

***Daphnia magna* nel monitoraggio ambientale[§]**

[§] Relazione presentata al workshop "Test di tossicità con *Daphnia magna* per il controllo di acque reflue e corpi recettori. Milano, 29 ottobre 1999.

Miria Amodei¹ & Rossella Azzoni^{1*}, Marina Pocar²

¹ P.M.I.P. - A.S.L. Città di Milano, via Juvara 22 - 20129 Milano

² Piazzale Gorini 20 - 20133 Milano

* Autore referente per la corrispondenza (fax 02 70124857; e-mail margastaldi@yahoo.it)

Pervenuto il 2.5.2000, accettato il 12.7.2000

Riassunto

Il nuovo sistema normativo a tutela delle acque dall'inquinamento attribuisce ai saggi per la ricerca della tossicità nei confronti del biota acquatico un ruolo piuttosto rilevante. Nel presente lavoro vengono individuati alcuni temi di discussione basati su esperienze applicative del saggio di tossicità con *Daphnia magna*.

Per quanto attiene al controllo degli effluenti, si dimostra che l'adozione del saggio legale –che comporta l'esposizione degli organismi al campione tal quale– è una garanzia di salvaguardia del patrimonio idrico più potente del saggio che utilizza il campione diluito.

In relazione al tema dell'impatto degli effluenti depurati sui rispettivi recettori si osserva che, in generale, tali effluenti non rappresentano una matrice tossica e non peggiorano la compatibilità delle acque del recettore con la vita acquatica.

Per quanto concerne la valutazione degli effetti della disinfezione sulla tossicità degli effluenti depurati si nota come il processo della disinfezione, se mal condotto, peggiori la qualità degli effluenti sotto il profilo tossicologico acuto.

Per quanto riguarda il monitoraggio tossicologico dei corpi idrici superficiali, infine, mediante saggi per la ricerca di effetti acuti, si evidenzia la qualità del reticolo idrografico indagato e si discutono i risultati del prolungamento del tempo di esposizione degli organismi di saggio.

PAROLE CHIAVE: saggio tossicologico legale / impatto sul recettore / disinfezione / saggio acuto protratto

Abstract

TITOLO INGLESE

We examine some experiences concerning *Daphnia magna* test relating to a new Italian law against water pollution that puts much emphasis in toxicological tests to protect aquatic biota.

To control effluent toxicity, acute tests conducted with full sample result to protect receiving waters better than tests conducted with diluted sample.

The experience conducted to assessing the impact of Waste Water Treatment Plants effluents on receiving waters demonstrates that this kind of source isn't generally toxic and doesn't contribute to the flowing water's toxicity.

We verify harmful effects of chlorination on the acute toxicity of WWTPs effluent probably due to chlorine residues.

We finally demonstrate that acute toxicological monitoring of flowing waters provides better results if the exposure time is prolonged till seven days.

KEY WORDS: effluent toxicological test / impact on receiving water / chlorination / seven days acute toxicological test

INTRODUZIONE

L'ultimo decennio del secolo si configura come un periodo di gran fermento normativo in campo ambientale sia per ciò che riguarda l'assetto delle istituzioni, sia per quanto riguarda la tutela propriamente detta.

I due nuovi sistemi normativi d'interesse sono la Legge 61/94, istitutiva delle Agenzie Ambientali, ed il Decreto legislativo 152/99 recante disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento.

Il sistema delle Agenzie ambientali nasce dalla legge di riordino del settore del monitoraggio e del controllo ambientale e attribuisce la massima importanza allo sviluppo di un approccio conoscitivo dell'ambiente moderno ed efficace.

Il Decreto legislativo 152/99 definisce la disciplina generale per la tutela delle acque superficiali, marine e sotterranee perseguendo alcuni obiettivi fra cui quello

di prevenire e ridurre l'inquinamento e attuare il risanamento dei corpi idrici inquinati, e quello di mantenere la capacità naturale d'autodepurazione dei corpi idrici nonché la loro capacità di sostenere comunità animali e vegetali ampie e ben diversificate.

