



In questo numero:

- P**rotocollo operativo per l'utilizzo del crostaceo anfipode *Monocorophium insidiosum* nei test di tossicità acuta **2**
- D**eterminazione di acidi aloacetici in acque potabili mediante LC/MS-MS **9**
- D**eterminazione di nitrosammine in acque potabili mediante LC/MS-MS **16**

News:

- C**usio2023: Conservare, valorizzare e sostenere la biodiversità acquatica nel bacino del Lago d'Orta **25**
- A**GRARSENSE: Ricerca e tecnologia per l'agricoltura sostenibile **27**
- L**e attività dell'Area seminari IRSA **30**
- D**efinizione dei deflussi ecologici in fiumi temporanei **32**
- C**NR IRSA partecipa al 10° *World Water Forum* **37**
- I**l progetto VFN VALLE DEL SACCO **39**
- T**assonomia e Biodiversità degli Efemeroteri delle acque dolci italiane: EpheBIO **41**

Editoriale

In un momento così importante, e per certi versi caotico, nel quale sono state pubblicate o sono in corso di finalizzazione numerose nuove direttive ambientali nel campo della protezione delle acque, all'interno del grande programma europeo *Green Deal*, la nostra rivista ultraquarantennale continua a proporsi come un luogo di discussione per enti pubblici e privati per scambiare conoscenze allo scopo di implementare in Italia i nuovi principi normativi.

In attesa dell'entrata in vigore dei nuovi parametri previsti dalla nuova Direttiva sulle acque destinate al consumo umano 2020/2084, un grande gestore delle acque come Acquedotto Pugliese condivide con la comunità scientifica i metodi LC/MS-MS da loro sviluppati per due classi di sostanze, nitrosammine e acidi aloacetici, nelle acque potabili. La forza di questi metodi è l'eliminazione dei metodi di estrazione in modo da minimizzare le potenziali fonti di interferenze ambientali sulla determinazione quantitativa degli analiti. I metodi, rapidi e robusti, saranno utili al controllo di qualità delle acque potabili, sia per il monitoraggio dei possibili sottoprodotti di disinfezione che per il monitoraggio di eventuali contaminazioni delle acque potabili da eventuali rilasci da materiali a contatto.

Negli ultimi decenni la protezione della biodiversità, lo sviluppo sostenibile, i cambiamenti climatici e la salute degli ecosistemi sono diventati temi centrali nel processo decisionale europeo e internazionale. In questo contesto, l'approccio ecotossicologico riveste un importante ruolo chiave di sistema di allarme precoce, di screening e previsione con l'obiettivo di rilevare effetti tossici causati da contaminanti o miscele di contaminanti sconosciuti. A seguito dell'inserimento dei saggi biologici nella normativa ambientale, e al fine di garantire una maggiore confrontabilità dei risultati, è necessaria la disponibilità di protocolli metodologici che garantiscano, unitamente alla significatività scientifica, i requisiti di una elevata rappresentatività ambientale e di una sufficiente manualità esecutiva. In questo numero è presentato l'applicazione del saggio acuto con il crostaceo anfipode *Monocorophium insidiosum*, con suggerimenti e indicazioni applicative ed operative, riguardanti l'allevamento ed il mantenimento dell'anfipode, per dare uno strumento di armonizzazione agli operatori dei laboratori ecotossicologici.

Ancora una volta, questo numero del Notiziario testimonia l'approccio multidisciplinare alla ricerca sullo stato dei corpi idrici portata avanti dal nostro Istituto come sua ricchezza identificativa fin dalla sua fondazione.

Stefano Polesello
Direttore Scientifico

Protocollo operativo per l'utilizzo del crostaceo anfipode *Monocorophium insidiosum* nei test di tossicità acuta

a cura di

Ermelinda Prato (*), Francesca Biantolino, CNR, Istituto di Ricerca sulle Acque, Taranto

RIASSUNTO

Negli ultimi decenni la protezione della biodiversità, lo sviluppo sostenibile, i cambiamenti climatici e la salute degli ecosistemi sono diventati temi centrali nel processo decisionale europeo e internazionale. In questo contesto, l'approccio ecotossicologico riveste un importante ruolo chiave di sistema di allarme precoce, di screening e previsione con l'obiettivo di rilevare effetti tossici causati da contaminanti o miscele di contaminanti sconosciuti. A seguito dell'inserimento dei saggi biologici nella normativa ambientale, e al fine di garantire una maggiore confrontabilità dei risultati, è necessaria la disponibilità di protocolli metodologici che garantiscano, unitamente alla significatività scientifica, i requisiti di una elevata rappresentatività ambientale e di una sufficiente manualità esecutiva. Il presente contributo contiene informazioni metodologiche utili per l'applicazione del saggio acuto con il crostaceo anfipode *Monocorophium insidiosum*, incluso suggerimenti e indicazioni applicative ed operative, aggiornate sulla base di recenti studi e pubblicazioni scientifiche riguardanti l'allevamento ed il mantenimento dell'anfipode. Lo scopo è quello di agevolare il raggiungimento di un buon livello di autonomia esecutiva degli operatori, consentendo l'avvio di prove di interconfronto/intercalibrazione a livello nazionale, al fine di definire da ultimo una carta di controllo nazionale.

SUMMARY

In recent decades, the biodiversity protection, sustainable development, climate changes and the ecosystems health, have become the main topics in European and international policy making. In this context, the ecotoxicological approach plays an important key role as an early warning, screening and prediction system with the aim of detecting toxic effects caused by unknown contaminants or mixtures. Following the inclusion of biological assays in environmental legislation, and in order to assurance greater comparability of the results, the availability of methodological protocols is necessary which guarantee, together with scientific significance, the requirements of high environmental representativeness and sufficient executive ability. This contribution contains methodological information useful for the application of the acute assay with the amphipod crustacean *Monocorophium insidiosum*, including operational suggestions application and indications, updated on the basis of recent studies and scientific publications.

1. INTRODUZIONE

L'indagine ecotossicologica rappresenta un efficace e utile strumento, riconosciuto a livello europeo, per la gestione e la comprensione dei potenziali effetti avversi derivanti dall'esposizione multipla a contaminanti, inclusi quelli non contemplati dalla normativa (contaminanti emergenti). Attraverso l'approccio ecotossicologico si ottengono dati per valutare la tossicità di una sostanza chimica (solida o liquida), di una miscela di composti o di una matrice ambientale mediante l'allestimento di saggi di tossicità di laboratorio. Essi prevedono l'esposizione di alcuni organismi alla matrice in esame in concentrazioni note (test su sostanze pure) o ignote (campioni ambientali), al fine rilevare una specifica risposta biologica (o danno), e di stimare il rischio attribuibile alla stessa. In particolare, l'ecotossicologia acquatica prende in esame non solo il proprio comparto d'elezione, ma fornisce indicazioni sul substrato e sullo stato di salute organismi che in essa vivono.

La scelta dei bioindicatori da utilizzare nei test di tossicità rappresenta uno *step* fondamentale, che dipende dall'obiettivo che si vuole perseguire e dalla matrice d'analizzare. In generale, un bioindicatore può essere considerato come bersaglio biologico, in grado di fornire, mediante risposte identificabili (biochimiche, fisiologiche, morfologiche, corologiche), informazioni sulla qualità dell'ambiente.

Le specie bioindicatrici, oltre ad avere caratteristiche intrinseche che le rendono degli affidabili indicatori della qualità ambientale (ad es. ampia distribuzione geografica, disponibilità per l'uso durante tutto l'anno, elevato numero d'individui, etc.) devono essere facili da campionare e facilmente manipolabili in laboratorio. Inoltre, devono possedere una elevata sensibilità in grado di rispondere all'esposizione a bassi livelli di contaminanti (Oliva et al., 2018).

Negli ecosistemi marini specie appartenenti a taxa diversi vengono utilizzate come strumenti diagnostici per il monitoraggio e la gestione della valutazione del

* linda.prato@irsa.cnr.it

rischio ambientale (Narracci et al., 2009; Costa et al., 2015; Rotini et al., 2018)

Negli ultimi anni, molti studi si sono concentrati sull'identificazione di specie bioindicatrici idonee per sviluppare saggi biologici con protocolli di esposizione riproducibili e affidabili.

I crostacei sono tra gli organismi modello più comuni nei test di ecotossicità acuta. Svolgono un ruolo chiave nelle reti alimentari marine e nel loro flusso energetico, agendo sia come prede che come predatori a vari livelli trofici, spesso nella facies sedimentaria, essendo potenziali bersagli (Annicchiarico et al. 2007).

Tra questi gli organismi infaunali, che occupano microhabitat al di sotto dell'interfaccia acqua-sedimento e quindi sono più esposti agli inquinanti presenti nel sedimento e sicuramente gli anfipodi sono quelli impiegati più diffusamente e con maggiore frequenza in tutto il mondo (Ingersoll, 1995). Il motivo del loro ampio utilizzo risiede nel fatto che, complessivamente, essi soddisfano molti dei criteri richiesti per poter essere utilizzati come indicatori biologici nei saggi di tossicità (Annicchiarico et al. 2007; Narracci et al. 2009; Prato et al. 2006, 2010, 2012, 2015; Volpi Ghirardini and Pellegrini, 2001)

Monocorophium insidiosum è inserito tra le specie utilizzabili indicate per analisi ecotossicologiche (saggi biologici di tossicità) nel contesto della valutazione della qualità dei comparti ambientali D.M. 173/16, che disciplina l'autorizzazione alla immersione deliberata in mare dei sedimenti portuali, "Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini" in alternativa ad altri saggi ecotossicologici come terza tipologia, da eseguire su sedimento intero e sedimento umido (privato dell'acqua interstiziale) (Fig. 1). L'idoneità di *M. insidiosum* come specie test, inoltre è stata dimostrata da diverse prove sperimentali di laboratorio che hanno mostrato una buona acclimatazione alle condizioni di prova, un'elevata sensibilità alle sostanze tossiche di riferimento, tolleranza alle variabili ambientali come temperatura, salinità e sensibilità relativamente elevata ai contaminanti (Prato e Biandolino 2006; Prato et al. 2008). Inoltre, un precedente studio ha dimostrato che la granulometria del sedimento e la sostanza organica totale (TOM) non influenzano la sua sensibilità (Prato e Biandolino, 2006), confermando ottime riproducibilità del saggio biologico.

Il test sul sedimento tal quale con *M. insidiosum* è stato applicato con successo ai sedimenti del Mar Ionio meridionale (Annicchiarico et al. 2007; Narracci et al. 2009; Prato et al. 2006, 2010, 2012) e del Mar Adriatico (Guerra et al. 2007). Questo test viene utilizzato abitualmente anche per la valutazione dei sedimenti costieri e marini da diverse Agenzie Regionali di Protezione Ambientale italiane, anche nella prospettiva della Direttiva Quadro sulla Strategia Marina (56/2008/CE).

Data la facilità di mantenimento in laboratorio, *M. insidiosum* è stato inoltre ampiamente studiato per la riproduzione e il ciclo di vita.

Entrambi i sessi sono tubicoli e costruiscono tubi di

muco e detriti. Questo anfipode marino è stato osservato nutrirsi di particelle depositate come detriti, di protozoi e diatomee (Dahl, 1973), ma agisce principalmente come alimentatore in sospensione. Costituisce una fonte di cibo per gamberetti e avannotti, poiché si trova nella zona intercotidale e costituisce una fonte di cibo per numerosi uccelli. Ciò aumenta la rilevanza ecologica di questa specie nei saggi biologici sui sedimenti (Prato e Biandolino 2006).

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo può essere utilizzato per valutare gli effetti tossici acuti di campioni di scarichi afferenti in acque salmastre, marine; di campioni d'acqua superficiale e sotterranea salmastra, marina; di eluati di fanghi, o di altri campioni solidi; di estratti di sedimenti e fanghi; di sostanze pure. Per queste matrici l'*endpoint* biologico considerato è la mortalità dell'anfipode durante 96h di esposizione.

Per valutare la potenziale tossicità dei sedimenti tal quali, ossia sedimenti comprensivi dell'acqua interstiziale, che hanno subito una minima manipolazione dopo il campionamento (ASTM, 1994), l'*endpoint* è la mortalità che si determina durante 10 giorni di esposizione.

La validità del test è valutata mediante un controllo negativo, utilizzando per ogni test esclusivamente acqua di mare. Inoltre, è necessario condurre dei test di controllo positivo, per testare la sensibilità dell'organismo a sostanze tossiche di riferimento note e garantire una corretta valutazione degli effetti osservati.

I risultati ottenibili da un saggio acuto costituiscono solitamente il primo passo nella valutazione del rischio per la vita acquatica. L'assenza di effetti acuti non preclude la possibilità di effetti cronici.

3. CAMPIONAMENTO E CONDIZIONI DI ALLEVAMENTO

M. insidiosum è una specie cosmopolita ampiamente distribuita lungo le coste europee. Questo anfipode vive in grande abbondanza nelle zone costiere poco



Figura 1. Adulto di *Monocorophium insidiosum*

profonde, nelle zone salmastre e negli estuari con elevata torbidità (Kevrekidis, 2004; Prato e Biantolini, 2006).

Il campionamento degli organismi da utilizzare nei test di tossicità deve essere effettuato in una zona costiera scelta accuratamente, lontana da contaminazioni antropiche. *M. insidiosum* vive su fondi mobili e il campionamento viene effettuato setacciando delicatamente piccole quantità di sedimento attraverso un setaccio con maglie da 0,5 mm, consentendo la selezione della dimensione consigliata per il test (lunghezza del corpo di 2–4 mm).

Gli organismi trattiene sono introdotti in un contenitore di plastica pulito con acqua proveniente dal sito di campionamento e immediatamente trasportati al laboratorio. Durante il periodo caldo conviene raffreddare durante il trasporto i contenitori con alcuni siberini. Una volta giunti in laboratorio gli anfipodi sono mantenuti in acquari o vasche con acqua di mare naturale filtrata (FNSW, 0,45 µm), e uno strato di sedimento del sito di raccolta (2 – 3 cm) e continuamente areati con aeratori elettrici (possibilmente con più derivazioni) per garantire un livello di ossigeno disciolto >80%. Durante questo periodo gli animali si alimenteranno di detrito e microalghe bentoniche presenti sulla superficie del sedimento natio.

Gli organismi sono tenuti in una camera termostata, alla temperatura e salinità registrate al momento del prelievo e fotoperiodo 16L : 8B (luce: buio) con luce bianca a 1400 lux. In questa prima fase, il mantenimento della temperatura dell'acqua nelle vasche di stabulazione uguale a quella presente nel sito di prelievo evita l'insorgere di shock termici.

Gli organismi vengono acclimatati alle condizioni sperimentali ($16 \pm 2^\circ\text{C}$ e 36‰) per 3-4 giorni prima dell'inizio dei test (ASTM, 2003).

4. SOLUZIONI E ORGANISMI TEST

4.1 Acqua

Per la preparazione dei controlli negativi, dei controlli positivi e per l'allestimento delle camere test è preferibile utilizzare acqua di mare naturale, prelevata da un'area lontana da impatti antropici, filtrata a 0,22 µm (FSW) e con salinità di 38 ‰. L'acqua impiegata per la preparazione della soluzione madre della sostanza tossica di riferimento deve essere acqua deionizzata o di purezza equivalente.

Può essere utilizzata un'acqua artificiale per escludere la presenza di contaminanti anche in traccia.

L'acqua marina artificiale è ottenuta sciogliendo una miscela commerciale di sali sintetici Instant Ocean® in acqua distillata così da ottenere una salinità pari a 38 ± 1 ‰ e un pH pari a $8 \pm 0,1$. Il sale e l'acqua vengono posti per 24 ore su un agitatore magnetico fino a completa solubilizzazione. Trascorse le 24 ore l'acqua ottenuta viene filtrata con filtro G/F Wathman con porosità 0,22 µm e viene subito utilizzata, oppure può essere conservata a 4°C al buio; in questo caso prima dell'impiego viene fatta areare per una notte intera.

4.2 Soluzioni

I reagenti utilizzati per la preparazione delle soluzioni di prova e di controllo devono essere di grado analitico. Le soluzioni del tossico di riferimento (controllo positivo), utilizzate per verificare la sensibilità degli organismi test sono preparate a partire da soluzioni madri (1g/L). Il tossico di riferimento comunemente utilizzato per il *M. insidiosum* è il nitrato di cadmio partendo da una soluzione madre di $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, (99,9 % purezza).

L'uso di una sostanza tossica di riferimento è inoltre necessario per valutare in condizioni standard il potere discriminante della specie test in presenza di un tossico. Ciò permette di ottenere informazioni sulla precisione del metodo e sulla riproducibilità intra-laboratorio, attraverso il confronto con apposite carte di controllo per garantire che venga stimato correttamente l'effetto misurato nel saggio.

5. STRUMENTAZIONI

In aggiunta alle usuali apparecchiature da laboratorio sono necessari:

- 5.1 camera termostata dotata di temporizzatore per l'illuminazione;
- 5.2 pompa a vuoto per la filtrazione dell'acqua;
- 5.3 sistema di filtrazione a bicchiere per il filtraggio dell'acqua di mare;
- 5.4 salinometro;
- 5.5 termometro;
- 5.6 pH-metro;
- 5.7 ossimetro;
- 5.8 bilancia analitica
- 5.9 pompa, aeratore e sistemata di tubicini, rubinetti e pipetta/pietra porosa per l'aerazione;
- 5.9 microscopio ottico (obiettivi 4x, 10x e 40x);
- 5.9 micropipette automatiche e/o manuali graduate da 0,10 mL a 5,00 mL;
- 5.10 stereomicroscopio per il controllo degli organismi, la conta del numero di sopravvissuti al termine del saggio;

6. MATERIALI

- 6.1 contenitori per il trasporto degli organismi
- 6.2 acquari o vasconi per l'acclimatazione degli organismi;
- 6.3 vassoi/vaschette per usi generali di laboratorio
- 6.4 carta bibula
- 6.5 setacci ASTM
- 6.6 vetrini orologio
- 6.7 pipette Pasteur in plastica da 2 mL;
- 6.8 pipette Pasteur in vetro 7 x 230 mm
- 6.9 beakers in vetro borosilicato da 50, 500 e 1000mL
- 6.10 parafilm
- 6.11 filtri in nitrocellulosa con porosità di 0,22- 0,45 µm;

6.12 palloncini in vetro borosilicato da 10, 50, 100 mL;

7. SOLUZIONI E ORGANISMI TEST

7.1 Selezione degli organismi test

Al momento dell'esecuzione del test, un'aliquota del materiale presente nell'acquario (o vascone) di stabulazione viene trasferita all'interno di una bacinella più piccola, contenente acqua di mare. Il sedimento viene mescolato leggermente in modo che gli animali escano dalle tane e si portino in superficie, dove possono essere raccolti. Gli organismi da utilizzare devono essere di età opportuna: gli individui più adatti sono quelli in età pre-riproduttiva, corrispondenti alle dimensioni di 2- 4 mm. Versando l'acqua di mare attraverso una serie di setacci (1000- 500- 250 µm) si potrà ottenere una selezione della taglia degli organismi. Questa operazione verrà ripetuta con il resto del sedimento fino a quando tutti gli animali fino a quando tutti gli animali saranno recuperati.

Per il test verranno utilizzati gli organismi trattenuti sul setaccio di 500 µm, che saranno raccolti in una vaschetta contenente acqua alla salinità del test (36 ± 2 ‰). La scelta degli organismi è indispensabile per ottenere individui di taglia omogenea con sensibilità simile, saranno eliminati organismi giovani e di grande taglia (adulti e femmine ovigere). Infatti, uno studio su *G. aequicauda* ha evidenziato che la taglia influisce sulla sensibilità, per cui gli adulti sono meno sensibili delle forme giovanili (Prato & Biantolino, 2005).

