confronto con i dati di letteratura, i nostri risultati nei siti di mare mostrano dei valori dello stesso ordine di grandezza di quelli riportati per il Nord Adriatico. Differentemente dagli altri siti riportati in letteratura, i

nostri punti di campionamento dei siti mare, presso la Laguna di Marano si riferiscono a siti impattati dallo scarico di acque depurate.

Dal confronto con la tabella 9 notiamo che i Silicati e l'Azoto nitroso risultano particolarmente confrontabili con gli altri studi riportati quali (Cibic et al., 2018, Reisenhofer et al., 1996), mentre valori maggiori si riscontrano per i P-PO₄ e N-NO₂, dovuto probabilmente alla vicinanza dei nostri punti di campionamento allo scarico dei reflui.

Per quanto riguarda il confronto con i limiti di legge, tutti i nutrienti si trovano in concentrazioni inferiori ai valori limite di legge disposti nel D. Lgs 152/2006, riportati in tabella 1, ad eccezione dei nitriti nel mese di maggio per il sito di Lignano DP, che presentano dei valori superiori rispetto al consentito (600 µg L⁻¹).

4.1 Metalli disciolti

I risultati dei paragrafi successivi esprimono i valori di metalli in tracce (Cd, Hg, As) in fase disciolta, in ng L⁻¹.

4.2.1 Cadmio

La figura 55 presenta la concentrazione (media ± SD) del cadmio nella costa italiana determinata sia in ambiente marino (sea) che DP. Si nota che i valori risultano generalmente maggiori in ambiente marino (media di 98 ng L)

rispetto a quelle riscontrate nei depuratori con una (media di 34.5 ng L^{-1}). Questa differenza è più evidente nei primi mesi (aprile-maggio) della stagione balneare.

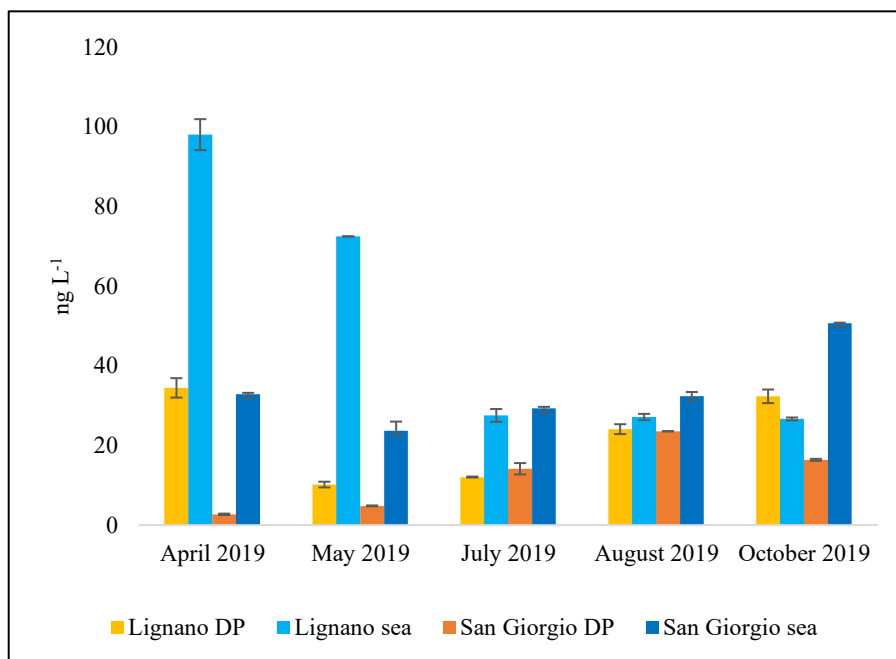


Figura 55. Concentrazione di cadmio nei siti di Lignano e San Giorgio

Nei siti DP (depuratore) i valori determinati variano da un minimo di 2.7 ng L^{-1} nel mese di aprile a San Giorgio DP ad un massimo di circa 34.5 ng L^{-1} dello stesso mese nel sito di Lignano DP. Le concentrazioni risultano molto variabili mostrando valori massimi a Lignano nei mesi di aprile e ottobre (circa 35 ng L^{-1}). Nei mesi di maggio, luglio e agosto non ci sono invece grosse differenze di concentrazione nei due depuratori.

Nei siti di mare le concentrazioni variano da un minimo di 23.7 ng L^{-1} (San Giorgio sea, maggio 2019) e ad un massimo di 98.0 ng L^{-1} (Lignano sea, aprile

2019). Per quanto riguarda questi siti (sea), si evidenziano valori più alti nei primi mesi (aprile-maggio) con valori di 98 ng L⁻¹ nel mese di aprile e 72 ng L⁻¹ nel mese di maggio a Lignano mare, seguiti poi da un calo nei mesi successivi con valore circa 27 ng L⁻¹ nel mese di luglio, agosto ed ottobre. Al contrario San Giorgio presenta valori più bassi nei primi mesi della stagione di balneazione circa 32.9 ng L⁻¹ nel mese di aprile, 23.7 ng L⁻¹ a maggio e 29.3 ng L⁻¹ a luglio, con un lieve incremento verso la fine del periodo estivo mostrando valori di circa 32.4 ng L⁻¹ ad agosto e 50.7 ng L⁻¹ ad ottobre.

La figura 56, 57, 58 presenta i valori di cadmio presso la città di Zara, Spalato 1 e Spalato 2 della costa croata.

