

**7.2.5 Deliverable: Characterization protocol + Sampling and testing protocol (actions 2.2 and 2.4)**



LIFE Project Number  
**LIFE08 ENV/IT 000426**

LIFE+ PROJECT NAME or Acronym  
**“CO-ordinated Approach for Sediment Treatment and  
BEneficial reuse in Small harbours neTworks” COAST\_BEST**

**Deliverable:** Characterization protocol + Sampling and testing protocol (actions 2.2 and 2.4)

## **Summary (in English)**

On account of the purposes of sediment characterization, which are of an environmental nature, it is important to prevent physico-chemical alteration and/or potential contamination of the material during sampling, which may alter the analytical results. Maintaining sample integrity is of critical importance, since it promotes the preservation of the original physical-chemical and biological properties of sediment. One of the main and most common consequences of this change is the increase in bioavailability of contaminants and the variation of sediment characteristics. The sampling equipment must be selected on the basis of the aims of the survey and the sediment characteristics, while its size is defined on the basis of the number and type of the analysis to be carried out, as well as of the characterization targets (water depth, distance of sampling stations from the coast, length of the core to be sampled, etc.).

The present section reports the characterization and sampling and testing protocols containing the criteria required to design a reliable sediment sampling strategy for physical, chemical and ecotoxicological characterization of sediments dredged from small harbours.

Details about:

- sediment sampling operations (sampling equipment, positioning system, sampling instruments)
- preparation of homogeneous and representative samples (sample collection and forming)
- sample preservation for the analysis (sampling vessels characteristics, storage temperature)
- analytical testing methods (standard methods, internal methods) and related accuracy and detection limits required

are also provided in the document, to serve as training manuals to be used by the operators involved at different levels in sediment characterization.

## **Full text (in Italian)**

### **Premessa**

Nel presente paragrafo vengono riportate tutte le informazioni relative alle più idonee modalità di prelievo dei sedimenti e di conservazione dei sedimenti campionati nell'ambito di un'attività di caratterizzazione ambientale in area marino costiera e/o portuale.

Nel documento vengono descritti in dettaglio i criteri da adottare per il prelievo dei sedimenti, anche in accordo con quanto generalmente adottato nell'ambito delle caratterizzazioni ambientali dei siti di bonifica di interesse nazionale, i requisiti tecnici per la scelta del sistema di posizionamento, e le metodologie da seguire per le determinazioni analitiche sui campioni prelevati.

### **Campionamento di sedimenti marini e portuali**

Il campionamento dei sedimenti, finalizzato ad una caratterizzazione ambientale, deve essere eseguito nel modo il più possibile indisturbato al fine di evitare un'alterazione fisico-chimica e/o una potenziale contaminazione dei campioni prelevati, che falserebbe i risultati delle analisi cui devono essere sottoposti. Mantenere l'integrità del campione è di fondamentale importanza, in quanto favorisce la conservazione della struttura originale del sedimento e non modifica le sue caratteristiche fisico-chimiche e biologiche. Una delle conseguenze principali e più comuni delle alterazioni del campione è la variazione della tipologia e della biodisponibilità dei contaminanti presenti.

A sua volta, la scelta della strumentazione da utilizzare per il campionamento sarà funzione degli obiettivi dell'indagine, della tipologia del sedimento (fine o grossolano) e dimensionata in virtù del quantitativo necessario per le analisi e del *target* della caratterizzazione (profondità del fondale, distanza delle stazioni di campionamento dalla costa, lunghezza della carota da prelevare, ecc). In particolare, per quanto riguarda la tipologia dei sedimenti che si possono incontrare durante le attività di caratterizzazione in aree marino-costiere, si ricorda che esistono due tipologie principali di fondali: a substrato mobile, composto da sedimenti fangosi o sabbiosi e a substrato duro, caratterizzato da roccia. I fondali a substrato mobile presentano generalmente una morfologia a debole pendenza (0,5% - 5%) e sono ricoperti da sedimenti incoerenti di natura terrigena, dovuti ad apporto prevalentemente continentale e/o fluviale. Nel caso di fondali a substrato duro, invece, gli affioramenti rocciosi spesso presentano una sottile copertura organogena, a luoghi ricoperta con praterie di fanerogame. In questo caso la caratterizzazione del sedimento può includere l'identificazione della sua natura geologica, tramite prelievo di campioni di roccia mediante l'ausilio di operatore subacqueo.

Nei paragrafi successivi si analizzeranno nel dettaglio i requisiti tecnici per la scelta della strumentazione relativa al sistema di posizionamento, di selezione dell'imbarcazione e di campionamento dei sedimenti, delle modalità di conservazione dei campioni e di analisi da eseguire sui campioni.

### **Criteri di scelta del sistema di posizionamento**

Per il posizionamento dell'imbarcazione è necessario un Differential Global Positioning System (DGPS), in grado di garantire il corretto posizionamento durante la fase di campionamento nonché l'adozione di uno scandaglio per la verifica e misura della profondità reale di campionamento.

Sia la registrazione delle coordinate reali che la misura del battente d'acqua in ciascuna stazione di campionamento deve essere effettuata nel momento di posizionamento della strumentazione di campionamento (ad esempio, il carotiere) sul fondale.

Per tutte le stazioni di campionamento deve essere fornita l'ubicazione reale pertanto il posizionamento delle stazioni di campionamento a mare deve avvenire tramite GPS differenziale DGPS o cinematico (RTK). Di ogni campagna di rilievo deve essere acquisito e reso disponibile il file *rinex*. Le coordinate geografiche e le quote ellissoidiche devono fare riferimento all'ellissoide WGS84: Latitudine e longitudine devono essere espresse in gradi, primi e frazioni di primo e nelle corrispettive coordinate UTM metriche; le quote ellissoidi che devono essere espresse in metri e riferite al piano campagna per le stazioni a terra e al fondale marino per le stazioni a mare.

### **Criteri di scelta dell'imbarcazione**

La scelta dell'imbarcazione e/o pontone per l'esecuzione dei campionamenti deve essere eseguita assicurandosi che vengano rispettati i seguenti requisiti:

- pescaggio adeguato al raggiungimento delle stazioni di campionamento previste;
- strumentazione di bordo idonea per il campionamento (i.e. verricello e cavo idoneo, sia per lunghezza che per capacità di recupero, all'uso della strumentazione di campionamento);
- spazio necessario per l'installazione e l'operatività dell'attrezzatura di campionamento individuata;
- spazio necessario per lo stoccaggio del materiale di consumo decontaminato da usare per la raccolta dei campioni;
- spazio necessario per lo stoccaggio provvisorio del materiale in esubero;
- spazio operativo per il subcampionamento di sedimento nelle diverse aliquote senza incorrere nel rischio di perturbazione fisica o contaminazione chimica del campione (i.e.: motori, emissioni gassose, ecc.);
- spazio per lo stoccaggio dei campioni a temperatura controllata;
- spazio operativo, in completa sicurezza durante le fasi di campionamento, per il personale tecnico e la strumentazione.

Durante la fase di carotaggio, in cui il disturbo e l'alterazione del campione devono essere ridotti al minimo, va prestata particolare attenzione a eventuali fenomeni di compattazione e/o rimescolamento, che possono manifestarsi a causa delle manovre dell'imbarcazione in acque basse o della resistenza offerta dal campionatore durante la penetrazione nel sedimento, e alla possibile perdita di parte del sedimento in fase di recupero a bordo dello strumento.

### **Criteri di scelta della strumentazione di campionamento**

La scelta dello strumento è esclusivamente vincolato alle finalità delle indagini e alla strategia di campionamento. In tale contesto, i principali aspetti da tenere in considerazione sono:

- limitazioni fisiche: determinate dalla profondità di campionamento, dalle condizioni idrodinamiche dell'area (correnti e moto ondoso) e dalle caratteristiche tessiturali del sedimento;
- capacità di campionamento: capacità di recupero del campionatore, che generalmente si esprime come percentuale. Questa capacità è strettamente correlata alla tipologia del sedimento (i.e. sedimento grossolano o presenza di fanerogame marine) e alla quantità di campione necessaria per tutte le determinazioni analitiche previste dalle indagini. Generalmente si richiede una capacità di recupero pari al 100%;
- prelievo indisturbato di sedimento: si raccomanda il recupero di materiale il più possibile indisturbato;
- quantitativo di campione necessario: il quantitativo di campione deve essere sufficiente per tutte le determinazioni analitiche da effettuare. A tal proposito si dovrà provvedere a verificarne la rispondenza con i quantitativi richiesti dai laboratori incaricati della determinazione analitica.

Nell'ampio panorama di strumentazioni esistenti e idonee per il campionamento di sedimenti verranno descritte le principali, e più utilizzate, tipologie esistenti ovvero benna, carotiere e box-corer. Sebbene possano variare molto in dimensioni e modalità d'uso, sono tutti strumenti molto validi per il campionamento di sedimenti marino-costieri e portuali, che richiedono una caratterizzazione ambientale.

La benna è solitamente indicata per il campionamento di sedimenti superficiali, dove non sia richiesta un'accurata precisione dello spessore verticale del sedimento (solitamente compreso tra 0 e 10 cm).

Il box-corer consente, invece, il prelievo indisturbato dei primi 20-30 cm di sedimento marino, e al tempo stesso una descrizione stratigrafica accurata dell'intero spessore e una quantità di campione sufficiente per la totalità delle analisi solitamente richieste.

