

Valutazione del rischio chimico

CdL Magistrale Interateneo in
Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio
Università di Udine e Università di Trieste

CdL Magistrale in Chimica
Università di Trieste

Docente
Pierluigi Barbieri

SSD Chimica dell'ambiente e dei beni culturali, CHIM/12

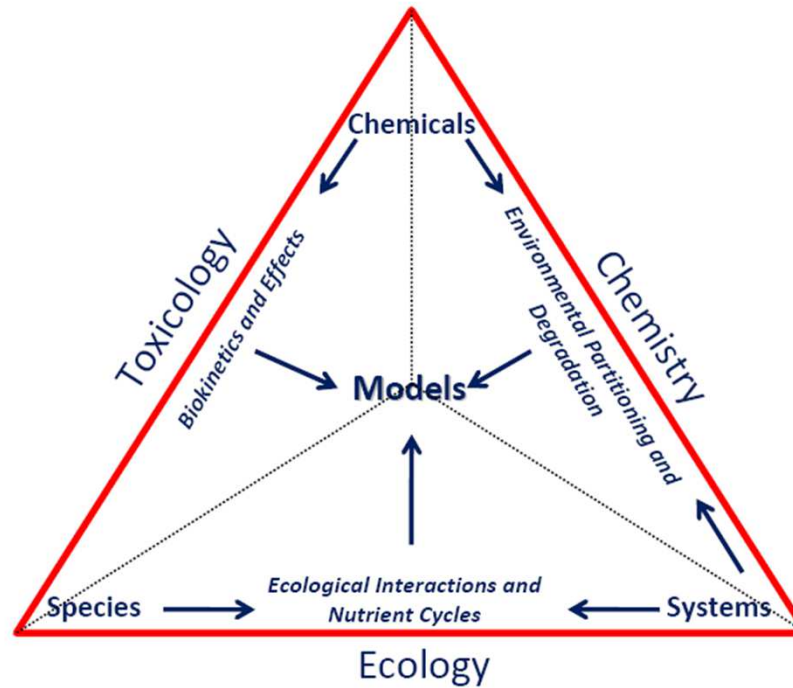
Tossicologia ambientale

Identificazione e quantificazione dei ***danni sui sistemi biologici (diversi dalla specie umana)*** a diverso livello di organizzazione, prodotto dall'esposizione ai contaminanti ambientali

Ecotossicologia

Studio del destino e degli effetti dei contaminanti nell'ambiente

Ecotoxicologia: scienza delle tre S



Redrawn from Figure 7.1 of van Leeuwen and Vermeire (2007)

Table 6.1. "Disciplines" of ecotoxicology and some of their research topics

Chemistry	Toxicology	Ecology	Mathematics
Exposure assessment	effects assessment	community structure	environmental fate models
Transport	modes of toxic action	community functions	pharmacokinetic models
Partitioning	bioaccumulation	population dynamics	LC50 and NOEC statistics
Transformation	biotransformation	nutrient/energy cycling	species-species extrapolation
SARs/QSARs	extrapolation	various interactions	population and ecosystem models

TOSSICOLOGIA ACQUATICA

Gli studi sugli organismi acquatici sono «di prima generazione», i più diffusi, i più consolidati

Misure basate su *effetti a breve termine*, o saggi acuti: da pochi minuti (batteri luminescenti) a 24 o 96 h (pesci, crostacei).

Valutazioni: effetti prodotti da immissioni in corpi idrici, più o meno accidentali, di sostanze diverse (di pesticidi, di reflui industriali o domestici)

Specie animali: pesci, invertebrati / **vegetali:** microalghe

Scopo: rilevare la concentrazione o la *dose di una sostanza o di una miscela, di un agente fisico* (torbidità, livello termico, radiazioni ionizzanti) *che hanno effetto avverso misurabile* per gli organismi considerati

Motivazioni dell'uso di saggi di tossicità con organismi acquatici

a) Sollecitazioni di carattere legale –

controllo della qualità delle acque superficiali ai fini della tutela della fauna ittica e della pesca

b) Formulazione di criteri di qualità:

saggi *preventivi all'immissione sul mercato di nuovi prodotti chimici*. Bersagli biologici – saggi con pesci e crostacei

c) Tutela ambientale:

giudizi di *accettabilità di effluenti* di cui non è nota la composizione

Specie test

ACQUA DOLCE

Pesci

Salmonidi Oncorhynchus mykiss, Salvelinus fontinalis

Ciprinidi Pimephales promelas

Ictaluridi Ictalurus punctatus

Centrarchidi Lepomis macrochirus

Invertebrati

Cladoceri Daphnia magna, D.pulicaria, D.pulex

Anfipodi Gammarus lacustris, G.fasciatus, G.pseudolimnaeus

Decapodi Orconects sp., Cambarus sp.

Ditteri Chironomus sp.

Gasteropodi Physa integra

ACQUA DI MARE

Pesci

Ciprinodontidi Cyprinodon variegatus, Fundulus heteroclitus, F.similis

Aterinidi Menidia sp.

Invertebrati

Copepodi Acartia tonsa, A.clausi

Decapodi Peneus setiferus, P.duorarum, Palaemonetes pugio, P.vulgaris, Crangon septemspinosa,
Mysidiopsis bahia, Callinectes sapidus, Uca sp.

Lamellibranchi Crassostrea virginica, C.gigas

Policheti Capitella capitata, Neanthes sp.

Introduction: experimental

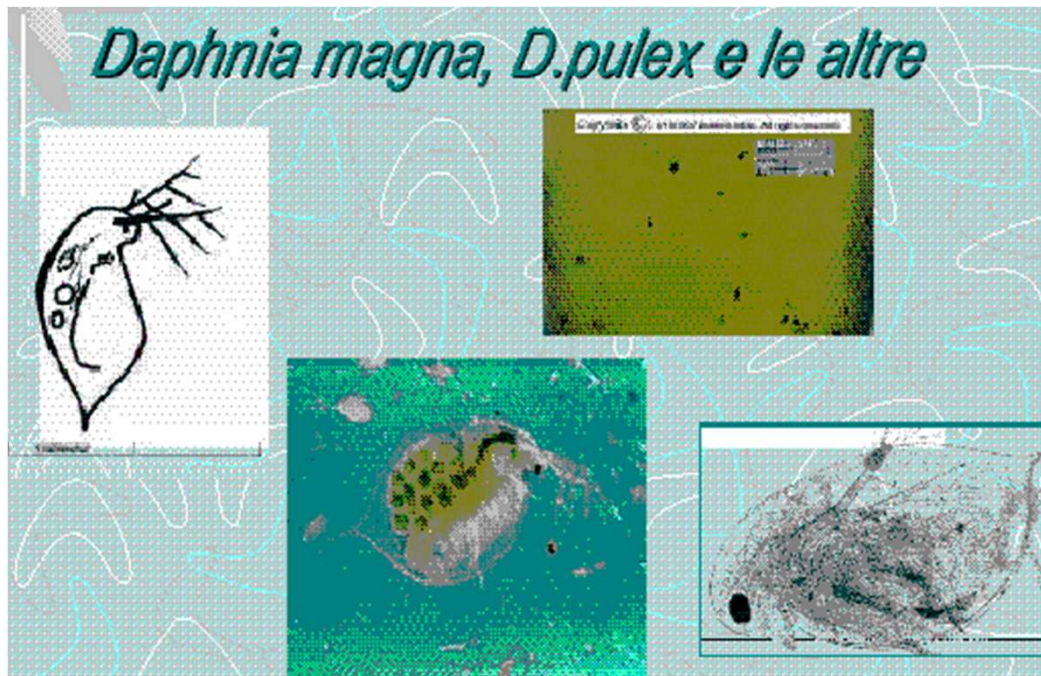
The toxicity towards **Fathead Minnow (*Pimephales promelas*)** – a freshwater fish from **north America** - has been tested [1] for

- 562 compounds representing a cross section of industrial organic chemicals [2], and
- Toxicity has been reported as median lethal concentrations LC50 (mmol/l) after 96 hours exposure

1. C.L. Russom, S.P. Brandbury, S.J. Broderius, D.E. Hammermeister, D.A. Drummond, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16 (1997) 948-967.

2. G.D. Veith, B. Greenwood, R.S. Hunter, G.I. Niemi, R. Regal, *Chemosphere*, 17 (1988) 1617-1630 .





Daphnia Müller. 1785 è un genere di piccoli crostacei cladoceri planctonici. Sono noti comunemente col nome di pulci d'acqua, a causa del loro stile di nuoto. Sono lunghi da 0,2 a 5 mm e vivono all'interno di laghi, stagni, ruscelli e fiumi.

Effetto rilevato: morte, a volte si sceglie l'immobilizzazione (dafnie). Per gli organismi monocellulari si sceglie la diminuzione della crescita (alghe) o la compromissione della luminescenza (batteri)

Somministrazione: Nei saggi con organismi acquatici si contamina l'acqua (*effective concentration* – concentrazione efficace).

Tre sono i possibili tipi di approccio:

- **test statici.** Si allestiscono una serie di soluzioni con concentrazioni diverse senza ulteriori aggiunte di contaminante.

Sono impiegati per i saggi di breve durata

- **test con rinnovo periodico della soluzione:** si procede come con i test statici, ma dopo 24 h si procede ad una sostituzione dell'acqua a cui viene aggiunto di nuovo il tossico per ripristinare la concentrazione.

- **test a flusso continuo:** la soluzione test viene mantenuta in stato stazionario mediante un sistema di alimentazione automatico.

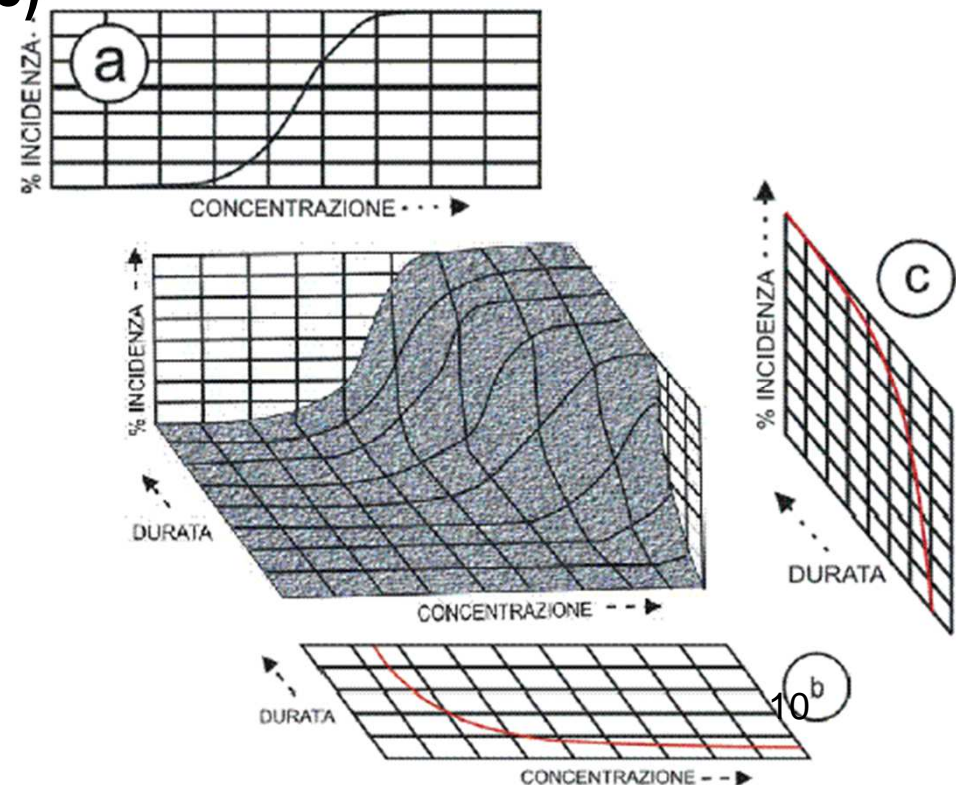
Sono i più utilizzati per gli esperimenti a lungo termine

Si suppone che la sostanza impiegata nel test sia la causa dell'effetto osservato.