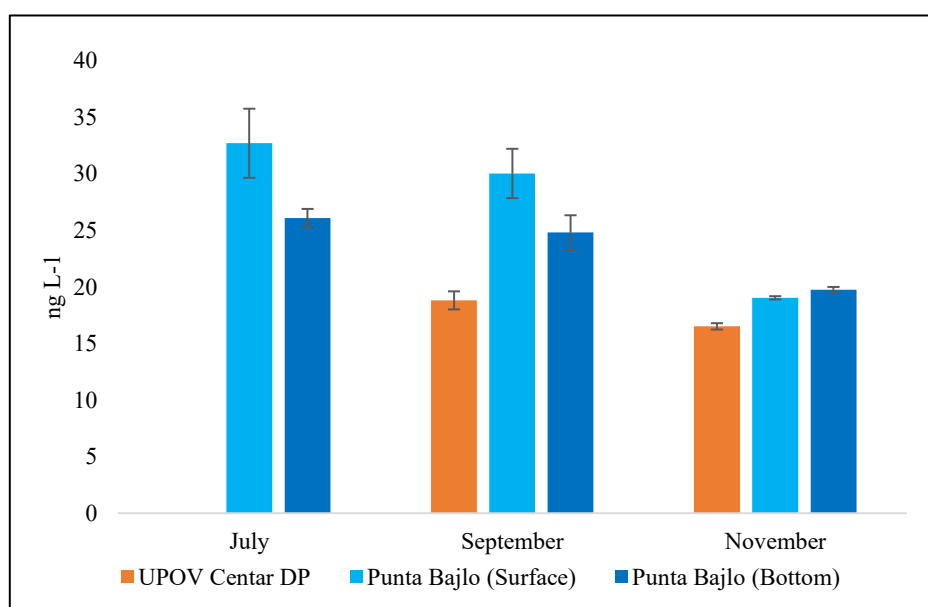


Figura 56. Concentrazione di cadmio a Zara

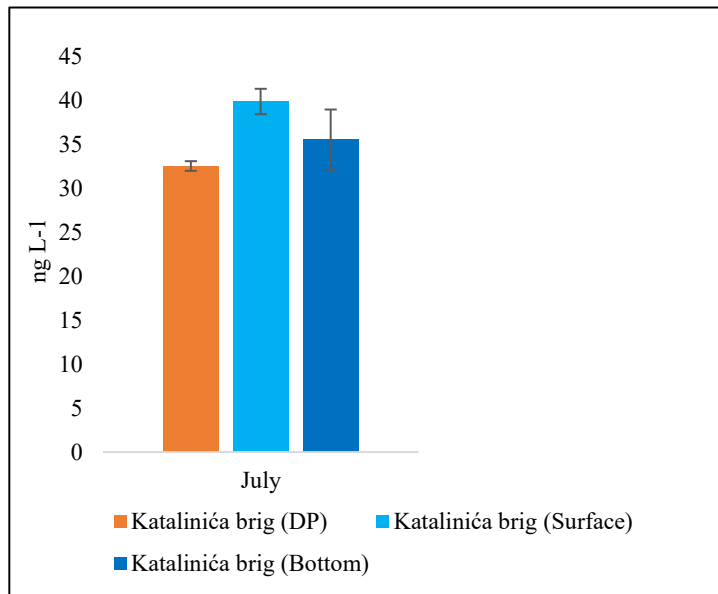


Figura 57. Concentrazione di cadmio a Spalato 1

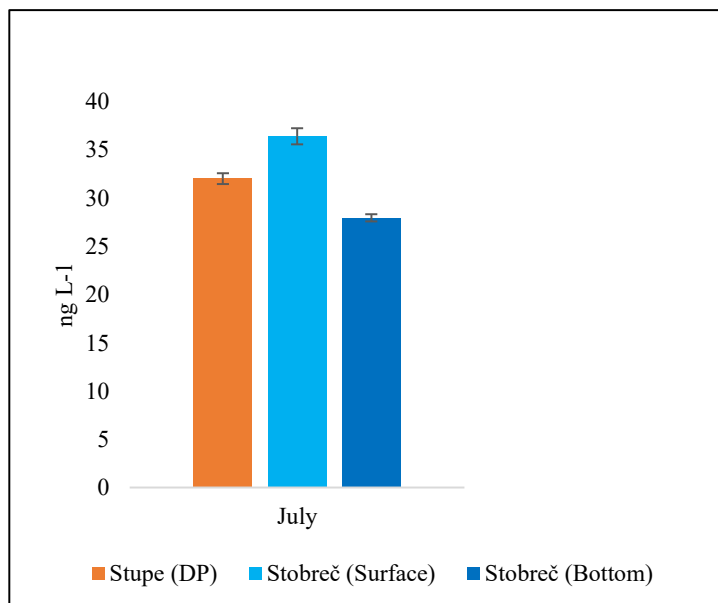


Figura 58. Concentrazione di cadmio a Spalato 2

Si nota che nel sito di UPOV Centar DP (figura 56) nel mese di luglio non sono presenti dei dati a causa della mancanza dei campioni necessari per effettuare le analisi. Nei mesi seguenti (settembre-novembre) si evidenzia un andamento

molto simile con una concentrazione di circa 18.8 ng L^{-1} a settembre rispetto ad un valore di 16.5 ng L^{-1} nel mese di novembre.

Per quanto riguarda i siti di mare, non ci sono differenze tra la superficie e fondo.

Nei siti di Spalato 1 e Spalato 2 i dati sono relativi solo al mese di luglio sia per i siti di sea che DP (figura 57- 58). I siti di mare e DP mostrano valori simili, per cui non ci sono grosse differenze a Spalato 1 e 2: si riscontra una concentrazione di 32.5 ng L^{-1} a (Katalinića Brig DP) assolutamente in linea con i 32 ng L^{-1} di (Stupe DP) e i 38.9 ng L^{-1} di (Katalinića Brig (surface)), e i 36.4 ng L^{-1} di (Stobreč (surface)). Sia nei siti di mare che DP i valori rimangono al di sotto del valore limite di legge previsto dal D. Lgs 152/2006.

Nei siti DP i valori variano da un minimo di 16.5 ng L^{-1} a UPOV Centar DP nel mese di novembre ad un massimo di 32.5 ng L^{-1} a Katalinića Brig nel mese di luglio. La concentrazione di cadmio nei siti di mare è compresa in un range di 19 ng L^{-1} (Punta Bajlo (surface), novembre) e 39.8 ng L^{-1} a Katalinića Brig (surface) nel mese di luglio. In alcuni siti si notano valori lievemente maggiori in mare piuttosto che negli impianti di depurazione.

La concentrazione di cadmio presenta valori simili per la costa italiana e croata (media 28 ng L^{-1} - 29.8 ng L^{-1}). I valori del cadmio in entrambe le coste risultano

inferiori al limite di legge di $\leq 0.45 \mu\text{g L}^{-1}$ previsto dalla direttiva 39/2013 del UE.

4.2.2 Mercurio

L'andamento della concentrazione di mercurio nei siti della costa italiana è rappresentato nella figura 59.

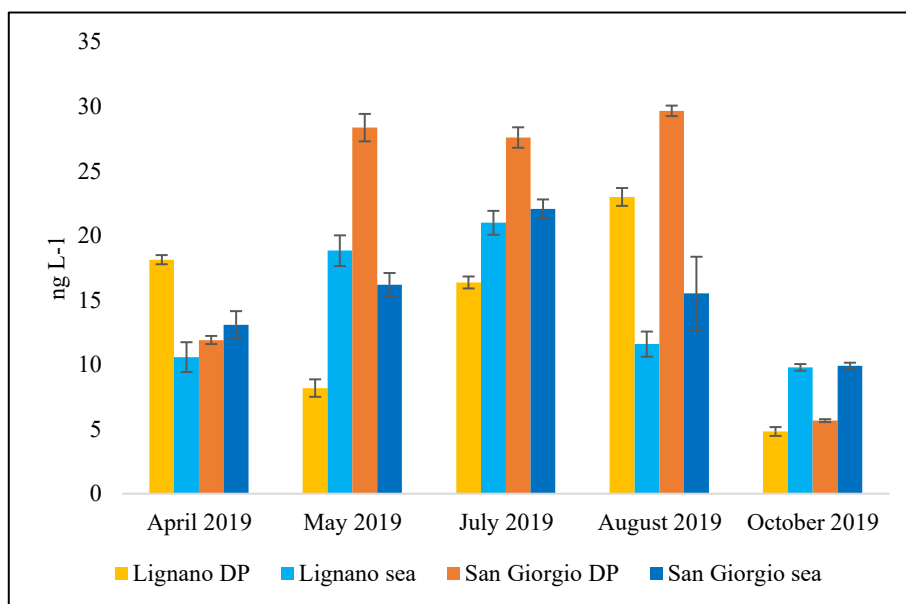


Figura 59. Concentrazioni di mercurio nei siti di Lignano e San Giorgio

Nei siti DP i valori mostrano un'ampia variabilità, oscillando da un minimo di 4.8 ng L^{-1} (Lignano DP, ottobre 2019) ad un massimo di 29.7 ng L^{-1} (San Giorgio DP, agosto 2019). Si osserva che nel mese di aprile le concentrazioni di Hg sono più alte a Lignano rispetto a San Giorgio, a differenza del trend che si osserva nei mesi successivi dove San Giorgio mostra valori generalmente più alti.

I siti di mare mostrano invece andamenti simili, con valori che oscillano da un minimo di 9.8 ng L⁻¹ nel mese di ottobre a Lignano sea ad un massimo di 22.1 ng L⁻¹ misurato nel mese di luglio a San Giorgio sea. I valori determinati nei siti di mare sono ben al di sotto del limite di legge di 0.07 µg L⁻¹ (D. 39/2913 del UE). Anche nel caso dei siti di depurazione (DP) le concentrazioni determinate non eccedono il valore limite di legge per le acque reflue depurate di 0.005 mg L⁻¹ (D. Lgs 152/2006).

Passando ai siti croati le figure 60, 61, 62 mostrano la variazione della concentrazione del mercurio nei siti di Zara, Spalato 1 e Spalato 2.