Il carotiere è, invece, utilizzato per il campionamento accurato di deposito spessori più elevati di sedimento, finalizzato a caratterizzazioni ambientali e/o geologiche/geotecniche, allo studio dei tassi di sedimentazione dell'area o a una valutazione storica della contaminazione dell'ambiente

marino.

In casi specifici può essere utilizzato anche una strumentazione manuale con ausilio di operatore subacqueo.

### **Strumentazione di campionamento: la benna**

È generalmente costituita da uno o due “semcilindri” che penetrano il sedimento al momento della discesa e lo raccolgono, a seguito di rotazione dei semcilindri, durante il recupero. La capacità di recupero, cioè l’effettivo spessore di campionamento, dipende dalle dimensioni dello strumento, dal suo peso e dalla tipologia del fondale.

È efficace su tutti i tipi di fondale a sedimentazione incoerente (sabbioso, grossolano, molto fine), anche se, nel caso di depositi altamente consolidati, può presentare limiti operativi diminuendo la quantità di recupero.

È uno strumento in grado di campionare sedimento superficiale in volume sufficiente alla quasi totalità delle analisi, ma arreca un significativo disturbo al campione prelevato. Con il termine “disturbato” si indica quel campione che ha perso la sua integrità verticale ed orizzontale e non può essere suddiviso in strati significativi o livelli.

Lo spessore del campione ottenuto con i diversi tipi di benna viene solitamente associato al livello più superficiale prelevato durante un carotaggio (0-10 cm).

Per benne di grosse dimensioni si rende necessario l’uso di un verricello per lo spostamento, la calata ed il recupero dello strumento.

I modelli di benna più comunemente usati, ed estremamente diversi tra loro come funzionamento, sono: Van Veen, Day Grab, Shipek, Ekman-Birge.

### **La benna Van Veen**

La benna Van Veen è costituita da due semcilindri in acciaio o acciaio inossidabile, e può essere dotata di sportelli superiori (Figure 1). Tale modello può variare in dimensioni a secondo delle finalità di campionamento e necessitare o meno di un verricello per la sua movimentazione. Non essendo dotata di un sistema di chiusura ermetico, l’utilizzo di questo tipo di benna può risultare critico per le caratterizzazioni in aree a fondale ghiaioso con matrice fine, che, nella parte più superficiale, può essere facilmente dilavata.

È costituita da due “semcilindri” che penetrano il sedimento al momento della discesa e lo raccolgono, a seguito di rotazione dei semcilindri, durante il recupero. Lo strumento deve essere calato in acqua mediante l’uso di un verricello ad una velocità costante di circa 1 m/s.

La Benna Van Veen è più adatta per studi ambientali in acque profonde e ambienti con forti correnti. La capacità di recupero, cioè l’effettivo spessore di campionamento, dipende dalle dimensioni dello strumento, dal suo peso e dalla tipologia del fondale.



Figure 1 - Benna Van Veen

### **La benna Day Grab**

La benna Day Grab è una variante della Van Veen, dotata di una struttura di supporto, in grado di garantire una maggiore stabilità dello strumento durante il campionamento (Figure 2). Anch'essa deve rispettare una velocità costante di discesa di circa 1 m/s e necessita di un verricello per la sua movimentazione.



*Figure 2 - Benna Day Grab*

### **La benna Shipek**

La benna Shipek (Figure 3) ha una struttura cilindrica in acciaio inossidabile ed è progettata per campionare su fondali incoerenti e/o debolmente inclinati, sabbiosi o argillosi consolidati, liberi da materiale grossolano. È costituita da due semicilindri concentrici, uno dei quali (quello inferiore) viene rilasciato automaticamente da un fermo non appena tocca il fondo e ruota sul suo asse di 180°, minimizzando la dispersione e il disturbo del campione. La velocità di discesa deve essere costante e pari a circa 1 m/s.



*Figure 3 - Benna Shipek*

### **La benna Ekman-Birge**

La benna Ekman-Birge (Figure 4) ha, invece, forma rettangolare con dimensioni standard di 15,5 cm x 15,5 cm x 21 cm, ma che possono cambiare a seconda delle necessità di prelievo. È progettata per campionare fondali a granulometria prevalentemente fine, liberi da vegetazione, orizzonti sabbiosi o roccia. Ha un'ottima resa su sedimenti incoerenti, in particolare fondali con caratteristiche di tipo fangoso, marnoso o con torba. Il criterio di funzionamento di basa sulla chiusura mediante l'invio, lungo il cavo, di un peso messaggero. Lo strumento deve essere calato in acqua mediante l'uso di un verricello ad una velocità costante di circa 1 m/s.



Figure 4 - Benna Ekman-Birge

### Strumentazione di campionamento: il box-corer

Il box-corer consente il campionamento di sedimento superficiale fino ad una profondità di circa 20-30 cm; l'osservazione dello spessore di sedimento prelevato permette di raccogliere informazioni sugli strati superficiali (0-3 cm) e subsuperficiali di sedimento. L'utilizzo è consigliato su fondali che presentano uno spessore di sedimento fine di almeno un metro. È, comunque, consigliato nei casi in cui si debbano campionare quantità considerevoli di sedimento, laddove sono richieste numerose analisi.

Il box-corer è costituito da una scatola in acciaio inossidabile di forma quadrata o rettangolare, aperta sul lato inferiore, con all'intorno una struttura metallica che ne aumenta la stabilità e la facilità di penetrazione su fondali leggermente inclinati (Figure 5). Lo strumento è provvisto di uno sportello laterale, completamente rimovibile, che permette, una volta in superficie, un'ispezione visiva del campione lungo tutto lo spessore verticale di campionamento. Viste le dimensioni, necessita di imbarcazioni attrezzate con verricello e dotate di un discreto spazio per le operazioni.



Figure 5 - Il box-corer

È efficace su quasi tutti i tipi di sedimento ad eccezione di quelli sabbiosi, il cui prelievo diventerebbe molto difficoltoso. L'uso di quest'apparecchiatura dipende molto dalla tipologia di sedimento da campionare, oltre che dalla presenza di eventuali correnti marine che possono inclinare lo strumento non permettendogli l'inserimento nel fondale.

Lo strumento (accuratamente pulito prima di essere utilizzato) deve essere calato in acqua mediante un verricello, fatto scorrere ad una velocità costante. Quando raggiunge il fondo, la scatola viene infissa nel sedimento e si avvia il sistema di chiusura, costituito da una lama in acciaio inossidabile.

Dopo il recupero, prima dell'apertura dello sportello laterale del box-corer, si dovrà provvedere alla raccolta per aspirazione dell'acqua presente sul sedimento, e procedere ad un'ispezione visiva dello strato superficiale. Rimosso lo sportello laterale, si misura lo spessore del campione prelevato e si osserva microscopicamente l'intera sezione verticale del sedimento, trascrivendo tutte le informazioni strutturali, stratigrafiche e ambientali più significative.

Nel caso in cui la percentuale di recupero sia soddisfacente, si procede al prelievo di campioni superficiali e subsuperficiali del sedimento, secondo quanto previsto dallo specifico piano di campionamento.

### **Strumentazione di campionamento: il carotiere**

Esistono diversi tipi di carotiere e la scelta è funzionale alle finalità dell'indagine nonché alle caratteristiche ambientali dell'area. Il carotiere è generalmente costituito da un'asta cilindrica in acciaio di lunghezza e diametro idonea alla finalità dell'indagine, alla cui estremità superiore è connesso un dispositivo per la penetrazione all'interno del sedimento, che contraddistingue i diversi tipi di carotiere. L'asta può essere costituita da un pezzo unico della lunghezza necessaria al prelievo continuo, o composta dalla giunzione di più pezzi.

Nelle caratterizzazioni ambientali di aree marino-costiere e portuali ci sono diverse cautele da adottare nelle fasi di campionamento per garantire un recupero completo ed indisturbato e per evitare una potenziale contaminazione del campione. Nel primo caso si consiglia di utilizzare aste di lunghezza leggermente superiore a quella di progetto; nel secondo caso non si usano lubrificanti (i.e. CRC), fluidi, fanghi di circolazione o qualsiasi sostanza che, sebbene possano migliorare la funzionalità degli strumenti, rappresentano una potenziale fonte di contaminazione del campione. Inoltre, va effettuata un'accurata pulizia di tutta la strumentazione ogni volta che ci si sposta su una nuova stazione di campionamento.

Per rispettare tali cautele, lo strumento che meglio risponde a tali esigenze è il vibrocarotiere, o eventualmente il carotiere a rotazione, che rappresenta spesso l'unica possibilità di ottenere carote continue e indisturbate in sedimenti non consolidati, ad ogni profondità, come è il caso dei sedimenti marini. Di seguito vengono illustrate le principali caratteristiche dei carotieri utilizzati per il campionamento dei sedimenti marino-costieri e portuali.

### **Il vibrocarotiere**

Tra i diversi tipi di carotiere, il vibrocarotiere rappresenta quello più comunemente utilizzato per campionamenti su fondali marini, in quanto permette il prelievo di carote continue e indisturbate in sedimenti non consolidati, ad ogni profondità. Sono disponibili diversi modelli con potenza elettrica più o meno elevata e capacità di effettuare carote tra i 4 e i 10 metri di lunghezza e tra i 70 e i 140 mm di diametro.