7.2 Fase preparatoria

Gli organismi sono prelevati con una pipetta Pasteur rovesciata (al fine di non danneggiare gli organismi). Inizialmente, gli animali raccolti uno alla volta vengono assortiti random all'interno di piccoli contenitori di vetro o di plastica da 30-50 mL contenenti acqua marina, in numero di 20 individui. E' opportuno non introdurre gli anfipodi contemporaneamente (nello stesso sub -campione), allo scopo di garantire la raccolta random. Per assicurare un buon margine di operatività i contenitori devono essere pari al numero di replicati previsti nel test, più un ulteriore 10-15%.

Occorre specificare che, se è stato necessario refrigerare le matrici da testare, queste devono essere portate alla temperatura scelta per la prova. E solo quando le matrici hanno raggiunto le condizioni indicate per il test, si potrà procedere all'inserimento delle camere test degli organismi. Analoga procedura vale per il gruppo degli organismi di controllo.

Inoltre, per i campioni di sedimento per i quali è prevista una valutazione ecotossicologica è necessario preventivamente privarli di ogni componente di origine antropica (plastica, vetro, metallo, ecc..) e del macrobenthos presente.

7.3 Allestimento del test

Per l'esecuzione dei test devono essere allestite almeno 3 repliche per ognuno dei seguenti campioni:

- il controllo positivo, rappresentato da concentrazioni crescenti della sostanza tossica di riferimento;
- il controllo negativo: con sola acqua di mare (naturale o artificiale);
- la matrice ambientale: acqua di mare, acqua interstiziale, elutriati, sedimenti o altre soluzioni da testare

7.4 Controllo positivo e Controllo negativo

Per il controllo positivo, il tossico comunemente usato per il saggio acuto con *M. insidiosum* è il nitrato di cadmio $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. Le soluzioni del tossico di riferimento sono preparate a partire da soluzioni madri commerciali o da composti solidi diluiti in acqua marina filtrata ed ossigenata. Le concentrazioni comunemente utilizzate ed idonee alla individuazione di un LC_{50} sono: 0 - 0,4- 0,8- 1,6- 3,6- 6,4 mg/L. Le soluzioni sono preparate in matracci da 500 ml, utilizzando acqua di mare filtrata (0,45 µm) al 36‰.

Il test prevede un'esposizione, della durata di 96h, di 20 organismi a ciascuna concentrazione e replica.

Il test viene condotto in *beakers* di vetro da 500mL, in condizioni di temperatura, salinità e luce controllate, all'interno di camere termostate.

Analoga procedura viene eseguita per il controllo negativo (0 mg/L), ossia il test condotto in sola acqua di mare filtrata (0,45 µm) al 36‰.

7.5 Saggio con campioni ambientali

Per i campioni acquosi di ambienti marini o salmastri (acqua della colonna ed effluenti di scarico) o i campioni derivati da sedimenti di ambienti marini o salmastri (acqua interstiziale ed elutriati), il giorno precedente la data di utilizzo, occorre effettuare il trasferimento a 4 °C delle aliquote necessarie per l'allestimento del saggio, per dare loro il tempo di scongelarsi ed evitare lunghe attese. Inoltre è consigliabile effettuare una "prova preliminare" con una sola concentrazione (campione tal quale) per verificare l'eventuale assenza di tossicità. Il risultato ottenuto testando il campione ambientale tal quale viene confrontato con il risultato del controllo utilizzando la statistica di base al fine di verificare se le due serie di dati abbia-



Figura 2. Esecuzione del test acuto con *M. insidiosum* per la valutazione della qualità di sedimenti marini tal quali

no la stessa varianza, condizione necessaria per poter poi applicare i test statistici più comuni per determinare se il risultato ottenuto con il campione si discosta significativamente da quanto ottenuto nel controllo. Nel caso in cui la prova preliminare abbia fatto registrare valori di mortalità statisticamente differenti rispetto al controllo negativo è necessario effettuare una seconda prova, questa volta allestendo il test con diluizioni del campione in esame. Ad esempio diluendo il campione del 75%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25% (v/v). La preparazione delle diluizioni dovrà essere svolta al momento dell'allestimento del test.

Gli organismi verranno prelevati uno alla volta e inseriti in numero di 20 in ogni *beaker*, facendo molta attenzione a non inserire acqua per non alterare la concentrazione del tossico

7.6 Allestimento delle camere test con sedimento tal quale

Il sedimento destinato ad indagine ecotossicologica non deve essere congelato, ma può essere conservato a 4 °C per 2 settimane prima dell'esecuzione dei test (Norton et al., 1999).

L'esecuzione del test richiede l'utilizzo di *beakers* da 1000 mL, nei quali si aggiungono 2-3 cm di sedimento tal quale, 700 mL di acqua di mare filtrata (Fig. 2). Gli anfipodi, precedentemente distribuiti nei piccoli contenitori (da 30-50mL.), sono trasferiti in numero di 20, per ogni camera test.

Le camere test devono essere coperte (con vetro d'orologio o pellicola), per limitare l'evaporazione, e mantenute in ambiente termostato a 20 °C.

7.7 Termine del test

Al termine del periodo di esposizione 96h per i campioni acquosi e 10 giorni di esposizione per i test con i sedimenti tal quali, si ispezionano le camere test. Gli organismi morti sono contati allo stereoscopio. Il criterio per la definizione della mortalità è l'assenza di movimento delle appendici per un periodo di osservazione superiore ai 20 secondi sotto stimolazione luminosa e meccanica. Inoltre gli individui che non si ritrovano più nella camera test (*missing*) sono anch'essi considerati morti. I risultati sono espressi come % di mortalità.

7.8 Analisi dei dati

Sulla base del numero di individui morti rinvenuti nelle repliche sia del campione esaminato e sia nel controllo negativo (sola acqua di mare) si calcola la percentuale di mortalità media, la deviazione standard e il coefficiente di variazione (CV%).

La mortalità è espressa come mortalità di Abbott (Finney 1971), ossia al netto della percentuale di mortalità osservata nel controllo negativo.

$$Abbott = \frac{X - Y}{100 - Y} \cdot 100;$$

dove: X = % di effetto nel campione testato;

Y = % di effetto nel controllo.

In tal modo si ottiene una normalizzazione delle percentuali di effetto dovute alla sostanza tossica o al campione ambientale testato rispetto al controllo negativo; Il test t ($p < 0,05$) è utilizzato per verificare le differenze statistiche tra gli effetti nei controlli e trattamenti negativi.

I valori ottenuti consentiranno di procedere al calcolo della percentuale di mortalità media (con la deviazione standard) delle repliche effettuate per ogni campione. Il campione sarà considerato tossico se differisce significativamente dalla mortalità del controllo (t-test; $p < 0,05$).

Il calcolo dell'LC₅₀ alle 96h viene effettuato con il metodo *Trimmed Spearman-Kärber Method* (TSK) (Hamilton et al., 1977) che fornisce valori mediani di efficacia con i limiti fiduciali al 95%.

7.9 Validità del test

I risultati dei saggi sono giudicati accettabili se al termine del periodo di esposizione la sopravvivenza degli organismi di controllo è $\leq 15\%$ (ASTM, 1992; US EPA, 1994). Nel caso in cui queste condizioni non siano rispettate è consigliabile ripetere la prova con altri esemplari.

La deviazione standard delle repliche di uno stesso campione non dovrebbe essere maggiore del 5%. Se ciò dovesse accadere, è possibile scartare la replica che si discosta maggiormente dalla media.

Inoltre i risultati di ciascun campione vengono considerati validi se il coefficiente di variazione (CV%) è compreso tra 20 e 30% (Environment Canada, 1990). Per il calcolo del CV% viene usata la seguente formula

$$CV\% = \frac{\text{Deviazione Standard}}{\text{media}} \cdot 100$$

7.10 Validità del test

Le carte di controllo permettono una valutazione e interpretazione dei risultati nel corso del tempo, eseguiti nelle stesse condizioni (stessa specie e stesse condizioni di laboratorio) e assicurare un range di valori normalmente osservati (Hayashi et al., 2011; Rotolo et al., 2021). Sono strumenti indispensabili per capire quanto una risposta possa essere considerata "normale", ossia quanto è confrontabile con quella normalmente riscontrata nei saggi dello stesso tipo effettuati in precedenza nello stesso laboratorio di prova con lo stesso protocollo metodologico (ASTM, 1993, 2003).

Nei laboratori IRSA di Taranto, nell'arco circa 20 anni di attività (dal 2005 a 2024), è stato possibile costruire una carta di controllo di riferimento ottenuta da un ampio data set di test di mortalità riferiti al controllo negativo 96h LC₅₀ relativi al controllo positivo, determinati a 96 ore.

I dati organizzati in carte di controllo di tipo *Shewhart* (ISO, 1991), hanno mostrato una mortalità media (%) nei controlli negativi ben al di sotto del limite di riferimento di $\leq 15\%$ con un basso livello di variabilità nel

tempo dovuto al fatto che il 94,2 % delle esecuzioni del test, rientrava nella media ± 2 SD.

La concentrazione letale (LC50) per il Cd(NO₃)₂ ha mostrato una media stabile di 1.20 ± 0.71 mg/L (96h). Le carte di controllo dimostrano che la metodologia è "sotto controllo" del laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

ANNICCHIARICO, C., BIANCOLINO, F., CARDELLICCHIO, N., DI LEO, A., GIANDOMENICO, S., & PRATO, E. 2007. Predicting toxicity in marine sediment in Taranto Gulf (Ionian Sea, Southern Italy) using sediment quality guidelines and a battery bioassay. *Ecotoxicology*, 16, 239–246.

ASTM, 1993. Standard guide for conducting 10-d static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods. ASTM Standards, E. 1367–92, Vol. 11.4. Philadelphia, PA; 1993. p. 1138–1164.

ASTM, 1994. Standard guide for designing biological tests with sediments. ASTM E1525: 22 pp.

ASTM 2003. Standard test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. Philadelphia, E1367–03 ASTM.

COSTA E., PIAZZA V., GAMBARDELLA C., MORESCO R., PRATO E., BIANCOLINO F., CASSIN D., BOTTER M., MAURIZIO D., D'ADAMO R., FABBROCINI A., FAIMALI M., GARAVENTA F. 2015. Ecotoxicological effects of sediments from Mar Piccolo, South Italy: toxicity testing with organisms from different trophic levels. *Environ Sci Pollut Res.* DOI 10.1007/s11356-015-5471-x

DAHL E., 1978. The Amphipod Functional Model and Its Bearing upon Systematics and Phylogeny. *Zoologica Scripta*, 6(3), 221–228.

FINNEY, D. J., 1971. Probit analysis, 3rd ed. Cambridge University Press, London. 333pp

GUERRA R., PASTERIS A., PONTI M., FABBRI D., BRUZZI L. 2007. Impact of dredging in a shallow coastal lagoon: Microtox (R) Basic Solid-Phase Test, trace metals and *Corophium* bioassay. *Environment International*, 33(4), 469–473.

HAYASHI M., DEARFIELD K., KASPER P., LOVELL D., MARTUS H.J., THYBAUD V., 2011-Compilation and use of genetic toxicity historical control data, *Mutat. Res.*, 723, 87–90.

INGERSOL C.G., 1995. Sediment tests. In: *Fundamentals Fundamentals of aquatic toxicology, effects, environmental fate and risk assessment* (Ed. Rand GM). Taylor & Francis, Washington D.C., USA 231–255pp.

ISO 8258. 1991. International organization for standardization ISO. Shewhart control charts.

KEVREKIDIS T. 2004. Population dynamics, growth and reproduction of *Corophium insidiosum* (Crustacea : Amphipoda) at low salinities in Monolimni lagoon (Evros Delta, North Aegean Sea). *Hydrobiologia*, 522(1-3), 117–132.

NARRACCI, M., CAVALLO, R. A., ACQUAVIVA, M. I., PRATO, E., & BIANCOLINO, F., 2009. A test battery approach for ecotoxicological characterization of Mar Piccolo sediments in Taranto (Ionian Sea, Southern Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, 148, 307–314.

NORTON B.L., LEWIS M.A., MAYER F.L., 1999). Storage Duration and Temperature and the Acute Toxicities of Estuarine Sediments to *Mysidopsis bahia* and *Leptocheirus plumulosus*. *Bull. Environ. Contam., Toxicol.*, 63: 157–166.

PRATO, E., & BIANCOLINO, F. 2005. *Gammarus aequicauda* (Crustacea: Amphipoda): a potential species test in marine sediment toxicity assessment. *Aquatic Ecosyst. Health and Management*, 8, 475–482.

PRATO, E., BIANCOLINO, F. 2006. *Monocorophium insidiosum* (Crustacea, Amphipoda) as a candidate species in sediment toxicity testing. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 77, 1–9.

PRATO, E., DI LEO, A., BIANCOLINO, F., CARDELLICCHIO, N., 2006. Sediment toxicity tests using two species of marine amphipods: *Gammarus aequicauda* and *Corophium insidiosum*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 76, 629–636.

PRATO, E., SCARDICCHIO, C., BIANCOLINO, F. 2008. Effects of temperature on the acute toxicity of cadmium to *Corophium insidiosum*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 136, 161–166.

PRATO, E., BIGONGIARI, N., BARCHIGIANI, C., BIANCOLINO, F. 2010. Comparison of amphipods *Corophium insidiosum* and *C. orientale* (Crustacea: Amphipoda) in sediment toxicity testing. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 45, 1461–1467.

PRATO, E., PARLAPIANO, I., BIANCOLINO, F. 2012. Evaluation of a bioassays battery for ecotoxicological screening of marine sediments from Ionian Sea (Mediterranean Sea, Southern Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, 184, 5225–5238.

PRATO, E., PARLAPIANO I., BIANCOLINO, F. 2015. Ecotoxicological evaluation of sediments by battery bioassays: application and comparison of two integrated classification systems. *Chemistry and Ecology*, 31(7), 661-678.

OLIVA M., MENNILLO E., BARBAGLIA M., MONNI G., TARDELLI F., CASU V., PRETTI C. (2018). The serpulid *Ficopomatus enigmaticus* (Fauvel, 1923) as candidate organisms for ecotoxicological assays in brackish and marine waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 148, 1096-1103.

ROTINI, A., GALLO, A., PARLAPIANO, I., BERDUCCI, M. T., BONI, R., TOSTI, E., PRATO, E., MAGGI, C., CICERO, A. M., MIGLIORE, L., MANFRA, L. 2018. Insights into the CuO nanoparticle ecotoxicity with suitable marine model species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147:852-860

ROTOLO R., VITIELLO V., PELLEGRINI D., CAROTENUTO Y., BUTTINO I., 2021. Historical control data in ecotoxicology: Eight years of tests with the copepod *Acartia tonsa*. *Environmental Pollution*, 28, 117468.

VOLPI GHIRARDINI A., PELLEGRINI D., 2001. Toxicity bioassays in water and sediment quality assessment of marine and transitional environments: Suggestions for the choice, set up, evaluation and application of methods. *Biologia Marina Mediterranea*, 8(2), 1-16.

Determinazione di acidi aloacetici in acque potabili mediante LC/MS-MS

a cura di

Lydia Balest, Pier Paolo Abis (*), Acquedotto Pugliese SpA, Bari

RIASSUNTO

E' stato sviluppato un metodo LC/MS-MS per la determinazione di acidi aloacetici (HAAs) in acque destinate a consumo umano, per i quali attualmente non si dispone di un metodo di prova ufficiale in cromatografia liquida. Il metodo, consente di determinare, senza pretrattamenti di estrazione e derivatizzazione sul campione, cinque composti in un campo di misura 3.6-100 µg/L ed è stato applicato al monitoraggio di routine delle acque distribuite, consentendo di effettuare monitoraggi e valutazioni sui processi in largo anticipo rispetto alle tempistiche dettate obbligatoriamente dalla legge.

SUMMARY

An LC/MS-MS method has been developed for the determination of haloacetic acids (HAAs) in water intended for human consumption, for which there is currently no official test method in liquid chromatography. The method allows the determination of five compounds in a measurement range of 3.6-100 µg/L, without extraction and derivatization pre-treatments on the sample, and has been applied to the routine monitoring of distributed water, allowing monitoring and evaluation of processes in well in advance of the deadlines required by law .

1. INTRODUZIONE

Gli acidi aloacetici sono tra i possibili sottoprodotti che si sviluppano nei processi di disinfezione durante i processi di clorazione e cloramminazione delle acque destinate a consumo umano. Il decreto 18 febbraio 2023, che recepisce la direttiva UE 2020/21843, introduce questo nuovo parametro tra i controlli obbligatori da parte del gestore idrico e disciplina il valore limite per la somma di 5 composti tra gli HAAs: l'acido monocloroacetico (MCAA), l'acido dicloroacetico (DCAA), l'acido tricloroacetico (TCCA), l'acido monobromoacetico (MBAA), l'acido dibromoacetico (DBAA) e l'acido tribromoacetico (TBAA). Ai sensi di tale decreto, la somma dei composti indicati deve essere inferiore a 60 µg/L, con un limite di quantificazione pari al 30% del valore di parametro. La gascromatografia (GC) è la tecnica fino ad oggi indicata per la quantificazione degli HAA nei metodi EPA negli Stati Uniti, ma le metodiche GC richiedono fasi di estrazione e derivatizzazione del campione e portano ad una bassa sensibilità nella quantificazione di alcuni analiti. Di contro, il metodo EPA 557, basato sulla cromatografia ionica-spettrometria di massa, richiede una linea strumentale specifica con una configurazione che non può essere utilizzata per la cromatografia in fase inversa quando lo strumento non viene utilizzato per l'analisi degli HAA e pertanto non è agevole nella operatività di un ente di controllo .

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente metodo ha l'obiettivo di determinare e quantificare simultaneamente cinque composti appartenenti alla categoria degli acidi aloacetici (HAAs) in matrici acquose destinate al consumo umano, ov-

vero acque sottoposte a processo di potabilizzazione, mediante determinazione in cromatografia liquida-spettrometria di massa LC/MS-MS.

Il metodo prevede una iniezione diretta dei campioni; una volta trasferito in una *vial* per auto campionatore in vetro ambrata del volume di 2 mL, il campione viene acidificato allo 0.1% di acido formico e addizionato di una quantità nota di una miscela di standard interni marcati. La concentrazione di ciascun analita nei campioni viene ricavata mediante regressione lineare ottenuta in fase di taratura del metodo con standard interno e con opportune soluzioni di riferimento degli analiti da quantificare. L'associazione del composto marcato all'analita è indicata in Tabella 1.

3. CAMPO DI APPLICAZIONE

La procedura di prova è applicabile alle acque sottoposte al processo di disinfezione con cloro o clorammina. Il campo di misura del metodo è $3.6 \div 100$ µg/L per ognuno degli analiti riportati in Tabella 1; concentrazioni superiori possono essere determinate previa diluizione del campione con acqua di rete esente dagli analiti di interesse e da cloro. Il limite di quantificazione è stato definito, per ogni analita, pari alla concentrazione del primo livello di taratura (0.7 µg/L).

4. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Il prelievo del campione deve essere effettuato, evitando gorgogliamenti, in *vial* in vetro scuro da 40 mL munito di tappo a vite con setto in teflon, in cui è stata precedentemente aggiunta una opportuna quantità di cloruro di ammonio in cristalli, riempiendo il conte-

* p.abis@aqp.it

Tabella 1. Analiti e standard interni marcati usati nella taratura

Analita	CAS number	Composto	ISTD
1	79-08-3	Bromoacetic acid (MBAA)	ISTD 1
2	5589-96-8	Bromochloroacetic acid (BCAA)	
3	79-11-8	Monochloroacetic acid (MCAA)	
4	631-64-1	Dibromoacetic acid (DBAA)	ISTD 2
5	79-43-6	Dichloroacetic acid (DCAA)	
6	76-03-9	Trichloroacetic acid (TCAA)	
ISTD 1	1839-15-2	Bromoacetic acid (MBAA) - 13C	
ISTD 2	57858-24-9	Monochloroacetic acid (MCAA) -13C2	

nitore completamente con la matrice da analizzare, evitando la formazione di bolle o sacche d'aria e chiudendo ermeticamente la *vial*, con la parte teflonata del setto rivolta all'interno. Dopo il prelievo, la *vial* va agitata per uniformarne il contenuto. I campioni in arrivo in laboratorio devono essere conservati in frigo ($2 \div 4^{\circ}\text{C}$) ed analizzati entro 24 ore dal prelievo.

5. INTERFERENZE

La presenza di cloro libero residuo nelle acque, proveniente da trattamenti di disinfezione, può alterare i risultati analitici in quanto il cloro può continuare a reagire nel campione; è necessario che i contenitori dove raccogliere i campioni contengano NH_4Cl (conservante) ad una concentrazione di 100 mg $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{L}$ nel campione. Si sconsiglia l'uso del tiosolfato in quanto può influenzare la forma e la sensibilità dei picchi, pertanto non è consigliabile utilizzarlo come conservante.

5.1 Interferenze durante l'analisi

Errori in eccesso possono essere indotti da effetti memoria dell'auto campionatore. In tal caso la contaminazione deve essere eliminata ottimizzando il tempo e la forza del solvente usato per il *purge* dell'auto-campionatore, da effettuarsi prima e dopo le analisi e/o analizzando ripetutamente bianchi fino alla totale scomparsa dei segnali attribuiti all'effetto memoria.

6. APPARECCHIATURE

- 6.1 Autocampionatore NEXERA SIL-40CX3 Shimadzu;
- 6.2 Spettrometro di massa SCIEX Triple Quad 7500 System - QTRAP Activated, munito di colonna analitica Luna Omega Polar C18 100 mm x2.1 mm 1.6 μm ;
- 6.3 *Vials* in vetro ambrato con tappo da 2 mL, munite di setto monouso in silicone rivestito in teflon;
- 6.4 Pipette tarate a volume variabile Gilson (2-10 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 1-5 mL, 1-10 mL).

7. REAGENTI

- 7.1 MTBE, utilizzato per la preparazione delle solu-

zioni intermedie degli HAAs;

- 7.2 Metanolo per LC/MS, utilizzato per la preparazione delle soluzioni di lavoro e di riferimento;
- 7.3 Acqua per LC/MS;
- 7.4 Acqua minerale, utilizzata per il bianco di analisi e per la preparazione delle soluzioni di riferimento;
- 7.5 Acido formico per LC/MS;
- 7.6 Ammonio cloruro puro, conservato in essiccatore a temperatura ambiente per almeno 48 h.

8. MATERIALI DI RIFERIMENTO

- 8.1 Soluzioni madre (1000 mg/L in MtBE). Vengono preparate singolarmente, a partire dalle polveri singole dei composti puri o possono essere ottenuti commercialmente a queste concentrazioni;
- 8.2 Soluzione 1: miscela contenente i cinque composti alla concentrazione 1 mg/L HAA in acqua. La soluzione viene preparata dalla soluzione a 1000 mg/L;
- 8.3 Soluzione 2: miscela contenente i cinque composti alla concentrazione di 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ HAA in acqua; Se necessario, possono essere realizzate soluzioni intermedie;
- 8.4 Soluzione ISTD 1: ottenere dalle polveri o da una soluzione commerciale, una miscela dei due standard marcati isotopicamente ad un livello di concentrazione di 1000 mg/L in MtBE);
- 8.5 Soluzione ISTD 2: a partire dalla soluzione ISTD 1 preparare una soluzione contenente i due ISTD ad un livello di concentrazione di 0.5 mg/L in acqua.

9. METODO

9.1 Preparazione del campione

Un' aliquota di campione di 1 mL viene trasferita in una *vial* di vetro ambrata da 2 mL per autocampionatore del tipo Nexera e qui addizionata mediante micropipetta tarata di una aliquota fissa (15 μL) di acido formico per LC/MS (7.4) e di 30 μL di una miscela di standard interni marcati (8.5). Le *vials* chiuse vengo-

Tabella 2. Gradiente HPCL

Tempo (min)	Flusso (ml/min)	Conc. A %	Conc. B %
1.32	0.20	99.9	0.1
3.97	0.20	99.9	0.1
6.62	0.20	95.0	5.0
9.92	0.25	5.0	95.0
10.0	0.25	5.0	95.0
14.7	0.25	99.9	0.1

Tabella 3. Principali parametri spettrometrici

Source temperature	200 °C
Source voltage	2000 V
Ion source gas 1	50 psi
Ion source gas 2	60 psi
Curtain gas	40 psi
CAD gas	9 psi

Tabella 4. Transizioni Monitorate in MRM e parametri di acquisizione

Composto	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
DCAA	83	35	30	-10	-20	-15
DCAA	85	37	30	-10	-20	-15
MBAA	139	81	50	-10	-18	-15
MBAA	137	79	50	-10	-18	-15
MCAA	93	35	50	-10	-20	-15
MCAA	95	37	50	-10	-22	-15
DBAA	217	81	50	-10	-34	-15
DBAA	215	79	50	-10	-34	-15
TCAA	117	35	50	-10	-18	-15
TCAA	119	37	50	-10	-18	-15
MCAA ISTD	94	35	50	-10	-20	-15
MBAA ISTD	138	79	50	-10	-16	-15

no inserite nel portacampioni refrigerato da cui vengono iniettati 5 µL di campione. La sequenza da sottoporre per le analisi strumentale di routine è sempre costituita da: a) un Bianco, costituito da acqua di rete addizionato di ISTD (8.5) all'inizio e alla fine della serie analitica per valutare la presenza di possibile effetto memoria; B) ICV samples (10.2) ovvero soluzioni di riferimento a c = 6 e 50 µg/L all'inizio della serie analitica; campioni di prova, e infine 2 LCS samples (10.3) ovvero due soluzioni di riferimento in replicato a c = 6 µg/L alla fine della serie analitica.

9.2 Analisi strumentale

L'analisi strumentale viene effettuata mediante cromatografia liquida interfacciata a spettrometria di massa con interfaccia del tipo *Electrospray* (ESI) operante in modalità di ionizzazione negativa, su un sistema Spettrometro di massa *SCIEX Triple Quad 7500 System - QTRAP*. I principali parametri cromatografici e di acquisizione in spettrometria di massa sono riportati nelle Tabelle 2 - 4.

La separazione degli analiti è effettuata mediante una colonna analitica *Luna Omega Polar C18* 100 mm x 2.1 mm 1.6 µm. Le fasi di eluenti utilizzate in gradiente per la separazione degli analiti sono: A. Acqua + 0.05% di acido formico; B. Metanolo + 0.05% di acido formico; il gradiente utilizzato per la separazione degli analiti è riportato in Tabella 3. Il volume di campione iniettato è 5 µL.

9.3 Sensibilità e linearità

La taratura viene eseguita per ciascun analita su sei livelli di concentrazione, considerando la compensazione degli standard interni secondo le associazioni

indicate in Tabella 2. Le concentrazioni degli analiti per ogni livello di taratura sono: 3.6, 6, 10, 30, 50, 100 µg/L. Le rette di taratura (Figure 1-5) mostrano una linearità del *range* esplorato espressa da un coefficiente di determinazione $r^2 \geq 0,99$ ed è stato verificato che la migliore regressione possibile è lineare, calcolata con il metodo dei minimi quadrati. Cinque composti sono determinati con un LOQ pari a 3.6 µg/L, che garantisce di rispettare un LOQ pari al 30% del valore parametrico per la somma degli acidi aloacetici (60 µg/L) previsto dal decreto 18/23.

9.4 Accuratezza e Riproducibilità

L'accuratezza e la ripetibilità dei risultati sono state verificate per ogni analita su una sequenza di dodici repliche di analisi di soluzioni di riferimento acquisite in condizioni di ripetibilità stretta, al livello di concentrazione dell'LOQ (3.6 µg/L). Il software *Sciex OS 3.0* fornisce il valore di accuratezza in concentrazione (µg/L) con due cifre significative. La riproducibilità delle misurazioni è stata stimata calcolando la deviazione standard relativa percentuale (RSD%).

Nelle Figure 6-10 si riportano i valori di accuratezza e CV% ottenuti.

10. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il risultato finale viene prodotto direttamente dal software di gestione dello strumento. Per singolo analita il risultato viene espresso in µg/L con l'approssimazione ad una cifra decimale; ai fini dell'ottemperanza al valore parametrico di legge previsto dal DLgs. 18/23 "acidi aloacetici", inteso come somma dei cinque analiti, il risultato finale si ottiene dalla somma

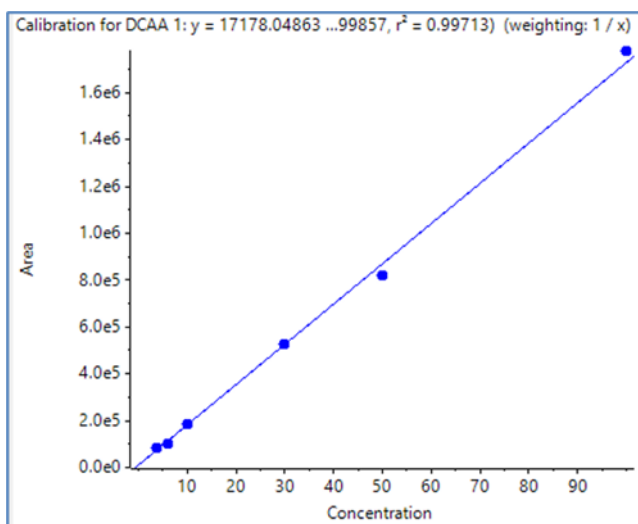


Figura 1. Retta di taratura per l'analita DCAA

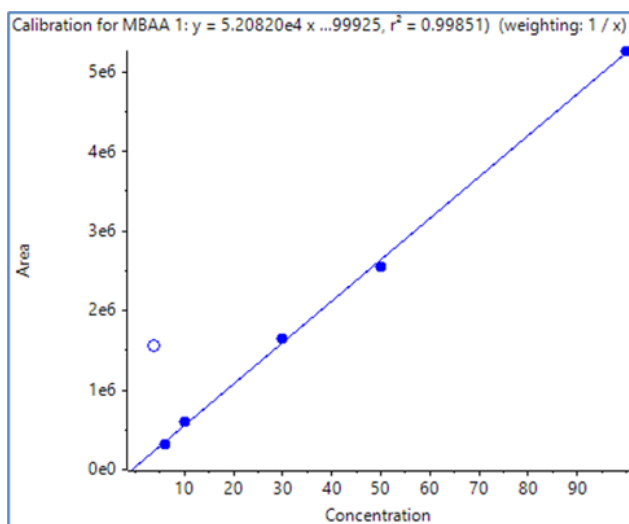


Figura 2. Retta di taratura per l'analita MBAA

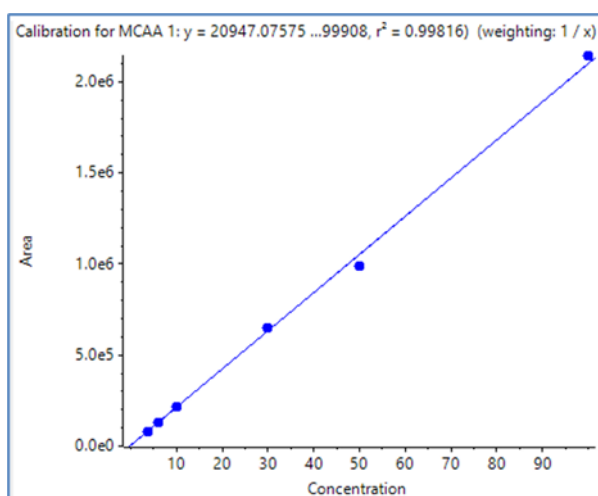


Figura 3. Retta di taratura per l'analita MCAA

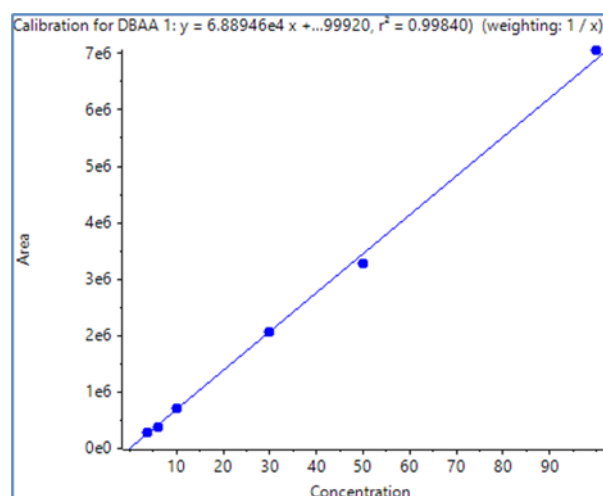


Figura 4. Retta di taratura per l'analita DBAA

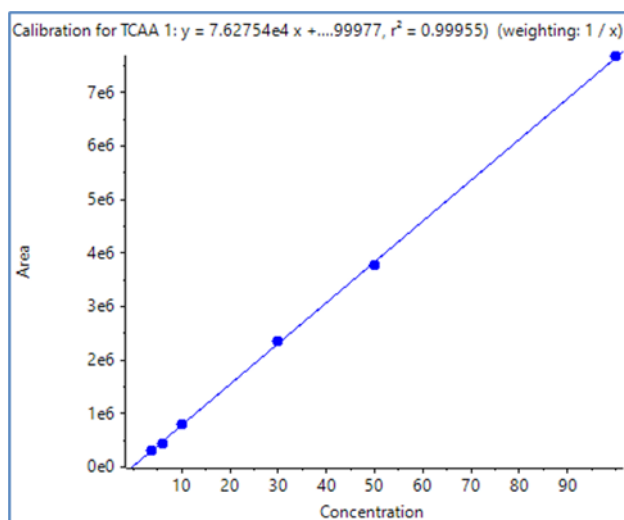


Figura 5. Retta di taratura per l'analita TCAA

delle concentrazioni dei composti specifici e viene espresso in $\mu\text{g/L}$ con l'approssimazione al numero intero più vicino.

L'impiego della miscela di ISTD come standard interni, aggiunti in concentrazione nota al bianco, alle soluzioni di taratura e ai campioni consente al software

strumentale di correggere automaticamente le variazioni della risposta strumentale utilizzando il rapporto delle aree analita/standard interno (R , *response*) per ricavare la concentrazione dell'analita dalla retta di taratura.

11. CONCLUSIONI

Il metodo consente di determinare in tempi brevi cinque acidi aloacetici in un campo di misura 3.6–100 $\mu\text{g/L}$, senza necessità di estrazione e derivatizzazione del campione come previsto dai metodi gascromatografici.

La precisione e robustezza del metodo ha consentito di effettuare monitoraggi delle acque potabilizzate distribuite, consentendo di effettuare controlli sui sottoprodotti della disinfezione in anticipo rispetto a quanto previsto dalla normativa vigente sulle acque potabili (D.L.gs.vo 18/2023).

RIFERIMENTI

DECRETO LEGISLATIVO 23 febbraio 2023, n.18 - Qualità delle acque destinate al consumo umano
EU Directive 2020/2184