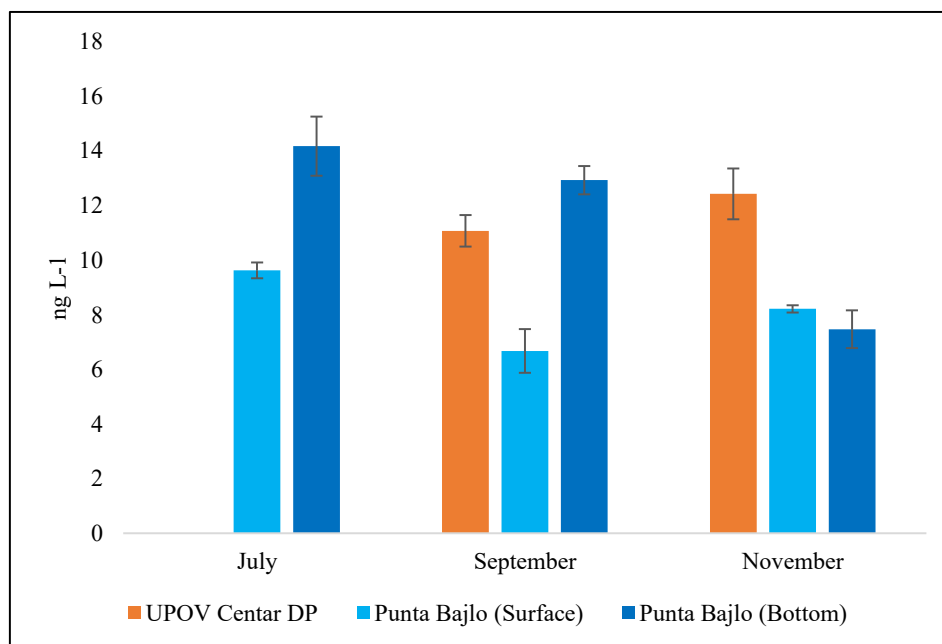


Figura 60. Concentrazione del mercurio a Zara

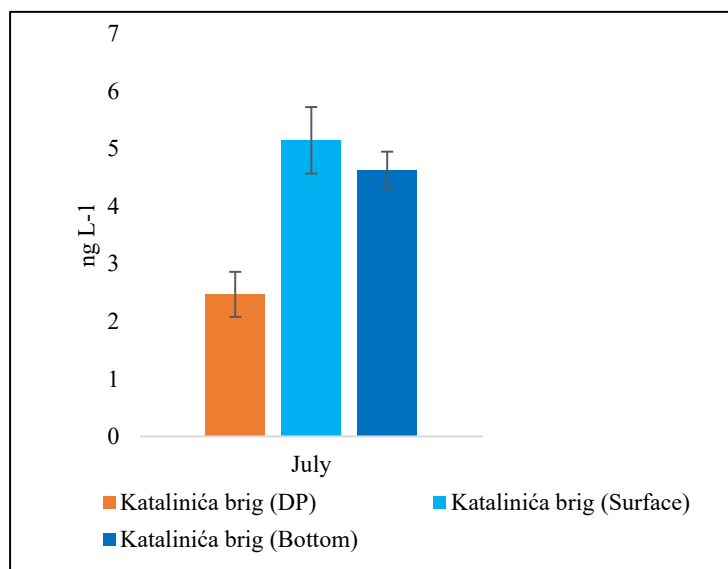


Figura 61. Concentrazione del mercurio a Spalato 1

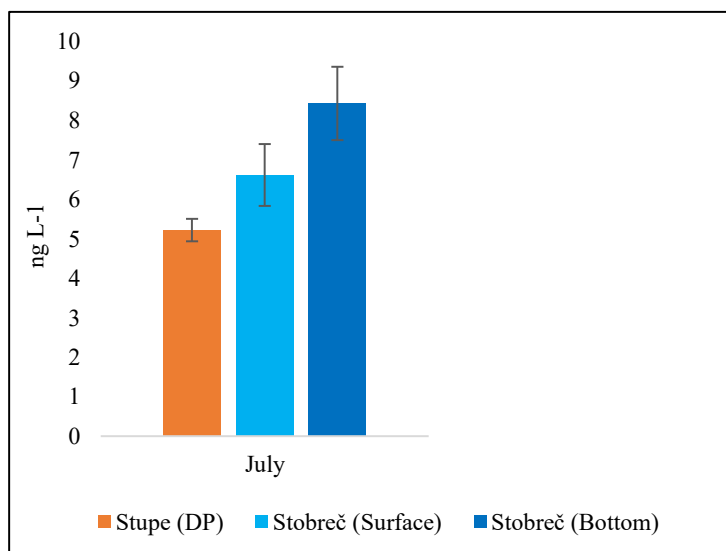


Figura 62. Concentrazione del mercurio nei siti di Spalato 2

Per i siti DP nel mese di luglio non sono stati prelevati campioni presso la città di Zara (figura 60). Si nota una concentrazione simile tra i mesi di (settembre e novembre) per i siti DP a Zara circa (11 ng L⁻¹), mentre nel mese di novembre il sito DP mostra valori più alti rispetto al sito di mare. I valori, seppur molto

bassi sono più alti a UPOV Centar DP rispetto a Katalinića Brig DP (figura 61) e Stupe DP (figura 62).

Nel sito di Stupe DP i valori sono leggermente più alti di quelli determinati presso Katalinića Brig DP. Le concentrazioni sono comprese tra 2.5 ng¹L Katalinića Brig, luglio, 5.2 ng L⁻¹ presso Stupe DP nel mese di luglio e 12.4 ng L⁻¹ UPOV Centar DP durante il mese di novembre.

Per quanto riguarda i siti di mare, nella città di Zara i siti in profondità mostrano un lieve incremento durante i mesi di luglio e settembre, seguito da un decremento nel mese di novembre.

Per quanto riguarda i campioni di Spalato 1 e 2 l'esigua numerosità dei campioni non ci consente una discussione approfondita. Tuttavia, si può notare che nei siti di mare si hanno valori leggermente più alti in profondità rispetto alla superficie e in entrambi i siti i valori risultano maggiori con una media di 4.9 ng L⁻¹ a Spalato 1 e 7.5 ng L⁻¹ a Spalato 2 rispetto alle concentrazioni rilevate nei siti DP (2.5 ng L⁻¹ a Spalato 1 e 5.2 ng L⁻¹ a Spalato 2). Sia nei siti sea che DP i valori risultano largamente al di sotto del limite di legge.

La concentrazione del mercurio nei siti di mare della costa italiana risulta maggiore rispetto ai siti della costa croata con una media di circa 14.8 ng L⁻¹ per i siti sea e 17.4 ng L⁻¹ per i siti DP rispetto al 8.4 ng L⁻¹ per i siti sea e 7.8

ng L⁻¹ per i DP della costa croata. Questo potrebbe essere dovuto agli apporti di materiale particellato veicolati nel Golfo di Trieste e Marano dal Fiume Isonzo. Quest'ultimo è soggetto al dilavamento dei terreni circostanti e dalle sponde fluviali dell'area di Idrija (Slovenia occidentale); in particolare da parte del torrente Idrijca. In questo sito, per un periodo di circa 500 anni, è stata condotta una intensa attività estrattiva che si è protratta fino alla definitiva chiusura dell'impianto avvenuta nel 1996. È stato stimato che circa cinque milioni di tonnellate di roccia mineralizzata contenente Hg, essenzialmente cinabro (HgS) e Hg nativo, siano state scavate e che solo una percentuale pari al 73% del Hg ad esse associato (105.000 t) sia stato recuperato (*Gosar et al., 1997*). Il rimanente Hg è stato dissipato nell'ambiente a causa della scarsa efficienza dei processi di arrostitimento del minerale: di conseguenza i terreni circostanti, le sponde e i sedimenti del torrente Idrijca sono stati fortemente contaminati. L'influenza del Hg proveniente dal distretto minerario si è estesa all'intero Golfo di Trieste ma anche all'adiacente Laguna di Marano e Grado. A livello della Laguna, nel periodo compreso tra il 1949 e il 1984, si è sommato un ulteriore apporto dovuto allo scarico incontrollato di reflui contenenti Hg, utilizzato come catalizzatore, nell'impianto cloro-soda sito nella zona industriale di Torviscosa (*Daris et al., 1993*). Tuttavia, i siti della costa italiana

monitorati durante questo lavoro hanno valori di mercurio inferiori al limite di legge di $0.07 \mu\text{g L}^{-1}$ in base alla Direttiva 39/2013 del UE).