Il vibrocarotiere funziona sulla base di un meccanismo vibrante (*vibrohead*) montato all'estremità superiore di un tubo in acciaio denominato "camicia" o "*core tube*" e alimentato da una sorgente elettrica esterna. Le vibrazioni sviluppate sono di frequenza pari a circa 3000 cicli al minuto e di ampiezza dell'ordine di qualche millimetro e generano la movimentazione di un sottile strato di sedimento lungo le pareti della camicia, riducendo così la frizione e favorendo la penetrazione nel substrato, che, pertanto, avviene per azione della forza vibrante, oltre che per gravità.

Usato prevalentemente per campionare in modo indisturbato sedimenti sciolti di natura sabbiosa, limo-sabbiosa e limo-argillosa, tale strumento non è adatto a penetrare, invece, sedimenti consolidati (eccetto quelli saturi di acqua) o materiale particolarmente grossolano. In Figure 6 sono riportati alcuni esempi di modelli di vibrocarotiere.

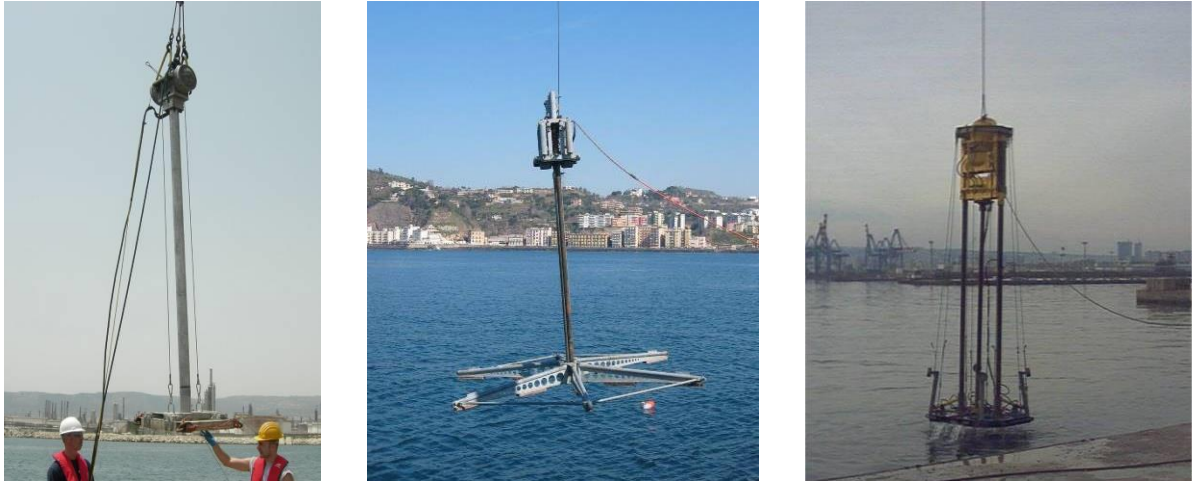


Figure 6 - Diversi modelli di vibro carotiere esistenti sul mercato

Sull'estremità inferiore del carotiere, denominato “naso” (Figure 7) può essere montata una valvola detta “corecatcher”, che trattiene il sedimento all'interno del *liner* in fase di sfangamento e recupero a bordo della carota campionata.



Figure 7 - Naso del carotiere

### **Il carotiere a rotazione**

Il carotiere a rotazione pur non essendo un carotiere sviluppato per il campionamento di sedimenti marini, può essere utilizzato su arenili, e, con opportuni accorgimenti, per il campionamento in mare su sedimenti argillosi e sabbiosi o dove gli spessori da indagare sono molto estesi, di solito superiori ai 6 m, e non investigabili con le aste in dotazione ai vibrocarotieri. In questo caso le operazioni di perforazione dovranno essere condotte con velocità di rotazione molto ridotta per evitare la volatilizzazione delle sostanze leggere e l'eccessivo disturbo e surriscaldamento del sedimento stesso. Il sondaggio deve essere eseguito senza l'utilizzo di fluidi di raffreddamento, per evitare la contaminazione del terreno circostante.

Per evitare la contaminazione dei livelli più profondi si sostengono le pareti del foro per mezzo di un rivestimento provvisorio (costituito da una camicia di acciaio). Per la messa in opera del rivestimento può essere utilizzata solo acqua potabile o acqua di mare, e solo se strettamente indispensabile.

### **Il carotiere a pistone**

Un altro carotiere utilizzabile per questo genere di indagini è quello a pistone ed utilizzato per campionamenti su sedimenti non consolidati. È in grado di attraversare sedimenti a granulometria fine, consolidati, mentre su materiale grossolano la sua efficienza risulta ridotta. Lo strumento viene portato alla profondità richiesta per il campionamento, quindi un sistema idraulico genera una forza sul cilindro sottostante che si estende, penetrando nel sedimento, e lasciando arretrato il pistone al suo interno. Il vuoto così creato nello spazio interno al cilindro, lasciato libero dal pistone,

contribuisce a far superare l'attrito tra sedimento e parte interna del rivestimento, consentendo così il prelievo della carota di sedimento.

### **Il carotiere a gravità**

Il carotiere a gravità consiste di un tubo in acciaio, di lunghezza idonea alla richiesta profondità di campionamento, dotato nella parte superiore, di un peso proporzionale al recupero da effettuare, che viene fatto cadere utilizzando la sola forza di gravità finché non raggiunge la profondità di penetrazione richiesta, infiggendosi nel sedimento (Figure 8).

La testa del carotiere viene chiusa con un "naso", componente posto all'estremità inferiore del tubo carotiere che ha la funzione di agevolare l'ingresso del sedimento lungo il *liner* e trattenere il sedimento mediante lamelle convergenti verso l'interno del *liner* (Figure 7). I pesi possono variare tra 100 e 1000 kg, a secondo dello spessore da campionare e della tipologia del sedimento.

Il carotiere a gravità è un valido strumento per la campionatura in situ di fondali costituiti prevalentemente da sedimenti fini, in quanto preserva l'interfaccia acqua-sedimento dai disturbi di risospensione e di mescolamento. Viene utilizzato frequentemente per la raccolta di campioni su fondali marini, dalla fascia costiera al limite della piattaforma continentale, nelle zone di laguna, di prodelta e nei laghi, ovunque il battente d'acqua sia sufficientemente elevato per garantire le operazioni. Risulta efficace per il prelievo di campioni in sedimenti sciolti limosi e limo-argillosi, mentre su fondali sabbiosi o limo-sabbiosi si ottengono basse penetrazioni.

Permette il mantenimento delle condizioni *in situ* del campione, garantite dall'assenza di infiltrazioni d'acqua dal *top* della carota lungo la parete interna del *liner*, che causerebbero mescolamenti con l'acqua interstiziale dei livelli profondi inferiori.



Figure 8 - Carotiere a gravità

### **Il carotiere manuale**

Il carotiere manuale è un'attrezzatura costruita completamente in acciaio inox (Figure 9) con un diametro medio di circa 80 mm e peso di 1 kg. Può essere considerata valida per campionamenti di limitato spessore.

Con questa semplice attrezzatura il tecnico può, durante un'immersione, campionare facilmente i sedimenti. Dopo aver infisso il carotiere nel sedimento, il subacqueo applica il tappo nella parte superiore. Con movimenti circolatori e oscillatori il carotiere viene estratto e subito dopo si monta il tappo nella parte inferiore.

Viene utilizzato quando non è possibile accedere al fondale con strumentazione più idonea purché vengano comunque rispettate le specifiche richieste per il campionamento di sedimenti indisturbati,

ovvero: una lunghezza minima di 1 m, capacità di recupero del campionatore del 100% di campione, il mantenimento della verticalità del campionatore, sia durante la fase di infissione che in quella di recupero, un prelievo indisturbato di sedimento e l'uso di un rivestimento interno (liner).

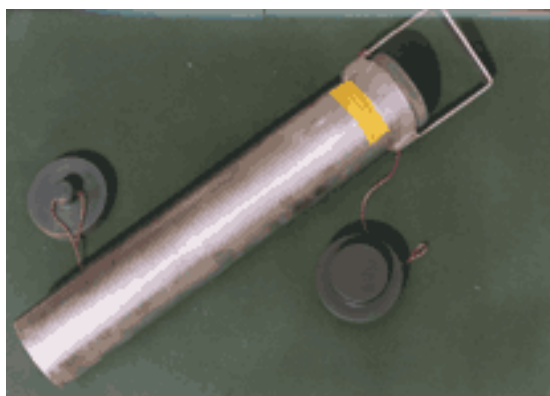


Figure 9 - Carotiere a gravità

### Cautele da adottare durante la fase di campionamento

#### Campionamento mediante benna

Qualsiasi benna si usi, è importante verificare in che modo è stato prelevato il sedimento, al fine di valutare l'idoneità o meno del campione da analizzare. Questo perché si potrebbe incorrere, a causa della natura del fondale o di movimenti scorretti durante il prelievo o la movimentazione della strumentazione, in dilavamento del campione o prelievi non corrispondenti al livello superficiale realmente richiesto (Figure 10).

