

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

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

I SAGGI DI TOSSICITÀ COME STRUMENTI PER LA PREVENZIONE DEGLI IMPATTI DELLE ACQUE DI SCARICO PER GLI AMBIENTI MARINO COSTIERI E DI TRANSIZIONE: UN CASO DI STUDIO

TOXICITY BIOASSAYS AS PREDICTIVE TOOLS FOR PREVENTING WASTEWATER IMPACTS ON TRANSITIONAL AND MARINE COASTAL ENVIRONMENTS: A CASE STUDY

Abstract

*Toxicity bioassays are viable tools to assess potential wastewater ecotoxicity phenomena to target saltwater environments. Effluents from an Activated Sludge Sequencing Batch Reactor (AS-SBR) and an Ultra-Filtration Membrane Biological Reactor (UF-MBR), located in Venice, were assessed by means of salt water species considering both acute (*Artemia franciscana* and *Vibrio fischeri*) and sub-chronic endpoints (*Mytilus galloprovincialis* and *Crassostrea gigas*).*

Key-words: AS-SBR, UF-MBR, bioassays, Venice lagoon.

Introduzione

Storicamente, le indagini relative alle acque superficiali hanno evidenziato che i fenomeni di inquinamento sono essenzialmente generati da un'ampia varietà di contaminanti presenti negli scarichi di origine non solo industriale, ma anche domestica (Baumgarten *et al.*, 2006). Le caratteristiche degli effluenti prodotti, quindi, risultano solo in parte descrivibili e valutabili attraverso strumenti di natura chimico-fisica, data la loro complessità. Il ricorso a saggi di tossicità attraverso la *Whole Effluent Toxicity* (WET) è risultato di grande importanza, al fine di fornire utili indicazioni sui potenziali impatti delle acque di scarico sui corpi recettori (Chapman, 2000). Inizialmente sviluppata ed implementata dall'USEPA (United States Environmental Protection Agency) e attualmente applicata nell'ambito del US NPDES (United States National Pollutant Discharge Elimination System), la WET ha come obiettivo primario quello di garantire un'adeguata protezione dell'ambiente acquatico, sostenendo la tendenza al principio dell'*emissione zero* (USEPA, 1991, 2004). Recentemente, l'OSPAR (Oslo and Paris Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic) ha suggerito anche l'introduzione della *Whole Effluent Assessment* (WEA) in alcuni paesi europei (OSPAR, 2005). La WEA, basata su criteri di persistenza, tossicità e bioaccumulo, è posta ad integrazione della WET e dovrebbe condurre verso il sostegno di un approccio integrato tale da soddisfare le indicazioni generali richieste dalla *Water Framework Directive* (WFD, 60/2000/CE) (CE, 2000) per il raggiungimento ed il mantenimento di livelli di qualità accettabili per le acque superficiali. La WET/WEA potrebbe rivestire anche un ruolo importante nella scelta delle migliori tecnologie disponibili per la depurazione delle acque sostenendo l'implementazione delle tecnologie BAT (*Best Available Technologies*) o in alternativa delle BATNEEC (*Best Available Technologies Not Entailing Excessive*

Costs), di quelle cioè in grado di rimuovere da una limitata selezione ad un ampio intervallo di composti, di gestire ampi flussi di acque di scarico, minimizzando i consumi di energia e di spazio (IPPC, 2003; COM, 2004; STOWA, 2005).

L'obiettivo di questo studio è quello di mettere in luce la capacità d'investigazione e di discriminazione di alcuni saggi di tossicità (embriotossicità con *Crassostrea gigas* e *Mytilus galloprovincialis*, mortalità con *Artemia franciscana* e inibizione della bioluminescenza con *Vibrio fischeri*) rispetto ad acque di scarico provenienti da attività di tipo alberghiero trattate con due diverse tecnologie depurative. Le tecnologie AS-SBR (*Activated Sludge Sequencing Batch Reactor*) e UF-MBR (*Ultra-filtration Membrane Biological Reactor*) sono state scelte a questo scopo. L'AS-SBR è una tecnologia tradizionale con bassi costi d'investimento iniziale, di gestione e di manutenzione, in cui la chiarificazione primaria, l'ossidazione biologica e la chiarificazione secondaria hanno luogo nello stesso bacino di reazione in maniera sequenziale. Al contrario, l'UF-MBR rappresenta un'alternativa ai tradizionali impianti per il trattamento delle acque, in cui la chiarificazione secondaria è affidata ad un'unità di ultra-filtrazione. L'UF-MBR permette di raggiungere buoni standard qualitativi per gli scarichi rispetto alle tecnologie tradizionali, ma con maggiori costi di investimento iniziale e di consumo energetico (Metcalf e Eddy, 1991; Stephenson *et al.*, 2000).

