

- Ippolito F, Ortolani F, Russo M. Struttura marginale tirrenica dell'Appennino campano: reinterpretazione di dati di antiche ricerche di idrocarburi. *Memorie Società Geologica Italiana* 1973; 12: 227-250.
- Isaaks EH, Srivastava RM. *An Introduction to Applied Geostatistics*, Oxford University Press, 1989, 562 pp.
- Japenga, J., Wagenaar, W.J., Smedes, F., Salomons, W., 1987. A new rapid clean-up procedure for the simultaneous determination of different groups of organic micropollutants in sediments: application in two European estuarine sediment studies. *Environmental Technology letters*, 8, 9-20.
- Järnberg, U., Asplund, L., de Wit, C., Grafstrom, A.K., Haglund, P., Jansson, B., Laxen, K., Strandel, M., Olson, M., Jonsson, B., 1993. Polychlorinated biphenyls and polychlorinated naphthalenes in Swedish sediments and biota: levels, patterns, and time trends. *Environmental Science and Technology*, 27, 1364-1374.
- Johnson, A.C., Larsen, P.F., Gadbois, D.F., Humason, A.W., 1985. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surficial sediments of Phenobscot Bay (Maine, USA) in relation to possible sources and to other sites worldwide. *Marine Pollution Bulletin*, 15, 1-16.
- Kang, Y., Sheng, G., Fu, J., Mai, B., Zhang, G., Lin, Z., Min, Y., 2000. Polychlorinated biphenyls in surface sediments from Pearl River Delta and Macau. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 794-797.
- Kastens K, Mascle J, Auroux C, Bonatti E, Broglia C, Channel J, Curzi P, Emeis K, Glacon G, Hasegawa S, Hieke W, Mascle R, Sartori R, Sprovieri R, Torii M. ODP Leg 107 in the Tyrrhenian Sea: Insights into passive margin and back-arc basin evolution. *Geological Society of America Bulletin* 1988; 100: 1140-1156.
- Kennicutt, M.C., Comet, P.A., 1992. Resolution of sediment hydrocarbon sources: multiparameter approaches. In: Whelan, J.K., Farrington, J.W., (Ed.). *Organic matter: productivity, accumulation, and preservation in recent and ancient sediments*. New York: Columbia University Press, 308-338.
- Kersten, M., 2002. Speciation of trace metals in sediments. In: Ure, A.M., Davidson, C.M., (Eds.). *Chemical Speciation in the Environment*. Blackwell Science, Oxford, 301-321.
- Kim, G.B., Maruya, K.A., Lee, R.F., Lee, J.H., Koh, C.H., Tanabe, S., 1999. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Kyeonggi Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 7-15.
- Kramer, K.J.M., Botterweg, J., 1991. Aquatic biological early warning systems: an overview. In: Jeffrey, D.W., Mudden, B. (Eds.), *Bioindicators and environmental management*. Academic Press, London, 95-126.
- Lake, J.L., Norwood, C., Dimock, C., Bowen, R., 1979. Origins of polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43, 1847-1854.
- Law, R.J., 1994. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)—problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Marine Pollution Bulletin*, 29, 235-241.
- Lee, K.T., Tanabe, S., Koh, C.H., 2001. Distribution of organochlorine pesticides in sediments from Kyeonggi Bay and nearby areas, Korea. *Environmental Pollution*, 114, 207-213.
- Ligero, R.A., Barbera, M., Casas-Ruiz, M., Sales, D., Lopez-Aguayo, F., 2002. Dating of marine sediments and time evolution of heavy metal concentration in the Bay of Cadiz, Spain. *Environmental Pollution*, 118, 97-108.
- Lindsay, W.L., 1979. *Chemical equilibria in soils*. John Wiley & Sons, New York, 449 pp.
- Loebelich, A.R., Tappan, H., 1988. *Foraminiferal Genera and their Classification*. Vol. 2 Van Nostrand Reinhold, New York, 970 pp.

- Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D., 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19, 81-97.
- Loring, D.H., Næs, K., Dahle, S., Matishov, G.G., Illin, G., 1995. Arsenic, trace metals, and organic micro contaminants in sediments from the Pechora Sea, Russia. *Marine Geology*, 128, 153–67.
- MacDonald, D.D., Ingersoll, C.G., Berger, T., 2000. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 20–31.
- Martin, J.M., Meybeck, M. Elemental Mass-Balance of Material Carried by Major World Rivers. *Marine Chemistry* 1979; 7: 173-206.
- McCready, S., Slee, D.J., Birch, G.F., Taylor, S.E., 2000. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surficial sediments of Sydney Harbour, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 999– 1006.
- McGrath, D., Zhang, C., Carton, O.T., 2004. Geostatistical analysis and hazard assessment on soil lead in Silvermines area, Ireland. *Environmental Pollution* 127, 239-248.
- Milia A., Giordano F., Nardi G., (1998). Stratigraphic and structural evolution of the Naples Harbour in the last 12 ka. *Giornale di Geologia* 60, pp. 13
- Mitasova, H., Mitas, L., 1993. Interpolation by regularized spline tension: I Theory and implementation. *Mathematical Geology* 25, 641-655
- Neff, J. M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment, Sources, Fates, and Biological Effects. Applied Science: London.
- Nimick DA, Moore JN, Dalby CE, Savka MW. The fate of geothermal arsenic in the Madison and Missouri Northwestern british columbio. Unpublished pi University of Ottawa, Ottawa, 1998, 268 pp.
- Nishigima, F.N., Weber, R.R., Bicego, M.C., 2001. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of Santos and Cananea, SP, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 1064–1072.
- Ortolani F Torre M. Guida all’escursione dell’area interessata dal terremoto del 23.11.1980. *Rendiconti Società Geologica Italiana* 1981; 4: 173-214.
- Page, D.S., Boehm, P.D., Douglas, G.S., Bence, E.A., Burns, W.A., Mankiewicz, P.J., 1999. Pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments record past human activity: a case study in Prince William sound, Alaska. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 247– 260.
- Pereira, W.E., Hostettler, F.D., Rapp, J.B., 1996. Distributions and fate of chlorinated pesticides, biomarkers and polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments along a contamination gradient from a point-source in San Francisco Bay, California. *Marine Environmental Research*, 41, 299–314.
- Persaud, D., Jaagumagi, R., Hayton, A., 1993. Guidelines for the protection and management of aquatic sediment quality in Ontario. Toronto ON, Canada: Water Resources Branch, Ontario Ministry of the Environment, 27 pp.
- Peters, C.A., Knightes, C.D., Brown, D.G., 1999. Long-term composition dynamics of PAH-containing NAPLs and implications for risk assessment. *Environmental Science and Technology*, 33, 4499 –4507.
- Pettersen, H., Näf, C., Broman, D., 1997. Impact of PAH Outlets from an Oil Refinery on the receiving Water Area—sediment trap fluxes and multivariate statistical analysis. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 85–95.
- Piano Stralcio per l’Assetto Idrogeologico. Autorità di Bacino Nord-Occidentale della Campania 2002.
- Plant J, Smith D, Smith B, Williams L, Karger M, Sandomirsky S. Multidimensional statistical technique for detection of low contrast geochemical anomalies. *J. Geochem. Explor.* 2001; 72: 47-58.