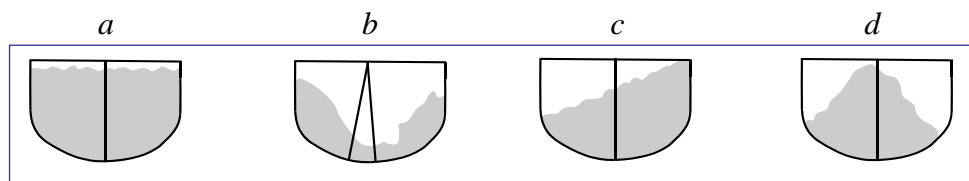


Figure 10 - Recupero del campione con benna: a) idoneo b) campione disturbato c) idoneo d) campione disturbato (da EPA Technical Manual).

Una volta stabilita l'idoneità del prelievo, si potrà procedere al prelievo del campione, riversando il contenuto del campionatore in un contenitore decontaminato e cercando di disturbare il meno possibile il sedimento. Nel caso della Van Veen con sportelli superiori è possibile visionare il contenuto prima del recupero.

#### Campionamento con il carotiere

Nelle attività di campionamento con carotiere va prevista un'asta con diametro non inferiore ai 10 cm, per garantire il recupero di una quantità di campione sufficiente per l'esecuzione delle analisi richieste. In entrambi i casi si richiede l'utilizzo di un rivestimento interno (liner) in polietilene inerte, polipropilene, polivinilcloruro o policarbonato trasparente, di lunghezza pari a quella della carota di sedimento da prelevare. Tale rivestimento deve essere alloggiato all'interno dell'asta del carotiere e tagliato longitudinalmente al momento del sub-campionamento. Una volta aperto il liner, si procederà alla descrizione stratigrafica dell'intero spessore e all'esecuzione di una fotografia, oltre che con l'acquisizione di alcuni parametri chimico-fisici relativi ai vari livelli che dovranno essere prelevati.

Nell'ambito di una caratterizzazione ambientale l'uso del liner costituisce un aspetto estremamente importante se si vuole seguire una corretta procedura di carotaggio di sedimenti marini, in quanto permette l'immediata descrizione stratigrafica della carota, oltre che di minimizzarne il disturbo durante la sua estrusione dal carotiere e di evitare fenomeni di contaminazione dovuti al contatto diretto con l'asta dello strumento. A tale scopo, nel caso si utilizzi un liner in PVC, si consiglia di non prelevare il sedimento a diretto contatto con il liner, che potrebbe contribuire ad una sua eventuale contaminazione.

### **Acquisizione di parametri chimico-fisici *in situ***

Alcune caratteristiche dei sedimenti costituiscono parametri fondamentali per una corretta valutazione della disponibilità dei contaminanti nei sedimenti. Tra queste, il valore di pH ed il potenziale redox sono certamente le più significative e pertanto andrebbero misurati *in situ* per evitare che il trasporto e la conservazione possano provocarne una variazione significativa. Va infatti considerato che una variazione di tali parametri può influire sugli equilibri che coinvolgono alcuni tra gli inquinanti presenti nel sedimento. Quando questo fenomeno comporta una loro trasformazione chimica, si verifica un cambiamento della loro biodisponibilità, che si può tradurre in una variazione della tossicità del sedimento, anche significativa. Nel caso dei metalli in particolare, la speciazione, ossia la loro distribuzione in differenti specie chimiche all'interno del sistema oggetto della caratterizzazione, è uno dei fattori prioritari nel determinare la loro tossicità. Il contatto del sedimento con l'atmosfera deve essere ridotto al minimo per evitare che lo scambio di anidride carbonica ed ossigeno possa causare variazioni significative di pH e di potenziale redox. Per questa ragione è preferibile misurare tali parametri appena recuperato il campione e nel minor tempo possibile.

Per la determinazione di pH e potenziale redox esistono strumenti combinati, sia da laboratorio che da campo. Sono dotati di un connettore *Byonet Neill-Concelman* (BNC), che permette di collegare insieme più elettrodi da utilizzare per la misurazione di parametri diversi.

### **Misurazione di pH**

Il pH viene calcolato come l'inverso del logaritmo decimale della attività (spesso approssimata con la concentrazione) degli ioni idrogeno. Per convenzione il pH è assunto come misura dell'acidità o della basicità di una soluzione acquosa (di un sedimento, nel presente caso). Le soluzioni neutre hanno un pH pari a 7, quelle acide un pH < 7 e quelle basiche un pH compreso fra 7 e 14. È uno dei fattori che controlla la speciazione e l'equilibrio di molti contaminanti: questi, coinvolti in equilibri acido-base, possono tendere o meno a passare da una forma indissociata ad una dissociata (ionizzata), o viceversa, in differenti condizioni di pH, vedendo così variare la propria biodisponibilità, tossicità e persistenza ambientale.

La strumentazione è dotata di un sensore in grado di determinarne il valore. Si tratta di un potenziometro costituito da un elettrodo in vetro e uno di riferimento, cui è associato un dispositivo di compensazione della temperatura per la corretta calibrazione del dato.

### **Misurazione di potenziale redox**

Il potenziale redox deriva il proprio nome da due termini: *reduction* (RED) ed *oxidation* (OX). Nei sedimenti rappresenta un parametro importante per valutare la speciazione dei metalli e, quindi, la distribuzione nelle diverse forme che questi possono assumere; permette, inoltre, di determinare il grado di ossidazione dei sedimenti. Una reazione di ossidoriduzione è uno scambio di elettroni tra due individui chimici (molecole o ioni); lo scambio causa una variazione dello stato di ossidazione delle specie chimiche direttamente coinvolte, della loro capacità ossidante o riducente e, di conseguenza, di quella del sistema di cui fanno parte. Tali variazioni possono influenzare la tossicità, la biodisponibilità e la persistenza ambientale dei sedimenti.

Lo strumento di misura, come nel caso del pH-metro, è costituito da un elettrodo di riferimento e da un elettrodo di misura (di solito in platino), che rileva il potenziale della soluzione. La misura indicata dallo strumento è la differenza di potenziale, espressa in millivolt (mV), tra la sonda di riferimento e quella di misura.

La determinazione del potenziale di ossidoriduzione, specialmente nei sedimenti marini, può presentare diversi inconvenienti, legati prevalentemente al disturbo del campione durante l'inserimento dell'elettrodo, che può essere causa di scambio di ossigeno (specie fortemente ossidante) con l'atmosfera, nonché all'instabilità e alla scarsa riproducibilità della misura.

### **Preparazione e conservazione dei campioni**

Tra le indagini più frequentemente eseguite sui sedimenti, è inclusa la determinazione di alcuni

parametri chimici, quali metalli ed elementi in tracce e composti organici (pesticidi, IPA e PCB), la valutazione della tossicità, tramite appositi saggi biologici, e la determinazione del bioaccumulo di specifici contaminanti nei tessuti di determinati organismi marini. Diventa pertanto estremamente importante evitare la contaminazione del campione da analizzare ai fini di una corretta caratterizzazione ambientale dei fondali indagati e per una maggiore comprensione sull'effettivo stato di inquinamento.

In fase di campionamento le potenziali contaminazioni sono solitamente di "segno positivo", derivando dall'aggiunta di sostanze estranee; le contaminazioni di "segno negativo" sono invece tipiche delle fasi di conservazione e di analisi. In particolare, per i composti volatili queste ultime possono sussistere anche durante il campionamento.

Di conseguenza l'uso di materiale appropriato, insieme a corrette procedure di pulizia della strumentazione utilizzata possono sicuramente minimizzare le interferenze dovute alla contaminazione dei contenitori, siano esse "positive" o "negative".

I recipienti in polietilene e teflon, ad esempio, sono generalmente lavati in acido cloridrico o nitrico, per tempi anche lunghi, quindi risciacquati con acqua deionizzata o bidistillata.

La procedura consigliata dall'EPA per i contenitori destinati alla conservazione dei campioni per l'analisi dei metalli in tracce consiste in una sequenza di passaggi (detergente, acqua di rete, acido nitrico/acqua di rete 1:1, acido cloridrico/acqua di rete 1:1, acqua di rete, acqua ad alto grado di purezza), al fine di ridurre gli errori "positivi" dovuti a rilascio o desorbimento superficiale e gli errori "negativi" dovuti ad adsorbimento.

Nel caso di inquinanti organici, idrocarburi totali e composti organoclorurati, è da escludere l'uso di cavi e strumenti lubrificati o ingrassati durante le operazioni di prelievo dei campioni, ed è preferibile la conservazione in contenitori di vetro o di metallo, piuttosto che di plastica. Tutte le parti di apparecchiature o contenitori con cui il campione viene a contatto vanno accuratamente lavate con detergenti, sciacquate con acqua ad alto grado di purezza e ripassate prima dell'uso con etanolo al 95% o acetone per analisi o bidistillato. Tutti i campioni devono essere trattati e conservati in funzione delle analisi cui dovranno essere successivamente sottoposti.

Nel caso in cui, per la determinazione di diversi parametri, vengano richiesti dei metodi di conservazione e/o pretrattamento del campione fra loro non compatibili, i campioni devono essere quartati subito dopo il prelievo e conservati secondo le differenti metodologie indicate.

Ogni campione di sedimento prelevato deve essere preventivamente omogeneizzato e suddiviso in due subcampioni, uno dei quali da conservare in contenitori di teflon a temperatura compresa tra -18°C e -25°C e tenere a disposizione del committente per eventuali analisi di controllo. L'altro subcampione, destinato alle analisi dei diversi parametri da ricercare, deve essere prontamente suddiviso in aliquote, da conservarsi e trasportarsi secondo quanto riportato in Table 1.