Nel corso del test deve essere verificato se a carico di tale sostanza si verificano trasformazioni chimiche **(b)**. Si suppone che la risposta osservata e la sua intensità siano in funzione della concentrazione della sostanza in esame nell'acqua in cui vengono posti gli organismi-test **(a)**.

Livelli di esposizione non efficaci a breve termine possono produrre danni con tempi di trattamento più lunghi. **(c)**

in genere, si tiene costante il tempo ma si varia la concentrazione.



Produrre uno o più effetti sugli organismi tenuti in condizioni controllate

Esperimenti con più repliche:

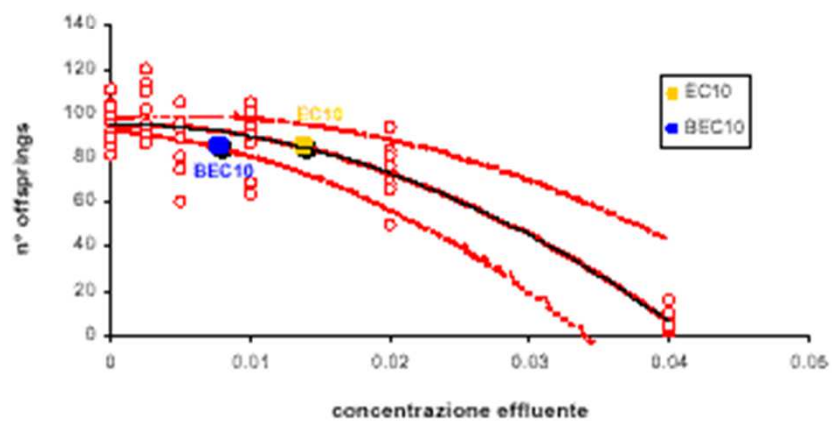
- Variazione della concentrazione della sostanza in esame
- Scelta dei tempi
- Lettura dei danni prodotti allo scadere dei tempi prefissati
- Curva di tossicità
- EC 50 (*Median effective concentration – Concentrazione efficace mediana*)

- Quando l'effetto è la morte allora $EC\ 50 = LC\ 50$ (*Median lethal concentration – Concentrazione letale mediana*)
- Mediana indica che la risposta biologica è pari al 50%; alla LC 50 ci si aspetta la morte del 50% dei trattati.

– Generalmente si prendono come riferimento dei parametri fisiologici e/o riproduttivi (es. **vel. di nuoto, tasso respiratorio, parametri indicativi del metabolismo**) dell'organismo utilizzato nei test e se ne confrontano statisticamente i valori rispetto ad un gruppo di controllo.

Definizione del NOEC

- Ad esempio può essere assunto come endpoint una diminuzione del 10% del tasso riproduttivo



PREGI

Il saggio tossicologico diviene estremamente *utile ai fini della valutazione delle interazioni tra le componenti tossiche e le caratteristiche naturali* del corpo idrico ricevente.

LIMITAZIONI

L'approccio tradizionale basato sull'utilizzazione di *una singola specie può essere riduttivo* rispetto alla complessità degli ecosistemi

L'utilizzazione di un *numero maggiore di specie lascia comunque irrisolti i problemi di incertezza* rispetto alla capacità di tolleranza delle innumerevoli specie (micro e macrospiche) di un ecosistema acquatico

I saggi a *breve termine*, prevalentemente utilizzati, non permettono di prevedere quali siano invece gli effetti derivanti da esposizione a lungo termine

Soglia di tossicità. Dose o concentrazione alla quale o al di sotto della quale non si manifesta un danno misurabile dopo un determinato tempo prestabilito. Tale concetto non si applica per quelle sostanze o agenti fisici (radiazioni ionizzanti) che agiscono sul DNA, per le sostanze mutagene, per quelle che producono un'inibizione enzimatica e dei meccanismi di trasporto, per quelle cancerogene.

No-observed-effect level. Max livello di esposizione ancora non efficace

Lowest-observed-effect level. Livello più basso tra quelli efficaci

Per definizione la soglia di tossicità si colloca tra NOEL e LOEL

No-observed-adverse-effect level. Concentrazioni che non producono effetti necessariamente dannosi (*adverse effect*) e pertanto anche se presenti non vengono considerati ai fini della valutazione della soglia di tossicità.

La conoscenza del NOEL **per gli organismi più sensibili di una comunità** consente di ricavare criteri di protezione accettabili. La difficoltà è rappresentata dalla possibilità di includere le specie più sensibili tra gli organismi con cui si effettuano i test di tossicità.

Individuazione *a priori* dei **percorsi critici** degli inquinanti (quelli in cui si prevedono le contaminazioni maggiori) e dei **gruppi critici** (specie o insiemi di individui più esposti alla contaminazione).

Si controllano gruppi critici e/o i percorsi critici, e si assume che se per essi sono verificate condizioni accettabili, allora anche altre specie, individui, siti si trovino in condizioni di sicurezza.

Possibili forme di distorsione delle prove di tossicità:

- l'impiego di un basso numero di animali può portare a valutazioni di tipo ottimistico.
- l'insorgenza di effetti a basse concentrazioni può confondersi con le risposte dei controlli
- il trasferimento dei risultati ricavati dal campione sperimentale all'intera popolazione (inferenza statistica).
- l'estrapolazione dei risultati conseguiti con una specie ad altre

FATTORI DI SICUREZZA

Ai NOEL sperimentali si applicano *fattori di incertezza o fattori di sicurezza* (1/5, 1/10, 1/100 del suo valore)

Spesso si effettuano test tossicologici su organismi posti a diversi livelli della catena trofica.

Ad esempio:

1 test su batteri (es. *Vibrio Fisheri* inibizione luminescenza)

1 test su alghe (es. *Dunaliella Tertiolecta* inibizione crescita)

1 test su invertebrati (es. *Daphnia Magna* inibizione mobilità)

1 test su pesci (es. *Pimephales promelas* LD₅₀)

SEDIMENTI

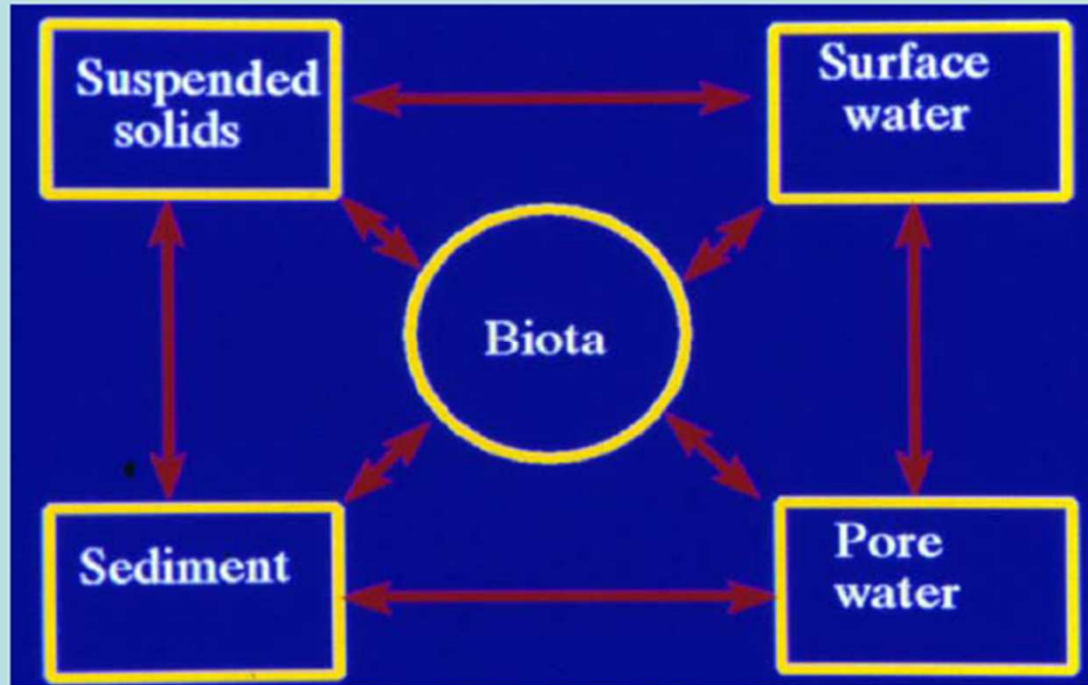


Fig. 7.26. Compartments and their interrelationships

EQUILIBRIUM-PARTITIONING

(Van der Kooy et al., 1990)

CONCENTRATIONS IN WATER AND SOLIDS ARE RELATED THROUGH A PARTITION COEFFICIENT:

$$K_{sw} = \frac{C_s}{C_w}$$

WHERE:

K_{sw} = SOLIDS-WATER PARTITION COEFFICIENT (L/KG)

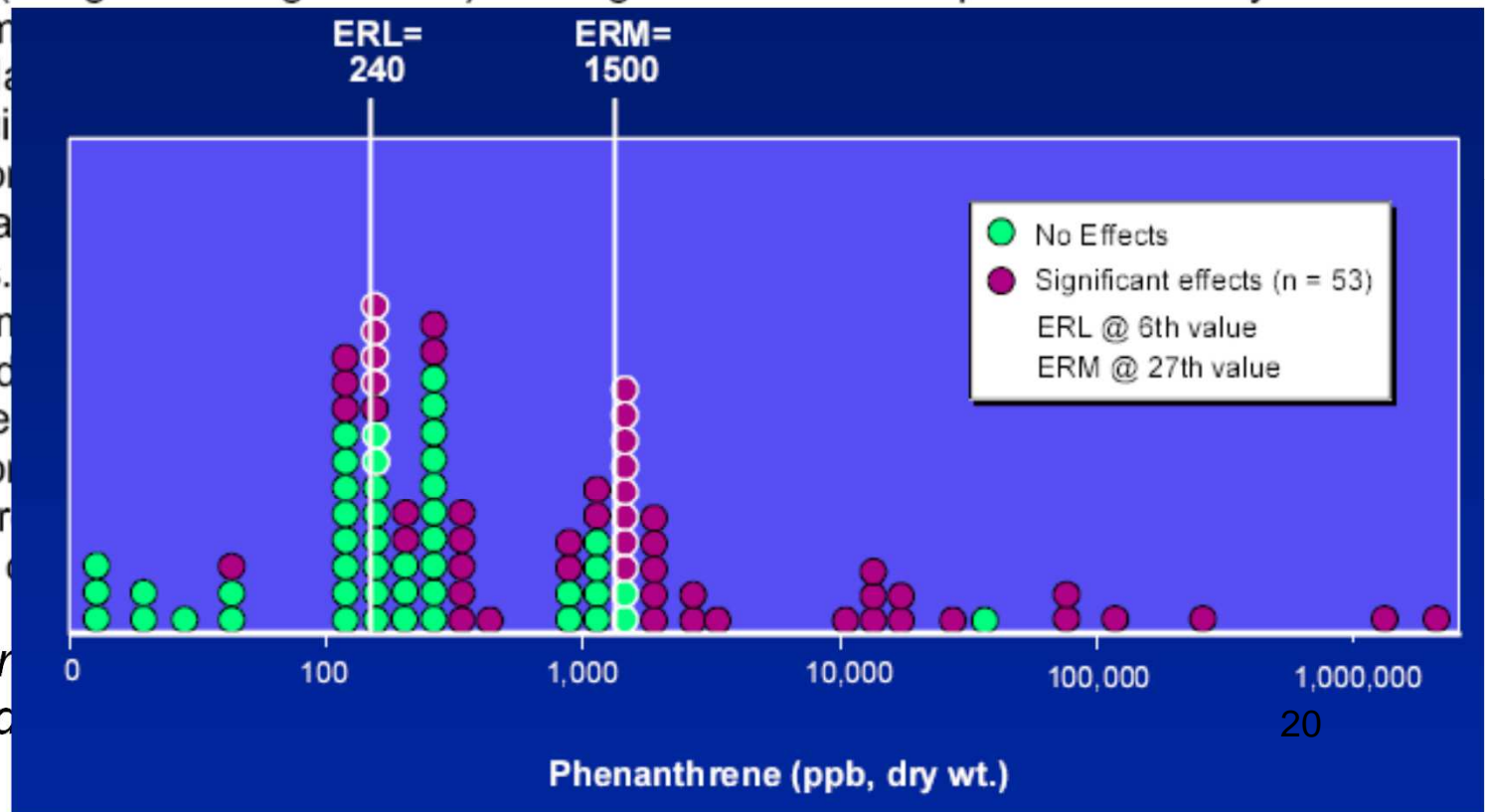
C_s = CONCENTRATION IN THE SOLID PHASE (MG/KG)

C_w = CONCENTRATION IN THE WATER PHASE (MG/L)

Sediment Quality Guidelines developed for the National Status and Trends Program

Because guidelines were needed that were based on measures of biological effects associated with toxicants, data were compiled that included both chemical measures and biological effects.

