

# **Trapianti di briofite acquatiche per il biomonitoraggio dei metalli in traccia: risultati e prospettive della tecnica dei *moss bags* dopo 10 anni di studi fra Veneto e Friuli-Venezia Giulia**

**Mattia Cesa<sup>1\*</sup>, Pier Luigi Nimis<sup>1</sup>, Alessandro Bizzotto<sup>2</sup>,  
Ezio Dainese<sup>2</sup>, Claudio Ferraro<sup>2</sup>, Pierluigi Verardo<sup>3</sup>, Maria Belli<sup>4</sup>**

*1 Università di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita, Gruppo di Geobotanica; Via L. Giorgieri, 10 – 34127 Trieste*

*2 Agenzia Regionale per la Prevenzione e la Protezione Ambientale del Veneto (ARPAV), Dipartimento Provinciale di Vicenza; Via Spalato 14/16 – 36100 Vicenza*

*3 Agenzia Regionale di Protezione Ambientale (ARPA) del Friuli – Venezia Giulia, Dipartimento Provinciale di Pordenone; Via delle Acque, 28 – 33170 Pordenone*

*4 Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Servizio di Metrologia Ambientale; Via di Castel Romano, 100-0018 Roma*

\* *Referente per la corrispondenza: mattia.cesa@mossbags.it*

*Pervenuto il 22.2.2012; accettato il 18.5.2012*

## **RIASSUNTO**

Fra gli obiettivi del monitoraggio chimico delle acque previsto dalla Direttiva Quadro 2000/60/CE vi è la sorveglianza delle sostanze prioritarie, fra le quali si annoverano alcuni metalli pesanti che spesso generano forme d'inquinamento sporadiche o intermittenti. Ciò, sommato alla promiscuità dell'utilizzo del territorio, all'inadeguatezza della rete fognaria o degli impianti di trattamento ed all'impossibilità di controllare le sorgenti puntiformi, può determinare situazioni che generano rischi ambientali particolarmente insidiosi.

Il monitoraggio biologico ed anche quello chimico basato sul campionamento dell'acqua non possono procurare informazioni rappresentative sulla reale presenza di metalli nell'ambiente, né sulla loro disponibilità biologica. L'utilizzo di accumulatori, soprattutto quelli biologici come le briofite, consente invece di ottenere stime sensibili ed integrate del livello di alterazione ambientale da metalli nella sola frazione biodisponibile.

Le briofite acquatiche sono utilizzate con successo da oltre 40 anni nei più svariati contesti ambientali d'Europa e si configurano come i migliori strumenti oggi a disposizione per il monitoraggio dei metalli. Il Dipartimento di Scienze della Vita dell'Università di Trieste è impegnato da circa dieci anni in attività di studio, calibrazione ed applicazione dei trapianti di muschio (*moss bags*) sul territorio veneto e friulano. Questa metodica semplice ed efficace è già a disposizione degli Enti locali grazie alla collaborazione con le Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale ed attende ora di essere standardizzata attraverso un progetto nazionale patrocinato dall'ISPRA.

PAROLE CHIAVE: Fiumi / Bioaccumulatori / Muschi / Inquinamento / Sostanze prioritarie

## **Trace element biomonitoring by the use of transplanted aquatic bryophytes: results and outlooks of the 'moss bag' technique after 10 years of experimentation in Veneto and Friuli-Venezia Giulia**

Among the objectives of chemical monitoring under the Water Framework Directive 2000/60/EC, priority substances monitoring has great importance, since these pollutants, including heavy metals, often produce sporadic or intermittent contamination. Such events may produce environmental risks in case of promiscuous land use, deficiency of sewer systems or sewage treatment plants, especially when point sources cannot be efficiently monitored by authorities.

Both biological monitoring and chemical analyses on grab water samples cannot provide representative information about trace metal occurrence in the environment or their biological availability. On the opposite, bioaccumulators, in particular aquatic bryophytes, provide sensible and time-integrated estimations of the bioavailable fraction of trace elements in running waters.

Aquatic bryophytes have been successfully adopted since the 1970's under different environmental conditions in European waterbodies and laboratories, and they have been recognized as the most promising tool for trace element monitoring. A research group activated ten years ago by the Department of Life Sciences of Trieste University is particularly devoted to the study, calibration and implementation of the 'moss bag' technique, based on the use of transplanted mosses. This method, cheap and effective, is being successfully adopted by the Regional Agencies for Environmental Protection of Veneto and –more recently– Friuli Venezia Giulia, but a network for its standardization is necessary in the aim of withdrawing guidelines.

KEY WORDS: Rivers / Bioaccumulators / Mosses / Pollution / Priority substances

## INTRODUZIONE

La Direttiva Quadro Acque (WFD, Water Framework Directive) 2000/60/CE, recepita in Italia con il Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n.152, ha sancito –non senza fondate critiche (NARDINI *et al.*, 2008)– il primato degli ‘elementi di qualità biologica’ (composizione ed abbondanza di flora acquatica, macroinvertebrati bentonici e fauna ittica) per la classificazione dello stato ecologico di un corpo idrico, relegando gli elementi di qualità idro-morfologica, fisica e chimica (comprese le concentrazioni degli inquinanti nella colonna d’acqua) ad un ruolo ‘di sostegno’ nella formulazione del giudizio (EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2000).

### Il problema dei metalli in traccia

Le tecniche di biomonitoraggio, intese come utilizzo di organismi viventi per esprimere valutazioni sullo stato dell’ambiente, e specialmente l’utilizzo di bioindicatori, organismi che subiscono variazioni evidenti nella fisiologia, nella morfologia o nella distribuzione spaziale sotto l’influsso delle sostanze presenti nell’ambiente, hanno assunto un ruolo preponderante nella gestione ambientale che però non si esaurisce nella sola determinazione dello stato biologico di un ecosistema. La WFD pone infatti un accento particolare sullo stato chimico dell’ambiente con particolare riferimento alla presenza di sostanze identificate come ‘prioritarie’ (EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2008), composti organici come gli idrocarburi policiclici aromatici o inorganici come i metalli pesanti, la cui pericolosità per l’uomo e l’ambiente è massima e verso cui i sedimenti e diversi organismi resistenti all’inquinamento possono agire come accumulatori. Ecco dunque che taluni strumenti, che potremmo definire ‘biologici’ in quanto basati sull’utilizzo di organismi viventi, si prestano al monitoraggio ‘chimico’ delle acque in quanto consentono un giudizio sullo stato di alterazione ambientale non più sulla base dell’effetto composito di diversi fattori sulla comunità di riferimento, bensì sulla concentrazione integrata nel tempo di singoli inquinanti nell’unica specie adottata come ‘sentinella’.