La conservazione dei campioni richiede di seguire scrupolosamente particolari accorgimenti, in termini di materiale dei contenitori e di tempi massimi entro i quali effettuare le analisi, in funzione degli specifici parametri da determinare.

Per la maggior parte dei parametri si consiglia l'utilizzo di contenitori in polietilene ad alta densità (HDPE) o politetrafluoretilene (PTFE o Teflon), in quanto materiali pressoché inerti e, contemporaneamente, infrangibili.

Possono essere utilizzati anche contenitori in vetro, adatti alla conservazione di campioni destinati alla determinazione di parametri sia organici che inorganici, ma che, una volta posti alle temperature indicate per la refrigerazione (-20°C circa), tendono a rompersi; nel caso si optasse per questo materiale, per le analisi dei contaminanti organici è preferibile utilizzare contenitori in vetro scuro borosilicato, che inibisce eventuali processi degradativi dovuti all'interazione di determinati composti con la luce.

Relativamente ai tempi di conservazione, alcuni parametri devono essere determinati con la massima tempestività dopo il prelievo del sedimento, per evitare che il loro valore assoluto si alteri in modo significativo. In particolare, la determinazione del contenuto d'acqua e della concentrazione dei composti volatili e del mercurio devono avvenire appena possibile. Nel tempo che intercorre tra il prelievo e l'analisi, tutti i campioni devono essere conservati in modo da non alterarne le caratteristiche originali, per un periodo indicativamente non superiore a 5 giorni.

Qualora trascorresse un periodo di tempo più lungo, i campioni devono essere conservati ad una

temperatura di -18 °C, ad esclusione dell'aliquota destinata alla determinazione dei composti organici volatili, la quale deve essere conservata tra +4 °C e +6 °C ed analizzata quanto prima.

### Metodiche analitiche

Le procedure analitiche utilizzate per la determinazione dei parametri prescelti nelle diverse matrici ambientali devono essere scelte fra quelle riportate nei protocolli nazionali e/o internazionali (IRSA/CNR, EPA, ISO, ASTM, AFNOR, APAT, etc.), se esistenti. In assenza di un protocollo come sopra specificato dovrà essere documentata la validità della procedura utilizzata.

Le analisi sono generalmente condotte da Enti e/o Istituti Pubblici o, in alternativa, da laboratori privati. In quest'ultimo caso i laboratori dovranno possedere l'accreditamento, secondo la norma UNI EN ISO/IEC 17025/2005, almeno per le determinazioni dei parametri prioritari, relativo alla matrice specifica dei campioni da analizzare. Sono considerati prioritari i seguenti parametri: granulometria, metalli, IPA, PCB, idrocarburi. Costituirà titolo preferenziale nella scelta dei laboratori la partecipazione a circuiti nazionali e/o internazionali per l'intercalibrazione e la certificazione delle procedure utilizzate.

I laboratori incaricati dovranno operare specificando i criteri stabiliti e documentando le modalità utilizzate per l'assicurazione qualità del dato.

In ogni caso i laboratori devono fornire un Rapporto di Prova, datato e firmato dal responsabile del laboratorio, che riporti:

- identificazione univoca del campione analizzato;
- elenco dei parametri determinati, con relativo risultato analitico ottenuto;
- incertezza di misura espressa nella stessa unità di misura del risultato;
- metodo di riferimento usato;
- limite di quantificazione.

Table 1 - Modalità di conservazione dei campioni di sedimento da sottoporre ad analisi

Parametro	Tipo di contenitore	Conservazione	Tempo massimo di conservazione
Analisi granulometria	Polietilene	Trasporto: temperatura ambiente Conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C)	-
Peso specifico	Polietilene	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	5 giorni max -
Contenuto d'acqua	Polietilene	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	5 giorni max
<b>Composti organici non volatili e semi volatili</b>			
Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)	Polietilene, politetrafluoretilene (PTFE), polietilene ad alta densità (HDPE), con sottotappo.	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	-
Idrocarburi C>12 (come n-esano)			
Composti fenolici			
Policlorobifenili (PCB)			
Organostannici			
Composti organoclorurati			
TOC			
Diossine e furani			
<b>Composti organici volatili</b>			
Idrocarburi C≤12 (come n-esano)	Vetro, sottotappo o setto in politetrafluoretilene (PTFE), riempito sino all'orlo	Trasporto e conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C)	5 giorni max
Solventi aromatici			
<b>Composti inorganici</b>			
Azoto totale	Polietilene ad alta densità (HDPE), con sottotappo.	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	5 giorni max
Cianuri (totali)			
Fosforo totale			
Metalli totali*	Polietilene ad alta densità (HDPE), con sottotappo.	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	Mineralizzazione: 5 giorni max

Mercurio	Polietilene ad alta densità (HDPE), con sottotappo.	Trasporto: refrigerazione (+4 /+6 °C) Conservazione: refrigerazione (+4 / +6 °C) Conservazione: refrigerazione (-18 / -25 °C)	Essiccazione: 5 giorni max
Amianto	Polietilene, vetro	Trasporto e conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C)	-
<b>Parametri microbiologici e saggi ecotossicologici</b>			
Clostridi solfito riduttori (spore)	Contenitore sterile	Refrigerazione al buio	24 ore**
Salmonella	Contenitore sterile	Refrigerazione al buio	24 ore**
Escherichia coli	Contenitore sterile	Refrigerazione al buio	24 ore**
Streptococchi fecali Enterococchi	Contenitore sterile	Refrigerazione al buio	24 ore**
Saggi ecotossicologici	Polietilene, vetro	Trasporto e conservazione: refrigerazione (+4 /+6 °C)	7-10 giorni max

\* metallo totale = somma metallo disciolto e metallo estraibile con acido nelle condizioni indicate dal metodo analitico

\*\* tempo massimo in ore per la conservazione dei campioni destinati ad analisi microbiologiche

Dovrà, inoltre, essere specificato quanto segue:

- l'indicazione del metodo di determinazione al quale si prevede di ricorrere, del relativo limite di quantificazione e di rilevabilità. Eventuali discordanze che si dovessero verificare nel corso delle analisi, ossia l'uso di metodiche differenti rispetto a quelle originariamente indicate, deve essere giustificato al momento della redazione dei Rapporti di Prova, sui quali si ricorda deve essere indicato, in maniera inequivocabile, il metodo usato.
- l'utilizzo, per ciascuna determinazione analitica richiesta dalle attività di caratterizzazione ambientale, di materiale certificato e, dove non disponibile, l'uso di materiale di riferimento corredato da valore medio e valore di incertezza ad esso associato;
- la disponibilità da parte del laboratorio a soddisfare la "dimostrazione di iniziale professionalità" relativamente ai metodi di analisi scelti per le determinazioni analitiche tramite la partecipazione a prove interlaboratorio e/o l'esecuzione di analisi di campioni "ciechi", il cui risultato analitico deve essere corredato del valore di accuratezza e precisione previsti dal metodo analitico;
- l'utilizzo, per la determinazione di diossine e furani e PCB diossina simili, del metodo EPA 8290 (o EPA 1613) con spettrometria di massa ad alta risoluzione, in quanto risulta la metodica più adeguata al raggiungimento del limite di rilevabilità richiesto.

### Analisi granulometrica

La determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti deve prevedere l'individuazione delle principali frazioni dimensionali (ghiaia, sabbia, silt e argilla) secondo le classi dimensionali riportate in Table 2. La caratterizzazione della frazione pelitica nelle frazioni silt e argilla è richiesta per tutti i campioni aventi contenuti di frazione pelitica maggiore del 10%. Per tale analisi si consiglia l'uso di un sedigrafo a raggi X o di un granulometro laser, oppure di strumentazione idonea a fornire tale informazione analitica.

Table 2 - Classi dimensionali per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti

Frazioni dimensionali		Dimensioni
GHIAIA		> 2 mm
SABBIA		2 mm > x > 0,063 mm
PELITE	SILT	0,063 mm > x > 0,004 mm
	ARGILLA	< 0,004 mm

Prima di procedere con l'analisi vera è propria, ogni campione deve essere sottoposto a un pretrattamento, necessario per la rimozione della sostanza organica e dei sali, la cui presenza potrebbe provocare la flocculazione delle particelle più fini. A tal proposito, ogni campione è trattato per due volte, con una soluzione di perossido di idrogeno (30%) ed acqua distillata in proporzione 1:3 per 24 - 48 ore a temperatura ambiente, quindi lavato con acqua naturale, sempre per due volte. Dopo gli iniziali pretrattamenti i campioni vengono separati ad umido in due frazioni granulometriche, tramite setaccio con vuoto di maglia da 63 µm e le due frazioni analizzate

separatamente.

La setacciatura della frazione maggiore di 63  $\mu\text{m}$  avviene tramite setacciatore meccanico a vibrazione e basculamento, su pila di setacci serie ASTM con maglie di dimensioni variabili da  $-1$  a  $+4 \phi$ , ad intervalli di  $0,5 \phi$  ( $\phi = -\log_2$  del rapporto: diametro dei granuli espresso in mm/ diametro unitario di 1 mm). Dopo aver pesato il sedimento trattenuto da ogni setaccio si calcola il peso dell'intera frazione grossolana.