SQGs were derived initially using a database compiled from studies performed in both saltwater and freshwater and published in NOAA Technical Memorandum NOS OMA 52 (Long and Morgan 1990). A larger database compiled from many studies performed since 1990 was used to revise and update the SQGs and/or of margin of safety in 1995, and a current database. Data on chemical concentrations and biological effects were identified. From this database, the 6th percentile (median) and the 27th percentile (median) were indicative of concentrations that were representative of sites with no effects and sites with significant effects, respectively.



<http://www.water.epa.gov/programs/tmdl/pubs/p2796.pdf>

Table 1. ERL and ERM guideline values for trace metals (ppm, dry wt.) and percent incidence of biological effects in concentration ranges defined by the two values (from Long et al., 1995). ERL= Effects Range-Low; ERM= Effects Range-Median.

Chemical	Guidelines		Percent incidence of effects*		
	ERL	ERM	<ERL	ERL - ERM	>ERM
Arsenic	8.2	70	5.0	11.1	63.0
Cadmium	1.2	9.6	6.6	36.6	65.7
Chromium	81	370	2.9	21.1	95.0
Copper	34	270	9.4	29.1	83.7
Lead	46.7	218	8.0	35.8	90.2
Mercury	0.15	0.71	8.3	23.5	42.3
Nickel	20.9	51.6	1.9	16.7	16.9
Silver	1.0	3.7	2.6	32.3	92.8
Zinc	150	410	6.1	47.0	69.8

*Number of data entries within each concentration range in which biological effects were observed divided by the total number of entries within each range.

Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (ppb)

Acenaphthene	150	650	4.3	150	Low/low
Anthracene	85	960	11.3	300	Low/moderate
Benzo(a)anthracene	230	1600	7	550	Low/moderate
Benzo(a)pyrene	400	2500	6.2	700	Moderate/moderate
Benzo(e)pyrene	NA	NA	NA	NSD	NA
Biphenyl	NA	NA	NA	NSD	NA
Chrysene	400	2800	7	900	Moderate/moderate
Dibenz(a,h)anthracene	60	260	4.3	100	Moderate/moderate
2,6-dimethylnaphthylene	NA	NA	NA	NSD	NA
Fluoranthene	600	3600	6	1000	High/high
Fluorene	35	640	18.3	350	Low/low
1-methylnaphthalene	NA	NA	NA	NSD	NA
2-methylnaphthalene	65	670	10.3	300	Low/moderate
1-methylphenanthrene	NA	NA	NA	NSD	NA
Naphthalene	340	2100	6.2	500	Moderate/high
Perylene	NA	NA	NA	NSD	NA
Phenanthrene	225	1380	6.1	260	Moderate/moderate
Pyrene	350	2200	6.3	1000	Moderate/moderate
2,3,5-trimethylnaphthalene	NA	NA	NA	NSD	NA
Total PAH	4000	35000	8.8	22000	Low/low

* NSD = not sufficient data

** NA = not available

http://docs.lib.noaa.gov/noaa_documents/NOS/OMA/TM_NOS_OMA/nos_oma_52.pdf

Preliminary Results From a Sediment Quality Triad Study in the Gulf of Trieste: the Choice of the Reference Site.

P. Barbieri¹, G. Adami¹, E. Reisenhofer¹,

P. Busetto², S. Predonzani³, F. Aleffi³, F. Tamberlich³, C. Devittor³

¹Dipartimento di Scienze Chimiche, Università degli Studi di Trieste, Via Giorgieri 1, 34127 Trieste

²Provincia di Trieste, U.O. Ecologia e Promozione Ambientale, Via Sant'Anastasio 3, 34100 Trieste

³Laboratorio di Biologia Marina, via Auguste Piccard 54, Santa Croce, 34010 Trieste

Title anticipated in the Book of Abstracts:

“Sediment Quality Triads and the Integration of Information from Analytical Chemistry with Ecological Community Structure and Toxicological Data in Risk Assessment of Coastal Sites.”

email: barbierp@units.it

Environmental quality criteria

Aiming at the classification of ecosystems on the base of their environmental degradation, *environmental quality criteria* (numerical values) are required in order to determine if a zone is degraded or not.

Questions arise when the environmental quality criteria is based only on the assessment of chemical contamination of a certain environmental compartment since *chemical contamination does not necessarily imply effects on biological communities*. Moreover effects on biological communities are related to several factors, conditioning also the concentrations of contaminants, as – in aquatic systems – hydrodynamics, grain size of sediments, species being considered, etcetera.

Sediments

Within aquatic ecosystems, sediments achieve importance in consideration of:

- Accumulation of contaminants (low solubility – affinity for particulate matter

- High residence time of c. (difficult biodegradation in reducing medium) → benthic organisms exposed to high levels of c.

- Sediment bound contaminants can be released to water if environmental conditions do vary.

Environmental agencies - as U.S.E.P.A. - thus consider *sediments as key environmental components within aquatic compartments*.

Criteria classically determined for environmental quality characterisation derive from approaches listed in Table 1, where examples and main limitations of each are reported.

Table1

APPROACH	EXAMPLE OF MEASUREMENTS	LIMITATIONS
Sediment chemical analyses	<ul style="list-style-type: none"> - Individual contaminants - Complementary analyses (TOC, surface of grains etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Assumes that all chemical contaminants are measured - Contamination do not inform about biological effects
Organism tissue chemical analyses	<ul style="list-style-type: none"> - Individual contaminants - Complementary analyses (biometrical etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Idem</i> as above - Organisms mobility
Sediment toxicity tests	<ul style="list-style-type: none"> - Survival - Sublethal effects (malformation, burial) 	<ul style="list-style-type: none"> - Conditions different from reality; - Assumes that considered tests cover all responses - Toxicity is not linked causally to specific toxic agent
Histopathological alterations	<ul style="list-style-type: none"> - Individual pathological conditions - Complementary analyses (biometrical etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Organisms mobility - Disease is not linked causally to specific chemical agent
Structure of the Benthic community	<ul style="list-style-type: none"> - Taxa (Mollusca, Polichaeta etc.) - Biomass; indices of biodiversity 	<ul style="list-style-type: none"> - Difficult to discriminate between natural and anthropogenic effects

Each single approach presents pros and cons; consequently two or more of the cited type of measurements can be applied on samples acquired simultaneously thus allowing an integrated assessment.

The case study

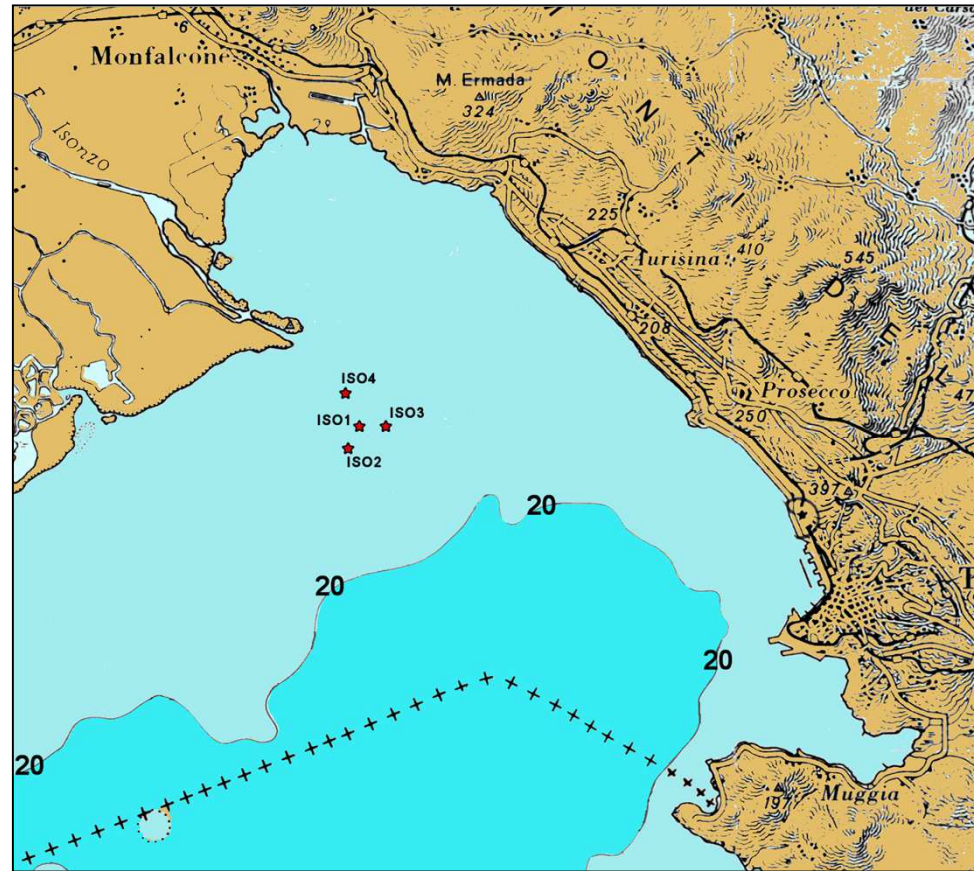
The growing degree of connection of urban and industrial sites of the Plain of the Isonzo River to the local sewage treatment plants and the high environmental pressure on the coast line of the Gulf of Trieste have brought to *plan the building of a new off-shore diffusor* that will be completed before the end of 2002.

Other diffusors within the same Gulf were demonstrated to bring metals to offshore sediments, thus extending the radius of impact of human activities, beside lowering the environmental strain on the coastline [].

An *integrated environmental assessment* has been performed before the building and exercise of the offshore dispersion device *at four sites located nearby* it -locations are ISO1, ISO2, ISO3 and ISO4 in Figure 1 - so to provide a reference for a future evaluation the possible impact of treated waters on benthic life. *Measurements describing chemical contamination of sediments, ecotoxicity tests with sediment elutriates, and quali-quantitative assessment of macrobenthic population have been produced.*

	Long.	Lat.
ISO1	13°35'.43	45°42'.08
ISO2	13°35'.17	45°41'.86
ISO3	13°35'.91	45°42'.13
ISO4	13°35'.33	45°42'.73

	Depth (m)	Sand %	Silt %	Clay %
ISO1	13.7	0.00	33.47	63.53
ISO2	13.7	0.00	33.16	66.84
ISO3	14.6	0.00	37.05	62.95
ISO4	11.5	0.00	42.82	57.18



Experimental methods:

Samples for chemical and toxicological analyses have been collected by a Kc HAPS bottom corer with a sample area of 127 cm²; for the analysis of benthos three samples have been collected with a 0.1 m² van Veen grab.