Pur essendo noti da decenni i vantaggi offerti dalle tecniche di bioaccumulo, soprattutto per la ricerca di metalli in traccia in presenza di inquinamento sporadico o intermittente, rispetto al tradizionale campionamento puntiforme sulla colonna d’acqua (GREENWOOD e ROIG, 2006), la WFD non dà specifiche indicazioni a riguardo, per le quali si è dovuto attendere la pubblicazione delle recentissime linee guida per il monitoraggio chimico di sedimenti e *biota*: la ‘Guidance No. 25’ (EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2010). Con esse viene finalmente suggerito l’utilizzo di bioaccumulatori per: a) la derivazione di ‘standard locali di qualità

ambientale’ laddove le metodiche convenzionali non possono procurare risultati soddisfacenti, b) l’analisi delle tendenze a lungo termine e c) il monitoraggio di sorveglianza e/o d’indagine delle fonti di pressione.

### La soluzione offerta dalle briofite

Gli organismi consigliati dalla ‘Guidance No. 25’ per il monitoraggio chimico dei metalli in traccia sono le briofite acquatiche. Muschi ed epatiche hanno infatti la capacità di adsorbire grandi quantità di cationi a livello dei siti di scambio delle pareti cellulari, che fungono da attrattori non selettivi tanto di micronutrienti quanto di microinquinanti. Il fattore di bioconcentrazione, dell’ordine di  $10^3$ - $10^5$  a seconda del metallo, è direttamente proporzionale alla concentrazione dell’elemento in acqua ed al tempo di esposizione, ma può risentire di interferenze legate all’acidità o alla salinità dell’acqua, alla competizione fra taluni metalli in traccia, e così via.

L’accumulo avviene tipicamente in due fasi: 1) un rapido e passivo adsorbimento dei cationi a livello dei siti di scambio nei primi giorni/ore dall’inizio dell’esposizione, seguito da 2) un lento e poco reversibile meccanismo di assorbimento attivo nel citoplasma durante i giorni e le settimane successive. La concentrazione misurata nella pianta al momento del prelievo è il risultato di un equilibrio dinamico che oscilla tra fasi di accumulo e di rilascio necessariamente sconosciute, dunque un’indicazione integrata della presenza del dato inquinante nella sua forma biodisponibile (MOUVET, 1986).

La letteratura scientifica internazionale degli ultimi cinquant’anni annovera decine di lavori consacrati allo studio della chimica e della fisiologia del bioaccumulo, ma ancor più delle possibilità che le briofite offrono nel settore dell’ecologia applicata, ad esempio per rilevare e caratterizzare eventi di contaminazione che risultano latenti agli strumenti di sorveglianza per così dire convenzionali. Un elenco bibliografico di questi lavori è fornito dal sito internet <http://www.mossbags.it>. In alcuni casi i ricercatori hanno prodotto delle vere e proprie sintesi metodologiche con linee guida per l’utilizzo standard delle briofite, come ad esempio in Francia (MOUVET, 1986; MERSCH e CLAVERI, 1998).

### Esperienze di ‘bryo-monitoraggio’ in Italia

I primi contributi italiani a questa particolare linea di ricerca risalgono agli studi pilota condotti dal J.R.C. di Ispra lungo il Fiume Toce e nel Lago d’Orta (CENCI, 1993) e dal C.N.R. di Verbania Pallanza negli affluenti del Lago Maggiore (BAUDO e BELTRAMI, 2004), utilizzando il muschio *Fontinalis antipyretica* Hedw. trapiantato, cioè non raccolto direttamente nel sito di studio ma prelevato da una sorgente di riferimento e

successivamente trasferito mediante opportuni supporti, come previsto dalla tecnica del ‘moss bag’ (GOODMAN *et al.*, 1977; MOUVET, 1984; EVERARD e DENNY, 1985; KELLY *et al.*, 1987). Questa variante operativa offre i vantaggi di utilizzare piante appartenenti alla stessa specie ed alla stessa comunità (quindi di minimizzare la variabilità intrinseca del dato) e di riferire la concentrazione rilevata ad un periodo di tempo ben preciso (solitamente dell’ordine di qualche settimana).

Nel 2002 l’Università di Trieste ha intrapreso, in collaborazione con Enti ed Autorità locali, un progetto poliennale di ricerca ed applicazione della tecnica dei *moss bags* nei corsi d’acqua del Veneto e più recentemente del Friuli-Venezia Giulia, i cui risultati verranno illustrati nel presente documento e potrebbero fungere da volano per la maturazione di una sintesi metodologica sull’impiego dei trapianti.

## MATERIALI E METODI

Fra il 2005 ed il 2007 il gruppo di ricerca formato da Università di Trieste ed A.R.P.A. Veneto ha vagliato ed ottimizzato i materiali e i metodi per la raccolta ed il trapianto delle briofite proposti dagli esperti internazionali, adattandoli al contesto ambientale (naturale ed urbano) della provincia di Vicenza, che comprende torrenti di montagna, fiumi di pianura, canali artificiali e scarichi di reflui (CESA, 2008).

### Trapianti

La delicata fase di approvvigionamento delle briofite è stata standardizzata individuando uno o due siti di riferimento non soggetti a significativi impatti antropici sulla composizione chimica dell’acqua (dunque basse concentrazioni di metalli in traccia), caratterizzati da condizioni idrologiche e di accessibilità sufficientemente costanti nel corso dell’anno, vicinanza con l’area di studio e soprattutto popolamenti pressoché monospecifici e molto consistenti del muschio scelto. Attualmente le briofite scelte per i nostri studi sono i muschi *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dixon raccolto presso le sorgenti del Fiume Meschio a Vittorio Veneto (TV) o presso La Santissima di Polcenigo (PN), bacino del Livenza (Fig. 1) e *Fontinalis antipyretica* Hedw. raccolto presso le sorgenti del Gorgazzo, sempre a Polcenigo.

I *moss bags* vengono realizzati richiudendo a tubo un quadrato 20x20 cm di rete di plastica (con fori da 4 mm) all’interno del quale sono collocate le parti apicali del muschio (lunghezza approssimativa 5-10 cm, massa umida 10-15 g) strappate dal substrato roccioso a mano o con l’ausilio di una lametta da barba, allo scopo di preservare le parti basali e favorirne la ricrescita (Fig. 2). I sacchetti vengono trasportati all’area

di studio in bidoni d’acqua fresca e collocati nel fiume mediante supporti appositamente realizzati con paletto di ferro ricoperto, cordino e galleggiante (Fig. 3) oppure sfruttando appigli naturali e manufatti preesistenti. Allo stesso modo i trapianti possono essere impiegati per la sperimentazione in vitro all’interno di un acquario, come mostrato più avanti.