La frazione fine ( $<63 \mu\text{m}$ ) è essiccata in forno a  $40^\circ\text{C}$ . Prima dell'analisi è importante assicurarsi che il campione usato sia rappresentativo dell'intero campione; è quindi necessario quartare il campione fino ad ottenere 0,5 g di sedimento che viene messo in sospensione in 80 ml di soluzione di acqua distillata ed esametafosfato di sodio (0,05%). Dalla soluzione viene estratta, tramite pipetta, una quantità destinata ad analisi con granulometro laser (cfr. Figure 11). Prima dell'analisi la soluzione è sottoposta a ultrasuoni per 10 secondi.



Figure 11 - Granulometro laser

### Analisi chimiche

Di seguito si riportano le metodiche analitiche per la determinazione delle analisi chimiche previste dalla caratterizzazione ambientale.

#### *Metalli ed elementi in tracce*

Ciascun campione viene identificato, classificato, omogeneizzato e suddiviso in due aliquote, la prima delle quali, indicata come *campione tal quale*, viene destinata alla fase di analisi suddivisa in una fase di preparazione ed determinazione analitica; la seconda aliquota di campione viene identificata ed archiviata in laboratorio.

#### *Fase di preparazione dei campioni*

Il campione tal quale viene sottoposto alla sequenza di trattamenti preliminari alla fase analitica, ovvero a quella di essiccazione, macinazione e vagliatura.

Nella fase di essiccazione un'aliquota del campione tal quale viene pesato all'interno di crogiuoli di ceramica preventivamente essiccati a  $105^\circ\text{C}$ , raffreddati in atmosfera secca e pesati; il crogiuolo contenente il campione tal quale viene posto in stufa a  $\sim 40^\circ\text{C}$  per 24 ore o fino a peso costante. Al termine della fase di essiccazione, il crogiuolo viene estratto dalla stufa e posto a raffreddare all'interno di essiccatori (contenitori a tenuta contenenti gel di silice), e successivamente pesato in atmosfera priva di umidità. Si determina quindi il contenuto di acqua,  $w(\%)$ , ovvero l'umidità,  $u(\%)$ . La prova viene eseguita in triplo. Il campione essiccato viene conservato in portacampioni in plastica dotati di controtappo.

Il campione preventivamente essiccato viene sottoposto a macinazione al fine di rendere la dimensione delle particelle idonea alla successiva fase di dissoluzione mediante fusione alcalina; questa rappresenta un trattamento preliminare alla determinazione della concentrazione dei metalli attraverso spettrofotometria ad assorbimento atomico.

La frazione di materiale trattenuto a 150  $\mu\text{m}$  viene ricircolata al mulino (Figure 12).

Al fine di ricircolare la frazione di materiale trattenuto a 150  $\mu\text{m}$  e consentirne un'ispezione visiva ed un'analisi qualitativa delle singole frazioni, al termine del processo di macinazione il campione è sottoposto a vibrovagliatura mediante serie di setacci standard della serie ASTM.



Figure 12 - Mulino a sfere

#### *Fase analitica*

La determinazione del contenuto di metalli si basa sull'utilizzo di spettrofotometria ad assorbimento atomico previa completa fusione e successiva dissoluzione del campione in soluzione di acido nitrico al 10%.

Il principio di questo metodo consiste nella fusione completa, ad elevata temperatura, della matrice solida del sedimento. La fusione è seguita da un rapido raffreddamento che dà luogo alla formazione di una matrice vetrosa, passo di fondamentale importanza poiché previene la ricristallizzazione del campione che verrà successivamente disciolto in acido nitrico al fine di portare in soluzione i metalli inizialmente presenti nel campione.

Quali reagenti della fase di fusione, vengono utilizzati il tetraborato di litio e acido nitrico al 10%; la strumentazione utilizzata consiste in crogioli di platino, bacchetta con punta in platino, forno a muffola e 2 pinze per muffola con punta in platino.

Nei crogioli di platino, vengono esattamente pesati 0,5 g di sedimento essiccato e omogeneizzato, cui vengono miscelati 1,5 g di tetraborato di litio, così da favorire la fusione del sedimento. Viene aggiunto ulteriore tetraborato di litio a copertura della miscela, così da ridurre perdite di campione per evaporazione e volatilizzazione. I crogioli vengono dunque posti in forno a muffola a 1050 °C per due ore. Al termine, utilizzando le apposite pinze, i crogioli vengono estratti dalla muffola e raffreddati rapidamente mediante un bagno di acqua. L'operazione di raffreddamento deve essere eseguita avendo cura di non provocare contaminazione né perdite di campione. Una volta raffreddata, la perla di campione vetrificato viene solubilizzata immergendo i crogioli in soluzione di acido nitrico al 10% all'interno di *beaker* da 100 mL posti in agitazione mediante ancorotta magnetica. I *beaker* vengono altresì riscaldati avendo l'accortezza di coprire con vetrini da orologio al fine di evitare di portare i campioni a secchezza. Ottenuta la completa dissoluzione della perla, la soluzione così ottenuta viene filtrata con filtri Albet 140 ( $\varnothing$  15-20  $\mu\text{m}$ ) e portata a volume con acido nitrico al 10%. Dopo correzione del pH a valori circa pari a 2 mediante aggiunta di alcune gocce di acido nitrico concentrato, la soluzione viene trasferita in portacampioni in plastica dotati di controtappo.

La determinazione analitica viene eseguita mediante spettrofotometro ad assorbimento atomico utilizzabile nella doppia configurazione di funzionamento in fiamma ovvero con fornetto di grafite. Le due configurazioni si distinguono per modalità di funzionamento del sistema di atomizzazione e, conseguentemente, per limiti di rilevabilità conseguibili. Il sistema con fornetto di grafite, interamente automatizzato, consente infatti di ridurre notevolmente i limiti di rilevabilità caratteristici del sistema di atomizzazione della fiamma, consentendo peraltro di lavorare su aliquote molto piccole di campione.

### *Policlorobifenili (PCB)*

Per la determinazione dei policlorobifenili nei campioni di sedimento è effettuato un procedimento di estrazione, purificazione e analisi strumentale comune per entrambe le classi di analiti.

Allo scopo di ottenere una efficiente estrazione dei policlorobifenili tramite solvente organico è necessario rimuovere l'acqua dai campioni di sedimento. Al fine di preservare gli analiti più termolabili e volatili la rimozione dell'acqua è stata effettuata per liofilizzazione congelando i campioni e realizzando la sublimazione dell'acqua. Dal momento della ricezione in laboratorio e fino al momento della liofilizzazione i campioni sono stati conservati in congelatore a -18°C.

Dopo la liofilizzazione i campioni sono setacciati su maglie da 2 mm ed omogeneizzati tramite macinazione.

L'estrazione di PCB è stata effettuata mediante l'uso di un estrattore automatizzato sequenziale Dionex modello ASE200. L'estrazione prevede l'impiego di una miscela etere di petrolio:diclorometano 60:40 e la parziale purificazione da interferenti polari coestratti per passaggio su uno strato di adsorbente polare (florisil) direttamente nella cella di estrazione. L'estratto è quindi concentrato e dibattuto con trucioli di rame attivato per eliminare le interferenze da zolfo. L'estratto desolfurato è quindi purificato concentrato nuovamente ad un volume noto e sottoposto a dibattimento con acido solforico concentrato per eliminare le interferenze da sostanze organiche interferenti residue.

La determinazione quali-quantitativa viene effettuata per gascromatografia con rivelazione a cattura di elettroni nelle microcelle (GC- $\mu$ ECD, Agilent 6890N). L'analisi viene effettuata in modalità dual column impiegando due colonne capillari da 0.25 mm di diametro interno, 60 m di lunghezza e 0.25  $\mu$ m di spessore del film di fase fissa: in back una colonna DB-XLB e in front una colonna ZB-MR1. Il gas di trasporto utilizzato è idrogeno, mentre è stato impiegato azoto come gas di Make-up per il rivelatore.

L'identificazione positiva degli analiti avviene tramite l'individuazione, in entrambe le colonne, del picco all'interno della finestra dei tempi di ritenzione.

La quantificazione avviene mediante standard esterno con retta di taratura a 9 punti. Il risultato espresso è il più basso fra i due risultati derivanti dalle due colonne.

I risultati sono espressi in ng/g sul sedimento secco o in unità di misura equivalenti ( $\mu$ g/kg, ppb, etc). Il limite di quantificazione è di 0,05 ng/g.

Il controllo di qualità sui risultati è stato effettuato mediante l'impiego di standard surrogati per ogni campione e mediante l'esecuzione, ad ogni batch analitico, di repliche, bianchi di procedimento, campioni di controllo del laboratorio, bianchi strumentali, verifica continua della taratura. Periodicamente vengono analizzati materiali di riferimento certificati, e semestralmente il laboratorio partecipa a un circuito internazionale di interconfronto tra laboratori.

### *Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)*

Per l'analisi degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) è seguita la procedura analitica di seguito riportata.

Allo scopo di ottenere una efficiente estrazione degli idrocarburi policiclici aromatici tramite solvente organico è necessario rimuovere l'acqua dai campioni di sedimento. Al fine di preservare gli analiti più termolabili e volatili la rimozione dell'acqua è effettuata per liofilizzazione congelando i campioni e realizzando la sublimazione dell'acqua. Dal momento della ricezione in laboratorio e fino al momento della liofilizzazione i campioni sono conservati in congelatore a -18°C.