- Pohl P., Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry. *Tr. Anal. Chem.* 2004; 23: 87-101.
- Readman, J.W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J.P., Catinni, C., Mee, L.D., 2002. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 48–62.
- Reis AP, Sousa AJ, Ferreira da Silva E, Patina C, Fonseca EC. Combining multiple correspondence analysis with factorial kriging analysis for geochemical mapping of the gold-silver deposit at Marrancos (Portugal). *Applied Geochemistry* 2004; 19: 623-631.
- Resing, J.M., 1960. Foraminiferal ecology around ocean outfalls off southern California. In: Person, E. (Ed.), *Disposal in the marine Environment*. Pergamon Press, London, 104-121.
- Rolandi G., Maraffi S., Petrosino P., Lirer L., (1993). The Ottaviano eruption of Somma-Vesuvio (8000 y B.P.): a magmatic fall and flow-forming eruption. *J. Volcanol. Geoth. Res.* 58: 43-65.
- Rose AW, Hawkes JE, Webb JS. *Geochemistry in Mineral Exploration* (2nd Ed. of the book by Hawkes JE and Webb JS, 1962). Academic Press, London and New York, 1979, 657 pp.
- Rosenbaum M, Soderstrom M. *Geostatistics as an Aid to Mapping*, 1996. (also available at: <http://gis.esri.com/library>)
- Russo F. I sedimenti quaternari della Piana del Sele, studio geologico e geomorfologico. PhD. Thesis, University Federico II, Naples, 1990, 168 pp.
- S. Sciarelli, D. Maggioni e P. Stampacchia (1982). *L'industria in Campania all'inizio degli anni ottanta* Federazione Regionale degli Industriali della Campania.
- Safe, S., 1990. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Critical Reviews in Toxicology.*, 21, 51–88.
- Salminen R, Tarvainen T, Demetriades A, Duris M, Fordyce FM, Gregorauskiene V, Kahelin H, Kivisilla J, Klaver G, Klein H, Larson JO, Lis J, Locutura J, Marsina K, Mjartanova H, Mouvet C, O'Connor P, Odor L, Ottonello G, Paukola T, Plant JA, Reimann C, Schermann O, Siewers U, Steenfelt A, Van Der Sluys J, De Vivo B, Williams L. *Foregs geochemical mapping field manual. Guide 47, geological survey of Finland*, Espoo, 1998, 36pp.
- Salminen R, Tarvainen T. The problem of defining geochemical baselines. A case study of selected elements and geological materials in Finland. *J. Geochem. Explor.* 1997; 60: 91-98.
- Samir, A. M., El-Din, A. B., 2001. Benthic foraminiferal assemblages and morphological abnormalities as pollution proxies in two Egyptian bays. *Marine Micropaleontology*, 41, 193-227.
- Savinov, V.M., Savinova, T.N., Carroll, J., Matishoy, G.G., Dahle, S., Naes, K., 2000. Polycyclic aromatic-hydrocarbons (PAHs) in sediments of the White-Sea, Russia. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 807–818.
- Scherillo A. e Franco E., (1967). *Introduzione alla carta stratigrafica del territorio comunale di Napoli*. Atti Acc. Pontaniana, Napoli 16:27-37.
- Schultz LG. Quantitative interpretation of mineralogic composition from X-ray and chemical data for the Pierre Shale. *U.S. Geol. Surv., Prof Pap*, 1964.
- Scott, D.B., Medioli, F.S., Schafer, C.T., 2001 . *Monitoring of Coastal environments using Foraminifera and Thecamoebian indicators*. Cambridge University Press 176.
- Seiglie, G.A., 1975. Foraminifers of Guayanilla bay and their use as environmental indicators. *Revista Espanola de Micropaleontologia*, 7(3), 453-487.

- Setty, M.G.A.P., 1976. The sensitivity of benthonic foraminifera in polluted marine environment of Cola Bay, Goa. *Indian Colloque of Micropaleontological Stratigraphy. Proceeding 6*, 225-234.
- Setty, M.G.A.P., Nigam, R., 1984. Benthic foraminifera as pollution indices in the marine environments of West coast of India. *Rivista Italiana di Paleontologia e Stratigrafia*, 89(3), 421-436.
- Shepard, F.P., 1954. Nomenclature based on sand, silt, clay ratios. *Journal of Sedimentary Petrology*, 24, 151-158.
- Sicre, M.A., Marty, J.C., Saliot, A., Aparicio, X., Grimalt, J., Albaigeés, J., 1987. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean Sea: occurrence and origin. *Atmospheric Environment*, 21, 2247–2259.
- Simpson, C.D., Mosi, A.A., Cullen, W.R., Reimer, K.J., 1996. Composition and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in surficial marine sediment from Kitimat Harbour Canada. *Science of the Total Environment*, 181, 265–278.
- Sinclair AJ. A fundamental approach to threshold estimation in exploration geochemistry. *Probability plots revisited. J. Geochem. Explor.* 1991; 41: 1-22.
- Sinclair AJ. Application of Probability Graphs in Mineral Exploration. *Spec. Vol. 4, Assoc. Expor. Geochemists, Rexdale, Ont., Canada, 1976, 95 pp.*
- Sinclair AJ. Estimation of the geochemical threshold and its statistical significance. *J. Geochem. Explor.* 1974; 3: 129-149.
- Singh M, Müller G, Singh I.B. Geogenic distribution and baseline concentration of heavy metals in sediments of the Ganges River, India. *J. Geochem. Explor.* 2003; 80: 1-17.
- Smith, S.L., MacDonald, D.D., Keenleyside, K.A., Ingersoll, C.G., Field, J., 1996. A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. *Journal of Great Lakes Research*, 22, 624–638.
- Soclo, H.H., Garrigues, P.H., Ewald, M., 2000. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 387–396.
- Sposito G., 1984. *The surface chemistry of soils.* New York: Oxford University Press, 242 pp.
- Stanton RL. *Ore Elements in Arc Lavas.* Clarendon Press, Oxford, 1994.
- Stauffer RE, Thompson JM. Arsenic and antimony in geothermal waters of Yellowstone national park, Wyoming, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta* 1984; 48: 2547–2561.
- Stein, A., Brouwer, J., Bouma, J., 1997. Methods for comparing spatial variability patterns of millet yield and soil data. *Soil Science of Society American Journal*, 61, 861-870.
- Taylor S.R., McLennan S.M. and McCulloch M.T. (1983) - Geochemistry of loess, continental crustal composition and crustal model ages. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 47, 1,897-1,905.
- Toma P.A., (1991)- *Storia del Porto di Napoli*, ed.SAGEP Editrice;
- De Vivo B, Lima A, Albanese S, Cicchella D. *Atlante di Geochimica-ambientale della regione Campania.* Di Frede (ed.), 2003, 2144 pp.
- Trincardi F, Field ME. Geometry, lateral variation and preservation of downlapping regressive shelf deposits: eastern Tyrrhenian Sea Margin, Italy. *Journal of Sedimentary Petrology* 1991; 61: 775-790.
- US Environmental Protection Agency (US EPA), 1993. Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. EPAy600yRy089, Washington, DC: Office of Research and Development, US EPA.
- Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A. T. C., Brunström, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J. P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S. W., Kubiak, T., Larsen, J. C., Van Leeuwen, F. X. R., Liem, A. K. D., Nolt, C., Peterson, R. E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillit, D., Tysklind, M., Younes, M., Wærn, F., and Zacharewski, T., 1998.

- Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 106, 775–792.
- Venkatesan, M.I., 1988. Occurrence and possible sources of Perylene in marine sediments—a review. *Marine Chemistry*, 25, 1–27.
- Wackernagel, H. *Multivariate Geostatistics An Introduction with Application*, Springer, 2003, 387 pp.
- Wakeham, S.G., Schaffner, C., Giger, W., 1980. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments—II. Compounds derived biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44, 415–429.
- Wang, Z., Fingas, M., Page, D.S., 1999a. Oil Spill Identification. *Journal of Chromatography A*, 843, 369–411.
- Wang, Z., Fingas, M., Shu, Y.Y., Sigouin, L., Landriault, M., Lambert, P., Turpin, R., Campagna, P., Mullin, J., 1999b. Quantitative characterization of PAHs in burn residue and soot samples and differentiation of pyrogenic PAHs from petrogenic PAHs—the 1994 mobile burn study. *Environmental Science and Technology*, 33, 3100–3109.
- Watkins, J.G., 1961. Foraminiferal ecology around the Orange County, California, ocean sewer outfall. *Micropaleontology*, 7 (2), 199–206.
- Webster, R., 1994. The development of pedometrics. *Geoderma*, 62, 1–15.
- Wedepohl KH. *Handbook of Geochemistry*. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1978.
- Wentworth CK. A scale of grade and class terms for clastic sediments, *J. Geol.* 1922; 30: 377–392.
- Wiberg, P.L., Harris, C.K., 2002. Desorption of p,p'-DDE from sediment during resuspension events on the Palos Verdes shelf, California: a modelling approach. *Continental Shelf Research*, 22, 1005–1023.
- Williams, P.T., Bartle, K.D., Andrews, G.E., 1986. The relation between polycyclic aromatic compounds in diesel fuels and exhaust particulates. *Fuel*, 65, 1150–1158.
- Woodhead, R.J., Law, R.J., Matthiessen, P., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments around England and Wales, and their possible biological significance. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 773–790.
- Yanko, V., Arnold, A., Parker, W., 1999. Effect of marine pollution on benthic foraminifera. In: Sen Gupta, B.K. (Ed.), *Modern Foraminifera*. Kluwer Academic, Dordrecht, 217–235.
- Yanko, V., Flexer, A., 1991. Foraminiferal benthonic assemblages as indicators of pollution (an example of Northwestern shelf of the Black Sea). *Proceedings Third Annual Symposium on the Mediterranean Margin of Israel*, Haifa, Israel, pp.5.
- Yanko, V., Kronfeld, J., Flexer, A., 1994. Response of benthic foraminifera to various pollution sources implications for pollution monitoring. *Journal of Foraminiferal Research*, 24(1), 1–17.
- Yunker MB, and RW Macdonald, 1995. Alkane and PAH depositional history, sources and fluxes in sediments from the Fraser River Basin and Strait of Georgia, Canada. *Organic Geochemistry* 34, 1429–1454.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Cretney, W.J., Fowler, B.R., McLaughlin, F.A., 1993. Alkane, terpene, and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mackenzie River and Mackenzie shelf: riverine contribution to Beaufort Sea coastal sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57, 3041–3061.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Goyette, D., Paton, D.W., Fowler, B.R., Sullivan, D., Boyd, J., 1999. Natural and anthropogenic inputs of hydrocarbons to the Strait of Georgia. *Science of Total Environment*, 225, 181–209.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Vingarzan, R., Mitchell, R.H., Goyette, D., Sylvestre, S., 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33, 489–515.

- Yunker, M.B., Snowdon, L.R., Macdonald, R.W., Smith, J.N., Fowler, M.G., Skibo, D.N., McLaughlin, F.A., Danyushevskaya, A.I., Petrova, V.I., Ivanov, G.I., 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbon composition and potential sources for sediment samples from the Beaufort and Barents Seas. *Environmental and Science Technology*, 30, 1310–1320.
- Zeng, E.Y., Vista, C.L., 1997. Organic pollutants in the coastal environment Off San Diego, California, 1. Source identification and assessment by compositional indices of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 179–188.
- Zhang, C.S., Selinus, O., Wong, P., 2000. Spatial structures of cobalt, lead and zinc contents in tills in southeastern Sweden. *GFF (Transactions of Geological Society in Stockholm)*, 122, 213-217.

APPENDICE

Metodiche analitiche

Carbonio Totale (TOC) e Azoto Totale

Il metodo analitico utilizzato è quello riportato in “Metodologie Analitiche di Riferimento (ICRAM, 2001)”.

Un'aliquota di circa 2 mg di campione (pesato con la precisione di 0.1 mg), preventivamente essiccato alla temperatura di 105°, è stata inserita all'interno dell'analizzatore elementare (ThermoElectron Flash EA1112) con un flusso di He di 300 ml/min e di ossigeno di 250 ml/min. La temperatura del forno di combustione e di ossidazione dell'analizzatore è stata rispettivamente di 900 e 680°C.

Il 30% dei campioni è stato ripetuto almeno 2 volte per verificare la riproducibilità dei valori con un errore associato sulla singola misura del $\pm 5\%$. Inoltre, ogni 8 campioni è stato misurato uno standard di riferimento (Cicloesano - N:C 20.14%:51.79%). La tecnica utilizzata per la quantificazione del carbonio e azoto totale nei campioni è quella dello standard esterno con retta di calibrazione a 5 punti.

Cianuri liberi

Il campione di sedimento, preventivamente essiccato a 30° per 24 ore, viene pesato accuratamente in quantità pari a 5 grammi e trasferito in una beuta contenente:

0,1 grammi di idrossido di sodio (NaOH);

50 ml di acqua ultrapura.

Ciascuna beuta, opportunamente sigillata, è posta in agitazione su un agitatore orbitale per due ore.

Successivamente alla filtrazione del campione, un'aliquota pari a 5 ml viene pipettata in una provetta e trattata con i Kit della Merck Spectroquant per analisi fotometriche.

Il metodo colorimetrico si basa sulla reazione tra gli ioni cianuro ed un agente clorante che porta alla formazione di cloruro cianico, il quale, reagendo con acido 1,3-dimetilbarbiturico, forma un colorante violetto che viene determinato fotometricamente.

Il Kit utilizzato (1.09701.0001) presenta le seguenti caratteristiche operative:

lunghezza d'onda pari a 606 nm, valore corrispondente al massimo dell'assorbanza;
cuvetta caratterizzata da un cammino ottico pari a 10 mm;
intervallo di misura degli ioni cianuro: 0,002 ÷ 0,500 mg/l CN⁻.

Dopo l'aggiunta dei reattivi presenti nel Kit, nelle opportune quantità e modalità, e dopo il tempo di reazione pari a dieci minuti, si versa nella cuvetta il campione da analizzare e si misura allo spettrofotometro.

La tecnica di quantificazione utilizzata è quella dello standard esterno con retta di calibrazione a 5 punti . Al fine di valutare la riproducibilità dei risultati, l'analisi del 20% dei campioni è stata ripetuta due volte, con un errore associato alla singola misura pari a ± 10%.

Fosfati

Il campione di sedimento, preventivamente essiccato a 30° per 24 ore, viene pesato in quantità pari a circa 40 mg (con la precisione di 0,1 mg) ed è introdotto in un contenitore da reazione (vessel da digestione). Utilizzando una pipetta, viene addizionata, in ogni vessel, una quantità di 25 ml di soluzione ossidante costituita da:

45 grammi di persolfato di potassio (K₂S₂O₈);

9,5 grammi di idrossido di sodio (NaOH);

1 litro di acqua ultrapura.

Ciascun contenitore di reazione, opportunamente munito di tappo, camicia e contro dilatatore assiale, è trasferito nel microonde CEM Mars X, disposto nell'apposito alloggio e sottoposto alla procedura CEM di digestione che prevede due step consecutivi:

il microonde MDS viene programmato per dieci minuti al 100% della potenza (961 Watts) e il controllore della pressione è settato a 30 psi;

il microonde MDS viene programmato per trenta minuti al 100% della potenza (961 Watts) e il controllore della pressione è settato a 135 psi.

Durante ogni ciclo di digestione è prevista tra i campioni la presenza di un bianco, costituito esclusivamente da 25 ml di soluzione ossidante.

Al termine del processo, ciascun vessel è lasciato raffreddare alla temperatura ambiente e, successivamente, la soluzione viene diluita a 100 ml in un matraccio tarato.

Metodo colorimetrico

Il metodo si basa sulla formazione di un complesso fosfomolibdico di colore blu (del gruppo dei blu di molibdeno) la cui concentrazione viene misurata per via colorimetrica .

In particolare gli ioni ortofosfato formano, con gli ioni molibdato in soluzione solforica, acido fosfomolibdico; quest'ultimo viene ridotto con acido ascorbico a blu di fosfomolibdeno, la cui concentrazione viene determinata fotometricamente.

In seguito alla fase di ossidazione del campione e di successiva filtrazione, un'aliquota pari a 5 ml viene pipettata in una provetta e trattata con i Kit della Merck Spectroquant per analisi fotometriche.

Lo spettrofotometro utilizzato è il Varian Cary 50.

Il Kit utilizzato (1.14848.0001) presenta le seguenti caratteristiche operative:

lunghezza d'onda pari a 710 nm, valore corrispondente al massimo dell'assorbanza;

cuvetta caratterizzata da un cammino ottico pari a 10 mm;

intervallo di misura degli ioni ortofosfato: $0,2 \div 15,3 \text{ mg/l PO}_4^{3-}$.

Dopo l'aggiunta dei reattivi presenti nel Kit, nelle opportune quantità e modalità, e dopo un tempo di reazione di circa cinque minuti, il campione viene passato allo spettrofotometro.