**Fig. 1.** Il muschio *P. riparioides*, qui parzialmente emerso, presso le sorgenti del Meschio (foto: M. Cesa).



**Fig. 2.** *Moss bags* pronti all’uso (foto: M. Cesa).

### Analisi ed interpretazione dei dati

Al termine dell'esposizione, la cui durata varia da qualche giorno a qualche settimana (tipicamente un mese) secondo le finalità dello studio, il muschio viene lavato sul posto e trasferito in laboratorio dove si procede alla pulizia fine mediante acqua demineralizzata, alla selezione degli apici più ricchi di foglioline (5-10 g) ed all'asciugatura (2 giorni in stufa a 40 °C). Il campione così stabilizzato può essere conservato in attesa delle successive fasi di pesatura (massa secca solitamente compresa fra 200 e 500 mg), mineralizzazione (solitamente un attacco acido in acqua regia ad elevata temperatura) ed analisi spettrofotometrica (FAAS, GFAAS, FIAS, ICP-MS, ICP-OES). L'accuratezza del dato analitico è costantemente monitorata mediante analogo trattamento ed analisi di materiale standard di riferimento certificato (es. BCR No. 60-61).

Il dato finale di concentrazione ricavato in ciascuna stazione di monitoraggio, espresso come mg di metallo per kg di muschio secco, può essere confrontato con l'analogo dato di una stazione di controllo collocata a monte, che funge perciò da riferimento relativo per

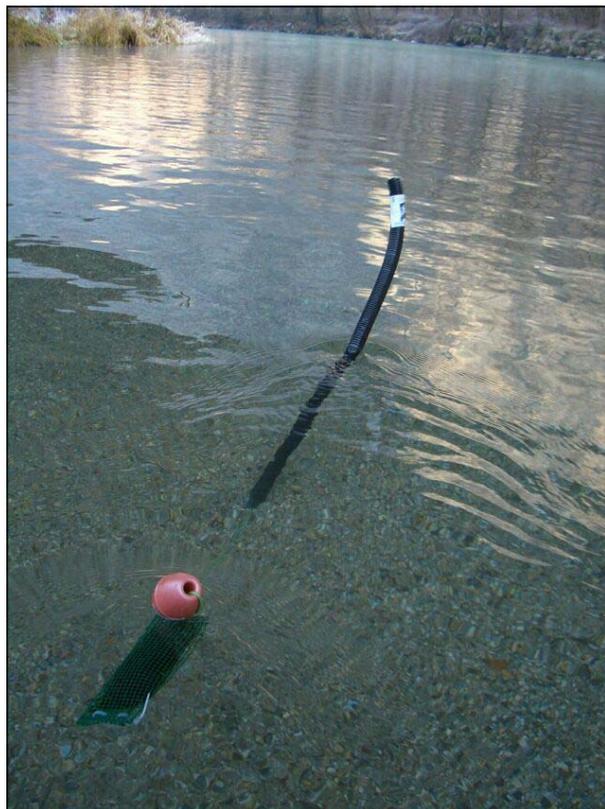
localizzare fonti di pressione lungo il fiume, oppure – se è stato calcolato – con il *background* dell'area di studio (es. a livello di bacino o sottobacino), in modo da esprimere una più corretta valutazione dello stato di alterazione ambientale.

### Aree di studio

L'immissione antropica di metalli in traccia nelle acque superficiali e, conseguentemente, in quelle sotterranee o nel suolo avviene spesso in modo sporadico od intermittente. Ciò, sommato alla promiscuità nell'utilizzo del territorio, all'inadeguatezza della rete fognaria o degli impianti di trattamento ed all'impossibilità di controllare le sorgenti puntiformi, può determinare situazioni che generano rischi ambientali particolarmente insidiosi. Questa è la condizione prevalente nelle regioni del Nordest italiano, caratterizzate da una forte espansione della piccola e media industria nella seconda metà del secolo scorso ma anche dall'inadeguatezza della rete di raccolta delle acque reflue.

La sperimentazione con i trapianti di briofite, coordinata dal Dipartimento di Scienze della Vita dell'Università di Trieste, è finanziata dalla Provincia di Vicenza, da diversi Comuni veneti e friulani, dalle Autorità d'Ambito Territoriale Ottimale di Bacchiglione e Brenta, con la collaborazione tecnico-scientifica delle Agenzie per la Protezione Ambientale di Veneto e Friuli-Venezia Giulia e il supporto logistico dei Consorzi di Bonifica vicentini e di alcuni privati. Essa è avvenuta, e avviene tuttora, in svariati contesti e per diversi scopi, come di seguito schematizzato.

- Periodo 2002-2004. Studi pilota per saggiare la capacità di accumulo dei *moss bags* sia in condizioni ecologiche favorevoli (una roggia irrigua del bassanese soggetta a contaminazione intermittente da reflui di industrie galvaniche dove si riscontra la presenza di briofite autoctone), sia in condizioni sfavorevoli dove le briofite acquatiche solitamente non vivono per la presenza di materia organica in sospensione (due scarichi di grandi impianti di depurazione misti del bassanese), per fattori climatici ed idrologici estremi (torrenti delle dolomiti bellunesi) o per la forte salinità dell'acqua (canali e delta del Po attorno alla centrale termoelettrica di Porto Tolle).
- Periodo 2005-2008. Studi in laboratorio nello speciale acquario realizzato presso il laboratorio ARPAV di Bassano del Grappa (Fig. 4), per indagare sui possibili fattori interferenti durante la fase di accumulo a breve termine, e campagna annuale di raccolta dati lungo 7 corsi d'acqua del bacino del Bacchiglione per l'elaborazione del primo indice di alterazione ambientale basato sull'esclusivo utilizzo di trapianti.
- Periodo 2009-2011. Applicazione intensiva del nuovo indice (Palladio; CESA *et al.*, 2010) in un centinaio



**Fig. 3.** Tipica stazione *moss bags* formata da un paletto di ferro infisso nell'alveo e ricoperto da un tubo di plastica cui viene legato mediante un cordino di nylon il sacchetto di muschio sostenuto da un galleggiante (foto: M. Cesa).