Chemical analyses: metals (Cd, Ni, Pb, Ag, Cu, Cr, Fe, Zn, As and Hg) have been released from sediments and analysed according to I.R.S.A. methodologies []. The spectrometer was a PE-5100PC.

PAHs (Phenanthrene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo(a)anthracene, Crysene, Benzo(b)fluoranthene, Benzo(a)pyrene), PCBs, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD, 4,4'-DDT have been extracted again according to I.R.S.A. methods []; PCBs have been quantified as PCB1254 mixture. The separation were conducted by gas chromatography, with ECD for chlorinated compounds and MS for PAHs. PE-AutoSystem XL and HP-6980/5973 instruments were used.

Toxicological analyses on sediment elutriates considered here are the Microtox assay® [] and the assay on the alga *Dunaliella tertiolecta* [].

In situ alteration of the benthic community has been assessed by the *analysis of macrobenthos*. Macrobenthic organisms (Mollusca, Polychaeta, Crustacea, Echinodermata) have been determined to species level; furthermore abundance values of specimens were computed. From these data diversity indices (Shannon, Pielou) have been calculated.

Chemistry, Toxicity and Infauna Data from the four different sites can be combined into *the Sediment Quality Triad (SQT)* [] in order to determine the degree of degradation at each site. The normalization of data from the sampling sites towards those of one of them that is considered as an unpolluted reference makes the comparison relatively easy. For each site and for each parameter determined, the datum is converted into a *Ratio To Reference (RTR)* value:

$$(RTR_i)_k = (v_i)_k / (v_i)_0 \quad \text{where:}$$

$(RTR_i)_k$ is the RTR for parameter i-me at site k-me;

$(v_i)_k$ is the datum determined for parameter i-me at site k-me;

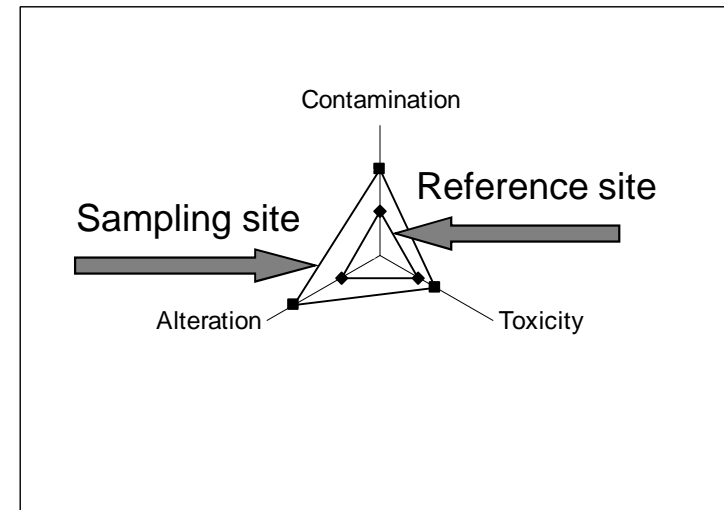
$(v_i)_0$ is the datum determined for parameter i-me at site chosen as reference.

This is straightforward for chemical parameters, while toxicological and infaunal parameters have been transformed so to show increase with biological damage. For instance, in a Microtox® test the result (endpoint) is expressed as EC20, the percentage of interstitial water sample causing a 20% inhibition of bioluminescence of the population of *Vibrio Fisheri*; this means that EC20 is low when sediment is highly polluted; the inverse (EC20⁻¹) is thus considered.

$(RTR_i)_k$ for all i parameters describing chemical contamination are averaged, thus providing a single *Index of Contamination for each site, IC* ; the same is done for parameters describing sediment toxicity and *in situ* alteration; The result is a *Index of Toxicity (IT)* and a *Index of Alteration (IA)* for each site.

The three indices for each sampling site can be displayed in graphical form as three segments (for Contamination, Toxicity and Alteration) departing from a central point, where the lengths of each segment equals the averaged values of the RTR for the three group of determined parameters.

Two triangles are identified; the inner one represents the reference site, the outer is one of the site for whom the environmental quality must be assessed. The difference between the areas of the outer and inner triangles can be retained as a synthetic ***index of degradation*** with respect of the reference site []. The difference between the sums of the three indices IC, IT and IA. for the site under investigation and the reference is a measure of degradation as well.



Del Valls et al. [1998] proposed a modified normalization procedure, where:

$$(RTM_i)_k = (RTR_i)_k / RTRmax_i$$

$(RTM_i)_k$ is the new normalized value for parameter i-me at site k-me;

$(RTR_i)_k$ is the RTR for parameter i-me at site k-me;

$RTRmax_i$ is the maximum value of RTR for parameter i-me;

The new indices of Contamination, Toxicity and Alteration for site k are computed as:

$$NIC_k = (\sum RTM_{ic})_k / (\sum RTM_{ic})_0;$$

ic = index running between chemical parameters;

$$NIT_k = (\sum RTM_{it})_k / (\sum RTM_{it})_0;$$

it = index running between toxicological parameters;

$$NIA_k = (\sum RTM_{ia})_k / (\sum RTM_{ia})_0;$$

ia = index running between alteration parameters

It is clear how results depend on the choice of the reference site, but no formal procedure has been proposed to select it, at the best of our knowledge.

The problem is not trivial, since in practical cases it is frequent to choose the reference site between stations which are not “completely unpolluted”; the quest for a “truly unpolluted” reference could lead to select a station being too heterogeneous from others.

A formal procedure for selecting the reference site is as follows:

1) for each possible reference site i

compute IC, IT, IA (or NIC, NIT, NIA) and index of degradation P_{ij} (based on areas of triangle or on sums of indices) for each sampling site j

2) the selected reference site \underline{j} is the one for which

a) $P_{\underline{j}} = \min P_{ij}$;

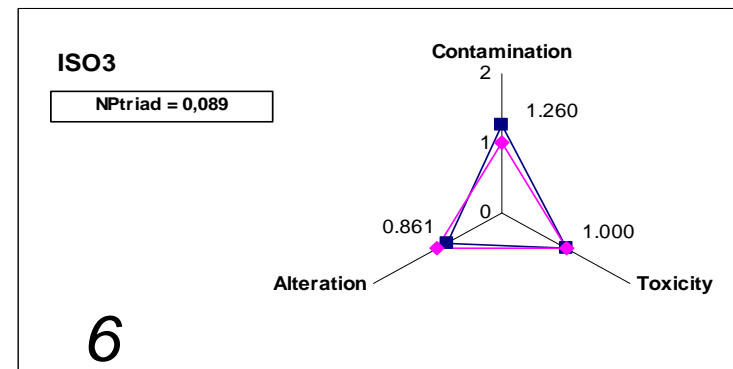
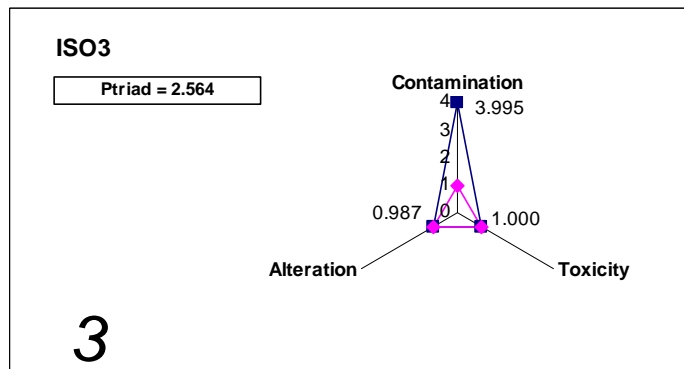
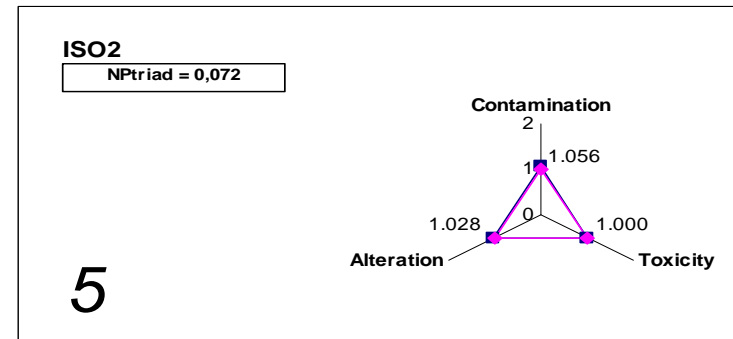
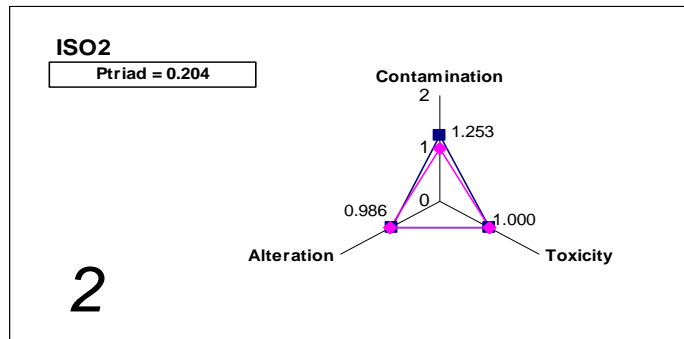
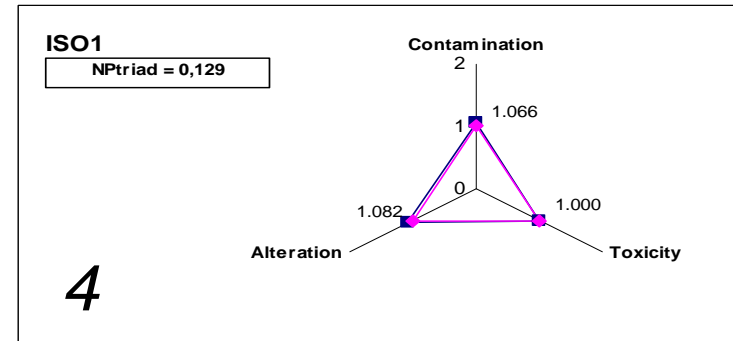
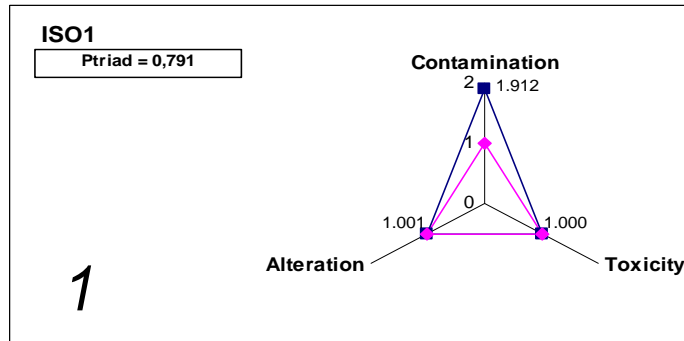
b) $P_{ij} \geq 0$.

The results of the procedure described above for our data, using RTR, the areas for defining the index of degradation, are as follows:

Rif.	ISO1				ISO2				ISO3				ISO4			
	ISO1	ISO2	ISO3	ISO4	ISO1	ISO2	ISO3	ISO4	ISO1	ISO2	ISO3	ISO4	ISO1	ISO2	ISO3	ISO4
IC	1.000	0.989	1.760	0.908	1.193	1.000	2.423	0.903	1.193	1.000	2.423	0.903	1.912	1.253	3.995	1.000
IT	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
IA	1.000	0.992	0.791	0.939	1.016	1.000	1.001	1.015	1.016	1.000	1.001	1.015	1.001	0.986	0.987	1.000
P_{triad}	0.000	-0.017	0.407	<u>-0.131</u>	0.181	0.000	1.233	<u>-0.073</u>	0.181	0.000	1.233	<u>-0.073</u>	<i>0.791</i>	<i>0.204</i>	<i>2.564</i>	<u>0.000</u>

Underlined numbers stand for condition (a), Italics stand for condition (b); from the table above, *ISO4 is selected as reference site.*

Sediment Quality Triad Plots



Plots 1, 2, 3 report results derived after RTR normalization; plots 4, 5, 6 report results derived after RTM normalization; Degradation Indices (P or NP) are differences between areas of triangles defined for the sampling sites ISO1, ISO2, ISO3, and the reference site ISO4.