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati condotti in base alle direttive US NPDES (1 campionamento a settimana per 8 settimane nel periodo aprile – maggio), le procedure di salinizzazione secondo USEPA (1995) e di conservazione in accordo con Naudin *et al.* (1995), USEPA (2002) e APAT e IRSA-CNR (2003). Gli influenti sono stati campionati nelle vasche di accumulo, mentre gli effluenti al termine dello scarico, prima dell'immissione nel corpo recettore. Le analisi chimico-fisiche relative a COD (Chemical Oxygen Demand), $N-NH_4^+$, SS (Suspended Solids), TKN (Total Kjeldhal Nitrogen) e fosforo totale (P_{TOT}) hanno seguito i protocolli APAT e IRSA-CNR (2003). Gli anioni (cloruri, nitriti, nitrati, solfati e fosfati) sono stati determinati in cromatografia ionica isocratica (Metrohm 761 Compact IC, column Metrohm Metrosep A Supp 5 150 × 4 mm). Il pH è stato misurato con pHmeter HI 9025 Microcomputer da HANNA Instrument®.

Entrambi gli impianti di depurazione sono localizzati a Venezia (Italia) ed il loro funzionamento è controllato e gestito in remoto. L'AS-SBR è caratterizzato dalla presenza di due bacini di reazione in grado di lavorare in parallelo per un totale di 3 cicli giornalieri. Il tempo di residenza idraulica è di circa 8 h ($V \cong 41 \text{ m}^3$ per bacino) per uno scarico di $120 \text{ m}^3/\text{giorno}$ per bacino. Il fango attivato ha presentato mediamente valori di MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids) $\cong 6.6 \text{ g/L}$, MLVSS (Mixed Liquor Volatile Suspended Solids) $\cong 5.6 \text{ g/L}$ e carico organico $F/M = 0.09 \text{ (g COD)/(day} \cdot \text{g MLVSS)}$; l'ossigeno era fornito da aeratori ad immersione. L'impianto UF-MBR accoppiato ad un'unità *cross-flow side-stream* di UF ha presentato un tempo di residenza idraulica di 16 h ($V \cong 100 \text{ m}^3$) per uno scarico di permeato di $150 \text{ m}^3/\text{giorno}$. Il fango attivato ha presentato mediamente valori di MLSS $\cong 12 \text{ g/L}$, MLVSS $\cong 10 \text{ g/L}$ e $F/M = 0.14 \text{ (g COD)/(day} \cdot \text{g MLVSS)}$; l'ossigeno era fornito da aeratori ad immersione.

I test di tossicità con molluschi bivalvi (*M. galloprovincialis* e *C. gigas*) sono stati condotti in base al protocollo di His *et al.* (1997) modificato per l'utilizzo di pool di gameti, il test con *A. franciscana* in base ad APAT e IRSA-CNR (2003), mentre il test con *V. fischeri* in base ad Azur Environmental (1998). Per i test con *A. franciscana*, *M. galloprovincialis* e *C. gigas*, ove possibile, è stato determinato il valore di LC/EC50 (Trimmed Spearman-Kärber, Hamilton *et al.*, 1978),

in caso contrario la tossicità è stata espressa come percentuale di effetto (%). Per *V. fischeri* è stato determinato il valore di IC50 o in alternativa della percentuale di inibizione della bioluminescenza (Azur Environmental, 1998). I dati di EC/IC/LC50 sono stati presentati indirettamente come rese di rimozione della tossicità rispetto alle tecnologie di depurazione considerate. E' stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) sulle risposte di tossicità dei test per valutarne la similarità.

Risultati

I risultati del monitoraggio chimico-fisico sono stati riportati in Tab. 1, considerando i valori minimi, massimi e medi registrati e le relative rese di rimozione (come media delle singole rese di rimozione). Le caratteristiche degli influenti dei due impianti di depurazione hanno mostrato di essere simili fra loro. I valori di pH, OD e conducibilità per influenti ed effluenti sono rimasti costanti nel tempo, mentre COD e SS hanno presentato valori maggiori nell'influente dell'UF-MBR, rispettivamente di 5 e 2 volte. L'UF-MBR ha evidenziato una notevole capacità nell'abbattimento di COD e SS con rese medie del 99% e del 100%, così come di N-NH₄⁺ (93%) e una buona performance nella riduzione del P_{TOT} (59%). Al contrario, l'AS-SBR ha evidenziato rese discontinue per ciascuno dei parametri monitorati, con prestazioni in generale sempre inferiori rispetto a quelle della tecnologia UF-MBR.

Tab. 1 - Caratterizzazioni chimico-fisiche degli influenti (IN) e degli effluenti (EF) degli impianti di depurazione AS-SBR e UF-MBR. Sono stati riportati i valori analitici minimi, massimi e medi per ciascun parametro e la resa di rimozione in termini percentuali come media delle singole rese di rimozione.