Il Decreto legislativo 152/99 attribuisce un ruolo piuttosto rilevante ai saggi per la ricerca della tossicità nei confronti del biota acquatico e definisce con una certa precisione i contorni entro cui dovrà muoversi la sperimentazione tossicologica nei prossimi anni.

In particolare, il Decreto riconosce la necessità dell'adozione di saggi tossicologici nell'azione di monitoraggio e classificazione delle acque superficiali laddove prevede analisi supplementari non obbligatorie sulla matrice acquosa e sui sedimenti, finalizzate all'evidenziazione di effetti a breve o lungo termine per un'analisi più approfondita delle cause di degrado del corpo idrico.

L'impegno operativo in tal senso potrebbe rivelarsi particolarmente impegnativo in alcune zone del territorio nazionale poiché il Decreto prevede che, qualora lo stato ambientale attribuito alla sezione di corpo idrico risulti inferiore a "buono", vengano effettuati accertamenti finalizzati all'individuazione delle cause del degrado e alla definizione delle azioni di risanamento. Tali accertamenti devono includere analisi supplementari volte a verificare la presenza di sostanze pericolose non ricercate in precedenza oppure l'esistenza di eventuali effetti di tipo tossico su organismi acquatici, oppure di fenomeni di accumulo di contaminanti nei sedimenti e nel biota.

Il Decreto legislativo, inoltre, riconosce il ruolo dei saggi tossicologici nel controllo degli scarichi nei corpi d'acqua superficiali: sia le acque reflue da impianti che trattano fognature miste, sia le acque reflue industriali devono essere conformi ai limiti di emissione indicati nella tabella 3 dell'Allegato 5 per il parametro 51.

L'esecuzione del saggio di tossicità è obbligatoria, anche se il risultato positivo della prova non determina l'applicazione diretta delle sanzioni, bensì l'obbligo d'approfondimento delle indagini analitiche, la ricerca delle cause di tossicità e la loro rimozione.

Da circa 10 anni il Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione (P.M.I.P.) di Milano ha adottato nella normale attività di controllo delle acque di scarico e di sorveglianza delle acque superficiali il saggio con *Daphnia magna*, applicandolo per differenti finalità e ricavandone alcuni temi di discussione definibili come:

- controllo degli effluenti e confronto dei protocolli operativi
- valutazione degli effetti degli scarichi sui recettori
- valutazione degli effetti della disinfezione sulla tossicità degli effluenti depurati
- monitoraggio dei corpi idrici superficiali

Alla luce di quanto precedentemente esposto queste esperienze risulteranno probabilmente obsolete, ma la loro disamina potrebbe essere utilizzata per orientare al meglio i programmi di monitoraggio futuri in funzione della nuova realtà normativa nazionale.

CONTROLLO DEGLI EFFLUENTI CONFRONTO DEI PROTOCOLLI OPERATIVI

Nel periodo 1990-1999 sono stati sottoposti ad analisi 898 campioni di acque reflue derivanti sia da impianti di depurazione che da insediamenti industriali ed ogni campione è stato saggiato utilizzando diversi approcci operativi.

La finalità di tale sperimentazione era quella di determinare non solo la tossicità del refluo in esame, ma anche il protocollo operativo in grado di assicurare il maggior livello di protezione ambientale.

La conduzione dell'allevamento e la ricerca degli effetti tossici acuti in 24 ore sono state realizzate secondo la metodica IRSA 1991, utilizzando sia il campione tal quale sia il campione diluito in parti uguali; per la definizione di assenza di tossicità sono stati adottati due criteri, l'uno che richiede la mobilità di almeno il 50% degli animali utilizzati e l'altro che richiede la mobilità di almeno il 90% degli organismi esposti (MARCHETTI e VIGANÒ, 1991).