Conclusions

Examining the plots it can be seen how the three sites are very similar to the reference station; some differences can be appreciated with respect to the chemical contamination, but they seem not to be severe enough to alter in a significant way population of macrobenthos, and neither to determine a significant toxicity of sediments. This scenario will be compared with SQT analysis obtained when the wastewater diffuser will be operative.

From a methodological point of view, the SQT approach present an interesting way of synthesising complementary information, providing a rich - informative- comparison between sites of a certain area.

In order to gain more widespread acceptance of the methodology, detailed guidelines are needed so to apply SQT “on objective bases”.

Clear indications (“how to”) on the selection of contaminants to be considered, on ecotoxicological tests to be applied, and on measures of the *in situ* alteration should be set. Moreover an exhaustive study on benefits of the different normalization procedures and a general criterium for the selection of the reference site are required.

In this work we have proposed a procedure for the choice of the reference station.

Bibliography

1. P. Barbieri, G. Adami, S. Predonzani, E. Reisenhofer, "Heavy metals pollution assessment in surface sediments nearby urban and industrial discharges collectors in the gulf of Trieste", *Tox. Env. Chem.*, 71, 105-114 (1999).
2. G. Adami, P. Barbieri, S. Piselli, S. Predonzani, E. Reisenhofer, "Detecting and characterising sources of persistent organic pollutants (PAHs and PCBs) in surface sediments of an industrialized area (harbour of Trieste, Northern Adriatic)", *J. Env. Monit.*, 2, 261-265, (2000).
3. G. Adami, F. Aleffi, P. Barbieri, A. Favretto, S. Predonzani, E. Reisenhofer, "Bivalves and heavy metals in polluted sediments: a chemometric approach", *Wat. Air Soil Poll.*, 99, 615-622, (1997).
4. T.A. Del Valls, L.M. Lubian, J.M. Forja, A. Gomez-Parra, "Comparative Ecotoxicity of Interstitial Waters in Littoral Ecosystems using Microtox® and the rotifer *Brachionus Plicatilis*", *Env. Tox. Chem.*, 16, 2323-2332, (1997).
5. P.M. Chapman, "The Sediment Quality Triad Approach to determining pollution Induced Degradation" *Sci. Total Environ.*, 97, 815-825 (1990) .
6. T.A. Del Valls, J.M. Forja, A. Gomez-Parra, "Integrative Assessment of Sediment Quality in Two Littoral Ecosystems from the Gulf of Cadiz, Spain", *Env. Tox. Chem.*, 17, 1073-1084, (1998).
7. P.M. Chapman, "The Sediment Quality Triad: then, now and tomorrow" *Int. J. Environment and Pollution*, 13, 351-356 (2000).
8. C.N.R.-I.R.S.A. Quaderno 64 (1985) Roma.
9. C.N.R.-I.R.S.A. Quaderno 39 (1978) Milano.
10. G. Sbrilli, L. Brilli, S. Milani "La metodologia di saggio algale nel monitoraggio marino costiero e nella classificazione delle acque marine." *Biologi Italiani*, 6, 45-51 (2000).

- **Relative Taxa Sensitivity (RTS) of aquatic invertebrates with respect to organic and metal compounds. (39)**
- **Von der Ohe, P. & Liess, M. 2004. Environmental Toxicology and Chemistry. 23, 150-156.**
- In the field, a multitude of species can be exposed to numerous toxicants; thus, *the sensitivity of individual species to particular toxicants must be known to predict effects and to analyze changes in species composition*. For most species, no information about their toxicant sensitivity is available. To address this limitation, we have grouped the available information to assign sensitivities to aquatic invertebrate taxa relative to *Daphnia magna*. With respect to organic compounds, most taxa of the orders Anisoptera, Basommatophora, Coleoptera, Decapoda, Diptera, Ephemeroptera, Eulamellibranchiata, Heteroptera, Hirudinea, Isopoda, Oligochaeta, Prosobranchia, Trichoptera, Tricladida, and Zygoptera are less sensitive than *D. magna*. Some taxa of the Amphipoda, Plecoptera, and Cladocera (other than *D. magna*) are significantly more sensitive. For organic compounds, approximately 22% of the investigated taxa were more sensitive than *D. magna*. Most taxa of the orders Amphipoda, Basommatophora, Diptera, Ephemeroptera, Eulamellibranchiata, Heteroptera, Isopoda, Oligochaeta, and Tricladida are significantly less sensitive than *D. magna* to metal compounds. The taxa belonging to the Crustacea, with the exception of the order Isopoda, are much more sensitive. For metal compounds, approximately 30% of the investigated taxa were more sensitive than *D. magna*. Hence, *D. magna* is among the most sensitive taxa regarding both groups of toxicants. The sensitivities for several taxa are listed, and use of the relative sensitivity distribution to link toxicant effects in mesocosm³⁴ studies and field investigations is discussed.

Anno XXVI - n° 2
Marzo - Aprile 2016

il Chimico Italiano

Periodico di informazione dei Chimici Italiani

Il seme della terra

Poste Italiane spa spedizione in a.p. D.L. 353/03 (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1 AUT. GRM/



Esposizione Universale

Un appuntamento
irrinunciabile per la chimica

Attualità

Gifosato e sicurezza
alimentare

**Con Expo è stata aperta una finestra
sul mondo e sulla tutela del pianeta.
Non chiudiamola**

Effetti sul comparto suolo

- *Agricoltura*: Nutrienti, pesticidi, erbicidi
- *Industria*: ricadute dalle emissioni in atmosfera, smaltimento di rifiuti (S,L) in discariche
- *Residenze*: smaltimento fanghi di depurazione, discariche



L'inquinamento del suolo è un fenomeno di alterazione della composizione chimica naturale del terreno causato dall'attività umana.

Fra le sue cause principali si contano:

- rifiuti non biodegradabili
- acque di scarico
- prodotti fitosanitari
- fertilizzanti
- idrocarburi
- diossine
- metalli pesanti
- solventi organici

In Italia caratterizzazione, ***messa in sicurezza e bonifica di siti contaminati sono soggetti a titolo V della del TUA DLgs 152/2006 e successivi aggiornamenti***

Effetti avversi spesso affrontati evidenziando il declino di **specie rare**: orchidee, lontre, pipistrelli, uccelli (falchi pellegrini, gufi, *Sterna sp.*, anatre, cormorani).

E' essenziale proteggere le **funzioni del suolo** (decomposizione della sostanza organica, mineralizzazione dei nutrienti, sintesi di sostanze umiche) ai fini di un uso sostenibile del territorio.

Fasi importanti dei cicli del C, N, P, S avvengono nel suolo.

La rizosfera è estremamente rilevante per i processi che avvengono nei suoli. Invertebrati e microorganismi decompongono il *litter*; grande variabilità verticale con massima ricchezza nel *top soil*.

Oltre a ruolo nel ciclo dei nutrienti, la formazione dei suoli è essenziale per la vita delle piante e per stabilizzare i minerali.

**Scale temporali dei processi con
Implicazioni per la sostenibilità
SUOLI**

1 tempo necessario alla **completa
erosione del topsoil**

2 tempo necessario per una
**riduzione severa di nutrienti per
dilavamento nei tropici umidi**

3 tempo necessario per una
**riduzione severa di nutrienti per
dilavamento nella zona temperata**

4 tempo necessario per la
**formazione di topsoil pienamente
maturo**



Tossicità terrestre

Introduzione: la contaminazione dei suoli

Pesticidi

Industria

Deposizioni

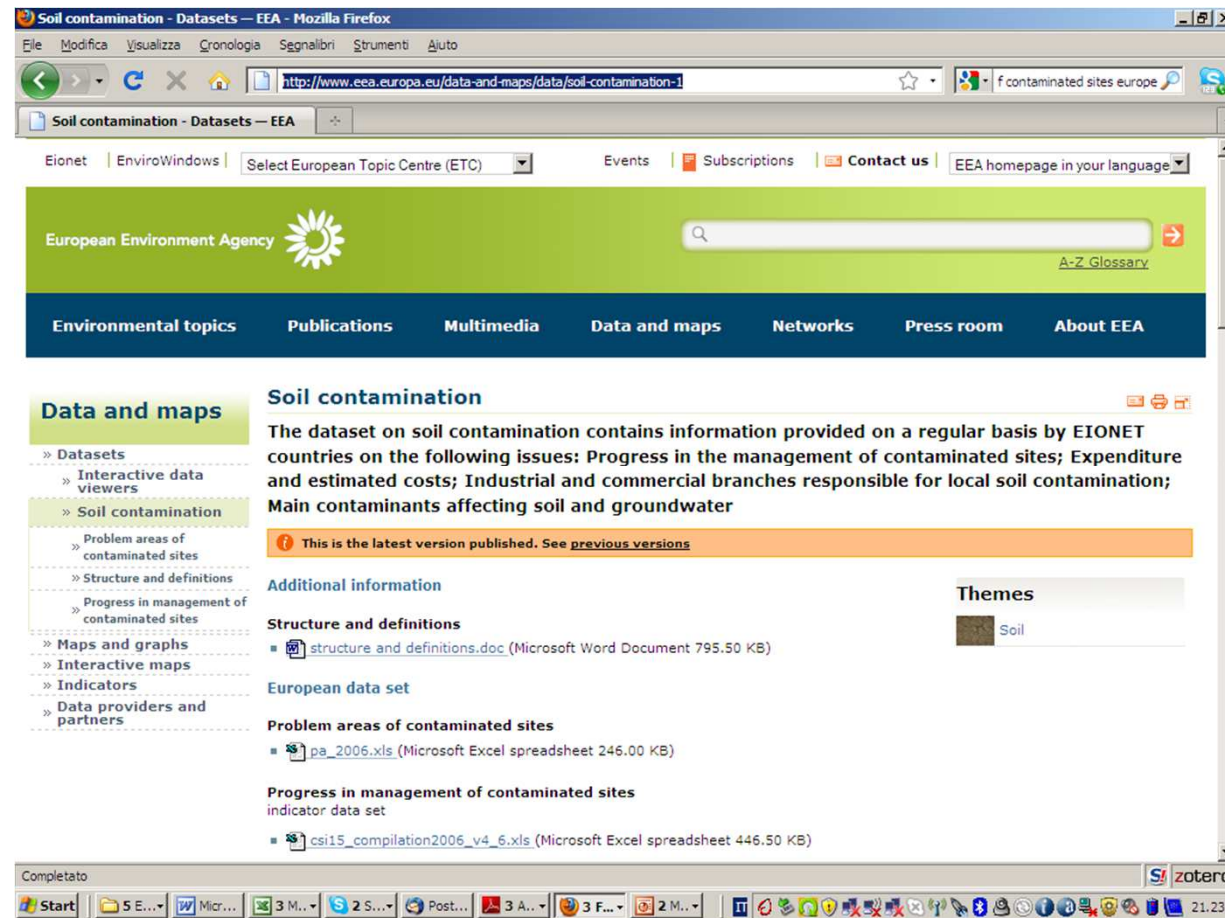
atmosferiche

Sversamenti

sui suoli

di fanghi di

depurazione



The screenshot shows a web browser window displaying the EEA website. The page title is 'Soil contamination - Datasets - EEA'. The main content area is titled 'Soil contamination' and provides information about the dataset, including a description of the issues covered (management of contaminated sites, expenditure, industrial and commercial branches, and main contaminants). It also lists additional information, structure and definitions, and European data sets, with links to various documents and spreadsheets. The website has a green header with the EEA logo and a search bar. The browser's address bar shows the URL 'http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/soil-contamination-1'. The taskbar at the bottom shows several open applications, including a file explorer, a text editor, and a web browser.