Chemical and physical characterisation of influents (IN) and effluents (EF) in AS-SBR and UF-MBR plants.

Parameters	Units	SBR			UF-MBR		
		IN	EF	removal (%)	IN	EF	removal (%)
		min-MAX Average	min-MAX Average		min-MAX Average	min-MAX Average	
pH		7.77-8.06 7.80	7.22-7.92 7.60	-	7.74-8.32 7.80	7.79-7.92 7.90	-
DO	mgO ₂ /L	1.70-2.50 2.00	1.30-1.90 1.60	-	1.16-2.11 1.90	1.39-2.05 1.91	-
Conductivity	µS/cm	659-836 750	891-1110 971	-	629-999 821	1010-1301 1131	-
COD	mgO ₂ /L	225-502 365	11-338 202	39	324-13652* 1726	4-11 8	99
TKN	mg/L	25-37 34	2-27 18	42	26-87 50	2-33 9	89
N-NH ₄ ⁺	mg/L	13-24 20	1-20 12	46	3-37 21	0.7-2.7 2	93
N-NO ₂ ⁻	mg/L	0.00-0.80 0.01	0.00-0.30 0.00	34	0.00-0.40 0.01	0.00-0.00 0.00	93
N-NO ₃ ⁻	mg/L	0.00-1.70 0.04	0-15 3.00	0	0.00-0.70 0.01	0.10-18.40 6.03	0
P _{TOT}	mg/L	3-6 5	2-6 4	4	4-44 11	4-5 4	59
P-PO ₄ ⁻	mg/L	0.7-9.9 2.1	1.3-2.8 2.0	0	1.6-35.0 6.0	3.0-4.8 3.1	32
S-SO ₄ ⁻	mg/L	2.60-12.10 8.00	3.50-11.50 6.04	9	7.40-13.90 9.02	10.30-15.90 11.05	2
SS	mg/L	112-216 166	6-272 91	41	60-688 308	0	100

* Mixed liquor recirculated in the feed tank.

Per quanto riguarda i test di tossicità, i controlli positivi e negativi sono risultati tutti accettabili. In Fig. 1, sono state riportate le rese di rimozione della tossicità per ciascuna tipologia di impianto e per test ad eccezione di quello con *A. franciscana*, e nel caso di *V. fischeri* anche per tempo di esposizione. La resa di rimozione è stata considerata pari al 100% nel momento in cui nell'effluente non è più stato possibile determinare un valore di IC/EC/LC50 e uguale a zero quando la tossicità dell'effluente medesimo era pari o superiore a quella dell'influente. E' stata evidenziata una notevole capacità discriminante fra influente ed effluente per i saggi di tossicità con *C. gigas* e *M. galloprovincialis*, che hanno dimostrato di avere sensibilità simili ($p < 0.001$). Il test con *V. fischeri* è risultato essere scarsamente sensibile alla tipologia di scarichi presa in considerazione, mentre *A. franciscana* ha dimostrato di essere, in questo caso, del tutto inadeguata quale strumento di indagine ecotossicologica, data la non sensibilità nei confronti delle matrici ambientali considerate. L'analisi delle rese di rimozione ha evidenziato come l'impianto con tecnologia AS-SBR risulti meno efficiente rispetto a quello UF-MBR, che ha mantenuto rese di rimozione della tossicità costantemente elevate.

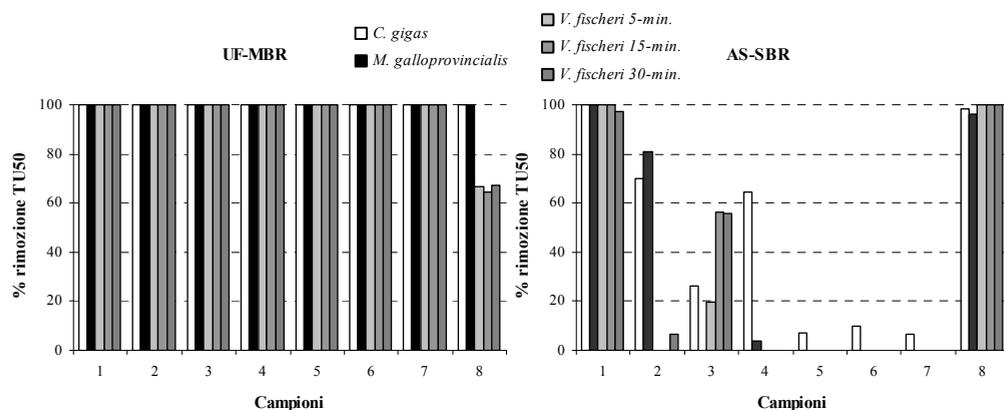


Fig. 1 - Rese di rimozione della tossicità per *C. gigas*, *M. galloprovincialis* e *V. fischeri*. Il test con *A. franciscana* non è stato riportato in quanto non sensibile rispetto alle matrici considerate.