4.2.3 Arsenico

Le concentrazioni medie dell'arsenico nei siti italiani di Lignano e San Giorgio sono riportate nella figura 63.

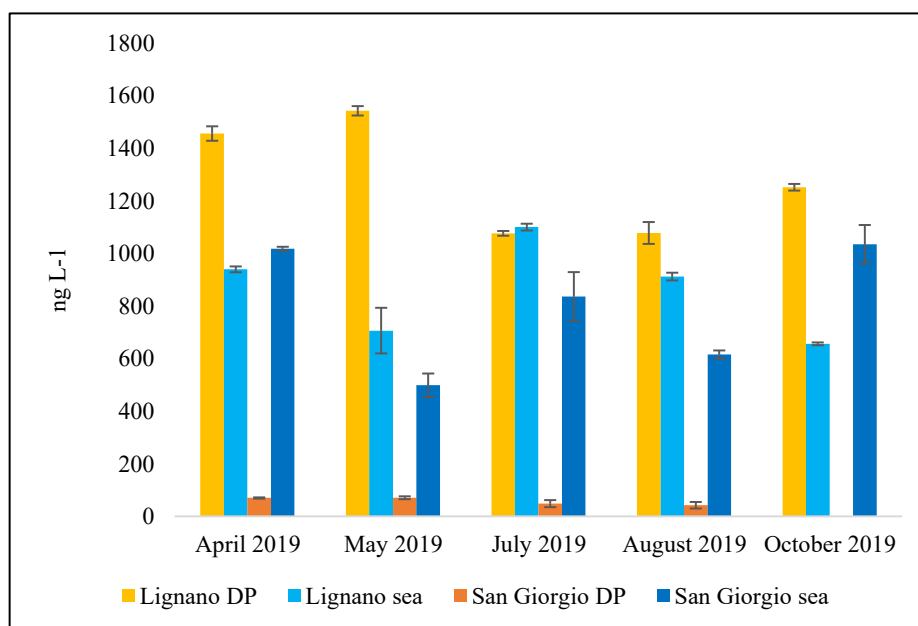


Figura 63. Concentrazioni dell'arsenico nei siti di Lignano e San Giorgio

Nei depuratori le concentrazioni variano da un minimo di $42.3 \text{ ng}^{-1}\text{L}$ (San Giorgio DP, agosto) e ad un massimo di 154 ng L^{-1} (Lignano DP, maggio). I valori riportati dalla figura evidenziano differenze significative tra i due siti. L'arsenico è presente prevalentemente a Lignano DP rispetto a San Giorgio DP. Il sito di Lignano mostra valori più alti durante tutta la stagione balneare,

mentre il sito di San Giorgio mostra sempre i valori più bassi anche minori del limite di quantificazione strumentale ($LOD = 0.01 \mu\text{g L}^{-1}$).

In ambiente marino le concentrazioni dell'arsenico sono comprese in un range che oscilla tra 109 ng L^{-1} a Lignano nel mese di luglio e 498 ng L^{-1} a San Giorgio sea nel mese di maggio. Tali concentrazioni non mostrano un particolare andamento durante la stagione balneare in ambito dei siti sea.

Per quanto riguarda il confronto con il limite di legge che esiste solo per le acque reflue depurate (D. Lgs 152/2006), le concentrazioni dell'arsenico risultano inferiori a 0.5 mg L^{-1} sia nei siti sea che DP.

I valori dell'arsenico nei siti della costa croata sono riportati nelle figure 64, 65, 66.

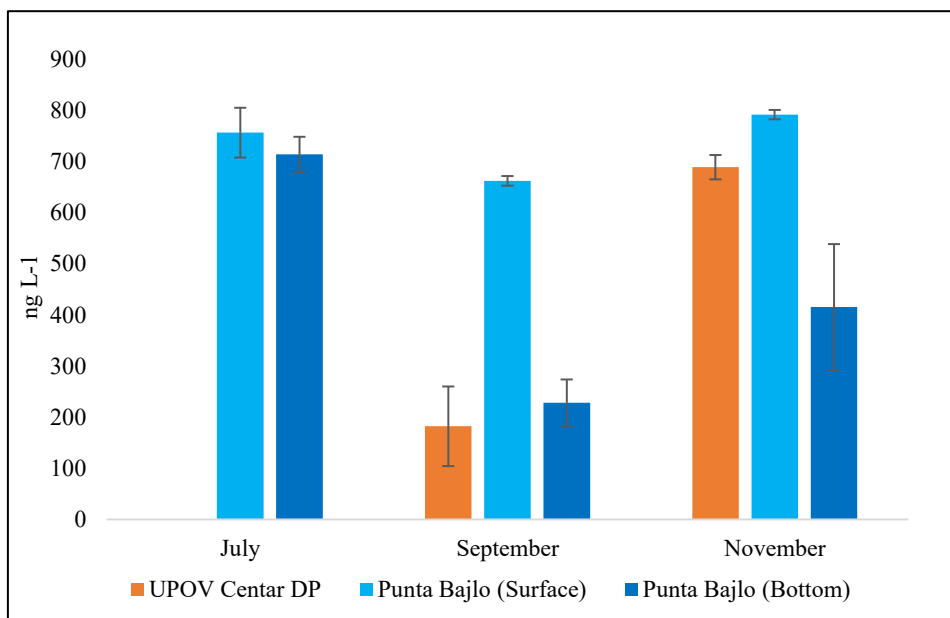


Figura 64. Concentrazione dell'arsenico a Zara

Per il sito UPOV Centar DP della città di Zara non sono disponibili i valori del mese di luglio. Dalla figura si nota un incremento nel mese di novembre (688 ng L⁻¹) rispetto al mese di settembre (182 ng L⁻¹). Per quanto riguarda il sito di mare, i valori sono più alti nei siti di superficie (736 ng L⁻¹) che profondità (452 ng L⁻¹).

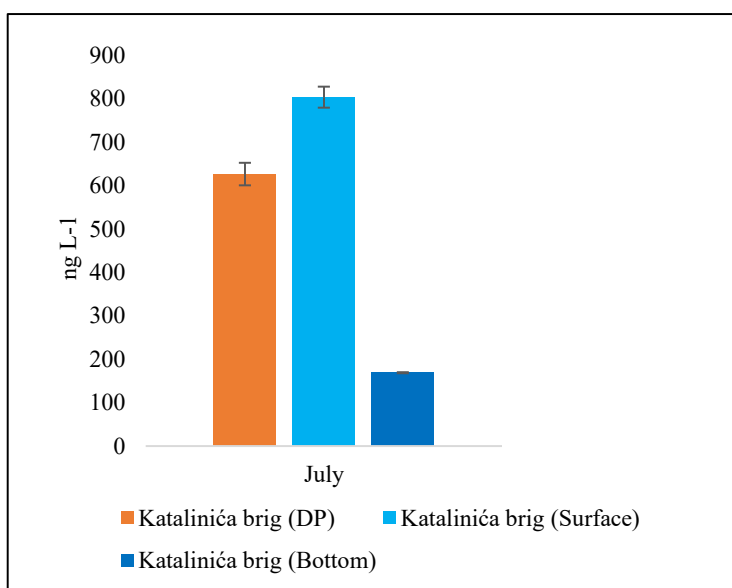


Figura 65. Concentrazione dell'arsenico a Spalato 1

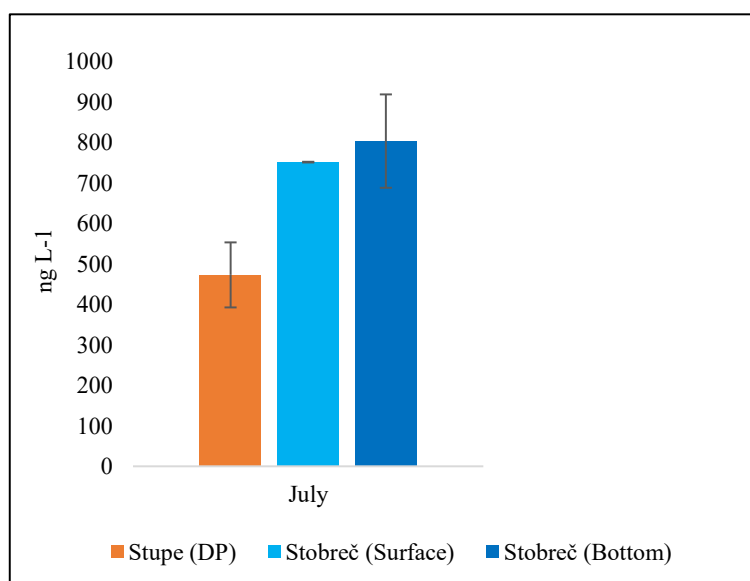


Figura 66. Concentrazione dell'arsenico a Spalato 2

Il sito di Katalinića Brig DP mostra un valore più alto dell'arsenico (600 ng L^{-1}) rispetto a Stupe DP (450 ng L^{-1}).