**ATTENZIONE RELATIVAMENTE RECENTE
DEGLI ECOTOSSICOLOGI PER I SUOLI**

Studi di tossicologia terrestre: sistemi di esposizione

I suoli contengono **solidi, liquidi e gas con composizioni differenti e variabili.**

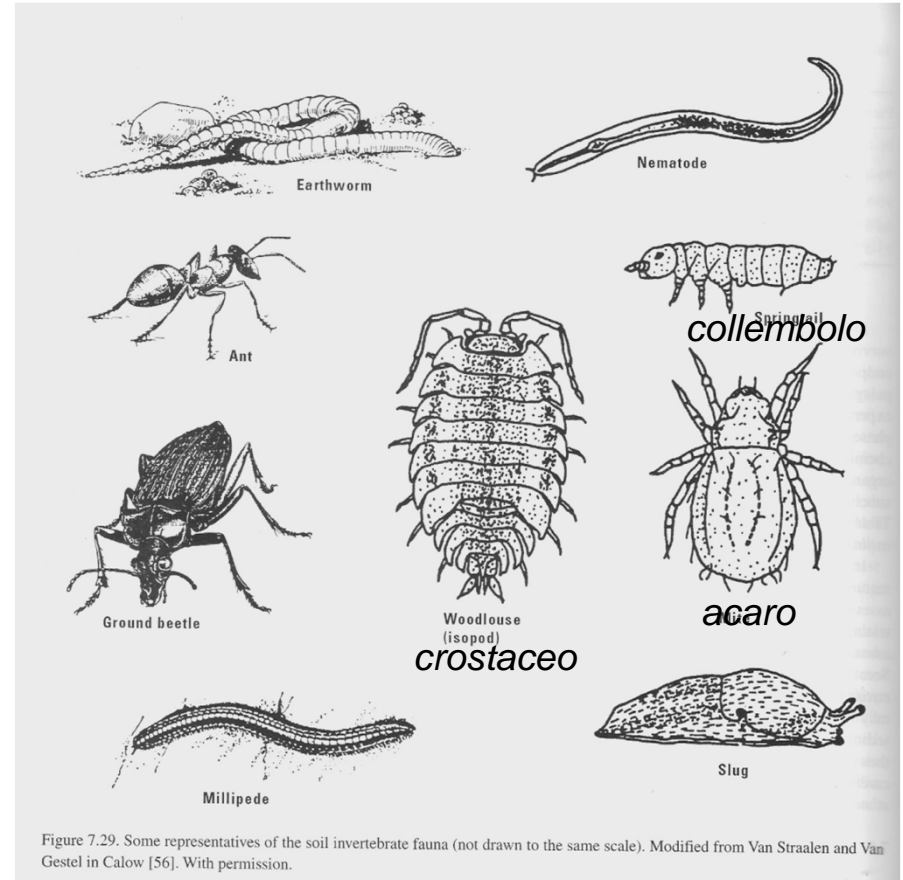
Costituenti si dispongono in un certo ordine e, in dipendenza delle dimensioni delle particelle, con una certa *tessitura* (granulometria di particelle) e *struttura* (aggregazione di particelle).

*Argilla, con diametro minore di 2 micron;
Limo, diametro compreso fra 2 e 50 micron;
Sabbia, fra 50 micron e 2 mm*

Area superficiale = f(dimensioni delle particelle)

Eterogeneità verticale e orizzontale: **molti habitat**

- Microflora o comunità microbiche
- Invertebrati
- Uccelli o mammiferi



→ *Situazioni di esposizione diverse:*

a. Ingestione o assunzione orale di cibo o particelle

b. Assunzione dermica da suolo o superfici vegetali

c. Respirazione attraverso stomi, trachee e polmoni

Sistemi di esposizione:

Sostanze chimiche mescolate al suolo

Batteri, funghi e invertebrati e piante vascolari, test nel suolo simulano le vie di esposizione naturale.

Artropodi non ingeriscono suolo minerale, ma molti assumono inquinanti attraverso l'interfase suolo/aria, forse con mediazione di un film d'acqua.

Preparazione del substrato:

Tipo di suolo (es. OC, CEC, pH)

influenza la biodisponibilità:

- Organici
- Metalli

Uso di *suoli artificiali*

Per lombrichi e artropodi

Table 7.29. Composition of OECD artificial soil [146,151].

Industrial quartz sand	70%
Kaoline clay	20%
Sphagnum peat	10%
Water content (% of the water holding capacity)	40-60%
pH (by addition of CaCO ₃)	7.0±0.5

Sistemi di esposizione: ***Applicazione diretta e indiretta***

Esposizione espressa come quantitativo/animale è strategia favorita dai tossicologi (effetto direttamente correlabile a dose).

Per mammiferi e artropodi, dosi topiche (soluzioni di tossico) con **applicazione diretta a un'area della superficie del corpo**, dopo immobilizzazione.

Nella ricerca **in laboratorio** si può ricorrere all'**immersione** in soluzioni di inquinanti *per artropodi, invertebrati, semi, piante*, per tempo standardizzato. E' un approccio semplice ma dose assunta sconosciuta: specie trattate come acquatiche, trascurata via di esposizione per contatto con suolo o inalazione.

In campo, le dosi effettivamente assunte sono incognite.

Sul campo le altre vie possono essere importanti;
es ingestione di residui, **superfici ricoperte di film di inquinanti (es. pesticidi)** agiscono come sorgente al passaggio exp di **organismi con elevata attività alla superficie** (es. scarafaggi, ragni...).

Spesso **specie tossica è fatta seccare su superfici di suoli o foglie.**

Biodisponibilità dei residui dipende da natura del substrato (es. OC, CEC...). Si standardizzano gli studi impiegando superfici inerti (sabbia, supporto in vetro) che però portano a situazione diversa da quella in campo.

Sistemi di esposizione: ***sostanze chimiche mescolate al cibo***

L'assunzione attraverso la dieta è una via di esposizione nota per mammiferi e uccelli.

Per sostanze nebulizzate sulle superfici delle foglie la dieta è via di esposizione diretta per organismi *fitofagi*, e quando le sostanze sono associate alla materia organica in decomposizione per i *saprotrofi*.

Attraverso la catena alimentare si ha esposizione di

Uccelli e mammiferi che si nutrono di pesci contaminati

Erbivori che si nutrono di varie piante

Artropodi microbivori che si nutrono di funghi che concentrano *chemicals* dal suolo

Sistemi di esposizione: **sostanze chimiche mescolate al cibo**

In questi test le sostanze chimiche sono mescolate omogeneamente con il cibo e la *dose effettiva di esposizione è espressa per massa secca di cibo.*

Altre vie sono acqua potabile e soluzioni zuccherine

Se gli animali assumono totalmente il cibo o si può pesare il cibo rimasto, si esprime la dose come *mg/kg peso corporeo* (?!)

Artropodi e alcuni uccelli evitano (si ha *avoidance*) cibo contaminato.

Sistemi di esposizione: attraverso l'aria

Si impiegano camere con tetto aperto, o si flussa il comparto sperimentale con aria a contaminazione nota (non è semplice)

Cosidera che spray (es pesticidi) depositati su superfici evaporano e l'inalazione è la via di esposizione

(Es. Giulia Pignolo "Studio su gasteropodi terrestri come potenziali bioaccumulatori per metalli pesanti e idrocarburi policiclici aromatici nella provincia di Trieste")



Valutazione degli effetti

Test di tossicità dei suoli per fornire informazioni sulla pericolosità per l'ambiente terrestre → **obiettivi di qualità per i suoli.**

Le bonifiche sono costose, per cui è necessario stimare il **rischio sito specifico**, ad esempio con **saggi biologici *in situ***.

Info su:

- *contaminazione chimica,*
- *risposte tossicologiche in campo e in laboratorio e*
- *composizione della comunità del suolo*

possono indicare il rischio per l'ecosistema suolo

Caso critico, sedimenti depositati sui suoli (cambiano le condizioni di degradazione e mobilità dei contaminanti)

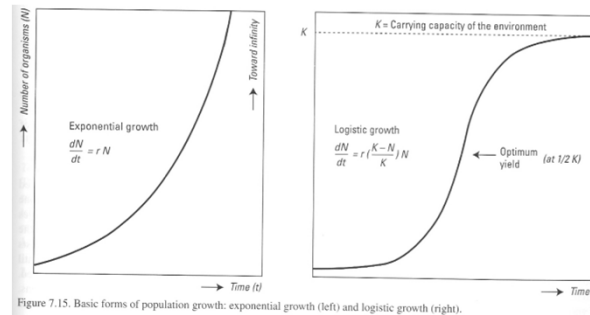
Test di tossicità dei suoli

Test microbici

Batteri 10^6 - 10^9 cellule/g

Funghi importanti per la degradazione della sostanza organica (sviluppo nel suolo con le ife e uso di enzimi che degradano sostanze persistenti: es. lignina)

Test sulla crescita
Test respirometrici



Abilità di usare substrati specifici in *micro plates* per microorganismi da siti inquinati vs siti controllo. Si rileva incremento di attività metabolica per batteri adattati a ambienti inquinati, rispetto a controllo (tolleranza di comunità indotta dall'inquinamento, che porta a perdita di specie sensibili e adattamento genetico o fisiologico)

Test di tossicità:

Piante vascolari

Dati diversi

Per sviluppare test rapidi per ciclo di vita parziale si son molto impiegate *Arabidopsis* e *Brassica*

Test di assunzione attraverso il suolo o per deposizione su foglie

Test di germinazione, *insensibili a alcuni tossici* (germogli non assimilano e derivan nutrimento da riserve interne)

Test di crescita a 14 o 21 gg (biomassa e dati biometrici e esame visivo)

Test di vigoria vegetativa a seguito di nebulizzazione (peso e lunghezza dei germogli, clorosi, necrosi etc.)

Table 7.30. Characteristics of the terrestrial plant growth test [163].