Figura 6. Accuratezza e riproducibilità per l'analita DCAA

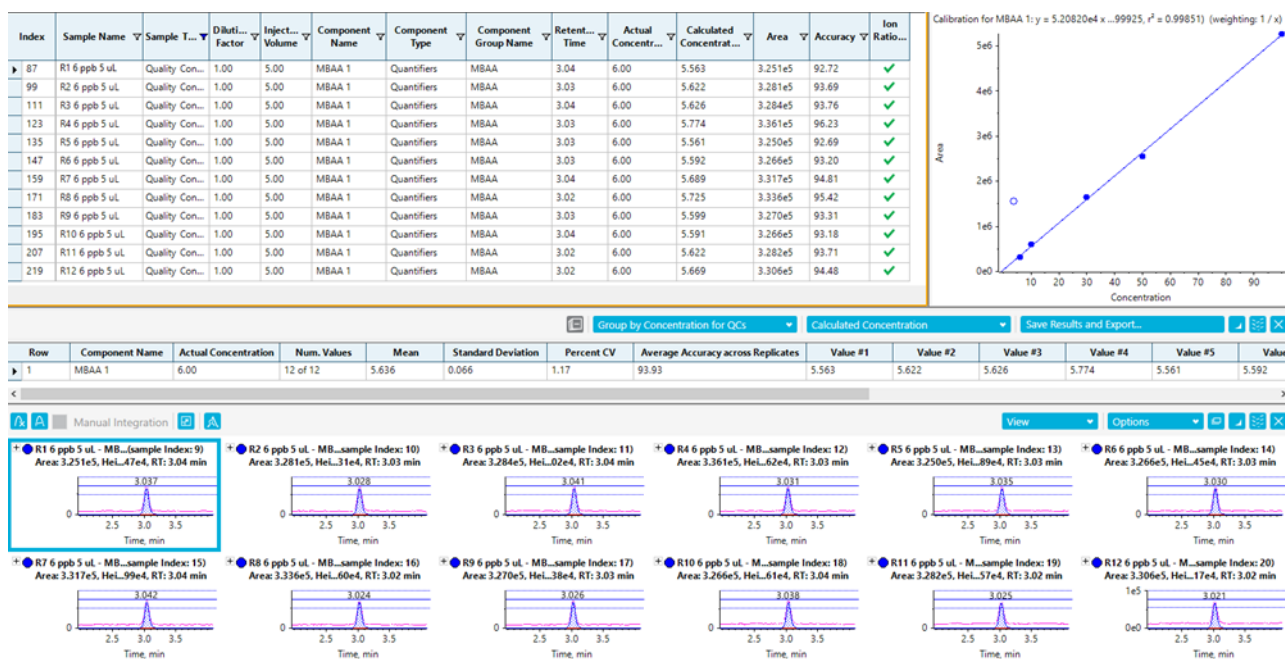


Figura 7. Accuratezza e riproducibilità per l'analita MBAA

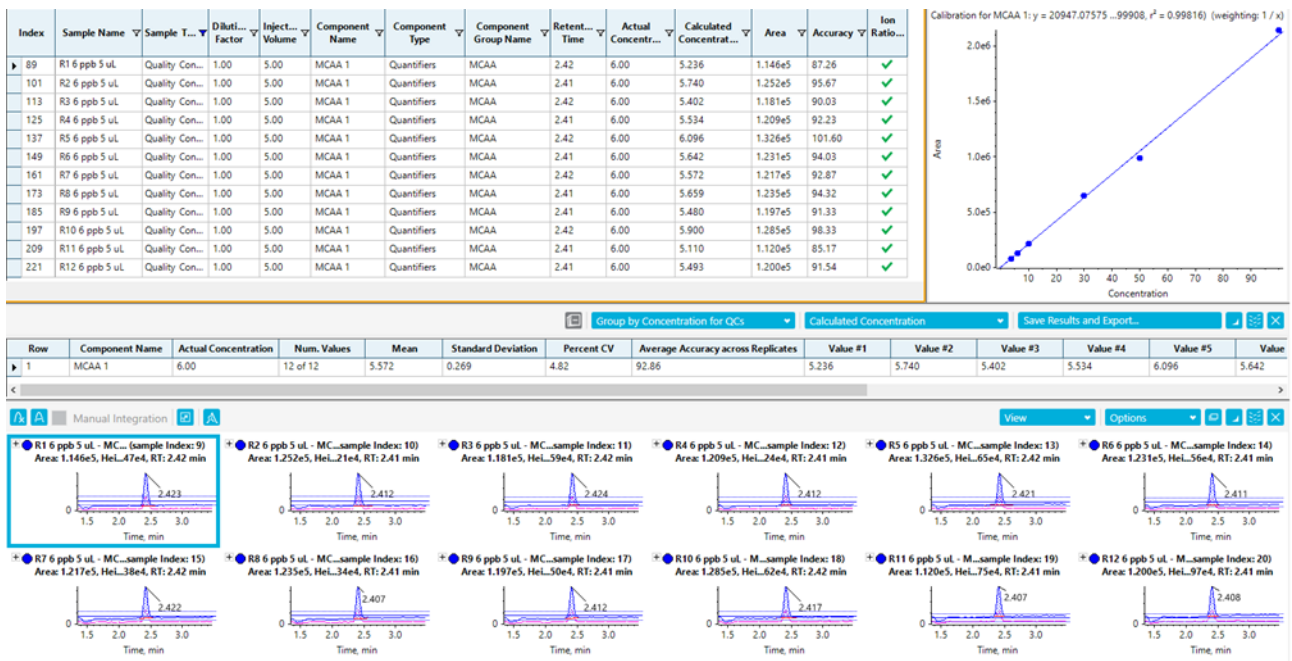


Figura 8. Accuratezza e riproducibilità per l'analita MCAA



Figura 9. Accuratezza e riproducibilità per l'analita DBAA

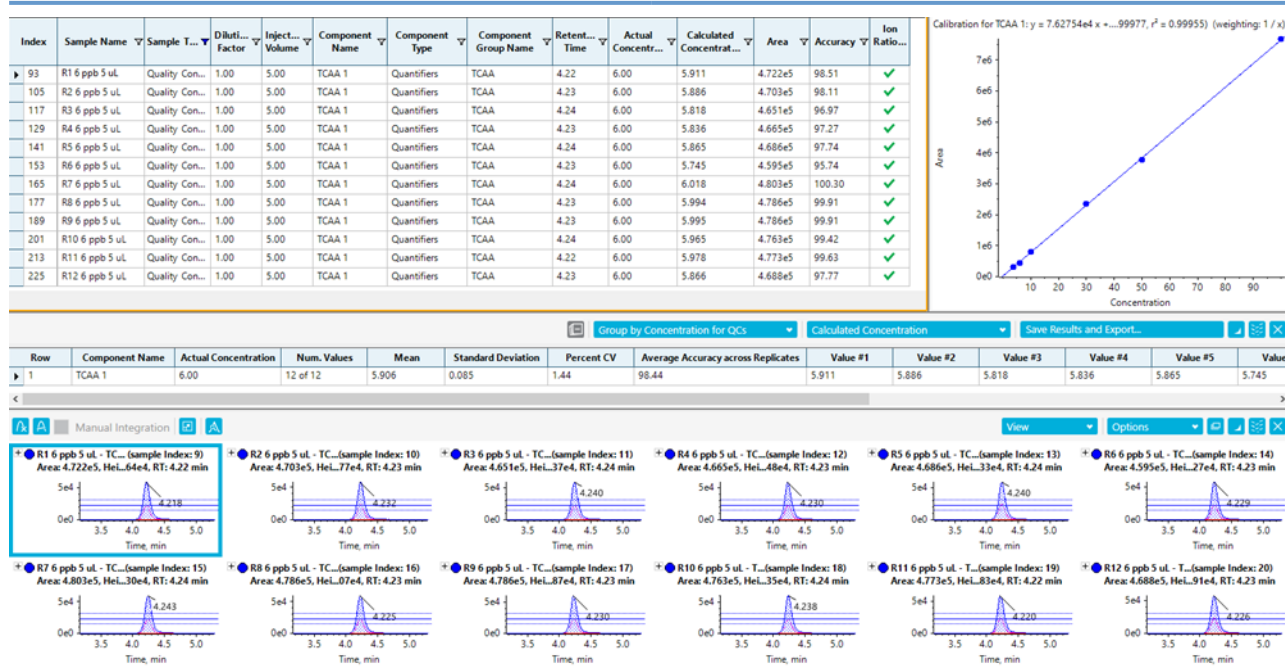


Figura 10. Accuratezza e riproducibilità per l'analita TCAA

Determinazione di nitrosammine in acque potabili mediante LC/MS-MS

a cura di

Lydia Balest, Pier Paolo Abis (*), *Acquedotto Pugliese SpA, Bari*

RIASSUNTO

E' stato sviluppato un metodo in iniezione diretta in LC/MS-MS per la determinazione di nitrosammine in acque potabili. Il metodo consente di determinare tredici nitrosammine in un campo di misura 25-500 ng/L, senza richiedere fasi di estrazione in fase solida, minimizzando le potenziali fonti di interferenze ambientali sulla determinazione quantitativa degli analiti. Il metodo, rapido e robusto, è utile al controllo di qualità delle acque potabili, sia per il monitoraggio dei possibili sottoprodotti di disinfezione che per il monitoraggio di eventuali contaminazioni delle acque potabili da eventuali rilasci da materiali a contatto.

SUMMARY

A direct injection LC/MS-MS method has been developed for the determination of nitrosamines in drinking water. The method allows the determination of thirteen nitrosamines in a measurement range of 25-100 ng/L without solid phase extraction steps, minimizing potential sources of environmental interference on the quantitative determination of the analytes. The method, rapid and robust, is useful for the quality control of drinking water, both for monitoring possible disinfection by-products and for monitoring any contamination of drinking water from any releases from materials in contact.

1. INTRODUZIONE

La nuova Direttiva (UE) 2020/2184, recepita in Italia con il D.lgs. 18/2023, ha introdotto rilevanti novità nella tutela della salubrità e sicurezza delle acque destinate al consumo umano, con un approccio basato sull'analisi di rischio al fine di prevenire e identificare tempestivamente l'eventuale presenza di contaminanti che possano costituire un rischio per la salute dei consumatori. In particolare, in base alle linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità sui pericoli sanitari derivanti dell'esposizione ai sottoprodotti della disinfezione, il decreto prevede che il gestore idrico controlli i possibili sottoprodotti che si possono formare durante i processi di disinfezione delle acque distribuite. Tra i possibili sottoprodotti di disinfezione in acque trattate con cloramine e, seppur in misura minore con cloro, si annoverano le nitrosammine, composti dalla forma chimica R1NNOR2, caratterizzate da un grado di cancerogenicità variabile a seconda della loro struttura molecolare. Ad esempio, la nitrosodietilammina (NDEA) è la sostanza cancerogena più potente tra le nitrosammine, mentre la N-nitrosodifenilammina (NDPhA) è 15.000 volte meno potente (Commissione europea, 2007). La N-nitrosodimetilammina (NDMA) nelle acque potabili può derivare anche dal contatto con materiali usati nelle reti acquedottistiche nella cui sintesi interviene la dimetilammina (DMA). Inoltre, la NDMA è presente in alcuni pesticidi tecnici e commerciali (Pancholy, 1978), utilizzati in agricoltura, aventi una formulazione a base di DMA: bromacile, benazolina, 2,4-D, dicamba, MCPA e mecoprop (OMS, 2002).

Nonostante il crescente interesse per questa categoria di composti, non vi sono limiti parametrici specifici

per le nitrosammine come per altri sottoprodotti come i trihalometani o acidi aloacetici; lo Stato della California ha stabilito un livello di azione temporaneo di 20 ng/L per l'NDMA nell'acqua potabile [1].

Il metodo ufficiale per le Nitrosammine (EPA 521) prevede una estrazione in fase solida (*solid phase extraction*, SPE) e una determinazione gascromatografica per la determinazione di sette nitrosammine. In questo lavoro si è sviluppata un metodo che consente di determinare simultaneamente 13 composti mediante iniezione diretta del campione, senza alcun pretrattamento, accorciando i tempi di analisi e minimizzando l'uso di solventi.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo consente la determinazione simultanea di tredici differenti nitrosammine, in iniezione diretta utilizzando cromatografia liquida interfacciata a spettrometria di massa utilizzando una ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI) in polarità di ionizzazione positiva. Il raggiungendo di livelli di LOQ compresi tra 25 - 100 ng/L varia a seconda del composto (Tabella 1) ed in funzione delle caratteristiche chimico fisiche del composto e/o del rumore legato a contaminazioni presenti nei materiali di laboratorio.

3. CAMPO DI APPLICAZIONE

La procedura di prova è applicabile alle acque sottoposte al processo di disinfezione con cloro o cloramina. Il campo di misura del metodo è 25 ÷ 500 ng/L per ognuno degli analiti riportati in Tabella 1; concentrazioni superiori possono essere determinate previa diluizione del campione con acqua di rete esente da

* p.abis@aqp.it

Tabella 1. Elenco nitrosammine e valori di LOQ

Parametro	Acronimo	CAS	Limite di quantificazione
N-Nitrosodimethylamine	NDMA	62-75-9	25 ng/L
N-nitrosomorpholine	NMOR	59-89-2	25 ng/L
N-Nitrosomethylethylamine	NMEA	10595-95-6	25 ng/L
N-Nitroso- N-methyl-4-aminobutyric acid	NMBA	61445-55-4	25 ng/L
N-nitrosopyrrolidine	NPYR	930-55-2	25 ng/L
N-Nitrosodiethylamine	NDEA	55-18-5	25 ng/L
N-nitrosopiperidine	NPIP	100-75-4	25 ng/L
N-Nitrosoethylisopropylamine	NEIPA	16339-04-1	100 ng/L
N-Nitrosodiisopropylamine	NDIPA	601-77-4	25 ng/L
N-Nitrosodipropylamine	NDPA	621-64-7	25 ng/L
N-Nitrosomethylphenylamine	NMPA	614-00-6	25 ng/L
N-Nitrosodiphenylamine	NDPhA	86-30-6	25 ng/L
N-Nitrosodibenzylamine	NDBzA	5336-53-8	25 ng/L

gli analiti di interesse e da cloro. Il limite di quantificazione è stato definito, per ogni analita, pari alla concentrazione del primo livello di taratura (25 ng/L; per il solo analita NEIPA 100 ng/L). Per la quantificazione degli analiti NDMA e NDPA sono stati utilizzati gli standard interni deuterati, rispettivamente: N-Nitrosodimethylamine-D6 (NDMA-d6) e N-Nitrosodipropylamine-D16 (NDPA -d16).

4. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Il campionamento deve essere effettuato dopo aver fatto scorrere l'acqua dal punto di presa finché la temperatura non si è stabilizzata (di solito circa 2 minuti), evitando tubi in plastica o gomma, guarnizioni e altre parti che potrebbero rilasciare analiti interferenti nel campione. Prima di procedere alla raccolta del campione occorre aggiungere in una *vial* del volume di 50 mL di vetro ambrato, 5 mg di tiosolfato di sodio (7.5) e avere cura che durante la raccolta il campione non fuoriesca, disperdendo il tiosolfato. I campioni devono essere sigillati dal momento della raccolta fino all'analisi di laboratorio. La temperatura dei campioni non deve superare i 10°C durante tutte le fasi di prelievo, consegna e stoccaggio in laboratorio.

5. INTERFERENZE

L'analisi di bianco dei reagenti usati in laboratorio consente di verificare la presenza di possibili contaminanti che possano interferire nella determinazione.

Le nitrosammine, infatti, possono essere presenti in tracce nei prodotti in gomma, pertanto, possibili interferenze vengono riscontrate effettuando iniezioni ripetute da *vials* per autocampionatore con setti in PTFE.

Inoltre, può verificarsi un effetto memoria del sistema di analisi quando un campione contenente basse concentrazioni degli analiti viene analizzato immediatamente dopo un campione contenente un contenuto relativamente elevato di composti: in tal caso è necessario effettuare l'analisi di un bianco di laboratorio dopo l'analisi del campione al fine di garantire valori accurati per il campione successivo.

6. APPARECCHIATURE

- 6.1 Autocampionatore NEXERA SIL-40CX3 Shimadzu;
- 6.2 Spettrometro di massa SCIEX Triple Quad 7500 System - QTRAP Activated;
- 6.3 *Vials* in vetro silanizzato con tappo da 2 mL, munite di setto monouso in silicone rivestito in teflon
- 6.4 Pipette tarate a volume variabile Gilson (2-10 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL, 1-5 mL, 1-10 mL)

7. REAGENTI

- 7.1 Metanolo per LC/MS;
- 7.2 Acqua per LC-MS;
- 7.3 Acido formico per LC/MS;

7.4 Tiosolfato di sodio in polvere ;

8. MATERIALI DI RIFERIMENTO

- 8.1 Soluzioni madre (1000 mg/L in MtBE). Vengono preparate singolarmente, a partire dalle polveri singole dei composti puri o possono essere ottenuti commercialmente a queste concentrazioni;
- 8.2 Soluzione di lavoro: miscela contenente i tredici composti alla concentrazione 1 mg/L in metanolo;
- 8.3 Soluzioni di taratura: miscela contenente i tredici composti alle concentrazioni rispettivamente di 25, 50, 100, 250, 500 250 ng/L in acqua;
- 8.4 Soluzione degli standard interni: dalle polveri o da una soluzione commerciale, una miscela dei due standard deuterati (Tabella 1) ad un livello di concentrazione di 1000 mg/L;
- 8.5 Soluzione mix contenente i due standard interni: a partire dalla soluzione ISTD 1 preparare una soluzione contenente i due ISTD ad un livello di concentrazione di 0.5 mg/L in acqua.

9. METODO

9.1 Preparazione del campione

Un' aliquota di campione di 1 mL viene trasferita in una *vial* di vetro silanizzato da 2 mL per auto campionatore e addizionata dello 0.1% v/v di acido formico (7.4) e di un volume della miscela di standard interni deuterati (8.5) tale da realizzare una concentrazione finale di standard interni di 200 ng/L in ciascuna delle soluzioni di riferimento per la costruzione delle rette di taratura.

9.2 Analisi strumentale

L'analisi strumentale viene effettuata mediante cromatografia liquida interfacciata a spettrometria di massa con interfaccia del tipo *Atmospheric Pressure Chemical Ionization* (APCI) in ionizzazione positiva, su un sistema Spettrometro di massa SCIEX Triple Quad 7500 System – QTRAP operante in modalità di acquisizione *multiple reaction monitoring* (MrM). I principali parametri cromatografici e di acquisizione in spettrometria di massa sono riportati nelle Tabelle 2-5.

La separazione degli analiti è effettuata mediante una colonna analitica Luna Omega Polar C18 100 mm x2.1 mm 1.6 µm. Le fasi di eluenti utilizzate in gradiente per la separazione degli analiti sono: A. Acqua + 0.05% di acido formico; B. Metanolo + 0.05% di acido formico; il gradiente utilizzato per la separazione degli analiti è riportato in Tabella 3. Il volume di campione iniettato è 100 µL.

9.3 Sensibilità e linearità

La taratura è stata eseguita per ciascun analita su cinque livelli di concentrazione, considerando la compensazione degli standard interni secondo le associazioni indicate in Tabella 3. Le concentrazioni degli

Tabella 2. Principali condizioni cromatografiche

Fase mobile B	Metanolo + 0.1% Acido Formico
Colonna Analitica	Kinetex F5 - 100 mm x 4.6 mm 100 Å 2.6 µm
Trap Column	Luna Omega PS C18 - 100 mm x 3 mm 3 µm
Volume di iniezione	100 µL
Flusso	0.7 mL/min
Temperatura colonna	40 °C

Tabella 3. Gradiente HPLC

Tempo (min)	Flusso (ml/min)	Conc A %	Conc B %
1.5	0.7	90	10
7.0	0.7	90	10
7.1	0.7	40	60
10.0	0.7	10	90
10.1	0.7	10	90
16.0	0.7	90	10

Tabella 4. Principali parametri spettrometrici

Sorgente	APCI
Polarità	Positiva
Ion source gas 1	30 psi
Curtain gas	40 psi
Source temperature	300 °C
Nebulizer current	1 µA
Modalità acquisizione	MrM

analiti per ogni livello di taratura sono: 25, 50, 100, 250, 500 ng/L. E' stata riscontrata una buona linearità (pesata 1/x): nel campo di misura esplorato si sono ottenuti valori di R² ≥ 0.99.

9.4 Accuratezza e riproducibilità

L'accuratezza della misura ottenuta iniettando soluzioni di riferimento ai cinque livelli di taratura è stata calcolata mediante il *software* di gestione dello spettrometro di massa "Sciex OS 3.0" e viene espressa con due cifre significative in Tabella 6. Il criterio di accettabilità dei risultati è stato un valore non superiore al 25% di accuratezza; Per il solo analita NEIPA si è riscontrato un valore di accuratezza non accettabile ai livelli di concentrazione 25 ng/L e 50 ng/L a causa di una interferenza ambientale del sistema di analisi (Figura 1) che porta ad un LOQ di 100 ng/L (tabella 7) per la quantificazione di questo analita.

La riproducibilità della misura è stata calcolata come deviazione standard relativa percentuale (RSD%) sul valore di concentrazione letto su 12 repliche di analisi

Tabella 5. Principali parametri relativi alla acquisizione in MrM mode

Analita	Ione	Tempo di ritenzione (min)	Q1 mass	Q3 mass	EP	CE	CXP	QOD
NDMA	Quantifier	2.49	75.1	43	10	18	5	60
NDMA	Qualifier	2.49	75.1	58	10	16	7	50
IS NDMA-d6	IS NDMA-d6	2.49	81.1	46	10	18	5	60
NMOR	Quantifier	3.5	117.1	86	10	20	11	50
NMOR	Qualifier	3.5	117.1	87	10	18	15	10
NPYR	Quantifier	4.28	101.1	55	10	23	6	50
NPYR	Qualifier	4.28	101.1	59	10	29	9	40
NMEA	Quantifier	4.44	89.1	61	10	16	10	40
NMEA	Qualifier	4.44	89.1	43	10	18	20	40
NMBA	Quantifier	4.37	147.1	117	10	10	15	10
NMBA	Qualifier	4.37	147.1	86.9	10	14	10	10
NDEA	Quantifier	6.67	103.1	75	10	15	9	40
NDEA	Qualifier	6.67	103.1	47	10	22	8	40
NPIP	Quantifier	6.96	115.1	41	10	30	19	50
NPIP	Qualifier	6.96	115.1	69	10	21	8	60
NEIPA	Quantifier	8.07	117.1	75	10	14	9	40
NEIPA	Qualifier	8.07	117.1	47	10	23	7	30
NDIPA	Quantifier	9.11	131.1	47	10	21	7	30
NDIPA	Qualifier	9.11	131.1	89	10	14	10	30
IS NDPA-d14	IS NDPA-d14	9.38	145.1	97	10	14	10	40
NDPA	Quantifier	9.38	131.1	89	10	14	10	40
NDPA	Qualifier	9.38	131.1	43	10	22	7	40
NMPA	Quantifier	9.3	108.1	93	10	27	11	50
NMPA	Qualifier	9.3	108.1	66	10	41	8	50
NDPhA	Quantifier	9.88	170.1	93	10	37	12	70
NDPhA	Qualifier	9.88	170.1	92	10	29	12	70
NDBzA	Quantifier	9.94	227.1	91	10	35	11	30
NDBzA	Qualifier	9.94	227.1	65	10	64	11	30

effettuate su una soluzione di riferimento alla concentrazione di 100 ng/L.

10. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

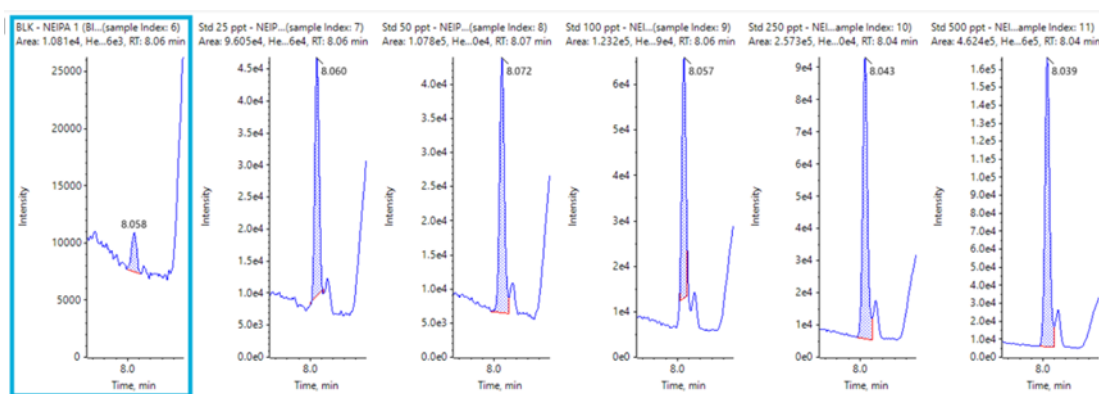
Il risultato finale viene prodotto direttamente dal software di gestione dello strumento. Per singolo analita il risultato viene espresso in ng/L con l'approssimazione ad una cifra decimale.

11. CONCLUSIONI

Il metodo consente di effettuare determinazioni quantitative di tredici nitrosammine su campioni di acqua potabile con un breve tempo di analisi e offrendo una alta sensibilità, consentendo una analisi accurata e quantitativa dei possibili sottoprodotti della disinfezione o di eventuali contaminanti rilasciati da materiali gommosi che possano entrare in contatto con l'acqua potabile.

Tabella 6. Valori di accuratezza calcolati per gli analiti ai livelli di taratura

Analita	25 ng/L	50 ng/L	100 ng/L	250 ng/L	500 ng/L
NDMA	95.89	90.29	110.54	108.41	91.85
NMOR	81.22	86.94	101.92	103.00	99.35
NPYR	100.86	91.43	107.28	102.14	98.29
NMEA	96.46	94.78	107.06	104.88	96.85
NMBA	97.74	98.75	104.58	99.21	99.71
NDEA	107.45	95.78	98.25	96.38	102.23
NPIP	110.99	92.49	98.30	95.36	102.86
NEIPA	387.41	217.38	124.25	103.79	93.25
NDIPA	99.22	99.08	101.12	101.37	99.22
NDPA	116.78	87.25	96.48	96.70	102.79
NMPA	95.26	95.60	109.61	101.54	97.98
NDPhA	100.78	104.19	94.38	100.10	100.63
NDBzA	107.46	98.03	96.95	94.24	103.31

**Figura 1.** Interferenza ambientale presente nel bianco di laboratorio per l'analita NEIPA**Tabella 7.** Valori di riproducibilità calcolati per gli analiti a 100 ng/L

Analita	Valore medio letto per 100 ng/L	RSD	CV%
NDMA	103.04	11.60	11.25
NMOR	108.81	3.74	3.44
NPYR	101.90	9.12	8.95
NMEA	106.15	8.36	7.88
NMBA	98.52	2.13	2.16
NDEA	80.38	2.92	3.64
NPIP	89.08	3.66	4.11
NEIPA	98.85	2.57	2.72
NDIPA	105.06	5.04	5.09
NDPA	77.50	1.33	1.71
NMPA	81.33	6.10	7.50
NDPhA	120.89	1.74	1.74
NDBzA	122.97	2.10	1.71

RIFERIMENTI

DECRETO LEGISLATIVO 23 febbraio 2023, n.18 - Qualità delle acque destinate al consumo umano

Mitch W.A., Sedlak D.L. (2001): "Formation of N-Nitrosodimethylamine (NDMA) from Dimethylamine during Chlorination", Environ. Sci. Technol., 36: 588-595

Valentine R.L. et al. (2005): "Factors Affecting the Formation of NDMA in Water and Occurrence", American Water Works Association Research Foundation

Wilczak, A., et al, "Formation of NDMA in Chloraminated Water Coagulated with Dadmac Cationic Polymer", J. AWWA, 95 (2003) 94-106.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2008): N-Nitrosodimethylamine in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO, Geneva

Il valore dell'acqua

Quando si parla di oro blu, dell'acqua viene raccomandato l'utilizzo responsabile e focalizzata la disponibilità crescente. Questa disponibilità oggi si esprime a volte in modo violento, le cosiddette bombe di acqua.

Due facce della stessa medaglia: mancanze ed eccessi della stessa preziosa sostanza, che ci obbligano a riflettere sulla mancata capacità dell'uomo a convogliare in misura equilibrata le risorse naturali.

Ora però giunge un nuovo allarme: le bombe d'acqua non sono sufficienti, proprio per la loro disomogenea distribuzione nel tempo e nello spazio, per garantire all'agricoltura la necessaria contribuzione alle risorse alimentari.

Così in Svizzera, un paese a noi così vicino, portano con gli elicotteri l'acqua ai campi aridi ed in Austria e Germania i tempi della vendemmia sono stati anticipati proprio per l'aridità. Il problema è comunque planetario: in Argentina della caduta del PIL è responsabilizzata la ridotta produzione agricola correlata alla siccità, in Australia si sta attraversando una crisi idrica senza precedenti, in Sud Africa cercano soluzioni tecniche per una crescente aridità e fra quelle offerte dai consulenti colpisce quella di trasportare un iceberg dall'Atlantide del peso di 500 mila tonnellate. La difficoltà principale della proposta è stata individuata nella forma dell'iceberg che possa garantirne la stabilità durante il trasporto.

L'idea è merito del capitano Nick Sloane, lo stesso che ebbe l'incarico del recupero del relitto della Costa Concordia all'isola del Giglio. Riflettendo però si deve concludere che l'idea non è poi così nuova: le piattaforme petrolifere temono gli iceberg e quando li hanno vicini provvedono al loro spostamento, anche se si tratta di dimensioni minori.

Tornando al Sudafrica c'è anche da affrontare la conservazione dell'iceberg trasportato e la sua fusione modulata e modellata, ma da quanto viene comunicato sembra che siano disponibili soluzioni per entrambi i problemi.

Quanto fin qui detto ci fa riflettere sulle ripetute similitudini circa il valore prezioso dell'energia rinnovabile e dell'acqua: la ragione prima di tale preziosità è probabilmente da attribuire alla difficoltà di accumulo; gli eccessi non sono utilizzati per coprire le carenze. Forse una delle sfide del futuro prossimo è proprio nelle tecnologie di accumulo che consentano una distribuzione equilibrata delle risorse nel tempo e nello spazio.

Riflessioni dalla Fiera Ecomondo 2023

Si è svolta nel passato novembre la Fiera Ecomondo 2023 a Rimini dedicata ai problemi ambientali ed alle loro soluzioni nonché al mercato delle apparecchiature e Strumentazione correlata.

Come sempre l'acqua -il comparto idrico incide per il 18% sul PIL italiano -è stato uno dei temi più seguiti, ma quest'anno con una novità: si è parlato di meno di inquinamento ed accessibilità e più di infrastrutture. Si tenga conto che il 60% di esse hanno più di 30 anni e che il 25% è utilizzato da più di 25 anni.

Fra i progetti presentati il raddoppio dell'acquedotto del Peschiera con i

sui 86 km di lunghezza. È stato discusso il delicato tema della tariffazione idrica di cui da un lato si mette in evidenza il valore basso rispetto a Francia e Germania e dall'altro la sua esigenza di adattarsi al valore sociale del servizio in questione. La digitalizzazione dei servizi è alla base del progetto vincitore del premio Sviluppo Sostenibile. Tale premio è stato infatti assegnato al progetto Waldy (Water Identity), una piattaforma ACEA-ENEA cloud-native, flessibile, scalabile, integrata con i sistemi operativi di gestione del servizio idrico, capace di gestire i distretti idrici, l'elaborazione dei dati per il controllo dei volumi di acqua gestiti, il monitoraggio centralizzato delle attività di manutenzione della rete.

Proposte sui PFAS del Gruppo di lavoro della Società Chimica Italiana

- Stabilire una definizione legale di PFAS ed introdurre le caratteristiche ed i CSC in tutte le matrici naturali basandosi sui migliori riferimenti internazionali conosciuti provvedendo in modo efficiente al loro aggiornamento. Questo criterio deve essere valido a livello almeno continentale.
- Determinare quali PFAS siano da eliminare totalmente dal ciclo produttivo e quali siano invece gestibili tramite i punti successivi.
- Garantire che le fonti di PFAS siano segnalate e raccolte in un inventario nazionale (e possibilmente europeo).
- Identificare, testare e regolamentare i percorsi dei PFAS dalle emissioni delle fabbriche e dai rifiuti legati ai prodotti alle acque superficiali e sotterranee attraverso standard ambientali adeguati alle più aggiornate conoscenze disponibili e regolarmente aggiornate.
- Per ridurre il potenziale di accumulo di livelli nocivi di PFAS nei recettori del corpo umano, stabilire nuovi standard di azione legale per i PFAS nell'acqua potabile,
- Per gestire efficacemente l'inquinamento e i rischi legati ai PFAS, dato l'uso diffuso dei PFAS in tutti i settori, il governo ha bisogno di un'autorità nazionale di regolamentazione delle sostanze chimiche che sia in grado di garantire una maggiore coesione e connettività tra i vari dipartimenti governativi.
- È necessaria una maggiore collaborazione in tutto il settore idrico per armonizzare e standardizzare gli approcci di misura armonizzare e standardizzare gli approcci di misurazione, generare e pubblicare i dati di monitoraggio dei PFAS nell'acqua potabile e sviluppare migliori soluzioni di bonifica per soddisfare standard di azione più severi per i PFAS nell'acqua potabile. Gli enti del settore potrebbero contribuire a coordinare questo sforzo.
- Garantire che, per quanto possibile, chi inquina paghi per la fornitura di acqua salubre. Sulla base delle evidenze relative alle fonti di utilizzo dei PFAS, l'uso dei PFAS è diffuso praticamente in tutti i settori produttivi.
- I settori industrie chimiche e affini, il settore idrico e il governo dovrebbero collaborare per fornire un sistema di finanziamento equo.
- Garantire la disponibilità di standard di misura (soluzioni di riferimen-

News

to) per tutte le specie di PFAS usati nell'industria.

- *Obbligare tutte le aziende che producono od usano PFAS a tenere un registro della produzione e dell'uso.*
- *Sottoporre ogni molecola per-fluorurata alle richieste del REACH.*
- *Spingere per un accordo internazionale sui PFAS almeno a livello continentale.*
- *Spingere per progetti di ricerca nazionali ed europei che provvedano alla ricerca e determinazione dei PFAS nelle matrici naturali nazionali ed europee; alla sostituzione dove possibile dei PFAS con molecole dotate di proprietà analoghe ma senza le complicazioni ambientali e dall'altra a progetti che ottengano risultati concreti sulla captazione e il riciclo e la eliminazione dei PFAS dalle acque potabili e dalle matrici naturali connesse all'attività umana .*

CUSIO2030

Conservare, valorizzare e sostenere la biodiversità acquatica nel bacino del Lago d'Orta

Dopo tre anni di lavori, confronti e tavoli di coordinamento promossi dall'Associazione Ecomuseo del Lago d'Orta e Mottarone con gli attori del territorio si è giunti alla firma ufficiale del Contratto di Lago del Cusio che coinvolge più di 130 soggetti tra enti pubblici e privati, uniti per pensare, pianificare e realizzare azioni per la tutela dell'ecosistema locale grazie al Progetto CUSIO2030.

Il progetto, sostenuto da un Bando Simbiosi di Fondazione Compagnia di San Paolo, ha la durata di 3 anni (2023-2026) e mira a rafforzare il processo di recupero dello stato ecologico del Lago d'Orta, quinto lago del Nord Italia, ripristinandone la biodiversità e valorizzandone il capitale naturale, in linea con gli obiettivi internazionali e nazionali sullo sviluppo sostenibile e la protezione della biodiversità.

Capofila del progetto è la Provincia di Novara che si occupa di interventi di conservazione come la rinaturalizzare degli habitat di riva. L'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR si occupa invece, degli aspetti tecnico-scientifici legati agli aspetti faunistici con la reintroduzione di specie ittiche non ancora tornate spontaneamente nel lago (agone, pigo, luccio Italico, trota marmorata) e del monitoraggio ambientale (pesci e macro-

crostacei invasivi), mentre l'Associazione Ecomuseo del Lago d'Orta e Mottarone è responsabile della divulgazione sul territorio e della disseminazione dei risultati. Il progetto prevede sei gruppi di azioni di carattere multidisciplinare e complementari fra loro, che delineano una strategia locale volta a rispondere ad un fabbisogno globale identificato nel ripristino ecologico degli ecosistemi

Il progetto prevede, azioni preliminari di approfondimento conoscitivo delle caratteristiche ambientali del lago (aspetti chimici e idromorfologici) e azioni secondarie di conservazione come il contenimento di specie invasive a supporto della pesca locale, anche attraverso la realizzazione di opere di rinaturalizzazione. Tali azioni sono volte ad incrementare la diversità strutturale del fondale lacustre, e a ripristinare alcuni habitat di riva con l'obiettivo di valorizzare la biodiversità acquatica autoctona e la creazione di condizioni per conservarla nel tempo. Questi interventi vanno collocati nel contesto più ampio della strategia delineata dal "Contratto di Lago per il Cusio", strumento di *governance* territoriale che ha definito indirizzi e obiettivi di lungo periodo per la valorizzazione del Lago d'Orta. Parallelamente alle azioni concrete di conservazione, il progetto prevede il coinvolgimento attivo della cittadinanza e diverse attività di informazione ed educazione ambientale rivolte a diverse tipologie di persone (studenti, insegnanti, pubblico generico, personale tecnico di Agenzie ambientali e corpo forestale). L'area su cui insisterà l'iniziativa è principalmente quella del bacino del Lago d'Orta, includendo sia il lago che le comunità rivierasche delle Province di Novara e del Verbano Cusio Ossola.

Importanti obiettivi di lungo periodo sono:

- i. *Recupero della qualità ambientale ed ecologica del Lago d'Orta (anche ai sensi della Direttiva Quadro sulle Acque 2000/60/EC e del DM 260/2010);*



SIMBIOSI
Insieme alla natura per il futuro del Pianeta.

Progetti

- ii. Miglioramento dello stato di conservazione della biodiversità acquatica nel bacino lacustre;
- iii. Recupero e rafforzamento del senso di appartenenza della comunità locale, mediante il coinvolgimento del mondo della scuola e dei giovani.

Una delle azioni previste dal Progetto per migliorare lo stato di conservazione della biodiversità nativa del Lago d'Orta, è indirizzata a contrastare la diffusione delle specie invasive di gamberi. In particolare, si fa riferimento alle due specie già ampiamente diffuse nel lago come il gambero rosso della Louisiana (*Procambarus clarkii*) e il gambero americano (*Faxonius limosus*), vere minacce per l'ecosistema litorale poiché voraci predatori anche di piante acquatiche. Entrambe le specie sono incluse negli elenchi di specie invasive di interesse unionale (UE, 2019/1262), e la prima è anche inserita tra le 100 specie più invasive al mondo. L'obiettivo è quello di diminuirne l'abbondanza ed impedirne l'ulteriore diffusione ai sensi di quanto previsto dalla Strategia Europea sulla Biodiversità e, a livello nazionale, in ottemperanza al D.Lgs 230/2017. Ciò avverrà tramite la rimozione di individui di *P. clarkii* (specie dominante) e *F. limosus* in modo da contenerne il numero e impedirne la diffusione anche ai bacini limitrofi. Le catture avverranno mediante l'utilizzo di nasse poste lungo i litorali e, successivamente, proseguiranno a maggiori profondità, tramite il coinvolgimento di pescatori professionisti. Quest'ultima fase ha l'obiettivo di catturare i gamberi adulti che nel periodo invernale si rifugiano in profondità per sopravvivere ai rigori delle temperature estreme.



Procambarus clarkii



Procambarus clarkii

A cura di:

Marco Orlandi, Lyudmila Kamburska, Denise Schiavetta,
Silvia Zaupa, Angela Boggero
CNR-IRSA, sede di Verbania



Il Progetto AGRARSENSE

Ricerca e tecnologia per l'agricoltura sostenibile

Il cambiamento climatico, la crescita della popolazione e l'evoluzione delle dinamiche economiche e sociali sono le principali sfide che l'agricoltura dovrà affrontare nei prossimi anni. L'aumento della popolazione mondiale e la crescente domanda di cibo richiedono un aumento della produzione agricola e un miglioramento dei sistemi di distribuzione per garantire la sicurezza alimentare. Tuttavia, l'agricoltura intensiva può avere impatti significativi sugli ecosistemi. Il degrado del suolo (i.e. erosione, impoverimento di nutrienti, salinizzazione), nonché il depauperamento delle risorse idriche sono questioni importanti che devono essere affrontate [Centanni et al., 2024; Ricci et al., 2022]. Sulla base di questa consapevolezza, il Green Deal europeo con la strategia "Farm to Fork" mira ad incentivare un sistema di produzione alimentare sostenibile. Nel dicembre 2021, la Commissione Europea ha approvato la riforma della Politica Agricola Comune (PAC) per gli anni 2023-27 per favorire un'agricoltura più equa, più verde e più produttiva (EC, 2023). A tal fine, sono stati definiti gli obiettivi chiave alla base della PAC quali: l'aumento della competitività, il contrasto al cambiamento climatico, la salvaguardia dell'ambiente, la conservazione del paesaggio e della biodiversità, la protezione della qualità del cibo e della salute e la promozione della conoscenza e dell'innovazione. La FAO (Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura) promuove un approccio di tipo *Climate-Smart Agriculture* (FAO, 2021) e definisce le linee guida per la transizione ecologica delle aziende agricole, favorendo l'aumento sostenibile della produttività e dei redditi agricoli, l'adattamento ai cambiamenti climatici e la riduzione e/o la rimozione delle emissioni di gas serra, ove possibile.

La ricerca, la tecnologia e l'innovazione giocano un ruolo fondamentale per ottimizzare la produzione agricola, migliorare la sostenibilità e ridurre l'impatto ambientale. In particolare, negli ultimi anni, tecnologie come l'*Internet of Things* (IoT), intelligenza artificiale, robotica e l'accessibilità a tecnologie digitali hanno generato nuove opportunità di business, contribuendo a rendere l'agricoltura intelligente (o digitale) un mercato in rapida espansione.

