



APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

L'Ecotossicologia negli ambienti acquatici

Prima ricognizione dello stato dell'arte nelle Agenzie

Informazioni legali

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici o le persone che agiscono per conto dell'Agenzia stessa non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo rapporto.

APAT - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici
Via Vitaliano Brancati, 48 - 00144 Roma
www.apat.it

Dipartimento Difesa della Natura
Servizio Tossicologia e Indicatori Ambientali

© APAT, Rapporti 71/2006

ISBN 88-448-0188-4

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica

APAT

Grafica di copertina: F. Iozzoli; L. Campana

Foto di copertina: L. Campana; P. Orlandi - ARPA Puglia - Dipartimento Provinciale di Foggia

Coordinamento tipografico e distribuzione

Olimpia Girolamo
APAT - Servizio Stampa ed Editoria
Ufficio Pubblicazioni

Impaginazione e stampa

I.G.E.R. srl - Viale C.T. Odascalchi, 67/A - 00147 Roma

Stampato su carta TCF

Finito di stampare giugno 2006

AUTORI:

D.ssa Antonella Amendola – Dipartimento Difesa della Natura - APAT

D.ssa Nadia Lucia Cerioli - Dipartimento Difesa della Natura - APAT

Per il Capitolo 2: D.ssa Claudia Conca – Dipartimento Provinciale di Monza – ArpaLombardia

Per il Capitolo 3: D.ssa Simona Testa – Libera professionista

Per le cartografie: Arch. Angelo Lisi – Dipartimento Difesa della Natura - APAT

Per la collaborazione nei grafici e nella revisione dei testi: D.ssa Valentina Rastelli – Dipartimento Difesa della Natura - APAT

INDICE

1. INTRODUZIONE: CENNI STORICI E FINALITÀ DELLA PUBBLICAZIONE	7
2. L'ACQUA: CENNI QUALITATIVI E QUANTITATIVI	9
2.1 L'acqua: una molecola particolare	9
2.1.1 <i>La forma molecolare</i>	9
2.1.2 <i>Le forme fisiche e le proprietà chimico-fisiche dell'acqua</i>	9
2.2 L'importanza dell'acqua nell'ecosistema	12
2.3 Il ciclo dell'acqua	13
2.4 Le acque continentali: fiumi e laghi	15
2.5 Le acque oceaniche: mari e oceani	16
2.6 Le aree umide	17
2.7 L'inquinamento delle acque	18
2.7.1 <i>Cause dell'inquinamento</i>	19
2.7.2 <i>Inquinamento dell'atmosfera</i>	19
2.7.3 <i>Sottrazione delle risorse idriche</i>	20
2.7.4 <i>Scarico di acque reflue in acque superficiali</i>	20
2.7.5 <i>Scarico di rifiuti liquidi o solidi sul territorio</i>	21
2.7.6 <i>Sviluppo di zone urbanizzate, industrializzate, agricole</i>	21
2.8 Le conseguenze	22
2.8.1 <i>Effetti sull'aspetto dell'acqua</i>	22
2.8.2 <i>Effetti su flora e fauna acquatica</i>	23
2.8.3 <i>Effetti generali sull'ambiente</i>	24
3. L'ACQUA E LA SUA EVOLUZIONE NORMATIVA	27
3.1 Le fasi della legislazione ambientale internazionale	27
3.2 La tutela dell'ambiente nel diritto europeo: evoluzione storica	28
3.3 La normativa ambientale italiana. Dal generale al particolare: i primi passi nella produzione normativa in materia di tutela delle acque	30
3.4 Oggi in Italia : il D.lgs 152/1999. I rapporti con il D.lgs 22/1997. Le sue modifiche: D.lgs 258/2000	31
3.5 Direttiva 2000/60/CE e rapporti con il D.lgs 152/1999	35
3.6 Quadro ecotossicologico e tecnico	37
3.6.1 <i>Gli allegati tecnici del D.lgs 152/1999</i>	37
3.6.2 <i>D.lgs 258/2000: Allegato I</i>	38
3.6.3 <i>Direttiva 2000/60/CE: Allegato V</i>	42
4. L'ECOTOSSICOLOGIA E L'ACQUA	43
4.1 Tossicologia ed ecotossicologia	43
4.2 Scopi e strumenti	45
4.3 Le analisi ambientali e l'ecotossicologia	46
4.4 I test di tossicità	47
4.5 Livelli di effetto sugli organismi	49
4.5.1 <i>Le relazioni causa-effetto</i>	49

4.5.2 <i>Tipi di effetto</i>	51
4.5.3 <i>Vie di esposizione, destino nell'organismo e trasformazioni tossiche</i>	53
4.6 Scelta delle specie	54
4.7 L'endpoint	54
4.8 Espressione dei risultati dei test ecotossicologici	55
4.9 I test acquatici	56
4.9.1 <i>La situazione in Italia</i>	57
5. STATO DELL'ARTE IN ITALIA	59
4.1 Matrici	76
4.2 Frequenze d'indagine	77
4.3 Specie	78
4.4 Metodi	82
4.5 Rappresentazioni cartografiche	83
4.6 Considerazioni conclusive	93
6. PROSPETTIVE FUTURE	95
6.1 Un caso europeo: Il DTA e la valutazione degli scarichi in Scozia	95
6.1.1 <i>Il Direct Toxicity Assessment</i>	96
6.1.2 <i>La valutazione degli scarichi con il DTA</i>	98
6.1.3 <i>Il Piano d'Intervento</i>	100
6.1.4 <i>L'ambiente marino e la zona di mescolamento</i>	100
6.2 Dagli USA: la proposta del North Carolina (USA)	101
6.2.1 <i>I test acuti</i>	101
6.2.2 <i>I test cronici</i>	102
6.2.3 <i>I permessi di scarico</i>	102
6.3 Considerazioni conclusive	102
7. CONCLUSIONI	103
BIBLIOGRAFIA	105
SITI INTERNET D'INTERESSE	108
GLOSSARIO	109

1. INTRODUZIONE: CENNI STORICI E FINALITÀ DELLA PUBBLICAZIONE

L'ecotossicologia è una scienza ad ampio respiro che valuta destino, comportamento ed effetti biologici di sostanze potenzialmente pericolose per l'ambiente, in genere utilizzando organismi appartenenti a diverse classi tassonomiche. In particolare, l'ecotossicologia acquatica prende in esame il proprio comparto d'elezione, sia per quanto riguarda il substrato sia per quanto concerne gli organismi che in essa vivono.

Il principio secondo il quale organismi acquatici potevano essere utilizzati per rilevare la presenza di agenti tossici ignoti è anteriore al 1900: infatti, già a metà '800 Penny (Penny *et al.*, 1863) e Weigelt (Weigelt *et al.*, 1885) descrivono gli effetti tossici di scarichi industriali su organismi selvatici, mediante l'esecuzione di studi di tossicità acuta della durata di qualche minuto od ora ed occasionalmente 2/4 giorni.

Nel 1924 Carpenter pubblica il suo primo lavoro riguardante la tossicità di ioni di metalli pesanti, provenienti da miniere di piombo e zinco, su alcune popolazioni ittiche.

La maggior parte degli studi condotti negli anni '30 e '40 ha lo scopo di fornire una maggiore comprensione nell'interpretazione dei test chimici, quale primo passo per la successiva incorporazione degli studi biologici nel processo di trattamento delle acque di scarico, o di approfondire le informazioni basilari su tolleranza, metabolismo, processi energetici delle varie specie sino a quel momento acquisite. Ad esempio, Ellis nel 1937 determina l'uso di *Daphnia magna* per misurare l'inquinamento dei corsi d'acqua, mentre nel 1944 Anderson ne amplia il lavoro e pone le basi per giungere a procedure standardizzate per test di tossicità con *Daphnia magna*. La prima procedura standardizzata viene, però, pubblicata nel 1951 da Doudoroff (Doudoroff *et al.*, 1951) e, in un secondo momento, incorporata in una procedura ASTM.

Il concetto di criteri di qualità acquatica (WQA, Water Quality Criteria) fu formulato sommariamente dopo il secondo conflitto mondiale da McKee, nel 1952, e successivamente definito con maggiore precisione: "un criterio di qualità acquatica è definito come un dato scientifico utilizzato per giudicare quali limiti di variazione o alterazione dell'acqua non avranno effetti avversi sull'utilizzo della stessa da parte dell'uomo o degli organismi acquatici" (McKee e Wolf, 1963).

Le conoscenze acquisite circa i test ecotossicologici portarono infine, negli Stati Uniti, alla stesura di manuali EPA (Environmental Protection Agency), nonché, nel 1976, di linee-guida per l'ambiente acquatico, riviste poi nel 1986 sempre ad opera di EPA.

Tra il 1970 e il 1980 la padronanza dei test ecotossicologici si sviluppò progressivamente e, se nel 1981 al primo convegno SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) parteciparono 85 persone, nel 1991 i partecipanti furono 2230 (Hoffman *et al.*, 2003).

Oggi, a livello internazionale, esistono metodi standardizzati per numerose specie (pesci, invertebrati, alghe) d'acqua dolce e di mare, non solo per la colonna d'acqua, ma anche per i sedimenti. Nel nostro Paese la situazione è un po' differente. In Italia l'istituzione dell'ANPA è avvenuta nel 1993 (23 anni dopo USEPA), oggi è evoluta in APAT e da poco più di un anno ha istituito nel proprio organico un Settore che si occupa in maniera dedicata di Tossicologia ed Indicatori Ambientali, con tutte le difficoltà ed i ritardi maturati nell'arco di più di 30 anni. Lo scopo della presente pubblicazione, la prima del Settore, segue pertanto un'ottica di ausilio e di iniziale divulgazione di notizie e nozioni in materia, allo scopo di diffonderne la conoscenza, come primo passo per azioni future.

In effetti, la regolamentazione delle acque è stata sempre basata, ed in Italia praticamente e legislativamente ancora lo è, sull'identificazione ed il controllo di specifiche sostanze e proprietà degli ef-

fluenti (ad esempio BOD, pH, contaminanti chimici). Sebbene molti scarichi siano adeguatamente controllati in questo modo, parecchi effluenti complessi necessitano di misure di controllo addizionali per assicurare un idoneo livello di protezione ambientale.

Nel contesto attuale, un effluente complesso è considerato uno scarico potenzialmente tossico per il quale la tossicità misurata (ad esempio attraverso test di tossicità standardizzati) non può essere verosimilmente predetta basandosi solo sulla tossicità nota dei costituenti individuali. Al suo interno possono essere contenuti centinaia di composti chimici differenti, sui quali vi possono spesso essere insufficienti dati ambientali per consentire una derivazione di criteri di qualità ambientale o adeguati standard ambientali (SQA, standard di qualità ambientale). Inoltre, la presenza e l'interazione, tanto chimica quanto tossicologica, di sostanze in miscela possono non essere verosimilmente predette, mentre l'analisi chimica di effluenti complessi può divenire proibitiva per i costi. La tossicologia può dare invece una mano alla analisi consentendo una riduzione dei costi.

In più, lo stabilire degli standard di qualità delle acque è richiesto per poter proteggere tutte le specie acquatiche dagli effetti dell'inquinamento o altro danno indotto dall'uomo. Sebbene molti standard numerici di qualità delle acque siano basati su effetti misurati dovuti a singole componenti chimiche, oggi giorno stime precise possono essere fatte solo per una piccola percentuale di chimici e non possono predire gli effetti di miscele complesse. Per valutare pertanto questi effetti biologici, è buona norma utilizzare i test di tossicità acquatica per consentire la determinazione di effetti combinati di tutti i costituenti di una soluzione. Queste analisi di tipo biologico sono perciò molto efficienti ed efficaci nel prevedere effetti senza dover eseguire determinazioni di tipo chimico e nel fornire previsioni su singoli e/o molteplici chimici.

I test possono essere condotti su campioni di effluenti complessi, singoli composti chimici o campioni reali di fiumi e possono essere abbastanza sensibili per determinare non solo la letalità ma anche la soppressione della riproduzione o della crescita di determinati organismi, effetti che in ultima istanza possono ridurre la popolazione fluviale.

Alla luce di ciò, appare chiaro che l'ecotossicologia in campo acquatico (ma non solo) è un elemento fondamentale non solo di rilevazione del danno, ma anche di prevenzione di danni futuri, mediante apposite campagne di monitoraggio.

2. L'ACQUA: CENNI QUALITATIVI E QUANTITATIVI

2.1 L'acqua: una molecola particolare

2.1.1 La forma molecolare

L'acqua è un liquido, a temperatura e pressione standard, la cui composizione molecolare è determinata dalla presenza di due atomi di Idrogeno (H) ed un atomo di Ossigeno (O): la sua formula chimica è pertanto H_2O . La forma della molecola è definita dalla distribuzione spaziale delle 4 coppie di elettroni presenti nel guscio esterno dell'atomo di O. Infatti, ogni coppia di elettroni occupa un orbitale e, mentre 2 delle 4 coppie formano legami con i 2 atomi di H, le altre 2 non impegnate nei legami ne influenzano la forma. A causa della carica negativa degli elettroni, i 4 orbitali si respingono tra loro, facendo assumere alla molecola dell'acqua una conformazione tetraedrica, la quale garantisce la massima distanza fra di loro.

La struttura, la natura polare e la formazione di legami a idrogeno tra le molecole di acqua o con altre sostanze sono responsabili delle proprietà che rendono questa molecola così particolare.

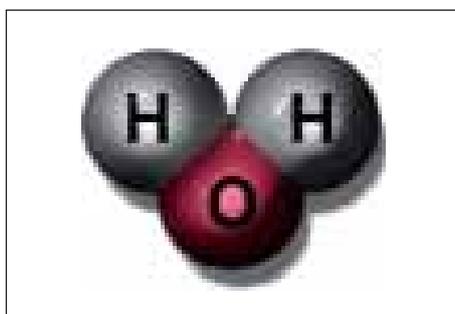


Figura 1. Molecola d'acqua

2.1.2 Le forme fisiche e le proprietà chimico-fisiche dell'acqua

Densità

L'acqua assume altre forme in natura oltre quella di liquido: allo stato solido è nota come ghiaccio, allo stato gassoso prende il nome di vapore acqueo.

Quando è ghiaccio, le molecole di acqua sono posizionate in una rigida struttura cristallina in cui ognuna forma 4 legami a idrogeno con altrettante molecole vicine. Esse, tuttavia, non sono così strettamente impaccate come nello stato liquido: perciò, allo stato solido l'acqua è meno densa rispetto allo stato liquido, raggiungendo la massima densità a $4^{\circ}C$.

Questa è la ragione per cui il ghiaccio galleggia sull'acqua, permettendo di formare in inverno su fiumi e laghi uno strato isolante superficiale che riduce la perdita di calore dello strato sottostante. In tal modo pesci, piante ed altri organismi possono continuare a vivere durante la stagione rigida senza essere sottoposti a temperature al di sotto di $0^{\circ}C$, valore di congelamento dell'acqua.

Inoltre, mentre la fusione (passaggio dallo stato solido a quello liquido) di 1 mole di acqua richiede un'elevata quantità di energia (5,9 kJ), il processo opposto, il congelamento, libera una grande quantità di energia. Tali proprietà rendono l'acqua una sostanza capace di mitigare i cambiamenti climatici.

La situazione nelle acque marine è in qualche modo diversa. Il sale ivi contenuto abbassa sia il punto di congelamento di circa 2°C sia la temperatura cui l'acqua raggiunge la sua massima densità fino a circa 0°C. Alla normale salinità l'acqua congela a circa -1,9°C, il ghiaccio che si forma è sostanzialmente privo di sale ed ha densità paragonabile a quello di acqua dolce. Esso galleggia sulla superficie, mentre il sale che ne è stato "espulso" va ad aumentare salinità e densità dell'acqua vicina, la quale scende per convezione verso il fondo. Quindi, nelle acque oceaniche i moti convettivi che portano verso il fondo l'acqua più fredda non sono bloccati dalla differenza di densità, come accade nelle acque dolci: ne consegue che le creature che si trovano sul fondo degli oceani artici sono adattate a vivere a temperature prossime a 0°C.

Capacità termica

Altra proprietà che consente alle masse d'acqua di moderare le variazioni di temperatura è l'elevata capacità termica.

Si definisce capacità termica di una sostanza la quantità di energia termica necessaria per aumentare di un grado centigrado la temperatura. Dal momento che l'aumento della temperatura dell'acqua richiede una notevole quantità di energia termica per la rottura dei legami a idrogeno intermolecolari, si comprende il motivo della sostanziale stabilità termica degli oceani e dei mari al variare delle stagioni; anche i cambiamenti climatici delle zone costiere sono mitigati dalla presenza delle grandi distese di acqua.

Tensione superficiale

L'acqua è caratterizzata anche da un'elevata tensione superficiale, poiché le molecole presenti in superficie sono legate con legami a idrogeno a quelle immediatamente sottostanti: è questa la proprietà che rende possibile riempire un recipiente un po' al di sopra del suo margine superiore senza che l'acqua in eccesso si riversi fuori.

E'una caratteristica anch'essa importante per la vita, ad esempio per il trasporto dell'acqua negli xilemi degli steli delle piante. La tensione superficiale mantiene la colonna d'acqua unita e forze adesive mantengono l'acqua aderente allo xilema; colonne altrettanto alte e sottili di liquidi meno coesi e meno aderenti andrebbero a spezzarsi, formando sacche d'aria o di vapore e rendendo inefficiente fino all'impossibilità il trasporto del liquido attraverso lo xilema.

Calore di vaporizzazione

L'acqua possiede un elevato calore di vaporizzazione. Poiché passando dallo stato liquido a quello gassoso (evaporazione) assorbe una notevole quantità di calore dall'ambiente circostante, l'evaporazione raffredda l'ambiente: ciò spiega anche il motivo per cui, per contrastare l'innalzamento della temperatura corporea, il nostro organismo reagisce con la sudorazione. Questa proprietà spiega anche perché le zone costiere hanno un clima più temperato rispetto alle zone più interne e ha contribuito allo sviluppo della vita negli ambienti acquatici nei climi più torridi.

Proprietà solventi

Le proprietà solventi dell'acqua sono essenziali per gli esseri viventi, dato che consentono lo svolgersi delle complesse reazioni chimiche che costituiscono le basi della vita stessa (ad esempio, quelle che avvengono nel sangue o nel citoplasma della cellula).

Chimicamente l'acqua è un buon solvente, grazie alle sue caratteristiche polari. Quando un composto ionico o polare viene messo in acqua, viene circondato dalle sue molecole le quali, con le loro

piccole dimensioni, si inseriscono tra uno ione e l'altro o tra una molecola e l'altra di soluto orientandosi in modo da presentare ad ogni ione (o estremità polare) del soluto la parte di sé che reca la carica opposta: questo indebolisce l'attrazione tra gli ioni (o tra le molecole polari) del soluto e ne rompe la struttura cristallina. Ogni ione (o ogni molecola polare) si ritrova quindi solvatato, cioè circondato completamente da molecole d'acqua. Un esempio di soluto ionico è il comune sale da cucina (cloruro di sodio), un esempio di soluto molecolare polare è lo zucchero.

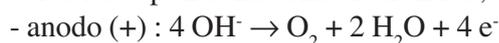
In generale, le sostanze ioniche polari (quali acidi, alcoli e sali) sono abbastanza solubili in acqua, mentre non lo sono le sostanze non polari (quali grassi ed oli). Queste ultime non si miscelano all'acqua perché per quest'ultima è energeticamente favorita la formazione di legami a idrogeno al suo interno, piuttosto che legami di Van der Waals con molecole non polari.

Tale proprietà influenza anche il grado di inquinamento dell'acqua a seconda che si tratti di ioni inorganici semplici o di molecole organiche complesse. Gli inquinanti inorganici sono costituiti principalmente da ioni di metalli pesanti e da fertilizzanti inorganici (fosfati e nitrati): insieme ai detergenti organici ionici sono molto polari e solubili in acqua. I metalli pesanti hanno effetti diversi, mentre i fertilizzanti sono la principale causa del fenomeno dell'eutrofizzazione. Gli inquinanti organici sono composti solitamente da carbonio e da carbonio e idrogeno in catene lunghe, sono non polari ed hanno ridotta o nessuna solubilità in acqua, avendo carica elettrica ridotta o nulla (idrocarburi aromatici e non, PCB, insetticidi e alcuni detergenti non ionici): il loro principale effetto è quello di accumularsi nella fase lipidica degli organismi e di risalire la catena alimentare.

Conducibilità

L'acqua pura è un buon isolante elettrico (cioè un cattivo conduttore) ma, essendo anche un buon solvente, spesso reca in sé tracce di sali disciolti, che con i loro ioni ne aumentano la conduttività elettrica.

Tramite un processo chiamato elettrolisi, l'acqua può essere scomposta nei suoi componenti elementari, l'idrogeno e l'ossigeno, essendo parzialmente dissociata in ioni H^+ e OH^- . Questi migrano verso i due poli della cella elettrolitica, dove avvengono le seguenti reazioni:



Ossigeno e idrogeno formano bolle di gas sulla superficie degli elettrodi, da cui possono essere raccolti.

pH

Il pH è definito come l'inverso del logaritmo della concentrazione idrogenionica di un composto e rappresenta la stima dell'acidità o basicità di una sostanza.

In teoria il pH dell'acqua pura è 7; in pratica, date le sue buone capacità solventi, l'acqua pura è difficile da produrre ed in natura non esiste.

Per semplice esposizione all'aria, l'acqua ne dissolve l'anidride carbonica formando una soluzione molto diluita di acido carbonico, che può arrivare fino ad un valore di pH di 5,7. Similmente si comportano le gocce di pioggia, che quindi hanno sempre una minima acidità. La presenza di ossidi di zolfo o di azoto nell'atmosfera, tramite la loro dissoluzione nelle gocce di pioggia, porta a precipitazioni a carattere acido, che hanno valori di pH ben inferiori (3,5 - 2,5) ed i cui effetti sull'ambiente sono diversificati a seconda dell'area colpita.

In genere, i suoli caratterizzati dalla presenza di rocce calcaree sono in grado di neutralizzare direttamente l'acidità per la presenza dei carbonati che permettono di mantenere costante il pH: alla lunga però il potere tampone del terreno si esaurisce ed il suolo si acidifica. I terreni più sensibili sono

quelli derivati da rocce cristalline, come ad esempio il granito e le quarziti. Nei suoli poveri o totalmente privi di calcare gli inquinanti acidi causano l'impoverimento ulteriore del terreno per la perdita di ioni calcio, magnesio, potassio e sodio: avviene lo scambio degli ioni idrogeno liberati dagli acidi con questi cationi, che possono così essere solubilizzati e trasportati via con le acque di percolazione. Il processo comporta anche la liberazione nel terreno degli ioni metallici che risultano spesso tossici per le piante: in particolare il forte abbassamento del pH provoca la liberazione dell'alluminio trivalente, estremamente tossico. L'abbassamento del pH nel terreno può anche causare la compromissione di molti processi microbiologici, fra i quali l'azotofissazione (il processo che comporta l'arricchimento di azoto nel suolo tramite la fissazione dell'azoto molecolare atmosferico).

Anche i corpi idrici sono soggetti ai fenomeni di acidificazione, soprattutto nelle aree in cui sono presenti suoli che non sono in grado di tamponare l'azione degli inquinanti acidi. Il fenomeno si è manifestato soprattutto nei laghi della Scandinavia, degli Stati Uniti nordorientali e del Canada sudorientale. Le conseguenze sugli organismi acquatici possono essere sia dirette (dovute alla tossicità delle acque) che indirette (dovute alla scomparsa dei vegetali o delle prede più sensibili costituenti parte della catena alimentare). In un lago, ad esempio, l'acidità può modificare le popolazioni di diatomee e di alghe brune e può alterare sia la distribuzione che la varietà della fauna ittica: lo sviluppo embrionale di alcuni pesci viene bloccato già a valori di pH inferiori a 6, mentre ad un pH inferiore a 5 cessa la riproduzione della maggior parte dei pesci e cominciano a scomparire alcune specie, prime fra tutte i salmoni e le trote.

Nell'acqua delle falde, dei fiumi e delle sorgenti esiste sempre una certa quantità di sali disciolti e la sua composizione chimica dipende strettamente dal tipo di terreno con cui viene a contatto e da cui riesce a disciogliere minute quantità di minerali. Ad esempio, l'acqua che attraversa un terreno calcareo sarà ricca in calcio. Nelle zone vulcaniche, dove magma e/o gas risalgono dall'interno della Terra verso la superficie, l'acqua contenuta nel terreno può avere caratteristiche particolari: in genere ha una temperatura più elevata del normale ed è più ricca in sali, spesso sulfurei (acque termominerali).

2.2 L'importanza dell'acqua nell'ecosistema

Come si è già potuto capire, l'acqua è l'elemento fondamentale per la vita, anzi è in essa che la vita sulla Terra ha avuto origine più di 3,5 miliardi di anni fa. Si pensi che ricopre la maggior parte della superficie terrestre, per circa 3/4 sotto forma di oceani e per il resto come fiumi, laghi, ghiacciai, etc. E' stato stimato che la quantità totale di acqua presente sul nostro pianeta sia pari a quasi 1400 milioni di chilometri cubi, suddivisi all'incirca nel modo seguente :

- il 96,5% si trova negli oceani;
- l'1,74% nei ghiacciai e ghiacci polari;
- l'1,7% nelle acque sotterranee.

Il resto dell'acqua si trova nei fiumi, nei laghi, nell'atmosfera e negli organismi viventi, ma le quantità sono molto piccole rispetto a quelle riportate sopra: ad esempio, l'acqua contenuta in tutti i fiumi del mondo rappresenta solo lo 0,0002% del volume totale, mentre quella contenuta negli organismi viventi circa lo 0,0001%. Dai dati riportati, si evince che la maggior parte dell'acqua sul nostro pianeta è acqua salata: l'acqua dolce, infatti, rappresenta solo il 2,5% del totale.

Inoltre, è chiaro che l'acqua presente sulle terre emerse si trovi tanto in superficie (fiumi, ghiacciai, etc.) quanto nel sottosuolo (acque sotterranee).

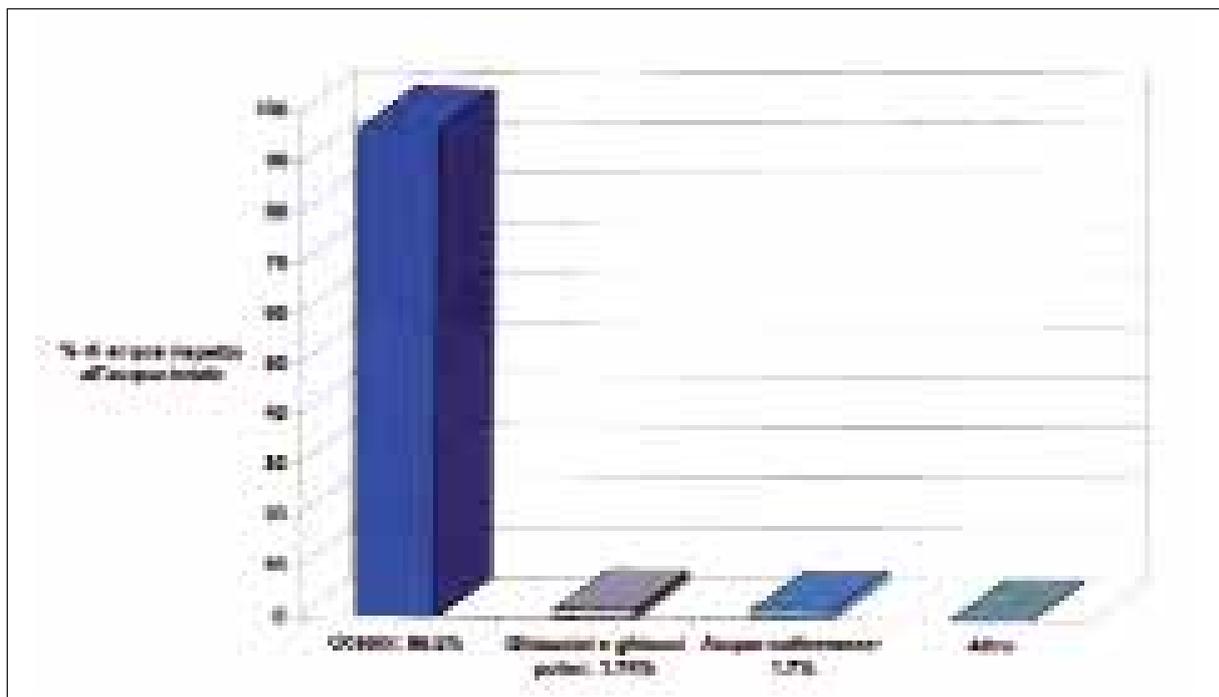


Figura 2. Distribuzione percentuale dell'acqua sulla terra

2.3 Il ciclo dell'acqua



Figura 3. Ciclo dell'acqua

L'acqua sul nostro pianeta si presenta in tutti i suoi stati di aggregazione (liquido, solido o ghiaccio, aeriforme o vapore acqueo) e si trasforma continuamente da uno all'altro: il vapore si trasforma in liquido (pioggia), l'acqua dei mari evapora, la neve e il ghiaccio si sciolgono e così via. Questo è il ciclo dell'acqua (o ciclo idrologico) e descrive il continuo scambio di acqua tra l'atmosfera, il suolo, l'idrosfera (acque di superficie e sotterranee) e gli esseri viventi: durante i vari cambiamenti la quantità d'acqua totale rimane praticamente costante.

I più comuni ed evidenti processi del ciclo dell'acqua sono l'evaporazione e le precipitazioni. L'evaporazione è quel processo che fa passare l'acqua dalla superficie terrestre (oceani, laghi, etc.) all'atmosfera ed è regolato principalmente dall'energia solare. Dopo un percorso più o meno complesso, dalle nuvole l'acqua torna sulla terra sotto forma di precipitazioni, ovvero pioggia, neve, grandine o semplicemente nebbia. Nelle zone più fredde, l'acqua delle precipitazioni rimane intrappolata in nevai o ghiacciai che, anche se molto lentamente, scorrono verso quote più basse dove si sciolgono. Basti pensare che nelle regioni polari questo meccanismo di scorrimento è talmente lento che nei ghiacciai si può trovare anche acqua caduta sulla superficie terrestre decine di migliaia di anni fa: in questo senso, i ghiacciai possono essere considerati come le ultime riserve di acqua perfettamente intatta del pianeta.

Una volta di nuovo sulla terra, l'acqua può seguire tre vie. Innanzitutto, può limitarsi a scorrere in superficie, originando prima rivoli, poi torrenti ed infine fiumi. La morfologia del territorio, in parte creata proprio dall'acqua, ne influenza a sua volta lo scorrere, facilitando la formazione dei laghi o la convergenza dei fiumi. La seconda possibilità è quella di infiltrarsi nel terreno, fino ad arrivare ad alimentare le falde sotterranee, in alcuni casi veri e propri laghi o fiumi che scorrono nel sottosuolo. Anche in alcune aree desertiche si può trovare acqua nel sottosuolo: si tratta per lo più di acqua "fossile", infiltrata nel terreno centinaia o migliaia di anni fa, quando in quelle aree il clima era evidentemente diverso. Tuttavia, le acque fossili costituiscono riserve destinate ad esaurirsi, poiché si trovano in zone ormai aride in cui non si infiltra più (o quasi) nuova acqua piovana nel terreno. Sempre in merito alle zone desertiche, un caso particolare di riserve d'acqua è costituito dalle oasi, che in genere si formano quando dal sottosuolo di un'area desertica emerge acqua proveniente da aree vicine con clima più umido. Infatti, la pioggia delle aree umide in parte si infiltra nel terreno e, scorrendo lentamente nel sottosuolo, può raggiungere quelle aride.

Comunque, in ogni zona climatica tra le acque superficiali e le acque sotterranee si verificano scambi continui.

Una grande percentuale delle acque piovane segue la terza via: una volta raggiunta la superficie terrestre evapora, o direttamente dal suolo, o dopo essere stata assorbita dalle piante (evapotraspirazione).

Semplificando un bilancio globale in realtà molto complesso, si può dire che un terzo delle precipitazioni scorre sulla superficie, un terzo si infiltra nel sottosuolo ed un ultimo terzo evapora dal suolo o attraverso la traspirazione delle piante.

Il ciclo dell'acqua può essere quantificato considerando che, in media, ogni anno sulla Terra si ha che :

- evaporano dagli oceani circa 503000 km³ d'acqua;
- evaporano dai continenti circa 65000 km³ d'acqua;
- piovono sugli oceani circa 458000 km³ d'acqua;
- piovono sui continenti circa 110000 km³ d'acqua;
- arrivano al mare dai continenti circa 45000 km³ d'acqua.

L'attività antropica può provocare delle alterazioni al ciclo dell'acqua: ad esempio, le modificazioni portate al suolo o alla vegetazione vanno ad interferire con la parte del ciclo idrologico che riguarda l'evaporazione e l'evapotraspirazione.

2.4 Le acque continentali: fiumi e laghi

Quando si parla di acque continentali ci si riferisce alle acque interne, generalmente dolci, che scorrono sulla superficie terrestre (laghi, corsi d'acqua) o nel sottosuolo (falde sotterranee).

Da un punto di vista ecologico, le acque superficiali rivestono maggiore importanza, costituendo habitat insostituibili per numerose specie animali e vegetali. I fiumi ed i laghi rappresentano uno tra gli ambienti a più alta diversità biologica e svolgono un ruolo ecologico fondamentale. I laghi sono forse il sistema acquatico più delicato: le dimensioni limitate (rispetto alla vastità degli oceani) ed il



Figura 4. Scorcio di fiume

lento ricambio d'acqua fanno sì che siano soggetti più di altri alle perturbazioni antropiche e alle loro conseguenze. Caso emblematico è quello di alcuni laghi alpini considerati fino ad ora intatti, in cui invece sono state trovate tracce di inquinamento. Ma anche i grandi laghi non sono al sicuro: ad esempio il lago Baikal in Siberia, il maggiore al mondo per profondità e che racchiude il 20% delle acque dolci del pianeta, rischia di perdere l'originaria purezza delle sue acque ed i complicati equilibri dei suoi ecosistemi a causa di una forte influenza antropica.

La vita dei laghi dipende in buona parte da quella dei fiumi che in essi si immettono. Se un fiume è inquinato, anche il lago di cui quel fiume è immisario risentirà di quello stesso inquinamento. Ma se ad un lago vengono a mancare gli apporti di acqua da parte dei fiumi, esso è destinato alla scomparsa. È il caso del lago Aral nell'Asia centrale, un tempo il quarto lago del mondo, oggi ridotto a circa il 40% delle sue dimensioni originarie in seguito al dirottamento per scopi irrigui dei due suoi principali affluenti. Anche i laghi di dimensioni minori rivestono una notevole importanza in campo ecologico. Le superfici di acqua dolce (piccoli laghi e stagni) costituiscono delle vere e proprie oasi per la fauna selvatica, rappresentando siti ottimali per la sosta degli uccelli di passo, riserve di acqua per la fauna stanziale e habitat ideali per anfibi, pesci ed uccelli acquatici. Un esempio di questo genere è rappresentato dallo Stagno Urbani di Fano, che conserva elevate naturalità e biodiversità pur essendo nei pressi della città ed in cui trovano rifugio diverse comunità di anfibi e altre specie animali; così come nel Lazio e in Lombardia zone umide che rappresentano habitat ed ecosistemi unici sono rispettivamente il Lago di Sabaudia e le Valli Del Mincio.

Molto spesso si tende a considerare i fiumi come sistemi statici, in cui gli equilibri raggiunti sembrano immutabili. In realtà, sono sistemi estremamente dinamici, in cui sia la struttura morfologica che la composizione naturale subiscono evoluzioni lente ma costanti. Pensando al fiume è bene non fare riferimento soltanto al letto in cui scorre il flusso di acqua, ma a tutta quella parte di territorio circostante che vive proprio in relazione ad esso. In un contesto naturale, in cui le interferenze antropiche sono limitate, l'assetto del fiume è strutturato in modo tale da interagire con gli ambienti circostanti: la conformazione degli argini, le caratteristiche delle zone di esondazione (le aree che vengono sommerse nei casi di piena), la stessa vegetazione ripariale sono fatte in maniera tale da vivere in sintonia con il fiume e da trarne i maggiori benefici in termini ecologici.

Anche un'esondazione, spesso tragica qualora coinvolga costruzioni umane, può essere benefica per un ambiente naturale. Solo per fare un esempio, lungo il corso dei fiumi si possono sviluppare delle aree umide ai fianchi dell'alveo, in zone in cui giungono solamente le piene con meandri morti. Que-

ste zone rappresentano una garanzia di stabilità e purezza delle acque in quanto la vegetazione ripariale consolida i versanti e il letto del fiume e la presenza di una consistente copertura vegetale contribuisce alla purezza delle acque del fiume attraverso fenomeni di fitodepurazione naturale. I sempre più frequenti episodi di alluvioni ed allagamenti hanno spinto le amministrazioni verso interventi di gestione del fiume, al fine di limitare l'erosione degli alvei e le esondazioni. Uno dei più comuni è quello di incanalare il percorso del fiume con blocchi di cemento (primate), trasformando gli argini in terrapieni di terra e ghiaia, sopraelevati rispetto al piano-campagna e lontani anche centinaia di metri dagli alvei di morbida del fiume. In questo modo, però, il fiume viene letteralmente snaturato, poiché la vita degli argini, potenzialmente ricca e vivace, viene artificiosamente sostituita da pochi arbusti e dalle ancor meno specie in grado di adattarsi a questo nuovo habitat. La perdita della vegetazione originaria, inoltre, limita la capacità autodepurativa del fiume ed aumenta i fenomeni di erosione. Le grandi portate sono fatte passare in alvei strettissimi e la nuova struttura degli argini non è in grado di limitare l'espansione naturale delle acque di piena, che necessiterebbero di uno spazio maggiore ove esondare e venire riassorbite dal suolo. Ferma restando l'innegabile necessità di porre rimedio ad episodi che, pur essendo una risposta della natura a modificazioni dell'uomo estranee ad essa, creano danni economici e non solo alle popolazioni coinvolte, si sottolinea l'importanza di inserire qualsiasi intervento di gestione di corpi idrici superficiali in un'ottica globale del contesto in cui ci si muove. Peraltro, la crescente periodicità e violenza di nuovi fenomeni incontrollabili come le alluvioni è la risposta ad interventi invasivi da parte dell'uomo, i quali hanno rotto vecchi equilibri. Il disboscamento e la cattiva gestione del territorio che alterano la normale evoluzione dell'ambiente fluviale, l'estrazione di sabbia e ghiaia per le costruzioni, il prelievo delle acque a vari scopi (energetici, industriali, agricoli e potabili) con captazioni e dighe, l'inquinamento di origine industriale, agricola e urbana, o, a scala planetaria, i cambiamenti climatici, sono solo alcuni degli esempi delle alterazioni a danno dei sistemi fluviali o lacustri. Di alcuni di questi aspetti parleremo più diffusamente nei paragrafi successivi.

2.5 Le acque oceaniche: mari e oceani

I mari e gli oceani sono la più grande riserva d'acqua del Pianeta. Essi ricoprono quasi i 3/4 di tutta la superficie del globo ed ospitano un numero grandissimo di forme di vita, molte delle quali ancora sconosciute. La vita presente nei mari, oltre ad avere un elevato valore ecologico, è importante anche da un punto di vista sociale, in quanto proprio sulla pesca si basano ancora oggi molte società umane.

Per la loro vastità i mari e gli oceani sono sempre stati considerati un enorme serbatoio senza fine in cui poter scaricare senza gravi danni. Oggi sappiamo

che sono in realtà ecosistemi in delicato equilibrio che rischiano di essere compromessi e che risentono di quelle forme di inquinamento comunemente chiamate "globali". Gli sconvolgimenti a livello climatico ne sono un esempio. L'incremento dell'effetto serra ed il conseguente aumento della temperatura media dell'aria hanno avuto tra i primi effetti quello di riscaldare le masse d'acqua



Figura 5. Oceano

oceaniche. Le conseguenze di questo fenomeno sono numerose ed in gran parte ancora imprevedibili. Se è vero che la vastità degli oceani riesce a far fronte ad eventuali effetti negativi, le acque marine (limitate, meno profonde e con meno ricambio) possono subire danni anche maggiori. Un cenno particolare meritano le acque marine costiere, in quanto sono quelle più influenzate dall'antropizzazione. I sempre più frequenti fenomeni di eutrofizzazione che si verificano ad esempio nelle coste del Mediterraneo sono diretta conseguenza dell'apporto di sostanze inquinanti da parte dei fiumi che sfociano in mare. A questo si aggiungono sversamenti diretti (accidentali o abusivi) di sostanze nocive per gli ecosistemi acquatici che possono portare alla rovina o alla perdita di interi habitat e che possono essere effettuati direttamente in mare o nei fiumi che poi giungono al mare. Legato ai fiumi è anche il discorso dell'erosione delle coste: la diminuzione dell'apporto di detriti (sabbia, piccoli pezzi di roccia, etc.) da parte dei fiumi alla foce, è tra le maggiori cause dei fenomeni di erosione delle coste.

2.6 Le aree umide

Gli ambienti in cui la presenza di acqua è la caratteristica dominante sono ricchi di vita ed in generale ospitano i più alti livelli di biodiversità. Sia le acque marine (in prossimità delle coste) che quelle continentali possono dare origine a zone umide (come aree palustri e lacustri, aree fluviali, zone umide marine, di estuario e create da laghi ed invasi artificiali) che sono tra gli ecosistemi più ricchi e complessi del pianeta. Si tratta di sistemi dinamici ed estremamente sensibili agli eventi esterni che possono essere causati dall'attività umana o dalla natura ed in generale con scarsa difesa nei confronti dell'inquinamento.