Si possono distinguere, pertanto, quattro protocolli operativi codificati come: DIL-50 (diluito 1:1, mobilità $\geq 50\%$), TQ-50 (tal quale, mobilità $\geq 50\%$), DIL-90 (diluito 1:1, mobilità $\geq 90\%$) e TQ-90 (tal quale, mobilità $\geq 90\%$).

Oggi il Decreto legislativo 152/99 definisce il saggio di tossicità acuta come la sperimentazione in cui il campione non risulta accettabile se dopo 24 ore il numero degli organismi immobili è uguale o superiore al 50% del totale.

Ne derivano tre osservazioni immediate:

- nel caso di mobilità pari al 50% degli organismi esposti, il decreto legislativo considera il campione tossico mentre il metodo IRSA 1991 lo riteneva accettabile;
- i protocolli operativi DIL-90 e TQ-90 perdono ogni significato legale, in quanto il decreto indica un solo criterio di lettura;
- nel decreto permangono dubbi interpretativi circa la diluizione del campione su cui effettuare il saggio di tossicità; i risultati ottenuti con i protocolli operativi DIL-50 e TQ-50 meritano quindi di essere discussi.

I risultati complessivi della sperimentazione sono riportati in tabella I in cui si nota come, procedendo verso condizioni di saggio e chiavi di lettura sempre più restrittive, aumenta il numero di campioni che

Tab. I. Protocolli operativi applicati al controllo degli effluenti e relative percentuali d'incidenza.

Saggio <i>Daphnia magna</i>	n. saggi eseguiti	n. campioni tossici	% incidenza
diluito 1:1 mobilità ≥ 50%	898	60	6,7
diluito 1:1 mobilità ≥ 90%	898	89	9,9
tal quale mobilità ≥ 50%	898	111	12,4
tal quale mobilità ≥ 90%	898	154	17,1

risultano inidonei ad essere riversati in acque superficiali; si nota, inoltre, che l'efficacia del test con dafnia cresce maggiormente nel passaggio dall'uso del campione diluito a quello tal quale, più di quanto non faccia nel passare dal criterio di lettura meno restrittivo a quello più restrittivo.

In particolare, a parità di richiesta di mobilità del 50% degli organismi esposti, l'utilizzo del campione indiluito fa quasi raddoppiare la percentuale d'incidenza di campioni inaccettabili rispetto all'utilizzo del campione diluito 1:1.

Quest'osservazione rende ancor più interessante la discussione riguardo ai dubbi interpretativi lasciati dal decreto legislativo.

I risultati ottenuti nei dieci anni d'attività sono stati pertanto elaborati statisticamente mediante il metodo del χ^2 -che ha evidenziato differenze significative fra i risultati dei diversi protocolli operativi- ed indagando a quale protocollo fosse in prevalenza imputabile il risultato complessivo; ferme restando le regole di scelta gerarchica dei confronti da effettuare, la scomposizione dei gradi di libertà del χ^2 ha privilegiato le comparazioni in grado di dare informazioni utili per la discussione (SOLIANI, 1998).

Da un lato, perciò, è stato ritenuto importante capire se l'utilizzo del campione tal quale comporti l'individuazione di un numero di matrici inaccettabili, significativamente superiore rispetto al campione diluito 1:1. Dall'altro, considerando valida l'effettuazione del saggio sul campione diluito 1:1 -essendo l'indicazione riportata nel più recente Metodo IRSA 1994- è stato valutato se l'eventuale adozione supplementare del criterio d'accettabilità più restrittivo comporti un aumento significativo nel numero di campioni da ritenere non accettabili (IRSA, 1996).

I confronti fra protocolli operativi ritenuti più interessanti sono quindi: DIL-50 vs. TQ-50 e DIL-50 vs. DIL-90.