La tecnica di quantificazione utilizzata è quella dello standard esterno con retta di calibrazione a 5 punti. Al fine di valutare la riproducibilità dei risultati, l'analisi relativa al 20% dei campioni è stata ripetuta due volte, con un errore associato alla singola misura pari a $\pm 10\%$.

Metalli pesanti (Cr, Cu, Ni, Pb, V, Sn, Co, Zn, Hg, Cd, As, Fe, Al)

Metodo attacco totale

Le metodiche di mineralizzazione utilizzate sono quelle riportate in EPA 3052.

Una quantità di circa 100 mg di campione precedentemente essiccato a 30°C e polverizzato a $\phi < 30 \mu\text{m}$ è stata portata in soluzione tramite attacco acido totale.

Per la digestione dei sedimenti è stato utilizzato il forno a microne focalizzate Mars X della CEM. È stata utilizzata una procedura a doppio step consistente in una prima fase di digestione (miscela acida: $\text{HNO}_3:\text{HF}:\text{HCl}=9:3:2$) dei campioni e una seconda fase di tamponamento dell'acido fluoridrico con acido borico (30 ml di una soluzione preparata con 15 g di H_3BO_3 in 250 ml di H_2O).

La prima fase consiste in tre step:

- 1) Potenza 1100 W 15.00 min a 600 psi $T=165^\circ\text{C}$
- 2) Potenza 1100 W 10.00 min a 600 psi $T=200^\circ\text{C}$
- 3) Potenza 1100 W 10.00 min a 600 psi $T=220^\circ\text{C}$

La seconda fase consiste in uno step:

1) Potenza 600 W 15.00 min a 100 psi T=170°C

Prima dell'analisi il campione è stato filtrato con filtri da 11 µm.

Lo standard di matrice utilizzato per verificare le prove di recupero e l'affidabilità delle misure è stato il PACS-2 (i cui dati sono relativi a sedimenti di porto analizzati con digestione totale).

La tecnica di quantificazione in ICP-AES (EPA 6010b) e ICP-MS (epa 6020) è stata quella dello standard esterno con curve di calibrazione a 5 punti.

Il recupero stimato per i vari metalli è stato superiore al 95%.

Le analisi di tutti i metalli, tranne Hg, Cd, As e Sn, analizzati in ICP-MS Varian, sono state eseguite con ICP-AES MPX Varian.

In tutte le operazioni analitiche è stata utilizzata acqua di tipo MilliQ e acidi ultrapure.

La deviazione standard associata alle singole misure è stata stimata essere ±10%.

I risultati sono riportati come mg/kg di concentrazione rispetto a peso secco (T=105°C).

Analisi di Cromo Esavalente

Le determinazioni di cromo esavalente sono state effettuate con tecnica di spettrometria di emissione atomica accoppiata a plasma indotto (ICP-OES) previa estrazione del metallo dalla matrice di sedimento.

Il processo di estrazione alcalina (metodo 3060A USEPA) permette di solubilizzare tutti i composti di cromo esavalente, solubili, adsorbiti sulla matrice o presenti in forma di precipitati e di mantenere le condizioni ottimali affinché risultino trascurabili i fenomeni di riduzione di cromo VI a cromo III e l'ossidazione di cromo III a cromo VI.

L'accuratezza del processo estrattivo viene valutata con l'ausilio di uno standard solubile di un sale di cromo esavalente ($K_2Cr_2O_7$) e tramite misure di recupero su campioni contaminati; la valutazione quantitativa del contaminante non può prescindere dalla conoscenza di alcuni parametri fisico-chimici della matrice analizzata quali il pH, l'Eh, il contenuto di ferro II, di materia organica e di solfuri strettamente legati alla capacità del sedimento di interagire e trasformare il metallo dalla sua forma nativa.

Campionamento ed estrazione

Il processo di estrazione è stato realizzato in conformità al metodo epa 3060A come segue. Un'aliquota del campione umido pari a 2.5 ± 0.1 g è stato posto in 50 ml di una soluzione alcalina di idrossido di sodio e carbonato di sodio anidro a pH 13 ± 0.5 ; tenuto in agitazione per qualche minuto al fine di creare una sospensione piuttosto omogenea di sedimento nella soluzione estraente e riscaldato alla temperatura di circa 90 °C per 60 minuti al fine di permettere la solubilizzazione e la stabilizzazione del cromo esavalente in soluzione. Riportata la soluzione a temperatura ambiente si è proceduto ad una prima filtrazione per separare il sedimento, si è portata la soluzione a valore di pH pari a 9 ± 0.5 con aggiunta di acido nitrico 5M ultrapuro; per molti campioni l'acidificazione ha favorito la formazione di precipitati a carattere flocculante più o meno visibile per cui si è scelto di filtrare ulteriormente il campione attraverso una membrana con cut-off 0.45 μ m. La soluzione è stata quindi analizzata all'icp ottico per la determinazione del cromo.

La difficoltà di garantire la determinazione del cromo nella forma esavalente nella matrice di interesse ha richiesto lo svolgimento del processo di estrazione e della successiva determinazione analitica in tempi piuttosto brevi, in accordo con la procedura EPA in cui viene consigliato di procedere alla estrazione entro un mese dal campionamento e alla analisi entro una settimana dalla digestione; tale obiettivo è stato raggiunto con l'ausilio di una piastra magnetica a dieci posti che ha consentito di operare dieci estrazioni in simultanea tenendo il campione in agitazione continua e alla temperatura desiderata.

La digestione è stata realizzata in beaker di vetro borosilicato di capacità 250 ml coperti con watch glasses; l'agitazione è stata ottenuta grazie ad ancorette magnetiche direttamente immerse nella soluzione estraente; per le operazioni di filtrazione, acidificazione e conservazione del campione estratto si è fatto uso di vetreria di laboratorio ad alta precisione e di falcon in polietilene.

Analisi

Le determinazioni analitiche sono state effettuate con tecnica di spettrometria di emissione atomica accoppiata a plasma sulle soluzioni dei campioni precedentemente digeriti.

Prima di effettuare le analisi si è effettuata una calibrazione dello strumento che ha permesso di individuare i valori ottimali dei parametri fisici che governano il rapporto

segnale/background per il metallo di interesse; si è proceduto così alla determinazione dei flussi di argon al plasma, al nebulizzatore, del flusso di refrigerante, della potenza delle radiofrequenze e del sistema di introduzione del campione leggendo uno standard certificato a concentrazione di 5 ppm; si sono trovate le seguenti condizioni operative ottimali: potenza generata in radiofrequenza di 1,20 kW, flusso al plasma 16,5 l/min, flusso al nebulizzatore di 0,85 l/min, flusso ausiliario pari a 1,50 l/min; i parametri fisici di introduzione del campione sono risultati ottimi come segue: velocità della peristaltica 25 rpm e una durata di rinse di 40 s tra un campione e l'altro con un tempo di lettura di 30 secondi.

Le letture sono state precedute da una taratura dello strumento con retta di calibrazione calcolata su soluzioni di standard certificato (bicromato di potassio) a concentrazione nota e un bianco di calibrazione in matrice identica a quella del campione estratto imponendo un errore massimo del 10% sulla lettura stessa; un controllo sulla qualità delle letture è stato realizzato ricorrendo al metodo QC/CCV del software expert della varian, che permette di effettuare una periodica verifica della bontà della calibrazione attraverso la lettura di uno standard ogni dieci campioni analizzati. Le letture sono state determinate per tre delle lunghezze d'onda caratteristiche dell'emissione del cromo al fine di poter valutare ed evidenziare eventuali problematiche legate ad interferenze di carattere chimico o fisico legate al background.

Il campione viene introdotto attraverso una pompa peristaltica che porta la soluzione alla spray chamber high solids (solidi disciolti pari al 5%); per una matrice così carica, data l'impossibilità di ricorrere a diluizione per la presenza in tracce del metallo da determinare ha richiesto di lavorare in condizioni piuttosto spinte di potenza di radiofrequenza e di flussi di argon al nebulizzatore e al plasma.

