



UNIONE
EUROPEA



Regione Emilia-Romagna
Direzione Generale Agricoltura, Caccia e Pesca
Servizio Attività faunistico-venatorie e pesca

PO FEAMP
ITALIA 2014 | 2020



Ministero delle
politiche agricole
alimentari e forestali

Obiettivo n.2 PDA COSTA DELL'EMILIA-ROMAGNA
Azione 2.A.a) Habitat marini e lagunari - studi e ricerche
Regolamenti (UE) 1303/2013 e 508/2014
Avviso pubblico

RELAZIONE

Capulerio da rifiuto a risorsa: Capulerio di scarto per la sostenibilità ambientale e il benessere animale in acquacultura



INDICE

1 INTRODUZIONE	2
<i>1.1 Inquadramento della problematica</i>	3
<i>1.2 Obiettivi del progetto</i>	3
2 METODICA DI LAVORO	3
<i>2.1 Caratterizzazione chimica</i>	4
<i>2.2 Caratterizzazione strutturale</i>	7
<i>2.3 Caratterizzazione dimensionale</i>	7
3 VALUTAZIONE DELLE PROPRIETA' DEL CAPULERIO	8
<i>3.1 Adsorbimento di metalli pesanti</i>	8
<i>3.2 Rigenerazione e riutilizzo del materiale adsorbente</i>	11
<i>3.3 Azione tamponante della polvere di capulerio</i>	12
4 MESSA A PUNTO DI MESOCOSMI	13
<i>4.1 Test in mesocosmi</i>	14
5 CONCLUSIONI	18
BIBLIOGRAFIA	19

1 INTRODUZIONE

L'Emilia Romagna ha un ruolo rilevante a livello nazionale nel settore pesca ed acquacoltura e si colloca al primo posto nella produzione di molluschi con circa il 45% della produzione totale e l'80% delle attività di acquacoltura concentrate in questa regione.

La produzione regionale di cozze e vongole è al primo posto in Italia e ricopre rispettivamente il 33 e il 53% alla produzione nazionale.

Inoltre occorre considerare che le attività di acquacoltura vengono in gran parte praticate nelle zone vallive del Delta del Po, una zona particolarmente preziosa e fragile, la cui instabilità è acuita dalla presenza di immissari di acque dolci a portata variabile, e per la possibile pressione antropica dovuta alle attività che insistono sul territorio circostante [1,2]. Queste condizioni possono essere ulteriormente aggravate da eventi climatici di particolare intensità e/o da cambiamenti climatici avversi.

Queste situazioni di criticità possono inoltre risentire della presenza di sedimenti argillosi e limosi nel fondale che causano una ridotta circolazione idrodinamica interna. Lo smaltimento improprio dei rifiuti del mare può ulteriormente incidere negativamente sull'ecosistema.

1.1 Inquadramento della problematica

Una delle problematiche legate alle produzioni di molluschi in queste zone è la produzione di scarti. Una frazione consistente (50-70%) dei molluschi è costituita dai gusci che rappresentano quindi in termini quantitativi un importante scarto del settore acquacoltura di molluschi.

È noto da tempo che alcuni organismi acquatici, come i molluschi, possono fungere da bioindicatori, poiché queste specie accumulano inquinanti (come, appunto, i metalli pesanti) e possono quindi rivelare la presenza di contaminanti nell'ecosistema in cui vivono. La loro natura di "sentinelle" è dovuta al fatto che essi filtrano enormi volumi di acqua e subiscono appunto bioaccumulo di metalli pesanti e metalloidi, sia sulla superficie della conchiglia che negli organi dell'animale [3].

Diverse prove di laboratorio hanno inoltre dimostrato che i gusci di questi molluschi, anche frantumati, sono capaci di legare numerosi metalli pesanti, e che, di conseguenza, possono essere utilizzati per la biorimediazione di matrici acquose complesse, contenenti inquinanti metallici, come ad esempio le acque naturali contaminate da scarichi reflui industriali [4-6]. I molluschi ed i loro gusci possono quindi essere impiegati per un duplice scopo: come bioindicatori nei corpi idrici naturali per monitorare la presenza di metalli pesanti e come mezzo per rimuoverli dalle acque naturali.