Per i siti di mare a Spalato 1 è evidente una differenza tra la superficie e il fondo, con valori più alti nettamente nella superficie (803 ng L^{-1}) rispetto al fondo (169 ng L^{-1}), mentre a Spalato 2 la differenza è molto lieve 750 ng L^{-1} in superficie e 800 ng L^{-1} in profondità.

Nella costa croata i valori determinati sono inferiori al limite di legge di $5 \mu\text{g L}^{-1}$ in base al (D. Lgs del 13 ottobre 2015). Confrontando i siti della costa italiana e croata, dalle figure è evidente che le concentrazioni determinate sono più alte nei siti della costa italiana, dove i siti di mare presentano un valore massimo di 1099 ng L^{-1} , minimo di 498.2 ng L^{-1} e per i siti DP un massimo di 154 e un minimo di 42.3 ng L^{-1} .

4.2.4 Confronto con dati di letteratura e limite di legge

In tabella 10 sono presentati i valori di Cd, Hg, As relativi da diversi studi condotti nel mar Mediterraneo.

Tabella 10. Concentrazione di Cd, Hg, As in aree diverse del mare Mediterraneo

Sito ed anno	Cd (ng/L)	Hg (ng/ L)	As (ng/ L)	Riferimento
Laguna di Marano 2019	29.8	16.1	786.5	Questo studio
Croazia 2019	28	8.2	576	Questo studio
Nord Adriatico 1990	15.74	nd	nd	Scarponi et al.,1995
Fiume PO 1991	65.19	nd	nd	Dorten et al., 1991
Laguna di Venezia 1992	12.36	nd	nd	Cescon et al., 2000
Nord Adriatico 1994	9.33	nd	nd	Tankere e Statham 1996
Durres Bay (Albania), 1999-2002	121-187	76.6-101.1	nd	Lazo et al., 2003
Adriatico centrale 2004	15±3	nd	nd	Annibaldi et al., 2009
Ancona (Italy), 2005	14±1	nd	nd	Annibaldi et al., 2011
Mljet National Park (Croatia), 2005-2008	6.4-18.7	0.5-24.2	nd	Cuculić et al., 2009
Southeast Adriatic coast (Montenegro), 2005-2007	0-7400	200-2000	500-3100	Stanković et al., 2014
Ancona, Nord Adriatico 2011	25.8	nd	nd	Annibaldi et al.,2011
Adriatico meridionale 1994	8.54			Tankere e Statham 1996
Nord Adriatico	nd	4.07 ± 1.00	nd	R. Ferrara, BE Maserti 1992

1990				
Golfo di Trieste	nd	surf	bot	nd
giugno 1995		4.90	1.31	M Harvat et al., 1999
settembre 1995		4.73	0.83	
Adriatico Centrale	nd	3.67 ± 1.12		nd R. Ferrara, BE Maserti 1992
1990				
Adriatico Meridionale	nd	2.96 ± 0.71		nd R. Ferrara, BE Maserti 1992
1990				
Fiume Isonzo	nd	<LOD-8.60	190-2310	E Pavoni et al., 2020
Golfo di Trieste	nd	nd	52.4	Klun et al., 2019
Golfo di Trieste	nd	nd	89.9	Koron et al., 2013

Per quanto riguarda i dati di letteratura, i risultati ottenuti da questo studio per i tre metalli della costa italiana e croata sono in parte comparabili con i valori riportati in tabella. Si evidenzia che il Cd e il Hg determinati in questo lavoro di tesi hanno concentrazioni maggiori nel Adriatico come riportato da altri studi (Dorten et.,al 1991), (Annibaldi et.,al 2011). Una causa potrebbe essere l'influenza dal fiume Po, il quale contribuisce per un massiccio apporto di contaminanti rispetto ad altri fiumi europei (*Boldrin et al., 2005*). Il Po è tipicamente soggetto a grandi piene, durante le quali i processi di trasporto e deposizione portano grandi quantità di sedimenti sospesi e contaminanti associati, che possono essere stoccati o trasportati al largo nelle aree adiacenti (*Correggiari et al., 2005*). Molti studi hanno dimostrato che questo sito è gravemente inquinato chimicamente, poiché il fiume trasporta ogni anno

tonnellate di sostanze chimiche antropiche raccolte dall'intera pianura padana e dagli affluenti del fiume (*Viganò et al., 2003*).

D'altra parte, l'arsenico presenta valori maggiori di un ordine di grandezza con i dati riportati per il Golfo di Trieste.

Riguardo il confronto con il limite di legge, tutti i metalli di questo studio sono inferiori al limite fissato per le acque superficiali (Direttiva 39/2013/UE). Per l'arsenico si fa riferimento al D. Lgs 152/2006 riguardo le acque reflue depurate.

5. CONCLUSIONI

Da questo lavoro di tesi è emerso che in Nord Adriatico nei siti di depurazione di Lignano e San Giorgio la concentrazione dei nutrienti è più alta di uno/due ordini di grandezza rispetto ai siti di mare, ma presenta un impatto minimo sulle acque marine e sulla loro qualità. I nostri risultati in mare sono compatibili con i dati di letteratura, nonostante questi non si riferiscono ai siti impattati dal depuratore. Il depuratore di Lignano presenta valori più alti per alcuni nutrienti quali nitrati, nitriti, DIP rispetto al depuratore di San Giorgio, probabilmente in relazione alle caratteristiche del refluo in ingresso dell'impianto. Le due frazioni DIP/DOP che costituiscono il fosforo totale si invertono passando dal depuratore al mare aperto; nei siti DP la frazione maggioritaria è il fosforo

inorganico, mentre nei siti di mare la predominante è quella organica. Tutti i nutrienti determinati da questo studio presentano valori inferiori al limite di legge (D. Lgs 152/2006), eccetto i nitriti a Lignano DP nel mese di maggio.

Riguardo ai metalli nella costa italiana si riscontrano i valori più alti nei siti di depurazione rispetto ai siti di mare, tranne per il cadmio che presenta una concentrazione maggiore (circa 98 ng L⁻¹) a Lignano, probabilmente dovuto a fattori locali. Il depuratore di Lignano presenta concentrazioni di arsenico (media 1.28 µg L⁻¹) circa 20 volte maggiori rispetto al depuratore di San Giorgio (media 58 ng L⁻¹).

Sulla costa croata si ha una tendenza simile per tutti e tre i metalli con valori maggiori in ambiente marino rispetto al depuratore.

Confrontando i valori medi, generalmente, la concentrazione dei metalli nella costa italiana è più alta di quella della costa croata: per il Hg circa due volte, per l'arsenico circa 1/3, mentre per il Cd non ci sono differenze sostanziali.

Tuttavia, entrambe presentano valori ben al di sotto del limite di legge per i metalli disciolti nelle acque superficiali (Direttiva 39/2013 UE).