- di stazioni nella provincia di Vicenza per il rilevamento e la caratterizzazione dell'alterazione ambientale da metalli in traccia nei bacini del Brenta, del Bacchiglione, dell'Adige (fiume Chiampo) e dell'Agno-Gorzone.
- Dal 2011. Progettazione e messa in opera di due reti permanenti di biomonitoraggio dei corsi d'acqua mediante *moss bags*: la prima a tutela delle opere di ricarica delle falde acquifere nell'ambito del Progetto 'AQUOR' LIFE10 ENV/IT/380, la seconda a presidio del polo della concia di Arzignano/Valchiampo su commissione dell'Agenzia Giada (già Progetto 'GIADA' LIFE00 ENV/IT/184).
  - Nello stesso anno è stata inoltre richiesta da ARPA FVG una sperimentazione sull'uso di *moss bags* per il monitoraggio di alcuni corsi d'acqua a rischio nell'ambito dei piani comunali di vigilanza ambientale (Sacile e Porcia) o di precedenti indagini svolte per la Provincia di Pordenone (Roggia Versa, S. Vito al Tagliamento).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Si illustrano di seguito i risultati più importanti degli studi sopra elencati, evidenziando il contributo di ciascuno di essi all'elaborazione delle future linee guida per l'utilizzo di *moss bags* nel monitoraggio chimico delle acque.

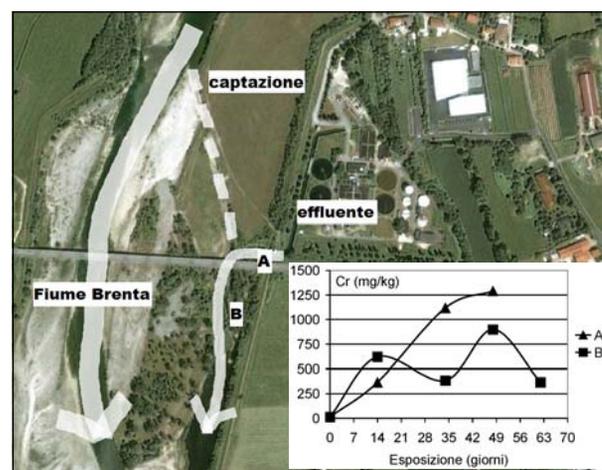
I primissimi studi pilota in territorio bassanese dimostrarono fin da subito –come già evidenziato da



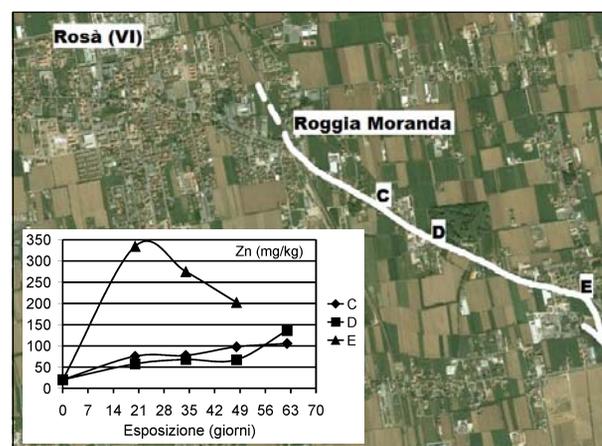
**Fig. 4.** The River Box, il sistema ad acqua fluente realizzato nel laboratorio ARPAV di Bassano del Grappa (VI) per la sperimentazione con i *moss bags* (foto: M. Cesa). Si tratta di un acquario di cristallo suddiviso in 5 vasche indipendenti (50x25x40 cm) dotate di allacciamento al rubinetto dell'acqua (potabile, non clorata) munita di pressostato regolabile (portata indicativa: 400-600 mL/min), immissione in continuo di soluzioni sperimentali mediante pompa peristaltica a 20 canali (portata nominale: 1,2 mL/min per canale) e pompa centrifuga per il mescolamento dell'acqua (portata nominale: 1300 L/h).

altri autori– che i trapianti di *P. riparioides* rilevano un'alterazione della composizione chimica dell'acqua in modo congruente con le concentrazioni misurabili nel mezzo ambiente e con le dinamiche spazio-temporali che caratterizzano il sito di studio (CESA *et al.*, 2006). Dalla semplice osservazione delle curve di accumulo, cioè l'andamento delle concentrazioni nel muschio in funzione del tempo di esposizione trascorso dal momento del trapianto, è possibile rilevare la presenza cronica, sporadica od intermittente di metalli (Fig. 5 e Fig. 6).

La figura 5 mostra l'effluente dell'impianto di depurazione di Bassano del Grappa (VI) ed il relativo bypass di piena che scaricano le proprie acque in una diramazione del Fiume Brenta appositamente realizzata per raccogliere e diluire i reflui ma soggetta a frequenti secche per problemi di quote. Nell'esperimento pilota



**Fig. 5.** Studio pilota presso l'impianto di depurazione di Bassano del Grappa (VI).



**Fig. 6.** Studio pilota lungo la Roggia Moranda, detta 'delle galvaniche', fra Rosà e Rossano Veneto (VI). Immagine modificata da CESA *et al.* (2006) per gentile concessione di Elsevier Ed.

del gennaio-febbraio 2003 sono state collocate le stazioni A e B come indicato in figura. L'accumulo nell'effluente (A), dove la concentrazione di Cr in acqua è elevata e costante ( $100 \pm 30 \mu\text{g/L}$ ), è piuttosto lineare nel tempo per poi presentare un plateau di saturazione dopo circa 50 giorni d'esposizione. L'accumulo a valle della confluenza con l'acqua pulita del Brenta (B) risente dell'effetto di diluizione intermittente esercitato dal fiume attraverso la derivazione: si notano due serie di incremento-decremento della concentrazione di Cr nel muschio al momento del prelievo.

La figura 6 mostra il tratto della Roggia Moranda, canale irriguo alimentato dalle acque del Fiume Brenta che attraversa la campagna e le aree urbane fra Rosà e Rossano Veneto (VI), interessato da una zona industriale diffusa dove operano diverse galvaniche. Il grafico presenta il caso di un evento di contaminazione intermittente da zinco (e nichel, non mostrato) rilevato nella terza stazione (E), a valle di uno scarico d'industria galvanica. Il muschio ha risposto con un marcato accumulo nei primi giorni di esposizione, seguito da un graduale ma non completo rilascio a seguito del miglioramento delle condizioni dell'acqua.