Test species	a minimum of three species should be selected for testing, at least one from each of the following categories: rye grass (<i>Lolium perenne</i>), rice (<i>Oryza sativa</i>), oat (<i>Avena sativa</i>), wheat (<i>Triticum aestivum</i>), sorghum (<i>Sorghum bicolor</i>) (category 1), mustard (<i>Brassica alba</i>), rape (<i>Brassica napus</i>), radish (<i>Raphanus sativus</i>), turnip (<i>Brassica rapa</i>), Chinese cabbage (<i>Brassica campestris</i>) (category 2) and vetch (<i>Vicia sativa</i>), mung bean (<i>Phaseolus aureus</i>), red clover (<i>Trifolium pratense</i>), fenugreek (<i>Trifolium ornithopodioides</i>), lettuce (<i>Lactuca sativa</i>) and cress (<i>Lepidium sativum</i>)
Test duration	plants are harvested usually 14-21 d after 50% emergence in the controls
Test system	static system, the test substance is dissolved in a solvent and mixed with natural soil or applied to soil surface
Light/temperature	suitable for growth
Endpoints	emergence and growth (wet weight)
Parameter	LC50 (emergence) and EC50 (growth)

TEST DI FITOTOSSICITA'
Metodo UNICHIM n. 1651 – Edizione 2003

Determinazione dell'inibizione della germinazione e allungamento radicale di:

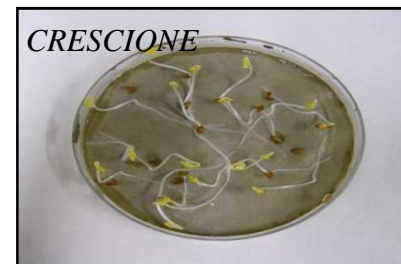
Cucumis sativus L. (CETRIOLO)
Lepidium sativum L. (CRESCIONE)

Semi esposti al campione e incubati al buio a T=25° per 72 h

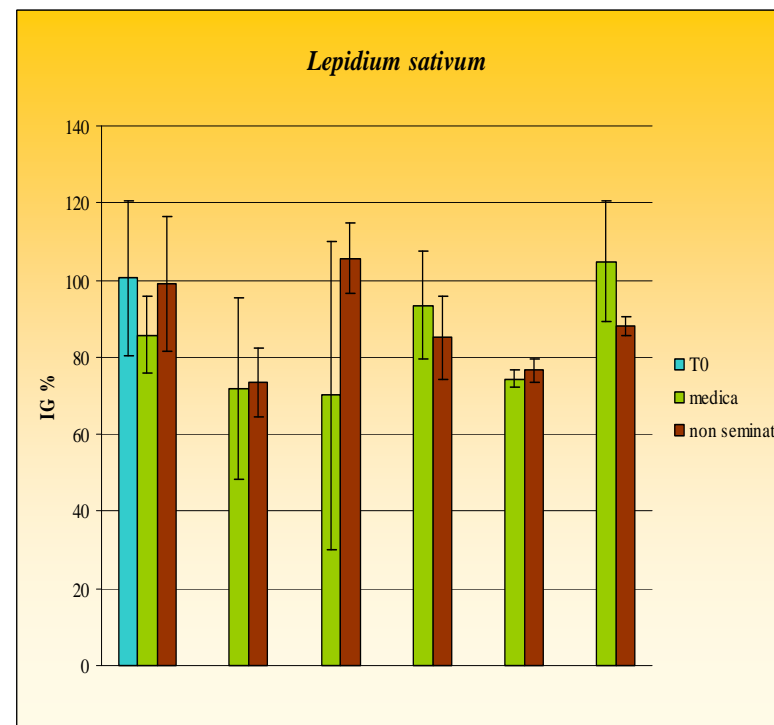
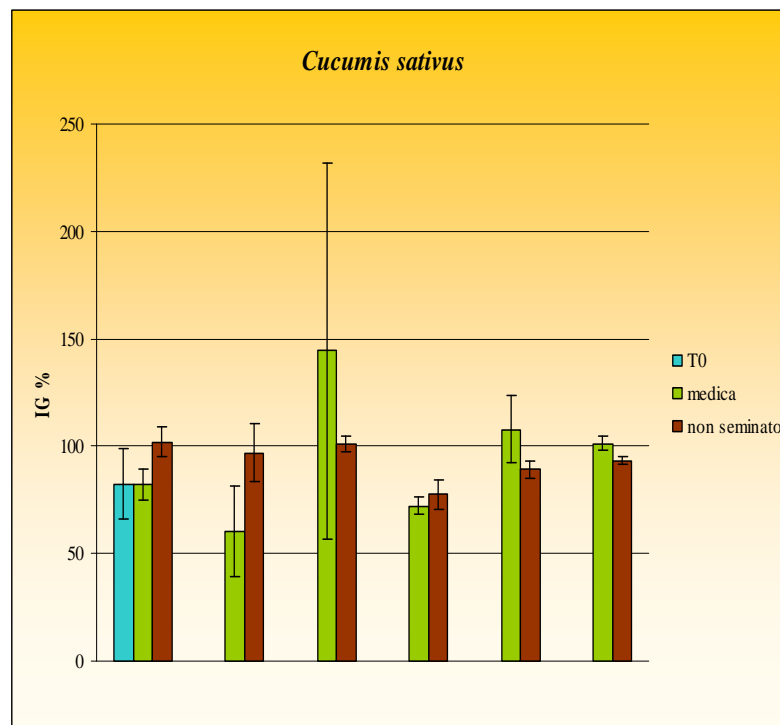
- Numero semi germinati
- Lunghezza apparato radicale



Indice di Germinazione percentuale (IG%) → effetto della matrice



RISULTATI FITOTOSSICITA'



I dati relativi al saggio di fitotossicità mostrano un andamento altalenante nel corso dei campionamenti sia per Cucumis sativa che per Lepidium sativum, sia per il suolo coltivato che per quello nudo. Si attende di poter confrontare questi valori con quelli forniti dalle analisi chimiche del suolo

Test di tossicità

Invertebrati

Table 7.31. Characteristics of the acute artificial soil test with earthworms [146].

Test species	<i>Eisenia fetida</i> and <i>E. andrei</i>
Test duration	14 d
Test system	static test in test jars with 750 g (wet weight) of OECD artificial soil
Light/temperature	low light intensity (400-800 lux) at 20°C
Endpoints	survival
Parameter	LC50

Table 7.32. Characteristics of the reproduction test with earthworms [151].

Test species	<i>Eisenia fetida</i> and <i>E. andrei</i>
Test duration	pre-incubation (at least one day), exposure of adults to treated soil (4 weeks) followed by incubation of cocoons in untreated soil (4 weeks)
Test system	static test in test jars with OECD artificial soil
Light/temperature	low light intensity (400-800 lux) at 20°C
Food	oatmeal, cow or horse manure (dried and ground)
Endpoints	survival and growth of adults (after 4 weeks of exposure) and reproduction i.e. the total number of offspring per adult worm (after a further four weeks)
Parameter	NOEC and/or ECx (EC10, EC50) for reproduction, LC50, % of initial weight.

Table 7.33. Overview of selected laboratory tests using terrestrial invertebrates, evaluated according to three criteria^a according to Van Gestel and Van Straalen [148]. With permission.

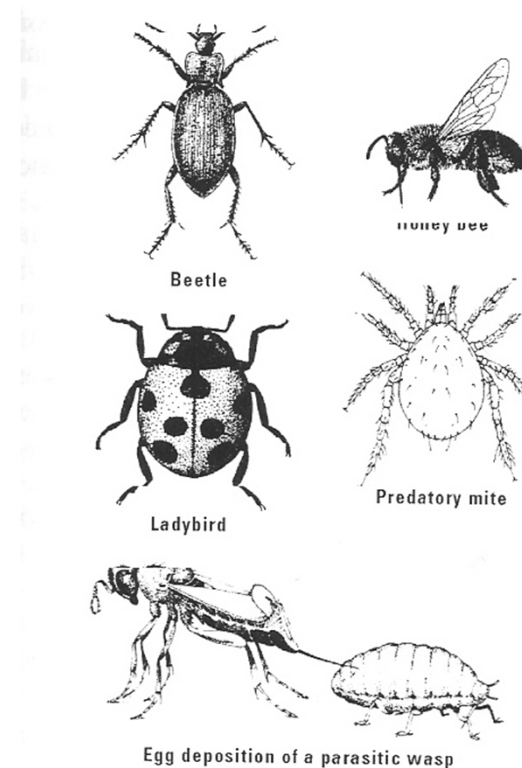
Tests species		A	B	C
Protozoans	<i>Colpoda cuculus</i>	+	+	-
Nematodes	<i>Plectus acuminatus</i>	+	+	-
Isopods	<i>Porcellio scaber</i>	+	-	±
	<i>Trichoniscus pusillus</i>	+	-	±
Mites	<i>Platynothrus peltifer</i>	+	-	±
Collembola	<i>Folsomia candida</i>	+	+	+
	<i>Orchesella cincta</i>	+	±	±
Enchytraeidae	<i>Enchytraeus albidus</i>	±	+	+
Lumbricidae	<i>Eisenia fetida</i>	-	+	+
Molluscs	<i>Helix aspersa</i>	+	±	±
Hymenopteran parasites	<i>Encarsia formosa</i>	±	+	-
	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	+	±	-
Beetles	<i>Bembidion lampros</i>	+	±	±
	<i>Aleochara bilineata</i>	+	±	±
Predatory mites	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	±	+	-
Spiders	<i>Oedothorax apicatus</i>	±	-	±
Honey bees	<i>Apis mellifera</i>	+	+	±

A RILEVANZA ECOLOGICA; B POTENZIALE PER LA STANDARDIZZAZIONE E LA COLTURA IN DIVERSI LABORATORI; C POTENZIALE PER DERIVARE CRITERI DI QUALITA' AMBIENTALE A PARTIRE DAI RISULTATI DEI TEST

Artropodi “benefici”

C'è interesse commerciale a sviluppare pesticidi che affliggano limitatamente

- Impollinatori
- Predatori dei parassiti delle piante



(linee guida dell'Euromediterranean Plant Protection Organization, EPPO)

Test con uccelli e animali

Table 7.34. Observations in the USEPA avian oral dose LD50 test [168].

- Survival, body weight and food consumption
- Gross necropsies (optional). When performed, all dead birds should be examined, as well as a sufficient number of survivors in order to provide a characterization of gross lesions. Inspections of the gastro-intestinal tract, liver, kidneys, heart, and spleen should be made
- Other signs of intoxication should be described as to what was observed when and for how long

Table 7.35. Characteristics of the short-term OECD avian dietary test [171].

Test species	the Mallard duck (<i>Anas platyrhynchos</i>), the northern bobwhite quail (<i>Colinus virginianus</i>), the Japanese quail (<i>Coturnix coturnix japonica</i>), pigeons (<i>Columba livia</i>), ring-necked pheasant (<i>Phasianus colchicus</i>) and red-legged partridges (<i>Alectoris rufa</i>)
Test duration	usually 11 d, acclimatization (3 d), exposure to a diet containing the test substance (5 d) and exposure to the basal diet free of the test substance (for a minimum of 3 additional days)
Test levels	5 dietary levels and 2 control groups
Food	commercial food type
Observations	mortality, body weights, food consumption, signs of toxicity, and tissues from poisoned birds or from birds killed at the end of the test may be subjected to pathological, biochemical and residue examination
Parameter	LC50 and, if appropriate, an estimated NOEL

Table 7.36. Characteristics of the OECD avian reproduction test [172].

Test species	recommended species: the Mallard duck (<i>Anas platyrhynchos</i>), the northern bobwhite quail (<i>Colinus virginianus</i>) and the Japanese quail (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)
Test duration	approximately 34 weeks, exposure to a diet containing the test substance (for a minimum of 20 weeks), collection of eggs (over a 10-week period), followed by incubation and hatching of the eggs, the young are maintained for 2 weeks
Test levels	a minimum of 3 dietary concentrations and 1 control group
Food	commercial food type
Observations	mortality and signs of toxicity, body weights of adults and of the young at 14 days of age, food consumption of adults and young, gross pathological examination of adult birds, egg production, cracked eggs, egg shell thickness, viability, hatchability and effects on young birds, the residue analysis of selected tissues is optional
Parameter	NOEC (mg/kg diet)

Test multi-specie

**Microcosmi
o micro-ecosistemi**
per studiar specie singole
relazioni preda-predatore
competizione per risorse
funzioni del suolo

Studi in microcosmi con
batteri piante invertebrati
non hanno armonizzazione
Internazionale.