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Aczel, M. R. (2019). What is the nitrogen cycle and why is it key to life?
- Addae, E. (2013). *An assessment of heavy metal contamination in soils and vegetation: a case study of Korle Lagoon Reclamation site* (Doctoral dissertation, University of Ghana).
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, *91*(7), 869-881.
- Annibaldi, A., Illuminati, S., Truzzi, C., & Scarponi, G. (2011). SWASV speciation of Cd, Pb and Cu for the determination of seawater contamination in the Nicole shipwreck (Ancona coast, Central Adriatic Sea). *Marine pollution bulletin*, *62*(12), 2813-2821.
- Annibaldi, A., Truzzi, C., Illuminati, S., & Scarponi, G. (2009). Recent sudden decrease of lead in Adriatic coastal seawater during the years 2000–2004 in parallel with the phasing out of leaded gasoline in Italy. *Marine Chemistry*, *113*(3-4), 238-249.
- Appenroth, K. J. (2010). Definition of “heavy metals” and their role in biological systems. In *Soil heavy metals* (pp. 19-29). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Artegiani, A., Paschini, E., Russo, A., Bregant, D., Raicich, F., & Pinardi, N. (1997). The Adriatic Sea general circulation. Part I: Air–sea interactions and water mass structure. *Journal of physical oceanography*, 27(8), 1492-1514.
- Asano, S., Eto, K., Kurisaki, E., Gunji, H., Hiraiwa, K., Sato, M., ... & Wakasa, H. (2000). Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning. *Pathology International*, 50(3), 169-174.
- Baldi, F., Olson, G. J., & Brinckman, F. E. (1987). Mercury transformations by heterotrophic bacteria isolated from cinnabar and other metal sulfide deposits in Italy. *Geomicrobiology Journal*, 5(1), 1-16.
- Baldwin, D. S. (2013). Organic phosphorus in the aquatic environment. *Environmental Chemistry*, 10(6), 439-454.
- Barmawidjaja, D. M., Van der Zwaan, G. J., Jorissen, F. J., & Puskaric, S. (1995). 150 years of eutrophication in the northern Adriatic Sea: evidence from a benthic foraminiferal record. *Marine Geology*, 122(4), 367-384.
- Barregard, L., Rekić, D., Horvat, M., Elmberg, L., Lundh, T., & Zachrisson, O. (2011). Toxicokinetics of Mercury after long-term

repeated exposure to thimerosal-containing vaccine. *Toxicological Sciences*, 120(2), 499-506.

- Bastari, A., Micheli, F., Ferretti, F., Pusceddu, A., & Cerrano, C. (2016). Large marine protected areas (LMPAs) in the Mediterranean Sea: the opportunity of the Adriatic Sea. *Marine Policy*, 68, 165-177.
- Bastianini, M., Riminucci, F., Capondi, L., Barra, E., Pasqual, S., Casotti, R., ... & Fabbro, C. (2017). Rapporto sulle attività oceanografiche, biologiche, geologiche e di manutenzione della stazione meda S1-GB svolte durante la campagna oceanografica LTER-ANOC16 (26–30 aprile 2016) con N/O Dallaporta nel Mare Adriatico settentrionale. *Rapp. Tec. CNR-ISMAR*, 145, 1-27.
- Bastianini, M., Riminucci, F., Pansera, M., Coluccelli, A., Casotti, R., Dal Passo, E., ... & Virgili, S. (2017). Rapporto sulle attività biologiche, oceanografiche, geologiche e di manutenzione della stazione Boa E1 svolte durante la campagna INTERNOS17 (14–21 marzo 2017) con N/O Minerva Uno nel Mare Adriatico centro-settentrionale. *Rapp. Tec. CNR-ISMAR*, 146, 1-37.

- Bissen, M., & Frimmel, F. H. (2003). Arsenic—a review. Part II: oxidation of arsenic and its removal in water treatment. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 31(2), 97-107.
- Blum, J. D. (2013). Mesmerized by mercury. *Nature chemistry*, 5(12), 1066-1066.
- Boldrin, A., Langone, L., Miserocchi, S., Turchetto, M., & Acri, F. (2005). Po River plume on the Adriatic continental shelf: dispersion and sedimentation of dissolved and suspended matter during different river discharge rates. *Marine Geology*, 222, 135-158.
- Caeiro, S., Costa, M. H., Ramos, T. B., Fernandes, F., Silveira, N., Coimbra, A., ... & Painho, M. (2005). Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: an index analysis approach. *Ecological indicators*, 5(2), 151-169.
- Cerri, A., & Romanelli, M. M. C. (2017). Giusto von Liebig (1803–1873): uno dei padri della medicina di laboratorio. *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine*, 13(2), 113-116.
- Chang, L. W., Magos, L., & Suzuki, T. (Eds.). (1996). *Toxicology of metals*. Boca Raton, FL: CRC.

- Cibic, T., Cerino, F., Karuza, A., Fornasaro, D., Comici, C., & Cabrini, M. (2018). Structural and functional response of phytoplankton to reduced river inputs and anomalous physical-chemical conditions in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *Science of the Total Environment*, 636, 838-853.
- Clark, R. B., Frid, C., & Attrill, M. (1989). *Marine pollution* (Vol. 4). Oxford: Clarendon Press.
- Clarkson, T. W. (1997). The toxicology of mercury. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 34(4), 369-403.
- Correggiari, A., Cattaneo, A., & Trincardi, F. (2005). The modern Po Delta system: lobe switching and asymmetric prodelta growth. *Marine Geology*, 222, 49-74.
- Costantini, M., Idaszek, J., Szöke, K., Jaroszewicz, J., Dentini, M., Barbetta, A., ... & Świążkowski, W. (2016). 3D bioprinting of BM-MSCs-loaded ECM biomimetic hydrogels for in vitro neocartilage formation. *Biofabrication*, 8(3), 035002.
- COVELLI, S. (1997). Ciclo biogeochimico del mercurio nei sedimenti del Golfo di Trieste.

- Covelli, S., Brambati, A., & Piani, R. (2006). Il mercurio negli ambienti costieri del nord Adriatico. *Geologia & Salute*, 47.
- Cuculić, V., Cukrov, N., Kwokal, Ž., & Mlakar, M. (2009). Natural and anthropogenic sources of Hg, Cd, Pb, Cu and Zn in seawater and sediment of Mljet National Park, Croatia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81(3), 311-320.
- Davidson, E. A., & Howarth, R. W. (2007). Nutrients in synergy. *Nature*, 449(7165), 1000-1001.
- Davies, B. E. (1978). Plant-available lead and other metals in British garden soils. *Science of the Total Environment*, 9(3), 243-262.
- Dorten, W. S., Elbaz-Poulichet, F., Mart, L. R., & Martin, J. M. (1991). Reassessment of the river input of trace metals into the Mediterranean Sea. *Ambio*, 20(1), 2-6.
- Duffus, J. H. (2002). " Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and applied chemistry*, 74(5), 793-807.
- Eisler, R. (1987). *Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review* (No. 10). Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior.

- Ferrara, R., & Maserti, B. E. (1992). Mercury concentration in the water, particulate matter, plankton and sediment of the Adriatic Sea. *Marine Chemistry*, 38(3-4), 237-249.
- Franić, Z. (2005). Estimation of the Adriatic Sea water turnover time using fallout ⁹⁰Sr as a radioactive tracer. *Journal of Marine Systems*, 57(1-2), 1-12.
- Gačić, M., Mosquera, I. M., Kovačević, V., Mazzoldi, A., Cardin, V., Arena, F., & Gelsi, G. (2004). Temporal variations of water flow between the Venetian lagoon and the open sea. *Journal of Marine Systems*, 51(1-4), 33-47.
- Garelick, H., Jones, H., Dybowska, A., & Valsami-Jones, E. (2009). Arsenic pollution sources. *Reviews of Environmental Contamination Volume 197*, 17-60.
- Gee, C. S., Pfeffer, J. T., & Suidan, M. T. (1990). Nitrosomonas and Nitrobacter interactions in biological nitrification. *Journal of environmental Engineering*, 116(1), 4-17.
- GIOVANARDI, F., & Vollenweider, R. A. (2004). Trophic conditions of marine coastal waters: experience in applying the Trophic Index TRIX

to two areas of the Adriatic and Tyrrhenian seas. *Journal of Limnology*, 63(2), 199-218.