Le aree umide hanno un grande valore ecologico ed un'importante funzione nella conservazione della biodiversità. La loro tutela coincide con la tutela di un patrimonio unico ed irrinunciabile e deve partire dalla conoscenza delle dinamiche che le governano. Dal punto di vista ecologico, infatti, le zone umide sono considerate fra gli ecosistemi più ricchi di vita in assoluto: in quanto zone di contatto tra differenti vegetazioni, differenti habitat e mosaici ambientali, esse possono essere definite ecotoni. In queste zone di transizione, nonostante le ridotte dimensioni, si sviluppano una serie di processi e di dinamiche tra gli individui delle popolazioni che li abitano, fondamentali per comprendere quei medesimi passaggi che regolano ecosistemi più "grandi" e quindi difficili da osservare nella loro complessità.

Gli ecotoni comprendono sia specie appartenenti alle diverse comunità degli habitat in contatto, sia specie che solo nella zona di transizione trovano adeguate condizioni di vita. Gli ambienti umidi sono quindi visti come habitat peculiari ma anche come zone di frontiera tra due sistemi ecologici differenti, dove la sovrapposizione di ambienti diversi favorisce la ricchezza di specie. Grazie alla loro composizione e alla loro struttura complessa, svolgono altre importanti funzioni e producono utili risorse paesaggistiche ed economiche:

- riducono gli effetti devastanti delle alluvioni immagazzinando l'acqua piovana e rilasciandola successivamente in modo graduale;
- con la loro vegetazione consolidano il litorale diminuendo l'impatto delle onde e delle correnti;
- contribuiscono ad una migliore qualità dell'acqua fungendo da bacini di raccolta di sedimenti, nutrienti e sostanze tossiche;
- in certe condizioni, possono essere utilizzate per il trattamento terziario delle acque reflue di origine domestica;

-
- sotto forma di torbiere, esse possono ridurre le emissioni di CO₂, immagazzinando grandi quantità di carbonio;
 - forniscono risorse rinnovabili, quali canne e sale;
 - possono ospitare allevamenti di pesci, gamberi, uccelli acquatici ed animali da pascolo; inoltre, molte delle specie di pesci, molluschi e crostacei commercialmente utili passano almeno una parte del loro ciclo vitale nelle zone umide;
 - ospitano una ricca fauna selvatica.

La combinazione di tali funzioni e prodotti, insieme all'importanza culturale e naturale delle zone umide, rende tali ecosistemi insostituibili per l'uomo.

2.7 L'inquinamento delle acque

Abbiamo in parte già compreso che l'ecosistema acquatico è un sistema dinamico molto complesso, le cui proprietà chimiche, fisiche e biologiche variano continuamente a causa di fenomeni naturali o artificiali.

Se si trascurano le contaminazioni naturali, l'inquinamento dell'acqua può essere definito come una qualsiasi alterazione della qualità chimica, fisica, biologica o microbiologica dell'acqua che provoca un deprezzamento inaccettabile ai fini degli usi normali o della conservazione dell'ambiente.

Da questa definizione deriva una classificazione degli inquinanti in termini di componenti chimici, fisici, biologici e microbiologici.

- L'inquinamento chimico è generato dalle sostanze organiche ed inorganiche immesse nell'acqua, che possono espletare la loro azione inquinante sia in modo diretto sia in modo indiretto, attraverso processi biologici. L'azione diretta si esplica attraverso la sottrazione d'ossigeno al corpo idrico causata dalla presenza di sostanze riducenti (nitrati e/o fosfati), i quali vengono decomposti dai batteri che utilizzano per i loro processi vitali il gas disciolto. Quando le numerose popolazioni di batteri decompositori convertono tali sostanze, il livello di ossigeno nell'acqua può diminuire sensibilmente sino ad esaurirsi. Ciò porta allo sviluppo eccessivo delle alghe e di altre piante acquatiche, che esauriscono le riserve di ossigeno dell'acqua, e alla conseguente morte di altri organismi acquatici, quali i pesci. Un esempio di azione indiretta è quella esercitata dai metalli pesanti: basse concentrazioni di mercurio inorganico (sotto forma di sali) possono non esercitare un effetto diretto, mentre la trasformazione in derivati metilici, ad opera di microrganismi anaerobici, diminuisce profondamente il valore dell'acqua, dal momento che tali composti sono altamente tossici.
- L'inquinamento fisico può essere provocato da alterazioni del volume, della portata e del letto di un corpo idrico, dalla diminuzione o aumento di temperatura, dall'immissione di rifiuti solidi.
- L'inquinamento biologico è provocato dall'immissione in acqua di composti che rallentano o inibiscono lo sviluppo di quelle specie che, attraverso il loro metabolismo, intervengono normalmente nei processi di autodepurazione. Si possono menzionare tutte le sostanze acide o basiche che alterano la neutralità, i cationi dei metalli pesanti, i cromati, i cianuri e tutti gli inquinanti inorganici solubili in acqua. Grandi quantità di questi composti rendono l'acqua inadatta all'utilizzo potabile e causano, in ultima battuta, la morte della vita acquatica.
- L'inquinamento microbiologico è causato dall'introduzione nelle acque di microrganismi intestinali, tipo i coliformi (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, etc.), di agenti patogeni (*Salmonella*, *Shigella*, etc.), dei virus responsabili della trasmissione dell'epatite e della poliomielite ed in generale di tutti gli agenti di malattie (batteri, virus, protozoi e vermi parassitici) che si trovano nei sistemi fognari e in acque non trattate.

L'acqua può anche essere inquinata da un certo numero di residui organici quali oli, plastiche e anti-parassitari, che sono nocivi per gli esseri umani e per tutte le piante e gli animali presenti nell'acqua. Infatti, gli idrocarburi e gli oli pesanti formano sottili pellicole, talvolta addirittura monomolecolari, sulla superficie dell'acqua (slicks) che possono ostacolare il passaggio delle radiazioni solari e di conseguenza interferire sul ciclo vitale di microrganismi, vegetali e animali. Le plastiche e gli inquinanti non degradabili, cioè le sostanze e i veleni (lattine di alluminio, sali di mercurio, sostanze chimiche con radicali fenolici a lunga catena laterale, DDT) che non vengono degradati o vengono degradati molto lentamente, non solo si accumulano, ma durante il passaggio attraverso i cicli biogeochimici e le catene alimentari danno luogo alla cosiddetta "magnificazione biologica" e si possono combinare con composti presenti nell'ambiente, formando nuove sostanze tossiche. L'unica forma di riduzione di questo tipo di inquinamento consiste nell'eliminazione o nell'estrazione degli inquinanti dall'ambiente, che è però piuttosto costosa. Gli antiparassitari rappresentano poi un gruppo di composti organici di sintesi inesistenti sino a qualche decennio fa che possono dare, grazie al forte bioaccumulo, effetti più specifici sulle funzioni vitali degli organismi agendo in modo diverso a seconda della sostanza.

I sedimenti sospesi, invece, determinano da un lato una diminuzione nell'assorbimento della luce da parte dell'acqua impedendo le normali funzioni degli organismi acquatici (fotosintesi) e rallentando il bioritmo degli stessi, dall'altro contribuiscono a spargere nell'ecosistema acquatico residui pericolosi poco solubili come antiparassitari, detersivi, solventi e altri inquinanti.

Infine, residui radioattivi solubili in acqua possono causare difetti di nascita e danni genetici sia agli organismi acquatici, sia a tutti quelli che la utilizzano per scopi alimentari.

2.7.1 Cause dell'inquinamento

Le cause più comuni d'inquinamento dell'acqua possono essere ricondotte ad uno dei casi sotto riportati:

- inquinamento dell'atmosfera;
- sottrazione di risorse idriche;
- scarico di acque reflue in acque superficiali;
- scarico di rifiuti liquidi o solidi sul territorio;
- sviluppo di zone urbanizzate, industriali o agricole.

2.7.2 Inquinamento dell'atmosfera

L'inquinamento dell'atmosfera ha conseguenze anche sulla qualità delle acque, poiché influenza la contaminazione delle precipitazioni, della superficie del territorio per ricaduta e, quindi, dei corpi idrici. Prescindendo da quello di origine naturale, le principali sorgenti d'inquinamento atmosferico sono costituite dalle emissioni provenienti da impianti di combustione (per la produzione di energia elettrica, per il riscaldamento di fluidi vettori di calore per utenze civili e industriali, per l'incenerimento di sostanze di scarto o di rifiuti solidi urbani), da impianti industriali (raffinerie di petrolio, lavorazione di metalli non ferrosi, processi siderurgici, produzione della carta, etc.) e dai gas di scarico di mezzi di trasporto. Si possono invece considerare sorgenti secondarie di inquinamento atmosferico l'applicazione di prodotti chimici in agricoltura, l'evaporazione di insetticidi e così via.

Essendo l'atmosfera un aerosol, ossia una dispersione di particelle liquide o solide (fase dispersa) in un mezzo gassoso (fase disperdente), i suoi inquinanti vengono usualmente suddivisi in inquinanti del-

la fase disperdente e inquinanti della fase dispersa. I primi sono costituiti essenzialmente da derivati del carbonio (CO, CO₂, idrocarburi volatili), dell'azoto (NO, NO₂, N₂O₅), dello zolfo (SO₂, SO₃, H₂S, solfuri, mercaptani), nonché da tutti i composti volatili maleodoranti. Gli inquinanti della fase dispersa (inquinanti particellari) vengono, in genere, classificati sulla base delle loro dimensioni e dello stato fisico e sedimentano dopo un periodo di tempo più o meno lungo (dipendente dalle dimensioni e dalla densità) oppure rimangono sospese indefinitamente a causa dei moti dell'aria. Queste ultime particelle in parte ricadono ugualmente sul suolo, perché fungono da nucleo attorno al quale si formano le gocce di acqua nell'atmosfera o perché si solubilizzano nelle gocce d'acqua che cadono: questo è il meccanismo secondo cui avviene la ricaduta degli inquinanti della fase disperdente.

2.7.3 Sottrazione delle risorse idriche

La maggior parte dell'acqua utilizzata per la produzione di energia elettrica e per usi industriali viene restituita al patrimonio idrico in punti vicini a quello di prelievo, mentre l'acqua per usi domestici o per pubblici servizi viene generalmente restituita in zone lontane da esso. L'inquinamento dovuto alla semplice sottrazione d'acqua si può considerare parzialmente trascurabile nel primo caso, mentre può essere importante nel secondo in quanto il punto di captazione può subire una considerevole diminuzione della portata nel tempo con conseguenze sulla capacità di solubilizzazione di inquinanti, effetti sulla vita degli organismi e sull'ambiente circostante.

2.7.4 Scarico di acque reflue in acque superficiali

Nella maggior parte dei casi l'inquinamento delle acque è causato da attività umane. Sebbene vi siano diverse fonti artificiali che vi contribuiscono, solitamente negli studi scientifici e nella normativa si fa riferimento per lo più a sorgenti puntiformi e non puntiformi. Alla prima tipologia afferiscono tutte quelle situazioni in cui si hanno scarichi di sostanze inquinanti in punti specifici, attraverso condutture o fognature, nell'acqua di superficie: esempi di sorgenti puntuali sono fabbriche, stabilimenti di trattamento di acque reflue, miniere sotterranee, pozzi petroliferi, serbatoi per olio, allevamenti zootecnici. Al secondo tipo appartengono le sorgenti che non hanno un singolo punto di scarico, come depositi acidi provenienti dall'aria, traffico, sostanze inquinanti sparse nei fiumi o che entrano nell'acqua attraverso acqua freatica, campi agricoli. L'inquinamento non puntuale è il più difficile da controllare, dal momento che gli inquinanti non possono essere seguiti e non sono quindi noti origine e destinazione finale.

Per quanto riguarda i reflui scaricati in acque superficiali, questi vengono generalmente distinti in liquami urbani e scarichi industriali. Per liquame urbano si intende l'acqua utilizzata per scopi domestici o per pubblici servizi. Si presenta in genere come liquido molto torbido, di colore tendente allo scuro (verde-nero), e contiene sostanze organiche putrescibili, presenti in soluzione o sospensione colloidale, solidi in sospensione nonché una microflora specifica con presenza di forme patogene e parassitarie. I principali composti che vi si ritrovano sono carboidrati, proteine, amminoacidi, grassi animali e vegetali, urea, ammoniaca, saponi e detersivi.

Le acque di scarico industriale possono essere ulteriormente suddivise in acque di processo e acque di raffreddamento. La portata e le caratteristiche delle acque di processo variano fortemente da stabilimento a stabilimento e le variazioni possono essere notevoli anche nell'ambito di una stessa industria. Si possono, poi, avere variazioni giornaliere (dovute per esempio a processi discontinui), settimanali o stagionali (legate alla disponibilità di materia prima).

Le acque di raffreddamento comprendono le acque utilizzate per la produzione di energia elettrica, quelle delle apparecchiature e delle torri di raffreddamento, le acque di condensa e di abbattimento, di fumi e vapori, etc. Gli impieghi tanto diversi danno origine a effluenti estremamente diversificati per qualità e quantità. Nella maggior parte dei processi di lavorazione viene prodotto molto calore che deve essere rilasciato nell'ambiente, essendo calore in eccesso, ed il modo più economico di farlo è prelevare acqua in prossimità della superficie, utilizzarla all'interno dell'impianto e restituire acqua riscaldata al corpo idrico superficiale. Il calore liberato, però, ha effetti negativi sulla vita del ricettore e dà origine a tutti quei fenomeni noti come inquinamento termico. L'acqua più calda fa diminuire la solubilità dell'ossigeno ed induce gli organismi a respirare più velocemente. Questo provoca un aumento della mortalità o una maggiore suscettibilità alle malattie degli organismi acquatici.

2.7.5 Scarico di rifiuti liquidi o solidi sul territorio

Lo scarico di rifiuti liquidi o solidi sul territorio può costituire una causa di inquinamento, che localmente può anche non essere secondaria. Appartengono a questa categoria: i normali rifiuti solidi di origine domestica, commerciale o industriale (che dovrebbero essere smaltiti in forni di incenerimento); scarichi inerti, come calcinacci e detriti; scarichi solidi o liquidi molto densi di processi industriali, che per motivi tecnici o economici non vengono trattati; liquami domestici; scarichi industriali versati in pozzi perdenti.

Tali rifiuti possono dar luogo a fenomeni di inquinamento delle falde acquifere o direttamente o indirettamente per dilavamento causato dalla pioggia.

2.7.6 Sviluppo di zone urbanizzate, industrializzate, agricole

Lo sviluppo generale di un territorio può essere causa di inquinamento diretto o indiretto. Il primo è generato per esempio da scarichi industriali e civili o dal passaggio del materiale prodotto o accumulato nelle aree urbane nelle acque meteoriche, che si deteriorano tanto da essere considerate un problema analogo agli scarichi. Gli effetti indiretti più importanti dell'urbanizzazione possono essere:

- sottrazione di suoli ad alta capacità produttiva, soprattutto suoli irrigui, con relativa perdita di risorse economiche;
- depauperamento della falda idrica per emungimenti eccessivi;
- alterazione degli equilibri idrologici per diminuita infiltrazione delle acque meteoriche nel sottosuolo e per contemporanei prelievi diffusi di acqua di falda;
- sottrazione di aree boschive e in alcuni casi (dipendenti dalla tipologia del substrato) conseguente impermeabilizzazione del suolo che, insieme alla maggiore velocità dei deflussi superficiali durante le piogge, aumenta le portate idrauliche consegnate ai ricettori, aggravando i problemi connessi al controllo delle esondazioni;
- modifiche sostanziali del paesaggio vegetale con degrado e scomparsa della vegetazione autoctona.

A tali fenomeni vanno sommati gli effetti dovuti ad altri aspetti delle attività umane strettamente connesse all'espansione urbana:

- l'estrazione di materiali inerti in alveo ed extra-alveo per scopi edificatori, con conseguente variazione del regime idrologico delle falde e consumo di suoli a vocazione agricola;
- l'abbandono delle terre limitrofe ai centri urbani, con conseguente incremento di aree marginali e improduttive.

2.8 Le conseguenze

In base agli effetti provocati dall'inquinamento sull'uso e sul valore ambientale delle acque è possibile operare la seguente classificazione:

- effetti sull'aspetto dell'acqua;
- effetti sulla flora e sulla fauna acquatica;
- effetti generali sull'ambiente.

2.8.1 Effetti sull'aspetto dell'acqua

L'aspetto dell'acqua è determinato principalmente dai seguenti fattori:

- **Colore e torbidità:** causata dalla presenza di solidi sospesi, può essere associata ad un colore che il materiale sospeso conferisce all'acqua. La presenza di torbidità, oltre ad impedire l'utilizzo dell'acqua per molti scopi (e a conferirle un aspetto ed eventualmente odori e sapori sgradevoli), riduce la quantità di luce solare che penetra all'interno del corpo idrico. La velocità di fotosintesi viene conseguentemente ridotta con successiva diminuzione della produzione di ossigeno necessario per il normale bilancio dell'ambiente acquatico.
- **Presenza di oli minerali e vegetali e di grassi:** la maggior parte dei film oleosi osservati sull'acqua è originata da produzione, distribuzione ed uso di prodotti petroliferi; localmente possono assumere importanza inquinamenti derivati anche dalla distillazione del carbone o da oli vegetali e animali. Film con spessori elevati tendono a ridurre la velocità con la quale l'acqua assorbe l'ossigeno dall'aria, oltre a ridurre la percentuale di trasmissione della luce.
- **Accumulo eccessivo o persistente formazione di schiuma:** la presenza di schiuma sull'acqua può essere provocata da contaminanti di diverso tipo (sapone, detersivi, alcali), ma la causa più comune è la presenza dei tensioattivi. La sostituzione dei tensioattivi anionici non biodegradabili a catena alchilica ramificata (tensioattivi duri) con quelli biodegradabili a catena alchilica lineare (tensioattivi molli) avrebbe dovuto ridurre in modo drastico questo fenomeno. Il suo persistere è da attribuirsi allo scarico di acque parzialmente o completamente non trattate e all'uso, in alcune industrie, ancora di detersivi non ionici. Inoltre, la presenza simultanea di tensioattivi ionici e non ionici può avere un effetto sinergico, provocando la formazione di schiume che ciascun tensioattivo da solo non produrrebbe e diminuendo drasticamente sia la velocità di assorbimento d'ossigeno dall'atmosfera sia il passaggio di luce attraverso la superficie. Nel caso in cui siano presenti contemporaneamente prodotti detersivi e oli e grassi, i primi fungono da veicolo per la trasmissione dei secondi con un effetto ritardante dei processi di autodepurazione.
- **Accumulo di rifiuti, di scorie superficiali visibili e banchi di vegetali:** l'inquinamento connesso all'accumulo di detriti, contenitori di plastica, oggetti da gettare dopo l'uso ha non solo un effetto chimico notevole poiché le sostanze che li costituiscono non sono prive di rischio, ma anche un riguardevole effetto visivo in quanto, essendo poco biodegradabili, permangono nell'ambiente per tempi lunghi.
- **Crescita di "funghi" sul fondo di un corso d'acqua:** sul letto di corsi d'acqua che ricevono scarichi industriali di sostanze vegetali si può avere una crescita molto estesa di un batterio filamentoso, lo *Sphaerotilus natans*, con copertura anche dell'intero letto e distruzione della normale fauna.

2.8.2 Effetti su flora e fauna acquatica

La flora e la fauna di un ambiente acquatico possono essere alterate dagli agenti inquinanti in due modi: il primo è un cambiamento fisico dell'habitat in termini di volume, velocità di flusso, natura del letto e trasmissione della luce; il secondo è legato a variazioni chimiche dell'acqua e del letto del bacino.

Una modificazione della larghezza, altezza o portata di un corso d'acqua può condurre a mutamenti della vita acquatica. Per esempio, una notevole diminuzione del livello idrometrico di un lago o di uno stagno aumenta considerevolmente la luce trasmessa sul fondo, stimolando la fioritura di erbe e l'aumento del tipo o della quantità totale di invertebrati. Una diminuzione di portata ha come effetto primario l'aumento del tempo di ritenzione dell'acqua nel bacino ed effetti secondari dovuti alla crescita del fitoplancton. L'aumentata concentrazione di fitoplancton altera a sua volta la qualità chimica dell'acqua in seguito all'aumento di fotosintesi e di produzione di materia organica vegetale.

I principali fattori che modificano la qualità chimica dell'acqua o del suo alveo a spese della flora e della fauna sono:

- Aumento di torbidità e di sedimenti originati dal materiale solido sospeso: esso, alterando il bilancio di ossigeno, sfavorisce lo sviluppo della vita animale e vegetale. Il deposito di sedimenti sul fondo, inoltre, provoca una riduzione della popolazione animale perché copre i luoghi usuali di abitazione e di riserva di cibo. In aggiunta, se i solidi sedimentali sono di natura organica, i fenomeni di decomposizione anaerobica riducono il numero e le specie di animali presenti, poiché si formano prodotti di decomposizione inadatti alla vita.
- Riduzione dell'ossigeno disciolto nell'acqua per aggiunta in soluzione o in sospensione di materia organica biodegradabile: l'ossigeno disciolto nelle acque che raccolgono gli scarichi contenenti residui organici biodegradabili viene utilizzato per soddisfare la richiesta di ossigeno dei batteri i quali, attraverso processi di ossidazione, metabolizzano le sostanze organiche. L'attività batterica provoca un consumo di ossigeno, la cui concentrazione diminuisce progressivamente, con conseguente alterazione della natura dei processi chimici. Infatti, mentre in presenza di ossigeno (condizioni aerobiche) i prodotti di decomposizione sono biossido di carbonio, ammoniaca ed acido nitrico, acido solforico ed acido ortofosforico, in assenza di ossigeno (condizioni anaerobiche) i prodotti di decomposizione sono metano, ammoniaca, ammine, solfuro di idrogeno, fosfina e altri composti di fosforo, ossia prodotti tossici o maleodoranti. Pertanto, nel bilancio di ossigeno di un corpo idrico le entrate sono costituite dalla concentrazione di ossigeno disponibile in forma disciolta, mentre le uscite sono costituite dalla richiesta dei processi biochimici, tenuto conto delle portate in gioco. Se il bilancio è deficitario, nuovo ossigeno passa dall'aria alla fase acquosa. La velocità di riossigenazione del corpo idrico è condizionata dai fattori chimico-fisici che regolano il suddetto trasferimento. Il processo di depauperamento del contenuto di ossigeno disciolto è accelerato dalla presenza di sedimenti organici che, decomponendosi, esercitano localmente una forte domanda di O_2 . La presenza di tensioattivi o di film oleosi accelera ulteriormente il processo perché diminuisce la velocità di assorbimento dell'ossigeno dall'atmosfera; anche la presenza di ammoniaca comporta una domanda di ossigeno addizionale per l'ossidazione batterica a nitrati. Infine, se la temperatura dell'acqua viene artificialmente aumentata, la situazione si aggrava ancora di più perché la velocità di tutti i processi elencati aumenta all'aumentare della temperatura. Al variare delle condizioni di ossigenazione, quindi, corrisponde una variazione delle specie presenti fino a giungere alla scomparsa della vita animale (per effetto mortale diretto o per migrazioni) e della vita vegetale caratteristiche di un corso d'acqua naturale.

- Aggiunta di sostanze nutritive delle piante (nitrati e fosfati) ed eutrofizzazione: in genere l'arricchimento in nutrienti di corpi idrici è un fatto naturale, ma spesso viene favorito dalle attività umane quali l'agricoltura (aggiunta di concimi). L'eutrofizzazione è principalmente causata da un aumento di fosforo e azoto nelle acque ed ha un'influenza negativa sulla vita acquatica. L'apporto eccessivo di sali di questi elementi, infatti, provoca una crescita smisurata di fitoplancton e di alghe filamentose, che riduce la trasmissione della luce, mentre determinati batteri aerobici diventeranno più attivi. Questi batteri esauriscono ulteriormente i livelli di ossigeno, cosicché solo i batteri anaerobici possono rimanere attivi. Ciò rende la vita acquatica impossibile per i pesci e per altri organismi e la produzione e la disponibilità di alimenti per i pesci subirà un brusco calo. L'aumento di fotosintesi e di respirazione delle piante nell'acqua genera, inoltre, variazioni giornaliere nel contenuto di ossigeno disciolto, che sarà quindi meno disponibile per gli altri organismi. Infine, si possono verificare l'aumento di depositi organici sul fondo (che ancora aumenta la domanda di ossigeno) e la crescita di alghe infestanti, alcune delle quali possono produrre composti chimici altamente tossici per i pesci.

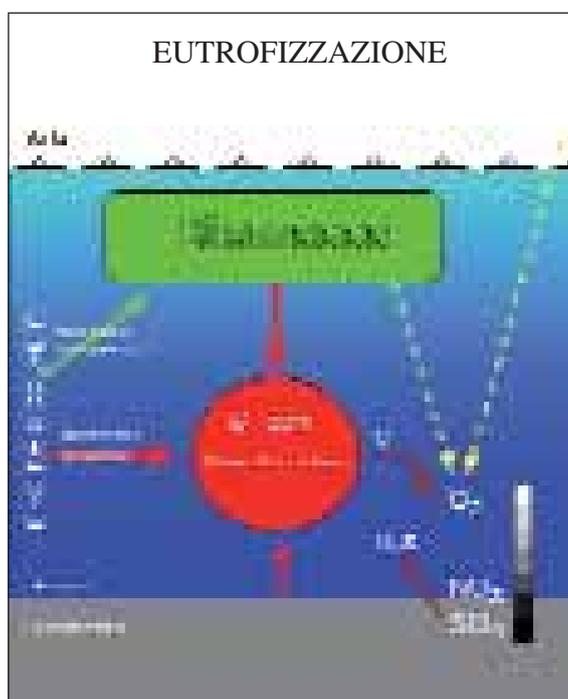


Figura 6. Eutrofizzazione

2.8.3 Effetti generali sull'ambiente

Gli effetti generali sull'ambiente possono essere suddivisi in effetti sull'igiene ambientale ed effetti ecologici indiretti.

Effetti dannosi sull'igiene ambientale sono procurati dallo scarico diretto di liquami domestici in corsi d'acqua o nel mare, con tutti i rischi d'infezione connessi. Da non sottovalutare sono pure gli odori provenienti sia dalle acque in condizioni anaerobiche, sia da sostanze di origine naturale o industriale.

Per quanto riguarda gli effetti ecologici indiretti, si ricordano due dei principali meccanismi. Il primo è la concentrazione in piante o organismi animali di sostanze non biodegradabili presenti nell'acqua in basse concentrazioni: le sostanze così concentrate possono essere poi trasmesse agli animali superiori nella catena ecologica. Ad esempio, la bioconcentrazione di insetticidi cloro-organici vede il coinvolgimento iniziale degli invertebrati, quindi il loro passaggio ai pesci e poi agli uccelli che di questi pesci si nutrono: gli effetti dannosi si riscontrano nel ciclo riproduttivo degli uccelli. Un secondo effetto indiretto è la biotrasformazione operata da organismi acquatici, i quali mutano sostanze tossiche non dannose presenti in basse concentrazioni in derivati organici molto tossici che, attraverso i pesci, possono essere trasmessi all'uomo.

3. L'ACQUA E LA SUA EVOLUZIONE NORMATIVA

3.1 Le fasi della legislazione ambientale internazionale

La nozione di “ambiente” è entrata con prepotenza nel linguaggio corrente a partire dagli anni '30 del secolo scorso. Essa si presta a riassumere i diversi aspetti del rapporto tra l'uomo e il mondo che lo circonda; le molteplici articolazioni geografico-territoriali in cui si sviluppa tale rapporto; il suo continuo svolgersi ed evolversi (Cecchetti, 2000).

In quell'epoca, si fece largo l'idea che alcuni comportamenti umani fossero dannosi per l'ambiente e la conservazione delle risorse e delle aree naturali divenne un'esigenza primaria sia sul piano sociale che giuridico. Si generò la consapevolezza che i problemi inerenti ad esso, in particolar modo la tutela dei luoghi nei quali l'uomo vive ed esplica le sue attività, dovevano trovare una risoluzione e una loro disciplina. Si giunse così all'affermazione dell'ambiente come valore, cui il Diritto doveva dare espresso ed inequivoco riconoscimento.

La convinzione di una certa responsabilità dell'uomo nei confronti dell'ambiente circostante aprì la strada all'idea che disposizioni normative, nazionali ed internazionali, potessero essere una soluzione per l'inquadramento della tutela ambientale. Il Congresso federale, con una propria legge, nel 1918 diede attuazione al Trattato stipulato tra Gran Bretagna e Stati Uniti, al fine di tutelare alcune specie di uccelli migratori nei loro spostamenti tra il territorio del Canada (allora dominio Britannico) e quello americano, vietando l'uccisione e la cattura delle specie protette su tutto il territorio degli Stati Uniti.

Dal secondo dopoguerra la tutela dell'ambiente entrò nei programmi delle organizzazioni internazionali di nuova formazione. La Carta dell'ONU non ne faceva esplicito richiamo, ma era chiara l'intenzione di inserire i problemi ambientali tra quelli economici, sociali, culturali ed umanitari affrontati nel documento. Indicazioni più specifiche si trovano nello statuto della FAO dove è prevista “la conservazione delle risorse naturali e l'attuazione dei metodi perfezionati di produzione agricola”. Queste iniziative, però, raggiunsero risultati modesti.

- 1) Una nuova impostazione delle problematiche ambientali nacque nel corso della *Conferenza di Stoccolma (1972)*, il cui documento conclusivo s'intitolò *Dichiarazione sull'ambiente umano*: “Le relazioni internazionali per proteggere e rendere migliore l'ambiente, dovrebbero essere affrontate con spirito di cooperazione da tutti i paesi grandi e piccoli, su un piano di uguaglianza. La cooperazione raggiunta attraverso accordi multilaterali o bilaterali o con altri mezzi appropriati, è indispensabile per limitare efficacemente, prevenire, ridurre ed eliminare le aggressioni all'ambiente risultanti da attività esercitate in qualsiasi ambito; ciò nel rispetto della sovranità e degli interessi di tutti gli Stati”. I principi affermati spaziarono molto più di quanto la sua denominazione non lasci immaginare. Si fece espresso riferimento ad aspetti riconosciuti come fondamentali nella vita dell'uomo: la libertà, l'uguaglianza e il diritto di vivere in un ambiente che garantisca dignità e benessere. Di grande rilievo fu il richiamo alla cooperazione degli Stati Membri in iniziative a favore delle vittime di inquinamenti o di altri danni ecologici e fu riconosciuto all'uomo il compito di salvaguardare l'ambiente per lo sviluppo della vita della propria generazione e di quelle future.
- 2) Dopo la Conferenza di Stoccolma, il tema fu ripreso dalla *Conferenza delle Nazioni Unite (1989)*. Si riconobbe la grande complessità dell'argomento e le grandi difficoltà implicite in un lavoro che avrebbe dovuto coinvolgere il mondo intero. L'Assemblea Generale dell'ONU in data 22 dicembre 1989 deliberò, con la risoluzione 44/228, la convocazione di un'altra Conferenza Mondiale su Ambiente e Sviluppo da tenersi a Rio de Janeiro.

3) La *Conferenza Mondiale su Ambiente e sviluppo di Rio (giugno 1992)* ha avuto importanti risultati tra cui l'istituzione di una commissione sullo sviluppo sostenibile – *Commission on Sustainable Development* – e la firma dei seguenti accordi:

- la *Dichiarazione di Rio sull'ambiente e lo sviluppo*;
- la *Convenzione Quadro delle Nazioni Unite*;
- la *Dichiarazione di principi per la conservazione e lo sviluppo sostenibile delle foreste*;
- l'*Agenda 21*.

Il piano, sottoscritto da circa 150 paesi, dovrà essere attuato a partire dal XX secolo e per l'intero XXI; la responsabilità della sua attuazione ricade su molti soggetti e implica il coinvolgimento del livello globale, nazionale e locale in ogni area in cui l'attività umana ha un impatto rilevante sull'ambiente.

4) La Convenzione Quadro ha fissato degli obiettivi che sono stati oggetto di ulteriore sviluppo nel *Protocollo di Kyoto*¹ del 1997.

5) Il vertice di Johannesburg, tenutosi tra il 26 agosto ed il 4 settembre 2002, ribadisce il concetto dello sviluppo sostenibile.

3.2 La tutela dell'ambiente nel diritto europeo: evoluzione storica

Quando ebbe inizio il processo di formazione europea, la sensibilità in materia ambientale era molto scarsa sia tra le forze politiche sia nell'opinione pubblica.

Le prime disposizioni in materia ambientale furono introdotte nella forma di regolamenti e direttive che sorressero l'attuazione di programmi di intervento comunitario. Il primo programma² si fondava sui Trattati di Roma e riguardava lo studio di varie problematiche. Il secondo programma³, di azione, portò l'impegno comunitario in materia di inquinamento e di perturbazioni ambientali, compresi interventi sulle acque, sull'atmosfera e per la prima volta anche sull'inquinamento acustico⁴. Nel terzo programma⁵ fu introdotta una valutazione sulle condizioni di vita ed un uso equo delle risorse naturali. Questi primi tre programmi costituiranno le basi per quella che sarà la vera e propria politica ambientale della Comunità Europea.

Seguirono programmi che si richiamano all'*Atto Unico Europeo*⁶, il quale introduce i principi della "sussidiarietà" e del "chi inquina paga".

¹ Con la Decisione del Consiglio dell'Unione Europea del 25 Aprile 2002 (n. 2000/358/CE), l'Europa ha approvato il Protocollo e l'adempimento congiunto degli impegni da parte degli Stati Membri.

² GUCE C/112, 20 dicembre 1973.

³ GUCE C/139, 13 giugno 1977.

⁴ Diritto dell'ambiente di R. GROSETTI, R. FERRARA, F. FRACCHIA, N. OLIVETTI RASON, cit., p. 21 "La politica ecologica, della quale si intende rafforzare il carattere preventivo, si collega ad un'attenta gestione del territorio, dell'ambiente e delle risorse naturali".

⁵ GUCE C/46, 17 febbraio 1983.

⁶ ATTO UNICO EUROPEO 1986, da Diritto dell'ambiente di R. GROSETTI, R. FERRARA, F. FRACCHIA, N. OLIVETTI RASON, cit. p. 27 "Tappa significativa verso l'Unione Europea di cui nel preambolo si prospetta la formazione, l'Atto Unico modifica il quadro istituzionale della Comunità. Le competenze comunitarie, e segnatamente quelle della CEE, vengono estese a nuovi settori tra i quali si annovera l'ambiente, alla cui disciplina sono dedicati un apposito capitolo, il VII, e altre disposizioni inserite in titoli diversi ma direttamente applicabili a detta materia. Guardiamo per incominciare l'art. 130R, c.1, nel testo del Trattato CEE così come risulta modificato dall'Atto Unico. Esso indica gli obiettivi che la politica della Comunità in materia ambientale contribuisce a perseguire".

Segue il *Trattato di Maastricht*, entrato in vigore il 1° gennaio 1993⁷, dove risulta fondamentale il dettame dell'art. 5.

Nel successivo *Trattato di Amsterdam*⁸ sono affermati i seguenti principi cardine.

• **Il Principio della precauzione**

Principio della precauzione trova nella Conferenza di Rio de Janeiro del 1992 la sua prima affermazione. Tale principio, contenuto nell'articolo 15 della Dichiarazione di Rio, afferma quanto segue: "Ove vi siano minacce di danno serio o irreversibile, l'assenza di certezze scientifiche non deve essere usata come ragione per impedire che si adottino misure di prevenzione della degradazione ambientale". Esso sembra quindi esprimere il saggio consiglio per cui "è meglio prevenire che curare", ma in realtà sostiene che non si devono applicare i risultati della ricerca scientifica fino a che non si sia sicuri della loro assoluta non pericolosità per l'ambiente. Attenzione al tema della cautela viene anche rivolta dall'art. 172.4 Trattato CE.

L'Unione Europea ratifica il principio di precauzione nella forma seguente: "Quando un'attività crea possibilità di fare male alla salute umana o all'ambiente, misure precauzionali dovrebbero essere prese anche se alcune relazioni di causa-effetto non sono stabilite dalla scienza". Funzione del principio di precauzione è la scelta, tra due o più orientamenti scientifici contrapposti, di quello che predilige le modalità più caute ed attente nella risoluzione di un problema.

• **Principio dell'azione preventiva**

Secondo la Comunità Europea il criterio in esame deve conformarsi ai generali principi della "buona gestione dei rischi", ovvero alla proporzionalità, coerenza, non discriminazione e all'analisi di vantaggi e svantaggi derivanti dalla scelta di agire o non agire sulla base della stabilità o meno delle misure da adottare, tenendo conto dell'evoluzione scientifica disponibile.

• **Principio della correzione, in via prioritaria alla fonte, dei danni causati all'ambiente**

I danni arrecati all'ambiente devono essere eliminati al più presto⁹. Tale principio regola una serie di questioni quali il controllo di sicurezza ambientale ovvero il contrassegno di quei prodotti che non contribuiscono ad aumentare l'inquinamento¹⁰.

• **Principio del "chi inquina paga"**

Dopo la precauzione e l'azione preventiva si ricorre alla correzione. La *ratio* del principio è quantomai chiara: tutti i costi inerenti alle misure, cautelative o correttive, da doversi adottare ai fini della salvaguardia dell'ambiente ricadranno sotto la responsabilità del soggetto che li ha determinati¹¹.

⁷ La prima novità è la modifica della sigla CEE (Comunità economica europea) in CE (Comunità europea). La nuova denominazione mette in luce i più ampi obiettivi perseguibili dall'azione comunitaria.

⁸ TRATTATO DI AMSTERDAM, entrato in vigore il 1° maggio 1999.

⁹ In Diritto dell'ambiente di R. GROSETTI, R. FERRARA, F. FRACCHIA, N. OLIVETTI RASON, cit., p. 37, Krämer "il più presto possibile per evitare che i (loro) effetti si moltiplichino".

¹⁰ Tipica espressione pratica del principio della correzione, in via prioritaria alla fonte, dei danni causati all'ambiente è rappresentata in Italia dai provvedimenti che vietano o limitano la circolazione automobilistica, quando l'inquinamento atmosferico superi certi limiti, risultando gravoso per la salute e per l'ambiente.

¹¹ In Diritto dell'ambiente di R. GROSETTI, R. FERRARA, F. FRACCHIA, N. OLIVETTI RASON, cit., p. 39. "L'idea di fondo è indirizzare produttore e consumatore verso alternative meno dannose ed evitare l'effetto perverso: "ho pagato, quindi inquina", Cecchetti.

3.3 La normativa ambientale italiana. Dal generale al particolare: i primi passi nella produzione normativa in materia di tutela delle acque

Per semplicità espositiva si distinguono 5 periodi nell'attività legislativa italiana in materia ambientale¹²:

Dagli anni '30 alla metà degli anni '60

I concetti di ambiente e di inquinamento non assumono un rilievo proprio e la loro tutela viene considerata solo in virtù di ulteriori scopi da perseguire. Tipico esempio è la legge sulla pesca del 1931, nel quale si stabilisce il divieto di gettare o infondere nelle acque materie atte a stordire o uccidere i pesci: è evidente che ciò che si vuole proteggere non è la purezza delle acque, ma l'ittiofauna e la possibilità di esercitare la pesca (in ultima istanza, l'attività commerciale umana).

Dal 1966 al 1987

Nel 1966 viene emanata la prima legge contro l'inquinamento che si occupa, in particolare, dell'inquinamento atmosferico provocato dalle industrie e dal traffico¹³. Si muovono i primi passi sul piano europeo con la nascita di numerose norme.

Nel 1976 viene emanata la prima legge sulla tutela delle acque, la cosiddetta Legge Merli. Storicamente prima legge italiana sull'inquinamento idrico, ha sostituito la precedente normativa, estremamente dispersiva tra le leggi in materia di igiene e sanità, pesca, acque e impianti elettrici e miniere¹⁴. Tale normativa si struttura in diversi punti: 1) ambito e finalità della legge; 2) competenze¹⁵; 3) piani di risanamento¹⁶; 4) regolamentazione degli scarichi.

Ancora, nel 1986 viene emanata la Legge Galasso a difesa dell'ambiente e del paesaggio. Nello stesso anno nasce il Ministero dell'Ambiente¹⁷.

Dal 1987 al 1993

In questo periodo vengono emanate molte leggi, spesso in contraddizione fra loro.

Dal Novembre 1993 al 1997

Questo periodo ha inizio nel momento in cui il Governo Ciampi ritenne che, per accelerare la ripresa economica del paese, fosse necessario eliminare i vincoli e le limitazioni imposte dalla normativa ambientale, andando così contro le direttive comunitarie. Si riscrisse la legge Merli, depenalizzando il settore degli scarichi civili e delle pubbliche fognature e furono create le categorie di "residui" e di "rifiuti" e nel 1994 fu emanata la cosiddetta Legge Galli (L.36/1994) recante "Disposizioni in materia di risorse idriche".

¹² G. Amendola, *La tutela penale dall'inquinamento idrico*, ed. Giuffrè Editore, IV ed. 2002.

¹³ LEGGE ANTISMOG.

¹⁴ Il Regio Decreto 11 dicembre 1933, n. 1775 (Testo Unico delle Acque) ha rappresentato il primo passo verso l'armonizzazione delle disposizioni legislative ed amministrative concernenti il settore idrico, diretto alla difesa degli usi comuni delle acque e soprattutto all'incentivazione di altri usi che incidono favorevolmente sul pubblico interesse. La legge 4 febbraio 1963 n. 129 ("Legge 129/1963") ha costituito il primo riferimento normativo a livello nazionale per la pianificazione idrico-potabile e ha previsto l'istituzione del Piano Regolatore Generale degli Acquedotti ("PRGA"). Il principio seguito nella Legge 129/1963 è stato quello di determinare gli schemi sommari in relazione ai quali individuare complessi di risorse idriche da attribuire e riservare a gruppi di abitati, in base al criterio della migliore rispondenza delle risorse al soddisfacimento idrico di ciascun gruppo.