I risultati dell'analisi statistica sono riportati in tabella II: essa evidenzia una differenza altamente significativa fra il numero di valori registrati con il protocollo DIL-50 e quelli ottenuti con il protocollo TQ-50 ed una differenza significativa fra i protocolli DIL-50 e DIL-90. Il protocollo DIL-50 è quindi meno efficace sia del protocollo TQ-50 sia di quello DIL-90.

Ciò premesso -e considerato che ai sensi del Decreto legislativo 152/99 il risultato positivo della prova non determina l'applicazione diretta delle sanzioni bensì l'obbligo di approfondimento delle indagini analitiche e la ricerca delle cause di tossicità- si ritiene opportuno suggerire l'applicazione del parametro 51 della tabella 3, Allegato 5 del D. Lgs. 152/99 mediante l'utilizzo di un saggio di tossicità con *Daphnia magna* che comporti l'esposizione degli organismi di saggio al campione tal quale, poiché esso risulterebbe un mezzo più potente per salvaguardare il patrimonio idrico nazionale.

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DEGLI SCARICHI SUI RECETTORI

Il Decreto legislativo 152/99, a recepimento della direttiva 91/271/CEE, ribadisce il principio per cui tutti gli scarichi sono disciplinati in funzione del rispetto degli obiettivi di qualità dei corpi idrici e richiede che l'autorizzazione allo scarico contenga prescrizioni tecniche volte a garantire che gli scarichi siano effettuati senza pregiudizio per il corpo ricettore e per la salute pubblica.

Nell'ambito di un programma di lavoro relativo alla sorveglianza degli impianti di depurazione a fanghi attivi, ed in relazione alla problematica dell'impatto sul recettore, il P.M.I.P. di Milano ha avviato un programma di lavoro teso all'individuazione delle variazioni qualitative di alcuni corpi idrici nell'intorno del punto in cui essi ricevono le acque depurate (AZZONI, 1997a).

Il programma, ancora in corso, studia i corpi idrici recettori di 15 depuratori e si avvale di campionamenti in sequenza di acqua prelevata a monte e a valle

Tab. II. Protocolli operativi applicati al controllo degli effluenti: confronto statistico.

CONFRONTO	g.d.l.	χ^2	P
DIL-50 vs DIL-90 Vs TQ-50 vs TQ-90	3	51,424	3,97E-11
DIL-50 vs DIL-90 +TQ-50+TQ90	1	27,552	1,55E-7
DIL-50 vs TQ-50	1	16,811	4,13E-5
DIL-50 vs DIL-90	1	6,155	0,013

Tab. III. Effetti degli scarichi sui recettori: risultati complessivi.

	monte TQ 90	effluente 1	effluente 2	valle TQ 90	DIL 50		TQ 50	
					casi	% inc.	casi	% incid.
PRESENZA DI TOSSICITÀ	NO	NO	NO	NO	130	87,2	127	85,2
	SI	NO	NO	NO	1	0,7	1	0,7
	SI	NO	NO	SI	3	2,0	3	2,0
	NO	SI	SI	NO	6	4,0	11	7,4
	NO	NO	SI	NO	2	1,3	1	0,7
	NO	SI	NO	NO	7	4,7	6	4,0
T O T A L E					149	100,0	149	100,0

dell'immissione dell'effluente depurato, garantendo nel punto a valle la completa miscelazione delle acque.

Attualmente sono disponibili 149 serie di campioni; ogni serie è composta da due campioni istantanei d'effluente depurato prelevati in un ambito temporale di 30-60 minuti, e dai due campioni prelevati nel corpo idrico recettore.

La fase tossicologica dell'indagine è stata organizzata allestendo saggi per la ricerca di effetti tossici in 24 ore sia con i campioni indiluiti del recettore, sia con i campioni -indiluiti e diluiti 1:1- dell'effluente depurato.

Sui campioni di recettore è stato pertanto applicato il protocollo operativo TQ-90 mentre su quelli di effluente i protocolli TQ-50 e DIL-50 precedentemente descritti.

I risultati dell'esperienza sono riportati in tabella III.