La sensibilità dello strumento in lettura si è mantenuta buona con le letture e vicina al valore indicato dalla casa costruttrice; non si sono verificati fenomeni di interferenza di natura chimica e il picco relativo al cromo si è presentato ben definito per tutte le letture registrate ad un valore di 5 µg/kg nella soluzione analizzata. Tra le differenti possibilità si è scelta la lettura alla lunghezza d'onda di 267.716, meglio definito e con un buon rapporto segnale background.

Idrocarburi C<12

Principio del metodo

Circa 2g di sedimento sono raccolti in una vial da 20 ml per spazio di testa contenente 10 ml di acqua bidistillata. Al campione è inoltre aggiunto lo standard interno (BFB). Al momento dell'analisi, il campione viene inserito nello spazio di testa per agitazione e riscaldamento in un bagnetto ad 85 °C per 20 min. Il campione viene quindi iniettato nel GC-MS per quantificazione dei singoli composti volatili. In particolare, gli idrocarburi analizzati sono quelli riportati nel metodo EPA 8260b.

Apparecchiatura

Gasromatografo (Thermo Electron TRACE GC) equipaggiato con:

Rivelatore Spettrometro di Massa Quadrupolare (Thermo Electron DSQ) con Sorgente ad Impatto Elettronico (70eV),

Iniettore Split/Splitless, Spazio di Testa (TRIPLUS), controllato da PC.

Colonna capillare Restek-XT[®]-5 (95% dimetil-5%difenilpolisilossano): 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df.

Condizioni gascromatografiche

Temp. Max di esercizio della colonna: 350°C

Gas di trasporto: He; Flusso: 0.8 ml/min

Modalità Iniettore: Split; Split Flow 16; Split Ratio 20 ; Temp. Iniettore: 220°C.

Temp. Detector: 250°C.

Programmata termico del Forno:

| | 3°C/min. | | 60°C/min. . | |
|------------|----------|------|-------------|--------|
| 35°C | ----- | 75°C | ----- | 280°C |
| 0.75min. . | | 5min | | 4 min. |

Volume di iniezione 1µl.

Gli analiti investigati sono riportati nel Metodo EPA 5021 insieme ai differenti ioni qualificatori e quantificatori per ognuno delle singole molecole investigate.

Idrocarburi C>12

Principio del metodo

Gli idrocarburi totali vengono estratti da campioni di terreno con tetracloruro di carbonio, purificati su colonna di gel di silice ed analizzati in FT-IR (metodo EPA 8440).

Reattivi e soluzioni standard

Tetracloruro di carbonio

Soluzione standard di n-esadecano, Clorobenzene, 2,2,4 Trimetilpentano.

Colonna SPE C18 (massa adsorbente/ volume colonna = 5 g / 20 ml)

Apparecchiatura

Normale vetreria da laboratorio.

FT-IR ThermoNicolet 200

Procedimento

5 g di campione terreno essiccato all'aria (granulometria < 2 mm), pesati con la precisione di $\pm 0,01$ g, vengono estratti in bagno ad ultrasuoni per 20 minuti. Il campione viene quindi filtrato attraverso la SPE di gel di silice e quindi analizzata al FT-IR.

Condizioni per l'analisi in FT-IR

L'intervallo di acquisizione per l'analisi degli idrocarburi è quello relativo a 2800-3015 cm^{-1} .

La valutazione del livello di concentrazione dei campioni è stata ottenuta confrontando i valori dell'altezza dello spettro $\sim 2940 \text{ cm}^{-1}$ con i valori ottenuti per le 5 miscele standard utilizzate per la calibrazione della retta di taratura e i cui valori di concentrazione variano tra 2 e 150 ppm.

Idrocarburi Policiclici Aromatici

Principio del metodo

Gli Idrocarburi Policiclici Aromatici sono estratti da campioni di sedimento precedentemente essiccato all'aria setacciato (granulometria < 2mm) e pestato, con una miscela di Esano:Acetone 80:20, concentrati a circa 1 ml, purificati su colonna di gel di silice ed analizzati in GC-MS in modalità SIM. La procedura prevede lo spiking del campione in fase di preparazione con standard di estrazione (sette IPA deuterati) ed interno (tre IPA deuterati) in grado di monitorare i valori del recupero dei diversi analiti nelle varie fasi di lavoro (estrazione e iniezione al GasMassa).

Reattivi e Soluzioni Standards

- R1. Acetone per pesticidi
- R2. Esano per pesticidi
- R3. Cicloesano per pesticidi
- R4. Toluene per pesticidi
- R5. Sodio solfato anidro
- R6. Terra di diatomee

a. Soluzione standard nativi da 1 ml di una miscela di IPA (Tab.1): 2µg/ml cadauno in toluene.

b. Soluzione standard deuterati di estrazione da 1 ml di una miscela di IPA (Tab.2): 2µg/ml cadauno in toluene.

c. Soluzione standard deuterati di siringa da 1 ml di una miscela di IPA (Tab.3): 2µg/ml cadauno in toluene.

d. Soluzioni standards di IPA per la curva di calibrazione a cinque punti con concentrazioni calcolate di 57, 113, 227, 454, 909 ng/ml, rispettivamente, preparati per diluizione della soluzione (a) con toluene e per aggiunta di 50µl della soluzioni (b) e 50µl della soluzione (c).

e. Soluzione standard di estrazione: 0.01818 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione (b) con toluene.

f. Soluzione standard interno: 0.091 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione (c) con toluene.

Apparecchiatura

Normale vetreria da laboratorio

Gascromatografaco (Thermo Electron TRACE GC) equipaggiato con: Rivelatore Spettrometro di Massa Quadrupolare (Thermo Electron DSQ) con Sorgente ad Impatto Elettronico (70eV), Iniettore Split/Splitless, Autocampionatore per liquidi a 100 posti (TRIPLUS), controllato da PC.

Colonna capillare Restek-XT®-5 (95% dimetil-5%difenilpolisilossano): 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df.

Estrattore Accelerato con Solvente (Dionex ASE 200).

Tubi SPE, Silice 2g/15ml.

Turbo Vap® II.

Procedimento

2g di campione essiccato all'aria (granulometria < 2 mm), pesati con la precisione di ± 0.01g, vengono trasferiti insieme a 2g di terra di diatomee in un tubo d'estrazione in acciaio da 33 mL per ASE a cui viene aggiunto 1 ml di standard SS (1.11). Si sottopone ad estrazione accelerata con una miscela Esano- Acetone 80:20 per pesticidi (miscela estraente) secondo il programma riportato:

Pressione: 1500 psi

Temperatura: 113°C

Static Time: 5 min.

Flush volume: 60%

Static cycle: 1

L'estratto raccolto in una vial in vetro scuro da 40 ml viene completamente portato a secco mediante TurboVap II. Si effettua il cambio di solvente aggiungendo 1 ml di Cicloesano per pesticidi.

L'estratto viene trasferito su colonna di gel di silice contenente uno strato di sodio solfato anidro di 1 cm (previamente attivata con 25 ml di esano per pesticidi) ed eluito prima con 20 ml di esano che vengono scartati, e successivamente con 20 ml di una miscela Cicloesano÷Acetone 70:30 che vengono raccolti in una vial e concentrati a circa 1 ml. L'eluato è infine trasferito in una vial da 1 ml per autocampionatore dove è portato completamente a secco mediante corrente di azoto e ripreso con 200 µl della miscela standard IS (f).

1 µl di tale soluzione è iniettato al GC-MS in modalità SIM.

Condizioni gas-cromatografiche

Temperatura Max di esercizio della colonna: 350°C

Gas di trasporto: He; Flusso: 1.2 ml/min

Modalità Iniezione:

Spitless

Splitless time: 1.50 min

Temperatura Iniettore: 280°C.

Temperatura Sorgente: 280°C.