¹⁵ L. 319/1976, artt. 2-6. Gli artt. 2 e 3 si occupano di disciplinare la competenza statale individuandola in una competenza di carattere generale di indirizzo e di coordinamento delle attività pubbliche e private in questa materia. Suo compito era quello di fissare gli obiettivi di qualità da perseguire e, in particolare, i criteri generali per un uso corretto e razionale dell'acqua. Ultimo compito era quello di prevedere il piano di risanamento delle acque. All'art. 4 sono disciplinate le competenze regionali che consistevano nel coordinare i programmi degli enti locali, rilevare le caratteristiche dei corpi idrici, integrare la normativa di controllo degli scarichi. Per quanto riguarda questi ultimi dovevano controllare le zone in cui era ammesso lo scarico di rifiuti, di liquami. Alla Provincia, dopo alterne vicende, vengono assegnate funzioni autorizzatorie con esclusione dell'ambito degli scarichi in pubbliche fognature. Con l'art. 6 si disciplinano le competenze del Comune che vengono individuate nella gestione dei servizi pubblici di fognature, acquedotto, depurazione di acque reflue, smaltimento dei fanghi di risulta.

¹⁶ La Legge Merli, con la previsione dei piani regionali di risanamento da presentarsi entro una data ben precisa (31 marzo 1982), riteneva di aver individuato lo strumento migliore per la previsione dello Stato del piano di risanamento nazionale. Lo Stato e, nello specifico, il Ministero dell'Ambiente, in base alle notizie raccolte mediante i singoli piani presentati dalle Regioni, avrebbe dovuto stilare un piano generale di risanamento. Fatto, quest'ultimo, mai verificatosi.

¹⁷ G. Amendola, *Inquinamenti: gli elementi essenziali di normativa e giurisprudenza in materia di acqua aria rumore rifiuti*, ed. EPC Libri, 2000, p. 12 "come risulta dal Ministero dell'Ambiente vengono promulgate 239 leggi. E' opportuno precisare che gran parte di queste leggi hanno come oggetto il disinquinamento (il 72%)".

Dal Febbraio 1997 ed ancora in corso

Questo periodo si apre con l'emanazione del decreto legislativo sui rifiuti, e le sue successive modifiche ed integrazioni¹⁸, fino a giungere al D.lgs 152/1999 sull'inquinamento idrico.

Lo sviluppo della legislazione ambientale è lento e difficoltoso nel corso del tempo. Una volta sancito il valore dell'ambiente in quanto risorsa, si afferma il giudizio per cui il miglioramento della salubrità dell'ecosistema sia un dovere dell'uomo e della società tutta.

Il nostro approfondimento mira, in particolare, allo studio dell'evoluzione della tutela delle acque. Percorrendo i passi del progressivo sviluppo normativo circa l'ambiente, è stato messo in luce come, via via che si ampliava la coscienza e la conoscenza della materia, questa si faceva più specifica e dettagliata nei diversi settori che la compongono.

L'acqua è un patrimonio del pianeta ed una risorsa indispensabile alla vita. La sua tutela e la sua protezione mirano al miglioramento dei corpi idrici per garantirne un ottimale stato qualitativo e quantitativo.

3.4 Oggi in Italia : il D.lgs 152/1999. I rapporti con il D.lgs 22/1997.

Le sue modifiche: D.lgs 258/2000

Il D.lgs 152 dell'11 maggio 1999, recante disposizioni sulla tutela delle acque superficiali, sotterranee e marine dall'inquinamento, ha riordinato l'intera normativa del settore idrico, *in primis* abrogando la Legge Merli e la Legge Merli-bis, pur facendone salvi gli effetti finanziari; *in secundis* modificando ed integrando il Testo Unico delle Acque¹⁹, la Legge 236/88²⁰, la Legge 183/89²¹ e la Legge Galli, ed ancora recependo le direttive 91/271/CE²² e 91/676/CE²³, rispettivamente in materia di tutela delle acque reflue e di tutela da inquinamento proveniente da fonti agricole.

Il Parlamento aveva delegato il Governo ad emanare un Testo Unico, delimitandone precisamente i confini: 1) dare attuazione alla direttiva comunitaria sulle acque reflue urbane ed a quella sui nitrati; 2) adeguare alla luce delle due direttive sopra richiamate la legislazione italiana in materia di tutela delle acque, in modo da pervenire ad un quadro omogeneo; 3) coordinare le azioni di risanamento da adottare per la tutela delle acque. In breve si trattava di rivedere la Legge Merli e le leggi che componevano il panorama legislativo italiano in materia di tutela delle acque, alla luce delle vicende comunitarie e delle direttive con cui coordinarsi.

L'art. 1, comma 1, dispone che *“il presente decreto definisce la disciplina generale per la tutela delle acque superficiali, marine e sotterranee, perseguendo i seguenti obiettivi: a) prevenire e ridurre l'inquinamento e attuare il risanamento dei corpi idrici inquinati; b) conseguire il miglioramento dello stato delle acque ed adeguate protezioni di quelle destinate a particolari usi; c) perseguire usi sostenibili e durevoli delle risorse idriche, con priorità per quelle potabili; d) mantenere la capacità naturale di autodepurazione dei corpi idrici, nonché la capacità di sostenere comunità animali e vegetali ampie e ben diversificate”*.

¹⁸ Primo intervento in materia di rifiuti è stato dettato dal D.P.R. 915/1982, poi sostituito dal D.lgs 22/1997.

¹⁹ Regio decreto 11 dicembre 1933, n.1775.

²⁰ D.P.R. 24 maggio 1988, n. 236 “Attuazione della direttiva n. 80/778/CEE concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, ai sensi dell'art. 15 della legge 16 aprile 1987, n. 183.”

²¹ “Ratifica ed esecuzione del protocollo relativo all'accordo di partenariato e di cooperazione tra le Comunità europee ed i loro Stati membri, da una parte, e l'Ucraina, dall'altra, fatto a Bruxelles il 10 aprile 1997”

²² Direttiva 91/271/CE, concerne il trattamento delle acque reflue urbane.

²³ Direttiva 91/676/CE, relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole.

La 319/1976 si occupava della legislazione inerente gli scarichi (pubblici e privati, diretti o indiretti) e dell'organizzazione dei pubblici servizi di acquedotto, fognatura e depurazione. Il D.lgs 152/99 non si limita a considerare solamente i fattori inquinanti e ciò che li determina, ma è una legislazione oltre che di azione, di prevenzione.

Si introduce la nozione di scarico. Il legislatore "codifica" il concetto di immissione occasionale, prescrivendo che ad essa si applichino le stesse sanzioni previste per chi supera i valori limite nel compimento di uno scarico.

Altro importante appunto da fare è che nella nozione di scarico non sono più compresi gli scarichi indiretti o, comunque, quelli non effettuati tramite condotta, i quali rientrano nell'ambito di applicazione del decreto legislativo sui rifiuti come rifiuti liquidi: infatti, per acque di scarico si intendono "*tutte le acque reflue provenienti da uno scarico*", inteso quest'ultimo come "*qualsiasi immissione diretta tramite condotta di acque reflue liquide, semiliquide e comunque convogliabili nelle acque superficiali, sul suolo, nel sottosuolo e in rete fognaria, indipendentemente dalla loro natura inquinante, anche sottoposte a preventivo trattamento di depurazione. Sono esclusi i rilasci di acque previsti all'art. 40*".

Inoltre, l'art. 14, 2 comma del D.lgs 22/1997 vieta "*la immissione di rifiuti di qualsiasi genere, allo stato solido o liquido, nelle acque superficiali e sotterranee*", come pure dispone pari divieto per "*l'abbandono e il deposito incontrollati di rifiuti sul suolo e nel sottosuolo*", prevedendo sanzioni amministrative o penali a seconda che l'autore sia un privato o un'impresa²⁴. Da una parte si ha un divieto assoluto rispetto a qualsiasi tipo di immissione di rifiuti nell'ambiente, dall'altro, con il D.lgs 152/1999, sembra tollerarsi la possibilità di immissioni di rifiuti, se occasionali e comunque rispettose dei valori limite²⁵.

Proseguendo nell'analisi del D.lgs 152/1999 si noti come il 2 comma del già richiamato art. 1, dispone che "*Il raggiungimento degli obiettivi indicati al comma 1 si realizza attraverso i seguenti strumenti: a) l'individuazione di obiettivi di qualità ambientale e per specifica destinazione dei corpi idrici; b) la tutela integrata degli aspetti qualitativi e quantitativi nell'ambito di ciascun bacino idrografico ed un adeguato sistema di controlli e di sanzioni; c) il rispetto dei valori limite agli scarichi fissati dallo Stato, nonché la definizione di valori limite in relazione agli obiettivi di qualità del corpo recettore; d) l'adeguamento dei sistemi di fognatura, collettamento e depurazione degli scarichi idrici, nell'ambito del servizio idrico integrato di cui alla legge 5 gennaio 1994, n. 36; e) l'individuazione di misure per la prevenzione e la riduzione dell'inquinamento nelle zone vulnerabili e nelle aree sensibili; f) l'individuazione di misure tese alla conservazione, al risparmio, al riutilizzo ed al riciclo delle risorse idriche*".

Accanto ad essi si deve considerare l'obbligo di autorizzazione: l'art. 45, comma 1, del medesimo decreto, dispone che "*tutti gli scarichi devono essere preventivamente autorizzati*", con l'unica eccezione costituita dal comma 4 in cui "*in deroga al comma 1 gli scarichi di acque reflue domestiche in reti fognarie sono sempre ammessi nell'osservanza dei regolamenti fissati dal gestore del servizio idrico integrato*²⁶".

²⁴ Decreto Ronchi, rappresenta la normativa quadro di settore in materia di inquinamento.

²⁵ In tal senso cfr. G. Amendola, *Inquinamenti: gli elementi essenziali di normativa e giurisprudenza in materia di acqua aria rumore rifiuti*, cit., p. 122 "oggi un rifiuto può essere immesso nell'ambiente solo se vengono rispettate le precise prescrizioni e gli specifici obblighi previsti dalle leggi di settore, altrimenti scatta il divieto dell'art. 14. Non a caso il primo di questi obblighi è quello di richiedere e di ottenere l'autorizzazione allo scarico e allo smaltimento"; nello stesso senso F. Giampietro, *Scarico, immissione e rifiuto liquido nel D.lgs 152/1999: disciplina complessa o eterogenea?* in *Ambiente 1999*, n. 8 pp. 755 e ss.

²⁶ Ripetizione, dopo le modifiche del decreto correttivo -D.lgs 258/2000-, di quanto già stabilito dall'art. 33 comma 2 ("gli scarichi di acque reflue domestiche che recapitano in reti fognarie sono sempre ammessi purché osservino i regolamenti emanati dal gestore del servizio idrico integrato"). La vera novità della correzione è costituita dall'eliminazione del comma 4 dell'art. 45 della frase "per gli insediamenti le cui acque reflue non recapitano in reti fognarie il rilascio della concessione edilizia è comprensiva dell'autorizzazione allo scarico". Così in G. Amendola, *La tutela penale dall'inquinamento idrico*, cit.

La *ratio* sottesa al regime autorizzatorio è quella di mettere la Pubblica Amministrazione in condizione di conoscere la quantità di scarichi esistenti per impostare una corretta politica del territorio e poter coordinare al meglio tale politica con i valori limite agli scarichi fissati dallo Stato.

La novità introdotta in tema di regime autorizzatorio, specie con riferimento alla Legge Merli, riguarda l'eliminazione della cosiddetta *autorizzazione tacita* conseguente alla mancata risposta da parte della P.A., dopo la presentazione della domanda. L'autorizzazione agli scarichi, infatti, non è più fondata sulla semplice richiesta bensì sul suo effettivo possesso²⁷. Tale innovazione viene inserita dal D.lgs 258/2000, che introduce nel nostro panorama legislativo delle disposizioni correttive ed integrative in materia di tutela delle acque dall'inquinamento. Vengono delineate più specificatamente le sanzioni da applicare, sia penali²⁸ sia amministrative²⁹, in caso di violazioni dei limiti scarico e, in ordine al regime autorizzatorio, si precisa che per lo scarico delle acque reflue industriali (art. 20), la domanda dovrà indicare la capacità di produzione del singolo stabilimento, ovvero la produzione, trasformazione o utilizzazione di tali sostanze nello scarico ed il fabbisogno orario di acque per ogni specifico processo produttivo.



Figura 7. Scarico in mare

²⁷ L'art. 45 comma 6 e 7 (quest'ultimo introdotto dal D.lgs 258/2000) "Salvo diversa disciplina regionale, la domanda di autorizzazione è presentata alla provincia ovvero al comune se lo scarico è in pubblica fognatura. L'autorità competente provvede entro novanta giorni dalla ricezione della domanda. Salvo quanto previsto dal decreto legislativo 4 agosto 1999, n. 372 (a), l'autorizzazione è valida per i quattro anni dal momento del rilascio. Un anno prima della scadenza ne deve essere chiesto il rinnovo. Lo scarico può essere provvisoriamente mantenuto in funzione nel rispetto delle prescrizioni contenute nella precedente autorizzazione, fino all'adozione di un nuovo provvedimento, se la domanda di rinnovo è stata tempestivamente presentata. Per gli scarichi contenenti sostanze pericolose di cui all'articolo 34, il rinnovo deve essere concesso in modo espresso entro e non oltre sei mesi dalla data di scadenza; trascorso inutilmente tale termine, lo scarico dovrà cessare immediatamente. La disciplina regionale di cui al comma 3 può prevedere per specifiche tipologie di scarichi di acque reflue domestiche, ove soggetti ad autorizzazione, forme di rinnovo tacito della medesima".

²⁸ All'articolo 59 del D.lgs n. 152 del 1999 sono apportate le seguenti modifiche: a) il comma 4 è sostituito dal seguente: "4. Chiunque, al di fuori delle ipotesi di cui al comma 5, effettua uno scarico di acque reflue industriali contenenti le sostanze pericolose comprese nelle famiglie e nei gruppi di sostanze indicate nelle tabelle 5 e 3/A dell'allegato 5, senza osservare le prescrizioni dell'autorizzazione, ovvero le altre prescrizioni dell'autorità competente a norma degli articoli 33, comma 1, e 34 comma 3, è punito con l'arresto fino a due anni."; b) dopo il comma 4 e' inserito il seguente: "4-bis. Chiunque viola le prescrizioni concernenti l'installazione e la gestione dei controlli in automatico o l'obbligo di conservazione dei risultati degli stessi di cui all'articolo 52 e' punito con la pena di cui al precedente comma 4."; c) il comma 5 è sostituito dal seguente: "5. Chiunque, nell'effettuazione di uno scarico di acque reflue industriali, supera i valori limite fissati nella tabella 3 o, nel caso di scarico sul suolo, nella tabella 4 dell'allegato 5 ovvero i limiti più restrittivi fissati dalle regioni o delle province autonome o dall'autorità competente a norma degli articoli 33, comma 1, in relazione alle sostanze indicate nella tabella 5 dell'allegato 5, è punito con l'arresto fino a due anni e con l'ammenda da lire cinque milioni a lire cinquanta milioni. Se sono superati anche i valori limite fissati per le sostanze contenute nella tabella 3A dell'allegato 5, si applica l'arresto da sei mesi a tre anni e l'ammenda da lire dieci milioni a lire duecento milioni."; d) il comma 6 è sostituito dal seguente: "6. Le sanzioni di cui al comma 5 si applicano altresì al gestore di impianti di trattamento delle acque reflue urbane che nell'effettuazione dello scarico supera i valori-limite previsti dallo stesso comma."; e) dopo il comma 6 sono inseriti i seguenti: "6-bis. Al gestore del servizio idrico integrato che non ottempera all'obbligo di comunicazione di cui all'articolo 36, comma 3, o non osserva le prescrizioni o i divieti di cui all'articolo 36, comma 5, si applica la pena di cui all'articolo 51, comma 1, del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22.6-ter. Il titolare di uno scarico che non consente l'accesso agli insediamenti da parte del soggetto incaricato del controllo ai fini di cui all'articolo 28, commi 3 e 4, salvo che il fatto non costituisca più grave reato, è punito con la pena dell'arresto fino a due anni. Restano fermi i poteri-doveri di interventi dei soggetti incaricati del controllo anche ai sensi dell'articolo 13 della legge n. 689 del 1981 e degli articoli 55 e 354 del codice di procedura penale. 6-quater. Chiunque non ottempera alla disciplina dettata dalle regioni ai sensi dell'articolo 39, comma 3, è punito con le sanzioni di cui all'articolo 59, comma 1."; f) il comma 10 è sostituito dal seguente: "10.

Segue

3.5 Direttiva 2000/60/CE e rapporti con il D.lgs 152/1999

L'emanazione della Direttiva 2000/60/CE si inserisce nel quadro normativo strutturatosi, nel nostro sistema, con il D.lgs 152/1999 e le sue successive modifiche. Esse si basano sugli stessi concetti e sugli stessi principi generali e lo scopo prefissato è quello di istituire, a livello nazionale ed europeo, una politica sostenibile di lungo termine per l'uso e la protezione delle acque interne, delle acque di transizione e di quelle marine costiere³⁰.

Con la Direttiva 2000/60/CE vengono definiti gli obiettivi ambientali che ogni tipologia di corpo idrico deve raggiungere. Gli strumenti atti al raggiungimento dell'obiettivo sono:

- il recupero delle spese effettuate per la manutenzione;
- la gestione e l'utilizzazione dei servizi idrici mediante l'attivazione di un'analisi dei costi degli usi delle risorse idriche;
- l'osservanza del principio del "chi inquina paga"³¹.

"Legge-quadro" per l'azione comunitaria in materia di acque, essa fissa scopi che attengono:

- alla protezione, al miglioramento e all'impedimento di ulteriori deterioramenti dello stato degli ecosistemi terrestri e acquatici e delle zone umide direttamente dipendenti da questi ultimi sotto il profilo del fabbisogno idrico;
- all'utilizzo idrico sostenibile fondato sulla protezione a lungo termine delle risorse idriche disponibili;
- alla protezione rafforzata e al miglioramento dell'ambiente acquatico, anche attraverso misure specifiche per la graduale riduzione degli scarichi, delle emissioni e delle perdite di sostanze pericolose prioritarie;

²⁸ *Segue* - Nei casi previsti dal comma 9, il Ministro della sanità e dell'ambiente, nonché la regione e la provincia autonoma competente, ai quali sono inviati copia delle notizie di reato, possono indipendentemente dall'esito del giudizio penale, disporre, ciascuno per quanto di competenza, la sospensione in via cautelare dell'attività di molluschicoltura e, a seguito di sentenza di condanna o di decisione emessa ai sensi dell'articolo 444 del codice di procedura penale definitiva, valutata la gravità dei fatti, disporre la chiusura degli impianti."; g) dopo il comma 11 sono aggiunti, in fine, i seguenti: "11-bis.

La sanzione di cui al comma 11 si applica anche a chiunque effettua, in violazione dell'articolo 48, comma 3, lo smaltimento dei fanghi nelle acque marine mediante immersione da nave, scarico attraverso condotte ovvero altri mezzi o comunque effettua l'attività di smaltimento di rifiuti nelle acque marine senza essere munito dell'autorizzazione di cui all'articolo 18, comma 2, lettera p-bis), del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22. 11-ter. Chiunque effettui l'utilizzazione agronomica di effluenti di allevamento, delle acque di vegetazione dei frantoi oleari, nonché delle acque reflue provenienti da aziende agricole e piccole aziende agroalimentari di cui all'articolo 38 al di fuori dei casi e delle procedure ivi previste ovvero non ottemperi al divieto o all'ordine di sospensione dell'attività impartito a norma di detto articolo è punito con l'ammenda da lire due milioni a lire quindici milioni o con l'arresto fino ad un anno. La stessa pena si applica a chiunque effettua l'utilizzazione agronomica al di fuori dei casi e delle procedure di cui alla normativa vigente".

²⁹ L'art. 20 del D.lgs 258/2000 che sostituisce l'art. 51 del D.lgs 152/1999 dispone che: "ferma restando l'applicazione delle norme sanzionatorie di cui al Titolo V, in caso di inosservanza delle prescrizioni delle autorizzazioni allo scarico, l'autorità competente procede, secondo la gravità dell'infrazione: a) alla diffida, stabilendo un termine entro il quale devono essere eliminate le irregolarità; b) alla diffida e contestuale sospensione dell'autorizzazione per un tempo determinato, ove si manifestano situazioni di pericolo per la salute pubblica e per l'ambiente; c) alla revoca dell'autorizzazione in caso di mancato adeguamento alle prescrizioni imposte con la diffida e in caso di reiterate violazioni che determinano situazione di pericolo per la salute pubblica e per l'ambiente".

³⁰ Al fine di assicurare la tutela, il risanamento e la gestione del patrimonio idrico, il Servizio idrologico e delle acque interne sta portando avanti lo studio ed il rilevamento sia di quelle superficiali sia sotterranee, su tutto il territorio nazionale. A tale scopo è stato creato il c.d. progetto reticolo idrografico che consiste nella stesura di una cartografia dei corsi d'acqua italiani corredata di dati attestanti le caratteristiche idrogeologiche di ciascun arco di reticolo idrografico. Reticolo dei corpi idrici superficiali significativi e a specifica destinazione ai sensi del D.lgs 152/1999 e successive modifiche (dati elaborati da APAT, ultimo aggiornamento 29/04/2004): 1) corsi d'acqua superficiali, ovvero corsi d'acqua superficiali di 1° ordine il cui bacino imbrifero abbia superficie maggiore di 200 km²; corsi d'acqua di 2° ordine o superiore il cui bacino imbrifero abbia superficie superiore a 400 km²; corsi d'acqua di qualunque ordine e dimensioni che per valori naturalistici e/o paesaggistici o per particolari utilizzazioni in atto, hanno rilevante interesse ambientale; 2) laghi, laghi aventi superficie dello specchio liquido, riferita al periodo di massimo invaso, pari a 0,5 km²; 3) corpi idrici artificiali, canali artificiali aventi portate di esercizio di almeno 3 m³/s; laghi artificiali e serbatoi aventi superficie dello specchio liquido pari a 1 km² o un volume di invaso, nel periodo di massimo invaso, di 5 milioni di m³. Tra le acque a destinazione specifica: 1) acque destinate alla potabilizzazione, acque dolci superficiali e sotterranee utilizzate o destinate alla produzione di acqua potabile dopo opportuno trattamento; 2) acque idonee alla vita dei pesci; 3) acque idonee alla vita dei molluschi.

³¹ La direttiva impone agli stati membri l'obbligo di adottare misure adeguate a fare in modo che i prezzi dell'acqua riflettano il costo complessivo di tutti i servizi connessi con l'uso dell'acqua stessa (gestione, manutenzione delle attrezzature, investimenti e sviluppi futuri), nonché i costi connessi con l'ambiente e l'impovertimento delle risorse (art. 9). A tal fine gli Stati membri dovranno contribuire entro il 2020 a porre a carico dei vari settori di impiego dell'acqua (industrie, famiglie, agricoltura) i costi dei servizi idrici, anche sulla base del "chi inquina paga".

- alla graduale riduzione dell'inquinamento delle acque sotterranee impedendone contemporaneamente l'aumento;
- a mitigare gli effetti delle inondazioni e della siccità contribuendo quindi a: 1) garantire una fornitura sufficiente di acque superficiali e sotterranee di buona qualità per un utilizzo idrico sostenibile, equilibrato ed equo; 2) ridurre in modo significativo l'inquinamento delle acque sotterranee; 3) proteggere le acque territoriali e marine, e realizzare gli obiettivi degli accordi internazionali in materia, compresi quelli miranti a impedire ed eliminare l'inquinamento dell'ambiente marino: con azione comunitaria ai sensi dell'articolo 16, paragrafo 3, per arrestare o eliminare gradualmente gli scarichi, le emissioni e le perdite di sostanze pericolose prioritarie al fine ultimo di pervenire a concentrazioni, nell'ambiente marino, vicine ai valori del fondo naturale per le sostanze presenti in natura e vicine allo zero per le sostanze sintetiche antropogeniche³².

Per la realizzazione di tali obiettivi gli Stati membri hanno il compito di individuare singoli bacini idrografici, ovvero porzioni di territorio all'interno dei quali confluiscono le acque che saranno sottoposte ai monitoraggi.

Punti cardine della normativa in esame sono, quindi, la classificazione delle acque, e con essa la definizione degli obiettivi da attuare, e la realizzazione di una "Strategia comune di implementazione" (CIS)³³, ossia di linee comuni da perseguire in tutti i paesi.

La seconda fase del programma prevede che gli Stati membri applichino tali linee guida in bacini pilota selezionati tra i bacini idrografici individuati nei loro territori: l'Italia, a tal fine, ne ha promosso l'applicazione mediante lo studio e l'analisi dei fiumi Tevere e Cecina³⁴.

Accanto agli scopi generali vengono delineati gli obiettivi ambientali determinati per ogni tipologia di corpo idrico³⁵: elemento comune è la salvaguardia degli stessi mediante l'applicazione delle misure necessarie al raggiungimento del buono stato ambientale-ecologico, ossia la capacità del corpo idrico di mantenere i processi naturali di autodepurazione e di sostentamento delle comunità animali e vegetali.

³² Direttiva 2000/60/CE, art. 1.

³³ Vista la complessità della direttiva la Commissione Europea ha stabilito, nel maggio 2001, una "Strategia comune di implementazione" (Common Implementation Strategy), con l'obiettivo di creare delle linee guida (Guidance) comuni a tutti i paesi per la sua corretta interpretazione ed applicazione.

³⁴ La direttiva prevede che gli Stati membri individuino i singoli bacini idrografici presenti nel loro territorio e li assegnino a singoli distretti idrografici, accorpendo eventualmente i piccoli bacini in un unico distretto (art.3). Per ciascun distretto idrografico interamente compreso nel suo territorio, ogni Stato membro provvede a predisporre un Piano di gestione del bacino idrografico (art. 13).

³⁵ Direttiva 2000/60/CE, Art.4 lett.a, b, c. "Nel rendere operativi i programmi di misure specificate nei piani di gestione dei bacini idrografici: a) per le acque superficiali: i) gli Stati membri attuano le misure necessarie per impedire il deterioramento dello stato di tutti i corpi idrici superficiali, fatta salva l'applicazione dei paragrafi 6 e 7 e fermo restando il paragrafo 8; ii) gli Stati membri proteggono, migliorano e ripristinano tutti i corpi idrici superficiali, salva l'applicazione del punto iii) per i corpi idrici artificiali e quelli fortemente modificati, al fine di raggiungere un buono stato delle acque superficiali in base alle disposizioni di cui all'allegato V entro 15 anni dall'entrata in vigore della presente direttiva, salve le proroghe stabilite a norma del paragrafo 4 e l'applicazione dei paragrafi 5, 6 e 7, e salvo il paragrafo 8; iii) gli Stati membri proteggono e migliorano tutti i corpi idrici artificiali e quelli fortemente modificati, al fine di raggiungere un buono stato delle acque superficiali in base alle disposizioni di cui all'allegato V entro 15 anni dall'entrata in vigore della presente direttiva, salve le proroghe stabilite a norma del paragrafo 4 e l'applicazione dei paragrafi 5, 6 e 7, e salvo il paragrafo 8; iv) gli Stati membri attuano le misure necessarie a norma dell'articolo 16, paragrafo 1, e dell'articolo 16, paragrafo 8, al fine di ridurre progressivamente l'inquinamento causato dalla sostanze pericolose prioritarie e arrestare o eliminare gradualmente le emissioni, gli scarichi e le perdite di sostanze pericolose prioritarie, fermi restando, per le parti interessate, i pertinenti accordi internazionali di cui all'articolo 1. b) per le acque sotterranee: i) gli Stati membri attuano le misure necessarie per impedire o limitare l'immissione di inquinanti nelle acque sotterranee e per impedire il deterioramento dello stato di tutti i corpi idrici sotterranei, salva l'applicazione dei paragrafi 6 e 7 e salvo il paragrafo 8 del presente articolo e salva l'applicazione dell'articolo 11, ii) gli Stati membri proteggono, migliorano e ripristinano i corpi idrici sotterranei, e assicurano un equilibrio tra l'estrazione e il ravvenamento delle acque sotterranee al fine di conseguire un buono stato delle acque sotterranee in base alle disposizioni di cui all'allegato V, entro 15 anni dall'entrata in vigore della presente direttiva, salve le proroghe stabilite a norma del paragrafo 4 e l'applicazione dei paragrafi 5, 6 e 7, salvo il paragrafo 8 e salva l'applicazione dell'articolo 11, paragrafo 3, lettera g); iii) gli Stati membri attuano le misure necessarie a invertire le tendenze significative e durature all'aumento della concentrazione di qualsiasi inquinante derivante dall'impatto dell'attività umana per ridurre progressivamente l'inquinamento delle acque sotterranee. Le misure volte a conseguire l'inversione di tendenza vengono attuate a norma dell'articolo 17, paragrafi 2, 4 e 5, tenendo conto degli standard applicabili stabiliti nella pertinente normativa comunitaria, fatta salva l'applicazione dei paragrafi 6 e 7 e salvo il paragrafo 8. c) per le aree protette: gli Stati membri si conformano a tutti gli standard e agli obiettivi entro 15 anni dall'entrata in vigore della presente direttiva, salvo diversa disposizione della normativa comunitaria a norma della quale le singole aree protette sono state istituite. 2. Quando un corpo idrico è interessato da più di uno degli obiettivi di cui al paragrafo 1, si applica quello più rigoroso. Segue

Per ogni bacino è previsto un programma di misure, tra di esse si annoverano quelle di base e quelle supplementari a complemento delle prime. Sono misure di base: l'attuazione della normativa comunitaria, un impiego efficiente e sostenibile dell'acqua, il rispetto del livello di depurazione necessaria per la produzione di acqua potabile, le misure di controllo per l'estrazione delle acque dolci superficiali, l'obbligo di una disciplina di autorizzazione preventiva o di registrazione in materia di scarichi.

Vengono, inoltre, determinate le strategie per combattere l'inquinamento idrico sia che venga prodotto da singoli inquinanti sia da gruppi di inquinanti. Per la loro applicazione è necessario mirare, in primo luogo, alla progressiva riduzione delle cosiddette sostanze pericolose prioritarie, ossia quegli elementi che presentino un rischio significativo per l'ambiente acquatico. La priorità si determina in base ad una valutazione dei rischi incentrata sulla determinazione dell'ecotossicità acquatica e della tossicità per le persone attraverso l'ambiente medesimo. Le prove per accertare il livello di tossicità riguardano:

- rischio intrinseco della sostanza;
- dati derivanti dal monitoraggio di fenomeni di contaminazione ambientale diffusa;
- volume, produzione e modalità d'uso della sostanza interessata.

Per le sostanze incluse nell'elenco di priorità vengono predisposti controlli attinenti alla riduzione progressiva degli scarichi, emissioni e perdite.

La Commissione Europea si occupa infine di determinare e predisporre degli standard di qualità relativi alla concentrazione delle sostanze prioritarie nelle acque superficiali, nei sedimenti e nel biota. Nel novembre del 2001 la Commissione europea ha presentato una decisione del Parlamento europeo e del Consiglio relativa all'istituzione di un elenco di sostanze pericolose scaricate nell'ambiente idrico definite come "prioritarie": tale decisione diverrà poi l'*Allegato X* della direttiva. Questo elenco dovrà essere aggiornato ogni 4 anni e, per le sostanze incluse nell'elenco di priorità, la Commissione dovrà presentare, entro 2 anni, proposte per la riduzione di scarichi, perdite ed emissioni delle sostanze individuate.

L'attuazione della direttiva 2000/60/CE e del D.lgs 152/1999, che recepisce la direttiva sui nitrati (91/676/CEE) e quella sul trattamento delle acque reflue urbane (91/271/CEE), stanno determinando un nuovo quadro in ordine al sistema di monitoraggio e al controllo delle emissioni, creando così una nuova classificazione dello stato di qualità ambientale e determinando l'impatto sull'ambiente e sul territorio generato dalle sostanze inquinanti.

Alla luce di tutto quanto esposto, si può affermare che l'evoluzione della politica in materia di tutela delle acque ha permesso di avere come obiettivo finale quello di salvaguardare l'intero sistema acquatico.

E' noto come in passato l'acqua non venisse considerata come un bene da tutelare di per sé, ma al più come un mezzo per salvaguardare la vita dei pesci, dei molluschi e, più in generale, degli esseri viventi che con essa entrano in contatto. Oggi la prospettiva è del tutto diversa: l'acqua è un *bene essenziale per la sicurezza delle nostre comunità e della società. Per questa ragione la proprietà, il controllo e la gestione delle risorse idriche devono far parte dei compiti propri dello Stato.*

³⁵ *Segue* - 3. Gli Stati membri possono definire un corpo idrico artificiale o fortemente modificato quando: a) le modifiche delle caratteristiche idromorfologiche di tale corpo, necessarie al raggiungimento di un buono stato ecologico, abbiano conseguenze negative rilevanti: i) sull'ambiente in senso più ampio, ii) sulla navigazione, comprese le infrastrutture portuali, o il diporto; iii) sulle attività per le quali l'acqua è accumulata, quali la fornitura di acqua potabile, la produzione di energia o l'irrigazione, iv) sulla regolazione delle acque, la protezione dalle inondazioni o il drenaggio agricolo, o v) su altre attività sostenibili di sviluppo umano ugualmente importanti; b) i vantaggi cui sono finalizzate le caratteristiche artificiali o modificate del corpo idrico non possano, per motivi di fattibilità tecnica o a causa dei costi sproporzionati, essere raggiunti con altri mezzi i quali rappresentino un'opzione significativamente migliore sul piano ambientale. Tali designazioni e la relativa motivazione sono esplicitamente menzionate nei piani di gestione dei bacini idrografici prescritti dall'articolo 13 e sono riesaminate ogni sei anni".

Parallelamente agli importanti passi compiuti in campo legislativo, il tema della cultura dell'acqua inizia ad entrare nel sentimento comune. Il principale obiettivo è evidentemente quello di affrontare il problema nella sua globalità; in merito si ritiene utile riportare una dichiarazione di *Mikhail Gorbaciov*, enunciata nel corso di una conferenza della fondazione *Green Cross International* di cui è fondatore:

“Dobbiamo quindi affrontare un'enorme sfida. Fortunatamente abbiamo un passato di grandi sfide risolte usando l'immaginazione e la nostra incontestabile capacità di adattamento. Per essere certi di muoverci nella giusta direzione, dobbiamo permettere alle nostre conoscenze, alle nostre esperienze e alle nostre istituzioni di metterci in pari con il travolgente progresso della scienza e della tecnologia ed imparare come diventare buoni vicini l'uno per l'altro e buoni ospiti dell'ambiente naturale. Proprio così come siamo mossi dall'acqua, dobbiamo muoverci rapidamente per salvarla”³⁶.



Figura 8. Seduta del Parlamento europeo

3.6 Quadro ecotossicologico e tecnico

3.6.1 Gli allegati tecnici del D.lgs 152/1999

L'applicazione di test ecotossicologici è prevista sia per i corpi idrici indicati nel Decreto, sia per gli scarichi di cui si occupa lo stesso impianto normativo negli allegati tecnici, in particolar modo nell'Allegato I.

Per la classificazione della qualità dei corsi d'acqua è prevista, in primo luogo, l'analisi sulla matrice acquosa e sul biota e, qualora ne ricorra la necessità, le stesse possono essere integrate da indagini sui sedimenti e da test di tossicità.

Determinazioni sulla matrice acquosa

Le determinazioni sulla matrice acquosa riguardano due gruppi di parametri, quelli di base e quelli addizionali. I primi, obbligatori, rispecchiano le pressioni antropiche tramite la misura del carico organico, del bilancio dell'ossigeno, dell'acidità, del grado di salinità e del carico microbiologico nonché le caratteristiche idrologiche del trasporto solido. I parametri addizionali riguardano i microinquinanti organici ed inorganici; la loro selezione è effettuata dall'autorità competente caso per caso, in relazione alle criticità conseguenti agli usi del territorio e:

- nel caso in cui, a seguito delle indagini conoscitive, si individuino sorgenti puntuali e diffuse;
- quando si abbiano informazioni pregresse ed attuali su sorgenti puntuali e diffuse che apportino una o più specie di tali inquinanti nel corpo idrico;
- qualora dati recenti dimostrino livelli di contaminazione, da parte di tali sostanze, delle acque e del biota o segni di incremento delle stesse nei sedimenti.

³⁶ “La pace nell'acqua” di Mikhail Gorbaciov; questo articolo è l'introduzione di Gorbaciov al numero speciale *Water*: “the Globe's most precious resource” che *Civilization*, il magazine della Libreria del Congresso Usa, ha dedicato all'acqua e alla crisi idrica mondiale. L'edizione, è stata realizzata in collaborazione con *Green Cross International*. Dal 1992 Mikhail Gorbaciov è Presidente della Fondazione Internazionale Non-Governativa per gli Studi Socio-Economici e Politici (la Fondazione Gorbaciov), nonché Presidente di *Green Cross International*, di cui è stato fondatore.

Determinazioni sul biota

Le determinazioni sul biota riguardano due gruppi di analisi:

- Analisi di base: gli impatti antropici sulle comunità animali dei corsi d'acqua vengono valutati attraverso l'Indice Biotico Esteso (IBE);
- Analisi supplementari: non obbligatorie, da eseguire a giudizio dell'autorità che effettua il monitoraggio, per una analisi più approfondita delle cause di degrado del corpo idrico.

Tra queste ultime i saggi biologici possono essere finalizzati ad evidenziare effetti a breve o lungo termine e tra di essi si segnalano:

- test di tossicità su campioni acquosi concentrati su *Daphnia magna*;
- test di mutagenicità e teratogenesi su campioni acquosi concentrati;
- test di crescita algale;
- test su campioni acquosi concentrati con batteri bioluminescenti.

Si segnala l'opportunità di effettuare determinazioni di accumulo di contaminanti prioritari (PCB, DDT e Cd) su tessuti muscolari di specie ittiche residenti o su organismi macrobentonici.

Le analisi volte alla verifica dei sedimenti sono di tipo supplementare, ossia eseguite solo per ottenere ulteriori elementi conoscitivi utili a determinare le cause di degrado ambientale di un corso d'acqua. Le autorità preposte al monitoraggio devono, nel caso, selezionare i parametri da ricercare in considerazione delle condizioni geografiche ed idromorfologiche del corso d'acqua, dei fattori di pressione antropica cui è sottoposto e della tipologia degli scarichi immessi. Qualora si prospetti la necessità di un'analisi più approfondita (volta ad evidenziare gli effetti tossici a breve o a lungo termine), si potranno effettuare dei saggi biologici sui sedimenti. Diversi gli approcci possibili ma riconducibili a tre soluzioni fondamentali:

- saggi su estratti di sedimento;
- saggi sul sedimento in toto;
- saggi su acqua interstiziale.

Ogni soluzione offre informazioni specifiche e l'applicazione congiunta di più tipi di saggio garantisce per lo più le informazioni ricercate. In via prioritaria si segnalano: *Oncorhynchus mykiss*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Chironomus tentans* e *Chironomus riparius*, *Selenastrum capricornutum* e batteri luminescenti.

3.6.2 D.lgs 258/2000: Allegato I

Il presente allegato stabilisce, ai sensi degli articoli 4 e 5, i criteri per individuare i corpi idrici significativi e per stabilire lo stato di qualità ambientale di ciascuno di essi. Sono da monitorare e classificare:

- a) tutti quei corpi idrici che, per valori naturalistici e/o paesaggistici o per particolari utilizzazioni in atto, hanno rilevante interesse ambientale;
- b) tutti quei corpi idrici che, per il carico inquinante da essi convogliato, possono avere un'influenza negativa rilevante sui corpi idrici significativi.

Lo stato di qualità ambientale dei corpi idrici è definito sulla base dello stato ecologico e dello stato chimico. Lo stato ecologico "è l'espressione della complessità degli ecosistemi acquatici e della natura fisica-chimica delle acque e dei sedimenti, delle caratteristiche del flusso idrico e della struttura fisica del corpo idrico, considerando comunque prioritario lo stato degli elementi biotici dell'ecosistema³⁷".

³⁷ Definizione adottata nell'allegato n.1 D.lgs 258/2000.

Gli elementi considerati per la definizione dello stato ecologico saranno i parametri chimici e fisici di base relativi al bilanciamento dell'ossigeno e dello stato trofico, completati dall'utilizzo di opportuni indicatori biologici. Oltre all'Indice Biotico Esteso (IBE), sarà necessario avvalersi di metodi per la rilevazione e la valutazione della qualità degli elementi biologici e di quelli morfologici.

Lo stato chimico è definito in base alla presenza di sostanze chimiche nocive e la sua valutazione completa è stata delegata ad un apposito decreto ministeriale (su proposta dell'ex ANPA), nel quale sono stati stabiliti metodi per la rilevazione e la valutazione della qualità dei sedimenti e metodi per la valutazione degli effetti provocati sulle comunità biotiche degli ecosistemi dalla presenza di sostanze chimiche pericolose, persistenti e bioaccumulabili. Tali metodiche sono state concepite con lo scopo di definire i criteri di determinazione dello stato chimico già adottati per i corpi idrici superficiali, soprattutto per quanto riguarda le acque marine costiere o quelli a basso ricambio come i laghi.

La definizione dello stato ambientale per i corpi idrici superficiali prevede la classificazione in cinque classi (elevato, buono, sufficiente, scarso, pessimo), che vanno a decrescere nella qualità e che considerano tutti gli elementi caratterizzanti le acque in rapporto all'ecotipo in condizioni indisturbate: parametri chimico-fisici ed idromorfologici, presenza di microinquinanti di sintesi o non di sintesi o loro concentrazioni tali da comportare o meno effetti a breve e lungo termine sulle comunità biologiche.

La definizione dello stato ambientale per le acque sotterranee segue in generale lo stesso tipo di classificazione, considerando però specificatamente l'impatto antropico sulla qualità della risorsa.