Dall'osservazione della tabella si evince che solitamente né il corpo idrico recettore né l'effluente dell'impianto si dimostrano tossici nei confronti di *Daphnia magna*: in più dell'85% dei casi, infatti, nessuno dei campioni delle serie analizzate risulta incompatibile con la vita acquatica.

Si nota poi la presenza di quattro casi nei quali le acque depurate presentano una buona qualità, ma vengono riversate in un corpo idrico degradato; in un caso l'effluente depurato risulta in grado di diluire le acque del recettore al punto da renderle tossicologicamente compatibili con la vita acquatica mentre negli altri tre casi l'effluente non è in grado di ristabilire condizioni di compatibilità delle acque superficiali in cui viene riversato. Si osserva, inoltre, la presenza di alcuni casi in cui si è riscontrata tossicità in uno o in entrambi gli effluenti prelevati; indipendentemente dalle piccole differenze registrate con l'applicazione dei due protocolli TQ-50 e DIL-50, si può notare che nel corpo idrico a valle dell'immissione dello scarico non si è mai registrata tossicità per dafnia, e questo potrebbe indicare che l'immissione di acque di scarsa qualità non sembra in grado di peggiorare significativamente la qualità del corso d'acqua recettore, almeno dal punto di vista della ricerca di fattori tossici acuti (POCAR, 1998).

Si nota infine che, in alcuni casi, i due effluenti prelevati in modo istantaneo nell'ambito temporale di 30-60 minuti presentano tossicità differente: la giustificazione di questi riscontri può essere parzialmente ricercata nella disinfezione degli effluenti poiché il processo, già di per sé di difficile regolazione, a volte sembra gestito in modo saltuario ed occasionale.

Alla luce del fatto che il Decreto legislativo 152/99 richiede la raccolta di campioni d'effluente medi ponderati sulle 24 ore, il programma di lavoro per la sorveglianza degli impianti di depurazione dovrà essere totalmente riconsiderato.

I risultati di questa esperienza sembrano comunque indicare che le acque reflue depurate rappresentano una matrice in cui andrebbero più consistentemente ricercati fattori tossici a medio o lungo termine.

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DELLA DISINFEZIONE SULLA TOSSICITÀ DEGLI EFFLUENTI DEPURATI

A seguito di provvedimenti emessi dall'autorità competente per il rilascio dell'autorizzazione allo scarico, quattro dei quindici impianti sorvegliati attraverso il programma di lavoro descritto precedentemente operano la disinfezione delle acque trattate prima dell'immissione in acque superficiali, ed il processo utilizza generalmente sostanze a base di cloro.

Per valutare se il processo di disinfezione è in grado di influenzare la compatibilità ambientale delle acque depurate, campioni di effluente sono stati prelevati contemporaneamente sia prima che dopo la disinfezione.

Nel periodo 1998-1999 sono state raccolte 28 coppie di campioni d'effluente, per saggiare i quali è stato adottato il test tossicologico acuto a 24 ore con *Daphnia magna* effettuato per entrambi i componenti della coppia sia sul campione tal quale che sul campione diluito 1:1.

Tutti i componenti, diluiti ed indiluiti, delle 28 coppie prelevati prima della disinfezione sono risultati innocui; nel caso dei campioni diluiti, 13 componenti delle 28

coppie prelevati dopo il processo di disinfezione si sono mantenuti innocui mentre nei rimanenti 15 casi si è registrata mobilità inferiore al 50% degli organismi esposti.

Analogamente, 10 componenti si sono mantenuti innocui e 18 si sono rivelati tossici nel caso dei saggi effettuati con campioni indiluiti.

Ne deriva che più della metà dei campioni di effluente che sono stati disinfettati prima della loro immissione nel recettore ha subito un netto peggioramento sotto il profilo tossicologico acuto.