La figura 7 mostra l'elaborazione dei dati di campagna raccolti nel bacino del Piave in provincia di Belluno (CESA, 2011), espressi come fattore di contaminazione (la concentrazione finale in ciascun trapianto rapportata a quella raggiunta nelle stazioni di controllo) e sottoposti a classificazione numerica secondo l'algoritmo della minima varianza, utilizzando come misure di somiglianza la distanza euclidea per le stazioni e la distanza della corda per i metalli. I dendrogrammi evidenziano differenti *pattern* geografici di alterazione: si distinguono un gruppo formato da cromo, nichel e rame, concentrati nei muschi posti lungo il Cordevole a valle di una grossa industria con reparti galvanici, ed un altro formato da piombo, arsenico, manganese e zinco, caratterizzanti la valle del Piave e l'affluente Gallina che riceve acqua da quest'ultima attraverso condotte forzate che mettono in comunicazione i bacini artificiali.

Poiché i dati di accumulo raccolti a valle di una fonte di pressione possono essere confrontati con quelli di una stazione di controllo posta a monte, l'impiego su piccola scala dei *moss bags* fornisce nell'immediato parecchie informazioni comparabili tra loro, dunque utili ad una valutazione d'impatto ambientale anche di singoli scarichi, come mostrato in figura 8 e figura 9.

Il Rio Ragulia (Fig. 8) è un piccolo corso d'acqua di risorgiva che scorre nelle campagne fra Montebello e Lonigo (VI). Prima di immettersi nel Rio Acquetta lambisce due insediamenti industriali: una conceria ed una grossa fabbrica di accumulatori, a valle delle quali erano collocate le stazioni A e B, rispettivamente (perio-

do febbraio 2010-marzo 2011). Il fiumicello presenta un'elevata alterazione da cromo (grafico in alto) provocata dalla conceria (staz. A), mitigata poco più a valle dell'effetto diluizione esercitato dal grosso scarico della fabbrica di accumulatori (staz. B), con l'eccezione dei mesi di gennaio e febbraio 2011 in cui quest'ultima era probabilmente in fase di limitata produzione. Ciò trova riscontro osservando il grafico in basso che mostra l'andamento delle concentrazioni di

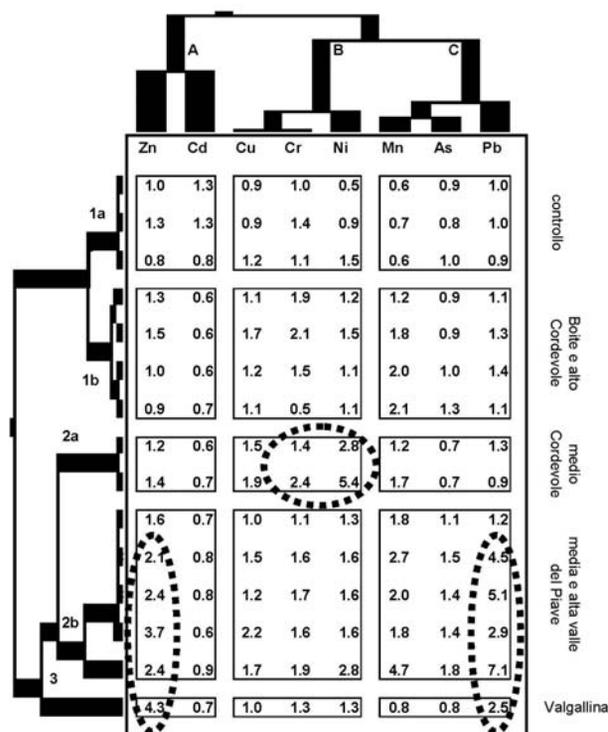


Fig. 7. Studio pilota in alcuni torrenti del bacino del Piave (BL). Immagine modificata da CESA (2011) per gentile concessione di Provincia di Belluno Dolomiti Ed.

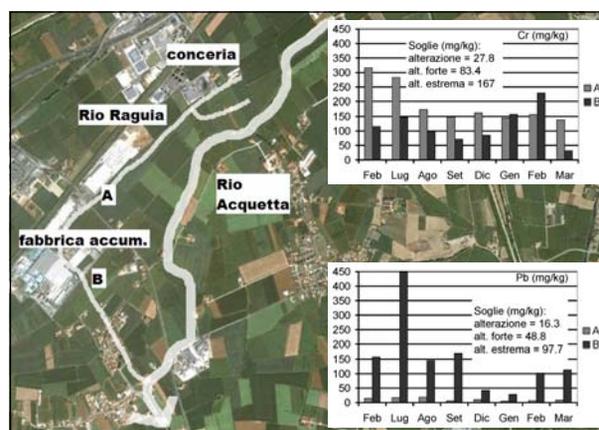


Fig. 8. Caso studio lungo il Rio Ragulia ad Almisano di Longo (VI).

piombo: l'accumulo del metallo è molto sostenuto nel 2010 proprio a valle dell'industria (si noti il picco di luglio, probabilmente in corrispondenza di un intensificarsi della produzione prima di Ferragosto), mentre presenta un significativo ridimensionamento proprio tra dicembre e gennaio 2011.

La figura 9 illustra i riscontri di un monitoraggio d'indagine svolto allo sbocco di tre condotte fognarie civili prima dello scarico nella Roggia Feriana in Comune di Caldogeno (VI). Dopo aver riscontrato valori anomali di rame e cromo nelle acque della roggia, qualche centinaio di metri più a valle del quartiere residenziale, le attenzioni si sono concentrate su tre strade in particolare, interessate da piccoli insediamenti produttivi artigianali. Le condotte fognarie che scorrono sotto ciascuna strada raccolgono acque meteoriche, reflue e di falda superficiale per scaricarle direttamente in roggia. Presso la stazione C le concentrazioni nel muschio non indicano condizioni di alterazione ambientale (secondo l'indice Palladio, descritto in seguito), mentre in D ed E si osserva un accumulo molto elevato di svariati metalli pesanti. Si ipotizza che i reflui di una galvanica situata proprio a ridosso delle due strade (poi sottoposta a visite ispettive) possano essere stati dilavati dal terreno inquinato oppure illegalmente scaricati in fognatura.

Se il semplice confronto monte/valle dei dati basta ad esprimere un giudizio sull'impatto di una fonte di pressione in termini di innalzamento delle concentrazioni biodisponibili di metallo a livello locale, per quantificare il livello di alterazione ambientale su scala di bacino occorre necessariamente disporre di valori di riferimento più rappresentativi dell'intera area di studio, in altre parole di un *background* non condizionato da locali anomalie nella composizione dell'acqua o del

substrato. Per soddisfare questa esigenza è stato recentemente elaborato l'indice 'Palladio', espresso come rapporto di concentrazione nel *moss bag* fra il caso studio ed il *background* appositamente stimato per il bacino vicentino del Fiume Bacchiglione e calibrato su 4 settimane di esposizione. Il valore dell'indice è classificabile secondo una scala cromatica a 5 livelli che determina lo stato di naturalità, incertezza o alterazione (certa, forte, estrema) per ciascuno dei 13 metalli considerati (CESA *et al.*, 2010).