Monitoraggi ed analisi

Il monitoraggio si articola in una fase conoscitiva iniziale, che ha come scopo la prima classificazione dello stato di qualità ambientale dei corpi idrici, ed in una fase a regime, in cui viene effettuato un monitoraggio volto a verificare il raggiungimento ovvero il mantenimento dell'obiettivo di qualità "buono".

La prima fase ha una durata di 24 mesi e la sua finalità è la classificazione dello stato di qualità di ciascun corpo idrico. In base ai dati raccolti, le autorità competenti definiscono, nell'ambito del piano di tutela, le misure necessarie per il raggiungimento o il mantenimento dell'obiettivo di qualità ambientale. La fase conoscitiva iniziale ha altresì lo scopo di raccogliere tutte le informazioni necessarie alla valutazione di ulteriori strumenti utili alla stima degli elementi biologici e idromorfologici:

- per definire più compiutamente lo stato ecologico dei corpi idrici superficiali;
- per valutare le informazioni relative alla contaminazione da microinquinanti dei sedimenti e del biota, in particolare per quanto riguarda le acque costiere e le acque di transizione ed i laghi.

Anche nel D.lgs 258/2000 le determinazioni sul biota riguardano le analisi di base (gli impatti antropici sulle comunità animali dei corsi d'acqua vengono valutati attraverso l'IBE) e le analisi supplementari (non obbligatorie, da eseguire a giudizio dell'autorità che effettua il monitoraggio, per una analisi più approfondita delle cause di degrado del corpo idrico). A tale scopo possono essere effettuati saggi biologici finalizzati ad evidenziare gli effetti a breve o lungo termine, tra i quali in via prioritaria si segnalano:

- test di tossicità su campioni acquosi concentrati con *Daphnia magna*;
- test di mutagenicità e teratogenesi su campioni acquosi concentrati;
- test di crescita algale;
- test su campioni acquosi concentrati con batteri bioluminescenti.

In aggiunta si segnala l'opportunità di effettuare determinazioni di accumulo di contaminanti prioritari (PCB, DDT e Cd) su tessuti muscolari di specie ittiche residenti o su organismi macrobentonici.

Riguardo la matrice acquosa vengono presi in considerazione i parametri di base che in alcuni casi rilevano lo stato trofico e sono utilizzati per la classificazione, in altre circostanze servono a fornire informazioni di supporto per l'interpretazione dei fenomeni di alterazione.

I parametri addizionali sono relativi ai microinquinanti organici ed inorganici. Anche qui la selezione dei parametri da esaminare è effettuata dall'autorità competente caso per caso, in relazione alle criticità conseguenti agli usi del territorio.

I sedimenti

Le analisi sui sedimenti sono da considerarsi come supplementari e vengono eseguite per avere, se necessario, ulteriori elementi per determinare le cause di degrado ambientale di un corso d'acqua. Le autorità preposte al monitoraggio devono selezionare i parametri da ricercare e, se serve, includerne altri, considerando le condizioni geografiche ed idromorfologiche del corso d'acqua, i fattori di pressione antropica cui è sottoposto e la tipologia degli scarichi immessi. Qualora sia necessaria un'analisi più approfondita, volta a evidenziare gli effetti tossici a breve o a lungo termine, si potranno effettuare anche in questo caso dei saggi biologici. Gli approcci possibili sono molteplici, ma riconducibili a tre soluzioni fondamentali:

- saggi su estratti di sedimento;
- saggi sul sedimento in toto;
- saggi su acqua interstiziale.

Ogni soluzione offre informazioni peculiari e pertanto l'applicazione congiunta di più tipi di saggio spesso garantisce le informazioni desiderate. Possono essere utilizzati organismi acquatici, sia in saggi acuti che (sub)cronici. In via prioritaria si segnalano: *Oncorhynchus mykiss*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Chironomus tentans* e *Chironomus riparius*, *Selenastrum capricornutum* e batteri bioluminescenti.

Monitoraggio: fase iniziale

- 1) Acque: la misura dei parametri chimici, fisici, microbiologici e idrologici di base e di quelli relativi ai parametri addizionali, quando necessario, deve essere eseguita una volta al mese fino al raggiungimento dell'obiettivo di qualità.
- 2) Sedimenti: le determinazioni vanno effettuate una volta all'anno, durante i periodi di magra (e comunque lontano da eventi di piena), ovvero durante i periodi favorevoli al deposito del materiale sospeso.
- 3) Biota: l'IBE va misurato stagionalmente (4 volte all'anno).

I test biologici addizionali e quelli di bioaccumulo, qualora richiesti, vanno eseguiti nei periodi di maggiore criticità per il sistema.

Fase a regime

La frequenza di campionamento si mantiene inalterata fino al raggiungimento dell'obiettivo di qualità ambientale di cui all'articolo 4. Raggiunto tale obiettivo, la frequenza di campionamento può essere ridotta dall'autorità competente, ma non deve comunque essere inferiore a quattro volte all'anno ed inferiore a due per l'IBE. Per la misura di portata deve essere garantito per ogni stazione idrometrica un numero annuo di determinazioni sufficiente a mantenere aggiornata la scala di deflusso.

La classificazione

La classificazione dello stato ecologico viene effettuata incrociando il dato risultante dai macrodescrittori con quello dell'IBE, attribuendo alla sezione in esame o al tratto stima dell'IBE si considera il valore medio ottenuto dalle analisi durante il periodo di misurazione e per apprezzarne la validità devono essere disponibili almeno il 75% dei risultati delle misure effettuate. Se il risultato è significativamente peggiore di quello emerso dai dati dei macrodescrittori e dagli eventuali parametri addizionali, si devono includere analisi supplementari volte a verificare la presenza di sostanze pericolose non ricercate in precedenza, l'esistenza di eventuali effetti di tipo tossico su organismi acquatici, ovvero di fenomeni di accumulo di contaminanti nei sedimenti e nel biota.

L'eventuale risalto di situazioni di tossicità per gli organismi testati e/o evidenze di bioaccumulo sugli stessi portano ad attribuire lo stato ambientale scadente.

Come si vede, il D.lgs 258/2000 non compie particolari stravolgimenti nell'impianto delineato dal precedente decreto, anzi tenendo in considerazione gli stessi parametri ne rafforza la validità. Su questa base inserisce nuovi termini di raffronto e nuovi test avendo come fine ultimo quello della difesa delle acque dalle fonti di inquinamento, siano esse di tipo naturale (batteri o altre sostanze) o indotte dal comportamento sregolato dell'uomo.

Le acque marino-costiere

Per la prima classificazione della qualità delle acque marino-costiere vanno eseguite determinazioni sulla matrice acqua, a cui andranno necessariamente associate indagini sui sedimenti e sul biota. Il monitoraggio di questi due fattori deve essere effettuato per rilevare specifiche fonti di contaminazione e per indicazioni sui livelli di "compromissione" del tratto di costa considerato. L'autorità competente, ove necessario, integra i parametri riportati con indagini "addizionali" ovvero provvede a sostituirli con altri che risultino essere più significativi rispetto alle specifiche realtà territoriali, in funzione delle caratteristiche del bacino afferente e/o dei diversi usi della fascia costiera, così da mirare attentamente le analisi ambientali. Tali controlli devono riferirsi, in primo luogo, alla valutazione dei carichi inquinanti:

- veicolati al mare da corsi d'acqua, da scarichi diretti di acque reflue e da emissioni atmosferiche;
- contenuti in materiali solidi utilizzati in opere a mare (dragaggi, ripascimenti, barriere artificiali, etc.).

Altro fattore da non trascurarsi è la modalità di dispersione in mare di sostanze inquinanti, il bilancio depurativo della fascia costiera e tutti gli altri fattori che risultano alterare la qualità delle acque marine costiere.

Per la caratterizzazione dello stato degli ecosistemi marini, anche ai fini della formulazione del giudizio di qualità ecologica ed ambientale delle acque marine costiere, dovranno essere eseguite indagini sulle biocenosi di maggior pregio ambientale (praterie di fanerogame, coralligeno, etc.) e su altri bioindicatori. Per individuare particolari stadi di criticità dovuti alla presenza di sostanze chimiche pericolose in tracce nelle acque e per concorrere alla definizione del giudizio di qualità chimica, sul biota dovranno essere eseguite analisi di accumulo di metalli pesanti e composti organici e nei mitili (*Mytilus galloprovincialis*).

Per il campionamento vengono identificate tre diverse tipologie di fondale, per ciascuna delle quali viene stabilito il posizionamento di tre stazioni di prelievo.

Infine, per valutare lo stato di qualità ambientale occorre tenersi conto dell'indice trofico e delle indagini sul biota e sui sedimenti, in modo da individuare il criterio di classificazione dello stato ambientale complessivo. I risultati derivanti dall'applicazione dell'indice di trofia³⁸ determineranno l'attribuzione dello stato ambientale.

3.6.3 Direttiva 2000/60/CE: Allegato V

Tra gli allegati alla direttiva è significativo prendere in visione l' Allegato V ed in particolare il punto 1.2.6. In questo contesto vengono chiarite le procedure per la fissazione degli standard di qualità ambientale per l'acqua, i sedimenti e per il biota. A tal fine devono essere valutati (o perlomeno così è suggerito) i dati relativi agli effetti acuti o cronici di determinati fattori:

- alghe e/o macrofite;
- *daphnia* od organismi rappresentativi delle acque saline;
- pesci.

Per fissare la concentrazione massima media annuale di tali elementi in un corpo idrico, gli Stati membri determinano dei fattori di sicurezza, secondo la natura e la qualità dei dati disponibili³⁹. A tali procedimenti segue la fase del monitoraggio dello stato ecologico e chimico dei corpi idrici.

I programmi di monitoraggio e di sorveglianza, istituiti dagli Stati membri, hanno lo scopo di ottenere dati ed informazioni che, esaminati unitamente alla procedura di valutazione dell'impatto⁴⁰, vengono impiegati per la formulazione dei programmi di monitoraggio futuri. Queste operazioni vengono effettuate per 1 anno durante il periodo contemplato dal piano di gestione del bacino idrico considerando i parametri indicanti la qualità biologica, idromorfologica e fisico-chimica dello stesso nonché degli eventuali inquinanti presenti.

Sono previste altre due tipologie di monitoraggi, il monitoraggio operativo e di indagine. Il primo è effettuato al fine di stabilire lo stato dei corpi idrici che rischiano di non soddisfare gli obiettivi ambientali disposti per la sua categoria di appartenenza e al fine di valutare le variazioni degli stessi durante l'applicazione dei programmi di misure predisposti per la loro salvaguardia. Il secondo, invece, ha lo scopo di chiarire le cause del mancato raggiungimento degli obiettivi ambientali previsti per il corpo idrico esaminato e per valutare la portata e l'impatto di fonti inquinanti accidentali.

Grande attenzione è infine rivolta alla qualità biologica di tutti gli elementi facenti parte della catena alimentare (fitoplancton, composizione flora acquatica, macroinvertebrati e pesci). La frequenza con cui vengono compiuti tali monitoraggi oscilla da un minimo di 3 ad un massimo di 6 mesi.

Entro il 2016, tutti gli Stati Membri dovranno raggiungere il livello di buono stato ambientale ed ecologico.

³⁸ Livello 2-4 stato elevato: buona trasparenza delle acque; assenza di anomale colorazioni, di sottosaturazione di ossigeno disciolto nelle acque bentiche. Livello 4-5 stato buon: occasionali intorbidimenti delle acque, occasionali anomale colorazioni, occasionali ipossie nelle acque bentiche. Livello 5-6 stato mediocre: scarsa trasparenza delle acque, anomale colorazioni, ipossie e occasionali anossie delle acque bentiche, stati di sofferenza a livello di ecosistema bentonico. Livello 6-8 stato scadente: elevata torbidità delle acque, diffuse e persistenti anomalie nella colorazione, diffuse e persistenti ipossie/anossie nelle acque bentiche, morie di organismi bentonici, alterazione/semplificazione delle comunità bentoniche, danni economici nei settori del turismo, della pesca e dell'acquacoltura.

³⁹ Almeno una L(E)C50 acuta per ognuno dei tre livelli trofici dell'insieme di base (fattore di sicurezza 1000); una NOEC cronica (per pesci o dafnia o un organismo rappresentativo delle acque saline; fattore di sicurezza 100); due NOEC croniche per specie appartenenti a due livelli trofici (pesci e/o dafnia o un organismo rappresentativo delle acque saline e/o alghe; fattore di sicurezza 50); NOEC croniche per almeno tre specie (di norma pesci, dafnia o un organismo rappresentativo delle acque saline e alghe) appartenenti a tre livelli trofici (fattore di sicurezza 10). Per altri casi, compresi dati sul campo o ecosistemi modello, che permettono di calcolare e applicare fattori di sicurezza più precisi il fattore di sicurezza è valutabile caso per caso.

1) Se sono disponibili dati sulla persistenza e sul bioaccumulo, questi sono presi in considerazione nel derivare il valore finale dello standard di qualità ambientale; 2) lo standard così derivato dovrebbe essere confrontato con ogni riscontro emerso dagli studi in campo; se si rilevano anomalie, la derivazione è riveduta per permettere di calcolare un fattore di sicurezza più preciso; 3) lo standard derivato è sottoposto a un'intercalibrazione e ad una consultazione pubblica, per permettere di calcolare un fattore di sicurezza più preciso.

⁴⁰ Con la procedura di valutazione dell'impatto si determina la vulnerabilità dei corpi idrici rispetto alle pressioni a cui sono sottoposti: fonti di inquinamento, estrazioni etc. (Allegato II, Direttiva 2000/60/CE).

4. L'ECOTOSSICOLOGIA E L'ACQUA

4.1 Tossicologia ed ecotossicologia

Definire esattamente cosa sia l'ecotossicologia non è compito agevole: per una trattazione corretta dell'argomento si ritiene indispensabile fare alcune puntualizzazioni.

Innanzitutto, è bene mettere in luce il fatto che i vocaboli "ecotossicologia" e "tossicologia ambientale" ormai vengono utilizzati come sinonimi, sebbene in prima battuta vi fosse fra le due discipline una distinzione.

Inizialmente, infatti, il primo termine identificava lo studio del destino e degli effetti dei contaminanti nell'ambiente, mentre il secondo si riferiva più specificatamente all'identificazione e alla quantificazione dei danni sugli organismi (a vari livelli di organizzazione) causati dall'inquinamento ambientale.

A tutt'oggi entrambi vengono usati indifferentemente per indicare la stessa tipologia di studi. In questo testo verrà utilizzata la dizione "ecotossicologia" per indicare quella scienza che studia i contaminanti nella biosfera ed i loro effetti sui costituenti, inclusi gli esseri umani.

Che l'ecotossicologia sia una nuova derivazione degli studi tossicologici è fuori discussione: basti pensare alla definizione che ne fu data per la prima volta in "Principles of Toxicology" nel 1978 (*"l'ecotossicologia riguarda gli effetti tossici degli agenti chimici e fisici sugli organismi viventi, in particolare su popolazioni e comunità all'interno di definiti ecosistemi; essa comprende anche lo studio delle modalità di diffusione di questi agenti e le loro interazioni con l'ambiente"*) (Butler, 1978). Le sue radici affondano, quindi, nella Tossicologia Classica: simili sono, infatti, l'approccio nella comprensione dei meccanismi d'azione a livello biochimico, fisiologico e biologico e la quantificazione delle risposte agli inquinanti.

Le differenze sostanziali riguardano aspetti legati strettamente ai differenti ambiti in cui esse operano. Rispetto alla tossicologia classica, per un'analisi tossicologica ambientale occorre in aggiunta:

- individuare i percorsi dei diversi inquinanti, per identificare i bersagli biologici della contaminazione;
- caratterizzare e quantificare la dose di inquinante che è in grado di raggiungere i bersagli biologici, basandosi su informazioni riguardanti distribuzione e destino ambientale della sostanza (o miscela di sostanze) in esame;
- studiare i contaminanti non solo singolarmente ma anche in miscela, dal momento che normalmente così si ritrovano nei sistemi naturali;
- studiare la tossicità su molte specie differenti dall'uomo (saggi multispecie), prendendo in esame i meccanismi d'azione sia diretti che indiretti;
- valutare la tossicità a livello di comunità biologica, utilizzando appropriate scale spazio – temporali.

In poche parole, possiamo dire che l'ecotossicologia si occupa di studiare il meccanismo d'azione degli inquinanti, di misurare il danno biologico su una o più specie e di valutare il danno sugli ecosistemi. I primi due aspetti sono abitualmente trattati con strumenti propri della Tossicologia Classica, ma con approcci differenti.

Innanzitutto, la scelta delle sostanze da analizzare si fonda su considerazioni relative alla produzione, all'utilizzo, all'eventuale dispersione nell'ambiente, alla possibilità di accumulo nei sistemi biologici (bioconcentrazione, bioaccumulo, biomagnificazione), alla resistenza alla degradazione, al potenziale tossico.

In secondo luogo, è importante esaminare non solo le sostanze che sono caratterizzate come tossiche per definizione, ma anche tutte quelle che possono produrre squilibri trofici (come i nutrienti e la materia organica) e quindi alterare la composizione degli ecosistemi in modo più o meno permanente. Infine, l'aspetto più propriamente "ambientale" è il più rilevante e caratterizzante, sebbene ancora in una fase di affinamento tanto dal punto di vista teorico che applicativo, dal momento che l'ecotossicologia stessa è una scienza piuttosto "giovane".

Essa può fornire contributi importanti nel ridurre la frequenza e l'intensità dei danni ambientali sotto molteplici punti di vista.

Determinando le soglie ecologiche critiche, infatti, favorisce lo sviluppo di sistemi di monitoraggio ecologico, per verificare che le condizioni stabilite per il controllo di qualità siano state raggiunte. Inoltre, fornisce indicazioni utili per stabilire protocolli per la protezione e l'accumulo del capitale naturale e per stilare linee-guida atte all'implementazione del principio di precauzione, e per evitare gli sprechi e contribuire alla salute dell'ecosistema. Non da ultimo, aiuta la formulazione di adeguate risposte ai cambiamenti ambientali con pronte misure di rimedio ecologico (restoration), qualora l'evidenza indichi che sia stata superata un'importante soglia.

In senso più restrittivo ed improprio, sebbene maggiormente pratico, l'ecotossicologia è stata descritta come l'esecuzione in laboratorio di test di tossicità su uno o più componenti di un ecosistema, allo scopo di proteggerlo interamente.

Nella maggior parte dei casi i composti tossici non sono di origine naturale (xenobiotici) oppure, se di origine naturale, sono presenti in quantità o forma tali da determinarne la tossicità o presenti in forma non compartimentata. Ad esempio, i metalli pesanti sono presenti in natura generalmente in forma inerte (come ossidi o solfuri poco solubili) e, pertanto, modestamente pericolosi; ben differente è la situazione che vede la liberazione conseguente ad attività antropiche di metalli pesanti in forma solubile. Le sostanze organiche, invece, generalmente si legano alla componente apolare tanto degli organismi quanto dei vari comparti ambientali: è questa una delle cause, per esempio, della biomagnificazione nella catena trofica di un composto quale il DDT, che si salda stabilmente alla parte lipidica e incrementa la sua concentrazione passando da un organismo all'altro della catena alimentare. Nel comparto acquatico, invece, le sostanze organiche generalmente si legano ai sedimenti, con un conseguente miglioramento della qualità delle acque e un peggioramento della qualità dei sedimenti dovuto all'adsorbimento.

Il destino di uno xenobiotico è determinato dalle sue proprietà chimico-fisiche intrinseche, dalle proprietà chimico-fisiche e biologiche dell'ambiente e dalla quantità in cui è rilasciato nell'ambiente stesso. Inoltre, nei sistemi acquatici numerosi processi possono alterare la tossicità di una sostanza una volta penetrata nell'ambiente: diluizione, adsorbimento, idrolisi, ionizzazione, fotolisi, degradazione microbiologica, volatilizzazione e ripartizione.

Occorre poi tener conto delle interazioni fra i vari composti, i quali possono dare origine a fenomeni di sinergia (amplificazione non aritmetica dell'effetto dovuta alla combinazione di più stressori) oppure di antagonismo (diminuzione non aritmetica dello stesso). Si possono quindi verificare una riduzione o trasformazione dei composti all'interno delle varie matrici, che possono dare come risultato un incremento o una diminuzione del potenziale tossico della sostanza di partenza, oppure una sua attivazione/disattivazione (ad esempio, la complessazione dei metalli li rende inerti e li lega ai sedimenti, mentre la loro forma ionica libera determina una forte tossicità).

E' importante anche tenere in considerazione processi di tipo biologico che possono avvenire all'interno del comparto ambientale che si sta esaminando quali bioconcentrazione, biomagnificazione e biodegradazione.

Considerando le acque, la bioconcentrazione è quel processo di assorbimento individuale attuato dall'organismo per "estrarre" dall'acqua le sostanze, fissarle ed accumularle nei propri organi o tessuti. Da questo può originare la biomagnificazione, che si esplica attraverso la catena trofica e si realizza nella progressiva concentrazione ed accumulo degli inquinanti nei loro passaggi successivi attraverso la catena alimentare. La biodegradazione è la trasformazione biologica di una sostanza complessa in altre più semplici, che in genere risultano essere meno tossiche: nell'ambiente acquatico questo processo è il maggiore responsabile dell'eliminazione degli inquinanti. L'apporto continuo di sostanze xenobiotiche da sorgenti puntiformi (ad esempio gli scarichi) o diffuse (ad esempio le pratiche agricole) porta a credere che l'inquinamento ambientale e delle acque in particolare non sia più un fatto accidentale, ma piuttosto strutturalmente legato alle interazioni fra uomo ed ambiente stesso.

Nell'ambito della protezione ambientale, il campo di applicazione dell'ecotossicologia è costituito essenzialmente dallo studio degli effetti delle immissioni di prodotti e sottoprodotti delle attività umane nella biosfera. Tali immissioni avvengono in maniera diretta e immediata (come per insetticidi, pesticidi, etc.), posticipata nel tempo rispetto all'utilizzo (ad esempio i rifiuti), volontaria (si pensi a rifiuti solidi, fumi, reflui), involontaria (come accade per le dispersioni accidentali). Il fattore unificante rimane l'immissione dall'esterno di sostanze, xenobiotiche o naturali (ma in quantità o concentrazione istantanea non naturale). Su tali prodotti, sottoprodotti, scarti di lavorazione e rifiuti la normativa prevede di effettuare test ed analisi volti ad inquadrare il rischio che rappresentano per l'ambiente e per l'uomo; tra questi test in alcuni casi sono previsti anche quelli ecotossicologici. Ad esempio, il D.lgs 152/99 (e successive modifiche) prevede l'effettuazione di test ecotossicologici sui reflui prima dell'immissione e sui corpi idrici cui i reflui afferiscono; il D.lgs 194/95 prevede una classificazione dei prodotti fitosanitari basata anche sui risultati di test di tipo ecotossicologico; il DM 367/2003 stabilisce standard di qualità per l'ambiente fondati su criteri ecotossicologici.



Figura 9. *Daphnia magna* (ARPA Umbria - Dipartimento provinciale di Perugia)

4.2 Scopi e strumenti

La funzione principale dell'ecotossicologia è quella di stabilire delle norme che, complessivamente, garantiscano che l'eventuale rilascio nell'ambiente di un composto (inteso come qualsiasi sostanza che, tramite interazioni fisico-chimiche con i tessuti viventi, può causare danni e/o morte di un organismo) non comporti alcun danno osservabile ed irreversibile.

Nella pratica, tutto ciò si traduce in norme che disciplinano le fonti (restrizioni e limiti per le emissioni), l'ambiente (quantità massime consentite nei comparti ambientali che tengano conto di possibili trasformazioni in sottoprodotti) e gli organismi (limiti di esposizione, quantità massime di residui in varie componenti). Attualmente la normativa in realtà si basa ancora principalmente su una visione antropocentrica, poiché in genere viene proibito tutto ciò che direttamente od indirettamente può danneggiare l'uomo.

A tutt'oggi, lo studio ecotossicologico si rivolge essenzialmente alla stima della tossicità per prevedere i possibili effetti indesiderati sull'ambiente dovuti all'immissione di una singola sostanza (per la commercializzazione di nuovi prodotti) o di una miscela di sostanze potenzialmente tossiche (per gli effluenti).

Gli studi ecotossicologici possono essere parte integrante del biomonitoraggio : esso consente di verificare gli effetti indesiderati che sono avvenuti o che avvengono nell'ambiente a causa dell'immissione di una singola sostanza o miscela di sostanze, almeno in parte potenzialmente tossiche, tenendo conto delle interazioni fisiche, chimiche e biologiche con le diverse componenti, biotiche ed abiotiche dell'ambiente stesso.

Gli strumenti principali di cui si dispone sono test di vario tipo, che possono essere effettuati su un'ampia varietà di organismi e che prendono in considerazione gli endpoints più diversi, in funzione dell'obiettivo che si vuole raggiungere. Si precisa che ancora pochi di questi test sono ormai ritenuti validi non solo a livello nazionale ma anche internazionale. La sperimentazione è ancora lunga.

4.3 Le analisi ambientali e l'ecotossicologia

Quando si desidera valutare l'impatto di uno stressore sugli organismi viventi di un ambiente, si possono seguire diversi procedimenti, che generalmente prevedono l'utilizzo di alcune specie come indicatori dello stato dell'ambiente: tale criterio viene osservato sia nel caso dei saggi biologici, sia nel caso del rilevamento biologico. Occorre precisare che fra i due esiste una differenza fondamentale: noi esamineremo la questione dal punto di vista del comparto acquatico.

Per saggio biologico si intende un test di tossicità eseguito generalmente su campioni di reflui prima dell'immissione o su corpi idrici dopo l'immissione; il rilevamento biologico viene attuato mediante l'osservazione di particolari indici sul corpo recettore, come ad esempio l'Indice Biotico Esteso (IBE) o l'Indice di Funzionalità Fluviale (IFF). Il metodo di analisi attualmente più diffuso risulta, tuttavia, essere ancora quello chimico.

Le differenti metodiche analitiche non sono "buone" o "cattive" di per sé: ognuna presenta vantaggi e svantaggi, a seconda dello scopo che si vuole raggiungere.

La classica analisi chimica e/o chimico-fisica rileva la presenza istantanea di specie chimiche prelezionate, identificando lo specifico agente causativo, senza però rilevare gli effetti ed ignorando le sinergie.

I test di tossicità ed i rilevamenti biologici evidenziano invece gli effetti, anche se in maniera differente: i primi individuano, su singoli individui o piccoli gruppi, l'effetto complessivo di tutte le sostanze presenti benché non ricercate a priori; i secondi mostrano l'effetto nelle sue estreme conseguenze sulla varietà e sulla numerosità della popolazione. Nessuno dei due identifica lo specifico agente causativo, però entrambe rilevano le sinergie interne alle miscele.

Le analisi chimiche e tossicologiche possono essere eseguite sia sul refluo che sul recettore, inclusa la zona di mescolamento, mentre ciò non vale per il rilevamento biologico (ad esempio, l'IBE è normato solamente per le acque correnti dei fiumi).

Infine, per quanto riguarda accuratezza e precisione si riscontra un decremento procedendo dalle analisi chimico-fisiche ai test di tossicità e di rilevamento biologico: le prime hanno un livello di accuratezza e precisione alto e forniscono risposte in tempi brevi (ore-minuti); i secondi mostrano accuratezza e precisione medio-alte e tempi di risposta medi (giorni) e a volte brevi (ore-minuti); il terzo, a fronte di tempistiche medio-lunghe (settimane, mesi), offre una precisione medio-bassa.

Occorre, poi, fare una distinzione tra i test di tossicità ed i biomarker, termine indicante un parametro biologico che segnala un'avvenuta esposizione, senza che da ciò sia necessariamente scaturito un effetto dannoso. In pratica, esso si riferisce a cambiamenti fisiologici, biochimici ed istologici utilizzati quali indicatori di esposizione ed effetti degli xenobiotici nell'organismo o nelle strutture che lo compongono.

Indicatori e biomarkers possono essere definiti ad ogni livello di organizzazione biologica (cambiamenti manifestati da contenuto o da attività enzimatiche, effetti sulla riproduzione, addotti al DNA, aberrazioni cromosomiche, alterazioni istopatologiche, effetti fisiologici e sul sistema immunitario), a livello di fertilità sia individuale che molecolare (ad esempio distribuzione di taglia, indici di diversità) e come parametri funzionali a livello di popolazione ed ecosistema.

4.4 I test di tossicità

Un test di tossicità si fonda sul principio secondo il quale, esponendo un organismo vivente ad un agente tossico, la risposta risulta essere funzione diretta della dose assunta e indiretta del livello di esposizione; quindi, in generale essi vengono descritti da relazioni dose-risposta e da curve attività-effetto.

I test di tossicità possono essere distinti in tre categorie: acuti, subacuti (o subletali) e cronici. I primi rilevano effetti avversi che si manifestano in un breve arco temporale successivo alla somministrazione di una dose singola di sostanza; i secondi evidenziano effetti dovuti all'esposizione ad una sostanza per un periodo inferiore o uguale ad un decimo della vita dell'organismo; i terzi stimano gli effetti che si manifestano in seguito a esposizioni per un tempo superiore, che spesso coincide con più della metà dell'aspettativa di vita dell'organismo test.

Affinché non si creino fraintendimenti, è importante effettuare una distinzione sulle definizioni date da farmacotossicologi e ecotossicologi in merito a quanto sopra riportato.

Secondo i farmacotossicologi, si definisce acuto un effetto determinato da una somministrazione singola, mentre cronico quello che per manifestarsi esige somministrazioni multiple. Tuttavia, se è piuttosto agevole definire una somministrazione singola o multipla ove questa venga coattivamente eseguita per via orale o parenterale, non è altrettanto chiaro nel caso di assorbimento continuativo attraverso, ad esempio, un epitelio. Pertanto, si è convenzionalmente stabilito di definire acuto un effetto conseguente ad un'esposizione di durata inferiore alle 24 ore e cronico uno per cui l'esposizione è dell'ordine di grandezza di più giorni.

La situazione è più complessa nel caso dei test ecotossicologici, i quali si avvalgono di una molteplicità di organismi con cicli vitali di durata assai differente: è necessario stimare i criteri dell'istantaneità della somministrazione e dell'immediatezza dell'effetto, i quali non devono essere legati al tempo valutato dallo sperimentatore, ma alla durata del ciclo vitale dell'organismo del test. In ecotossicologia, pertanto, sembra ragionevole definire come acuto un effetto che si realizza per un'esposizione inferiore a un decimo del ciclo vitale dell'organismo test, e comunque breve anche in termini assoluti (minuti, ore), mentre cronico un effetto che si rileva per un'esposizione più lunga (giorni, anni) e in ogni caso superiore alla metà della vita dell'organismo.

Nel caso di danni al genoma, di solito considerati effetti cronici anche se il tempo di esposizione può essere stato assai breve, il tempo assoluto necessario all'esplicazione dell'effetto può essere addirittura privo di significato, poiché è necessario usare la generazione come unità di misura del tempo e questa può avere una durata assoluta enormemente diversa tra le varie specie.

In tutte le tipologie di test considerate la tossicità rilevata solitamente è funzione di specie, età, sesso, alimentazione, condizioni dell'organismo e caratteristiche chimico-fisiche del mezzo.

I saggi possono essere condotti in laboratorio, cioè in condizioni controllate dall'operatore, utilizzando una singola specie o più specie diverse, in esperimenti indipendenti. L'esposizione può essere statica (il mezzo contenente la sostanza viene preparato all'inizio dell'esperimento e rimane tale sino al termine), semi-statica (il mezzo viene periodicamente rinnovato) o continua (il mezzo viene rinnovato di continuo). Particolarmente critica è la scelta della (o delle) specie, che può essere effettuata sulla base di differenti criteri, a seconda dello scopo:

- specie indigene dell'ambiente da proteggere, in funzione della rilevanza ecologica (specie chiave nella catena alimentare), dell'importanza economica o della facilità di reperimento e semplicità di gestione (disponibile e/o allevabile);
- specie particolari, in funzione della sensibilità ai composti tossici, delle disponibilità del laboratorio, della standardizzazione dei metodi.

I test ecotossicologici permettono di definire una relazione causa-effetto, anche se in genere i risultati ottenuti sono validi solo per le condizioni sperimentali utilizzate e non consentono di estendere le conclusioni ad altre specie o a sistemi naturali complessi, dal momento che non possono tenere conto delle complesse interazioni fra biota ed ambiente.

Un'approfondita rassegna bibliografica in materia mostra l'uso di molti organismi differenti ed evidenza come, per le varie sostanze, ognuno possieda una diversa sensibilità. Se ne desume che, non essendo alcun organismo in grado di coprire l'intera varietà di risposte agli stressori e di rispondere a vari range di concentrazioni di xenobiotici, è necessario impiegare una batteria multispecie in cui gli ambiti di sensibilità non si sovrappongano ma siano complementari. I componenti della batteria vengono solitamente scelti in base alla loro rappresentatività (un procariote, un vegetale, un animale superiore) ed in base alle loro relazioni con la catena trofica.

L'uso di vertebrati implica parecchie complicazioni sperimentali, a causa delle difficoltà di reperimento e mantenimento e dei tempi più lunghi, in particolare nello studio della tossicità subletale e cronica: la vita di un vertebrato è, infatti, generalmente superiore di uno o più ordini di grandezza rispetto a quella di alghe ed invertebrati. Quindi, si preferisce limitare il più possibile il loro impiego nei saggi. Sebbene maggiormente significativo dei test su specie singole, l'uso di batterie di test ha comunque la limitazione di non garantire il rilevamento degli effetti sugli organismi in presenza di interazioni interspecifiche. Per cercare di sondare questi aspetti, si possono effettuare esperimenti più complessi, con esposizione contemporanea multispecie, ma anche così non è possibile cogliere appieno gli effetti delle interazioni interspecifiche possibili: infatti, possono essere valutate solo quelle che si verificano tra le specie prescelte per l'esperimento, ma non quelle con altre specie non testate, che negli ambienti naturali comunque coesistono.

Si potrebbe alternativamente realizzare l'esposizione sul campo, utilizzando apposite enclosure (cioè delimitando fisicamente una parte dell'ecosistema, comprendente la comunità naturale del sito) ed eseguendo esperimenti in questi mesocosmi, dove le condizioni sono ancora in parte controllabili dallo sperimentatore. I test in situ rappresentano il caso più complesso, poiché vengono effettivamente condotti nell'ambiente studiato, riducendo al minimo le manipolazioni, e le loro condizioni rispecchiano con precisione lo stato dell'ambiente. Questo tipo di studi si pone, quindi, a un livello intermedio tra gli studi di laboratorio e l'esame estensivo dell'ambiente, realizzabile tramite il cosiddetto biomonitoraggio.

4.5 Livelli di effetto sugli organismi

L'immissione di sostanze xenobiotiche nell'ambiente naturale può causare effetti a vari livelli: chimico-fisico, siti d'azione biochimici, capacità funzionali dell'organismo nel suo insieme o addirittura sull'insieme degli organismi viventi.

4.5.1 Le relazioni causa-effetto

Definendo come “veleno” qualunque sostanza che, mediante interazioni chimico-fisiche, può causare danni e/o morte di un organismo vivente, tutte quante potenzialmente lo sono, poiché, in conseguenza di un'esposizione eccessiva, tutte possono provocare danni di maggiore o minore gravità. C'è da precisare che, mentre un'esposizione eccessiva può causare un effetto negativo, un'esposizione tollerabile può non produrne affatto o addirittura può portare a un miglioramento delle condizioni (ormesi); tuttavia, per la stessa sostanza, a parità di esposizione, l'effetto può essere diverso per organismi diversi.

In particolare, un effetto avverso è rappresentato da qualsiasi cambiamento anormale, indesiderabile o dannoso, in un organismo esposto ad una sostanza potenzialmente tossica. In condizioni estreme si può arrivare alla morte dell'organismo, mentre nel caso di conseguenze di minore entità si notano alterazioni del consumo di cibo, del peso corporeo o di alcuni organi, cambiamenti patologici visibili o anche alterazioni dei livelli enzimatici. Tuttavia, un cambiamento statisticamente significativo dallo stato normale non è indice necessariamente di un effetto dannoso: per diventare tale, esso deve alterare una proprietà importante ed essere posto in relazione allo stato complessivo di salute dell'organismo esposto. Si possono, dunque, definire come effetti nocivi la rilevazione di danni funzionali o anatomici, cambiamenti irreversibili dell'omeostasi, l'aumentata suscettibilità ad altre sostanze o allo stress biologico, comprese malattie infettive (in questo caso l'entità del danno è influenzata dallo stato di salute).

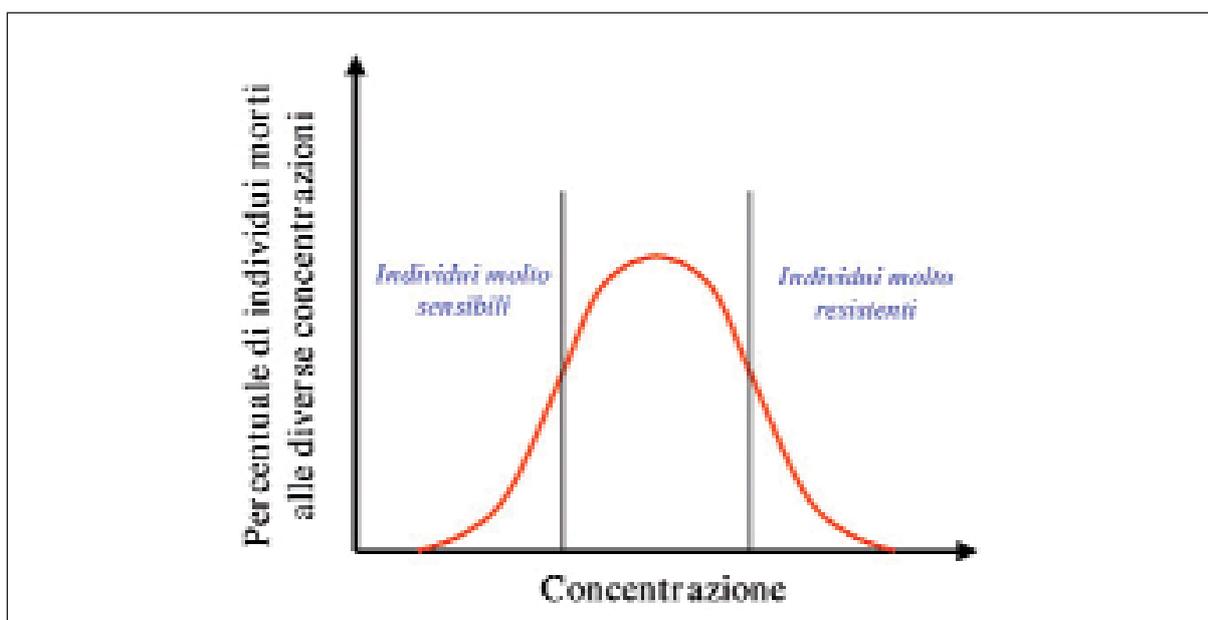


Figura 10. Risposta di una popolazione sottoposta a sostanza tossica
(www.disat.unimib.it/ita/corso/pdf/Vighi/Ecotossicologia/Laboratorio_Ecotossicologia_05_06.pdf)

Avendo stabilito che una causa (l'esposizione) può determinare un effetto, è ora necessario precisare in che modo.

In farmacotossicologia, lo studio della relazione causa-effetto può avvenire tramite la valutazione della dose mediana letale: sulla base di un campione finito di soggetti, questo tipo di rappresentazione permette di individuare la dose in grado di provocare la morte del 50% degli organismi esposti in laboratorio (LD_{50}) che si assume possa essere in grado di provocare la medesima percentuale di morti nell'intera popolazione.

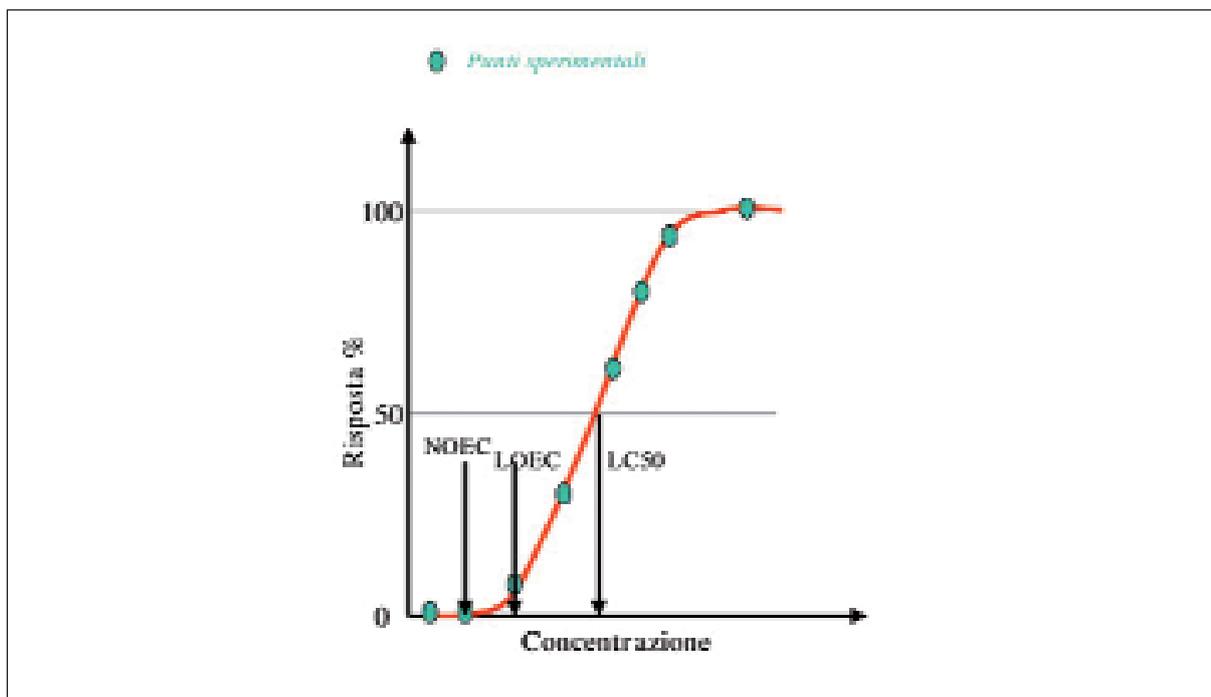


Figura 11. NOEL, LOEL, LC50

(www.disat.unimib.it/ita/corso/pdf/Vighi/Ecotossicologia/Laboratorio_Ecotossicologia_05_06.pdf)

Il parametro considerato, tuttavia, da solo non è sufficiente a caratterizzare completamente la relazione causa-effetto poiché sostanze diverse possono avere curve simili, ma effetto biologico differente.