Come noto, la consapevolezza della produzione di trialometani ed altri composti organici alogenati potenzialmente tossici quali sottoprodotti della clorazione delle acque ha stimolato l'approfondimento degli studi riguardanti i disinfettanti alternativi (MONARCA *et al.*, 1992).

Fra i composti alternativi all'uso del cloro possono essere citati l'ozono e l'acido peracetico, entrambi esitanti nella rottura della membrana cellulare e quindi nella morte dei batteri. A differenza del cloro, l'acido peracetico (nelle soluzioni commerciali sempre in equilibrio con il perossido d'idrogeno) non dovrebbe lasciare residui persistenti nelle acque trattate (CAVADORE *et al.*, 1993a).

Anche la gestione del processo di disinfezione con acido peracetico, comunque, richiede grande attenzione poiché la letteratura riporta valori prevalenti di acido peracetico residuo, per differenti dosaggi e differenti tempi di contatto, pari a 1,2-1,3 mg/l e questi valori sono molto vicini al dato di letteratura relativo alla tossicità acuta in 24 h del composto nei confronti di *Daphnia magna*, indicato come 1,38 mg/l (CAVADORE *et al.*, 1993b; CICCARELLI *et al.*, 1994).

Pur nella consapevolezza del fatto che il Decreto legislativo 152/99 affida all'autorità competente l'individuazione del limite più opportuno per il parametro *Escherichia coli* in relazione alla situazione ambientale ed igienico-sanitaria del corpo idrico recettore, si ritiene che lo studio degli effetti sulla vita acquatica dei prodotti per la disinfezione dei reflui vada approfondito.

MONITORAGGIO DEI CORPI IDRICI SUPERFICIALI

L'esperienza relativa all'uso del saggio *Daphnia magna* per classificare le acque superficiali deriva da alcune indicazioni del Piano Regionale di Risanamento delle Acque della Regione Lombardia, ormai superato dall'emanando Piano di Tutela delle acque previsto dal Decreto legislativo 152/99. In realtà, il protocollo operativo del P.M.I.P. di Milano sostituiva il saggio acuto statico a 96 ore con trota con il saggio *Daphnia magna*

a 48 ore, ritenuto di potenza paragonabile (EPA, 1989). Tale scelta trova oggi parziale conferma nel Decreto 152/99, che indica *Daphnia magna* come organismo di saggio per l'effettuazione di analisi supplementari per una conoscenza più approfondita delle cause di degrado del corpo idrico, richiedendo però la concentrazione dei campioni acquosi.

È importante notare che, per il vigente sistema a tutela delle acque, l'eventuale evidenziazione di situazioni di tossicità per gli organismi saggiati porta comunque ad attribuire al corpo idrico lo stato ambientale "scadente".

Ben consci del fatto che i danni arrecati dagli inquinanti agli organismi che popolano un corso d'acqua spesso non sono di tipo acuto ma si manifestano a medio-lungo termine, nel piano di monitoraggio per il P.R.R.A. è stato adottato anche un saggio acuto protratto per ampliare l'informazione tossicologica (AMODEI *et al.* 1993).

Il saggio acuto protratto consiste nell'esposizione di *Daphnia magna* ad acqua di fiume indiluita per 7 giorni, e nella rilevazione a tempi determinati del numero di dafnie immobili, del numero di dafnie che presentano uova nella camera di incubazione e del peso secco degli organismi al settimo giorno; la definizione di assenza di tossicità nei campioni corrisponde a mobilità superiore al 20% degli organismi esposti in 7 giorni (protocollo TQ-80 7gg.).

Per la discussione relativa al monitoraggio dei corpi idrici sono disponibili 748 dati di tossicità acuta a 48 ore con esposizione al campione tal quale, e 297 dati di tossicità acuta protratta; i dati relativi ai parametri di maturazione dei dafnidi sono stati esclusi perché scarsamente elaborabili.

La percentuale d'incidenza di campioni d'acque correnti risultati tossici per un tempo d'esposizione di 48 ore corrisponde al valore di 8,2.