Programmata termica del Forno:

| | | | | |
|------------------------|-----------|-------|----------|---------------------------|
| | 15°C/min. | | 7°C/min. | |
| 80°C | ----- | 200°C | ----- | 305°C |
| 1.5min. | | | | 10 min. |
| Run Time: 34.50 minuti | | | | Volume di iniezione: 1µl. |

TABELLA 1

- Naphthalene
- Acenaphthylene
- Acenaphthene
- Fluorene
- Phenanthrene
- Antracene
- Fluoranthene
- Pyrene
- Benz[a]anthracene
- Chrysene
- Benzo[b]fluoranthene
- Benzo[k]fluoranthene
- Benzo[j]fluoranthene
- Benzo[e]pyrene
- Benzo[a]pyrene
- Perylene
- Indeno[1,2,3-cd]pyrene
- Benzo[ghi]perylene
- Dibenzo[a,h]antracene
- Dibenzo[a,l]pyrene
- Dibenzo[a,e]pyrene

- Dibenzo[a,i]pyrene
- Dibenzo[a,h]pyrene

TABELLA 2

- Acenaphthene-d10
- Phenanthrene-d10
- Fluoranthene-d10
- Benz[a]antracene-d12
- Benzo[a]pyrene-d12
- Dibenzo[a,h]antracene-d14
- Dibenzo[a,i]pyrene-d14

TABELLA 3

- Acenaphthylene-d8
- Chrysene-d12
- Indeno[1,2,3-cd]pyrene-d12

PCB

Principio del metodo

I PCB sono estratti da campioni di sedimento precedentemente essiccato all'aria setacciato e pestato, con una miscela di Esano ÷ Acetone 80:20, concentrati a circa 1 ml, purificati su colonna Florisil ed analizzati in GC-MS in modalità SIM.

Reattivi e Soluzioni Standards

1.1 Acetone per pesticidi.

1.2 Esano per pesticidi.

1.3 Isoottano per pesticidi.

1.4 Sodio solfato anidro.

1.5 Terra di diatomee.

1.6 Soluzione standard nativi da 1 ml di una miscela di PCB (Tab.1): 10µg/ml cadauno in isoottano.

1.7 Soluzione standard deuterato di estrazione PCB 105: 2µg/ml in nonano.

1.8 Soluzione standard di siringa PCB 209 in isoottano 2µg/ml.

1.9 Soluzioni standards di PCB per la curva di calibrazione (113-227-454-950-1050) ng/ml, sono preparati per diluizione della soluzione 1.6 con isoottano e per aggiunta di 50µl della soluzioni 1.7 (SS) e 50µl della soluzione 1.8 (IS).

1.10 Soluzione standard di estrazione (SS): 0.01818 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione 1.7 con isoottano.

1.11 Soluzione standard interno (IS): 0.091 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione 1.8 con isoottano.

Apparecchiatura

Normale vetreria da laboratorio

Gascromatografaco (Thermo Electron TRACE GC) equipaggiato con:

Rivelatore Spettrometro di Massa Quadrupolare (Thermo Electron DSQ) con Sorgente ad Impatto Elettronico (70eV),

Iniettore Split/Splitless, Autocampionatore per liquidi a 100 posti (TRIPLUS), controllato da PC.

Colonna capillare Restek-XT[®]-5 (95% dimetil-5% difenilpolisilossano): 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df.

Estrattore Accelerato con Solvente (Dionex ASE 200).

Tubi Florisil 1g-6ml l.

Procedimento

2g di campione essiccato all'aria (granulometria < 2 mm), pesati con la precisione di ± 0.01g, vengono trasferiti insieme a 2g di terra di diatomee in un tubo d'estrazione in acciaio da 33 mL per ASE a cui viene aggiunto 1 ml di standard SS. Si sottopone ad estrazione accelerata con una miscela Esano- Acetone 80:20 per pesticidi (miscela estraente) secondo il programma riportato:

Pressione: 1500 psi

Temperatura: 113°C

Static Time: 5 min.

Flush volume: 60%

Static cycle: 1

L'estratto raccolto in una vial in vetro da 40 ml viene completamente portato a secco mediante una pompa da vuoto. Si riprende il campione con 1 ml una miscela Esano: Isoottano 1:1 per pesticidi.

L'estratto viene trasferito su colonna Florisil da 1g-6ml contenente uno strato di sodio solfato anidro di 1 cm (previamente attivata con 10 ml di esano per pesticidi) ed eluito con 20 ml di Esano: isoOttano 1:1 che vengono raccolti in una vial e concentrati a circa 1 ml. L'eluato è infine trasferito in una vial da 1 ml per autocampionatore dove è portato completamente a secco mediante corrente di azoto e ripreso con 200 µl della miscela standard IS.

Condizioni gascromatografiche

Temp. Max di esercizio della colonna: 350°C

Gas di trasporto: He; Flusso: 1.4 ml/min

Modalità Iniettore: Splitless w/Surge; Splitless time 1.50 min; Temp. Iniettore: 250°C.

Temp. Detector: 300°C.

Programmata termico del Forno:

| | | | | | |
|---------|-----------|-------|------------|-------|------------|
| | 18°C/min. | | 6°C/min. . | | 50°C/min |
| 40°C | ----- | 140°C | ----- | 290°C | -----315°C |
| 2min. . | | | | | |

Volume di iniezione: 1µl.

TAB.1

PCB Congeneri

29, 52, 49, 44, 28, 74, 70, 66, 95, 60, 101, 99, 81, 87, 110, 77, 151, 149, 118, 114, 146, 153, 105, 179, 138, 158, 126, 166, 187, 183, 128, 177, 156, 180, 169, 170, 189

Pesticidi organoclorurati

Principio del metodo

I pesticidi sono estratti da campioni di sedimento precedentemente essiccato all'aria setacciato e pestato, con una miscela di Esano ÷ Acetone 80:20, concentrati a circa 1 ml, purificati su colonna Florisil ed analizzati in GC-MS in modalità SIM.

Reattivi e Soluzioni Standards

1.1 Acetone per pesticidi.

1.2 Esano per pesticidi.

1.3 Isoottano per pesticidi.

1.4 Sodio solfato anidro.

1.5 Terra di diatomee.

1.6 Soluzioni standard nativi da 5 ml di ogni singolo pesticida elencato in TAB 1 da 100µg/ml.

1.7 Soluzione standard interno endosulfanlattone.

1.8 Soluzione standard di siringa tetracloro m-xylene .

1.9 Soluzioni standards di pesticidi per la curva di calibrazione (28; 56; 113; 227; 454) ng/ml, sono preparati per diluizione di una soluzione madre preparata a partire dai singoli pesticidi elencati in TAB.1 con isoottano e per aggiunta di 50µl della soluzioni 1.7 (SS) pari a 45 ppb e 50µl della soluzione 1.8 (IS) pari a 45 ppb.

1.10 Soluzione standard di estrazione (SS): 0.01818 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione 1.7 con isoottano.

1.11 Soluzione standard interno (IS): 0.045 µg/ml viene preparata per diluizione della soluzione 1.8 con isoottano.

Apparecchiatura

Normale vetreria da laboratorio

Gascromatografaco (Thermo Electron TRACE GC) equipaggiato con: Rivelatore Spettrometro di Massa Quadrupolare (Thermo Electron DSQ) con Sorgente ad Impatto Elettronico (70eV), Iniettore Split/Splitless, Autocampionatore per liquidi a 100 posti (TRIPLUS), controllato da PC.

Colonna capillare Restek-XT[®]-5 (95% dimetil-5%difenilpolisilossano): 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df.

Estrattore Accelerato con Solvente (Dionex ASE 200).

Tubi Florisil 1g-6ml l.

Procedimento

2g di campione essiccato all'aria (granulometria < 2 mm), pesati con la precisione di ± 0.01 g, vengono trasferiti insieme a 2g di terra di diatomee in un tubo d'estrazione in acciaio da 33 mL per ASE a cui viene aggiunto 1 ml di standard SS (**1.10**). Si sottopone ad estrazione accelerata con una miscela Esano- Acetone 80:20 per pesticidi (miscela estraente) secondo il programma riportato:

Pressione: 1500 psi

Temperatura: 113°C

Static Time: 5 min.

Flush volume: 60%

Static cycle: 1

L'estratto raccolto in una vial in vetro da 40 ml viene completamente portato a secco mediante una pompa da vuoto. Si riprende il campione con 1 ml una miscela Esano: Isoottano 1:1 per pesticidi.