In ecotossicologia si ottengono curve dello stesso tipo, in funzione della concentrazione dell'esposizione (riferita al mezzo di somministrazione), invece che della dose (riferita al soggetto che la riceve). In questo caso, sulla base del confronto statistico fra organismi esposti e di controllo, è possibile identificare due soglie di tossicità:

- NOEL (No Observed Effect Level), il livello di esposizione più alto in cui ancora non si osservano effetti avversi;
- LOEL (Lowest Observed Effect Level), il livello più basso tra quelli efficaci.

Entrambi questi valori sono, però, ampiamente criticati perché legati al piano sperimentale, cioè identificati con le concentrazioni utilizzate e non con i punti reali della relazione causa-effetto.

Inoltre, anche il valore soglia è difficile da determinare dal punto di vista sperimentale: infatti, il problema dell'esistenza di una soglia di tossicità, cioè di un livello al di sotto del quale una sostanza non esplica il benché minimo effetto dannoso, è uno dei più controversi della tossicologia. Per le sostanze che fungono da micronutrienti, ad esempio, un certo livello di esposizione è indispensabile all'organismo. Al di sotto di questo, si possono manifestare fenomeni di carenza, mentre fenomeni tos-

sici si verificano solo a concentrazioni relativamente alte: per queste sostanze è, quindi, certa la presenza di una soglia di tossicità. Per tutte le altre sostanze, ed in particolare per quelle xenobiotiche, l'esistenza di una soglia è difficile da dimostrare. A tutto questo va aggiunto il fenomeno dell'ormesi, che determina un miglioramento apparente delle condizioni misurate ad esposizioni minime di tossici.

4.5.2 Tipi di effetto

I fattori che possono influenzare le proprietà tossiche di un composto si possono suddividere in diverse categorie.

Tabella 1. Fattori che influenzano l'effetto (Galli C.L. et al., 1991).

Fattori relativi all'agente tossico	<ul style="list-style-type: none"> - caratteristiche chimico-fisiche - purezza (presenza di contaminanti) - veicolo (variazioni della biodisponibilità)
Fattori relativi all'esposizione	<ul style="list-style-type: none"> - dose esterna - via, modo e sito di esposizione - durata e frequenza dell'esposizione - dose interna (concentrazione del tossico al sito attivo)
Fattori relativi al soggetto	<ul style="list-style-type: none"> - specie - ceppo - corredo genico individuale - età - sesso - stato nutrizionale

Oltre ai fattori indicati in tabella 1, occorre tenere conto della metabolizzazione da parte dell'organismo e dell'interazione con altri composti.

Gli effetti dipendono anche dal tipo di esposizione: singola (unica esposizione alla sostanza potenzialmente tossica), ripetuta (più esposizioni in tempi successivi) o cronica (esposizione costante). Inoltre, possono anche non avere manifestazione immediata ma ritardata e possono essere reversibili (quando non si rilevano più al cessare dell'esposizione) o irreversibili (quando si ha un danno permanente che perdura anche al cessare dell'esposizione).

In alcuni casi l'effetto può essere diverso tra la prima esposizione e le successive alla stessa sostanza: è quanto si verifica nei casi in cui l'organismo è in grado di sviluppare meccanismi adattativi (effetto marcato alla prima esposizione, mentre in seguito è necessaria un'esposizione superiore per determinare lo stesso effetto) oppure nei fenomeni di sensibilizzazione (un organismo, esposto per la prima volta ad una sostanza, sopporta l'esposizione senza mostrare effetti significativi, ma successivamente gli effetti sono molto più marcati anche ad esposizioni ridotte, come avviene nelle allergie).

L'effetto cumulativo e l'adattamento sono più facilmente osservabili nel caso di un'esposizione continua, costante o variabile: quest'ultimo è il tipico caso di un corpo idrico recettore di effluenti industriali, nel quale la concentrazione della sostanza varia da un minimo tendente a zero (quando non avviene lo scarico) ad un massimo durante il picco di contaminazione.

E' necessario, poi, tener conto del fatto che di solito si ha esposizione contemporanea a più sostanze diverse (non necessariamente tutte dannose) e, quindi, l'effetto complessivo viene determinato dalle interazioni fra di esse. In tal caso l'interpretazione dei risultati può risultare particolarmente complicata, dal momento che si possono verificare i seguenti fenomeni:

- effetto addizionale, quando l'effetto combinato di più composti è pari alla somma dell'effetto di ciascun singolo agente;
- sinergismo, quando l'effetto combinato dei composti è maggiore della somma degli effetti dei singoli agenti;
- potenziamento, quando una sostanza di per sé non tossica, somministrata unitamente ad un composto tossico, ne aumenta la tossicità;
- antagonismo, quando i composti interferiscono l'uno con l'altro. Si distinguono:
 - a) antagonismo funzionale, quando due agenti si controbilanciano producendo effetti opposti sulla stessa funzione biologica;
 - b) antagonismo chimico, quando i composti interagiscono chimicamente e l'effetto risultante è minore o addirittura nullo;
 - c) antagonismo nella biodisponibilità, quando vengono alterate fasi di assorbimento, metabolismo, distribuzione e/o escrezione;
 - d) antagonismo recettoriale, quando le sostanze competono per lo stesso recettore e l'effetto risultante può essere la diminuzione dell'azione di entrambe le sostanze tossiche oppure di una sola di esse.

Inoltre, lo sviluppo di un effetto tossico passa attraverso tre fasi: chimica, o di esposizione; tossicocinetica, o di trasformazione; tossicodinamica. In quest'ultima fase le sostanze tossiche, che possono essere quelle di partenza o i loro metaboliti, interagiscono in siti chiave e danno inizio ai processi che determinano gli effetti tossici veri e propri. Se il bersaglio è un organo, si può avere un'alterazione della sua funzionalità, potenzialmente culminante con la morte; se è il DNA, si possono sviluppare tumori in seguito a mutazioni di cellule somatiche o effetti teratogeni in seguito a mutazioni in cellule germinali; se è il sistema immunitario, la riduzione delle difese può portare a una maggiore sensibilità dell'organismo agli agenti esterni.

Dal momento che la manifestazione di un effetto dipende dal complesso bilancio tra assorbimento ed escrezione, danno esercitato ed eventuali processi metabolici di riparazione, non è sempre agevole predire con certezza l'effetto finale, pur partendo da esperimenti semplici.

4.5.3 Vie di esposizione, destino nell'organismo e trasformazioni tossiche

Nel valutare gli effetti di una sostanza potenzialmente tossica, particolarmente importante risulta essere la via di esposizione, che dipende soprattutto dalla forma fisica (solido, liquido, gas) e dal fatto che possa raggiungere una parte sensibile (recettore) dell'organismo con una concentrazione sufficientemente elevata e per un sufficiente tempo di esposizione.

Le vie di esposizione comprendono l'inalazione (tratto respiratorio), l'ingestione (tratto gastro-intestinale) e la via topica (superfici di contatto). Le condizioni ambientali possono influire sull'esposizione e sul grado di assorbimento di una sostanza, dal momento che determinano la forma con cui si presenta in natura: tali condizioni vanno specificate quando si presentano i dati di tossicità.

Il tipo di esposizione condiziona in particolare il destino della sostanza all'interno dell'organismo e ne determina i meccanismi di assorbimento, distribuzione ed escrezione. Il metabolismo delle sostanze dipende dalle loro proprietà chimico-fisiche, ad esempio il loro carattere idrofilo o polare. Le

sostanze solubili in acqua, o dissociate in composti polari, entrano direttamente nella circolazione sanguigna e, qualora facilmente vaporizzabili, possono essere espirate attraverso i polmoni oppure escrete mediante l'urina o altri fluidi corporei (lacrime, saliva, latte, sudore, etc.). Le sostanze lipofile e metabolicamente stabili, invece, in genere tendono ad essere accumulate nel grasso corporeo, ma, in condizioni di stress, possono essere rimesse in circolo e provocare intossicazioni acute o dar luogo (nel fegato o in altri organi) a due tipi di reazioni:

- Reazioni di fase 1: catalizzate dalla famiglia del citocromo P-450 e da altri enzimi del reticolo endoplasmatico liscio, si sviluppano in ossidazioni, riduzioni, idrolisi, dealchilazioni, deaminazioni, dealogenazioni, formazione e rottura di anelli;
- Reazioni di fase 2: comprendono reazioni di coniugazione, formazione di legami covalenti delle sostanze assorbite o dei loro prodotti nelle reazioni di fase 1 con composti quali glutatione, acido glucuronico e aminoacidi.

I composti coniugati, più solubili in acqua della sostanza di partenza, sono più facilmente escreti dalla bile e talvolta possono essere separati nei loro componenti dai batteri nell'intestino ed essere riassorbiti.

In alcuni casi, la tossicità viene ridotta da altri processi di biotrasformazione dando luogo a detossificazione. Ad esempio, il cadmio induce la sintesi di metallotioneine (proteine che legano i metalli), consentendo all'organismo una maggiore tolleranza, anche se, a lungo andare, l'accumulo nei reni è comunque causa di nefrotossicità. In altri casi, la biotrasformazione conduce ad alterazioni strutturali o proteiche, che provocano un aumento della tossicità fino a vere e proprie biotossificazioni: ad esempio, gli IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) vengono convertiti in derivati arilanti, che interagiscono col DNA e le proteine, causando mutazioni, cancro, teratogenesi, sensibilizzazione del sistema immunitario, morte cellulare; le arilammine, trasformate in arilidrossilammine, convertono l'emoglobina in metaemoglobina, incapace di trasportare l'ossigeno; i nitrati assunti tramite la dieta nell'intestino vengono ridotti in nitriti ad opera di batteri e, in presenza di sostanze contenenti amminogruppi, in nitrosammine che sono cancerogene; gli stessi nitriti possono anche convertire l'emoglobina in metaemoglobina. Un caso particolare è quello delle cosiddette sindromi letali, che vedono la trasformazione del prodotto iniziale in un composto tanto tossico da condurre alla morte.

Per quanto riguarda il destino delle sostanze tossiche all'interno dell'organismo, si possono distinguere effetti locali, che si verificano nel punto di applicazione, ed effetti sistemici, che si manifestano nell'organo bersaglio (non necessariamente corrispondente a quello di assorbimento). Ad esempio, le sostanze corrosive hanno sempre effetto locale; quelle irritanti hanno effetto spesso locale, ma in qualche caso possono avere effetto sistemico su organi o tessuti bersaglio anche lontani dal sito d'assorbimento; altre ancora (come i metalli pesanti) possiedono un effetto sia locale che sistemico, dopo assorbimento e trasporto (ad esempio sul sistema nervoso centrale).

In più, per sostanze per le quali l'assorbimento supera l'escrezione, si osserva il fenomeno del bioaccumulo, che si può verificare a livello di organismo oppure in alcuni comparti o organi specifici. Va precisato che, di per sé, questo non può essere considerato un effetto avverso (i tessuti adiposi possono accumulare grandi quantità di sostanze organiche, quali ad esempio i pesticidi, senza risentirne). Il danno si manifesta, invece, nel caso in cui il bioaccumulo comporti il raggiungimento di una concentrazione sufficientemente elevata da alterare una funzione essenziale.

Si precisa che gli effetti di una sostanza possono essere cumulativi anche quando la sostanza stessa non viene accumulata (pesticidi o metalli pesanti sul sistema nervoso).

4.6 Scelta delle specie

La scelta delle specie da utilizzare nei test di tossicità dipende dall'obiettivo che si vuole conseguire. Se l'obiettivo è proteggere una specie minacciata dalla presenza di determinate sostanze si potrà decidere di analizzare l'ambiente dove si trova impiegando una specie che la sostituisca, scelta con il criterio della massima somiglianza ma anche dell'economicità e comodità operativa.

Nell'ambito dell'ecotossicologia acquatica, affinché un organismo test possa essere considerato rappresentativo del corpo idrico recettore, non deve necessariamente svolgere il suo ciclo vitale al suo interno. Occorre tuttavia precisare che, sebbene un organismo autorevole quale l'USEPA scoraggi l'indigenismo come criterio di scelta delle specie test, nelle sua giurisdizione spesso esige l'uso di specie autoctone. E' in quest'ottica che si inserisce il progetto che l'APAT sta portando avanti per la messa a punto di un Database di Test Ecotossicologici, caratterizzato unicamente dalla presenza di specie tipiche del territorio italiano.

L'organismo test prescelto deve comunque essere in grado di vivere senza problemi in un campione non contaminato del corpo recettore in esame, senza mostrare alcun segno di disturbo. Ad esempio, *Daphnia magna*, essendo adattata alle acque dure, è rappresentativa di organismi che vivono in tali acque.

Dovendo saggiare un campione di acqua molle, sarà opportuno scegliere per esempio *Daphnia pulex* od altro organismo più idoneo. Volendo comunque utilizzare *Daphnia magna* su di un'acqua molle, non sarebbe possibile discriminare i segni di stress dovuti alle sostanze tossiche da quelli dovuti alla scarsa durezza dell'acqua.

Se l'obiettivo è coprire la maggior parte degli stressori potenzialmente presenti in un campione, sarà opportuno applicare il criterio della massima diversità componendo una batteria di organismi, in cui ciascuno dei membri dovrà correlarsi con le specie rappresentate e complementarsi con le altre specie che compongono la batteria.

Per chiarire quale sia lo spettro di sensibilità di una serie di specie occorre eseguire dei test utilizzando composti puri. Infatti, nel caso di miscugli di composti o di campioni ambientali (ad esempio un refluo) non è possibile evincere dal test quale sia l'agente causativo, e quindi sarà molto difficile rilevare le individuali carenze di sensibilità di ciascuna specie: nella maggior parte dei casi le specie saggiate daranno risposte positive, anche se in realtà dovute ad agenti causativi diversi. A tutto ciò va aggiunto l'effetto delle sinergie, che uniformano ulteriormente i risultati contribuendo ad occultare le differenze.

4.7 L'endpoint

Per la buona riuscita e per la significatività di un test di tossicità, grande importanza riveste anche l'endpoint, definito come la caratteristica di un componente ecologico (ad esempio la mortalità di un pesce o l'immobilizzazione di un crostaceo) che può essere affetta in conseguenza all'esposizione ad uno stressore: quando si raggiunge, si considera terminato il test.

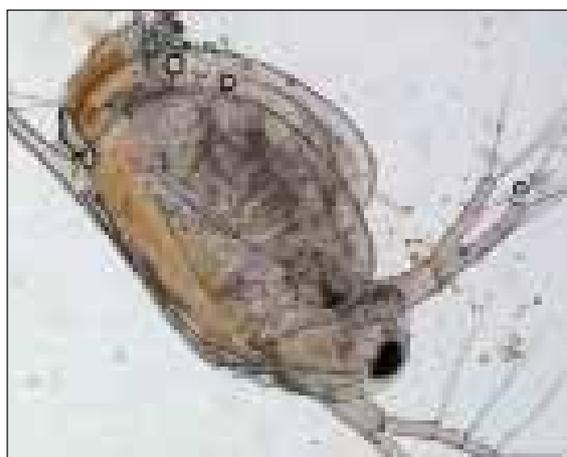


Figura 12. *Daphnia magna* (ARPA Lazio - Dipartimento provinciale di Latina)

L'endpoint può essere un parametro misurabile (risponde allo xenobiotico e descrive aspetti essenziali per il mantenimento delle caratteristiche dell'ecosistema) oppure stimabile (descrive le caratteristiche dell'ecosistema da proteggere). Per esempio, se in natura si osserva il declino della popolazione di un pesce (endpoint stimato), si può supporre che esso dipenda dalla presenza di una sostanza tossica. Per avere conferma, si effettuano studi di laboratorio sulla mortalità di specie surrogate (endpoint misurato), messe a contatto con campioni della stessa acqua in cui vive quella selvatica.

I più comuni endpoint considerati sono:

- mortalità;
- immobilizzazione;
- effetti sulla riproduzione;
- effetti sul DNA;
- effetti sulla crescita e sullo sviluppo degli individui;
- effetti sulla crescita di una popolazione;
- alterazione di parametri metabolici e/o fisiologici;
- alterazione di particolari caratteristiche comportamentali.

4.8 Espressione dei risultati dei test ecotossicologici

Allo stato attuale non è stata ancora formalizzata una convenzione internazionale metrologica per quanto riguarda l'espressione dei risultati dei test ecotossicologici. Esiste, tuttavia, una consuetudine scientifica consolidata nel tempo, per la quale i parametri più comunemente usati sono di due tipi: mediani e soglia.

Tabella 2. Parametri ed unità di misura (Oddo N., 2001)

	Parametro	Indicazione	Unità di misura
Parametri soglia	Dose Letale 50	LD50	mg/kg peso corporeo
	Dose Efficace 50	ED50	mg/kg peso corporeo
	Concentrazione Efficace 50	EC50	mg/L o %campione
	Concentrazione Efficace xx	ECxx	mg/L o %campione
	Indice di Tossicità	TI	EC50 ⁻¹ x100 (Toxicity Unit)
	Concentrazione Teratogenica 50	TC50	mg/L
Parametri mediani	Concentrazione di Effetto Non Osservato	NOEL	mg/L o %campione
	Minima Concentrazione di Effetto Osservato	LOEL	mg/L o %campione
	Minima Diluizione Inefficace	LID o Gf	Fattore di diluizione
	Minima Concentrazione Inibitrice dello Sviluppo	MCGI	mg/L

Per stimare la validità d'impiego di un test di ecotossicità, il criterio di correlazione è tra quelli maggiormente utilizzati. Esso consiste nello scegliere una serie di campioni, eseguire su ciascuno di essi un saggio di tossicità su due o più specie e confrontare i risultati dei saggi eseguiti su ciascun campione. Con appositi algoritmi si calcola, infine, il coefficiente di accordo tra i vari organismi, che è generalmente espresso in percentuale.

4.9 I test acquatici

Il campo della tossicologia acquatica è cresciuto prendendo origine dalle discipline della biologia dell'inquinamento acquatico e della limnologia e si è sviluppato nell'arco di ben 120 anni.

Gli studi hanno coinvolto test condotti su intervalli brevi per saggi di letalità di tipo acuto, della durata di 48 o 96 ore, a seconda della specie utilizzata. I test di tossicità acuta furono seguiti dallo sviluppo di test di subletalità (ad esempio studi biochimici) e test con esposizioni prolungate (ad esempio studi su parte o tutto il ciclo vitale degli organismi). I primi esperimenti furono condotti in assenza di obblighi legislativi, mentre oggi vengono eseguiti per scopi di ricerca o di "environmental risk assessment" (valutazione di rischio ambientale) e sono richiesti da molte agenzie governative per la registrazione dei prodotti, l'etichettatura, il trasporto di materiali sull'acqua e le disposizioni in materia di rifiuti e scarichi.

Il costo ed il tempo richiesti per l'esecuzione di un test sull'intero ciclo di vita di un organismo hanno incoraggiato gli scienziati a ricercare specie e stadi vitali particolarmente sensibili. Per esempio, i test sull'intero ciclo vitale dei pesci sono stati sostituiti nella maggior parte dei casi con studi sullo stadio embrio-larvale. Uno sforzo maggiore è stato fatto per identificare specie che consentissero studi cronici in tempi brevi (ad esempio, il test su *Daphnia magna* o *Ceriodaphnia dubia*), oppure specie e stadi vitali particolarmente sensibili. Ad esempio, per valutare la qualità di un effluente, sono ampiamente diffusi i test a 7 giorni sulla crescita embrio-larvale e sulla sopravvivenza delle trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*), il cui obiettivo è di fornire rapidamente accurate stime di NOEL cronici.

Durante lo scorso decennio, è stato compiuto un ulteriore passo avanti sviluppando analisi tossicologiche rapide ed il risultato è stato una diminuzione considerevole dei tempi (da giorni ad ore o anche minuti). Ad esempio, la procedura di TIE (Toxicity Identification Evaluation) per un effluente richiede vari test di tossicità da eseguire in giornate successive: l'impiego di kit (come il *Microtox*) permette di accelerare notevolmente il processo. A pari merito, l'uso di analisi rapide durante il biomonitoraggio in sito degli effluenti consente di ottenere set di dati più ampi durante il limitato tempo a disposizione.

I test di tossicità acquatica sono generalmente effettuati mediante esposizione a concentrazioni di sostanze poste in soluzione nel mezzo (acqua).

Esistono una serie di saggi standardizzati secondo procedure ufficiali accettate a livello europeo ed internazionale:

- tossicità acuta sui pesci;
- tossicità acuta su batteri bioluminescenti;
- tossicità acuta su *Daphnia magna* ed altri crostacei;
- inibizione della crescita algale;
- saggio a breve termine su embrioni di pesci;
- saggio di crescita su stadi giovanili di pesci;
- saggio di riproduzione su *Daphnia magna* ed altri crostacei;
- saggio di bioaccumulo in flusso continuo sui pesci.

Le procedure maggiormente diffuse fanno riferimento a sigle quali APAT IRSA-CNR; ASTM, ISO, USEPA, OECD.



Figura 13. *Paracentrotus lividus*

Batteri bioluminescenti

Il ceppo utilizzato è in genere *Vibrio fischeri* e viene applicato per la valutazione della tossicità acuta di scarichi, acque di vario tipo, sedimenti, sostanze pure. La durata dei test è di circa 15/30 minuti. In commercio si trovano anche dei kit di facile applicazione.

Crostacei

I saggi di tossicità con crostacei vengono effettuati su un'ampia gamma di matrici, comprese le acque marine. La durata dei test è solitamente di 24/48 ore, massimo 96, sebbene esistano anche metodiche croniche della durata di sette giorni. La specie più diffusa ed utilizzata è *Daphnia magna*, probabilmente perché è piuttosto semplice da allevare, fornisce dati di una certa qualità e i metodi che ne prevedono l'utilizzo sono standardizzati e validati a livello internazionale.

Pesci

Questi saggi in genere sono i meno diffusi e più problematici da attuare, per una serie di motivi tecnico-pratici. Infatti, non è sempre agevole per i soggetti scelti sopportare bene le condizioni di acquario nelle quali vengono allevati; inoltre, è essenziale che i pesci siano tutti sani e di dimensioni omogenee. A tutto ciò si aggiungano anche i problemi di spazio, alimentazione e mantenimento che vanno previsti. Le metodiche di tipo acuto prevedono l'impiego di test generalmente a 96 ore, mentre i test di tipo cronico variano a seconda della specie utilizzata.

Alghie

I test di questo tipo considerano principalmente quale endpoint l'inibizione della crescita algale. Il maggior riferimento è costituito dai metodi UNI EN ISO.

Vegetali

I test sui vegetali valutano gli effetti delle sostanze tossiche sulla germinazione e l'allungamento radicale. Parimenti diffusi sono i test di fitotossicità che considerano ad esempio la variazione della crescita in vaso di determinate specie. I tempi e le metodiche variano a seconda della pianta che si utilizza.

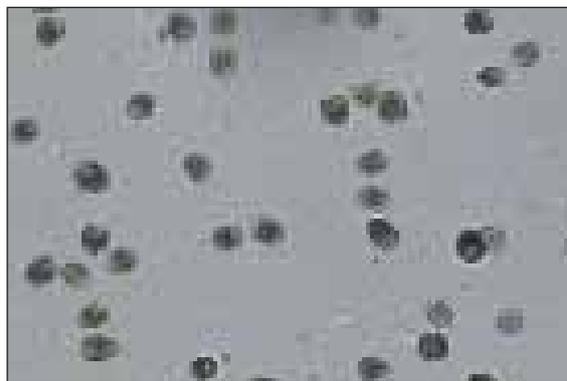


Figura 14 . *Dunaliella tertiolecta* (ARPA Lazio - Dipartimento provinciale di Latina)

4.9.1 La situazione in Italia

Nel 2004 è stato pubblicato il manuale APAT – IRSA CNR “Metodi analitici per le acque – Rapporto APAT 29/2003”, all’interno del quale un’intera sezione (sez. 8000) è dedicata ai saggi ecotossicologici, con ampie descrizioni tecniche dedicate agli operatori che li devono applicare. Appare quindi ridondante riportare descrizioni dettagliate in questa sede. Importante è, invece, sottolineare lo sforzo che si è voluto compiere, sebbene questo non costituisca altro che un inizio ed un piccolo passo per un lavoro che è ancora molto lungo e sta assumendo sempre maggiore importanza anche nel nostro Paese, con tutti i ritardi che gli addetti ai lavori conoscono.

I metodi citati prendono in considerazione saggi con pesci, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*,

Mysidopsis bahia, *Cyprinodon variegatus*, *Oncorhynchus mykiss* per la valutazione di effetti acuti e cronici, e saggi con batteri bioluminescenti ed *Artemia sp.* per la valutazione di effetti acuti. Nel passato erano diffusi saggi eseguiti con organismi appartenenti ad una sola specie, mentre ora si tende a sviluppare saggi multispecie, condotti con organismi di livelli trofici differenti (batteri, alghe, crostacei, pesci).

In ogni caso, se l'utilità dei metodi presentati è fuori discussione, non si possono ignorare alcuni problemi emersi durante le giornate di studio promosse dal Settore Tossicologia e Indicatori Ambientali di APAT nel 2005, che hanno coinvolto anche alcune ARPA interessate all'argomento: tali riunioni vogliono essere solo l'inizio di un lavoro comune volto a sviluppare ed approfondire le conoscenze nell'ambito dell'ecotossicologia.

Alcune delle problematiche emerse sono riassunte nei punti seguenti:

- finora non sono ancora stati proposti né un metodo di saggio con specie algali né un metodo di saggio cronico con *Daphnia magna*, sebbene siano entrambi da tempo applicati con finalità di ricerca e controllo;
- è evidente un certo grado di disomogeneità nell'impostazione dei metodi, dovuta in parte ai differenti anni di nascita dei metodi stessi;
- esiste la necessità di avere a disposizione metodiche unificate e validate a livello nazionale, non solo per la parte acquatica ma anche per quanto riguarda i sedimenti.

E' pertanto chiaro che, sebbene i metodi presentati in precedenza siano un buon punto di partenza, altre iniziative dovranno essere intraprese ed opportunamente coordinate, allo scopo innanzitutto di garantire una migliore applicabilità delle leggi vigenti ed in secondo luogo (ma non meno importante) di riportare l'Italia al passo con l'Europa e le nazioni più avanzate in questo campo.

5. STATO DELL'ARTE IN ITALIA

Con la nascita del Settore Tossicologia ed Indicatori Ambientali, in seno all'omonimo Servizio del Dipartimento Difesa della Natura in APAT, è stata intrapresa una prima ricognizione dello stato dell'arte sull'ecotossicologia nelle sedi ARPA/APPA regionali. Il lavoro consente ora di avere un quadro conoscitivo piuttosto omogeneo anche in vista del recepimento della Direttiva 2000/60/CE, nella quale l'individuazione degli SQA (Standard di Qualità Ambientale) dei corpi idrici afferenti ai vari bacini sarà effettuata precipuamente sulla base di test e valutazioni di tipo biologico ed ecotossicologico.

E' sulla scorta di queste notizie e previsioni che è nato nel 2005 un gruppo di lavoro ed interconfronto APAT-ARPA in materia: questo gruppo di lavoro ha visto la partecipazione di rappresentanti delegati dalle rispettive ARPA, personale altamente qualificato ed interessato che ha iniziato a colloquiare per collaborare e far crescere, dar forza e dignità ad un settore che finora aveva visto la mancanza di un coordinamento puntuale.

In questa ottica di conoscenza e acquisizione dati per poi operare in maniera efficace sull'intero territorio nazionale, è stato effettuato un primo screening per verificare quanto siano diffuse le metodiche ecotossicologiche in tutti i dipartimenti provinciali. Allo scopo è stato inviato a tutti un semplice questionario da rispedire compilato (riportato a titolo di esempio nelle pagine successive).

Si sono, così, potuti ottenere dati piuttosto chiari sulla diffusione dei test e su quanto e come vengono utilizzati a livello locale. Inoltre, sono emerse non poche difficoltà e necessità che andranno certamente affrontate in sede opportuna.

Si sono ottenute risposte da 54 province su un totale di 103, pari a più del 52.4% del territorio nazionale.

Vengono, quindi, riportate una tabella riassuntiva delle risposte così come sono state fornite dai Dipartimenti provinciali ed i risultati ottenuti dall'elaborazione dei dati ritenuti più significativi.

QUESTIONARIO ECOTOX PER I DIPARTIMENTI PROVINCIALI ARPA/APPA

1. Nel vostro Dipartimento utilizzate test di tossicità? Sì No

2. Se sì, con quale frequenza?

- Quotidiana
- Settimanale
- Mensile
- Stagionale
- Saltuaria (indicare la frequenza _____)

3. Su quali matrici li utilizzate?

- Acque:
 - marine
 - reflue
 - sotterranee
 - superficiali
- Aria
- Sedimenti
- Suolo

4. Per ogni matrice fornire le indicazioni richieste nella tabella sottostante.

Matrice ambientale	Test utilizzati	Organismi utilizzati	Metodiche applicate	Note (difficoltà riscontrate nella pratica, uso dei dati, etc.)
ACQUE MARINE				
ACQUE REFLUE				
ACQUE SOTTERRANEE				
ACQUE SUPERFICIALI				
ARIA				
SEDIMENTI				
SUOLO				

Tabella 3. Diffusione dei test ecotossicologici nei Dipartimenti provinciali delle ARPA regionali (aggiornati al 31/12/2005)

Dipartimento	Frequenza	Matrice	Organismo	Tipo di test	Metodica
Chieti	settimanale	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Protocollo inteconfronto/ Metodo APAT-IRSA 8030
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Protocollo inteconfronto/ Metodo APAT-IRSA 8030
		Sedimenti (Acqua Interstiziale)	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo APAT-IRSA CNR 8030
L'Aquila	settimanale	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	DaphToxKit	DaphToxKitFTM
		Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Dunaliella teretiolecta</i>	Kit Coltivazione ceppo	Metodo 8030 APAT-IRSA CNR 29/2003 ARPAT n.8 II.2
			<i>Vibrio fischeri</i>	Kit	Metodo 8030 APAT-IRSA CNR 29/2003
Pescaia	settimanale	Acque reflue	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Coltivazione ceppo	ISO 8692:1989
			<i>Daphnia magna</i>	Kit	APAT-IRSA CNR
		Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Dunaliella teretiolecta</i>	Kit Coltivazione ceppo	Metodo 8030 APAT-IRSA CNR 29/2003 ARPAT n.8 II.2
Teramo	settimanale	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodi analitici per le acque, vol.III (APAT IRSA -CNR 29/2003) Metodica Interna, riferimento II interconfronto nazionale APAT
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta (x inquinamento massivo)	Metodica Interna, riferimento II interconfronto nazionale APAT
		Sedimenti tal quali	<i>Lepidum sativum</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Germinazione e allungamento radicale	Metodi analitici per le acque, vol.III (APAT IRSA -CNR 29/2003) R. Baudo, M.Feltrami "Test di germinazione e allungamento radicale", Biologi Italiani 11/2004, pagg.55-63
		Sedimenti (Acqua Interstiziale)	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodi analitici per le acque, vol.III (APAT IRSA -CNR) Metodica Interna, riferimento II interconfronto nazionale APAT

Matera	saltuaria (15gg)	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Kit in commercio (ecotox)
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Kit in commercio (ecotox)
Potenza	settimanale	Aria	<i>Xantoria parietina</i>	Bioaccumulo Me	Assorbimento atomico
		Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 APAT-IRSA
		Acque sotterranee	<i>Daphnia magna</i>	EC50	Metodo 8020 APAT-IRSA
			<i>Vibrio fischeri</i>	Saggio preliminare e definitivo al 100%	Metodo 8020 APAT-IRSA
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	EC50	Metodo 8020 APAT-IRSA
Avellino	quotidiana	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta 24 h	APAT-IRSA CNR 2003 8020
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta EC50	APAT-IRSA CNR 2003 8020
			<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inibizione algale	ISO 8692:1989
		Sedimenti (elutriato e acqua interstiziale)	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta 24 h	APAT-IRSA CNR 2003 8020
Salerno	quotidiana	Acque marine	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inibizione algale	ISO 8692:1989
			<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Inibizione algale	ARPAT Toscana
		Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta 24 h	APAT-IRSA CNR 2003 8020
			<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT-IRSA CNR 2003 8030
		Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta EC50	APAT-IRSA CNR 2003 8020
			<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT-IRSA CNR 2003 8030
Bologna	quotidiana	Acque reflue	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inibizione algale	ISO 8692:1989
			<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta EC50	APAT-IRSA CNR 2003 8020
		Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT-IRSA CNR 2003 8030
			<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inibizione algale	ISO 8692:1989
Bologna	Aria		<i>Salmonella typhimurium</i>	Test mutagenesi PM2.5	ISO 8692:1989

	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003	
	<i>Dunaliella tertiolecta</i>			
	<i>Phaeodactylum tricorntatum</i>	Inibizione crescita algale	UNI EN ISO 10253; ARPAT 1998	
	<i>Skeletonema costatum</i>			
Acque marine	<i>Brachionus plicatus</i>	Tox acuta-cronica	ASTM E 1440-91(reapproved 1998)	
	<i>Acartia tonsa</i>		Metodo 8060 APAT IRSA-CNR 29/2003	
	<i>Artemia salina</i>	Tox acuta (24-96h)	Metodo 8060 APAT IRSA-CNR 29/2003	
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Tox acuta (24-96h) - cronica (28gg)	USEPA 2002; OECD 203 e 204	
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Bioaccumulo (28gg)	USEPA 2002; ASTM E 1022-94	
	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Genotox (MN tests)	Al Sabti K., Metcalfe C.D., 1995	
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Embriotox	ASTM E 724-98; USEPA 1995	
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003; ISO 6341:1996	
	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003	
	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003	
Acque reflue	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Inibizione crescita algale	ARPAT 1998	
	<i>Brachionus calyciflorus</i>		ASTM E 1440-91 (reapp.1998)	
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Tox acuta-cronica	Metodi 1013 e 8100 APAT IRSA-CNA 29/2003	
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003; ISO 6341:1996	
	<i>Cyprinus carpio</i>			
	<i>Alburnus alborella</i>			
	<i>Carassius auratus</i>	Tox acuta (24-96h) - cronica (28gg)	Metodi 985, 8080 e 8120 APAT IRSA-CNR 29/03; OECD 203 e 204	
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>			
	<i>Salmo trutta</i>			
	<i>Cyprinus carpio</i>	Bioaccumulo (28gg)	USEPA 2000; ASTM E 1022-94	
Acque superficiali	<i>Cyprinus carpio</i>	Genotox (MN tests)	Al Sabti K., Metcalfe C.D., 1995	
	<i>Carassius auratus</i>			
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Embriotox	ASTM E 724-98; USEPA 1995	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test mutagenesi PM2,5		
Aria				
Ferrara settimanale				

Sedimenti dolci	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA CNR 29/2003
	<i>Acartia tonsa</i>		ISO 14669 modificata
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>		Metodo 1013 e 8100 APAT IRSA-CNR 29/2003
	<i>Brachionus plicatis</i>	Tox acuta	ASTM E 1440-91 (reapproved 1998)
	<i>Brachionus calyciflorus</i>		Metodo 8060 APAT IRSA-CNR 29/2003
Acque reflue superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 993 APAT IRSA-CNR; ISO 6341:1996
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 993 APAT IRSA-CNR; ISO 6341:1996
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test mutagenesi PM2,5	
Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 993 APAT IRSA-CNR; ISO 6341:1996
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test mutagenesi PM2,5	
Acque sotterranee	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test genotox	Test di Ames
	Linfociti umani	Test genotox	Test micronuclei
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test genotox	Test di Ames
	Linfociti umani	Test genotox	Test micronuclei
Suolo	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test genotox	Test di Ames
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test genotox	
Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003
	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Inibizione crescita algale	ARPAT 1998
	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003
Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 993 APAT IRSA-CNR; ISO 6341:1996
	<i>Lepidium sativum</i>		
	<i>Cucumis sativus</i>	Test germinazione e allungamento radicale	UNICHIM 1651:2003
	<i>Lactuca sativa</i>		
	<i>Solanum lycopersicum</i>		
Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 APAT IRSA-CNR 29/2003; ISO 6341:1996
	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003
Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR 29/2003

	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 APAT IRSA-CNR 29/2003; ISO 6341:1996
Aria	<i>Nicotiana tabacum</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Monitoraggio ozono Test mutagenesi PM2,5	Metodo Bagni modificato (ARPAER)
Sedimenti dolci	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 APAT IRSA-CNR 29/2003; ISO 6341:1996
Sedimenti marini	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 APAT IRSA-CNR, correzione politica (ICRAM 1998)
Suolo e fanghi	<i>Lepidium sativum</i> <i>Cucumis sativus</i> <i>Lactuca sativa</i> <i>Solanum lycopersicum</i>	Test germinazione e allungamento radicale	UNICHIM 1651:2003
Suolo		Pedofauna	Metodo Parisi:2001
Reggio Emilia	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	APAT-IRSA CNR 8020/B:2003
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	APAT-IRSA CNR 8020/B:2003
Rimini	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	APAT RTI CTN_TES 1/2004 Appendice 2
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Test mutagenesi PM2,5	
	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Curva dose/effetto; Software Microtox
	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Curva dose/effetto; Software Microtox
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Manuale APAT 29/2003, rif.8020
settimanale o mensile	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Curva dose/effetto; Software Microtox
	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Curva dose/effetto; Software Microtox
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Manuale APAT 29/2003, rif.8020
	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA-CNR interne
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA-CNR interne
Pordenone	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA-CNR interne
	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta Test a lungo termine	
occasionale	<i>Daphnia magna</i>	Test a lungo termine	Interna

Trieste	mensile	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Preliminare
Udine	settimanale	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Test accettabilità EC50	IRSA-CNR Metodi analitici per le acque, manuale 29/2003
		Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT IRSA-CNR
			<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Inibizione crescita algale	Sbrilli (ARPAT-CEDIF 1998) modificato
			<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Inibizione sviluppo larvale	USEPA
			<i>Artemia salina</i>	Tox acuta	APAT IRSA-CNR
		Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta Inibizione bioluminescenza	APAT IRSA-CNR
			<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	
		Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT IRSA-CNR
Latina	quotidiana e settimanale		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> <i>Cucumis sativus</i> <i>Lepidium sativum</i> <i>Lactuca sativa</i> <i>Raphanus sativum</i>	Inibizione crescita algale Inibizione germinazione e allungamento radicale	USEPA modificato OECD
		Sedimenti	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	APAT IRSA-CNR
			<i>Vibrio fischeri</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	APAT IRSA-CNR Acqua interstiziale AZUR Environmental(1994); Onorari(1999); Solid Phase Test con correz. Pelitica
		Suolo	<i>Cucumis sativus</i> <i>Lepidium sativum</i> <i>Lactuca sativa</i> <i>Raphanus sativum</i>	Inibizione germinazione e allungamento radicale	OECD
Genova	quotidiana	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo interno
		Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo interno

	Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo interno	
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo interno	
	Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo interno	
	Suolo	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo interno	
Imperia	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Sedimenti	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova Metodo interno validato dal laboratorio di Genova Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Suolo	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Microtox	Metodo interno validato dal laboratorio di Genova Metodo interno validato dal laboratorio di Genova	
	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Comparison test	Microtox	
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Basic test	Microtox UNI EN ISO 6341	
	Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Basic test	Microtox UNI EN ISO 6341	
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	Basic test	Microtox UNI EN ISO 6341	
	La Spezia	quotidiana e settimanale			

	Sedimenti marini	<i>Vibrio fischeri</i>	Basic test	ICRAM
Savona	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8030
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8020
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8030
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8020
mensile	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8030
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8020
	Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8030
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA -CNR 8020
settimanale	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Kit	IRSA
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 IRSA - CNR 2004
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 IRSA - CNR 2004
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 IRSA - CNR 2004
Brescia	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 IRSA - CNR 2004
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 IRSA - CNR 2004
	Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo 8030 IRSA - CNR 2004
		<i>Daphnia magna</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8020 IRSA - CNR 2004
Cremona	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Metodo 8030 IRSA - CNR 2004
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo 8020 IRSA - CNR 2004
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	IRSA-CNR
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA-CNR
Lecco	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	DaphtoxKit	Metodo 8020 APAT-IRSA
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo 8030 APAT-IRSA
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Determinazione quantitativa tossina algale	Saggio immunoenzimatico
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA 8020B/03
Monza	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Non si effettuano test ecotossicologici	Metodica IRSA-APAT 29/2003
Pavia	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta e cronica	Metodica IRSA-APAT 29/2003