In letteratura
descritti vari TME
Terrestrial Model Ecosystems
e eseguito un ring test
(Knacker et al.
Ecotoxicology 14,9-27, 2004)
Ponte tra laboratorio
e campo

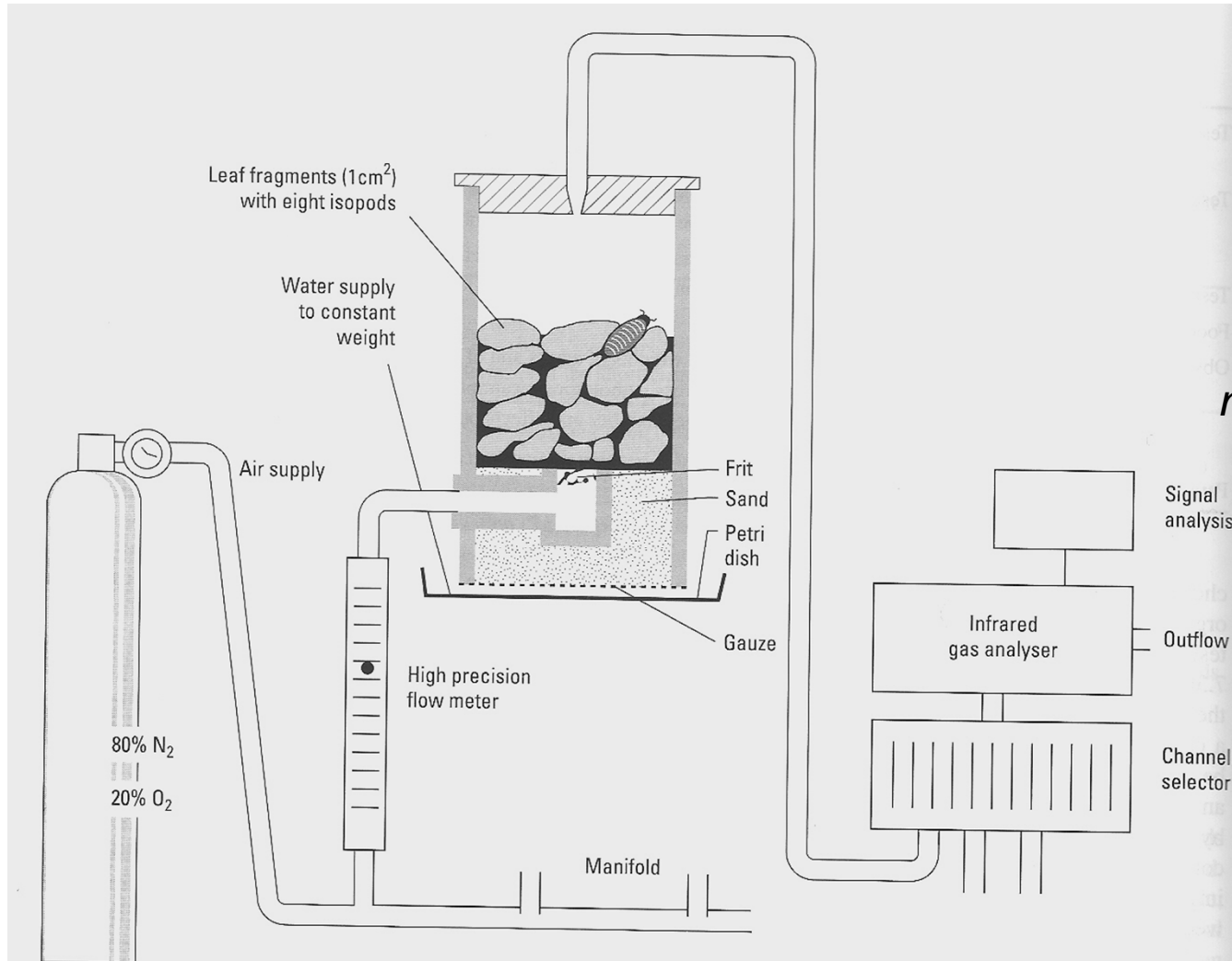


Figure 7.31. Diagram of equipment designed to measure CO₂ production in a flow-through system. The microcosm contains an amount of litter supplemented with isopods, placed on the basal layer of sand. From Van Wensem [175]. With kind permission of Springer Science and Business Media.

TM e un
ssore
zare quest'immagine.

Valutazioni sulla tossicità

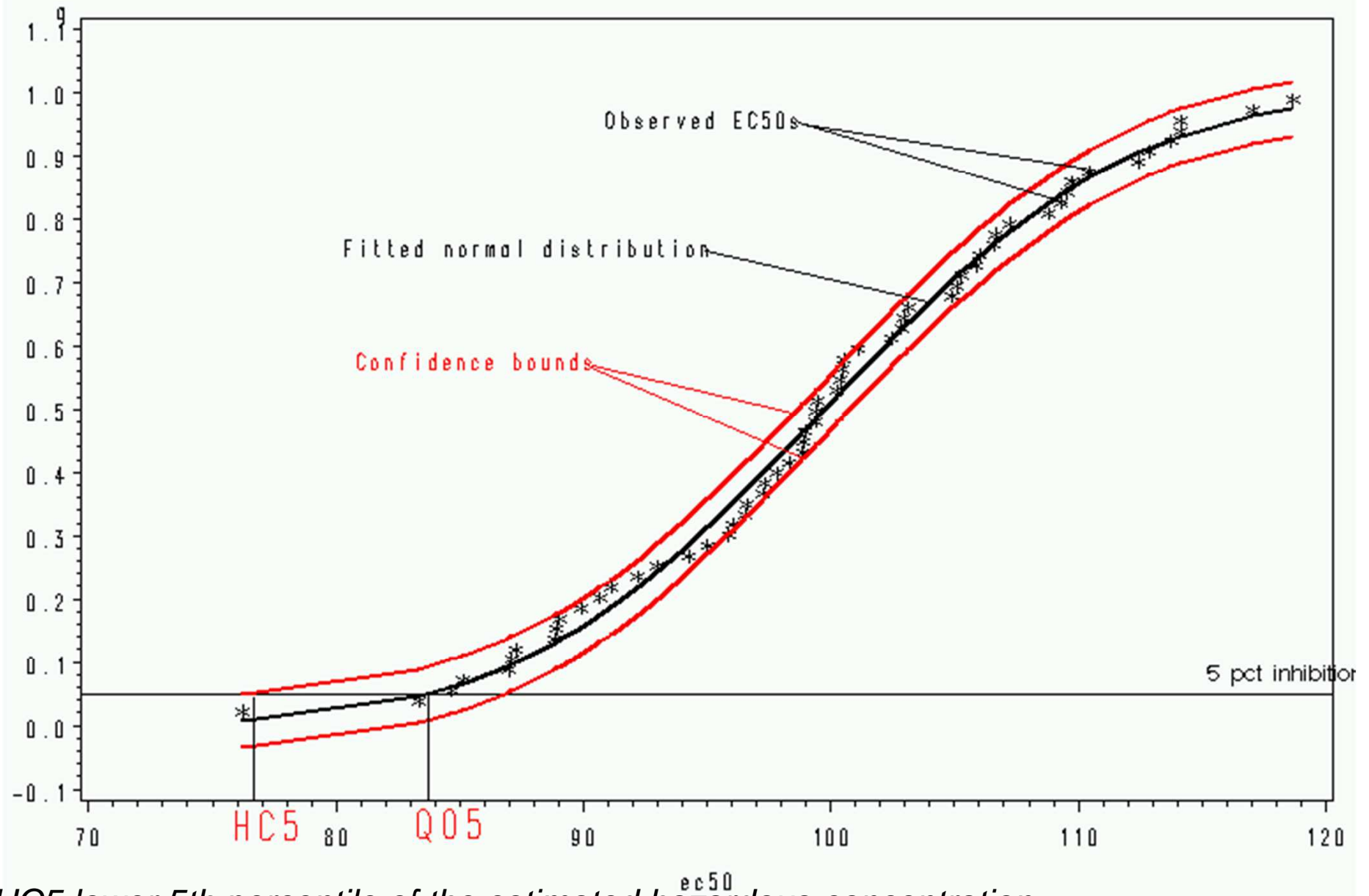
- **A livello di Specie**
 - Laboratory toxicity experiments
 - Greenhouse studies
 - Field studies
- **A livello di Ecosistema**
 - Most sensitive species
 - Mesocosm studies
 - Species Sensitivity Distribution

Ecosystem level assessment

Probabilistic Approach

- Collect a consistent measure of toxicity from **a representative set of species**
 - EC50s *or* NOECs (not both)
- Fit a distribution (**SSD**) to these numerical measures
- Estimate concentration, HC5, that protects 95% of species in ecosystem
- Advantages and problems with SSDs

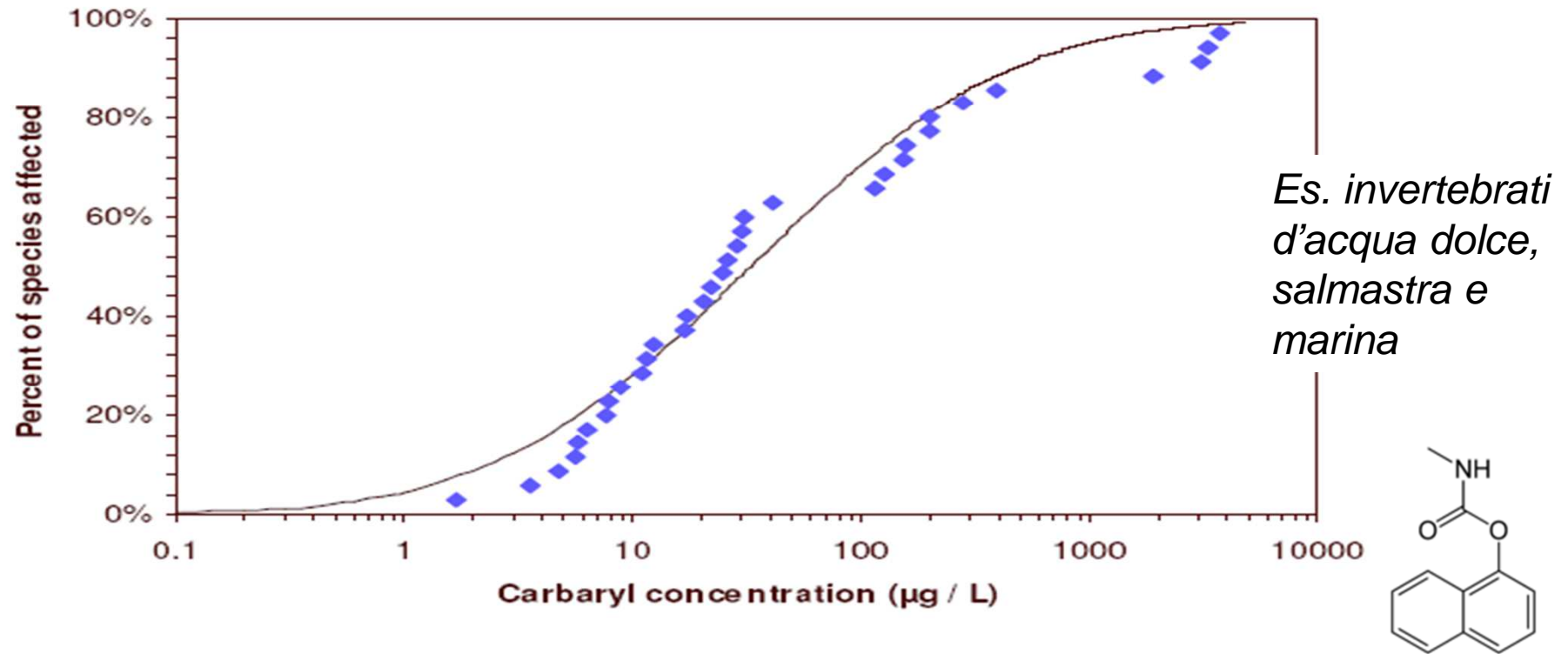
Normal Distribution



HC5 lower 5th percentile of the estimated hazardous concentration,

Selection of Toxicity Data

Acute LC₅₀ values of Carbaryl for 34 aquatic invertebrate species. The fitted log-normal SSD has a mean of 3.497 and a standard deviation of 2.063.



SSD by Habitat

Visual groupings are not taxonomic classes but defined by habitat , possibly related to mode of action