1.2 Obiettivi del progetto

Il guscio dei molluschi è costituito per oltre il 95% da carbonato biogenico, Si tratta di un materiale che può trovare impiego in numerosi settori che spaziano dall'agricoltura per il controllo dell'acidità del suolo, alla mangimistica come ingrediente fino all'edilizia in miscela con altri leganti.

In questo progetto in particolare l'obiettivo è la valorizzazione di conchiglie derivate da scarti di produzione mediante il loro impiego per il: miglioramento delle qualità della tessitura sedimentaria dei fondali di aree lagunari permettendo una migliore ossigenazione del corpo idrico; utilizzi alternativi del bioclasto come ad esempio materiale adsorbente per la rimediazione ambientale al fine di contribuire alla protezione dell'ambiente e al miglioramento dei luoghi di produzione della risorsa ittica; diminuzione degli effetti di acidificazione delle acque marine ad opera dell'aumento dell'anidride carbonica atmosferica, riducendo quindi gli effetti sull'ambiente legati a cambiamenti climatici.

2 METODICA DI LAVORO

I gusci di bivalvi forniti dai Consorzi partner sono stati opportunamente trattati e macinati (in laboratorio) per ridurli in particelle di pochi millimetri.

Le caratteristiche di tale "sabbia" organogena sono state valutate in mesocosmi appositamente allestiti in laboratorio per valutarne le proprietà chimico-fisiche ed ecotossicologiche.

La caratterizzazione prevedeva:

- 1) l'analisi chimica del materiale con quantificazione sia dei componenti maggioritari che di quelli minoritari a livello di tracce per individuare l'eventuale presenza di contaminanti. Il materiale trattato doveva essere inoltre caratterizzato per definirne la struttura, la morfologia e le dimensioni, parametri che incidono sulla sua efficienza come ammendante e adsorbente.
- 2) la realizzazione di test ecotossicologici per verificare l'idoneità del materiale trattato all'impiego in ambiente. I test dovevano essere condotti utilizzando un organismo sentinella (acquadella, *Atherina boyeri*) individuato da studi precedenti.

Per valutarne l'impiego come ammendante i gusci trattati sono stati depositati su un substrato di materiale sedimentario molto fangoso e limoso. Le caratteristiche chimico-fisiche ed ecologiche dei mesocosmi sono state monitorate mensilmente.

Per verificare se il miglioramento dell'habitat influisce positivamente sulle attività di allevamento è stata utilizzata la vongola come organismo test in macrocosmi per studiare il comportamento in termini di riproduzione e sopravvivenza in funzione della qualità ambientale. Infine sono state impiegate anche metodologie di immunobiologia e genomica per meglio comprendere l'effetto dell'ambiente sulle caratteristiche della specie target

2.1 Caratterizzazione chimica

In primo luogo, per valutare l'efficienza dei gusci di bivalvi come ammendante o bioadsorbente sono state fatte delle analisi quali-quantitative sul materiale per caratterizzarlo chimicamente e strutturalmente.

Le conchiglie sono state dapprima polverizzate e poi mineralizzate con digestione umida in forno a microonde, per farne un'analisi con una tecnica analitica nota con il nome di spettrometria di massa accoppiata induttivamente al plasma, ICP-MS (vedi schema).