		<i>Vibrio fischeri</i>			Microtox
		<i>Selenastrum capricornutum</i>			Metodo miniaturizzato ARPA Piemonte
		<i>Daphnia magna</i>			Metodica IRSA-APAT 29/2003
		<i>Vibrio fischeri</i>		Tox acuta e cronica	Microtox
	Acque superficiali	<i>Selenastrum capricornutum</i>			Metodo miniaturizzato ARPA Piemonte
		<i>Cucumis sativus</i> <i>Lepidium sativum</i>		Test fitotossicità	Metodo UNICHIM 1651:03
		<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>		Tox acuta e cronica	Metodica IRSA-APAT 29/2003 Microtox
		<i>Selenastrum capricornutum</i>			Metodo miniaturizzato ARPA Piemonte
		<i>Heterocypris incongruens</i>		Tox acuta e cronica	OstracodToxKit
		<i>Cucumis sativus</i> <i>Lepidium sativum</i> <i>Sorghum saccharatum</i>		Test fitotossicità	Metodo UNICHIM 1651:03
		<i>Cucumis sativus</i> <i>Lepidium sativum</i> <i>Sorghum saccharatum</i>		Test fitotossicità	Metodo UNICHIM 1651:03
		<i>Lactuca sativa</i>		Test fitotossicità e crescita in vaso	Metodica Regione Lombardia (All.B DGR 16 aprile 2003-n.7/12764; BURL 13 maggio 2003, I supplemento straordinario)
		<i>Daphnia magna</i> <i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>		Tox acuta Tox acuta Tox cronica	IRSA-CNR APAT IRSA-CNR ARPA Toscana (Sbrilli)
		<i>Dunaliella tertiolecta</i> <i>Daphnia magna</i>		Tox acuta Tox acuta	Metodo 8020 APAT-IRSA CNR 29/2003
		<i>Artemia salina</i>		Tox acuta	Metodo 8060 APAT IRSA-CNR 29/2003
		<i>Daphnia magna</i> <i>Raphidocelis subcapitata</i>		Tox acuta Tox cronica	APAT (RTI CTN-AIM 2/2001) ISO 8692:2004
Pavia	quotidiana	Sedimenti			
Sondrio	settimanale	Acque reflue		Tox acuta	IRSA-CNR
Varese	quotidiana	Acque reflue Acque superficiali		Tox acuta	APAT IRSA-CNR
Macerata	quotidiana	Acque reflue Acque reflue salmastre		Tox cronica Tox acuta	ARPA Toscana (Sbrilli) Metodo 8020 APAT-IRSA CNR 29/2003
		Acque superficiali		Tox acuta Tox cronica	APAT (RTI CTN-AIM 2/2001) ISO 8692:2004

	<i>Paracentrotus lividus</i>	Fertilizzazione	ICRAM	
Sedimenti marini	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Tox acuta	ARPA Toscana (Sbrilli)	
	<i>Vibrio fischeri</i>	Inibizione bioluminescenza	Protocollo standard Azur Environmental modificato secondo Onorato-Peigrini-Ausili	
Sedimenti fluviali	<i>Daphnia magna</i>	Tox cronica	ISO CD 20664/01	
	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Tox acuta	ISO 8692:2004	
	<i>Heterocypris incongruens</i>	Tox cronica	Manuale operativo Toxkit (prof.Persoone-Ghent, University Belgium)	
Pesaro				
Non si effettuano test ecotossicologici				
Campobasso settimanale	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Sistema Microtox
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Sistema Microtox
		<i>Daphnia magna</i>		Metodo IRSA-CNR 8020 (kit)
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Sistema Microtox
	Sedimenti	<i>Daphnia magna</i>		Metodo IRSA-CNR 8020 (kit)
<i>Vibrio fischeri</i>		Tox acuta	Sistema Microtox	
Isernia settimanale	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Norma ISO 6341
	Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
Cuneo quotidiana	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA
	Acque sotterranee	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Tox cronica	Metodo Interno Arpa Piemonte
		<i>Daphnia magna</i>	Inibizione fotosintesi clorofilliana	Metodo Interno Arpa Piemonte
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Tox cronica	Metodo Interno Arpa Piemonte	
		Inibizione fotosintesi clorofilliana	Metodo Interno Arpa Piemonte	

	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno Arpa Piemonte
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Tox cronica	Metodo Interno Arpa Piemonte
		Inibizione fotosintesi clorofilliana	Metodo Interno Arpa Piemonte
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta (elutriato)	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta (elutriato)	Metodo Interno Arpa Piemonte
Sedimenti	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Tox cronica (elutriato)	Metodo Interno Arpa Piemonte
		Inibizione fotosintesi clorofilliana	Metodo Interno Arpa Piemonte
	<i>Lepidium sativum</i>		
	<i>Cucumis sativus</i> <i>Sorghum saccharatum</i> <i>Moench</i>	Test fitotossicità	UNICHIM 1651:2003
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta (elutriato)	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
	<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta (elutriato)	Metodo Interno Arpa Piemonte
Suolo	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Tox cronica (elutriato)	Metodo Interno Arpa Piemonte
		Inibizione fotosintesi clorofilliana	Metodo Interno Arpa Piemonte
	<i>Lepidium sativum</i>		
	<i>Cucumis sativus</i> <i>Sorghum saccharatum</i> <i>Moench</i>	Test fitotossicità	UNICHIM 1651:2003
	<i>Folsomia candida</i>	Inibizione riproduzione	Metodo Interno Arpa Piemonte
Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	U.R.P.M015
	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	U.R.P.M020-U.R.P.TO09
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Test algale	U.R.P. M669
Torino Grugliasco	Acque superficiali	Microtox	U.R.P.M015
	quotidiana		

		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	U.R.P.M020-U.R.P.TO09
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Test algale	U.R.P. M669
		<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	U.R.P.M015
Sedimenti		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	U.R.P.M020-U.R.P.TO09
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Test algale	U.R.P. M669
		<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	U.R.P.M015
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	U.R.P.M020-U.R.P.TO09
Suolo		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Test algale	U.R.P. M669
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno Arpa Piemonte
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno Arpa Piemonte
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno Arpa Piemonte
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno ARPA; UNI EN ISO 6341:99
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	Metodo Interno Arpa Piemonte
Vercelli	quotidiana			
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA-CNR
Arezzo	quotidiana se necessario e saltuaria			
		<i>Vibrio fischeri</i>	Screening 50% a 30 min	Lumistox
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	IRSA-CNR
Grosseto	mensile			
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	UNI
		<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	Metodo Interno secondo prof.Persoon Gent, Belgio
		<i>Vibrio fischeri</i>	Tox acuta	M.I. elaborato dalla norma DIN 38412-1993
Prato	settimanale			
		<i>Selenastrum capricornutum</i>	Tox acuta	M.I.elaborato da OECD Guideline 202 ed altri(ISO EEC, USEPA ASTM)

Siena	Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Metodo Interno secondo prof. Persoon Gent, Belgio	
		<i>Vibrio fischeri</i>	M.I. elaborato dalla norma DIN 38412-1993	
		<i>Selenastrum capricornutum</i>	M.I. elaborato da OECD Guideline 202 ed altri (ISO EEC, USEPA ASTM)	
Bolzano	Acque reflue	Non si effettuano test ecotossicologici		
		<i>Daphnia magna</i>	Test acuto UNI EN ISO 6341	
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i>	EC50 EN ISO 11348-3	
		Semi di diverse specie vegetali		
	Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	Test acuto e cronico UNI EN ISO 6341; ISO 10706	
		<i>Vibrio fischeri</i>	EC50 EN ISO 11348-3	
	Aria	Semi di diverse specie vegetali		
		<i>Tredoscania</i>	Test mutagenesi Test dei micronuclei	
	Sedimenti	<i>Daphnia magna</i>	Test acuto e cronico UNI EN ISO 6341; ISO 10706	
		<i>Vibrio fischeri</i>	EC50 EN ISO 11348-3	
Semi di diverse specie vegetali				
Trento	Acque reflue	Batteri bioluminescenti	LUMIstox Screening; test classico	
	Acque superficiali	Batteri bioluminescenti	LUMIstox Screening; test classico	
	Acque sotterranee	<i>Daphnia magna</i>	APAT IRSA-CNR Met.8020A Man.29/03 2003	
		<i>Daphnia magna</i>	APAT IRSA-CNR Met.8020A Man.29/03 2003	
	Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i>	Metodo interno rif. APAT IRSA-CNR Met.8030 Man.29/03 2003	
		<i>Vibrio fischeri</i>	Metodo interno rif. APAT IRSA-CNR Met.8030 Man.29/03 2003	
	Perugia	Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i>	APAT IRSA-CNR Met.8020A Man.29/03 2003
			<i>Vibrio fischeri</i>	Metodo interno rif. APAT IRSA-CNR Met.8030 Man.29/03 2003
		Sedimenti	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Metodo interno rif. EPA 1994, UNI EN 28692-1994
			<i>Daphnia magna</i>	APAT IRSA-CNR Met.8020A Man.29/03 2003
<i>Vibrio fischeri</i>		Metodo interno rif. APAT IRSA-CNR Met.8030 Man.29/03 2003		

		Test cronico a breve termine	Metodo interno rif.EPA 1994, UNI EN 28692-1994
		<i>Selenastrum capricornutum</i>	
		<i>Daphnia magna</i>	APAT IRSA-CNR Met.8020A Man.29/03 2003
	Suolo	<i>Vibrio fischeri</i>	Metodo interno rif.APAT IRSA-CNR Met.8030 Man.29/03 2003
Terni		Non si effettuano test ecotossicologici	
	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	APAT IRSA-CNR 8020 e 8030
Aosta	Acque superficiali	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	APAT IRSA-CNR 8020 e 8030
	Sedimenti	<i>Vibrio fischeri</i>	APAT IRSA-CNR 8030
	Acque reflue	<i>Daphnia magna</i> <i>Vibrio fischeri</i>	UNI EN ISO 6341-99
Belluno	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i>	Luminometria Luminometria
		<i>Brachionus plicatis</i>	ASTM 1440-91 modificato
	Acque marine	<i>Vibrio fischeri</i>	ISO 11348-3
		<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Quaderni ARPAT modificato
	Acque reflue	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	ISO 11348-3 ISO 6341
Mestre - Venezia	quasi quotidiana	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	ISO 11348-3 ISO 6341
	Acque sotterranee	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	ISO 11348-3 ISO 6341
	Acque superficiali	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	ISO 11348-3 ISO 6341
	Elutriati e acque intestiziali marini	<i>Brachionus plicatis</i>	ASTM 1440-91 modificato
		<i>Vibrio fischeri</i>	ISO 11348-3

	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Inibizione crescita algale	Quaderni ARPAT modificato
Sedimenti marini	<i>Vibrio fischeri</i>	Sedimento centrifugato	Metodo ICRAM modificato
Treviso	<i>Daphnia magna</i>	Tox acuta	UNI EN ISO 6341-99
settimanale	<i>Vibrio fischeri</i>	Microtox	Metodo Interno
Acque reflue			

Fonte Dati: Dipartimenti provinciali delle ARPA regionali.

5.1 Matrici

Una delle richieste del questionario prevedeva l'indicazione delle matrici esaminate presso i laboratori di ciascuno dei Dipartimenti provinciali interpellati.

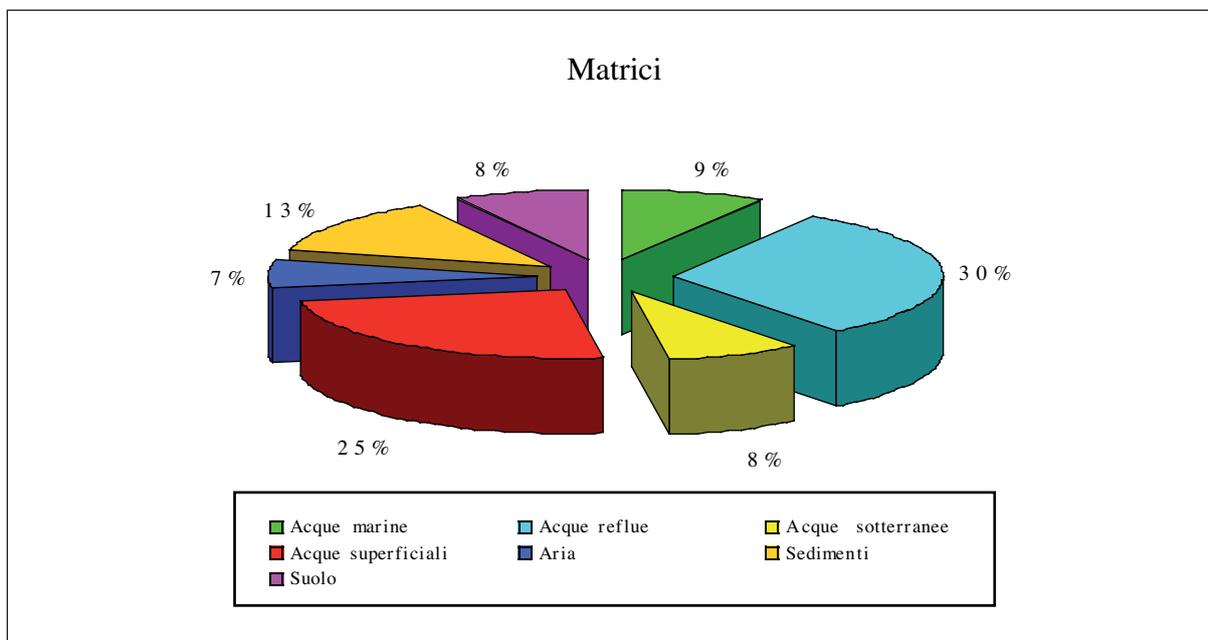


Figura 15. Percentuale di indagini relativa a ciascuna matrice

Dalle risposte acquisite emerge che i comparti ambientali per i quali sono maggiormente diffuse le analisi di tipo ecotossicologico sono le acque reflue (30%) e le acque superficiali (25%). Tale preponderanza si ritiene imputabile alla specifica normativa che prevede la loro applicazione, secondo quanto prescritto nell'Allegato I del D.lgs 152/99 e successive modifiche.

Le analisi sui sedimenti sono ancora poco diffuse, se si considera che il dato riportato (13%) si riferisce ad indagini effettuate su sedimenti di acque dolci, di acque marine ed anche sulle acque interstiziali di ciascuna matrice. Questo può essere imputabile fra l'altro alle difficoltà di estrazione e di concentrazione dei campioni.

Le acque marine, per le quali la percentuale d'indagine è del 9%, sembrano essere un argomento marginale: in realtà, questo dato potrebbe essere falsato dalla copertura delle risposte acquisite, che comprende molte più regioni e/o province che non si affacciano sul mare.

Per quanto riguarda le acque sotterranee, invece, emerge la difficoltà di condurre test su ambienti tanto vulnerabili e per i quali la conoscenza tassonomica degli organismi che li popolano appare ancora oggi incompleta.

L'aria ed il suolo, per le loro caratteristiche intrinseche di estrema variabilità tanto nella composizione quanto nelle dinamiche che li regolano, risultano essere i comparti meno indagati.

5.2 Frequenze d'indagine

Il grafico si riferisce ai dati in nostro possesso, dal momento che non tutti i Dipartimenti hanno fornito indicazioni in merito alle tempistiche analitiche.

Come è possibile notare, le analisi ecotossicologiche vengono per la maggior parte effettuate con cadenza settimanale (56%) oppure quotidiana (29%).

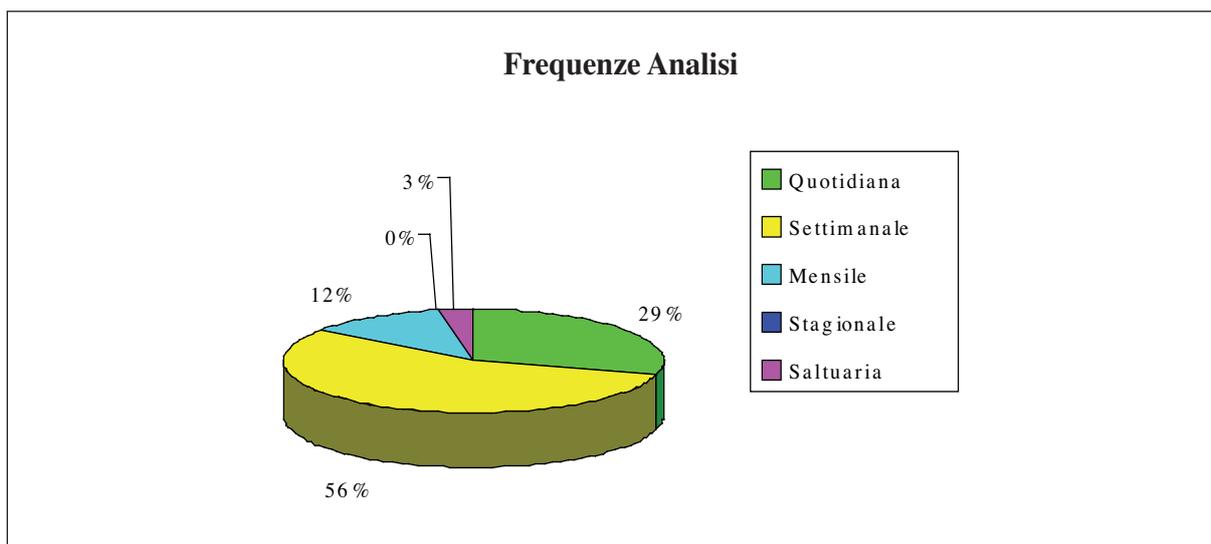


Figura 16. Percentuale di distribuzione delle frequenze d'indagine

Il motivo di tale distribuzione temporale è senza dubbio da imputarsi alle tipologie delle analisi che vengono effettuate, per le quali sono necessarie per lo più dalle 24 alle 96 ore nei casi di saggi di tipo acuto, che sono i maggiormente applicati.

La frequenza quotidiana di alcune tipologie di test è soprattutto riferita a saggi condotti con *Vibrio fischeri*, che prevedono tempi ridotti fino a 15/30 minuti.

5.3 Specie

I grafici riportano l'analisi statistica dei risultati riguardanti le specie utilizzate in ciascuno dei test ecotossicologici indicati nelle risposte al questionario.

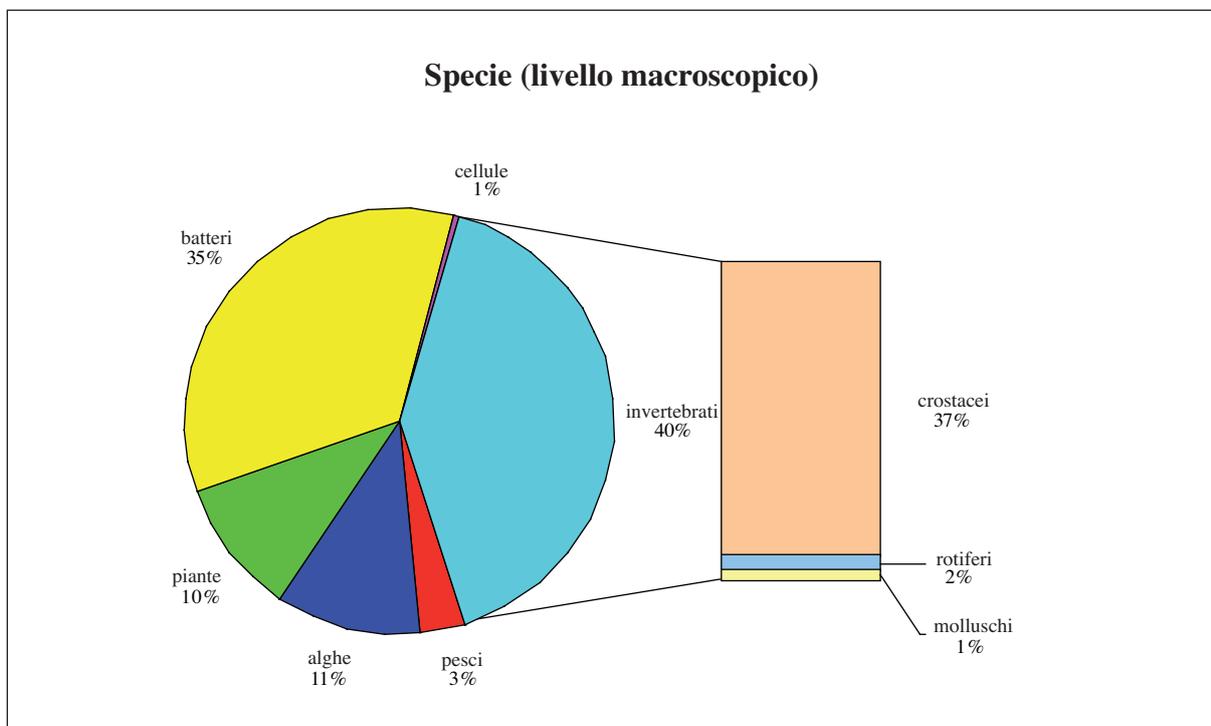


Figura 17. Percentuale di specie utilizzate nei test

E' evidente la preponderanza di analisi condotte su invertebrati e batteri, per i quali le percentuali sono rispettivamente del 40% e 35%. Questo è certamente imputabile, ed è possibile dedurlo dal secondo grafico riportante le specie, alla diffusione dei test condotti sul batterio *Vibrio fischeri*, che stima l'inibizione della bioluminescenza, e dei test con *Daphnia magna*, il crostaceo senza dubbio più utilizzato anche grazie alla disponibilità di metodi ampiamente validati.

I vegetali sono impiegati per il 21% delle analisi, sebbene con modalità differente a seconda che si tratti di alghe (11%) o piante (10%): in genere, la tipologia di test riguarda l'inibizione della crescita e della fotosintesi clorofilliana per le prime e la fitotossicità in vaso per le seconde.

Interessante è notare la diffusione delle varie specie all'interno dei propri gruppi funzionali e verificare quanto, nei casi indicati, la predominanza di alcune specie incida sul complesso.

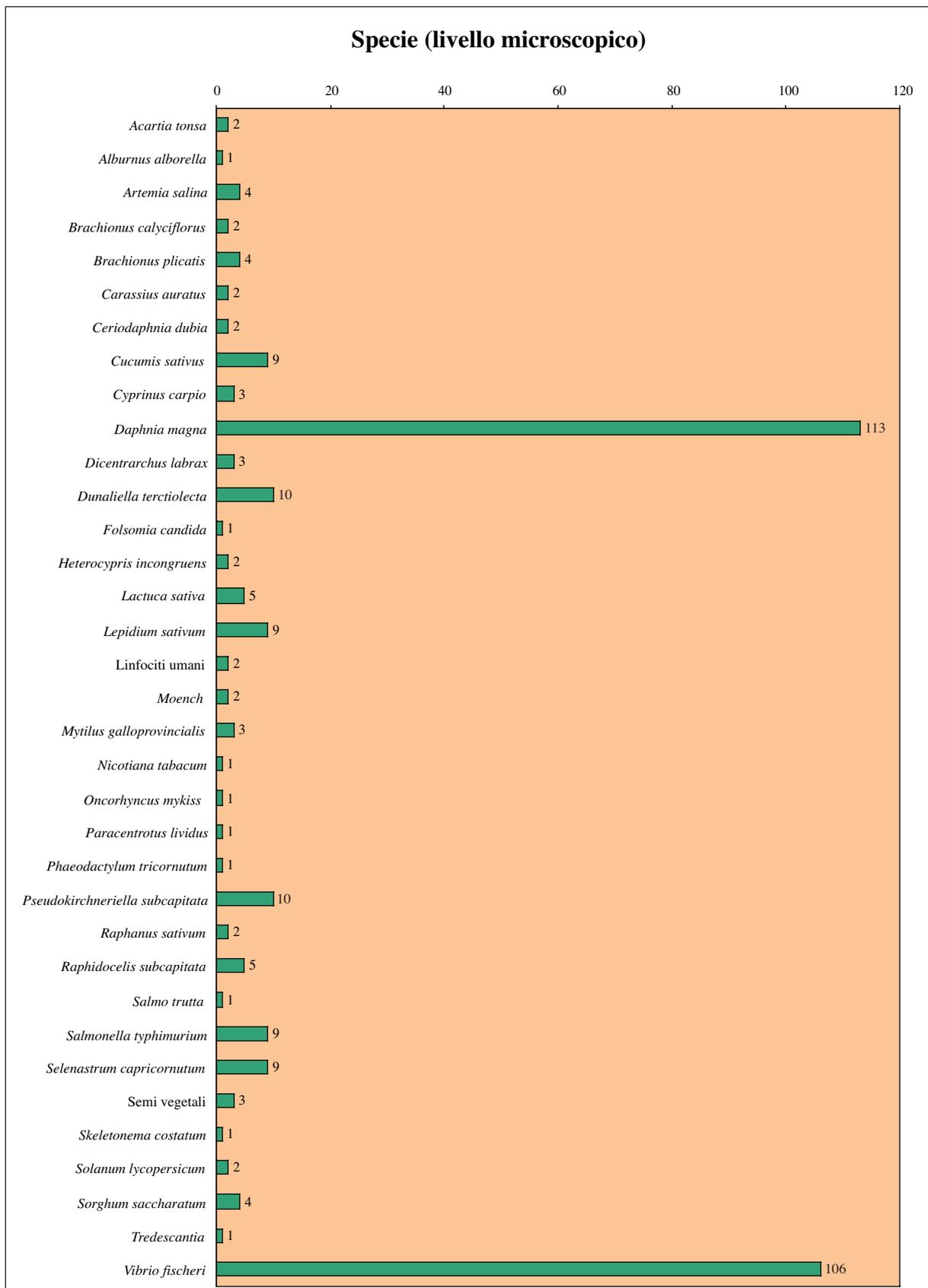


Figura 18. Numero di test effettuati sulle singole specie

Di seguito si riportano i grafici, suddivisi per phylum, nei quali si ritrovano i dati relativi alle specie utilizzate nei test.

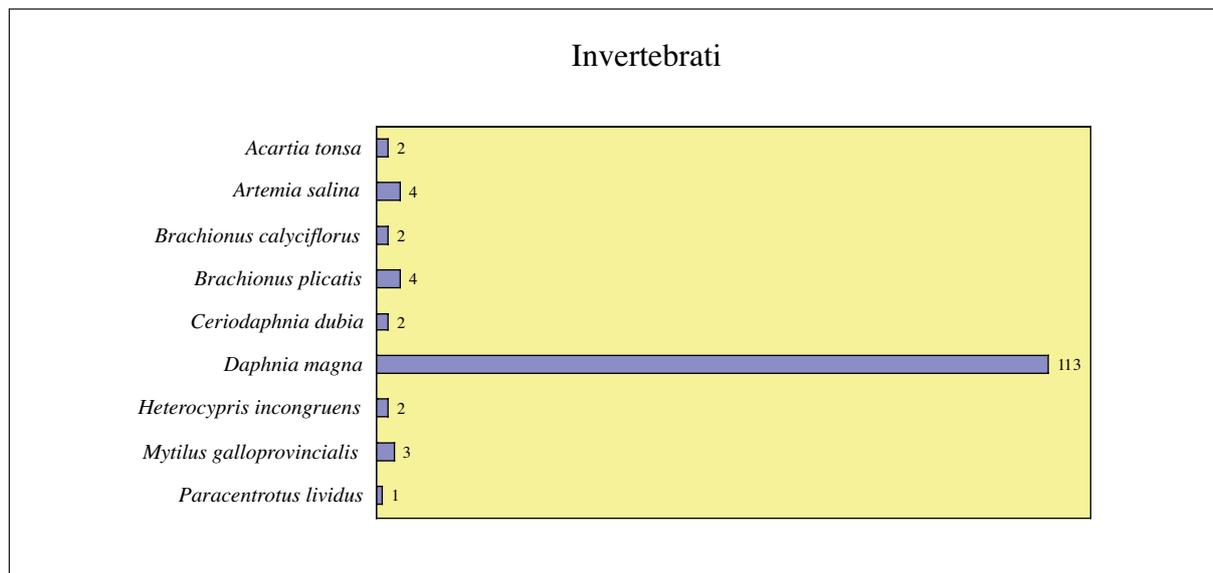


Figura 19. Gli invertebrati

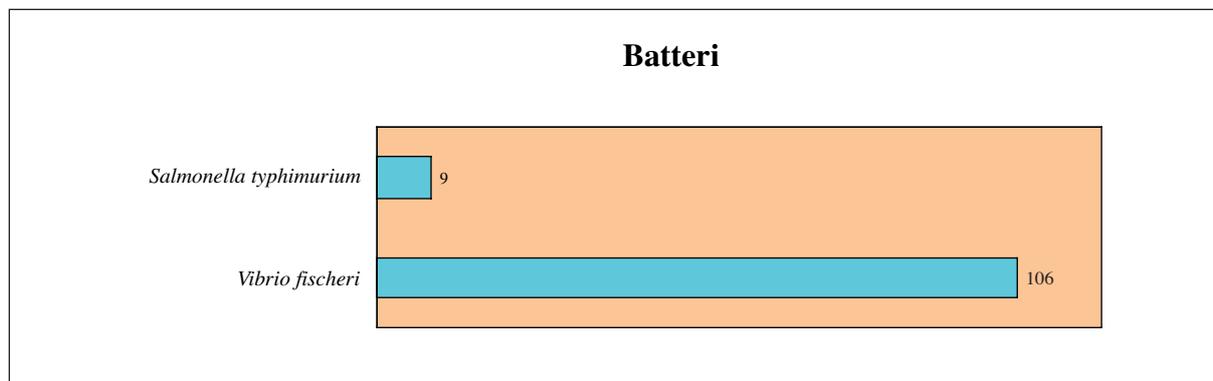


Figura 20. I batteri

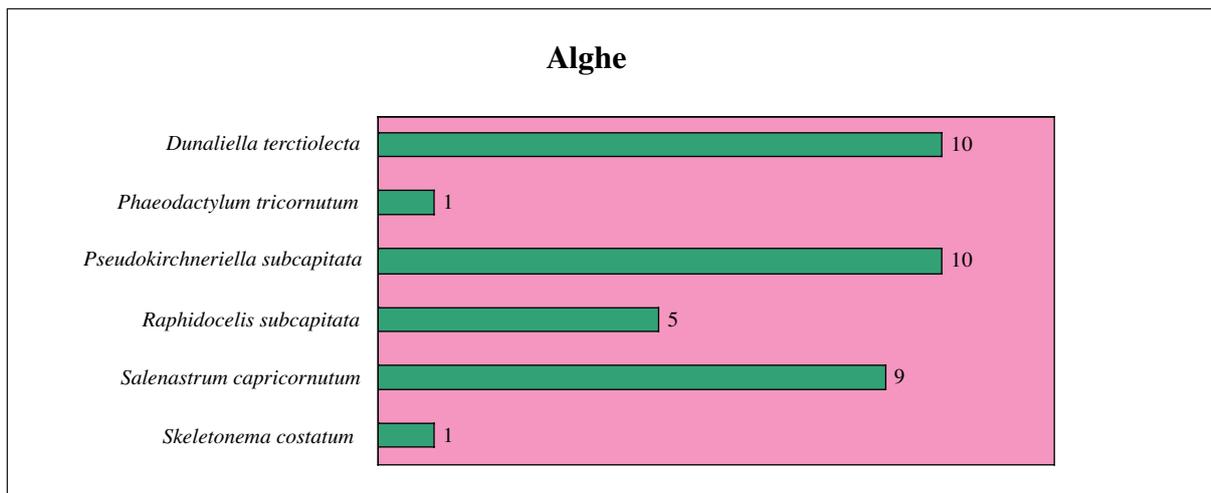


Figura 21. Le alghe

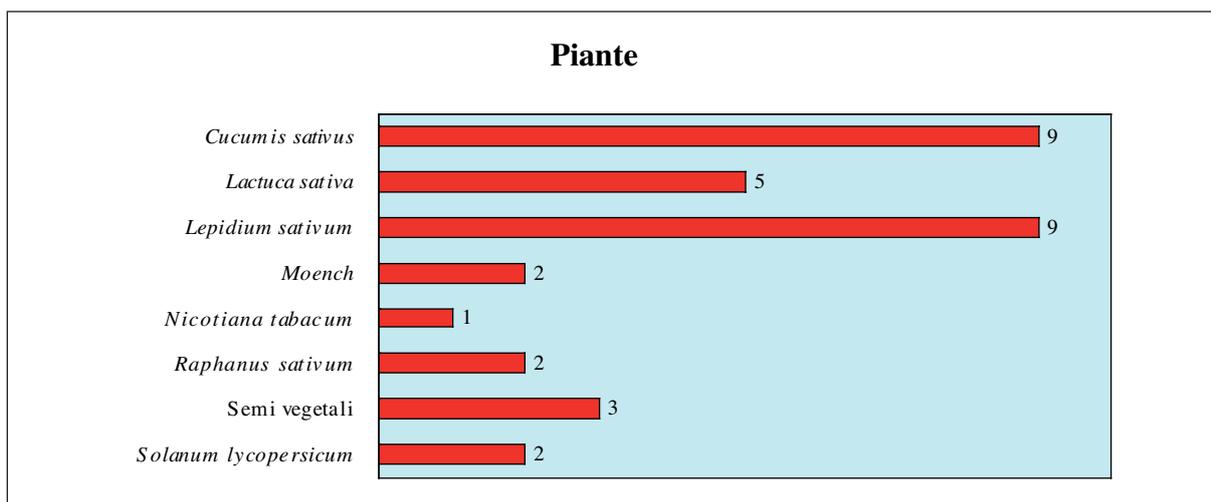


Figura 22. Le piante

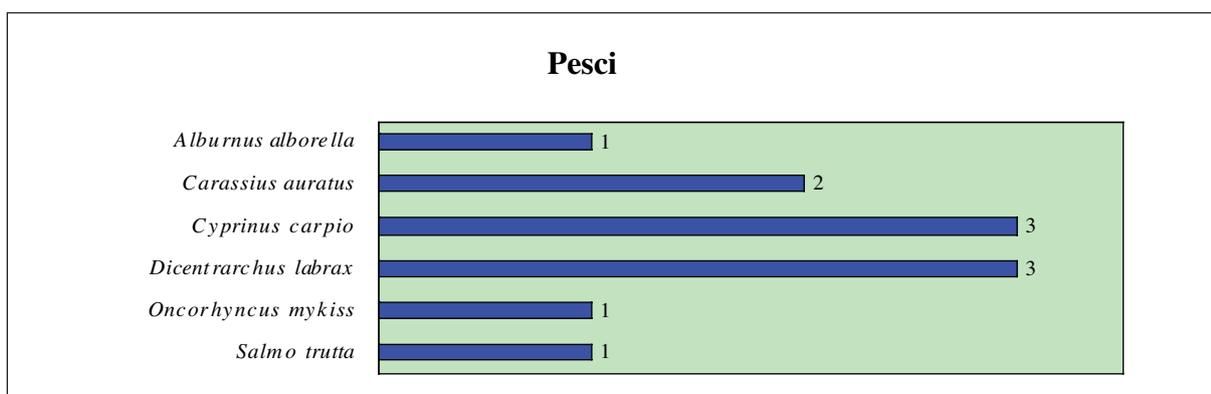


Figura 23. I pesci

5.4 Metodi

Dall'elaborazione dei dati riguardanti i metodi utilizzati nei test ecotossicologici presso le varie sedi ARPA, è evidente un'estrema disomogeneità e frammentazione metodologica sul territorio nazionale. Questo è verosimilmente imputabile anche all'assenza di coordinamento di cui tale settore ha sinora risentito, dovuta pure ad una diffusione ed una normativa relativamente recenti.

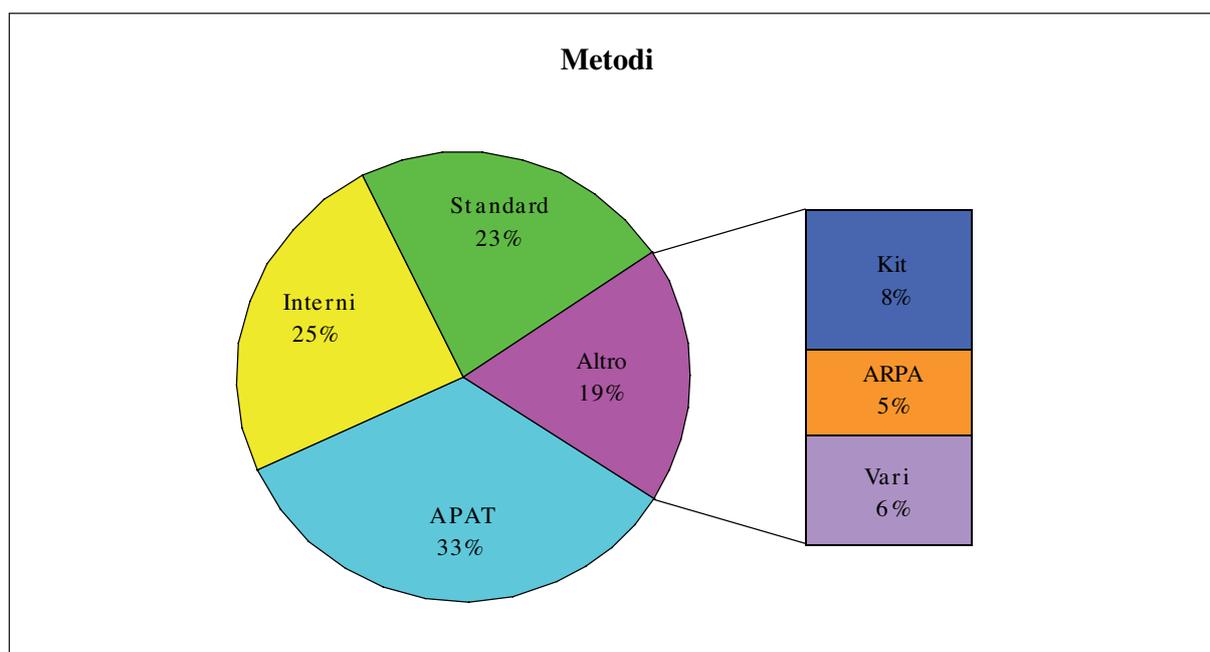


Figura 24. Percentuali riguardanti le metodiche analitiche applicate

I metodi APAT a cui ci si riferisce appartengono alla sezione 8000 dei “Metodi analitici per le acque. Rapporto 29/2003” APAT-IRSA CNR. Come si può notare dal grafico soprastante, sono applicati tal quali nel 33% dei casi, mentre talvolta alcune versioni modificate ed adattate alla propria peculiarità territoriale sono utilizzate come metodi interni. Questi ultimi rappresentano il 25% del totale e prendono origine dalle fonti più eterogenee.

I metodi standardizzati fanno riferimento a quelli approvati e provenienti da organismi o enti tanto nazionali quanto internazionali quali UNI, ISO, UNICHIM, ASTM, OECD, USEPA: come si può notare, vengono adottati nel 23% dei casi.

Il 19% della sezione “altro” comprende tutte quelle metodiche non appartenenti alle tre classi presentate. Di questa categoria fanno parte per l'8% kit già pronti all'uso, per il 5% metodi ARPA (soprattutto ARPAT, applicati in regioni diverse dalla Toscana) e per il 6% altre metodologie non classificabili in modo omogeneo (test di genotossicità, metodiche regionali o provenienti da fonti bibliografiche, etc.).

La disomogeneità delle metodiche non si riscontra solamente confrontando fra loro le varie sedi regionali, ma anche le province di una medesima Regione e all'interno dei Dipartimenti provinciali stessi i metodi hanno “provenienze” molto diverse fra loro.

A tal proposito, una delle esigenze maggiormente sentite dagli operatori ARPA è appunto quella di un'uniformazione delle metodiche analitiche a livello nazionale e si ritiene che in futuro APAT potrebbe fare molto in tale senso.

5.5 Rappresentazioni cartografiche

Vengono di seguito riportate una serie di rappresentazioni cartografiche, eseguite in collaborazione con l' arch. Angelo Lisi del Dipartimento Difesa della Natura in APAT.

In esse si possono rinvenire informazioni interessanti circa la distribuzione e diffusione di test su organismi e matrici specifiche, nonché la quantità di test effettuati per ciascun Dipartimento provinciale.

