

A. ARIZZI NOVELLI, C. LOSSO, G. LIBRALATO, A. VOLPI GHIRARDINI

Environmental Sciences Department, Università Cà Foscari Venezia,  
Campo della Celestia, 2737/b - 30122 Venezia, Italia.  
arizzi@unive.it

## VALUTAZIONE DELLE METODOLOGIE DI ELUTRIAZIONE MEDIANTE SAGGI DI TOSSICITÀ

### ASSESSMENT OF SEDIMENT ELUTRIATION METHODOLOGIES THROUGH TOXICITY BIOASSAYS

#### **Abstract**

*A methodological research was carried out in order to evaluate the ability of four different elutriation ratios (1:4, 1:20, 1:50 and 1:200) in discriminating pollution/bioavailability between six sampling stations, of the Lagoon of Venice and using toxicity bioassays (sea urchin *Paracentrotus lividus* Lmk sperm cell and embryo toxicity bioassay and bivalve mollusc *Crassostrea gigas* Thunberg embryo toxicity bioassays).*

**Key-words:** sediment, elutriate, different elutriation ratios, toxicity bioassays.

#### **Introduzione**

L'elutriato è la matrice di saggio più indicativa e realistica nello studio degli effetti della movimentazione dei fondali (ASTM, 1991; USEPA, 2001), essendo in grado di simulare gli effetti della mobilizzazione del sedimento di fondo sulla colonna d'acqua. La maggior parte delle metodiche si rifanno ai protocolli USACE (1978) e USEPA (2001) per valutare il potenziale pericolo associato al rilascio di contaminanti dallo scarico di sedimenti dragati nelle acque oceaniche. Il rapporto sedimento-acqua generalmente consigliato è quello 1:4. In letteratura, è stato riscontrato, però, che le diverse metodiche di elutriazione differiscono per una serie di fattori quali: il rapporto sedimento-acqua, i sistemi meccanici di agitazione del sedimento, i tempi di agitazione e le metodiche di separazione del surnatante. In particolare, è ormai riconosciuto che il fattore di diluizione risulta essere cruciale nel determinare il profilo di tossicità di un campione, evidenziando che l'unico modo per caratterizzare pienamente il sedimento è quello di eseguire i test con l'elutriato rispetto ad una serie di diluizioni (Meador *et al.*, 1990). In questo lavoro la metodologia USEPA è stata posta a confronto con altri rapporti (1:20) (USACE, 1978) e 1:50 e 1:200, (Da Ros *et al.*, 1997), al fine di comprenderne la reale rappresentatività e capacità discriminatoria analizzando i sedimenti di diverse aree della Laguna di Venezia ed utilizzando una batteria di saggi biologici costituita dal saggio di fecondazione e di embriotossicità con il riccio di mare *Paracentrotus lividus* e dal saggio di embriotossicità con il bivalve *Crassostrea gigas*.

#### **Materiali e metodi**

Sono state selezionate cinque aree di campionamento con diverso grado di contaminazione e sei punti di campionamento: Palude Centrega Sud Ce(a) (intertidale) e Palude Centrega Sud Ce(b) (subtidale), caratterizzate da elevata biodiversità e diversità morfologica e contraddistinte dalla diretta ricezione della marea entrante; Osellino (OS) sito estuarino con inquinamento di tipo urbano, industriale, agricolo e da discarica incontrollata; Dese (DE) sito estuarino interessato da un inquinamento diffuso di origine agricola; Bretelle (BR) con presenza di diossine; e Canale Industriale Sud (SA) caratterizzato da inquinamento di tipo

industriale. Il campionamento dei sedimenti è stato eseguito secondo Volpi *et al.* (2005). I campioni sono stati trattati in base alle procedure ASTM (1990) e SETAC (1993). L'elutriato è stato preparato tramite agitazione in Jar Test (30 min e 24 h), considerando il peso secco per il calcolo del rapporto sedimento-acqua, ed eliminando la fase di filtrazione (Carr e Chapman, 1995; Da Ros *et al.*, 1997). I saggi di fecondazione e di embriotossicità con *P. lividus* sono stati eseguiti secondo i protocolli Volpi Ghirardini e Arizzi (2001) e Arizzi Novelli *et al.* (2002), mentre quello con *C. gigas* in base al protocollo His *et al.* (1997) modificato per pool di gameti. La tossicità è stata espressa o come percentuale di effetto (%) o come EC50/UT50, ove calcolabile.