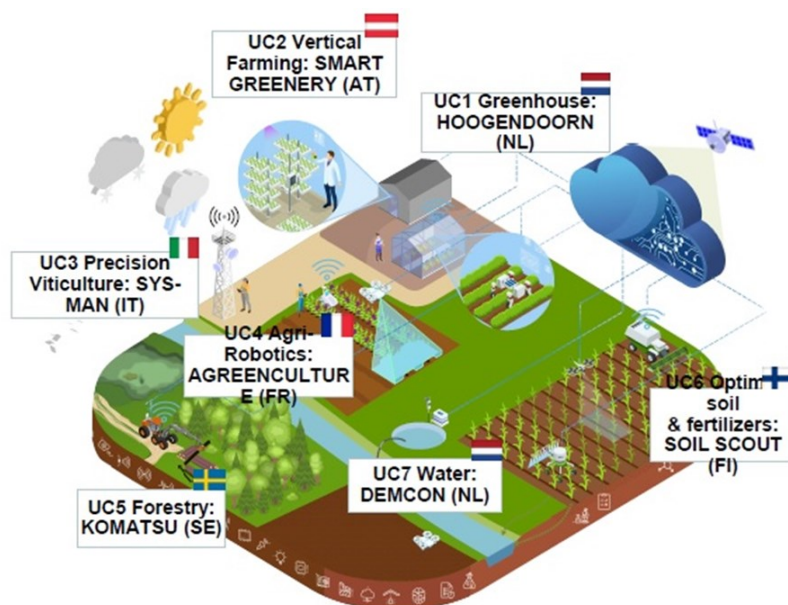
Attraverso il Programma EU "Horizon 2020", oltre 200 milioni di euro per la ricerca e l'innovazione (R&I) sono stati destinati alla diffusione di tecnologie digitali per il settore agricolo. Questo investimento mira a promuovere lo sviluppo e la diffusione di tecnologie digitali in grado di consentire un'agricoltura più efficiente e sostenibile. Le attività specifiche sostenute nell'ambito di Horizon 2020 includono lo sviluppo di sistemi di agricoltura intelligente, soluzioni digitali per l'agricoltura di precisione e l'integrazione delle tecnologie digitali nell'intera filiera agrico-



Progetti

la. Queste iniziative sono orientate ad aumentare la produttività e competitività ed a ridurre l'impatto ambientale. In questo contesto si inserisce il progetto **"AGRARSENSE - SMART, DIGITALIZED COMPONENTS AND SYSTEMS FOR DATA-BASED AGRICULTURE AND FORESTRY"**, finanziato dal programma di Ricerca e Innovazione Horizon Europe dell'Unione Europea e di Svezia, Repubblica Ceca, Finlandia, Irlanda, Italia, Lettonia, Paesi Bassi, Polonia, Spagna, Norvegia (KDT Joint Undertaking Grant Agreement 101095835) [info@agrarsense.eu; www.agrarsense.eu].

L'obiettivo principale del progetto AGRARSENSE è quello di sviluppare nuove tecnologie basate su sensori e dispositivi IoT e di sistemi di supporto alle decisioni (DSS) da applicare al settore agricolo. Attraverso sette casi di studio, AGRARSENSE si propone di testare tali tecnologie per migliorare la qualità e quantità del raccolto, ottimizzare i fattori della produzione attraverso la gestione "intelligente" dell'irrigazione e dei fertilizzanti/pesticidi, ridurre l'impatto sull'ambiente e sull'ecosistema per la salvaguardia delle risorse naturali. I processi di digitalizzazione delle informazioni passano attraverso l'utilizzo dei dati acquisiti a vario livello (sensori in campo, sistemi e veicoli robotizzati, veicoli a guida autonoma) che rappresentano l'input per i sistemi di supporto alle decisioni che consentono di perseguire l'obiettivo di ottimizzare la produzione agricola. AGRARSENSE contribuisce alle attività di ricerca e sviluppo migliorando i componenti elettronici e sviluppando software in grado di includere le informazioni provenienti dai sistemi elettronici. Il progetto, inoltre, contribuirà a creare un ponte tra tecnologie differenti come l'intelligenza artificiale, l'edge computing e i sistemi di controllo avanzati.



Il Consorzio del progetto AGRARSENSE comprende 57 partner: enti di ricerca (16), grandi aziende (16) e piccole e medie imprese (25). Il partenariato è in grado di coprire tutti i settori delle tematiche affrontate nel progetto: i sensori e la componentistica elettronica, i box per racchiudere i componenti, l'interconnessione dei sistemi hardware, lo sviluppo software, il testing delle soluzioni proposte, l'assicurazione della qualità e dell'affidabilità.

L'Istituto di Ricerca Sulle Acque, in collaborazione con SYSMAN Progetti e Servizi srl, contribuisce alle attività del caso di studio "Water" con l'obiettivo di migliorare l'utilizzo delle risorse idriche in agricoltura. Nello specifico, attraverso determinazioni analitiche di laboratorio e mediante lo sviluppo e implementazione di

modelli idrologici e di qualità delle acque contribuirà a validare i nuovi sensori sviluppati in AGRARSENSE e a supportare la progettazione del DSS. L'area di studio è localizzata in Puglia nella Capitanata, nell'agro di San Severo, dove l'agricoltura intensiva è la principale attività economica. Il

Progetti

Consorzio per la Bonifica della Capitanata (CBC), che gestisce le opere e la distribuzione irrigua, e l'Università di Foggia sono *stakeholders* interessati ai risultati del progetto.

L'implementazione di modelli che operano a differenti scale spaziali e temporali consente la quantificazione del fabbisogno irriguo stagionale a scala di campo e di distretto. L'implementazione di un modello eco-idrologico alla scala di bacino idrografico consente inoltre l'analisi dell'impatto ambientale delle pratiche agronomiche e dell'uso delle acque reflue trattate in agricoltura individuando periodi e aree critiche. L'analisi e la comparazione di differenti scenari gestionali (i.e. cambiamento di uso del suolo, cambiamento climatico), infine, contribuirà all'individuazione di misure gestionali mirate al raggiungimento dell'uso sostenibile delle risorse suolo ed acqua.

A cura di:

Anna Maria De Girolamo ¹, Vito Buono², Marianna Leone¹, Alfieri Pollice¹

¹CNR Istituto di Ricerca Sulle Acque, Bari, Italy

²SYSMAN Progetti e Servizi srl, Bari, Italy

Centanni M., Ricci G. F., De Girolamo A. M., Gentile F., "Modeling pesticides and ecotoxicological risk assessment in an intermittent river using SWAT", *Scientific Reports* 14 (6389), 2024, pp. 1-17

EC, 2023, https://agriculture.ec.europa.eu/common-agricultural-policy/cap-overview_en

FAO, 2021. Climate-Smart Agriculture <https://www.fao.org/climate-smart-agriculture/en/>

Ricci G. F., D'Ambrosio E., De Girolamo A. M., Gentile F., "Efficiency and feasibility of Best Management Practices to reduce nutrient loads in an agricultural river basin", *Agricultural Water Management* 259 (107241), 2022, Doi: 10.1016/j.agwat.2021.107241

Le attività dell'Area Seminari IRSA

A partire dal 2020, il CNR IRSA, tramite il Gruppo di Lavoro Seminari, ha creato uno spazio che favorisce la condivisione delle attività di ricerca e stimola il dibattito scientifico attraverso l'organizzazione di incontri on-line. Questi incontri vedono come relatori colleghi ed esperti della rete scientifica nazionale ed internazionale, e la partecipazione è aperta a chiunque sia interessato. Dal 2023 gli incontri, prima in esclusiva modalità telematica, sono stati svolti con successo anche in modalità mista, con una ampia partecipazione in sala di relatori e uditori, raggiungendo un'ampia platea di ricercatori, personale in formazione, colleghi di EPR e Università, personale di varie agenzie ambientali regionali e nazionali, rappresentanti di PMI, liberi professionisti. Gli incontri sono aperti a varie aree di interesse, spaziando dai sistemi informativi territoriali alla chimica sostenibile, dalla microbiologia ambientale all'idrogeologia applicata, dall'ecologia acquatica ai processi biologici per il trattamento delle acque reflue, solo per citarne alcune.

Sul sito dell'Istituto, all'indirizzo https://www.irsa.cnr.it/wp/?page_id=387, sono disponibili le informazioni relative ai seminari in programma, i link per la registrazione e per la richiesta dell'attestato di partecipazione. Le registrazioni degli eventi già svolti sono disponibili e visionabili direttamente sulla piattaforma Tube@CNR, del Consiglio Nazionale delle Ricerche, all'indirizzo <https://tube.rsi.cnr.it/a/irsa>.

Nel corso del 2023 c'è stata una riorganizzazione dei Gruppi di Lavoro dell'IRSA che ha portato alla costituzione del nuovo Gruppo di Lavoro Comunicazione e Divulgazione, suddiviso in 4 aree sulla base delle attività e dei target individuati (Provvedimento n. 11/2023 del 16 Giugno 2023 del Direttore f.f. dell'IRSA-CNR): comunicazione, divulgazione, seminari, sito web e strumenti.

Attualmente l'Area Seminari è coordinata da Carolina Cruz Viggi e composta da Raffaella Balestrini, Simona Crognale, Claudia Dresti, Diego Fontaneto, Marcella Narracci e Pompilio Vergine.



Raffaella Balestrini
Simona Crognale
Carolina Cruz Viggi
Claudia Dresti
Diego Fontaneto
Marcella Narracci
Pompilio Vergine



Sono migrati verso altre aree di lavoro Marco Berardi, Magda Di Leo, Francesca Di Pippo e Domenica Mosca Angelucci, che hanno contribuito alle attività del gruppo di lavoro seminari dalla sua costituzione fino alla nuova riorganizzazione.

A partire dal 2020 sono stati organizzati complessivamente 55 seminari (31 relatori IRSA e 24 relatori esterni, di cui 8 stranieri), 4 workshop e 4 eventi di disseminazione a carattere divulgativo. A partire dal 2021, anno in cui è stata introdotta la piattaforma di registrazione Indico, gli iscritti ai seminari sono stati circa 2000, mentre gli iscritti ai workshop e agli eventi di disseminazione circa 1500.

News



**Giornata internazionale
delle donne e delle
ragazze nella scienza**

**Venerdì 9 febbraio 2024
ore 11:00**



**Dalla parte di Gaia.
Le pioniere dell'ambiente del XX secolo**

Silvana Galassi
Già cattedra di Ecologia dell'Università degli Studi di Milano

Nel corso del 2024 sono stati organizzati 7 seminari, 2 interessanti eventi di disseminazione a carattere divulgativo ed un workshop.

In occasione della Giornata mondiale delle donne e delle ragazze nella scienza, il 9 febbraio la Prof.ssa Silvana Galassi ha tenuto una *lecture* dal titolo "Dalla parte di Gaia. Le pioniere dell'ambiente del XX secolo".

Nel corso della *lecture*, la Prof.ssa Galassi ha introdotto il concetto di "ecofemminismo" ed ha parlato di come alcune ricercatrici e divulgatrici scientifiche affrontino le questioni ambientali in linea con il pensiero ecofemminista, evidenziando esempi internazionali e nazionali di figure femminili del passato come fonte di ispirazione per le ricercatrici di oggi. La *lecture* ha avuto un buon riscontro in termini di audience e di gradimento, tanto che in seguito all'evento la Prof.ssa Galassi è stata intervistata per l'Almanacco Della Scienza del CNR.

In occasione della Giornata Mondiale dell'Acqua, il 22 Marzo è stato organizzato un evento di disseminazione scientifica che ha previsto l'intervento di tre relatori sulla delicata tematica di quest'anno: "Water for peace".

L'evento ha permesso un confronto significativo sulla tematica, evidenziando che con l'aumento degli impatti del cambiamento climatico e la crescita demografica, c'è un pressante bisogno di unire gli sforzi per proteggere e imparare a condividere in maniera equa la risorsa acqua, fondamentale per la salute pubblica, l'agricoltura, l'energia, l'economia e l'ambiente.

Infine, il 5 Giugno è stato organizzato un workshop dal titolo "Siccità: poca acqua o troppa sete?", che ha visto la partecipazione di esperti del settore offrire una panoramica multidisciplinare sul problema della siccità. Il workshop è stato organizzato in occasione della Giornata Mondiale dell'Ambiente, la cui tematica quest'anno è stata "Desertificazione, siccità e ripristino del suolo".



**UN WATER
22 MARCH
WORLD WATER DAY
2024 Water for Peace**

**GIORNATA
MONDIALE
DELL'ACQUA**

**Venerdì
22 marzo 2024
ore 11**

"L'acqua come fattore limitante della società umana: competizione per la risorsa o strategia adattiva?"
Prof.ssa Silvana Galassi – Università Degli Studi di Milano

"Storie e ricerca sull'acqua, il cibo e i conflitti"
Dott. Nikolas Galli – Politecnico di Milano *

"Bacini idrografici transfrontalieri: una sfida per la ricerca sulla gestione delle risorse idriche"
Dott. Raffaele Giordano – CNR IRSA

Fruibile in streaming attraverso la piattaforma TEAMS
Informazioni e registrazioni al link
<https://eventi.irsa.cnr.it/e/worldwaterday2024>

* Fruibile anche in presenza presso CNR-IRSA Verbania



Water for Peace
Creating ripples for a better future

Definizione dei deflussi ecologici in fiumi temporanei

Tesi di Dottorato
a cura di Marianna Leone

A livello globale gli ecosistemi fluviali sono affetti dall'alterazione dei regimi idrologici dovuti a pressioni antropiche e cambiamenti climatici. Le alterazioni del regime idrologico possono avere un impatto negativo sulla qualità ecologica degli ambienti fluviali.

Negli ultimi decenni, sulla base di una maggiore consapevolezza del valore della tutela dell'ambiente, sono stati identificati alcuni principi al fine di proteggere la qualità delle acque e di individuare azioni atte alla riqualificazione dei fiumi e degli ecosistemi acquatici. Tali azioni di protezione sono legate principalmente alla limitazione dei prelievi di acqua e alla mitigazione di eventuali modificazioni morfologiche del corso d'acqua (deviazioni, sbarramenti), cose possibili solo se non compromettono l'ecosistema acquatico.

Nel 2007, nella cosiddetta "*Brisbane Declaration*" sono stati definiti i deflussi ecologici "*Environmental Flow*" (*E-Flows*) come "la qualità, quantità e il timing dei deflussi necessari per sostenere gli ecosistemi acquatici, che a loro volta, supportano le colture, l'economia, i mezzi di sussistenza sostenibili e il benessere dell'uomo", definizione tuttora universalmente accettata (*Brisbane Declaration*, 2007).

Nel 2015, la Commissione Europea ha definito nel "*Guidance Document of the implementation of the Water Framework Directive No. 31*" (Commissione Europea, 2015) gli *E-Flows* come "il regime idrologico coerente con il raggiungimento degli obiettivi ambientali fissati dalla Direttiva 2000/60 relativi ai corpi idrici naturali riportati nell'Art. 4". Tali obiettivi ambientali si riferiscono ai seguenti principi: i) non deterioramento dello stato esistente; ii) raggiungimento di un buon stato ecologico nei corpi idrici superficiali naturali e iii) rispetto delle norme e obiettivi per le aree protette.

In Italia il concetto di *E-Flows* nel corso del tempo è stato oggetto di modifiche ed evoluzioni delle normative. Inizialmente era associato ad un "deflusso minimo atto ad assicurare la vita dei pesci" (1978), ovvero garantire un livello minimo costante nei fiumi bilanciando i bisogni umani e i requisiti degli ecosistemi acquatici (Legge n. 183 del 18 maggio 1989). Successivamente, è stato modificato in "Deflusso Minimo Vitale" (D. Lgs 152/2006) per garantire l'equilibrio tra la disponibilità delle risorse e le

esigenze per i diversi usi e per la vita acquatica dei fiumi.

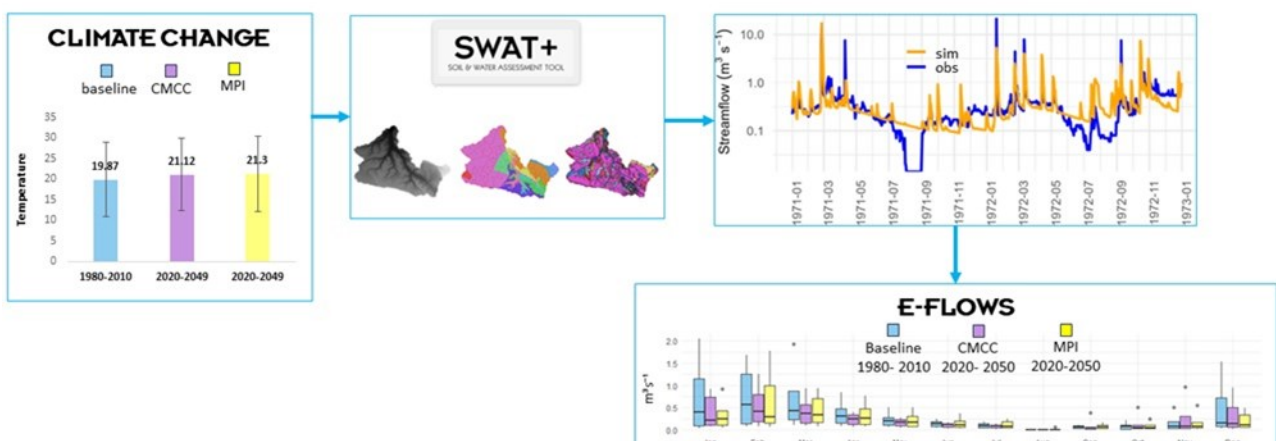
Fra i numerosi fattori che influenzano la portata dei corsi d'acqua, uno dei principali è il clima, la cui diversità determina la diversità dei regimi fluviali. Anche per questo, in letteratura si annoverano più di 200 metodi per la determinazione degli *E-Flows*, classificati in: metodi idrologici, idraulici, di simulazione dell'habitat e olistici. Tuttavia, pochi metodi sono stati definiti specificamente per corsi d'acqua temporanei o intermittenti, tipici del clima Mediterra-



neo. I corsi d'acqua temporanei (DM del 16 giugno 2008, n. 131, "Regolamento recante i criteri tecnici per la caratterizzazione dei corpi idrici) sono caratterizzati da periodi di asciutta e da una elevata variabilità del regime idrologico che rendono particolarmente complessa la definizione degli *E-Flows*. Buona parte di questi corsi d'acqua sono stati nel passato poco monitorati, pertanto, la carenza di dati idrologici ed ecologici accomuna buona parte dei fiumi temporanei non solo in Italia. La mancanza di serie storiche di portata in condizioni naturali ("reference") e di dati biologici complica ulteriormente la definizione degli *E-Flows*. In questo contesto, è necessario definire metodi specifici che tengano conto sia delle peculiarità idrologiche e morfologiche sia della paucità di dati che caratterizzano i corsi d'acqua temporanei. Nel caso di indisponibilità di dati di portata è possibile derivare serie temporali dei deflussi naturali combinando gli impatti idrologici con il deflusso misurato se esistente o simulare la portata giornaliera con modelli idrologici. L'implementazione di modelli idrologici in bacini idrografici con deflussi intermittenti, tuttavia, può essere particolarmente complessa e la fase di calibrazione dei deflussi di magra e di secca richiede particolare cautela.

In questo contesto si inserisce il progetto di ricerca "*Defining environmental flows in mediterranean rivers*", sviluppato nell'ambito del Dottorato di Ricerca Interateneo tra Università degli Studi di Bari "Aldo Moro" e Politecnico di Bari in "Gestione Sostenibile del Territorio" (Ciclo XXXVI; SSD: AGR/08) dalla dottoranda Marianna Leone con la supervisione di Anna Maria De Girolamo, Antonio Lo Porto e del Prof. Francesco Gentile.

L'obiettivo generale del progetto di ricerca era definire i deflussi ecologici "*E-Flow*" per un fiume non perenne in un bacino idrografico del Mediterraneo in condizioni di limitata disponibilità di dati idrologici ed ecologici. Gli obiettivi specifici erano: i) valutare la situazione attuale in termini di legislazione e casi applicativi per impostare gli *E-Flows* nei paesi europei del bacino del Mediterraneo con focus sui fiumi non perenni; ii) analizzare gli impatti a lungo termine dei CC sul regime idrologico di un fiume mediterraneo; iii) applicare la nuova versione del modello idrologico del *Soil and Water Assessment Tool* (SWAT+) (Arnold et al., 1996) per simulare i deflussi giornalieri in condizioni antropizzate e naturali a monte dell'invaso Locone; iv) applicare un metodo idrologico per impostare il regime di *E-*



Flow; v) migliorare la simulazione del modello SWAT+ in relazione alle portate di magra; vi) analizzare le implicazioni del CC sul regime *E-Flow*. Per il raggiungimento di tali obiettivi sono stati esaminati due casi di studio: il torrente Celone ed il torrente Locone.