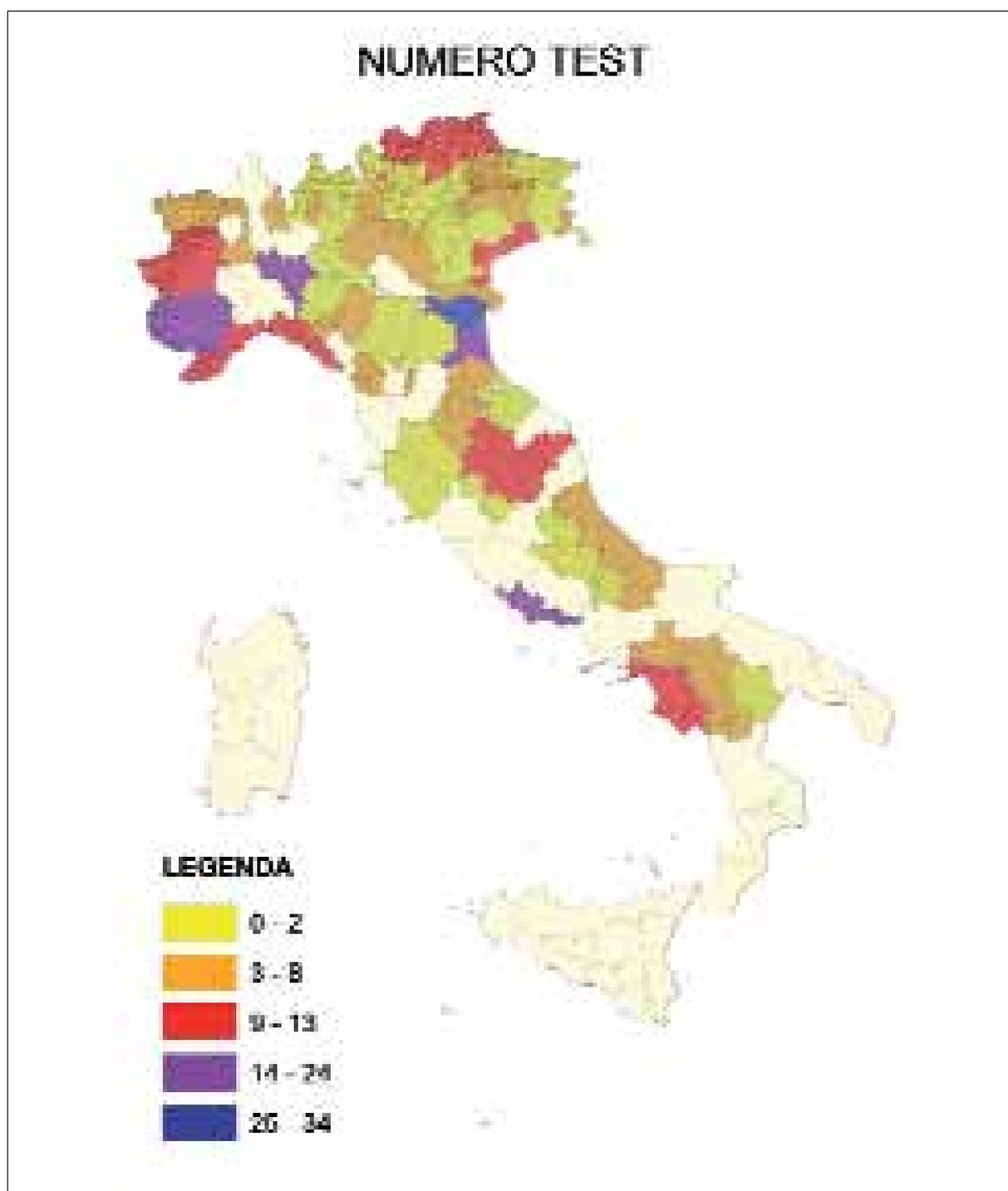


Figura 25. Numero complessivo di test impiegati presso ciascun Dipartimento provinciale

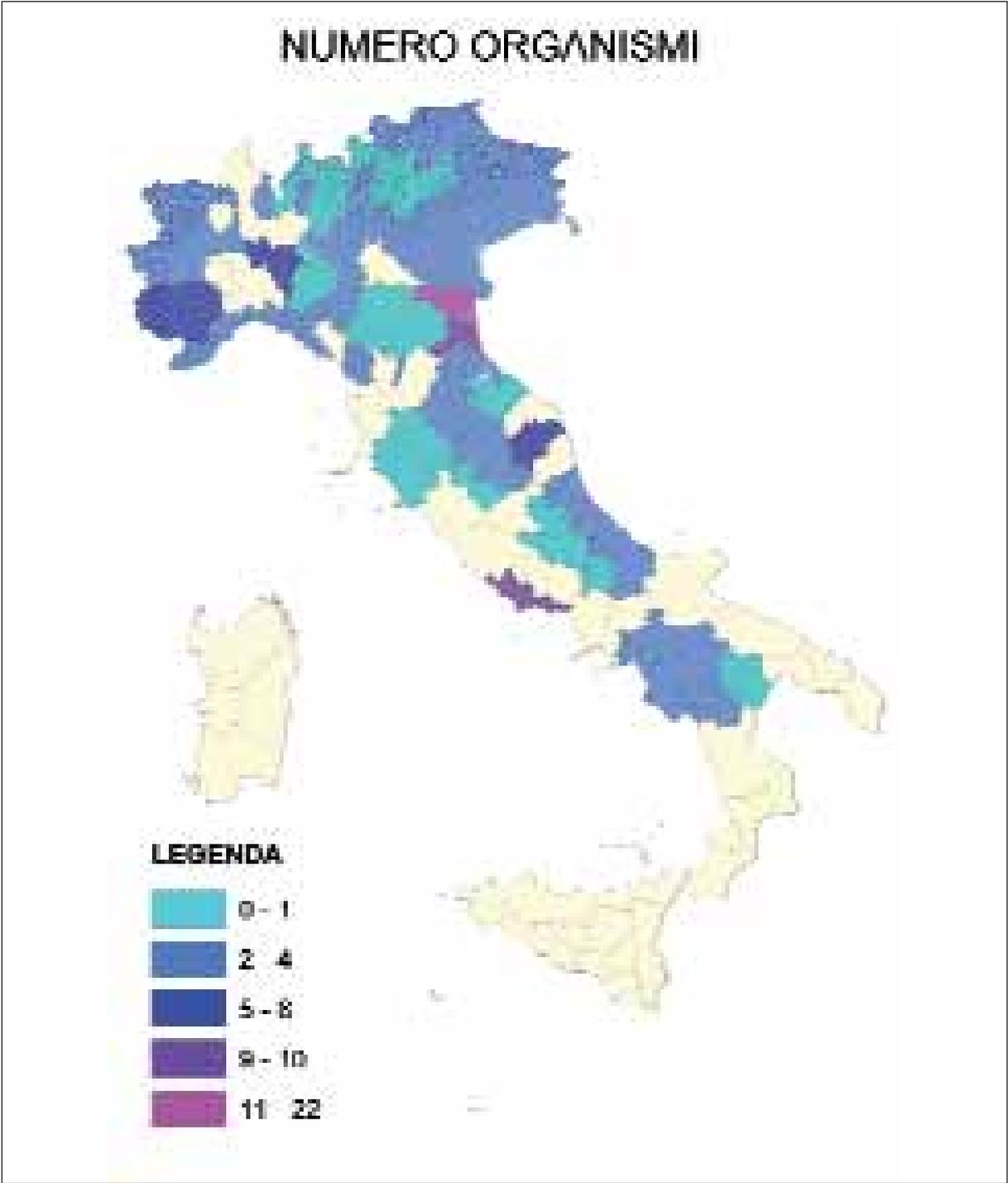


Figura 26. Numero di organismi impiegati nei test per Dipartimento provinciale

DAPHNIA MAGNA

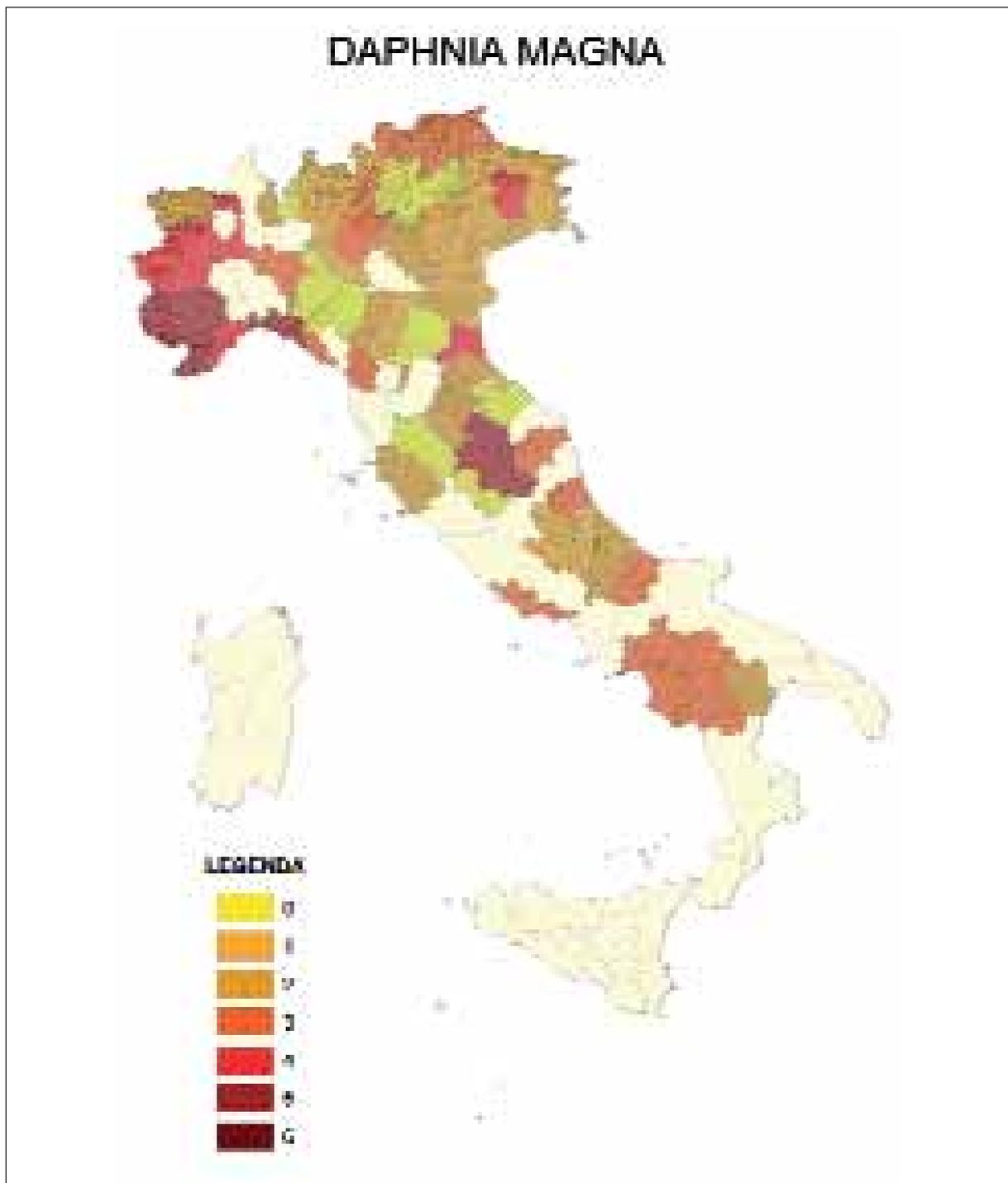


Figura 27. Numero di test che utilizzano *Daphnia magna*

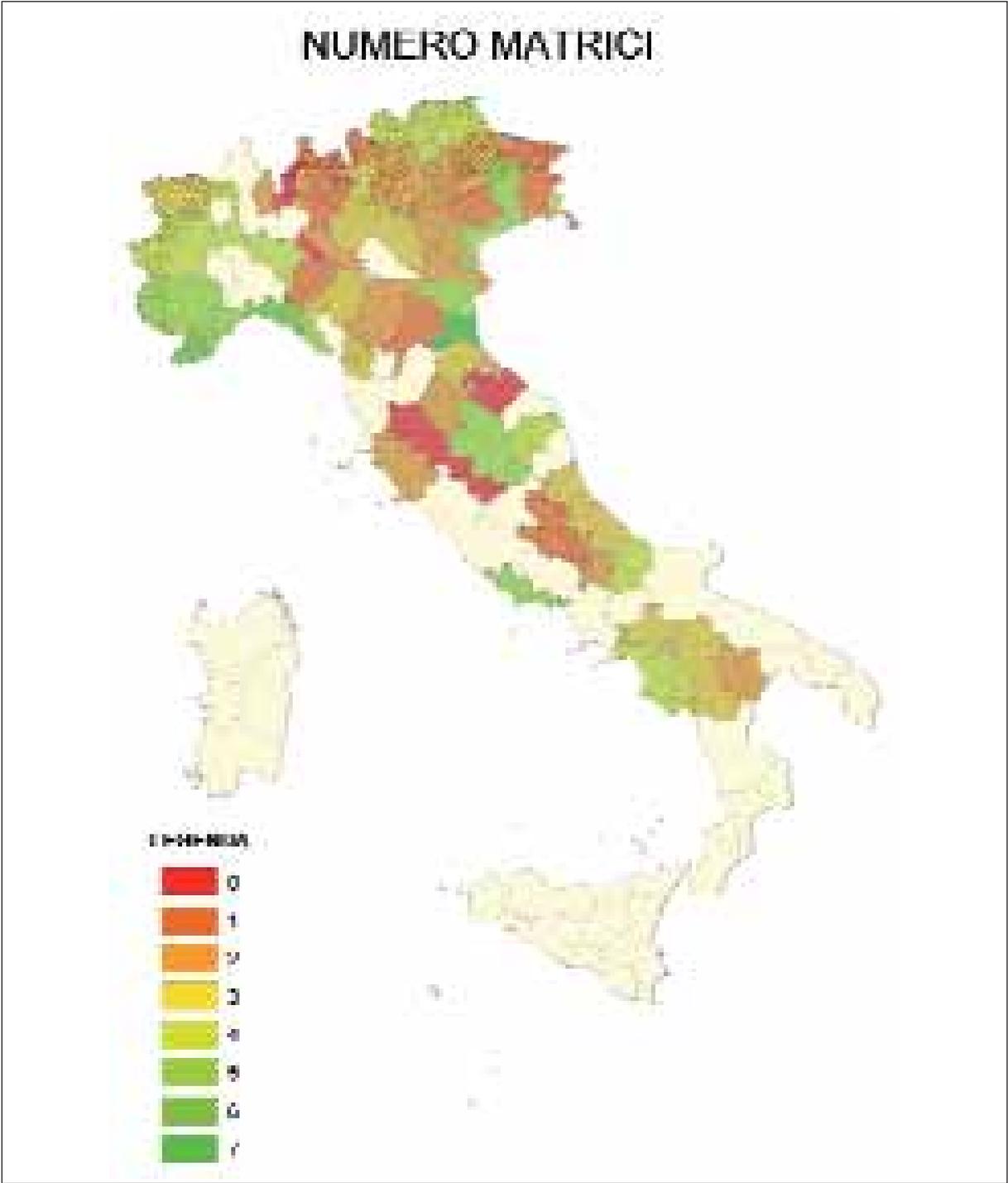


Figura 29. Numero totale di matrici indagate per Dipartimento Provinciale

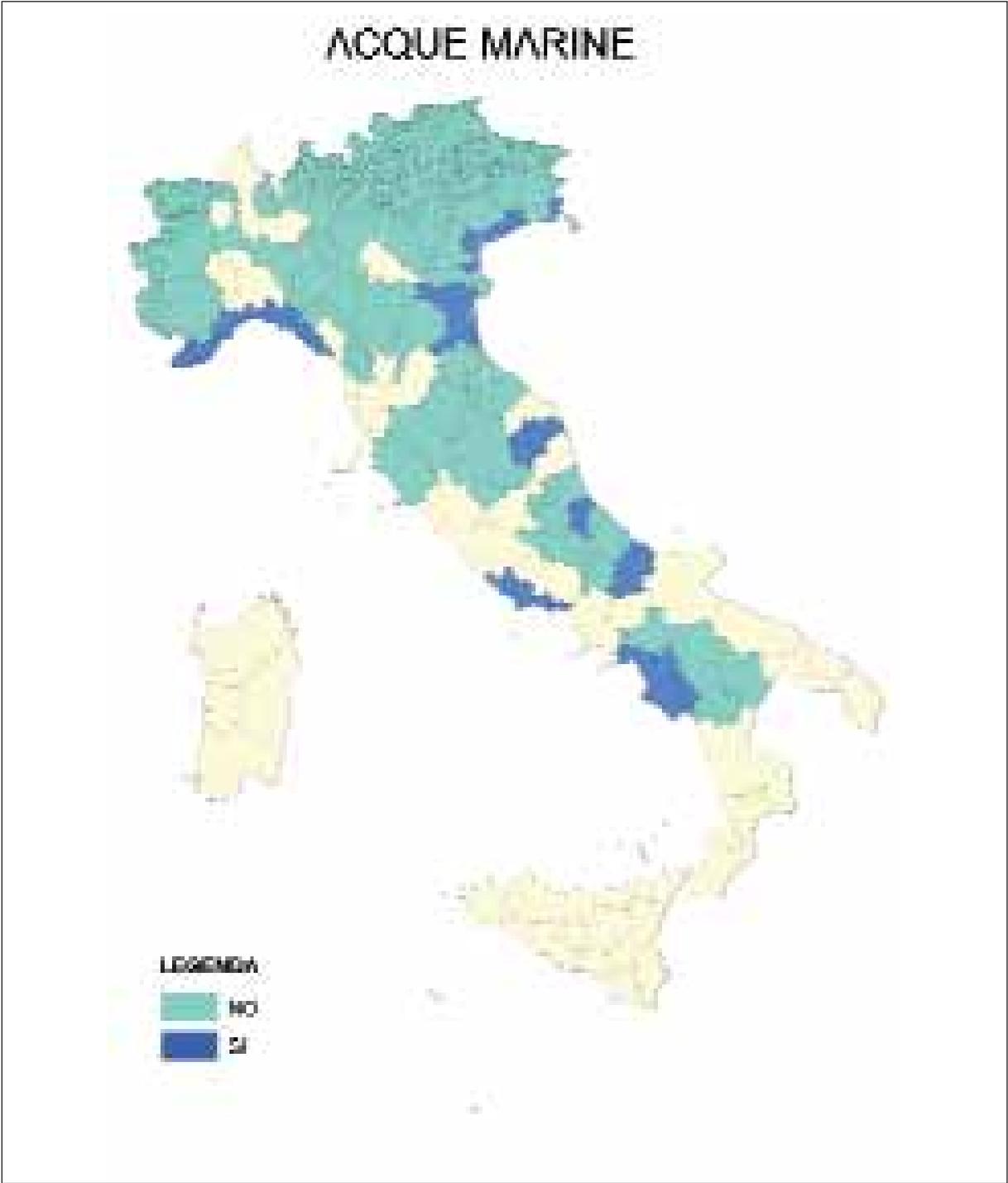


Figura 30. Diffusione dei test sulle acque marine

ACQUE REFLUE

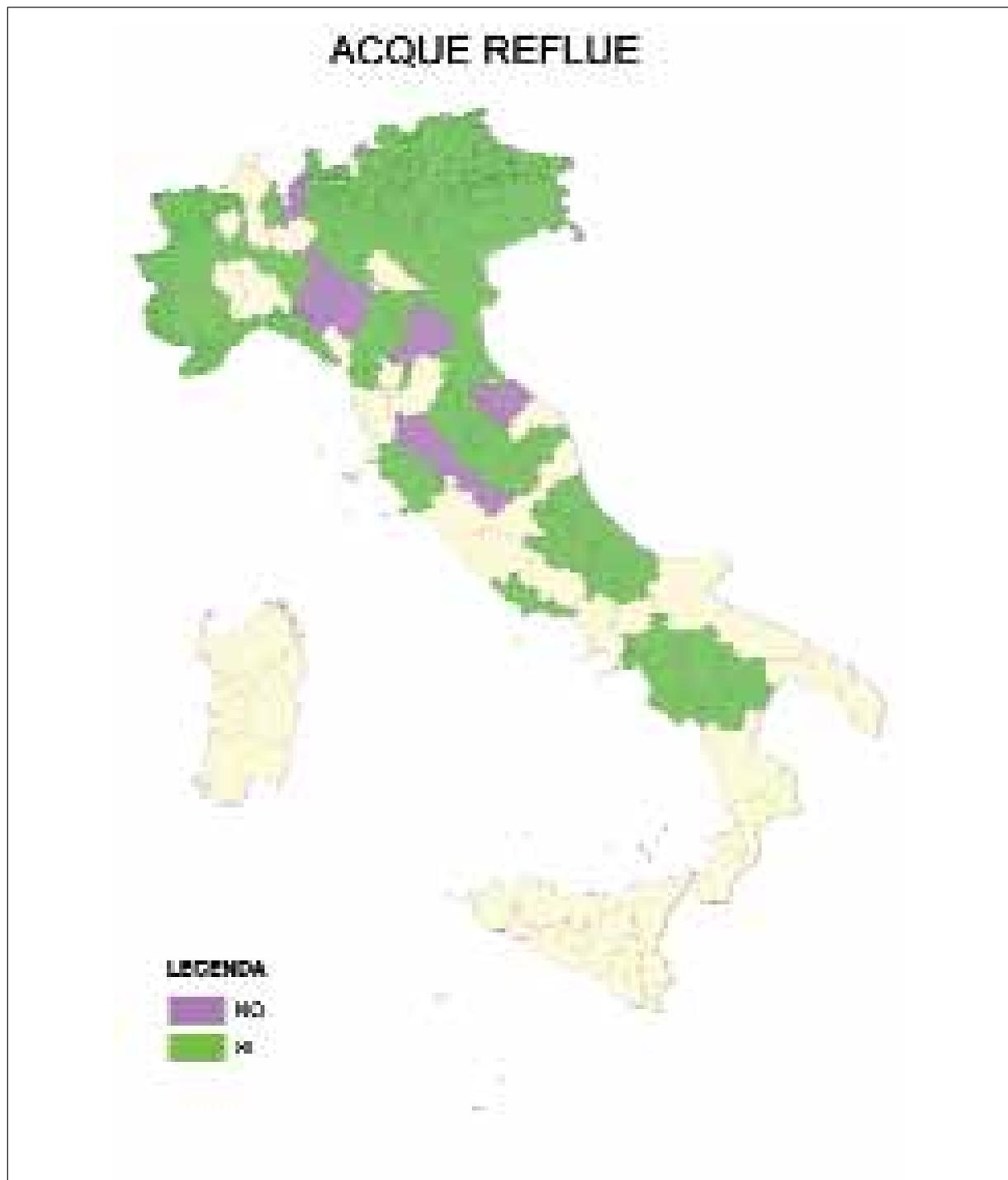


Figura 31. Diffusione dei test sulle acque reflue

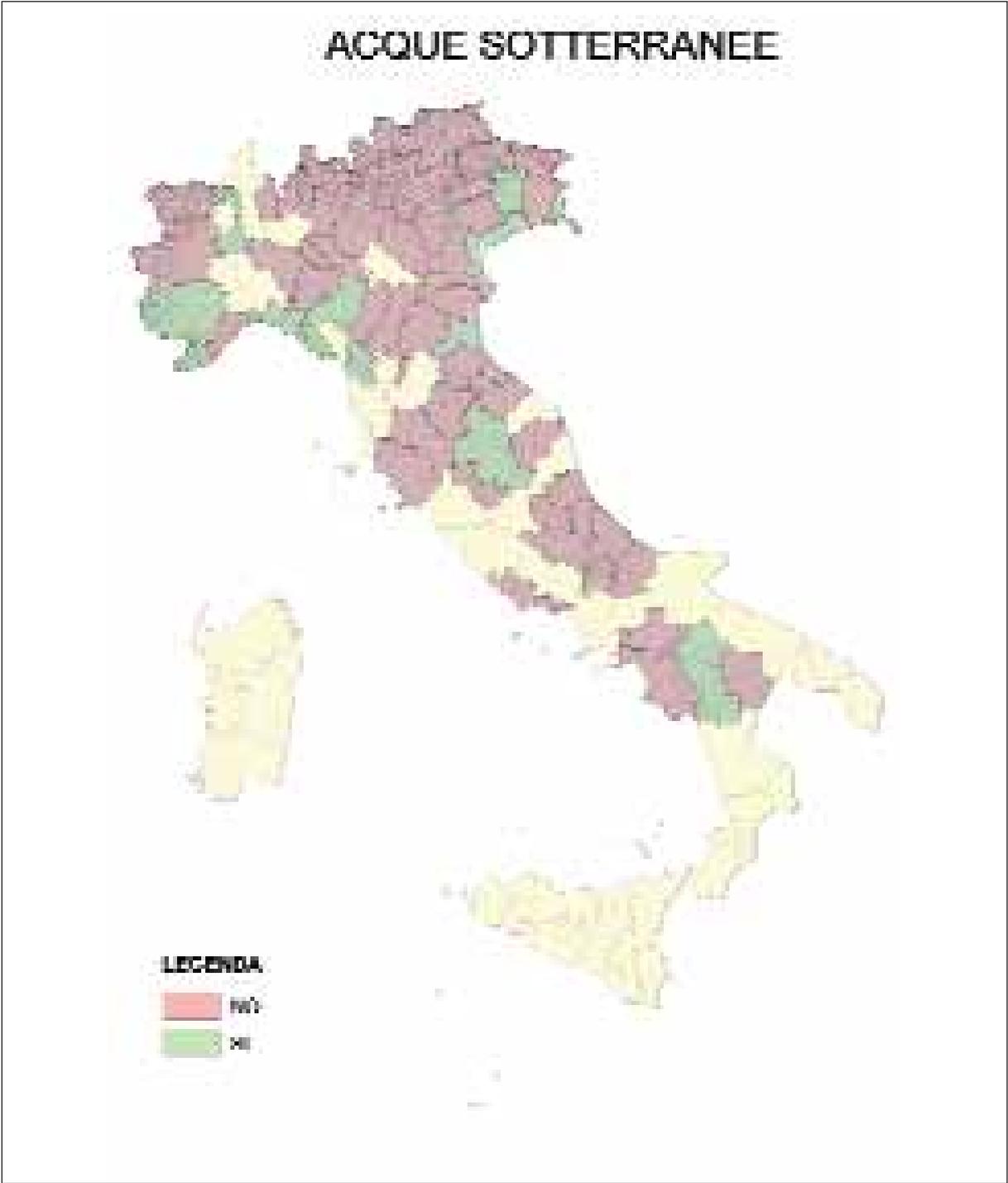


Figura 32. Diffusione dei test sulle acque sotterranee

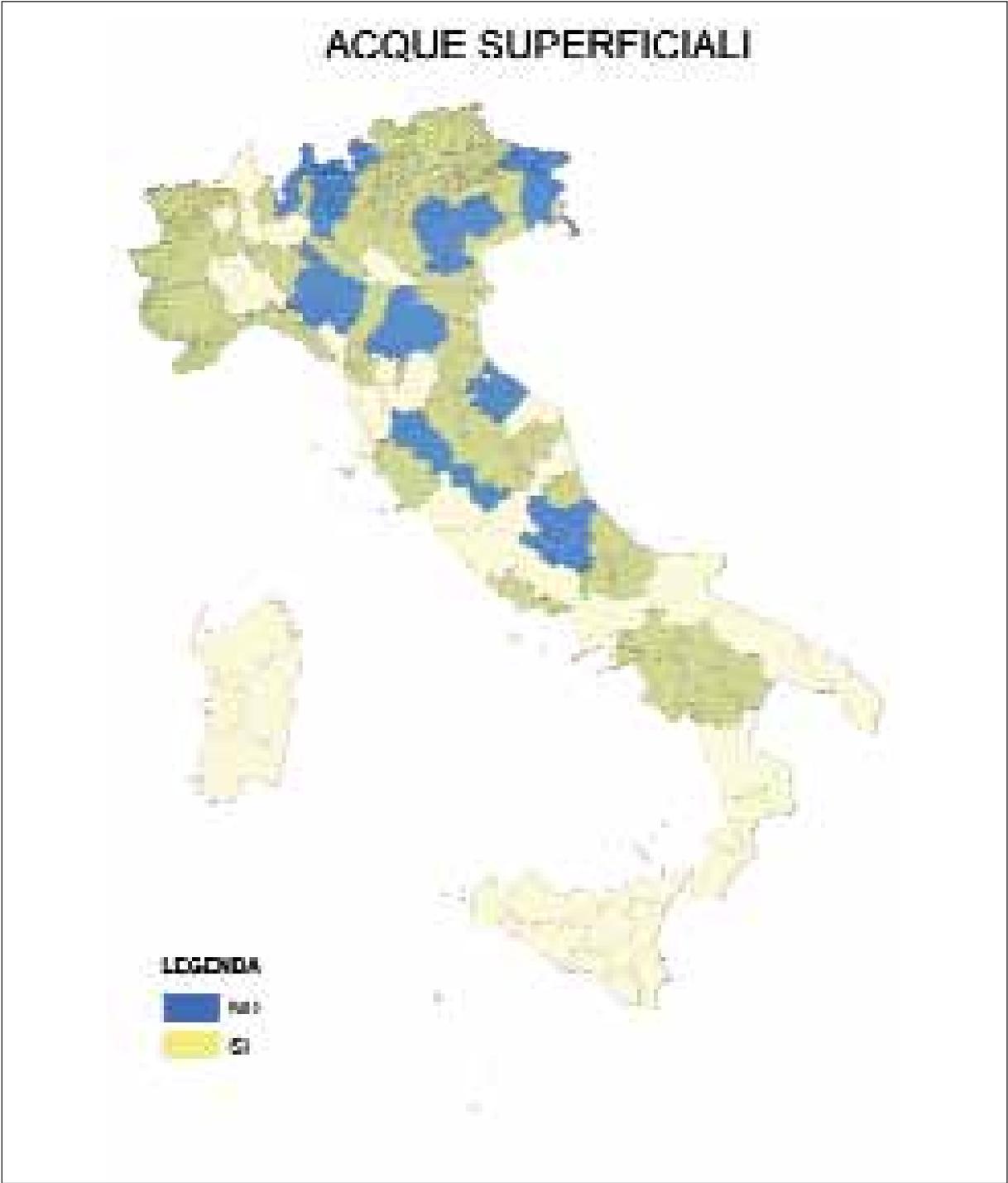


Figura 33. Diffusione dei test sulle acque superficiali

SEDIMENTI

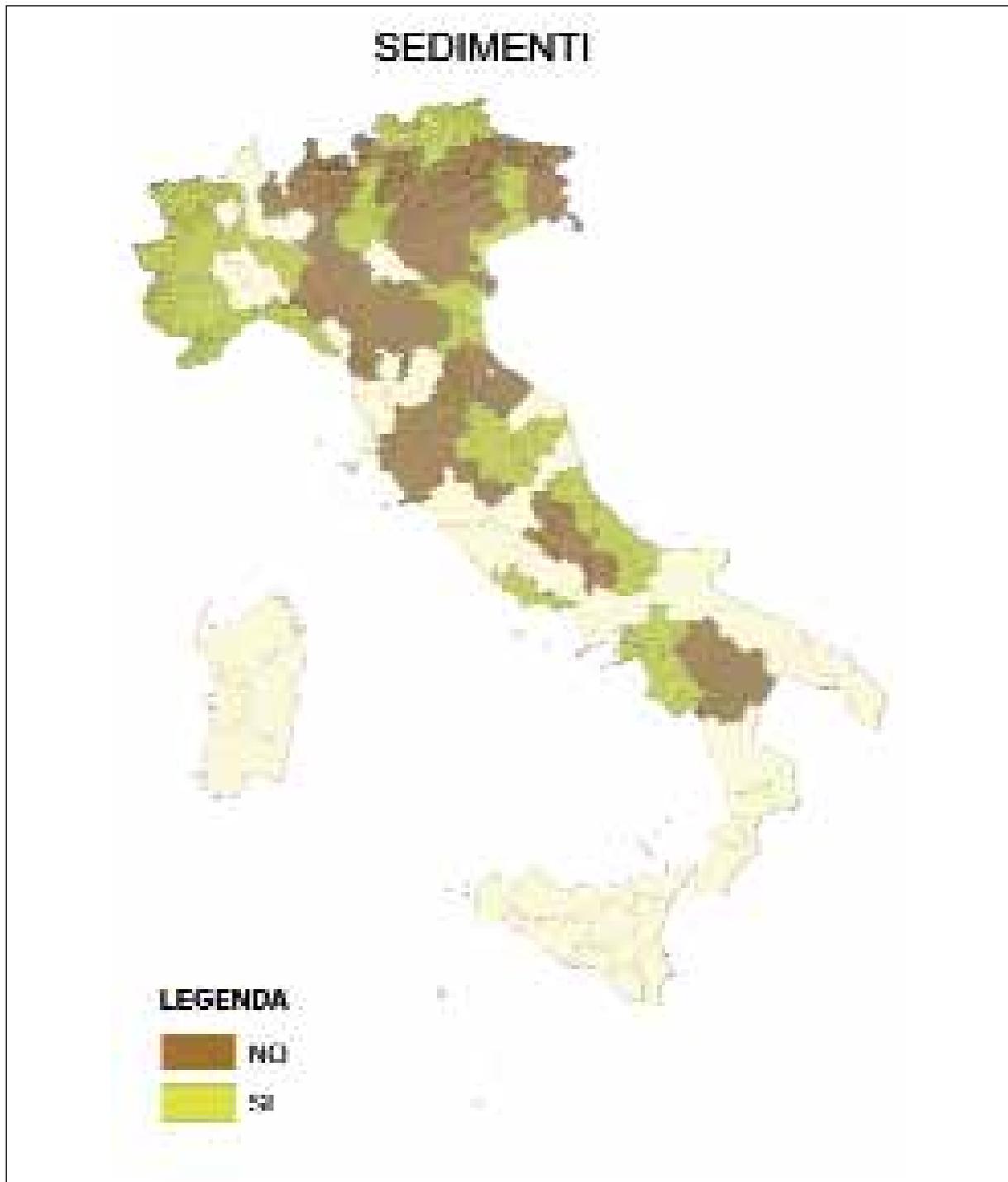


Figura 34. Diffusione dei test sui sedimenti (mare, acque dolci)

5.6 Considerazioni conclusive

I dati presentati danno una fotografia piuttosto chiara, sebbene ancora parziale, della situazione “Ecotossicologia” in Italia, fornendo una copertura territoriale pari alla metà delle province (52.4%). A tal proposito si precisa che questa pubblicazione è intesa come un prodotto in divenire: infatti, sarà passibile di revisioni periodiche (reperibili sul sito internet <http://www.apat.gov.it/site/it-IT/>) per acquisizione di nuove ed aggiornate notizie, provenienti tanto dai Dipartimenti non presenti quanto da quelli che già hanno partecipato a questa prima ricognizione.

Da quanto si arguisce dai grafici e dalle rappresentazioni cartografiche, i test eseguiti in ogni sezione provinciale sono per lo più in numero di 2/3; rari sono i casi di Dipartimenti che effettuano studi applicando più di 20 tipi di saggi differenti. La quasi totalità dei saggi risulta essere di tipo acuto.

Anche per quanto concerne la varietà di organismi, quasi tutti coloro che hanno risposto al questionario fanno uso di massimo 3 organismi differenti, mentre solo due Dipartimenti ne impiegano 10 o più. I più utilizzati sono il crostaceo *Daphnia magna* ed il batterio bioluminescente *Vibrio fischeri*, per le motivazioni già più volte addotte, mentre stanno assumendo sempre maggiore importanza i test con vegetali.

Il resoconto delle metodiche applicate mostra invece un'estrema eterogeneità delle fonti a cui i laboratori si rifanno ed una spiccata tendenza alla “personalizzazione” ed adattamento alla propria realtà territoriale. Le linee-guida APAT IRSA-CNR sono, comunque, preferite nella maggior parte dei casi.

Le matrici indagate, in genere 3 o 4 per ogni Dipartimento provinciale (in qualche caso 5, solo in uno 7), appartengono soprattutto all'ambito normato dal D.lgs 152/99. Infatti, le analisi su acque reflue e su acque superficiali sono le più diffuse, mentre ancora in minima parte vengono indagate le acque sotterranee, anche per difficoltà tecnico-pratiche, e le acque marine. In quest'ultimo caso,

tuttavia, si ritiene che non si possa dare al dato eccessivo peso, dal momento che le Regioni affacciate sul mare sono poco rappresentate. I sedimenti costituiscono un'altra matrice ben rappresentata, sebbene si siano riscontrate a livello operativo non poche difficoltà.

Da questo quadro, seppur parziale, emerge che le analisi di tipo ecotossicologico vengono sempre più considerate dagli operatori come essenziali componenti delle indagini ambientali e dei controlli effettuati, principalmente sugli scarichi. Tuttavia, la grande eterogeneità del territorio italiano e la frammentazione delle notizie e delle metodiche non sono di aiuto allo sviluppo di un settore che, nel prossimo futuro, sarà di centrale importanza per la salvaguardia dell'ambiente.

E' fondamentale che si compiano i giusti passi per giungere ad un'uniformazione di metodi e regole, nonché ad un efficace coordinamento, per poter dare dignità all'ecotossicologia italiana e ai dati prodotti, che potrebbero così confluire nell'annuario APAT.



Figura 35. *Daphnia magna* (ARPA Puglia - Dipartimento provinciale di Foggia)

6. PROSPETTIVE FUTURE

Alla luce di quanto emerso dai capitoli precedenti, appare chiaro che l'ecotossicologia riveste un ruolo importante, se non essenziale, per la salvaguardia dell'ambiente, in particolar modo quello acquatico.

Affinché lo sviluppo della materia non rimanga lettera morta e se ne incrementi ed incoraggi l'applicazione sempre maggiore a livello nazionale, non solo nella ricerca ma nella pratica quotidiana delle ARPA, occorrerebbe rivedere innanzitutto l'impianto normativo e, quindi, fornire strumenti idonei (metodi unificati sul territorio nazionale, formazione, etc.) agli operatori che quotidianamente vi lavorano.

La diffusione dei metodi di analisi ecotossicologica non sarebbe solo un adeguamento ed un avvicinamento alle più moderne legislazioni in materia di protezione ambientale, ma rappresenterebbe anche un enorme risparmio dal punto di vista economico, dal momento che un primo screening di questo tipo farebbe diminuire la necessità di studi chimici ridondanti e molto più dispendiosi.

Inoltre, l'importanza di una svolta verso una nuova tipologia di studi e verso un nuovo approccio critico alle problematiche ambientali è necessario in considerazione anche di quanto sinora espresso: infatti, sono stati messi in luce i limiti intrinseci delle rilevazioni chimiche nella misura degli effetti aggregati e l'indispensabilità dei test ecotossicologici a scopo preventivo.

Si ritiene, poi, necessario porre l'attenzione su una nuova idea di individuazione del danno negli ambienti acquatici: la prevenzione può avvenire se si controllano gli scarichi prima dell'immissione nel corpo recettore. Da questa considerazione nasce la necessità dell'autocontrollo obbligatorio per i titolari di uno scarico, purché ne sia verificata l'effettiva realizzazione. Esso, effettuato in particolare sulle soglie di allarme, può presentare anche un vantaggio economico per l'autorità vigilante, poiché consentirebbe una riduzione dei costi, che non sarebbero più a carico esclusivo dell'autorità, ma ripartiti con il responsabile dello scarico.

A tale proposito, vengono di seguito riportate le esperienze di due Paesi che applicano routinariamente e con efficacia l'autocontrollo anche tramite lo strumento ecotossicologico, sia per le ispezioni che come metodo predittivo per l'inquinamento.

E' opportuno sottolineare che gli esempi riportati si riferiscono soprattutto alla valutazione tossicologica degli scarichi, dal momento che sembra opportuno prenderlo come punto iniziale per la salvaguardia dell'ecosistema acquatico.

6.1 Un caso europeo: Il DTA e la valutazione degli scarichi in Scozia

La legislazione scozzese si mostra fortemente orientata all'applicazione dell'ecotossicologia per la salvaguardia e la tutela dell'ambiente, soprattutto in merito alla valutazione degli scarichi. Secondo una visione ormai dimostrata dai fatti la capacità predittiva dei saggi di tossicità (Direct Toxicity Assessment, DTA) eseguiti in laboratorio su campioni tal quali di reflui complessi prima della loro immissione nei corpi recettori, offre un efficace e semplice strumento revisionale degli effetti tossici aggregati e quindi costituisce un indispensabile mezzo di prevenzione.

Si è ritenuto interessante considerare la normativa scozzese perché, oltre ad essere estremamente recente ed aggiornata, si avvicina come impianto normativo all'Italia, dove si avverte sempre di più la spinta al trasferimento di competenze dallo Stato alle Regioni: norme regionali, inoltre, offrirebbero una maggiore garanzia di accuratezza, puntualità ed aderenza al territorio rispetto alle direttive generali dell'autorità centrale.

6.1.1 Il Direct Toxicity Assessment

Il Direct Toxicity Assessment, sviluppato nel Regno Unito principalmente per valutare la tossicità acuta degli effluenti, è una delle tecniche che possono essere utilizzate come approccio per la stima delle pressioni chimiche e per valutare la tossicità associata nell'ambiente.

SEPA (Scottish Environmental Protection Agency) ha contribuito successivamente allo sviluppo e alla validazione del DTA, che può essere utilizzato per ottenere informazioni complementari all'applicazione del criterio sostanza-specifico.

Il Direct Toxicity Assessment viene ritenuto applicabile a vari scopi:

- valutazione e caratterizzazione del rischio chimico;
- definizione di criteri di qualità ambientale;
- identificazione, caratterizzazione, valutazione e controllo di scarichi tossici;
- valutazioni di impatto ambientale;
- investigazioni delle dispersioni accidentali;
- classificazione della qualità dei corpi idrici.

Il DTA si configura come un processo attraverso il quale test sull'ecotossicità di un effluente complesso sono usati per aiutare a valutare la qualità e controllare scarichi sull'ambiente acquatico. Si ribadisce il fatto che viene utilizzato unitamente all'approccio sostanza-specifico per identificare, caratterizzare e controllare la tossicità degli effluenti e la complessità e la variabilità dei loro componenti.

Di seguito è riportata una tabella riassuntiva di vantaggi e svantaggi relativi a ciascuno dei due metodi, che per la legislazione scozzese appaiono essere complementari.

Tabella 4. Raffronto valutazione sostanza-specifica/DTA (SEPA, 2003)

Valutazione sostanza-specifica	Vantaggi	Può monitorare/controllare le sostanze bioaccumulabili, che possono causare tossicità cronica dovuta ad un uptake a lungo termine
		Può identificare sostanze che possono dar conto della tossicità osservata.
		Relativamente veloce ed economico per controllare effluenti semplici di composizione ben definita e coerente
		Potrebbe accordarsi con EQS per una sostanza data, laddove esiste
		Rileva l'effetto biologico combinato di tutte le sostanze presenti
		Controlla tossici per i quali non esistono EQS
		Integra interazioni chimiche e tossicologiche
		Monitora/controlla effluenti complessi, senza aumentare i costi dei test con l'aumento del numero di componenti
		Monitora/controlla la tossicità, dove i metodi di analisi chimica sono inutilizzabili
	Svantaggi	Non misura gli effetti biologici delle sostanze presenti
		Non può controllare sostanze per le quali non esistono EQS o dati su test di tipo biologico
		Non può dar conto delle interazioni fra le sostanze presenti
		I costi analitici possono aumentare enormemente con la complessità dell'effluente
		Può monitorare solo sostanze per le quali esistono appropriati metodi analitici e limiti di rilevazione
		Non rileva effetti cronici che dipendono dall'intermediazione corporea (ad esempio, accumulo nei tessuti)
		Non identifica gli agenti causativi
		Relativamente lento e dispendioso, paragonato con l'analisi chimica di un piccolo numero di tossici facilmente analizzabili
Rileva/controlla solo la tossicità misurata dalla specie usata nel test		

Segue

Segue - Tabella 4. Raffronto valutazione sostanza-specifica/DTA (SEPA, 2003)

Direct Toxicity Assessment	Vantaggi	Rileva l'effetto biologico combinato di tutte le sostanze presenti
		Controlla tossici per i quali non esistono EQS
		Integra interazioni chimiche e tossicologiche
		Monitora/controlla effluenti complessi, senza aumentare i costi dei test con l'aumento del numero di componenti
		Monitora/controlla la tossicità, dove i metodi di analisi chimica sono inutilizzabili
	Svantaggi	Non rileva effetti cronici che dipendono dall'intermediazione corporea (ad esempio, accumulo nei tessuti)
		Non identifica gli agenti causativi
		Relativamente lento e dispendioso, paragonato con l'analisi chimica di un piccolo numero di tossici facilmente analizzabili
		Rileva/controlla solo la tossicità misurata dalla specie usata nel test

L'approccio scozzese individua le modalità d'impiego del DTA sui vari scarichi puntiformi e ne incentiva l'uso volontario anche qualora non ve ne fosse l'obbligo: viene a tal proposito precisato che l'applicazione di soglie e limiti di tossicità è circoscritta a casi di scarichi complessi, dove l'uso di semplici parametri chimici non sia sufficiente a garantire il controllo della situazione.