Toxicity removal for C. gigas, M. galloprovincialis and V. fischeri. Test with A. franciscana is not reported since it is not sensitive respect to the considered matrices.

Conclusioni

Questo studio ha avuto come scopo quello di valutare la capacità discriminante di 4 saggi di tossicità (*C. gigas*, *M. galloprovincialis*, *V. fischeri* e *A. franciscana*), caratterizzati da diversi endpoint, rispetto ad acque di scarico prodotte da attività di tipo alberghiero sottoposte a due distinti processi depurativi, rispettivamente con tecnologia AS-SBR e UF-MBR. E' stato evidenziato che i saggi di tossicità con molluschi bivalvi (*C. gigas* e *M. galloprovincialis*) sono in grado di discriminare efficacemente tra le due tecnologie di depurazione, distinguendo tra influente ed effluente, e valutando quanto il processo depurativo adottato risulti essere efficiente nella rimozione della tossicità. Il saggio con il batterio bioluminescente *V. fischeri* ha mostrato di essere limitatamente sensibile alla tipologia di

scarico considerata, sensibilità che non è mutata nemmeno al variare dei tempi di esposizione dei batteri alla matrice. Il test con *A. franciscana*, previsto dalla vigente normativa come del resto anche il precedente, ha dimostrato di non essere affatto sensibile alle acque di scarico prodotte da attività di tipo alberghiero, non consentendo, quindi, nemmeno una valutazione delle prestazioni delle tecnologie per la depurazione considerate. L'applicazione della WET, quale strumento di valutazione della qualità degli scarichi e di efficienza prestazionale delle tecnologie AS-SBR e UF-MBR, è apparsa estremamente utile, non solo per mettere in evidenza l'esistenza di tecnologie più o meno efficaci, ma anche quella di strumenti di biomonitoraggio più o meno indicati rispetto alle matrici indagate.

Bibliografia

- APAT, IRSA-CNR (2003) - *Analytical methods for waters*, Report 29.
- AZUR ENVIRONMENTAL (1998) - *Microtox Acute Toxicity Test Guide*, Users manual.
- BAUMGARTEN S., SCHRODER H.F.R., PINNEKAMP J. (2006) - Performance of membrane bioreactors used for treatment of wastewater from the chemical and textile industries. *Water Sci Technol*, **53** (3): 61-67.
- CHAPMAN P.M. (2000) - Whole effluent toxicity testing – usefulness, level of protection, and risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* **9** (1): 3-13.
- CE: Comunità 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*. OJ L 327, 22.12.2000: 1-51.
- COM: Communication from the Commission to the Council and the European Parliament: Stimulating Technologies for the Sustainable Development (2004) - *An Environmental Technologies Action Plan for the European Union* **38**.
- HAMILTON M.A., RUSSO R.C., THURSTON R.V. (1978) - TRIMMED SPEARMAN-KARBER method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ Sci Technol*, **12**: 714–720.
- HIS H., SEAMAN M.N.L., BEIRAS R. (1997) - A simplification of the bivalve embryogenesis and larval development bioassay for water quality assessment. *Water Res.*, **31** (2): 165-172.
- IPPC: Integrated Pollution Prevention and Control (2003) - *Reference document on best available techniques in common waste water and waste gas treatment/management systems in the chemical sector*. European Commission February.
- METCALF, EDDY INC (1991) - *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. 2nd Ed. McGraw-Hill, New York, USA.
- NAUDIN S., GARRIC J., VINDIMIAN E., BARY M., MIGEON B. (1995) - Influence of the sample preservation mode to assess the chronic toxicity of an industrial effluent. *Ecotox. Env. Saf.*, **30**: 54-62.
- OSPAR: Oslo and Paris Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic (2005) – *Whole Effluent Assessment*, Publication Number 2005/219.
- STEPHENSON T., JUDD S., JEFFERSON B., BRINDLE K. (2000) - *Membrane bioreactors for wastewater treatment*. IWA Publishing, London, UK.
- STOWA: Dutch Institute of Applied Water Research (2005) - *Explanatory study for wastewater treatment techniques and the European Water Framework Directive*, Report 2005/34.
- USEPA: United States Environmental protection Agency (1991) - *Technical support document for water quality-based toxics control*, EPA/505/2-90-001. Technical report, Washington, DC.
- USEPA (1995) - *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to West Coast marine and estuarine organisms*, EPA 600-R-95-136.
- USEPA (2002) - *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 5th Edition, EPA-821-R-02-012.
- USEPA (2004) - *NPDES Compliance Inspection Manual*, EPA 305-X-03-004.