Questo risultato, pur se ottenuto su campioni ripetuti in tempi diversi nelle stesse stazioni di campionamento, conferma ancora una volta che la qualità del patrimonio idrico del territorio milanese, o almeno di una sua parte, è decisamente scadente: il dato, infatti, indica la presenza di fattori tossici acuti nelle acque superficiali.

La drammaticità di alcune situazioni territoriali è ancor più evidente confrontando i dati di tossicità acuta a 24 ore rilevati sui corsi d'acqua nelle varie esperienze realizzate con quelli analogamente rilevati sugli effluenti: come si nota dalla tabella IV, la percentuale d'incidenza di campioni d'effluente tossici in 24 ore è di 17,1 e quella di campioni di acque superficiali è di 5,5.

Ovviamente, la percentuale di campioni di acque superficiali incompatibili con la vita acquatica può

Tab. IV. Presenza di tossicità acuta in differenti matrici.

TQ-90 24h	n. saggi eseguiti	n. campioni tossici	% incidenza
effluenti	898	154	17,1
corpi idrici superficiali	748	41	5,5

Tab. V. Monitoraggio dei corpi idrici superficiali: risultati a differenti tempi d'esposizione. (* = spiegazione nel testo)

N° campioni	Presenza di tossicità		
	24 h	48 h	7 gg
22	SI	SI	SI
2*	SI	SI	NO
1*	NO	SI	NO
2	NO	SI	SI
13	NO	NO	SI

risultare anche molto diversa secondo l'asta indagata.

Utile esempio può essere il confronto dei risultati ottenuti attraverso indagini di approfondimento realizzate su due corsi d'acqua del milanese caratterizzati da regimi idrologici simili e da bacini di drenaggio totalmente differenti (AZZONI, 1997b, 1999).

Nel torrente Molgora è stata registrata una percentuale d'incidenza complessiva per il saggio TQ-90 24h pari a 1,9 e nel torrente Seveso pari a 10,6; questi risultati portano a concludere che, superata la fase della prima classificazione, il monitoraggio tossicologico dei corpi idrici superficiali ai sensi del Decreto legislativo 152 dovrà essere modulato nelle singole realtà territoriali in funzione delle esigenze conoscitive e dello stato qualitativo della risorsa.

In questo contesto va letta anche la tabella V che propone il quadro riassuntivo dell'ampliamento dell'informazione tossicologica ottenuta aumentando il tempo di esposizione fino a 7 giorni.

Innanzitutto occorre precisare che i valori contrassegnati in tabella con un asterisco corrispondono a casi in cui la percentuale d'immobilizzazione si è attestata su valori compresi fra 10 e 20: in tal modo i campioni risultano tossici secondo i protocolli TQ-90 24h e/o 48h, ma innocui secondo il protocollo TQ-80 7gg.

Il riscontro più interessante è quello che riguarda i 13 campioni per i quali, passando dal tempo d'esposizione di 48 ore a quello di 7 giorni, il giudizio di compatibilità con il biota passa da favorevole a sfavorevole perché indica che, pur rimanendo nel campo della ricerca della tossicità acuta, il semplice protrarsi del tempo d'esposizione consente di meglio individuare le problematiche del corpo idrico in studio.

È importante sottolineare che il saggio acuto protratto, grazie alla standardizzazione del metodo ad esso sotteso ed alla facilità d'esecuzione e nonostante il lavoro supplementare richiesto, è caratterizzato da buona applicabilità ed è in grado di apportare informazioni originali.

È evidente che, in un'applicazione routinaria e per coniugare al meglio costi e benefici, la scelta del test acuto protratto andrà effettuata perlomeno nei progetti di monitoraggio relativi a corsi d'acqua che –nelle indagini preliminari o passate– non hanno mostrato alte percentuali d'incidenza di effetti tossici a 48 ore.