- Glibert, P. M. (2017). Eutrophication, harmful algae and biodiversity—Challenging paradigms in a world of complex nutrient changes. *Marine Pollution Bulletin*, 124(2), 591-606.
- Glibert, P. M., Al-Azri, A., Allen, J. I., Bouwman, A. F., Beusen, A. H., Burford, M. A., ... & Zhou, M. (2018). Key questions and recent research advances on harmful algal blooms in relation to nutrients and eutrophication. *Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms*, 229-259.
- Gosar, M., Pirc, S., Šajn, R., Bidovec, M., Mashyanov, N. R., & Sholupov, S. E. (1997). Distribution of mercury in the atmosphere over Idrija, Slovenia. *Environmental Geochemistry and Health*, 19(3), 101-112.
- Goyer, R. A. (1993). Lead toxicity: current concerns. *Environmental health perspectives*, 100, 177-187.
- Granéli, E., Carlsson, P., Turner, J. T., Tester, P. A., Béchemin, C., Dawson, R., & Funari, E. (1999). Effects of N: P: Si ratios and zooplankton grazing on phytoplankton communities in the northern

Adriatic Sea. I. Nutrients, phytoplankton biomass, and polysaccharide production. *Aquatic Microbial Ecology*, 18(1), 37-54.

- Gray, J. S. (2002). Species richness of marine soft sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 244, 285-297.
- Groffman, P. M., Davidson, E. A., & Seitzinger, S. (2009). New approaches to modeling denitrification. *Biogeochemistry*, 93(1), 1-5.
- Guthrie, R. K., Davis, E. M., Cherry, D. S., & Murray, H. E. (1979). Biomagnification of heavy metals by organisms in a marine microcosm. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 21(1), 53-61.
- Guzzi, G., Grandi, M., Cattaneo, C., Calza, S., Minoia, C., Ronchi, A., ... & Severi, G. (2006). Dental amalgam and mercury levels in autopsy tissues: food for thought. *The American journal of forensic medicine and pathology*, 27(1), 42-45.
- Hamasaki, T., Nagase, H., Yoshioka, Y., & Sato, T. (1995). Formation, distribution, and ecotoxicity of methylmetals of tin, mercury, and arsenic in the environment. *Critical reviews in environmental science and technology*, 25(1), 45-91.

- Harper, D. M. (1992). *Eutrophication of freshwaters* (p. 327). London: Chapman & Hall.
- Hinkle, P. M., Kinsella, P. A., & Osterhoudt, K. C. (1987). Cadmium uptake and toxicity via voltage-sensitive calcium channels. *Journal of Biological Chemistry*, 262(34), 16333-16337.
- Illuminati, S., Annibaldi, A., Truzzi, C., & Scarponi, G. (2014). Recent temporal variations of trace metal content in an Italian white wine. *Food chemistry*, 159, 493-497.
- Illuminati, S., Annibaldi, A., Truzzi, C., Libani, G., Mantini, C., & Scarponi, G. (2015). Determination of water-soluble, acid-extractable and inert fractions of Cd, Pb and Cu in Antarctic aerosol by square wave anodic stripping voltammetry after sequential extraction and microwave digestion. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 755, 182-196.
- Inaba, T., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Uetani, M., Oishi, M., Nakagawa, H., & Nogawa, K. (2005). Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. *Toxicology letters*, 159(2), 192-201.
- Islam, M. S., & Tanaka, M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach

- for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, 48(7-8), 624-649.
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British medical bulletin*, 68(1), 167-182.
 - Kaltenböck, E., & Herndl, G. J. (1992). Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. IV. Dissolved nutrients and the autotrophic community associated with marine snow. *Marine Ecology-Progress Series*, 87, 147-147.
 - Klun, K., Falnoga, I., Mazej, D., Šket, P., & Faganeli, J. (2019). Colloidal organic matter and metal (loid) s in coastal waters (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Aquatic Geochemistry*, 25(5), 179-194.
 - Koron, N., Ogrinc, N., Metzger, E., Riedel, B., & Faganeli, J. (2013). Diagenesis and benthic fluxes of nutrients and metals during experimentally induced anoxia in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea). *Biogeosciences Discussions*, 10(7), 11729-11755.
 - Kourafalou, V. H. (1999). Process studies on the Po River plume, north Adriatic Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 104(C12), 29963-29985.

- Lazo, P., Cullaj, A., & Baraj, B. (2003, May). An evaluation of Hg, Cr and heavy metals pollution in seawater and sediments of Durres Bay Adriatic Sea-Albania. In *Journal de Physique IV (Proceedings)* (Vol. 107, pp. 715-720). EDP sciences.
- Limongelli G. (2012/2013). Tesi di Dottorato di Ricerca: “La tutela dell’ambiente marino e costiero nel sistema del trasposto marittimo”, Università degli studi di Udine.
- Lin, Y. P., & Singer, P. C. (2005). Inhibition of calcite crystal growth by polyphosphates. *Water research*, 39(19), 4835-4843.
- Loreau, M. (1996). Coexistence of multiple food chains in a heterogeneous environment: interactions among community structure, ecosystem functioning, and nutrient dynamics. *Mathematical biosciences*, 134(2), 153-188.
- Lukasz, D., Liwia, R., Aleksandra, M., & Aleksandra, S. (2014). Dissolution of arsenic minerals mediated by dissimilatory arsenate reducing bacteria: estimation of the physiological potential for arsenic mobilization. *BioMed research international*, 2014.
- Mandal, B. K., & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58(1), 201-235.

- Mason, R. P., Choi, A. L., Fitzgerald, W. F., Hammerschmidt, C. R., Lamborg, C. H., Soerensen, A. L., & Sunderland, E. M. (2012). Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications. *Environmental research*, 119, 101-117.
- Mazumder, D. G. (2008). Chronic arsenic toxicity & human health. *Indian J Med Res*, 128(4), 436-447.
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., ... & Yezzer, E. A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New phytologist*, 178(4), 719-739.
- Miura, K., Koide, N., Himeno, S., Nakagawa, I., & Imura, N. (1999). The involvement of microtubular disruption in methylmercury-induced apoptosis in neuronal and nonneuronal cell lines. *Toxicology and applied pharmacology*, 160(3), 279-288.
- Mohamed, H. (2013). *Determination of Heavy Metal* (Doctoral dissertation, University of Khartoum).
- Orlandi, L., Bentivoglio, F., Carlino, P., Calizza, E., Rossi, D., Costantini, M. L., & Rossi, L. (2014). $\delta^{15}\text{N}$ variation in *Ulva lactuca* as

- a proxy for anthropogenic nitrogen inputs in coastal areas of Gulf of Gaeta (Mediterranean Sea). *Marine pollution bulletin*, 84(1-2), 76-82.
- Paerl, H. W. (2009). Controlling eutrophication along the freshwater–marine continuum: dual nutrient (N and P) reductions are essential. *Estuaries and Coasts*, 32(4), 593-601.
 - Pahlow, M., & Riebesell, U. (2000). Temporal trends in deep ocean Redfield ratios. *Science*, 287(5454), 831-833.
 - Palumbo, E. (2013). *Studio del bioaccumulo di cadmio sia in piante wild type che in piante opportunamente ingegnerizzate al fine di modularne la resistenza al metallo* (Bachelor's thesis, Università Ca 'Foscari Venezia).
 - Pavoni, E., Crosera, M., Petranich, E., Adami, G., Faganelli, J., & Covelli, S. (2020). Partitioning and mixing behaviour of trace elements at the Isonzo/Soča River mouth (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *Marine Chemistry*, 223, 103800.
 - Poulain, P. M., & Hariri, S. (2013). Transit and residence times in the Adriatic Sea surface as derived from drifter data and Lagrangian numerical simulations. *Ocean Science*, 9(4), 713-720.