Dopo la liofilizzazione i campioni sono setacciati su maglie da 2 mm ed omogeneizzati tramite macinazione.

L'estrazione degli idrocarburi policiclici aromatici è effettuata mediante il dibattimento di un'aliquota di campione liofilizzato con una miscela di solventi organici polari e mediante immersione in un bagno ad ultrasuoni. Dopo centrifugazione il surnatante è recuperato e filtrato in siringa su filtri a membrana inorganica di porosità 0,2  $\mu$ m. L'estratto è quindi trasferito in vial ambrato per autocampionatore ed iniettato in HPLC.

La determinazione quali-quantitativa è effettuata per cromatografia liquida ad alte prestazioni con rivelazione fluorimetrica (HPLC-FLD) in grado di acquisire segnali di emissione multipli

programmabili. La colonna utilizzata è una SUPELCOSIL LC-PAH di lunghezza pari a 25 cm, con diametro interno di 2.1 mm e dimensioni medie delle particelle di 5 µm, specifica per gli Idrocarburi Policiclici Aromatici.

Durante l'analisi la colonna è termostata a 30°C per assicurare la costanza dei tempi di ritenzione.

L'eluizione è condotta in gradiente binario eseguendo variazioni programmate delle lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione.

Il gradiente binario impiega acqua ed acetonitrile secondo lo schema indicato in Table 3.

Table 3 - Eluizione in gradiente espressa in percentuale

Tempi (minuti)	Acqua (%)	Acetonitrile (%)	Flusso (ml/min)
0.00	50	50	0.500
2.00	50	50	0.500
12.00	13.2	86.8	0.500
16.50	0	100	0.640
21.50	0	100	0.800
28.00	0	100	0.800
28.05	50	50	0.800
31.00	50	50	0.500
34.50	50	50	0.500

La rivelazione dei 15 analiti (Naftalene, Acenaftene, Fluorene, Fenantrene, Antracene, Fluorantene, Pirene, Benzo(a)Antracene, Crisene, Benzo(b)Fluorantene, Benzo(k)Fluorantene, Benzo(a)Pirene, Dibenzo(a,h)Antracene, Benzo(g,h,i)Perilene, Indeno(1,2,3,c,d)Pirene) è avvenuta mediante l'acquisizione programmata dei segnali di lunghezze d'onda di emissione multiple (A e B). Le lunghezze d'onda utilizzate per rivelare i composti sono riportate in Table 4.

Table 4 - Lunghezze d'onda utilizzate per rivelare gli IPA espresse in nm

Tempo (minuti)	Eccitazione (nm)	Emissione A (nm)	Emissione B (nm)
0.00	220	329	361
7.00	240	332	361
9.60	240	385	361
10.30	240	385	490
12.69	270	385	361
15.25	295	436	407
17.90	295	495	407

L'identificazione degli analiti avviene tramite l'individuazione, sul segnale specifico dell'analita, del picco all'interno della finestra dei tempi di ritenzione.

La quantificazione avviene mediante standard esterno con retta di taratura a 8 punti.

I risultati vengono espressi in µg/g sul campione liofilizzato o in unità di misura equivalenti (mg/kg, ppm, etc). Il limite di quantificazione è di 0,0005 µg/g.

Il controllo di qualità sui risultati è effettuato mediante l'impiego di standard surrogati per ogni campione e mediante l'esecuzione, ad ogni batch analitico, di repliche, bianchi di procedimento, campioni di controllo del laboratorio, bianchi strumentali, verifica continua della taratura. Periodicamente vengono analizzati materiali di riferimento certificati, e semestralmente il laboratorio partecipa a un circuito internazionale di interconfronto tra laboratori.

#### *Idrocarburi C<12*

Per la determinazione degli idrocarburi leggeri si utilizza lo spazio di testa statico, cioè si pesano 5 g di sedimento tal quale che vengono posti in apposita vial, si aggiungono 10 ml di acqua e si chiude ermeticamente, si riscalda a 65°C per 1 ora (come descritto nel metodo EPA 5021). Si iniettano 0.5 ml dello spazio di testa in GC con rivelatore FID (come descritto nel metodo EPA 8015 D).

#### *Idrocarburi C>12*

Per la determinazione degli idrocarburi pesanti si utilizza la metodica del Protocollo ISPRA, in

accordo con il metodo ISO 16703. Si essicano all'aria i campioni e si effettua la verifica dell'umidità mediante Metodo Ufficiale n. II.1., Suppl. Ord. G.U.n.248 del 21/10/99 al punto II.1.4.1.

Una quantità nota di campione omogeneizzato (da 5 a 30 g) è estratta mediante sonicazione (o bagno a ultrasuoni), con acetone/n-eptano. Nella soluzione estraente viene aggiunta la soluzione di riferimento per la finestra dei tempi di ritenzione (RTW) contenente n-tetracontano (C40) e n-dodecano (C12).

L'estratto è purificato su colonna di Florisil. Una aliquota dell'estratto purificato è analizzato in GC-FID. Viene misurata l'area totale dei picchi presenti nell'intervallo delimitato dalle due soluzioni di riferimento di n-dodecano e n-tetracontano. La quantità degli idrocarburi è determinata mediante confronto con una soluzione di riferimento esterno costituito da quantità uguali di due differenti tipi di oli minerali. Si effettuano prove di bianco per ogni serie di analisi.

#### *Composti Organostannici (TBT)*

Vengono di seguito elencate le fasi operative per la determinazione dei composti organostannici: 1-2 g di campione vengono sottoposti ad estrazione acida (acido acetico, metanolo, acqua) in ultrasuoni: vengono estratti i Sali dei composti organostannici  
l'estratto viene derivatizzato con Sodio tetraetilborato per la formazione dei rispettivi etilderivati  
gli etilderivati vengono estratti in esano e purificati in colonna silice/allumina  
L'estratto purificato, viene concentrato in corrente d'azoto ed analizzato in GC MS, il recupero viene valutato mediante aggiunta di standard interno.  
Il campione utilizzato per l'analisi, in base al metodo ISO 23161, deve essere congelato se non viene analizzato entro 48 ore.

#### *Azoto totale e fosforo totale*

Per quanto riguarda la determinazione dell'azoto totale, la mineralizzazione viene effettuata con acido solforico concentrato bollente, previa aggiunta di sostanze che facilitano l'ossidazione della sostanza organica e precisamente solfato di potassio, che eleva la temperatura di ebollizione dell'acido, e una miscela di selenio e solfato di rame in funzione di catalizzatore. Dopo la mineralizzazione, la soluzione contenente l'azoto come ione ammonico è resa alcalina e quindi sottoposta a distillazione. L'ammoniaca che distilla è raccolta quantitativamente su una soluzione diluita di acido borico e titolata con acido solforico. Alternativamente l'azoto ammoniacale può essere dosato direttamente sul mineralizzato mediante elettrodo specifico.

Il metodo per la determinazione del fosforo consiste nella estrazione con acido cloridrico concentrato di due porzioni omogenee e corrispondenti dello stesso campione di terreno, la prima trattata e la seconda non trattata a 240 °C. Sull'estratto si misura il contenuto di fosforo inorganico e la differenza di contenuto fra il campione trattato termicamente e quello non trattato rappresenta il contenuto di fosforo organico nel sedimento.

#### *Carbonio Organico Totale (TOC)*

Il carbonio organico totale (TOC) è la misura del carbonio presente nel campione legato a composti organici. Per le analisi si utilizza un analizzatore di TOC (Figure 13).

Il modulo solidi è dotato di due fornaci e un sistema di rilevazione ad infrarossi non dispersivo (NDIR) che analizza lo spettro di risposta della CO<sub>2</sub> liberata dal campione. La CO<sub>2</sub> prodotta nelle fornaci viene allontanata dal tubo di combustione e inviata al NDIR tramite un gas di trasporto. L'apparecchiatura rileva un picco la cui area è proporzionale alla concentrazione di carbonio presente e restituisce il valore in (%).

Il TOC viene calcolato dallo strumento come differenza tra i valori misurati del carbonio totale (TC) e del carbonio inorganico (IC) secondo la seguente formula:

$$\text{TOC} = \text{TC} - \text{IC} \quad [\%]$$

La lettura del TC, espressa in percentuale, si determina per combustione del campione nella prima fornace a 900 °C inviando la CO<sub>2</sub> prodotta al rilevatore NDIR, specifico per il rilevamento della

sola CO<sub>2</sub>, e non soggetto a interferenze dovute alla presenza di altri gas. Soltanto il vapore acqueo può interferire nella misura della CO<sub>2</sub>. Per questo motivo si cerca di evitare che questo possa raggiungere il detector: il vapore acqueo viene captato dal deumidificatore e fatto uscire dalla camera di combustione. Il gas di trasporto utilizzato è l'aria per favorire una rapida combustione-ossidazione dei campioni con elevato contenuto di carbonio. Per ottenere il valore di IC, il campione viene inserito nella seconda fornace a 200 °C. La misura, espressa in percentuale, viene determinata liberando la CO<sub>2</sub> attraverso la reazione dei carbonati con l'aggiunta di 5 mL di acido fluoridrico. L'allontanamento della CO<sub>2</sub> prodotta è favorita dalla temperatura di 200°C della fornace.