L'estratto viene trasferito su colonna Florisil da 1g-6ml contenente uno strato di sodio solfato anidro di 1 cm (previamente attivata con 10 ml di esano per pesticidi) ed eluito con 20 ml di Esano: isoOttano 1:1 che vengono raccolti in una vial e concentrati a circa 1 ml. L'eluato è infine trasferito in una vial da 1 ml per autocampionatore dove è portato completamente a secco mediante corrente di azoto e ripreso con 200 μ l della miscela standard IS (**1.11**).

Condizioni gascromatografiche

Temp. Max di esercizio della colonna: 350°C

Gas di trasporto: He; Flusso: 1.4 ml/min

Modalità Iniettore: Splitless; Splitless time 1.50 min; Temp. Iniettore: 250°C.

Temp. Detector: 300°C.

Programmata termico del Forno:

| | | | | | | |
|-------|-----------|-------|-----------|-------|----------|---------|
| | 18°C/min. | | 10°C/min. | | 50°C/min | |
| 70°C | ----- | 170°C | ----- | 300°C | ----- | 315°C |
| 1min. | | | | | | 7.14min |

Volume di iniezione: 1µl.

TAB.1

Pesticidi
BHC alfa
Atrazina
BHC gamma
BHC beta
Alachlor
Aldrin
Trans Chlordane
Cis Chlordane
44 DDE
Dieldrin
Endrin
44DDD
44DDT

Diossine e Furani

Per la determinazione di diossine e furani è stata seguita la procedura indicata a seguito costituita da tre fasi distinte, estrazione delle molecole di interesse dai campioni di sedimento, purificazione delle molecole estratte precedentemente, quantificazione degli analiti al GC-MS. Per garantire la qualità del risultato prodotto si è proceduto ad

effettuare le analisi su tre repliche ed analizzando parallelamente almeno due bianchi:

Estrazione (Metodo EPA 3545A).

L'estrazione pressurizzata con solventi (ASE) permette di estrarre le diossine in maniera equivalente ai sistemi Soxhlet, impiegando minori quantità di solventi con un forte risparmio di tempo in quanto operano ad alti valori di temperatura (100-180 °C) e pressioni (1500-2000 psi). I campioni macinati e polverizzati, addizionati di idromatrice (terra di diatomee), sono

trasferiti nelle celle di acciaio del sistema di estrazione accelerata ASE (Dionex). Il solvente utilizzato per l'estrazione è stato toluene per pesticidi, preventivamente testato in modo da verificarne la purezza dal punto di vista delle diossine e dei furani. Dopo raffreddamento, l'estratto è concentrato a 2 mL per la successiva purificazione.

Purificazione (Metodo EPA 1613)

Il clean-up dell'estratto è stato effettuato su colonne di vetro (15 mm i.d.) impaccate con: 1 g di gel di silice 70-230 mesh ; 4g di gel di silice impregnato con idrossido di sodio; 1g di gel di silice; 8g di gel di silice acidificato, 2g di gel di silice; 4g di sodio solfato granulare anidro. La colonna è condizionata con 50-100 mL di n-esano, quindi è caricato

il campione ed fluito con 100 mL di n-esano. Il campione raccolto è stato concentrato e purificato su colonnina costituita da pipetta pasteur impaccata con 0.55 g di Carbopak/Celite ed fluita con cicloesano/cloruro di metilene (50/50vv) e cloruro di metilene/metanolo/toluene (75/20/5vv). Al termine di questa operazione la colonna è invertita ed i CDDs/CDFs sono eluiti con 20 mL di toluene. La fase toluenica concentrata fino al volume di 100 µl sotto flusso di azoto sarà sottoposta ad analisi HRMS. La resa analitica sarà valutata mediante l'aggiunta di standard interno costituito da: 1,2,3,4 13CTCDD e da 1,2,3,7,8,9, 13C- HxCDD (con grado di purezza del 99% fornite da CIL) Come standard di recupero sono state utilizzate le seguenti molecole:

2,3,7,8 13C- TCDD (recupero del 99%) e 1,2,3,6,7,8, 13C- HxCDD (recupero del 92%).

Separazione, identificazione e quantificazione mediante GC-MS

(Metodo EPA 1613)

Per l'identificazione e la quantificazione delle diossine e dei furani saranno impiegati i metodi EPA n° 1613. La separazione è stata effettuata mediante uno spettrometro di massa ThermoFinnigan mod. GCQ-Plus a trappola ionica. E' stata impiegata una colonna cromatografica SBP-5 (Supelco), spessore del film 0,25 µm, da 30 m di lunghezza, temperatura dell'iniettore 250 °C, tempo valvola splitless 60 secondi, temperatura interfaccia 300 °C. Il programma di temperatura della colonna è stato il

seguente: 110°C per 1 min, portata a 220 °C per 2 min con aumento di 20°C al min e poi portata a 300 °C per 5 min con aumento di 10 °C/min. Il limite di quantificazione dichiarato del metodo è 1*10⁻⁶ mg/kg p.s. per ogni singolo congenere ricercato.

Clorobenzeni (tetra, penta ed esa)

Principio del metodo

I Clorobenzeni (tetra, penta ed esa) vengono estratti da campioni di terreno con n-esano / iso-ottano ÷1/1(v/v) per pesticidi, purificati su colonna di Florisil ed analizzati in GC-MS.

Reattivi e soluzioni standard

iso-ottano per pesticidi

n-Esano per pesticidi per pesticidi

Sodio solfato anidro RPE (preattivato a 550°C).

Celite RPE

Soluzione Standard Certificata di 1,2,4,5-tetraclorobenzene :100 µg/ml in diclorometano

Soluzione Standard Certificata di pentaclorobenzene :100 µg/ml in diclorometano

Soluzione Standard Certificata di esaclorobenzene :100 µg/ml in diclorometano

Soluzione Standard Certificata di 2,4,5,6-tetracloro-m-xilene :2000 µg/ml in acetone

Soluzioni Multi-standard di Clorobenzeni utilizzate per la curva di calibrazione (50 –100 – 200 – 500 e 1000) ng/ml, ciascuna contenente 200 ng/ml di 2,4,5,6-tetracloro-m-xilene (ISTD), vengono preparate per diluizione, con n-Esano- iso-ottano ÷1/1 (v/v), a partire dalle soluzioni standard

Colonna Restek XTI[®] – 5 da 30 m ; 0,32 mm ID ; 0,5 µm df;

Procedimento

10 g di campione terreno essiccato all'aria (granulometria < 2 mm), pesati con la precisione di ± 0,01 g, vengono impastati in una capsula di porcellana con 5 g di Celite; il tutto viene trasferito in un tubo d'estrazione di acciaio da 33 ml per "ASE". Si chiude accuratamente il contenitore posizionandolo nell'apposito carosello e si sottopone ad estrazione accelerata con n-Esano- iso-ottano ÷1/1 (v/v) (miscela estraente) secondo il seguente programma:

Pressione: 1400 psi

Temperatura: 100°C

Clorofenoli

Principio del metodo

Il metodo impiegato si basa sull'analisi tramite cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) di un estratto organico, ottenuto da un campione di sedimento, utilizzando un rivelatore UV all lunghezza d'onda di 220 nm.

Apparecchiatura

Normale attrezzatura da laboratorio.

Flaconcini in vetro, tipo Vial, con tappo in gomma rivestito in politetrafluoroetilene.

Microsiringhe per liquidi.

Cromatografo liquido ad alte prestazioni (HPLC) JASCO PU 1580 dotata di rivelatore UV JASCO UV 1575 e sistema a gradiente ternario con degaser e autiocampionatore.

Colonna cromatografica "Envirosep PP" della Phenomenex di lunghezza 125 mm, diametro interno 4.6 mm.

Bagno ad ultrasuoni termostato.

Evaporatore rotante.

Reattivi

Acetonitrile per HPLC.

Sodio solfato anidro.

Acido acetico glaciale.

Standard puri dei clorofenoli per la calibrazione del metodo della LABSERVICE.

Procedimento

Estrazione del campione

In un flaconcino sono stati pesati 2 g) di fango e sono stati addizionati 1 ml di acido acetico. È stata introdotta una aliquota di sodio solfato sufficiente a disidratare il fango, quindi sono stati aggiunti 10 ml di acetonitrile. L'estrazione è stata protratta per

30 minuti in bagno a ultrasuoni la cui temperatura non ha superato i 30 °C. L'estrazione è stata ripetuta altre due volte. Dopo decantazione, i tre estratti sono stati filtrati e riuniti in un palloncino da rotavapor e preconcentrati. Mediante flusso di azoto, è stata effettuata la concentrazione fino ad 1 ml.