Il suggerimento che deriva dalle presenti esperienze di monitoraggio tossicologico dei corsi d'acqua è quindi quello di aumentare la potenza del test riducendo i punti di prelievo nei casi in cui le indagini preliminari non abbiano mostrato incidenza significativa di fattori tossici acuti, e di utilizzare un saggio veloce nei casi in cui la tossicità acuta si sia mostrata presente frequentemente, aumentando i punti di prelievo per circoscrivere spazialmente le fonti inquinanti.

In alcune realtà territoriali, la prospettiva dell'utilizzo di campioni acquosi concentrati come previsto dal nuovo decreto a tutela delle acque è purtroppo ancora lontana perché il livello di contaminazione di alcuni corsi d'acqua è talmente pesante da manifestare effetti tossici acuti nella matrice tal quale.

La riflessione metodologica sulla concentrazione dei campioni acquosi è comunque urgente e deve divenire tema di studio e di lavoro fin da ora.

BIBLIOGRAFIA

AMODEI M. & AZZONI R., ARDEMAGNI A., PASQUINI P., 1993. *Daphnia magna* nel controllo tossicologico delle acque superficiali. Problemi relativi alla nutrizione degli organismi di saggio. *Biologia Ambientale*, 1:5-10.

AZZONI R., 1997a. Protocolli operativi per la sorveglianza degli impianti di depurazione. Atti della giornata di studio: *Analisi delle acque reflue dagli impianti industriali e dai depuratori. Tecnologia e aspetti legislativi*. Milano, 22 ottobre 1997.

- Associazione Italiana Strumentisti.
- AZZONI R. (ed.), 1997b. Corpi idrici superficiali. *Progetto Seveso*. Azienda U.S.S.L. n. 38, Milano.
- AZZONI R. (ed.), 1999. Corpi idrici superficiali. *Progetto Molgora*. Azienda Sanitaria Locale Città di Milano - Distretto 3.
- CAVADORE A., MASSA G., BIENTINESI P., MARTIGNONI P., 1993a. Acido Peracetico-Oxymaster: disinfezione acque reflue urbane di un depuratore cittadino - esperienze industriali all'impianto di Cesena. *Ingegneria sanitaria-ambientale*, genn.-febb.: 23-27.
- CAVADORE A., MASSA G., BIENTINESI P., 1993b. La disinfezione delle acque di scarico dell'impianto di depurazione di Cesenatico. *Inquinamento*, **3**: 74-77.
- CICCARELLI E., CINGOLANI L., SERGI A., MOROSI A., MINOTTI L., FELICIONI F., 1996. Studio ecotossicologico sull'impiego di acido peracetico come algicida in laghetti di irrigazione. In: Atti del Seminario di studi *Dalla tossicologia alla ecotossicologia*, Pordenone, 16-17 settembre 1994. U.S.L. Pordenonese & C.I.S.B.A.
- CNR - IRSA, 1994. *Metodi analitici per le acque. 8020*: metodi di valutazione della tossicità con *Daphnia*. Quaderno n. 100.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1989. Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants under the Clean Water Act. *Federal Register*, 54, 231, 50216-50224.
- MARCHETTI R. e VIGANÒ L., 1991. Metodi per la determinazione di effetti tossici acuti con *Daphnia magna*. Atti della Giornata di Studio "Saggio di tossicità con *Daphnia*". Quaderni dell'Istituto di Ricerca sulle Acque, 93, 1-23.
- MONARCA S., NARDI G., FERETTI D., DORÉ F., FANCESCONI A., GROTTOLO M., 1992. Uso del biossido di cloro nella disinfezione delle acque reflue di depuratori civili: recenti esperienze. *Inquinamento*, **5**: 110-116.
- POCAR M., 1998. Depurazione biologica delle acque: esperienze di sorveglianza. Università degli Studi di Milano. *Tesi di laurea*.
- SOLIANI L., 1998. Fondamenti di statistica applicata all'analisi e alla gestione dell'ambiente. *Dispense Corso di Formazione C.I.S.B.A.*