L'immissione dei campioni all'interno dello strumento avviene attraverso delle navicelle di porcellana. Si pesano circa 0,2 g di sedimento secco per la lettura del TC e circa 0,15 g per la lettura del carbonio inorganico IC.



Figure 13 - TOC-VCSN e modulo di analisi per solidi

#### *Pesticidi organoclorurati*

I pesticidi organoclorurati sono stati impiegati sia in agricoltura (Aldrin, Dieldrin, Endrin, Clordano, Heptachlor, Mirex e HCH) che in ambito sanitario (DDT ed i suoi, più persistenti, prodotti di degradazione DDE e DDD). Vi sono poi composti come l'HCB (esaclorobenze) che sono stati usati come fungicidi ma che sono anche dei sottoprodotti indesiderati di molti processi industriali.

Allo scopo di ottenere una efficiente estrazione dei pesticidi organoclorurati tramite solvente organico è necessario rimuovere l'acqua dai campioni di sedimento. Al fine di preservare gli analiti più termolabili e volatili la rimozione dell'acqua è stata effettuata per liofilizzazione congelando i campioni e realizzando la sublimazione dell'acqua. Dopo la liofilizzazione i campioni sono stati setacciati su maglie da 2 mm ed omogeneizzati tramite macinazione.

L'estrazione prevede l'impiego di una miscela etere di petrolio:diclorometano 60:40 e la parziale purificazione da interferenti polari coestratti per passaggio su uno strato di adsorbente polare (florisil) direttamente nella cella di estrazione. L'estratto è stato quindi concentrato e dibattuto con truciol di rame attivato per eliminare le interferenze da zolfo. L'estratto desolfurato è stato quindi purificato concentrato nuovamente ad un volume noto e sottoposto a dibattito con acido solforico concentrato per eliminare le interferenze da sostanze organiche interferenti residue.

La determinazione quali-quantitativa è effettuata per gascromatografia con rivelazione a cattura di elettroni nelle micro celle.

#### *Limiti di quantificazione relativi ai parametri chimici da ricercare nei sedimenti*

In particolare, i limiti di quantificazione richiesti per la determinazione dei parametri chimici da ricercare nei sedimenti sono riportati in Table 5.

Table 5 - Limiti di quantificazione richiesti per le analisi chimiche da eseguire sui sedimenti

Parametri chimici	Unità di misura	Limite di quantificazione
Parametri inorganici		
Alluminio	mg/kg s.s.	5,0
Arsenico	mg/kg s.s.	0,5
Cadmio	mg/kg s.s.	0,05
Cromo	mg/kg s.s.	5
Cromo VI	mg/kg s.s.	0,2
Ferro	mg/kg s.s.	5,0
Mercurio	mg/kg s.s.	0,05
Nichel	mg/kg s.s.	1,0
Piombo	mg/kg s.s.	1,0
Rame	mg/kg s.s.	1,0
Zinco	mg/kg s.s.	1,0
Vanadio	mg/kg s.s.	1,0
Parametri organici		
Policlorobifenili (PCB)	µg/kg s.s.	0,1 per singolo composto
Esaclorobenzene (HCB)	µg/kg s.s.	0,1
Clorobenzeni (per singolo composto)	µg/kg s.s.	10
Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) (per singolo idrocarburo)	µg/kg s.s.	1,0
Idrocarburi leggeri (C≤12)	mg/kg s.s.	0,5
Idrocarburi pesanti (C>12)	mg/kg s.s.	1,5
Solventi aromatici (BTEX):	µg/kg s.s.	10
Benzene	µg/kg s.s.	10
Toluene	µg/kg s.s.	10
Etilbenzene	µg/kg s.s.	10
Xileni (o-, m-, p-)	µg/kg s.s.	10
Alifatici clorurati cancerogeni e non (per singolo composto)	µg/kg s.s.	1,0
Pesticidi organoclorurati (per singolo composto)	µg/kg s.s.	1,0
Composti organostannici (Σ mono-, di-, tri-butilstagno, come Sn)	µg/kg s.s.	1,0
Diossine e furani e PCB diossina simili (Somatoria PCDD/PCDF/PCB dioxin like T.E.)	µg/kg s.s.	0,5x10 <sup>-3</sup>

### Analisi ecotossicologiche

Per quanto riguarda le indagini ecotossicologiche, qualora vengano applicate “varianti” o metodi “interni” rispetto a quanto riportato nei protocolli nazionali e/o internazionali, le modifiche rispetto al protocollo originale dovranno essere dettagliate ed opportunamente motivate con idonei riferimenti bibliografici.

I saggi biologici dovranno essere applicati ad almeno due matrici ambientali costituite da:

- fase solida del sedimento (sedimento tal quale e/o centrifugato);
- fase liquida del sedimento (acqua interstiziale e/o elutriato);

mediante impiego di una batteria di saggi biologici costituita da tre specie-test appartenenti a gruppi tassonomici e filogenetici differenti, scelte preferibilmente all'interno della lista di specie riportate nella tabella A4 dell'Allegato A del Decreto 7 novembre 2008 (Disciplina delle operazioni di dragaggio nei siti di bonifica di interesse nazionale, ai sensi dell'articolo 1, comma 996, della legge 27 dicembre 2006, n. 296).

I risultati dei test condotti dovranno contenere tutte le informazioni necessarie a consentire un'interpretazione inequivocabile della correttezza del dato. In particolare, dovranno essere riportati, in funzione delle caratteristiche dello specifico protocollo impiegato:

- il metodo utilizzato per l'esecuzione del test
- le modalità di conservazione del campione
- l'eventuale pretrattamento del campione
- i giorni intercorsi tra la data di campionamento e la data di analisi
- il numero di repliche ed il numero di diluizioni adottate
- l'EC50 e/o l'EC20 con i relativi limiti di confidenza al 95%
- l'effetto massimo (%) e la corrispondente diluizione
- l'effetto medio (%)  $\pm$  dev. St.
- i parametri statistici atti a valutare la significatività del risultato rispetto al controllo (esempio p statistico del t-test)

### **Specifiche per la restituzione dei risultati analitici**

Tutti i dati raccolti durante la caratterizzazione (dati numerici, alfa numerici, grafici, raster, vettoriali o misti, dati conseguenti all'elaborazione dei dati grezzi, dati derivanti dalle analisi di laboratorio, ecc.) dovranno essere restituiti in formato digitale, per essere poi inseriti in una banca dati relazionale, georeferenziata e dettagliatamente documentata, ed infine trasferiti in un unico Sistema Informativo Territoriale.

Tutta la cartografia dovrà inoltre essere riportata in forma digitale, per permettere eventuali confronti e correlazioni, la cui organizzazione, struttura e formato dovranno essere compatibili con il citato Sistema Informativo.

In particolare, i dati derivanti dalle attività di caratterizzazione dovranno essere resi disponibili su supporto digitale, in un'unica tabella in formato MDB (Microsoft Access), secondo le specifiche delineate nel presente paragrafo, accompagnati dai Rapporti di Prova in formato pdf (Portable Document Format), completi di tutte le informazioni richieste.

Si ricorda la necessità di verificare ed assicurare l'esatta corrispondenza tra il dato riportato sul Rapporto di Prova ed il dato in forma digitale, corredato delle coordinate effettive registrate al momento del campionamento.

La formattazione dei dati dovrà rispondere ai seguenti requisiti:

- I nomi dei campi della tabella non devono contenere né spazi né caratteri speciali o di punteggiatura.
- È ammesso l'uso del carattere underscore (\_) e del carattere ( $\mu$ ).
- Tutte le coordinate vanno riferite al datum WGS 84. Le coordinate geografiche vanno restituite come gg pp.mmmm (4 cifre decimali per le frazioni di primo), le coordinate cartografiche in metri.
- Tutte le quote devono essere espresse in metri (1 cifra decimale).
- Ad ogni campione dovrà essere associato un unico record di una tabella che dovrà contenere tutte le informazioni richieste.
- I nomi dei campi relativi ai risultati analitici dovranno indicare il parametro analizzato e l'unità di misura (a esempio: l'Arsenico in mg/kg ss dovrà essere indicato come Arsenico\_mg\_kg\_ss, mentre il Benzo(g,h,i)perilene come Benzo\_g\_h\_i\_perilene\_mg\_kg\_ss).
- I campi relativi alle tipologie di analisi che prevedono risultati di tipo descrittivo (granulometria, descrizione del campione, qualità organolettiche, ecc.) dovranno essere di tipo testo.
- I campi relativi alle informazioni e alle tipologie di analisi che prevedono dati di tipo numerico (ad es. coordinate, profondità, analisi chimico-fisiche, microbiologia...) dovranno essere unicamente di tipo numerico. La precisione dovrà essere adeguata al parametro descritto.
- Tutti i risultati analitici al di sotto del limite di rilevabilità dovranno essere indicati con un valore pari alla metà del limite stesso.

Si consiglia l'adozione di specifici e univoci codici alfa numerici per l'identificazione delle stazioni e dei campioni.

I primi campi della tabella dovranno essere obbligatoriamente i seguenti:

- Codice ISPRA della stazione (Codice\_Ispra\_Stazione)
- Codice ISPRA del campione (Codice\_Ispra\_Campione)
- Gradi Latitudine (Lat\_Gradi)
- Primi Latitudine (Lat\_Primi)
- Gradi Longitudine (Long\_Gradi)
- Primi Longitudine (Long\_Primi)
- Nord Utm (Nord)
- Est Utm (Est)