Questo indice innovativo consente di classificare lo stato mensile di naturalità/alterazione da elementi in traccia di corsi d'acqua naturali ed artificiali, magari esclusi dalla rete di vigilanza istituzionale, per i quali disponiamo solitamente di sporadici dati di concentrazione degli inquinanti nella colonna d'acqua (quasi sempre inferiori al limite di quantificazione strumentale) o – ancor più raramente – di riscontri derivanti dall'applicazione di indici biologici, che però non si prestano a segnalare forme d'inquinamento latenti come quelle da sostanze inorganiche. Nel biennio 2009-2011 sono stati effettuati in provincia di Vicenza 1.158 interventi di biomonitoraggio in 103 stazioni fisse o provvisorie.

Da un anno circa queste esperienze sono state esportate nel vicino Friuli-Venezia Giulia, dove l'ARPA FVG Dipartimento di Pordenone ha scelto di utilizzare in via sperimentale i *moss bags* per il monitoraggio dei metalli in alcuni corsi d'acqua a rischio. Uno dei casi studiati riguarda la Fossa Biuba tra i comuni di Sacile (PN) e Cordignano (TV), corso d'acqua seminaturale sul quale insiste il depuratore consortile del Comune di Cordignano che in passato era autorizzato a trattare, oltre ai reflui fognari, anche rifiuti liquidi di varia tipologia e provenienza. L'impatto sul corso d'acqua e sulla zona circostante ha fatto sorgere un comitato di cittadini che ha denunciato per anni lo stato di degrado della zona. Sono state condotte da ARPA FVG diverse campagne di monitoraggio chimico, fisico e biologico delle acque e dei sedimenti a monte e a valle dell'impianto. I dati raccolti con metodi biologici (IBE) hanno evidenziato uno stato di sofferenza dell'ecosistema a valle dello scarico del depuratore, ma le analisi chimiche non hanno mai dato risposte al problema, né hanno mai confermato le affermazioni dei comitati cittadini circa la provenienza, la natura e la consistenza dei liquami trattati. Da qualche anno l'Ente provinciale di Treviso, anche su spinta della Provincia di Pordenone e dei Comuni friulani immediatamente a valle dell'impianto, ha revocato l'autorizzazione del consorzio a ricevere liquami extra-urbani.

I risultati del monitoraggio *moss bags* condotto da marzo a dicembre 2011 (Fig. 10) evidenziano che alcuni dei metalli tipicamente accumulati in presenza di attività industriali si mostrano, a valle dello scarico del

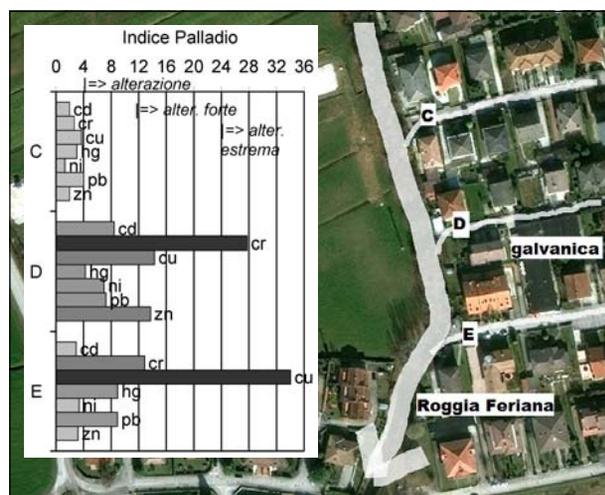
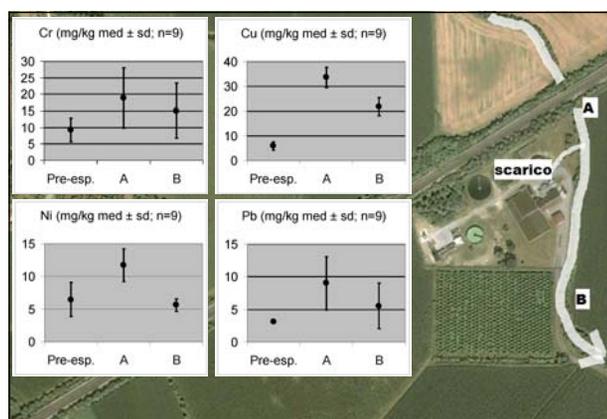


Fig. 9. Caso studio lungo la Roggia Feriana a Caldogeno (VI).

depuratore, con concentrazioni prossime o addirittura inferiori rispetto a quelle osservate a monte. Questi riscontri potrebbero rassicurare il Comune di Sacile ed i cittadini circa la corretta gestione del depuratore.

Come si può dedurre dai casi studio presentati, il monitoraggio, specialmente quello d'indagine, si svolge talvolta in acque fortemente degradate e dunque ricche di sostanze disciolte o materia organica in sospensione. Poiché i cationi dei metalli pesanti competono con quelli dei metalli alcalini e con i protoni per il legame ai siti di scambio, bisogna prestare massima attenzione in sede d'interpretazione dei dati qualora il monitoraggio sia svolto in condizioni di acidità o salinità più elevate della media caratterizzante l'area di studio per la quale viene stimato il *background*. Vi è infatti il rischio di sottostimare il livello di alterazione ambientale nel caso in cui un ridotto accumulo dell'inquinante dipenda da fattori interferenti più che dalla sua bassa concentrazione nell'acqua.

Su questo fronte è stata verificata l'esistenza di interferenze fra i diversi metalli in traccia durante la prima settimana di esposizione (CESA *et al.*, 2008). Lo svolgimento di un piano sperimentale in laboratorio, che prevedeva ben 67 prove in cui la concentrazione di 11 elementi veniva fatta variare fra due livelli con diverse combinazioni sotto le condizioni controllate dello speciale acquario, ha rivelato la presenza di interazioni non solo negative (è forte ad esempio la limitazione dell'accumulo di cromo (III) esercitata dal ferro), ma anche positive (come quella fra cromo e piombo). Di ciò è necessario tener conto in presenza di contaminazione polimetallica, come ad esempio presso scarichi industriali.