Se si ritiene esista il rischio che uno scarico sia tossico, viene concordata col titolare della licenza di scarico una soglia di allarme (Toxicity Threshold Level, TTL) per lo stesso e viene richiesta la formulazione di un Piano d'intervento, per investigarne e ridurre la tossicità in caso di accidentale superamento della soglia. Il Piano sarà incluso nella licenza di scarico, nella quale è anche imposto un limite assoluto (Absolute Toxicity Limit, ATL), che viene fatto rispettare coercitivamente mediante controllo routinario di conformità, accertamenti e rapporti scritti (SEPA, Aprile 2002).

L'autocontrollo

Durante la normale attività, il titolare della licenza esegue i test di tossicità specificati nella licenza in regime di autocontrollo. Nel caso in cui i risultati superino la soglia di allarme, entra in azione il Piano di intervento, il quale deve riportare i valori di tossicità nell'ambito del TTL. Il superamento del TTL non determina, quindi, alcuna azione sanzionatoria e tutto resta confinato nell'ambito dell'autocontrollo esercitato dal titolare della licenza.

Qualora venga oltrepassato il valore dell'ATL, invece, vanno ripetuti il campionamento probatorio ed il test e, se il superamento perdura, il risultato deve essere comunicato all'autorità competente (Fiscal Procurator). Nel contempo il titolare dello scarico ha l'obbligo di attuare il Piano d'intervento, anche se questo non impedisce l'azione sanzionatoria e coercitiva, fino al possibile fermo dell'impianto.

Operatività

I laboratori dove vengono condotti i saggi devono essere accreditati e certificati per la qualità ed impiegare le procedure previste nella Guida per il DTA. Nei test di tossicità sono utilizzate le forme di vita più semplici possibili, compatibilmente con l'ottenimento di risultati ecologicamente significativi: pertanto, se possibile saranno usati di preferenza batteri, piante ed invertebrati piuttosto che vertebrati. Qualora l'uso di vertebrati sia considerato indispensabile, si deve porre cura nel minimizzare il numero degli individui impiegati.

Nel documento SEPA vengono, inoltre, fornite indicazioni riguardanti limitazioni d'impiego dei test rapidi (bioluminescenza batterica e chemioluminescenza) e si incoraggiano fortemente la minimizzazione dei rifiuti e la sostituzione dei prodotti, quali principi-chiave per la riduzione della tossicità degli effluenti.

Si ricorda che il DTA è basato sulla valutazione del rischio e deve essere perseguito in un'ottica di rapporto costi-benefici, di efficienza e trasparenza.

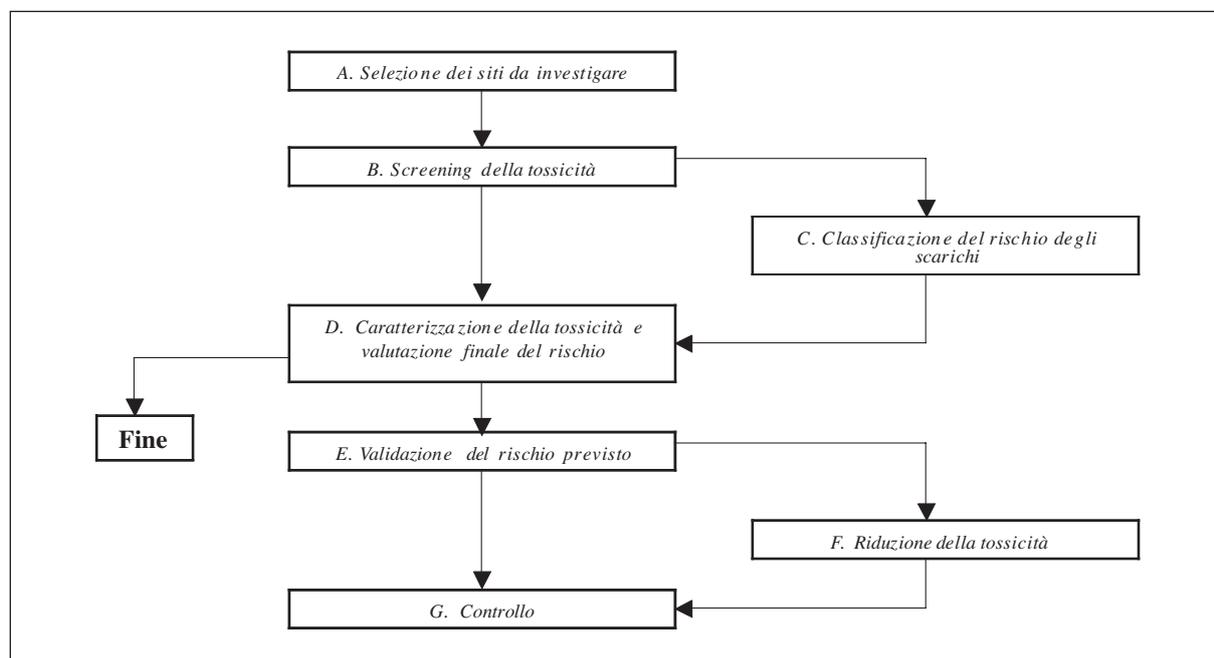
Attuazione

L'attuazione segue criteri diversi a seconda che si tratti di scarichi che già prevedono l'uso di saggi ecotossicologici, di impianti che possiedono sistemi di controllo e prevenzione dell'inquinamento od infine circostanze in cui venga rilevata la tossicità nel recettore senza che se ne conosca l'origine. Al momento, il DTA considera solamente gli effetti acuti ma si auspica che in futuro si inserisca anche la valutazione degli effetti cronici, per gli specifici casi in cui lo si ritenga necessario. Viene espressa la convinzione che l'uso contemporaneo di DTA e approccio sostanza-specifico offra una buona garanzia di protezione dell'ambiente, se, laddove venga rilevata la tossicità, si eseguano una Toxicity Identification Evaluation (TIE) ed una Toxicity Reduction Evaluation (TRE).

La **TIE** è un processo atto ad individuare ed identificare le sostanze responsabili dell'ecotossicità di effluenti complessi; la **TRE** è la successiva procedura che serve ad identificare le opzioni per ridurre la tossicità degli scarichi, le quali includono processi chimici, fisici e biologici.

6.1.2 La valutazione degli scarichi con il DTA

La procedura DTA è articolata in sette passaggi, la cui progressione non è automatica, ma è legata alle vie intraprese in base alle risposte ai punti nodali.



A) **Selezione dei siti da investigare.** Il DTA dovrebbe essere usato principalmente per la valutazione di scarichi complessi, dove non è possibile prevedere la tossicità finale basandosi solo sulla tossicità dei singoli costituenti e sulle loro concentrazioni. Gli scarichi di composizione semplice possono continuare ad essere regolamentati dai limiti di concentrazione (determinata per via chimica) dei costituenti; in questo caso, il DTA può essere usato per confermare l'adeguatezza di tali controlli.

-
- B) Valutazione preliminare della tossicità. Lo screening di questa fase dello studio si applica per identificare e classificare gli scarichi in base alla loro tossicità acuta (valutazione del rischio). Nel caso in cui esistano diversi scarichi potenzialmente tossici, viene attuato un programma di saggi per costruire una graduatoria di rischio relativa agli scarichi analizzati. I test rapidi (microtox e chemiluminescenza) possono essere utilizzati nel caso in cui sia evidenziata una buona concordanza sito-specifica fra test di screening e definitivi (*Daphnia magna*), anche se sono preferite le versioni abbreviate dei test. Infine, si deve valutare la tossicità dell'effluente e l'effetto della diluizione all'immissione per prevedere il possibile impatto sul recettore. Se i saggi mostrano che gli scarichi apportano tossicità acuta si passa al punto C; se uno solo degli scarichi è tossico si passa direttamente al punto D.
- C) Graduatoria di rischio degli scarichi. Si costruisce una classificazione dei vari scarichi afferenti al singolo recettore, in accordo con il presumibile rischio per la qualità del recettore.
- D) Caratterizzazione della tossicità e Valutazione finale del rischio. Per far ciò occorre introdurre due concetti: PEC e PNEC. Il PEC (Predicted Environmental Concentration) è definito come la concentrazione prevista nell'ambiente e deriva dal modello di diluizione e dispersione all'immissione; il PNEC (Predicted No Effect Concentration) è la concentrazione che non si ritiene abbia un effetto avverso sull'ambiente (similmente alla NOAEL) e deriva dai risultati dei test ecotossicologici eseguiti sperimentalmente ed espressi come EC₅₀. Calcolando, poi, il rapporto PEC/PNEC si può effettuare una corretta valutazione del rischio: se il rapporto è 1, si passa al punto E; se è inferiore ad 1, la riduzione della tossicità nello scarico in esame non rappresenta una priorità.
- E) Validazione del rischio previsto. Questo punto è riservato a quegli scarichi nei quali sia stato accertato un rischio di tossicità acuta per il proprio corpo idrico recettore. Lo scopo è quello di discriminare gli effetti dei singoli scarichi, fornire evidenze (da osservazioni in campo) del reale impatto, definire una qualità di base del corpo idrico recettore, in riferimento alla quale i futuri miglioramenti possano essere valutati, ed infine individuare un obiettivo di riduzione della tossicità. Nell'ambito di questo punto e confrontandosi col produttore dello scarico, verrà definito il TTL.
- F) Riduzione della tossicità. Nei casi in cui sia stato superato il TTL, si attua questo punto per identificare gli agenti causativi della tossicità, valutare possibili azioni per ridurre la tossicità attuale, attuare l'opzione prescelta. Allo scopo è prevista l'esecuzione di procedure di TIE (Toxicity Identification Evaluation) e TRE (Toxicity Reduction Evaluation), compatibilmente con un ragionevole rapporto costi/benefici.
- G) Controllo. Il controllo biologico (test tossicologici e rilevamento ecologico in campo) deve confermare che il TTL non sia stato superato e deve accertare, mediante rilevazioni appunto in campo, che le misure per ridurre la tossicità dello scarico si siano tradotte in effetti positivi sul recettore. Se è stata condotta una TIE (quindi sono state introdotte rilevazioni chimiche specifiche) si può prevedere che venga condotto anche un controllo mediante analisi chimiche.

Si ricordi che la procedura qui descritta è sempre svolta nell'ambito dell'autocontrollo routinario del titolare della licenza, anche in caso di superamento del TTL, purché il Piano d'Intervento riconduca il valore della tossicità nello scarico entro il TTL e che comunque non venga superato l'ATL. L'autocontrollo (campionamento ed analisi) previsto dal DTA nei limiti del TTL avviene a spese del titolare dello scarico.

6.1.3 Il Piano d'Intervento

SEPA incoraggia la volontarietà dell'uso del DTA da parte dei responsabili dello scarico dove è probabile ottenere un beneficio per l'ambiente. Qualora l'applicazione di tale approccio confermi che uno scarico pone un rischio di tossicità inaccettabile per il corso d'acqua recettore, SEPA tende ad includere le condizioni derivate dai test di tossicità nella licenza allo scarico, le quali includeranno anche un TTL: superato questo, il titolare della licenza ha l'obbligo di intraprendere un'azione correttiva piuttosto che proseguire con uno stretto criterio pass/fail.

SEPA, come già accennato, incorporerà questi TTL nelle licenze di scarico in maniera opportuna, allo scopo di ridurre il rischio che lo scarico provochi qualsivoglia danno alla vita acquatica del recettore. E' verosimile che l'applicazione delle condizioni sopra indicate sia limitata ad un numero ridotto di scarichi di effluenti complessi, dove l'uso dei semplici parametri chimici non sia in grado di ottenere un'efficace regolamentazione.

Il Piano d'Intervento fa, dunque, parte della licenze di scarico ed ha precise tempistiche di svolgimento. Entro due giorni lavorativi il titolare della licenza ha l'obbligo di comunicare a SEPA ogni test di tossicità che superi il TTL, ripetere il campionamento ed il test e contestualmente iniziare indagini sulle cause del superamento di tale valore. Se alla ripetizione il risultato si riporta entro il TTL, il titolare deve comunicarlo a SEPA entro cinque giorni lavorativi. Se, al contrario, supera il TTL, il titolare deve darne comunicazione a SEPA entro due giorni lavorativi, precisando anche le misure che prenderà per rientrare nel TTL. Tali misure potranno includere il contenimento dello scarico in serbatoi e/o la riduzione della portata dello scarico.

Si possono, poi, verificare delle situazioni nelle quali uno scarico esistente esercita un impatto sul corpo idrico recettore ed accordi devono essere raggiunti fra SEPA e il titolare dello scarico sul periodo di tempo necessario per il miglioramento della qualità dello scarico.

Modalità particolari sono previste affinché i titolari di licenze preesistenti si uniformino alla presente normativa.

6.1.4 L'ambiente marino e la zona di mescolamento

Per quanto concerne l'ambiente marino, il criterio seguito non esige delle valutazioni direttamente sugli scarichi prima dell'immissione, ma piuttosto si focalizza sugli effetti a carico del recettore. A questo proposito prevede la delimitazione di una zona di mescolamento afferente alla singola immissione: tale zona viene definita come il pennacchio di diffusione che si origina al punto d'immissione e lo sovrasta fino alla superficie del mare per un raggio di 100 metri dal punto di emersione (boil). I confini, le dimensioni e le caratteristiche di questa fascia sono controllati anche mediante test ecotossicologici, nei casi in cui ciò sia ritenuto necessario. Tra l'altro è richiesto che non vi sia alcuna tossicità residua al di fuori della zona di mescolamento e che, dopo la diluizione iniziale, non vi sia alcun punto al loro interno dove la concentrazione residua di effluente ecceda il NOEC acuto a tre ore per qualunque test letale o subletale approvato da SEPA.

E', inoltre, proibito che immissioni confinanti possano mischiare le proprie zone di mescolamento: ove ciò accada, viene presa in considerazione unitariamente la loro tossicità aggregata.

Tale strategia focalizzata sulla zona di mescolamento ricalca i criteri di USEPA (USEPA, marzo 1991).

6.2 Dagli USA: la proposta del North Carolina

Il Dipartimento dell'Ambiente dello Stato del North Carolina, nell'ambito delle proprie autonomie locali e conformemente alle raccomandazioni di USEPA, ha formulato una notevole mole normativa inerente alla protezione dell'ambiente acquatico e all'utilizzo dei test di tossicità, tanto di tipo acuto quanto cronico. Ha inoltre istituito l'Aquatic Toxicology Unit (ATU) che si occupa esclusivamente della matrice acquatica e spinge verso l'applicazione dei test ecotossicologici. Questi vengono ritenuti necessari, in quanto:

- è indispensabile misurare la tossicità aggregata dello scarico e non dei suoi componenti individualmente;
- hanno capacità predittiva e confirmatoria verso il danno acuto e cronico sugli organismi del corpo idrico recettore;
- è dimostrata la loro efficacia nel ridurre le immissioni tossiche;
- è dimostrata la riduzione dei costi e la semplificazione normativa, utilizzando i test ecotossicologici come screening e guida per le analisi di approfondimento.

Analogamente al caso scozzese, la verifica è effettuata come autocontrollo. Successivamente, ATU esamina tutti i dati di tossicità provenienti da impianti pubblici e privati per verificarne la qualità, valutarne la conformità coi limiti di legge e raccomandare le azioni obbligatorie per le situazioni di non conformità. Laddove un impianto ha individuato una possibile tossicità, ATU esamina i piani di riduzione della tossicità proposti. Analoghi compiti ispettivi vengono svolti da ATU sui laboratori abilitati e certificati allo svolgimento delle analisi ecotossicologiche per conto terzi.

Per quanto riguarda il controllo e la regolamentazione degli scarichi, l'ATU ha emesso nell'agosto 2001 un documento che disciplina l'applicazione dei test di tossicità. E' previsto l'impiego di test acuti e cronici su campioni di effluente a valle di tutti i trattamenti, prima dell'immissione nel recettore; sono descritte le procedure operative, i calcoli statistici per l'elaborazione dei dati, i limiti di validità, la frequenza temporale dei test e la modulistica per comunicare i risultati ad ATU.

6.2.1 I test acuti

Per la determinazione della tossicità di tipo acuto viene di norma eseguito un saggio a cinque concentrazioni più un controllo per determinare una LC_{50} , che viene confrontata con la IWC (Instream Waste Concentration) al fine di prevedere la tossicità nel recettore. Al centro della scansione delle diluizioni del campione deve essere compresa la IWC, la quale viene calcolata in base al rapporto tra la portata del refluo e la più bassa portata media su 7 giorni del recettore negli ultimi 10 anni (indicata come 7Q10).

Nel caso in cui la portata del recettore sia così bassa da determinare un'inadeguata diluizione nella zona di mescolamento, è ammesso un test ad una sola concentrazione, denominato pass/fail test, in cui la concentrazione è generalmente il 90%. Una Notice of Violation viene emanata per ogni violazione di un limite di tossicità acuta, sia che la non conformità sia stata rilevata da un test monocoltura che da un test policoltura. Gli organismi ammessi sono *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas* per le acque dolci e *Mysidopsis bahia* per quelle salate.

6.2.2 I test cronici

L'organismo d'elezione per i test cronici è *Ceriodaphnia dubia*, la cui procedura operativa prevede tre schiuse, cinque diluizioni del campione ed un controllo (ciascuno in dieci repliche), secondo anche quanto caldeggiato da USEPA (1994).

Al centro della scansione delle diluizioni del campione deve essere sempre compresa la IWC, calcolata analogamente a quella per il test acuto; i risultati sono espressi come LOEC e NOEC. La media geometrica fra LOEC e NOEC viene denominata Chronic Value (ChV) e rappresenta la stima della concentrazione dell'effluente alla quale gli effetti cronici iniziano ad essere rilevabili. ChV viene, quindi, confrontato con IWC.

Nel documento sono anche definite le procedure per il campionamento, i limiti di validità del test, le procedure per l'elaborazione statistica dei risultati e le norme USEPA di riferimento.

6.2.3 I permessi di scarico

I permessi di scarico che prevedono limiti di tossicità nell'effluente sono concessi mediante un apposito modulo che riporta tutte le indicazioni atte a valutare il tipo di effluente ed i test che su di esso vengono eseguiti. Vanno riportati, infatti:

- la concentrazione dell'effluente, che non deve mai mostrare un'inibizione marcata o osservabile della riproduzione od una significativa mortalità di *Ceriodaphnia dubia*;
- la cadenza dei test (trimestrale) e l'indicazione dei mesi di effettiva esecuzione;
- il campionamento dell'effluente finale, a valle di tutti i processi di trattamento;
- la procedura del test (le cinque diluizioni più un controllo tutti in decuplo).

Nel caso in cui il test eseguito all'inizio del trimestre risulti non conforme al limite, vi è l'obbligo di eseguire test multiconcentrazione con cadenza almeno mensile per i due mesi successivi.

I test cronici monoconcentrazione di tipo pass/fail quali test probatori sono fortemente sconsigliati. Si ritiene infatti necessario porre discrezione nella scelta di questa opzione, che si reputa valida solo se esercitata per il primo test del trimestre: qualora dovesse emergere una non conformità, deve essere eseguito un test multiconcentrazione al mese entro la fine del trimestre.

Le condizioni del test pass/fail hanno nominalmente l'intento di rispecchiare la situazione di un organismo che attraversa la zona di immissione del recettore, trattenendosi per un tempo non superiore alla durata del test: il test pass/fail è semplificatorio e, anche se è stato mantenuto per i test acuti, la sua affidabilità anche qui è ritenuta limitata.

Da quanto esposto appare evidente che l'applicazione quotidiana e continua dei test ecotossicologici abbia condotto ad un notevole miglioramento nella gestione delle risorse idriche e degli scarichi, con semplificazioni notevoli e vantaggi economici non indifferenti.

6.3 Considerazioni conclusive

I due casi riportati vogliono costituire solamente un esempio di come, partendo dall'impianto normativo attuale e secondo le peculiarità del nostro territorio, anche nel nostro Paese si possa prendere spunto dalle esperienze e dalle conoscenze maturate da chi ha avuto la possibilità di intraprendere prima di noi questa strada e si possa iniziare a concretizzare un cammino che conduca all'applicazione normativa di test di questo genere, nel rispetto delle autonomie locali e della specificità italiana.

7. CONCLUSIONI

Da quanto emerso nella trattazione di questo testo, è possibile affermare che l'ecotossicologia potrà, o meglio dovrà, rivestire in un futuro non troppo lontano un ruolo da protagonista, sia nel campo della prevenzione dall'inquinamento ambientale, sia per quanto riguarda i controlli che occorre effettuare tanto di routine quanto in caso di eventi straordinari. Senza contare il fatto che i test di tipo tossicologico ed ecotossicologico sono ormai considerati indispensabili per valutare l'impatto di nuove sostanze sull'ambiente (si vedano a tal proposito la Fitofarmacopea Ufficiale, la Direttiva 91/414/CE, il D.lgs 194/95, il DM 15/06/96, la Direttiva 2000/60/CE, etc.).

Uno degli obiettivi del presente lavoro è la sensibilizzazione e la diffusione di notizie e conoscenza riguardanti un ambito ancora non molto conosciuto, ma estremamente importante per le indicazioni che fornisce in merito alla qualità dell'ambiente e alla qualità della vita all'interno dei diversi habitat.

Inoltre, dal momento che i dati ottenuti tramite il censimento con il "Questionario ECOTOX" risultano essere ancora parziali, è inevitabile che si avranno futuri aggiornamenti sul sito internet APAT in merito allo stato dell'arte nelle Agenzie. E' infatti in quest'ottica di dinamismo e continuo aggiornamento che ci si vuole porre nel distribuire l'attuale pubblicazione.

Appare, quindi, chiaro che siamo solo all'inizio di un'attività che comporterà impegno e volontà da parte di tutti i soggetti coinvolti, ma sarà essenziale per l'obiettivo che ci prefiggiamo: la tutela e la salvaguardia del patrimonio idrico italiano.

BIBLIOGRAFIA

- Amendola G. IV 2002. "La tutela penale dall'inquinamento idrico". Milano, Giuffrè.
- Amendola G. 2000. "Inquinamenti: gli elementi essenziali di normativa e giurisprudenza in materia di acqua aria rumore rifiuti". EPC Libri.
- ANPA. 3/2000. "Indicatori e indici ecotossicologici applicati al suolo".
- APAT, CTN AIM, ARPAT. 2002. "Elementi per la caratterizzazione fisico-chimica, biologica ed ecotossicologica dei parametri addizionali (D.lgs 152/99) nella matrice acquosa, nel sedimento e nel biota".
- APAT. 25/2002. "Messa a punto dei protocolli per valutare tossicità e bioaccumulabilità".
- APAT, IRSA – CNR. 29/2003. "Metodi analitici per le acque – Volume terzo".
- Azzoni R., De Marco N., Sansoni G. 1994. "Seminario di studi Dalla Tossicologia alla Ecotossicologia". USL 11 Pordenonese, CISBA.
- Baudo R. 2001. "Studio degli effetti sui sistemi biologici – Saggi tossicologici di laboratorio". Giornata di Studio "Ecotossicologia applicata come sistema di biomonitoraggio per la tutela dell'ambiente".
- Baudo R., Feltrami M. 2004 "test di germinazione e allungamento radicale". *Biologici Italiani*. 11: 55-63.
- Baudo R., Muntau H. 1985. "Riflessioni sulle aree problematiche in ecotossicologia". *Acqua – Aria*, 4: 331-339.
- Blutler G. C. 1978. "Principles of Toxicology". SCOPE 12. John Wiley and Sons. Chichester.
- Carpenter K. E. 1924. "A study of the fauna of rivers polluted by lead minimo in the Aberystwth district of Cardiganshire", *Annales of Applied of Biology*, 11: 1.
- Cecchetti M. 2000. "Principi costituzionali per la tutela dell'ambiente", in collaborazione con il Dipartimento di Diritto Pubblico dell'Università degli Studi di Firenze.
- Dallinger R., Rainbow P. S. 1993. "Ecotoxicology of metals in invertebrates". Lewis Publisher.
- D'Angelo S. 1993. "La normativa per la tutela delle acque". Milano, Giuffrè.
- Doudoroff P., Anderson B. G., Burdick G. E., Galstoff P. S., Hart W. B., Patrick R., Strong E. R., Surber E. W., Van Horn W. M. 1951. "Bio-assay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish". *Sewage and Industrial Wastes*, 23: 1381.
- Ellis M. M. 1937. "Detection and measurement of stream pollution". *Bullettin of the U.S. Bureau of industrial wastes to fish*. *Sewage and Industrial Wastes*. 23: 1381.

-
- Galli C. L., Marinovich M., Restani P. 1991. "Tossicologia Sperimentale". OEMF spa.
- Gordon N. D., McMahon T. A., Finlayson B. L., Gippel C. J., Nathan R. J., 2004. "Stream Hydrology – An Introduction for Ecologists – Second Edition". Wiley.
- Grossetti R., Ferrara R., Fracchia F., Olivetti Rason N. 2002. "Diritto dell'ambiente". Bari, Laterza.
- Hoffman D. J., Rattner B. A., Burton G. A. Jr., Cairns J. Jr. 2003. "Handbook of Ecotoxicology". Lewis Publisher.
- Indice Sentenze:
Cass. Pen. Sez. III, 30 aprile 1999 n. 1219, Sassatelli.
Cass. Pen. Sez. III, 13 gennaio 1994 n. 7.
Cass. Pen. Sez. III, 3 settembre 1999 n. 2774.
Cass. Pen. 24 giugno 1999 n. 2358, Belcari.
- Jorgensen S.E. , Halling-Sorensen B. , Mahler H. 1998. "Handbook of Estimation Methods in Ecotoxicology and Environmental Chemistry". Lewis Publisher.
- McKee J. E. 1952. "Water quality criteria". California State Water Pollution Control Board Publication 3-A, 1.
- McKee J. E. 1952. "Water quality criteria 2nd ed". California State Water Pollution Control Board Publication 3, 1.
- McKee J. E., Wolf H. W. 1963. "Water Quality criteria 2nd ed". Sacramento, CA: California State Water quality Control Board.
- Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio - Servizio Difesa del Mare, ICRAM. Triennio 2001-2003. "Metodologie analitiche di riferimento".
- N.C. Division of Water Quality. 2001. "Aquatix Toxicity Testing – Understanding and Implementing Your Testing Requirement".
- Newman M. C., Unger. M. A. 2003. "Fundamentals of Ecotoxicology". Lewis Publisher.
- North Carolina, Department of Environmental and Natural Resource. 1998. "North Carolina Ceriodaphnia Chronic Effluent Toxicity Procedure".
- Oddo N., 2004. "Autorizzazione allo scarico di emissioni liquide per unità produttive industriali". Ambiente, 6: 593-595.
- Oddo N., 2004. "I saggi ecotossicologici nella protezione dei corpi idrici". Ambiente, 5: 492-496.
- Oddo N., 2003. "Una strategia di controllo degli scarichi mediante test ecotossicologici acuti e cronici su *Ceriodaphnia dubia*". Biologi Italiani, 3: 41-43.
- Oddo N., 2001. "Ecotossicologia: definizione, campo di applicazione, obiettivi". Biologi Italiani, 8: 54-59.

-
- Oddo N., 2001. "Criteri d'interpretazione di un test di tossicità". *Biologi Italiani*, 2: 45-51.
- Penny C., Adams C. 1863. "Fourth report of the royal commission on pollution in Scotland". London, 2: 377.
- Provini A., Galassi S., Marchetti R. 1998. "Ecologia applicata". Città Studi Edizioni.
- Rombke J., Moltmann J. F. 1996. "Applied Ecotoxicology". Lewis Publisher.
- Sartori F. 1998. "Bioindicatori ambientali". Fondazione Lombardia per l'Ambiente.
- Scow K. M., Fogg G. E., Hinton D. E., Johnson M. L. 2000. "Integrated Assessment of Ecosystem Health". Lewis Publishers.
- SEPA. 1998. "Initial Dilution and Mixing Zones for Discharges from Coastal and Estuarine Outfalls" – Policy No 28.
- SEPA 16 April 2002. "Direct Toxicity Assessment Schedule".
- SEPA. 2003. "Direct Toxicity Assessment – Technical Guidance Manual for Licensing Discharges to Water".
- SEPA. 2003. "Improving the assessment and control of complex aqueous discharges to the environmental using a direct toxicity assessment (DTA) approach" - Policy No 052.
- USEPA. 1976, 1. "Quality criteria for waters". USEPA, Washington D.C., EPA-440/9-76-023.
- USEPA. 1986, 1. "Quality criteria for waters". USEPA, Washington D.C., EPA-440/5-86-001.
- USEPA. March 1991. "Technical Support Document for Water Quality-based Toxic Control". EPA/505/2-90-001, PB91-127415.
- USEPA. July 1994. "Short term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organism", 3rd Ed. EPA 600/491002.
- USEPA. 2001. "Clarification Regarding Toxicity Reduction and Identification Evaluations in the National Pollutant Discharge Elimination System Program".
- Van Loon W. G. G. M. , Hermens J. L. M. , 1995. "Monitoring water quality in the future – Volume 2: mixture toxicity parameters". Research Institute of Toxicology, Netherlands.
- Vighi M., Bacci E. 2004. "Ecotossicologia". UTET
- Volterra L. De Nava V., Mancini L. 1998. "Criteri e standard di qualità per la protezione della vita acquatica". Istituto Superiore di Sanità.
- Weigelt C., Saare O., Schwab L. 1885. "Die schädigung von fischerei und fischzueht durch industrie und hausabwasser". *Archiv fur hygiene*, 3: 39.

SITI INTERNET D'INTERESSE

Istituzioni Italiane:

APAT (<http://www.apat.gov.it/site/it-IT/>)
CISBA (<http://www.cisba.it/>)
CNR(<http://www.cnr.it/sitocnr/home.html>)
ISS (<http://www.iss.it/index.html>)
Regione Emilia Romagna (www.aquaer.it)
SIMA (<http://pegaso.bio.uniroma1.it/sima/>)
SINAL (<http://www.sinal.it/ita/metodi.htm>)
Università degli studi di Cagliari (www.unica.it)
Università degli Studi di Pisa (www.dst.unipi.it)

Istituzioni Internazionali:

ASTM (<http://www.astm.org/cgi-bin/>)
ECETOC (<http://www.ecetoc.org/Content/Default.asp?>)
EEA (<http://www.eea.eu.int/>)
EPA (<http://www.epa.gov/ecotox>)
EU_Sostanze chimiche (http://europa.eu.int/comm/enterprise/chemicals/index_en.htm)
European Chemicals Bureau (<http://ecb.jrc.it/>)
EIONET (<http://www.eionet.eu.int/>)
N.C. Division of Water Quality (<http://h2o.enr.state.nc.us/esb/ATU.html>)
OECD (<http://www.oecd.org/>)
SEPA (<http://www.sepa.org.uk/>)

Per il Capitolo 2:

www.altraofficina.it
www.ecplanet.com
www.ica-net.it
www.gielle.it
www.ips.it
www.isinet.it
www.lenntech.it
www.pianetascuola.it
www.wikipedia.it

Immagini Capitoli 2 e 4:

Acque Interne (www.acqueinterne.it)
Lupus in fabula onlus (www.lalupusinfabulas.it/attività/Acqua)
Pianeta Scuola (www.pianetascuola.it/natura_cultura)
Regione Emilia Romagna (www.acquer.it/ciclo/102)
Valcamonicambiente (www.valcamonicambiente.it/monitoraggio/H2O)
Università degli Studi di Milano Bicocca (www.disat.unimib.it)
Università di Pisa (www.dst.unipi.it/fist/acqua)

GLOSSARIO

Acclimation (laboratorio)/**Acclimatization** (ambiente naturale)= modificazioni strutturali o di funzioni biologiche (soprattutto fisiologiche) al fine di mantenere o minimizzare deviazioni dall'omeostasi, nonostante cambiamenti in qualche aspetto ambientale, quali temperatura, salinità, radiazioni o concentrazione di composti tossici.

Adsorption= l'accumulo di una sostanza al "limite comune" fra due fasi.

Antagonismo= si verifica quando, in una miscela di più contaminanti, l'effetto della loro combinazione è minore della somma dei singoli effetti.

Bioaccumulo= l'accumulo netto di un contaminante in (e in alcuni casi anche su) un organismo da qualunque fonte, incluse acqua, aria e fasi solide (cibo, suolo, sedimenti e articolato fine sospeso in aria) presenti nell'ambiente.

Bioaccumulatore= organismo in grado di sopravvivere alla presenza di un contaminante assimilato dalle matrici ambientali (aria, acqua, suolo), accumulandolo e permettendone una qualificazione e quantificazione.

Bioassay= tipo di saggio ecotossicologico, solitamente di breve durata e con un protocollo ben definito, nel quale l'attività della sostanza chimica è misurata come effetto avverso su alcune specie test.

Bioavailability (Biodisponibilità)= l'entità con cui un contaminante in una sorgente è libero per l'uptake o assorbimento da parte dell'organismo. In ecotossicologia è anche la quantità a cui un composto tossico è in grado di avere un effetto (sul sito d'azione).

Bioconcentrazione= raggiungimento, in un organismo, di concentrazioni di sostanza superiori rispetto al mezzo in cui vivono (solitamente riferito all'acqua).

Bioindicatore= organismo che, in presenza di concentrazioni di inquinanti, subisce rilevabili variazioni del proprio stato naturale.

Biomagnificazione= incremento nella concentrazione di un contaminante da un livello trofico al successivo a causa di un accumulo nella catena alimentare.

Biomarkers= alterazioni evidenziabili e quantificabili di una risposta biologica (cellulari, tissutali o dei fluidi corporei oppure fisiologici o biochimici) che possono essere correlati all'esposizione o all'effetto tossico di un contaminante ambientale.

• **di esposizione**= risposte in grado di indicare se è avvenuta l'esposizione ad un contaminante o ad una classe di composti tossici, che però non forniscono indicazioni sugli effetti tossici a livello dell'organismo.

• **di effetto**= risposte che indicano sia l'eventuale esposizione che gli effetti tossici.

Biomonitoraggio= uso di (micro) organismi per monitorare una contaminazione, per comprendere possibili effetti sul biota o per ricercare sostanze tossiche per l'uomo.

Bioreporter System= strumento molecolare, che spesso usa cellule geneticamente modificate, per trasformare la presenza di una sostanza chimica in un segnale facilmente misurabile.

Biosensore/Bioprobe= mezzo fisico che permette di percepire una sostanza chimica come un segnale elettrico derivato da un biocatalizzatore (enzima, anticorpo).

Biotrasformazione= la trasformazione biologicamente mediata di un composto chimico in un altro: coinvolge catalisi enzimatiche ed è, quindi, passibile di saturazione. Può condurre a eliminazione, detossificazione, sequestro, redistribuzione, attivazione.

Clearance= termine usato nella modellizzazione delle cinetiche di bioaccumulo e corrispondente al movimento di una quantità di sostanza normalizzata sulla concentrazione: si misura in volume su tempo.

Criteria= concentrazioni di sostanze tossiche, basate sulle correnti conoscenze scientifiche che, qualora non superate, sono considerate protettive per gli organismi.

Contaminante= sostanza, presente in misura maggiore rispetto alla condizione naturale, rilasciata da attività umane (senza implicazione di effetti avversi, benché possibili).

EC₅₀= concentrazione efficace di una sostanza tossica in grado di causare il 50% dell'effetto che si intende misurare.

Ecoregioni= regioni relativamente omogenee negli ecosistemi o associazioni tra biota e proprio ambiente naturale.

Ecotossicologia= scienza che studia il destino e gli effetti dei contaminanti nell'ambiente, anche avvalendosi di strumenti predittivi.

Effective dose (Dose efficace)= la quantità di sostanza che giunge al bersaglio ed è in grado di avere un effetto.

Eliminazione= escrezione o biotrasformazione di un contaminante, risultante in una diminuzione del contenuto dello stesso all'interno di un organismo.

Growth dilution= diminuzione in termini di concentrazione di una sostanza in un organismo, dovuta alla crescita, anche se la quantità totale rimane invariata.

IC₅₀= concentrazione di sostanza tossica in grado di causare l'immobilizzazione o l'inibizione della crescita del 50% della popolazione esposta, dopo un tempo fissato di esposizione.

Incipieny= la concentrazione, o dose, più bassa alla quale un composto tossico, aumentando di poco, comincia a produrre un incremento negli effetti misurati.

Indicatore= parametro o valore derivato da parametri che fornisce informazioni o descrive lo stato di un fenomeno/ambito/area, avente tuttavia un significato che va oltre le proprietà direttamente associate al valore di parametro.

Indice biotico= usato nei tests biologici, è basato contemporaneamente sul valore di indicatore di alcune specie e sulla ricchezza in taxa della comunità (unisce l'indice saprobico e l'indice di diversità).

Indice di diversità= nei test biologici indica la ricchezza in diversità di taxa che si trovano nell'ecosistema in esame.

Indice saprobico= indice che, nei saggi biologici, esprime la relazione fra presenza di specie e qualità dell'acqua.

Integrità biologica= la condizione della comunità acquatica, tipica di un habitat specifico, che vive in masse d'acqua incontaminate, definita attraverso la struttura e la funzione della comunità stessa.

Integrità ecologica= la condizione di un ecosistema incontaminato definita attraverso le proprietà chimiche, fisiche e biologiche, combinate.

LC₅₀= concentrazione della sostanza tossica che provoca la mortalità del 50% degli organismi.

LOEL= minima concentrazione o dose efficace a produrre un danno all'organismo bersaglio.

Metapopolazione= "popolazione di popolazioni", connesse attraverso migrazioni.

NOEL= massima concentrazione o dose che non produce alcun effetto sul bersaglio.

Pollutant (Inquinante)= sostanza che si rinviene parzialmente nell'ambiente quale risultato finale di attività umane ed avente effetto deleterio sugli organismi viventi.

Popolazione= gruppo di individui della stessa specie, che occupa uno spazio definito in un particolare momento.

Potentiation (potenziamento)= si ha quando un composto chimico, di per sé non tossico alla dose o concentrazione di esposizione, aumenta la tossicità di un secondo composto chimico presente nella miscela.

Potenza carcinogena= numero di tumori indotti con una dose unitaria di sostanza.

Saggio preliminare= prova semplificata, rispetto alle procedure standardizzate, condotta con un minor numero di organismi ed una serie di concentrazioni ampiamente spaziate fra loro.

Sindrome da stress= alterazione misurabile di uno stato fisiologico indotta da un cambiamento ambientale, che rende gli organismi più vulnerabili ad ulteriori variazioni ambientali.

Sinergismo= si ha in una miscela quando l'effetto della combinazione delle sostanze contaminanti è maggiore della somma degli effetti tossici singoli da esse indotte.

Sorption= usato al posto di "adsorption" qualora lo specifico meccanismo tramite cui un composto in soluzione si associa ad una superficie solida è sconosciuto o scarsamente definito.

Specie indice= specie che riveste un ruolo fondamentale nel controllo della composizione e della funzionalità di comunità biologiche.

Specie sentinella= specie animale o vegetale in grado di far rilevare, attraverso cambiamenti misurabili delle funzioni metaboliche o fisiologiche, la presenza di un agente tossico.

Stressore= tutto ciò che produce **Stress**= ad ogni livello di organizzazione ecologica, è la risposta o l'effetto di un recente fattore di disorganizzazione e deturpamento.

Tossicità acuta= effetti avversi che si manifestano in un breve periodo di tempo (non superiore ad un terzo del tempo medio tra nascita e raggiungimento della maturità sessuale e durante il quale l'organismo può essere mantenuto in buone condizioni in assenza di alimentazione) dopo la somministrazione di una singola dose di una sostanza.

Tossicità cronica= effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo superiore al 50% della vita dell'organismo.

Tossicità subacuta/subletale= effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo inferiore o uguale al 10% della vita dell'organismo, e durante il quale gli organismi vengono alimentati.

Tossicologia Ambientale= riguarda l'identificazione e la quantificazione del danno sugli organismi, a diversi livelli di organizzazione, dovuto a fenomeni di inquinamento ambientale, e si avvale anche di metodi predittivi.

Tossico= sostanza, presente in misura maggiore rispetto alla condizione naturale, avente effetto tossico per gli organismi viventi.

Toxic unit= quantità o concentrazione di differenti composti tossici espressi in unità di letalità: come unità di LD₅₀ o LC₅₀.

Uptake= l'assunzione e il movimento del contaminante all'interno di un organismo.

Xenobiotico= sostanza chimica estranea o materiale non prodotto dalla natura e normalmente non considerato componente costitutivo di uno specifico sistema biologico (di solito riferito a prodotti chimici).