L'analisi degli impatti a lungo termine dei CC sul regime idrologico di un fiume intermittente è stata condotta nel bacino idrografico del Celone (De Girolamo et al., 2022). L'analisi dei dati climatici (precipitazioni e temperature) registrati dal 1958 al 2012 hanno evidenziato un trend positivo della temperatura misurata e una riduzione del numero di giorni con temperature inferiori a 0°C. L'analisi del regime idrologico condotta sulla base delle misure di portata ha evidenziato una generale riduzione delle portate ed un aumento del numero di giorni con deflusso nullo. Tale andamento è stato confermato anche per i prossimi decenni. L'impatto del CC sul regime idrologico è stato valutato mediante gli indicatori di alterazione idrologica (IHA). Sulla base delle proiezioni climatiche di tre modelli, i risultati dell'implementazione del modello idrologico SWAT hanno mostrato per il futuro (2030-2059) un aumento delle temperature giornaliere e un differente regime di precipitazioni che porterà ad una riduzione dei deflussi medi annui ed al prolungamento del periodo di asciutta.

Attraverso il caso studio del fiume temporaneo Locone (Leone et al., 2023a), è stata proposta una metodologia per impostare il regime di *E-Flow*, applicando un metodo idrologico, in un contesto di scarsità di dati. I metodi idrologici costituiscono l'unico strumento adeguato in assenza di dati storici sia biologici sia di portata in condizioni indisturbate e in generale costituiscono una prima fase di analisi per la progettazione degli *E-Flows*. In passato erano basati su soglie di flusso minimo annuale, nel corso degli anni sono stati modificati recependo le evidenze scientifiche che gli ecologi fluviali hanno dimostrato, ossia che tutte le componenti del regime idrologico hanno influenza sulla vita acquatica. Sulla base di tale paradigma (Poff et al., 1996), il regime idrologico in condizioni alterate dovrebbe "mimare" il regime idrologico naturale (Richter et al., 1997). Sulla base di tale principio è stato sviluppato il *Range of Variability Approach* (RVA) che mediante 32 indicatori idrologici (*Indicators of Hydrological Alterations* - IHAs) caratterizza tutte le componenti del regime idrologico. Il metodo definisce gli indicatori idrologici che hanno una diretta influenza sull'ecologia fluviale ed assume che l'intera gamma del *range* di variabilità del regime sia necessaria a garantire la tutela dell'ecosistema fluviale (Acuna et al., 2019). L'elevato numero di indicatori, tuttavia, costituisce un limite per la facile applicabilità del metodo. Nel caso di fiumi temporanei, inoltre, è necessario disporre di almeno 20 anni di dati giornalieri di portata (misurata o simulata) per poter valutare la naturale variabilità di ciascun indicatore. Nel caso di studio, per sopperire alla mancanza di dati idrologici in condizioni naturali è stato applicato il modello SWAT+ che è stato implementato inizialmente includendo gli impatti antropici e, dopo la calibrazione e validazione, escludendo gli impatti. Le portate in condizioni naturali ed antropizzate sono state utilizzate per calcolare gli indicatori idrologici e definire gli *E-Flow*.

Il modello idrologico SWAT+ si è dimostrato un valido strumento anche in caso di disponibilità limitata di dati, tuttavia, il miglioramento della simulazione delle basse portate è un argomento ancora in discussione. Nell'ambito del presente progetto di ricerca è stata definita una specifica strate-

gia di calibrazione del modello per fiumi temporanei basata sulle portate di magra.

Le proiezioni climatiche di tre modelli climatici sono state utilizzate per stimare le alterazioni indotte dai futuri cambiamenti climatici sul regime idrologico del fiume Locone e le implicazioni di tali alterazioni sugli *E-Flows* (Leone et al., 2024). Il lavoro ha evidenziato che i CC comporteranno nel prossimo futuro scelte progettuali e gestionali più critiche rispetto all'attuale regime di *E-Flow*.

L'analisi della normativa condotta nell'ambito del progetto di ricerca (Leone et al., 2023b) ha focalizzato l'attenzione sulla mancata differenziazione tra natura perenne e non perenne dei fiumi. La mancanza di linee guida per l'istituzione del regime *E-Flow* si traduce in pochissimi casi applicativi in letteratura che evidenziano come la definizione degli *E-Flow* costituisca ancora una domanda di ricerca.

Il progetto di ricerca propone una metodologia semplice per una prima definizione degli *E-Flow* che può essere applicata in un contesto di scarsità di dati e che consente di includere l'impatto del cambiamento climatico sul regime idrologico. Il lavoro fornisce importanti informazioni gestionali riguardanti i fiumi non perenni.

Bibliografia

Acuña, V., Jorda-Capdevila, D., Vezza, P., De Girolamo, A.M., McClain, M.E., Stubbington, R., ... Datry, T., 2020. Accounting for flow intermittency in environmental flows design. *J Appl Ecol* 57, 742–753. doi: 10.1111/1365-2664.13590.

Arnold, J.G., Neitsch, S.L., Williams, J.R., 1996. Soil and water assessment tool user's manual. USDA Agriculture Research Service, Blackland Research Center, Texas Agricultural Experiment Station, TX.

Brisbane Declaration, 2007. The Brisbane Declaration: environmental flows are essential for freshwater ecosystem health and human wellbeing. In: 10th International River Symposium, Brisbane, Australia, pp. 3–6.

Commissione Europea, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy (Water Framework Directive). Official Journal of the European Communities 1–72 L327.

Commissione Europea, 2015. Ecological flows in the implementation of the water framework directive. Guidance document n° 31. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Decreto Legislativo 152 del 3 aprile 2006 - Testo Unico Ambiente.

Decreto Ministeriale del 16 giugno 2008, n. 131, "Regolamento recante i criteri tecnici per la caratterizzazione dei corpi idrici".

De Girolamo AM, Barca E, Leone M, Lo Porto A, 2022. Impact of long-term climate change on flow regime in a Mediterranean basin. *Journal of Hydrology: Regional Studies* 41. 101061. Doi: 10.1016/j.ejrh.2022.101061

Legge n. 183 del 18 maggio 1989. Norme per il riassetto organizzativo e

funzionale della difesa del suolo.

Leone M, Gentile F, Lo Porto A, Ricci GF, Schürz C, Strauch M, Volk M, De Girolamo A.M. 2024. Setting an environmental flow regime under climate change in a data-limited Mediterranean basin with temporary river. *Journal of Hydrology: Regional Studies* 52, 101698

Leone M, Gentile F, Lo Porto A, Ricci GF, De Girolamo AM. 2023a. Setting an ecological flow regime in a Mediterranean basin with limited data availability: The Locone River case study (SE Italy). *Ecohydrology & Hydrobiology*. Doi: 10.1016/j.ecohyd.2023.03.005

Leone M, Gentile F, Lo Porto A, Ricci GF, De Girolamo AM. 2023b. Ecological Flows in Southern Europe: status and trends in non-perennial rivers. *Journal of Environmental Management*. Accepted for publication 25/04/2023.

Poff, N.L., Tokar, S., Johnson, P., 1996. Stream hydrological and ecological responses to climate change assessed with an artificial neural network. *Limnology and Oceanography* 41. doi: 10.4319/lo.1996.41.5.0857.

Richter B.D., Baumgartner J.V., Powell J., Braun D.P., 1996. A method for assessing hydrologic alteration within ecosystems- *Conservation Biology*, 10, 1163-1174.

Il CNR-IRSA partecipa al 10° World Water Forum a Bali

20.000 delegati e partecipanti da 160 nazioni hanno assistito al 10° World Water Forum, il più grande incontro internazionale nel settore idrico co-ospitato dal *World Water Council* e, per l'edizione 2024, dalla Repubblica di Indonesia sull'isola di Bali. Delegati dell'Istituto di Ricerca Sulle Acque del CNR hanno partecipato ad attività ed iniziative in diversi ambiti.

Di particolare rilevanza è stata la disseminazione di informazioni su Water4All che ha consentito di raggiungere un ampio spettro di paesi, stakeholder e pubblico, offrendo un'opportunità di accesso a finanziamenti europei nel settore della salvaguardia ambientale e della salute umana. Water4All è una Partnership europea co-finanziata nell'ambito di Horizon Europe per la ricerca sulla sicurezza idrica a lungo termine attraverso il potenziamento delle trasformazioni e dei cambiamenti sistemici nelle strategie di ricerca e innovazione. Riunisce più di 70 partner, finanziatori di R&I, ministeri dell'ambiente, autorità locali, reti europee, nazionali e regionali, organizzazioni ed enti di ricerca, tra cui il CNR-IRSA. Water4All svolge le sue attività su 7 temi: economia circolare; ecosistemi e biodiversità; gestione sostenibile; acqua e salute; infrastrutture idriche; cooperazione internazionale e management. Antonio Lo Porto, co-leader nel *Pillar Internationalisation* di **Water4All**, è stato il responsabile dello stand di Water4All e della programmazione degli eventi di rilevanza per la Partnership e per le Istituzioni Europee.

Alla conduzione delle attività dello stand ha partecipato Maria Concetta Tomei responsabile per il CNR-IRSA delle attività del *Pillar Joint vision & SRIA*. Sono state presentate le attività svolte nell'ambito dei 5 Pillars - Direzione strategica; Sviluppo dell'innovazione; Scienza e politica; Attività dimostrative; Internazionalizzazione - ed è stata definita la linea programmatica per le attività future.

È stato inoltre annunciata l'adesione di Cuba alla Partnership ed è stato siglato un importante *Memorandum of Understanding* bilaterale tra l'*Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos* in Cuba e il CNR-IRSA. Tale accordo di collaborazione prevede lo scambio di professori e ricercatori, lo sviluppo congiunto di progetti di ricerca e l'organizzazione congiunta di eventi scientifici.

Lo stand di Water4All ha ospitato un numero larghissimo di incontri bilaterali tra la partnership e diverse delegazioni ufficiali di Paesi Esteri (ad esempio Cina, India, Indonesia) e di Agenzie/Organizzazioni internazionali



10th
World
Water
Forum
Bali 2024



News

quali UNESCO, UNEP, OECD, oltre che di servizi della UE (ad esempio DG ENV, DG RTD, DG INTPA, EEAS).

Alla tavola rotonda su “*Evidence for and valuation of water-related Nature-based Solutions (NBS)*” di Water4All, Stefano Fazi ha presentato le attività di ricerca svolte dal CNR-IRSA per la messa a punto di NBS applicando i principi della Ecoidrologia.

Nell'ambito delle attività svolte dal programma di Ecoidrologia del *Intergovernmental Hydrological Programme (IHP)* dell'UNESCO, Stefano Fazi, ha, inoltre, presentato il nuovo UNESCO *Eco-Hydrology Lab Network*, un network mondiale tra i laboratori che si occupano di Ecoidrologia che mira ad offrire un'opportunità per far avanzare la ricerca sulle NBS; il Laboratorio di Ecoidrologia del CNR-IRSA di Roma entrerà presto a far parte di questo network. In particolare la rete di laboratori di ecoidrologia permetterà di: fornire accesso ad attrezzature e competenze, creare opportunità di collaborazioni, e facilitare le attività di formazione e di sviluppo delle competenze.

Sempre nell'ambito del Programma di Ecoidrologia dell'UNESCO, Stefano Fazi ha partecipato all'inaugurazione del **Demosite** presente sull'isola di Bali che prevede lo sviluppo di soluzioni basate sui processi naturali applicate ai sistemi tradizionali di irrigazione delle risaie.

Il progetto Horizon Europe **SD-WISHEES**, coordinato dal CNR-IRSA, è stato presentato al World Water Forum in un workshop dedicato alla tematica “*Extreme water events and indigenous peoples: how ancestral knowledge can support climate adaptation measures*”. Al workshop, ospitato nello stand di Water4All, Jessica Amadio del CNR-IRSA ha presentato il progetto e, assieme ad altri esperti internazionali e rappresentanti di comunità indigene dal Nepal e Canada, è stato discusso come affrontare in modo inclusivo la gestione sostenibile

del patrimonio culturale immateriale e naturale minacciato da eventi idroclimatici estremi. Il workshop ha attirato un pubblico che spaziava da esperti di diverse agenzie delle Nazioni Unite, partners di Water4All, e diversi partecipanti con un interesse per le popolazioni indigene e il modo in cui si sono adattate ad eventi estremi come siccità e alluvioni.

A cura di:

Antonio Lo Porto, Maria Concetta Tomei, Jessica Amadio, Stefano Fazi

Foto dei delegati del CNR-IRSA.
Da sinistra a destra: Antonio Lo Porto, Maria Concetta Tomei, Jessica Amadio, Stefano Fazi

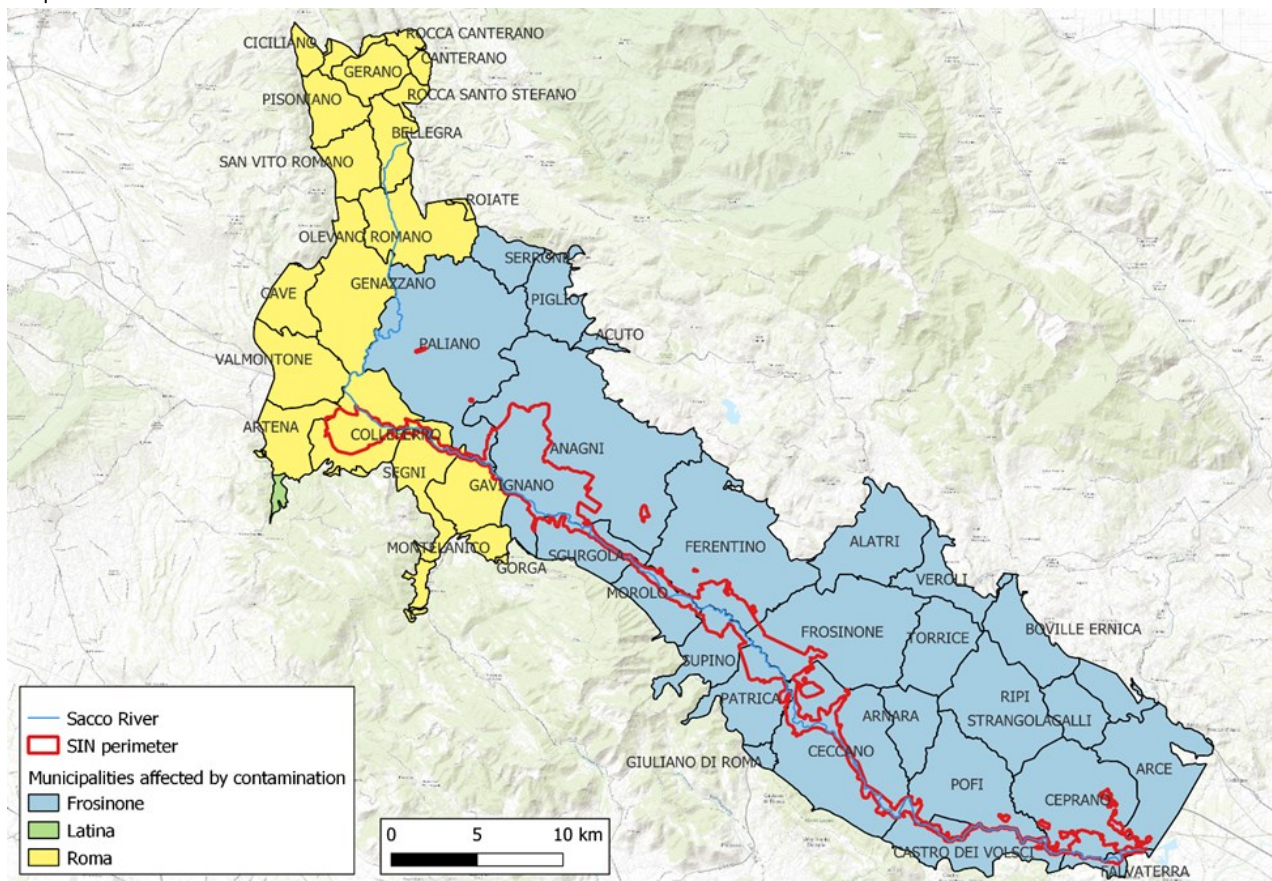


1/2024

Nelle scorse settimane è stato avviato il progetto “VFN Valle del Sacco”, che mira a definire il fondo geochimico naturale per acque sotterranee (CNR-IRSA) e suolo/sottosuolo (ARPA Lazio) nell'area del Sito di Interesse Nazionale (SIN) “Bacino del Fiume Sacco”. Questo SIN, che si estende per 72,4 km² nel Lazio meridionale, fu istituito nel 2016 per circoscrivere il territorio contaminato dal β -esaclorocicloesano, un sottoprodotto del pesticida lindano rilevato nel latte di mucca nel 2005 e successivamente nel suolo e nelle acque sotterranee del bacino. Sebbene l'inquinamento da lindano sia in riduzione, la Valle del Sacco subisce forti pressioni antropiche, soprattutto di tipo industriale. Inoltre, sono state rilevate alte concentrazioni di elementi inorganici come alluminio, arsenico, ferro, manganese e tallio, sollevando preoccupazioni per ulteriori fenomeni di inquinamento.

Il progetto, una collaborazione tra Regione Lazio, Agenzia Regionale Protezione Ambientale (ARPA Lazio) e CNR-IRSA, ha l'obiettivo di definire i valori di fondo geochimico naturale (VFN) per alcuni composti inorganici, tra cui l'arsenico. Questi valori serviranno a distinguere tra contaminazione naturale e antropica delle acque sotterranee e dei suoli nel SIN. Metodologie innovative permetteranno di determinare i VFN distinguendo le facies idrochimiche attraverso analisi chimiche e isotopiche dei campioni d'acqua. È prevista anche la mappatura degli ecosistemi microbici delle acque di falda.

Ubicazione del SIN Valle del Sacco e confini amministrativi dei Comuni potenzialmente interessati dallo studio dei Valori di Fondo nelle acque sotterranee



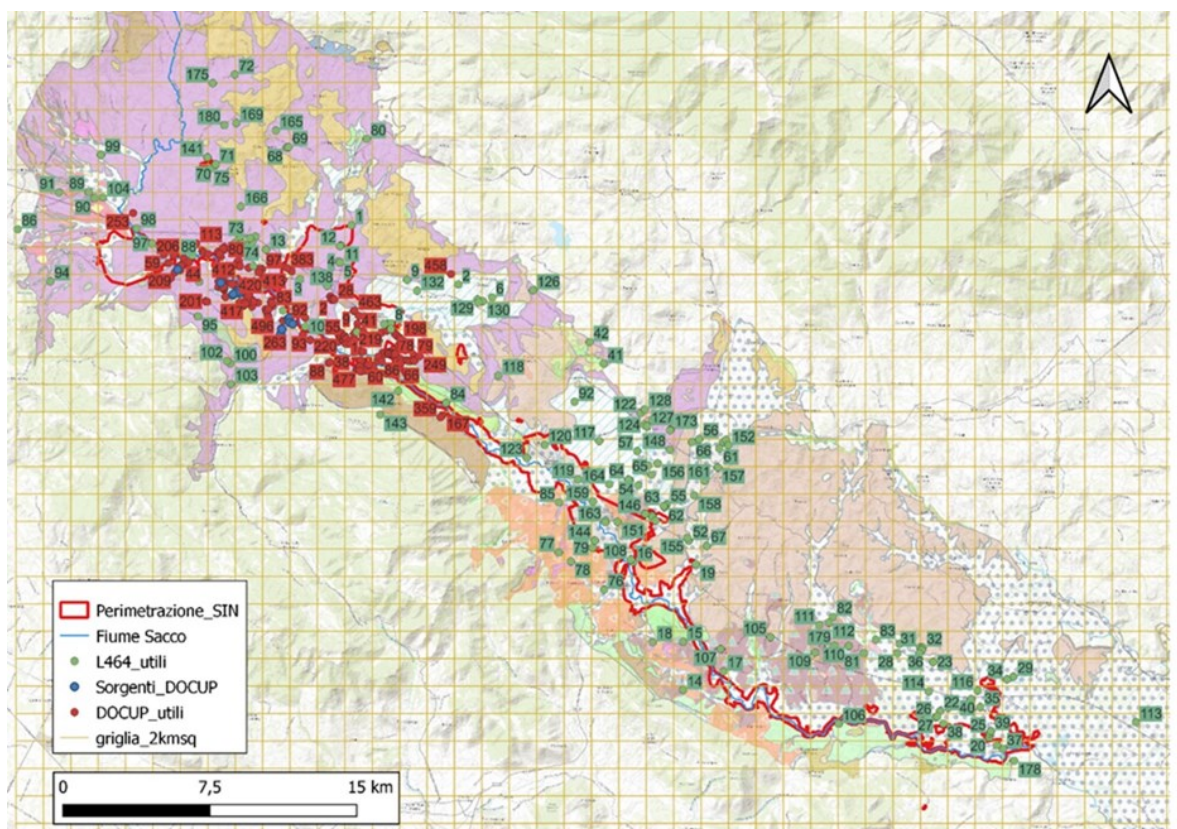
Progetti

Progettazione della rete di monitoraggio elaborata con QGIS. Sono visibili i pozzi già noti dalle banche dati disponibili e la griglia di 2 km² per un possibile posizionamento omogeneo dei punti d'acqua

Il CNR-IRSA ha avviato contatti con i Comuni del territorio per facilitare il censimento dei punti d'acqua da includere nella rete di monitoraggio. I ricercatori del CNR-IRSA eseguiranno i campionamenti una volta individuati i punti idonei, con l'obiettivo di campionare tra 100 e 200 punti nelle macrolitologie di Vulcaniti, Travertini e Alluvioni.