- Pourret, O., & Hursthouse, A. (2019). It's time to replace the term "heavy metals" with "potentially toxic elements" when reporting environmental research. *International journal of environmental research and public health*, 16(22), 4446.
- Rangel-Montoya, E. A., & Balagurusamy, N. (2015). Bioprospección de bacterias oxidantes de arsenito de suelo de la comarca lagunera. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y dell'ambiente*, 21(1), 41-56.
- Raposo, C., Windmüller, C. C., & Junior, W. A. D. (2003). Mercury speciation in fluorescent lamps by thermal release analysis. *Waste Management*, 23(10), 879-886.
- Rapporto ISPRA 149/2011, Sversamenti di prodotti petroliferi: sicurezza e controllo del trasporto marittimo, pp. 9 e ss.
- Rast, W., & Thornton, J. A. (1996). Trends in eutrophication research and control. *Hydrological processes*, 10(2), 295-313.
- Reisenhofer, E., Adami, G., & Favretto, A. (1996). Heavy metals and nutrients in coastal, surface seawaters (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea): an environmental study by factor analysis. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 354(5-6), 729-734.

- Saccon, P., Leis, A., Marca, A., Kaiser, J., Campisi, L., Böttcher, M. E., ... & Erbland, J. (2013). Multi-isotope approach for the identification and characterisation of nitrate pollution sources in the Marano lagoon (Italy) and parts of its catchment area. *Applied geochemistry*, 34, 75-89.
- Scarponi, G., Capodaglio, G., Toscano, G., Barbante, C., & Cescon, P. (1995). Speciation of lead and cadmium in Antarctic seawater: comparison with areas subject to different anthropic influence. *Microchemical journal*, 51(1-2), 214-230.
- Schramm, W. (1996). Marine benthic vegetation: recent changes and the effects of eutrophication (No. 123). Springer Science & Business Media.
- Selman, M., & Greenhalgh, S. (2010). Eutrophication: sources and drivers of nutrient pollution. *Renewable Resources Journal*, 26(4), 19-26.
- Smedley, P. L. (2008). Sources and distribution of arsenic in groundwater and aquifers.
- Smith, T. M., & Smith, R. L. (2007). *Elementi di ecologia*. Pearson.
- Smodlaka, N. (1986). Primary production of the organic matter as an indicator of the eutrophication in the northern Adriatic Sea. *Science of the total environment*, 56, 211-220.

- Smodlaka, S. (2010). Modellizzazione della dinamica del fitoplancton nell'Alto Adriatico.
- Stanković, S., Tanaskovski, B., Zlatić, B., Arsenović, M., & Pezo, L. (2014). Analysis of trace elements in surface sediments, mussels, seagrass, and seawater along the southeastern Adriatic coast—a chemometric approach. *Pure and Applied Chemistry*, 86(7), 1111-1127.
- Stein, L. Y., & Klotz, M. G. (2016). The nitrogen cycle. *Current Biology*, 26(3), R94-R98.
- Sturchio, E., Zanellato, M., Minoia, C., & Bemporad, E. (2013). Arsenic: Environmental contamination and exposure. *SOURCES, ENVIRONMENTAL IMPACT, TOXICITY AND HUMAN HEALTH-A Medical GEOLOGY PERSPECTIVE*, 1.
- Tankere, S. P. C., & Statham, P. J. (1996). Distribution of dissolved Cd, Cu, Ni and Zn in the Adriatic sea. *Marine Pollution Bulletin*, 32(8-9), 623-630.
- Tankere, S. P. C., Morley, N. H., & Burton, J. D. (1995). Spatial and temporal variations in concentrations of trace metals in the regions of the Straits of Sicily and Gibraltar, *Wat. Pollut. Res. Reports*, 32, 205-219

- Tedetti, M., Guigue, C., & Goutx, M. (2010). Utilization of a submersible UV fluorometer for monitoring anthropogenic inputs in the Mediterranean coastal waters. *Marine pollution bulletin*, 60(3), 350-362.
- Tellez-Plaza, M., Navas-Acien, A., Crainiceanu, C. M., & Guallar, E. (2008). Cadmium exposure and hypertension in the 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Environmental health perspectives*, 116(1), 51-56.
- Vahter, M. (2002). Mechanisms of arsenic biotransformation. *Toxicology*, 181, 211-217.
- Viganò, L., Arillo, A., Buffagni, A., Camusso, M., Ciannarella, R., Crosa, G., ... & Valsecchi, S. (2003). Quality assessment of bed sediments of the Po River (Italy). *Water research*, 37(3), 501-518.
- Vitousek, P. M., Mooney, H. A., Lubchenco, J., & Melillo, J. M. (1997). Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277(5325), 494-499.
- Waalkes, M. P. (2003). Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1-2), 107-120.

- Zavatarelli, M., Raicich, F., Bregant, D., Russo, A., & Artegiani, A. (1998). Climatological biogeochemical characteristics of the Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems*, 18(1-3), 227-263.
- Zhu, M., Wang, Q., Chen, K., Wang, Y., Huang, C., Dai, H., ... & Dai, B. (2015). Development of a heterogeneous non-mercury catalyst for acetylene hydrochlorination. *Acs Catalysis*, 5(9), 5306-5316.
- AFS: <https://fulltech.it>
- Ammoniaca: <https://www.ars.toscana.it>
- Bottiglia Ruttner, sonda CTD: <https://www.ispraambiente.gov.it>
- Colorimetro SYSTEA EasyChem Plus: <https://www.systea.it>
- Concentrazione dell'arsenico dalle emissioni vulcaniche, erosioni del suolo: <https://www.inail.it>
- Concentrazioni del fosforo nelle acque superficiali e fognarie: <https://www.eea.europa.eu>
- Concentrazioni di metalli nell'acqua di mare: <https://eur-lex.europa.eu>
- Dead zone: <https://www.legambiente.it>
- Depuratore di Lignano Sabbiadoro: <https://friuliseria.it>
- Depuratore di San Giorgio: <https://www.regione.fvg.it>
- Disciplina sulle acque: <https://www.isprambiente.gov.it>

- European Commission, Water Framework Directive:
<https://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/>
- Fosforo: <https://webbook.arpae.it>
- GES: <http://www.strategiamarina.isprambiente.it>
- Indice Trix: <https://www.arpae.toscana.it>
- Valori limite di nutrienti in fognatura e nelle acque superficiali:
<https://www.ispraambiente.gov.it>

RINGRAZIAMENTI

A conclusione di questo lavoro di tesi, vorrei dedicare qualche riga a tutti coloro che mi sono stati vicini durante questo percorso di crescita personale e professionale.

In primis, un ringraziamento speciale alla mia relatrice, la professoressa Annibaldi, per la sua infinita disponibilità a guidarmi, incoraggiarmi e fornirmi i migliori suggerimenti in ogni step del mio studio.

Ringrazio i ragazzi del Laboratorio di Chimica Analitica Ambientale del DISVA: Matteo, Federico, Flavio, per tutta la pazienza che hanno mostrato nei miei confronti, gli utilissimi suggerimenti che mi hanno dato per condurre al meglio la mia ricerca.

Non posso non menzionare i miei genitori, il mio fidanzato per avermi trasmesso la forza e il coraggio di andare avanti nei momenti più difficili. Hanno creduto sempre in me e non mi hanno mai fatto perdere le speranze.

Non dimenticherei la tensione della mia mamma prima di ogni esame e la gioia dopo il voto. Una cosa è certa e sicura, anche se lontani, sono stati accanto a me in ogni momento.

Un grazie di cuore ai miei amici dell'università: Giuseppe, Martina, Diletta, Eleonora e tanti altri, per essere stati amichevoli sempre fin dall'inizio del mio percorso universitario, per essere stati disponibili ad ogni richiesta.

Infine, dedico questo traguardo a me stessa, a tutti sacrifici e alla mia determinazione che mi hanno permesso di arrivare fin qui.

Grazie a tutti, senza di voi non ce l'avrei mai fatta.

BEA