Determinazione cromatografia

So stati iniettati 20 µl, nello strumento già predisposto per l'analisi ed è stata misurata l'area dei picchi.

L'identificazione dei Fenoli presenti nel campione è stata eseguita in base al confronto dei tempi di ritenzione dei picchi incogniti con quelli degli standards di riferimento. L'analisi quantitativa è stata effettuata con il metodo dello standard esterno mediante curva di taratura, una per ogni singolo composto, preparando le soluzioni standard e registrando le aree dei picchi.

ΣTBT

L'analisi dei composti organostannici espressa come ΣTBT è stata eseguita tramite estrazione in ASE 200 e conseguente analisi dell'estratto in ICP-MS.

Condizioni strumentali per l'estrazione in ASE 200

Volume celle: 40 ml

Peso del campione: 2g

Solvente di estrazione: Acetato di sodio 1M, Acido acetico in metanolo (1:1)

Pressione: 1500 psi

Temperatura del forno: 100°C

Volume di flushing: 60% volume celle di estrazione

Purge in azoto: 150 psi per 60 sec

L'estratto viene analizzato in ICP-MS per la quantificazione dello Sn. La curva di taratura è stata costruita con la tecnica dello standard esterno con 5 punti di calibrazione.

Le prove di recupero effettuate sulla matrice certificata BCR646 hanno dato valori superiori al 95%.

Amianto

Le analisi diffrattometriche sono state realizzate utilizzando il diffrattometro X-Pert Pro della

Philips S.p.A. e il software di gestione dati X-Pert High Score corredato di database PDF-2.

L'analisi è stata eseguita mediante diffrazione a raggi X su un campione di tufo, previa macinazione dello stesso con l'ausilio di apposito mulino Minimill II a sfere di Zirconia.

Condizioni operative strumentali:

Tensione: 40 kV

Corrente: 40 mA

Tempo: 3 sec./step

Step: 0.05°

Temperatura di prova: 25°C

Anodo: Cu

Analisi granulometrica

Per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti marini è stata seguita la seguente metodica, proposte dal documento ICRAM CII-CA-03/05.

Ogni campione è stato trattato con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (2:8) per 48 ore a temperatura ambiente per facilitare la separazione dei granuli.

In seguito, il sedimento è stato separato su maglia da 63 μm in umido con acqua distillata; le due frazioni ottenute sono state essiccate in stufa a 40°C e successivamente pesate.

La frazione $> 63 \mu\text{m}$ (sabbia e ghiaia) è stata vagliata con pile di setacci da -1 a 4 phi con un intervallo di 0,5 phi (phi = $-\log_2$ del valore in mm) della serie ASTM; il sedimento corrispondente a ciascun intervallo è stato pesato ed al termine delle operazioni è stato calcolato il peso dell'intera frazione.

Per la determinazione della frazione fine o pelitica ($< 63 \mu\text{m}$) è stata seguita la seguente procedura:

quartatura per ottenere la massima distribuzione casuale dei granuli;
mantenuta in sospensione per 24 ore in una soluzione di acqua distillata ed esametafosfato di sodio (0,05%) in ragione di 2,5 g di campione per 100 ml di soluzione;
infine, trattata con ultrasuoni la frazione fine è stata analizzata mediante granulometro laser (Laser Particle-Size Analyzer).

I risultati analitici, espressi *in percentuale* (come rapporto tra il peso della frazione granulometrica ed il peso del campione totale), sono stati restituiti in forma tabellare, suddividendo il campione nelle classi granulometriche ghiaia, sabbia, silt e argilla (pelite), secondo le seguenti classi dimensionali:

| |
|------------------------------|
| Ghiaia > 2 mm |
| Sabbia 2 mm > x > 0,063 mm |
| Silt 0,063 mm > x > 0,004 mm |
| Argilla < 0,004 mm |

Analisi microbiologiche

Per le analisi microbiologiche sono stati applicati i protocolli standard e le metodiche riportate nel Manuale ICRAM, ottobre 2002. Le schede relative ai risultati sono riportate nell'Allegato 9.

Preparazione del campione

Per ottenere una dispersione omogenea dei microrganismi, subito dopo la consegna in laboratorio, il campione di sedimento è stato sottoposto ad una fase di diluizione-omogeneizzazione in soluzione fisiologica tamponata, su agitatore magnetico per 15 minuti. Successivamente, dalla sospensione sono state effettuate diluizioni seriali decimali utilizzate per l'inoculo in terreni di coltura specifici.

Ricerca spore di clostridi solfito-riduttori

Dopo omogeneizzazione, la sospensione di sedimento è stata sottoposta ad un pretrattamento a 75°C per 15 minuti per eliminare le forme vegetative dei batteri sporigeni. Il conteggio delle spore di clostridi solfito-riduttori è stato effettuato utilizzando la tecnica dell'inclusione in terreno di coltura SPS, così come descritto dal manuale ICRAM-Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, scheda 6 – Analisi di spore di clostridi solfito-riduttori.

Escherichia coli

Il conteggio di *E. coli* è stato condotto secondo la tecnica MPN utilizzando un terreno di coltura a base di MUG (4-metilumbelliferil- β -D-Glucuronide), peptone, salicina e Triton X. *E. coli*, se presente nel campione, idrolizza il MUG in 4-metilumbelliferone e nel suo costituente glucuronide. La produzione di 4-metilumbelliferone, indicata dalla comparsa di una fluorescenza blu, può essere osservata con l'ausilio di una lampada UV a 366 nm. L'utilizzo di una elevata concentrazione di peptone e salicina consente un eccellente recupero dei batteri da ambienti stressanti, mentre il Triton X favorisce la dispersione dei microrganismi e del fluorogeno nel terreno di coltura.

L'uso di questo specifico terreno è stato reso necessario per aumentare la specificità e sensibilità del metodo in relazione alla particolare natura dei campioni da esaminare.

Streptococchi fecali

Il conteggio degli streptococchi fecali è stato condotto secondo la tecnica MPN utilizzando un terreno di coltura a base di MUD (4-metilumbelliferil- β -D-Glicoside). La particolare composizione del terreno di coltura consente un ottimo recupero di questi batteri da ambienti marini. L'elevata concentrazione di peptone e galattosio permette una rapida crescita anche dei batteri stressati, il polisorbato, il monopotassio fosfato e l'idrogenocarbonato di sodio migliorano la resa del terreno, l'acido nalidixico blocca al replicazione del DNA nei batteri sensibili e il tallio acetato inibisce la maggior parte della microflora contaminante. In questo modo si assicura una conta ottimale di streptococchi fecali in quasi completa assenza di altri batteri. Gli streptococchi, se presenti nel campione inoculato, idrolizzano il MUD in 4-metilumbelliferone e glucosio. La produzione di 4-metilumbelliferone, indicata dalla comparsa di una fluorescenza blu, può essere osservata con l'ausilio di una lampada UV a 366 nm.

L'uso di questo specifico terreno è stato reso necessario per aumentare la specificità e sensibilità del metodo in relazione alla particolare natura dei campioni da esaminare.

Salmonella spp.

Dal campione omogeneizzato sono stati prelevati 10 g ed inoculati in 90 mL di acqua peptonata tamponata. Dopo incubazione sono stati effettuati due arricchimenti, uno in Selenite broth ed un altro in Tetrathionate Broth. Gli arricchimenti sono stati incubati a 37°C fino 5 giorni. Subculture sono state preparate inoculando McConkey agar e SS agar. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore sono state selezionate le colonie con morfologia tipica, che sono state sottoposte ad analisi biochimiche e sierologiche.

Espressione dei risultati

Per *Salmonella* i risultati sono stati riportati come presenza o assenza in 10g di sedimento (peso umido), mentre per streptococchi fecali, spore di clostridi solfito-riduttori, ed *E. coli* le concentrazioni sono state espresse come UFC o MPN g-1 di sedimento (peso umido).