**Fig. 10.** Confronto fra le concentrazioni di alcuni metalli di origine industriale prima (Pre-esp.) e dopo l'esposizione nelle stazioni A e B lungo la Fossa Biuba, rispettivamente a monte e a valle dello scarico del depuratore di Cordignano (TV), nei 9 interventi mensili convalidati. Dati elaborati di proprietà del Comune di Sacile (PN) che ne ha gentilmente concesso la pubblicazione.

Prospettive lusinghiere sono state poi offerte dagli studi in laboratorio finalizzati alla modellizzazione dell'accumulo a breve termine del mercurio, un metallo con rilevante valenza ecotossicologica e verso il quale i trapianti di briofite presentano fattori di bioaccumulo molto elevati. Per l'assorbimento di questo metallo non si osservano interferenze significative da parte di sodio, calcio o magnesio né del pH entro il *range* di valori riscontrabili mediamente nelle acque del bacino del Bacchiglione, dunque è stato possibile ricavare una funzione lineare che descrive la concentrazione finale nel muschio in funzione di quella di  $Hg^{2+}$  (0,25-4  $\mu g/L$ ) al variare del tempo di esposizione (1-4 giorni). Il modello messo a punto, denominato S.TR.E.A.M. (CESA *et al.*, 2009), si propone come strumento predittivo della concentrazione media di mercurio in acqua proprio nei casi in cui essa ricade sotto il limite di quantificazione analitica.

Data l'estrema sensibilità del *biomonitor* verso questo metallo, il modello consentirebbe non solo di caratterizzare una microcontaminazione con dettaglio molto elevato (effetto *zoom*), ma anche di segnalare positività altrimenti latenti (sentinella ambientale). Per validare il metodo e soddisfare queste aspettative è in corso una sperimentazione in campo a sud di Treviso, dove un esteso inquinamento da mercurio, le cui origini sono ancora sconosciute, sta interessando le falde artesiane a circa 200 m di profondità, pregiudicandone la potabilità da parte di centinaia di utenze. I risultati analitici di queste prove non sono ancora disponibili.

Un'ulteriore prospettiva suggerita dai risultati della sperimentazione di laboratorio consiste nell'impiego di briofite precedentemente essiccate e confezionate in *kit* di materiale omogeneo. Test di accumulo hanno infatti dimostrato che persino dopo un'essiccazione spinta a 105 °C, che determina la morte dei talli, il muschio *P. riparioides* può accumulare diversi metalli in concentrazioni molto simili a quelle raggiunte in esemplari vivi e non trattati della stessa specie sottoposti alle medesime condizioni sperimentali (CESA *et al.*, 2011)

## CONCLUSIONI

Il monitoraggio chimico di metalli in traccia ed idrocarburi policiclici aromatici –compresi e non nell'elenco delle sostanze prioritarie– nell'ambito della Direttiva Quadro sulle Acque 2000/60/CE dovrà servirsi di metodiche alternative al campionamento puntiforme della colonna d'acqua, per i motivi ben noti e spesso rimarcati da tutti gli studiosi del settore, concorrenti:

- i limiti di quantificazione strumentale, nella cui prosimità ricadono frequentemente le concentrazioni degli inquinanti ricercati in matrice acquosa, rendendo quasi impossibile il confronto delle serie di dati nel

tempo così come nello spazio (a meno di contaminazioni palesi e croniche di un corso d'acqua);

- la scarsa rappresentatività del dato, ossia la ‘fotografia’ scattata al momento del prelievo, che sarà ripetuto verosimilmente solo dopo qualche mese ed i cui riscontri ambiscono invece a classificare il corso d'acqua per quei parametri;
- l'incerto significato del dato, inteso come espressione della capacità di un inquinante di entrare nella catena trofica e sviluppare –ad esempio– tossicità verso alcuni organismi, oppure biomagnificazione, che non può essere colto mediante la quantificazione della frazione disciolta nella colonna d'acqua.

Come ampiamente dimostrano le passate e recenti esperienze di impiego degli accumulatori biologici al monitoraggio degli inquinanti in traccia, l'utilizzo abbinato di *biomonitors* e –quando possibile– sedimenti consente di superare ampiamente i limiti del monitoraggio tradizionale sopra elencati e di perseguire con maggior efficacia ed incisività gli obiettivi individuati dalla WFD, cioè definire gli Standard di Qualità Ambientale (che gli Stati Membri possono anche basare su sedimenti e *biota* in alternativa a quelli individuati dalla WFD per la colonna d'acqua) ed effettuare un'analisi delle tendenze a lungo termine di quelle sostanze che tendono a concentrarsi nei compartimenti biologici. Nel merito della questione, le briofite ed in particolare i trapianti:

- abbattano i limiti di quantificazione strumentale fornendo dati omogenei e comparabili (pur sacrificando una quota di accuratezza del dato analitico dovuta alla variabilità intrinseca della matrice vegetale, che agisce da ‘intermediario’), che svolgerebbero un ruolo importante ad esempio nelle valutazioni d'impatto ambientale delle fonti di pressione (industriali, viarie, urbane, zootecniche) o dell'efficacia degli interventi di depurazione o risanamento di aree inquinate (depuratori, collettamenti, bonifiche);
- restituiscono informazioni integrate nel tempo (su scala settimanale, mensile o annuale) degli eventi che si susseguono nel periodo di esposizione, quindi una stima ben più rappresentativa del livello di alterazione ambientale determinato spesso da fluttuazioni intermittenziali;
- permettono di quantificare la presenza della sola forma biodisponibile degli inquinanti, che attraverso i meccanismi di assorbimento passivo ed attivo dei

produttori primari (alghe, briofite ed in alcuni casi piante vascolari) sono trasferiti ai livelli superiori della rete trofica (invertebrati, pesci, uomo), talvolta in modo amplificato, come nel caso del mercurio.

Recentemente, alcuni studiosi (DIVIS *et al.*, 2007; 2012) hanno messo a confronto la tecnica *moss bags* (trapianti di *Fontinalis antipyretica* Hedw.) e quella dei *Diffusive Gradients in Thin films* (DGT), campionatori passivi basati su un sistema a triplo strato attraverso cui i metalli diffondono dal comparto soluzione attraverso un filtro ed una membrana sino al comparto di adsorbimento, dove una speciale resina li preconcentra e stabilisce un gradiente. Attraverso la prima equazione di Fick è possibile quindi calcolare la concentrazione del metallo in soluzione attraverso quella nello strato assorbente, il tempo di esposizione e la temperatura. Il confronto ha indicato una pari efficacia e significative correlazioni nella risposta di questi due accumulatori.