## Risultati

I controlli negativi e positivi sono risultati entro i limiti di accettabilità dei rispettivi metodi (Volpi Ghirardini e Arizzi Novelli, 2001; Arizzi Novelli *et al.*, 2002; His *et al.*, 1997). I risultati del test di fecondazione con *P. lividus* hanno evidenziato che alle diluizioni 1:4 e 1:20, OS e BR sono i campioni più tossici, segue CE(b) a 1:20, mentre per tutti gli altri campioni la tossicità è espressa come % di effetto. Alla diluizione 1:50, mentre BR, SA e CE(b) si collocano fra le stazioni più tossiche, OS, DE e CE(a) hanno tossicità rilevabile solo come % di effetto. Alla massima diluizione (1:200) solo CE(a) e CE(b) risultano essere tossiche. E' apparso, quindi, che anche aree caratterizzate da elevata biodiversità e diversità morfologica, così come dalla diretta ricezione della marea entrante, quali CE(a) e CE(b), possono presentare livelli di tossicità variabili al variare del rapporto sedimento-acqua. L'analisi della tossicità rispetto alle 4 diluizioni e alle 6 stazioni ha permesso di evidenziare che la tossicità aumenta all'aumentare della diluizione nei siti scelti come potenziale riferimento (CE(a) e CE(b)), aumentando sino ad una delle due diluizioni intermedie (1:20 o 1:50), per poi diminuire alla diluizione maggiore (1:200) (OS, DE, BR, SA). I risultati relativi ai test di embriotossicità con *P. lividus* hanno evidenziato che il rapporto 1:20 rispetto a quello 1:4 presenta un aumento della tossicità dei campioni, tranne per OS. Al rapporto 1:20, il gradiente di tossicità dei campioni risulta essere pari a quello riscontrato ad 1:4, cioè OS > BR > DE > CE(a). Alla diluizione 1:50 tutte le stazioni risultano essere esprimibili tramite un valore di UT50. Ad 1:200, solo le stazioni CE(a) e CE(b) hanno evidenziato una tossicità consistente, viceversa per le altre stazioni la tossicità è esprimibile solo come % di effetto. L'analisi complessiva della tossicità ha permesso di evidenziare che la tossicità aumenta all'aumentare della diluizione per CE(a), diminuisce all'aumentare della diluizione per OS e aumenta sino ad una delle due diluizioni intermedie (1:20 o 1:50), per poi diminuire alla diluizione maggiore (1:200) per DE, BR, SA e CE(b). Per le stazioni DE, BR e SA si conferma quanto registrato dal test di fecondazione. Per il test di embriotossicità con *C. gigas* i risultati hanno evidenziato che CE(a) presenta una tossicità crescente da 1:4 (% effetto nulla) a 1:20 (UT50) a 1:50 (UT50), a cui si registra il livello di massima tossicità, che tende poi a diminuire leggermente da 1:50 a 1:200 (UT50); CE(b) presenta un andamento della tossicità analogo a CE(a), salvo che anche al rapporto 1:20 la tossicità è esprimibile mediante una % di effetto; OS presenta una tossicità massima a 1:4 (UT50) che si dimostra decrescente all'aumentare della tossicità, sino a giungere ad una % di effetto molto bassa a 1:200; DE presenta un andamento della tossicità analogo a CE(a), salvo che la tossicità massima si registra a 1:20, tutte le tossicità risultano essere esprimibili tramite una EC50; BR presenta una tossicità massima a 1:4, in diminuzione a 1:20 (% effetto), ma riacquista, in seguito, un andamento analogo

a quello di CE(a); SA presenta un andamento della tossicità simile a BR, salvo che nelle quattro stazioni la tossicità è sempre esprimibile come UT50. L'analisi della tossicità ha permesso di evidenziare che la tossicità diminuisce all'aumentare della diluizione per OS, confermando quanto riscontrato dal test di embriotossicità con *P. lividus* e aumenta sino ad una delle due diluizioni intermedie (1:20 o 1:50), per poi diminuire in modo lieve alla diluizione maggiore (1:200) in CE(a), CE(b), DE, e molto più marcato in BR, SA. Per le stazioni DE, BR e SA si conferma quanto registrato con *P. lividus*.