La convenzione, formalmente avviata il 9 febbraio 2024, ha una durata prevista di 30 mesi. Tra i collaboratori del progetto figurano Elisabetta Preziosi (responsabile scientifico), Stefano Amalfitano (microbiologia), Marco Melita (microbiologia), Barbara Casentini (geochimica) e Lucia Mastorillo (collaboratrice esterna).

elisabetta.preziosi@cnr.it



Geologia Lazio

- | | |
|--|---|
| Flysch a componente dominante arenacea o conglomeratico - arenacea | Calcarei detritici, micritici, microcristallini, oolitici, con inter. |
| Flysch a componente dominante arenaceo o arenaceo-pelitica (Cretac) | Scorie e lapilli (Pleistocene) |
| Flysch a componente dominante pelitica o arenaceo-pelitica (Mioc) | Lave sottosature e sature (Pleistocene) |
| Conoidi e detriti di pendio anche cementati, facies moreniche (Plei) | Tufi prevalentemente litoidi (Pleistocene) |
| Calcareni e calcari organogeni (Paleocene - Mioc. Medio) a luoghi | Tufi stratificati, tufiti e tufi terrosi (Pleistocene) |
| Argille con gessi (Miocene superiore) | Pozzolane (Pleistocene) |
| Conglomerati poligenici (Miocene - Pliocene) | Facies freatomagmatiche (Pleistocene) |
| Calcareni, marne e argilliti paleogeniche interc. come olistost | Coperture colluviali ed eluviali e terre residuali quando distinte |
| Emipelagiti prevalentemente marnose (Miocene) | Alluvioni ghiaiose, sabbiose, argillose antiche terrazzate dep. lacu |
| Alluvioni ghiaiose, sabbiose, argillose attuali e recenti anche ter | Travertini (Pleistocene-Olocene) |
| Dolomia (Trias.sup.) | Depositi preval. ghiaiosi a luoghi cementati in facies marina e di |
| Calcare cavernoso (Trias superiore) | Depositi preval. sabbiosi a luoghi cementati in facies mar. e di tra |

Tassonomia e Biodiversità degli Efemerotteri delle acque dolci italiane (EpheBIO)

Le acque dolci sono un hotspot di biodiversità. In questo ambiente, gli Efemerotteri (Ephemeroptera) - un ordine di Insetti la cui sistematica ha subito notevoli cambiamenti nel corso degli ultimi decenni - contribuiscono in modo importante alla ricchezza del biota. Nell'ottica della tutela della Biodiversità, il progetto qui presentato si configura come attività di supporto alle attività in corso del "National Biodiversity Future Center - NBFC" (<https://www.nbfc.it>), nell'ambito dello Spoke 3, "Attività 4: biodiversità dei suoli e degli ambienti dulciacquicoli, qualità degli ecosistemi, Area monitoraggio". Per tale progetto ad oggi, IRSA Brugherio ha già condotto importanti campagne di campionamento della fauna macrobentonica in ambiente fluviale, effettuate principalmente nel corso dell'anno 2023, che hanno portato a disporre di un significativo numero di campioni di individui appartenenti all'ordine degli Efemerotteri.

I campioni provengono da diversi habitat - definiti sulla base di una combinazione di substrato, tipo di flusso, velocità di corrente e profondità - e sono stati raccolti in più di cento siti localizzati in diversi tipi fluviali, che includono fiumi di montagna delle Alpi Centrali e Occidentali, grandi fiumi in tratti medi e pianiziali in Lombardia ed Emilia-Romagna, fontanili in Lombardia, fiumi appenninici in Italia Settentrionale, Centrale e Meridionale, fiumi temporanei in Sardegna.

Parallelamente, altre attività si sono concentrate sulla selezione di individui presenti nelle collezioni di Istituto, sulla loro identificazione e attribuzione ad unità tassonomiche - o provvisoriamente a specie - sulla base di caratteri morfologici noti dalla letteratura (e.g. Belfiore, 1983; Bauernfeind e Soldán, 2012). I criteri di selezione hanno per il momento previsto di considerare: i) la selezione di unità tassonomiche presenti lungo un ampio gradiente geografico; ii) la selezione di specie con status tassonomico incerto; iii) la selezione di generi con un limitato numero di specie.

In aggiunta all'identificazione di massa su base morfologica degli individui, si è proceduto con l'individuazione di un protocollo per il *barcoding* genetico delle specie/unità tassonomiche. In questo ambito, per gli individui preliminarmente identificati, o per individui provenienti dal medesimo campione, sono state testate una serie di tecniche per le fasi di estrazione ed amplificazione del DNA. In questa

fase ci si è concentrati come primo aspetto sul *barcoding* della regione mitocondriale COI, marcatore di ampio utilizzo tra i metazoi con l'obiettivo di ampliare l'indagine ad altri marcatori mitocondriali e nucleari.

Le procedure hanno permesso, per il momento, di ottenere sequenze genetiche valide per un significativo numero di individui appartenenti a 16 generi di Efemerotteri. È inoltre in fase di avvio la definizione preliminare dei *pattern* di diversificazione tassonomica per tre generi di Efemerotteri, sulla base dell'analisi di alberi di massima affinità ottenuti per le sequenze nucleotidiche COI. Tali *pattern* di diversificazione saranno successivamente confrontati e integrati con i dati provenienti dall'analisi morfologica grazie all'allestimento di preparati semi-permanenti.



**NATIONAL
BIODIVERSITY
FUTURE CENTER**

Progetti

I primi risultati delle attività svolte hanno consentito di evidenziare come le conoscenze relative alla tassonomia degli Efemerotteri presenti sul territorio italiano siano gravemente lacunose, confermando e approfondendo quanto già presente in letteratura (Tenchini et al., 2018). La stessa definizione di quali e quante specie (o cladi, unità tassonomiche, infraspecie, specie putative, specie criptiche, etc.) siano presenti in Italia risulta di per sé assai problematica. Infatti, molti dei generi dell'ordine – sia quelli che comprendono poche specie, sia quelli più numerosi – risultano difficilmente approcciabili sulla base dei soli studi condotti fino ad oggi. Ciò è purtroppo palese se si considerano gli approcci tradizionali i.e. morfologici alla classificazione, e diviene ancor più evidente quando si applichino metodi di biologia molecolare, che consentono di evidenziare come le entità tassonomiche non note (e.g. specie nuove per la scienza) rischino di superare in numero quelle già note e segnalate per il territorio italiano. Buona parte di queste nuove entità si prefigura come di natura endemica (per quanto ad oggi ipotizzabile), rendendone lo studio ancor più interessante ed importante ai fini della caratterizzazione della biodiversità italiana e dell'area mediterranea.



Figura 1. *Epeorus alpicola* (Eaton, 1871), in vivo (foto A. Buffagni).

Obiettivi specifici del progetto, stante l'elevata complessità del quadro tassonomico dell'ordine, molto oltre le aspettative di inizio progetto NBFC, sono quindi: i) concentrarsi sull'approccio combinato tra le tradizionali analisi morfologiche e i dati molecolari derivanti da diversi marcatori genetici; ii) allargare le attività, in modo da estendere le ricerche a più generi rispetto a quanto inizialmente pianificato per NBFC e ottenere risultati più generali e a larga scala.



Figura 2. *Epeorus alpicola* fissato in etanolo (foto S. Cislaghi).



Figura 3 Vetrino di *Epeorus alpicola*, con parti boccali e altre parti corporee predisposte per l'analisi microscopica (foto S. Cislaghi).

Le modalità operative prevedono che le analisi morfologiche siano eseguite sia su vetrini semi-permanenti che su immagini in alta qualità dell'esemplare, scattate sia in vivo che da materiale in collezione, con tecniche di microscopia digitale. Inoltre, nella direzione di una tassonomia sempre più integrata, i.e. ripetibile e quantificabile (Yeates et al., 2010), si opera utilizzando un protocollo di estrazione del DNA di nuova concezione che consente di preservare l'integrità strutturale del campione, permettendo di effettuare l'analisi morfologica sullo stesso individuo.

Per alcuni generi, si procederà, in continuità con quanto avviato, ad acquisire le immagini di dettaglio dei vetrini allestiti, avendo così una collezione iconografica della specie (accertata o putativa) in diverse fasi i.e. esemplare vivo (Fig. 1); fissato in etanolo (Fig. 2) e preparato per microscopia (Fig. 3), permettendo di ottenere informazioni e dati specifici di grande dettaglio. All'acquisizione di immagini consegue quindi la digitalizzazione di parte delle collezioni di Istituto, con attività che si inseriscono nel contesto del progetto ITINERIS (<https://itineris.cnr.it/about-itineris/>), che intende contribuire all'armonizzazione dell'eterogeneità intrinseca delle Infrastrutture di Ricerca ambientale in Europa (RIs), creando un sistema integrato almeno a livello italiano per facilitare l'interoperabilità tra RIs anche attraverso attività di standardizzazione e digitalizzazione di collezioni di beni naturalistici con standard *Darwin Core*.

Progetti

Infine, nell'ottica di estendere lo studio ad una maggiore copertura geografica e a più ambienti (e.g. laghi, stagni), è auspicabile una più ampia attività di campionamento affiancata da collaborazione con altri Enti. A tale riguardo, cogliamo l'occasione per offrire la nostra disponibilità a collaborazioni mirate sul tema (per eventuali contatti: **andrea.buffagni@irsa.cnr.it**).

In generale, le attività previste comprenderanno (a vari livelli di approfondimento):

- Raccolta di nuovo materiale di studio da siti fluviali e lacustri italiani ed europei;
- Allestimento di parte del materiale raccolto in preparati semipermanenti;
- Analisi morfologica e selezione di nuovi caratteri tassonomici per alcuni generi di Efemerotteri;
- Analisi biomolecolari per lo studio di alcuni marcatori genetici (COI, wg, etc.);
- Inquadramento dei risultati ottenuti nel contesto europeo e, quando possibile, prospetto zoogeografico degli stessi;
- Inizio di revisione filogenetica per generi selezionati (uno o più);
- Predisposizione di materiale di supporto (e.g. terza missione, didattica, Citizen science, Guide, manuali) sull'ordine, per le specie italiane;
- Pubblicazione dei risultati ottenuti su riviste internazionali e nazionali.



A cura di:

Simona Cislaghi¹, Marcello Cazzola¹, Simone Cardoni²,
Fabrizio Stefani¹, Stefania Erba¹, Carlo Belfiore³, Andrea Buffagni¹

¹CNR Istituto di Ricerca Sulle Acque, Brugherio (MI), Italy

²CNR Istituto di Ricerca Sulle Acque, Taranto, Italy

³DEB, Dipartimento di Scienze Biologiche ed Ecologiche – Università della Tuscia, Viterbo, Italy

BIBLIOGRAFIA:

Bauernfeind E., Soldán T., 2012. The Mayflies of Europe. Apollo Books, Ollerup [now: Brill Publ., Leiden], 781 pp.

Belfiore C., 1983. "Efemerotteri (Ephemeroptera). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane", C.N.R., Verona, 24, 106 pp.

Tenchini R., Cardoni S., Piredda R., Simeone M. C., Belfiore C., 2018. DNA barcoding and faunistic criteria for a revised taxonomy of Italian Ephemeroptera. The European Zoological Journal, 85: 1, 2018, 253-266.

Yeates D. K., Seago A., Nelson L., Cameron S. L., Joseph L., Trueman J.W.H., 2010. Integrative taxonomy, or iterative taxonomy?. Systematic Entomology 36, 209–217.

Avvisi

1/2024

3° Annual Workshop SETAC Europe Italian Language Branch

Il 3° Workshop Annuale della SETAC Europe Italian Language Branch si svolgerà il 7-8 ottobre 2024 a Milano presso l'Università Statale di Milano, Sala Napoleonica. Il Workshop prevede le seguenti sessioni:

- Tossicologia ambientale e umana: dalle molecole agli organismi, dall'omica agli esperimenti in vivo;
- L'ecotossicologia diventa ecologia dello stress;
- Chimica ambientale e valutazione dell'esposizione: analisi, monitoraggio, destino e modellistica;
- Valutazione del rischio ecologico e per la salute umana di sostanze chimiche e miscele, materiali, biologiche, microbiologiche e fattori di stress e rischio;
- Metodi innovativi e Strategie di mitigazione ed adattamento;
- Life Cycle Assessment e foot-printing;
- Politica ambientale, gestione del rischio e comunicazione scientifica;
- Moving Beyond - temi trasversali, temi emergenti e transdisciplinari (cambiamenti climatici, OneHealth)

La registrazione al Workshop è gratuita inviando una email all'indirizzo: setac.ilb.2024@gmail.com. Si potrà partecipare con presentazioni orali o poster inviando l'abstract a: setac.ilb.2024@gmail.com. Il template dell'abstract è disponibile sul sito della SETAC Italian Language Branch (<https://italianbranch.setac.org>), sezione EVENTI



Sala Napoleonica
via S. Antonio 12, Milan



Abstract / Extended Abstract
Submission
1st July 2024



Workshop Registration
9th September 2024

Free Registration

Email to:
setac.ilb.2024@gmail.com
(max 100 participants)

Call for Abstracts

Submit your abstract to:
setac.ilb.2024@gmail.com
The Abstract template (mandatory format)
is available at
italianbranch.setac.org

For information

 italianbranch.setac.org
 setac.ilb.2024@gmail.com
 @SETAC_ILB
 [setac-italian-language-branch](https://www.linkedin.com/company/setac-italian-language-branch)



I dottorandi possono partecipare al Premio Miglior Giovane Ricercatore Italiano (in palio: iscrizione gratuita al 35° SETAC Europe Meeting che si terrà a Vienna a maggio 2025). Gli interessati devono inviare un abstract esteso in lingua inglese a: setac.ilb.2024@gmail.com (Il modello è disponibile sul sito della SETAC Italian Language Branch). Il secondo e il terzo candidato selezionati riceveranno un certificato di vincita.

Gli abstract faranno parte di un Book of Abstracts Editato dall'IRSA-CNR.

Il Book of Abstract del Workshop del 2023 è disponibile qui (https://italianbranch.setac.org/wp-content/uploads/2024/02/2nd_workshop-SETAC-ILB_AbstractBook.pdf)

Per ulteriori informazioni:

Paola Grenni: grenni@irsa.cnr.it

Avvisi

1/2024

RemTech Europe

Ferrara, 16-20 settembre 2024

RemTech Europe, la conferenza ed esposizione internazionale sui mercati e le tecnologie della bonifica del territorio e dell'acqua, quest'anno è in programma dal 16 al 20 settembre 2024. I primi due giorni della conferenza (16-17 settembre) saranno completamente digitali e trasmessi in *streaming*. Le altre tre giornate (18-20 settembre) saranno ibride, in presenza a Ferrara Fiere e trasmesse anche *online*.

Lo scopo della Conferenza (interamente in lingua inglese) è condividere informazioni su conoscenze, innovazione e *case histories*, incoraggiare lo sviluppo di processi di bonifica e l'applicazione di tecnologie nuove e sostenibili e riunire esperti e fornitori di servizi e tecnologie disponibili. RemTech Europe è soprattutto una piattaforma di discussione tra i diversi stakeholder europei ma è aperto a tutti gli altri continenti. L'agenda è molto ricca (anche con LIVE DEMO e TRAINING COURSES) al fine di condividere le conoscenze tra tutte le parti interessate. RemTech Europe mette in luce il mercato europeo e le ultime tendenze nell'ambito del recupero ambientale, diffonde know-how e tecnologie in tutto il mondo. Per questo motivo la partecipazione è completamente gratuita per gli enti di ricerca e enti governativi.

L'evento è promosso da RemTech Expo, il più importante evento italiano sulle tecnologie di bonifica e del cui comitato scientifico fa parte, tra gli altri, il Centro Comune di Ricerca (JRC) della Commissione Europea. La

Call for Abstract è sul sito di RemTech Europe.

RemTech Europe ospiterà anche "Sustainathon 2024" tra il 24 e il 25 settembre 2024 (<https://remtechexpo.com/sustainathon>), una maratona di 24 ore di relatori provenienti da tutto il mondo che, a partire dalle 12:00 del 24 settembre, ci illustreranno gli aspetti più significativi di come il loro Paese sta realizzando uno o più *Sustainable Development Goals*.

Infine, grazie ad un accordo tra RemTech Europe e la SETAC, *Society of Environmental Toxicology and Chemistry*, saranno selezionati degli abstract per la loro possibile pubblicazione sulla rivista internazionale e *peer review Integrated Environmental Assessment and Management* (IEAM, della Wiley), in un numero speciale dedicato a RemTech Europe.

Il numero dedicato al 2021 ("RemTech Europe 2021: *International Approaches to Contamination Management*") è già online (<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ieam.4760>) e diversi articoli facenti parte del numero speciale del 2022 ("Remtech Europe 2022: *Integrated Approaches for Risk Management and Remediation*") sono già pubblicati.

REMTECH Europe

CALL FOR ABSTRACTS 2024

International Conference and Exhibition
16-20 September 2024





<https://www.remtechexpo.com/en/remtech-europe>





Consiglio Nazionale delle Ricerche Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News

**Pubblicazione quadrimestrale telematica dell'Istituto di Ricerca sulle Acque
del Consiglio Nazionale delle Ricerche**

ISSN 2465-017X

Autorizzazione Tribunale di Tivoli n°5/2015

Direzione e Redazione

Istituto di Ricerca sulle Acque, Area della Ricerca RM1, Montelibretti, S.P. 35d, km 0,700
C.P. 10 - 00015 Monterotondo (RM)
e-mail: redazione.notiziario@irsa.cnr.it

Direttore responsabile

Giuseppe Mascolo

Direttore Scientifico

Stefano Polesello

Comitato di Redazione

L. Campanella, A.M. De Girolamo, P. Grenni, L. Guzzella, S. Polesello, L. Patrolecco,
S. Valsecchi, D. Mosca Angelucci, C. Cruz Viggì

Segreteria di Redazione

S. Ghergo

<https://www.irsa.cnr.it/Notiziario>