In termini di costi operativi ed analitici, un intervento di biomonitoraggio non presenta oneri maggiori di un campionamento di tipo ‘tradizionale’ nella stessa stazione, se non per la preparazione del materiale: pulizia, essiccazione e mineralizzazione sono eseguibili in 48 ore per una batteria di 6/30 campioni, un impegno accettabile rispetto ai vantaggi sopra elencati.

Un'oculata strategia di integrazione della tecnica *moss bags* nella dotazione ordinaria delle metodiche impiegate dalle Autorità di vigilanza consentirebbe di attuare con maggior profitto –e dunque facoltà di prevenzione– il monitoraggio di sorveglianza, operativo e d'indagine anche nei corsi d'acqua artificiali (canali, scarichi) laddove non è possibile applicare gli indici biologici oppure le azioni di controllo non possono essere applicate in modo capillare o flessibile, come dimostrato dai casi studio presentati. Auspichiamo che si possa presto approdare ad una sintesi metodologica condivisa da tutti gli attori in gioco attraverso un lavoro di inter-calibrazione e ricerca che coinvolga il nostro Paese.

#### RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano in modo particolare la Provincia di Vicenza per il finanziamento degli studi e le Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale del Veneto e del Friuli Venezia Giulia per il supporto logistico, tecnico e scientifico.

#### BIBLIOGRAFIA

BAUDO R., BELTRAMI M., 2004. Utilizzo di bioindicatori per la valutazione del rischio potenziale dei tributari del Lago Maggiore. In: Bertoni R., 2004 (ed.), *Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma*

*quinquennale 1998-2002. Campagna 2002.* Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Sezione di Idrobiologia ed Ecologia delle Acque Interne, Verbania Pallanza: 37-68.

- CENCI R.M., 1993. Muschi acquatici quali bioindicatori della contaminazione da elementi in tracce. *Cultura e Scuola*, **126**: 234-266.
- CESA M., 2008. *Biomonitoraggio di elementi in traccia nei corsi d'acqua della Provincia di Vicenza tramite 'moss bags': aspetti metodologici e applicativi*. Tesi di Dottorato, Università di Trieste (ed.), 198 pp.
- CESA M., 2011. Muschi acquatici come monitor della contaminazione da elementi in traccia nei corsi d'acqua subalpini della provincia di Belluno. *Frammenti*, **3**: 31-46.
- CESA M., BIZZOTTO A., FERRARO C., FUMAGALLI F., NIMIS P.L., 2006. Assessment of intermittent trace element pollution by moss bags. *Environ. Pollut.*, **144** (3): 886-892.
- CESA M., CAMPISI, BIZZOTTO A., FERRARO C., FUMAGALLI F., NIMIS P.L., 2008. A factor influence study of trace element bioaccumulation in moss bags. *Arch. Environ. Con. Tox.*, **55** (3): 386-396.
- CESA M., BIZZOTTO A., FERRARO C., FUMAGALLI F., NIMIS P.L., 2009. S.T.R.E.A.M., System for Trace Element Assessment with Mosses. An equation to estimate mercury concentration in freshwaters. *Chemosphere*, **75**: 858-865.
- CESA M., BIZZOTTO A., FERRARO C., FUMAGALLI F., NIMIS P.L., 2010. Palladio, an index of trace element alteration for the River Bacchiglione based on *Rhynchostegium riparioides* moss bags. *Water Air Soil Poll.*, **208**: 59-77.
- CESA M., BIZZOTTO A., FERRARO C., FUMAGALLI F., NIMIS P.L., 2011. Oven-dried mosses as tools of trace element detection in polluted waters: a preliminary study under laboratory conditions. *Plant Biosystems*, **145** (4): 832-840.
- DIVIS P., DOCEKALOVA H., BRULIK L., PAVLIS M., HEKERA P., 2007. Use of the diffusive gradients in thin films technique to evaluate (bio)available trace metal concentrations in river water. *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**: 2239-2244.
- DIVIS P., MACHAT J., SZKANDERA R., DOCEKALOVA H., 2012. In situ measurements of bioavailable metal concentrations at the downstream on the Morava River using transplanted aquatic mosses and DGT technique. *Int. J. Environ. Res.*, **6** (1): 87-94.
- EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2000. Directive 2000/60/EC establishing a framework for the Community action in the field of water policy.
- EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2008. Directive 2008/105/EC on Environmental Quality Standards.
- EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL, 2010. Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC): Guidance Document No. 25 Guidance on chemical monitoring of sediment and biota under the Water Framework Directive. Office for Official Publications in the European Communities (ed), Luxembourg, 74 pp.
- EVERARD M., DENNY P., 1985. Flux of lead in submerged plants and its relevance to a freshwater system. *Aquat. Bot.*, **21**: 181-193.
- GOODMAN G.T., SMITH S., INSKIP M.J., PARRY G.D.R., 1977. Trace metals as pollutants: monitoring aerial burdens. In: Hutchinson T.C. *et al.* (eds.), *Proceedings of the First International Conference on Heavy Metals in the Environment*. Toronto, Ontario: 623-642.
- GREENWOOD, R., ROIG B., 2006. SWIFT-WFD, Screening methods for Water data InFormaTion in support of the implementation of the Water Framework Directive. Deliverable 5: Directory of 'Screening tools' - A toolbox of existing and emerging methods for chemical and ecological status monitoring under the WFD. Roig B., Allan I.J., Greenwood R. (eds.), Armines, France / Portsmouth, United Kingdom, 238 pp.
- KELLY M.G., GIRTON C., WHITTON B.A., 1987. Use of moss-bags for monitoring heavy metals in rivers. *Wat. Res.*, **21** (11): 1429-1435.
- MERSCH J., CLAVERI B., 1998. Les bryophytes aquatiques comme outil de surveillance de la contamination des eaux courantes par les micropolluants métalliques: modalités d'interprétation des données. Étude Inter-Agences N° 55. Agences de l'Eau, France (ed.), 145 pp.
- MOUVET C., 1984. Accumulation of chromium and copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. transplanted into a metal contaminated river. *Envir. Technol. Lett.*, **5**: 541-548.
- MOUVET C., 1986. *Métaux lourds et Mousses aquatiques, synthèse méthodologique*. Rapport de contracte. Agence de l'Eau Rhin-Meuse, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, France (eds.), 104 pp.
- NARDINI A., SANSONI G., SCHIPANI I., CONTE G., GOLTARA G., BOZ B., BIZZI S., POLAZZO A., MONACI M., 2008. Problemi e limiti della Direttiva Quadro sulle Acque. Una proposta integrativa: FLEA (FLuvial Ecosystem Assessment). *Biologia Ambientale*, **22** (2): 3-18.