## Conclusioni

Il presente studio ha messo in luce la presenza di livelli di tossicità a tutte le diluizioni considerate. Nessun rapporto sedimento-acqua ha dimostrato di avere una validità assoluta, ma è stato valutato che il rapporto 1:4, ha dimostrato una capacità discriminativa, in genere, inferiore a quella delle diluizioni intermedie (1:20 e 1:50) ed occasionalmente, anche, di 1:200. E' risultato indubbio che la valutazione della qualità del sedimento mediante la matrice di saggio elutriato è solo parziale, se si procede nell'indagine considerando un solo rapporto sedimento-acqua, con il rischio di incorre in valutazioni che potrebbero essere fuorvianti.

## Bibliografia

- ARIZZI NOVELLI A., ARGESI E., TAGLIAPIETRA D., BETTIOL C., VOLPI GHIRARDINI A. (2002) - Toxicity of tributyltin and triphenyltin towards early life stages of *Paracentrotus lividus* (LMK) (Echinodermata: Echinoidea). *Environ. Toxicol. Chem.*, **21** (4): 859-864.
- ASTM (1990) - E 1367-90. Guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods. In Annual Book of ASTM Standards, Water and Environmental Technology. Vol. 11.04 (Philadelphia).
- ASTM (1991) - Standard Guide for Collection, Storage Characterisation and Manipulation of sediments for toxicological testing.
- CARR R.S., CHAPMAN D.C. (1995) - Comparison of methods for conducting marine and estuarine sediment porewater toxicity tests - extraction, storage and handling techniques. *Arch. Environ. Toxicol.*, **28**: 69-77.
- DA ROS L., MARIN M.G., FOSSATO V.U., CAMPESAN G. (1997) - Sedimenti lagunari: prova di tossicità su embrioni di riccio di mare *Paracentrotus lividus*. *Biol. Mar. Mediterr.*, **4** (1): 632-636.
- HIS E., SEAMAN M.N.L., BEIRAS R. (1997) - A simplification: the bivalve embryogenesis and larval development bioassay method for water quality assessment. *Wat. Res.*, **31** (2): 351-355.
- MEADOR J.P., ROSS B.D., DINNELL P.A., PICQUELLE S.J. (1990) - An analysis of the relationship between a Sand-Dollar Embryo elutriate assay and sediment contaminants from stations in an urban embayment of Puget Sound, Washington. *Mar. Environ. Res.*, **30**: 251-272.
- SETAC (1993) - Guidance Document on sediments toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments". In: Hill I.R., Matthiessen P., Heimback F. "Workshop on Sediment Toxicity assessment", 8-10 November 1993.
- USACE (1978) - Ecological evaluation of proposed discharge of dredged material into clean ocean water; implementation manual for section 103 of PL 92-532". Environmental Laboratory, U.S. Army Corps Engineer, Waterways experiment stations, Vicksburg, MS, USA.
- USEPA (2001) - Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal (testing manual). EPA 503/8-91/001.
- VOLPI GHIRARDINI A., ARIZZI NOVELLI A. (2001) - A sperm cell toxicity test procedure for the mediterranean species *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). *Environ. Technol.*, **22**: 439-445.
- VOLPI GHIRARDINI A., ARIZZI NOVELLI A., TAGLIAPIETRA D. (2005) - Sediment toxicity assessment in the Lagoon of Venice (Italy) using *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fertilization and embryo bioassays. *Environ. Int.*, **31**: 1065-1077.