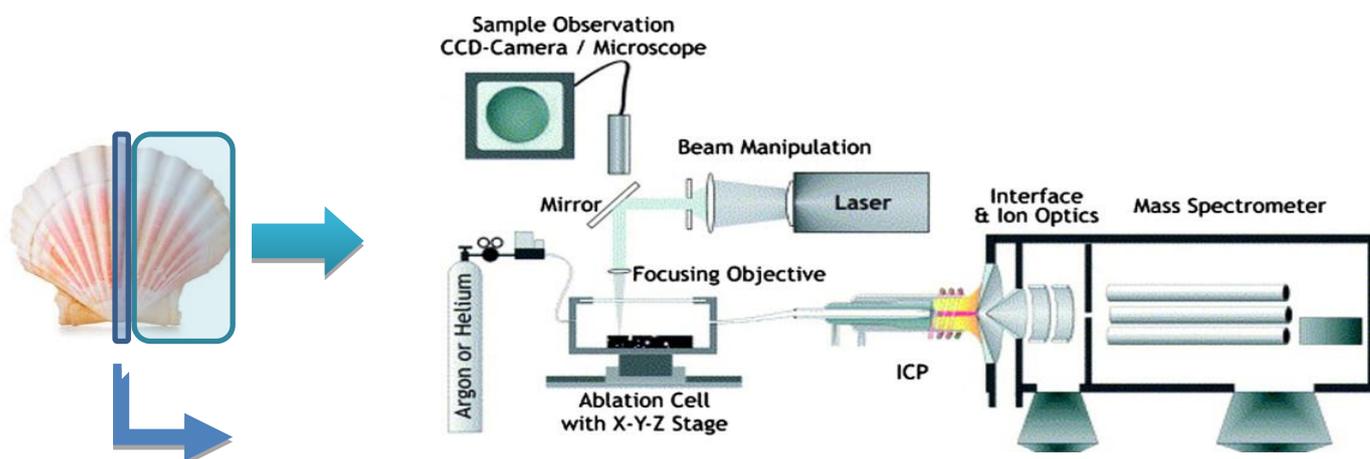


Figura 1. Schema della strumentazione

In questo modo si è anche accertato che non fossero presenti tracce di metalli dovute alla presenza di questi inquinanti nell'habitat in cui risiedeva il mollusco prima di essere pescato.

In seguito, si sono eseguite delle misure volte a determinare le caratteristiche cinetiche e termodinamiche del processo di cattura dei metalli da parte dei gusci e, successivamente, sono state svolte anche alcune prove di desorbimento e recupero del materiale. In questo caso, le misure (batch e riferimenti) sono state eseguite con la tecnica di spettrometria di emissione ottica induttivamente accoppiata al plasma (ICP-OES), dopo aver costruito la curva di calibrazione, scegliendo la lunghezza d'onda (λ) più appropriata per ogni metallo ($\lambda_{Cd} = 226.50$ nm, $\lambda_{Pb} = 220.35$ nm, $\lambda_{Ni} = 231.60$) e per il calcio ($\lambda_{Ca} = 317.93$ nm), la cui concentrazione è stata misurata per monitorare solo qualitativamente lo scioglimento del $CaCO_3$ della conchiglia. Le tecniche di spettrometria atomica che impiegano come sorgente l'ICP, essendo molto sensibili, sono le più comunemente usate per determinare quantitativamente e qualitativamente gli elementi in traccia (con concentrazione <100 ppm) in un campione. Se la tecnica utilizzata è la spettroscopia ottica di emissione (OES), si sfrutta la radiazione elettromagnetica emessa dall'atomo o ione dopo eccitazione per rivelarne la concentrazione (collegata alla quantità di radiazione emessa) e la natura chimica (collegata alla lunghezza d'onda della radiazione, che è una sorta di fingerprint dell'elemento). Se invece l'ICP è interfacciato

allo spettrometro di massa, gli ioni vengono separati e rivelati in base al loro rapporto massa/carica, m/z [22,23].

I gusci dei bivalvi sono stati lavati con acqua MilliQ per rimuovere eventuali sedimenti e materiale organico in essi eventualmente presente, messi a seccare in stufa a 110 °C per 24 ore e macinati con un mulino a palle fino ad ottenere una polvere fine. Parallelamente le conchiglie sono state sezionate e state sottoposte ad analisi elementare mediante tecnica di ablazione laser interfacciata ad ICP/MS (LA_ICP_MS).

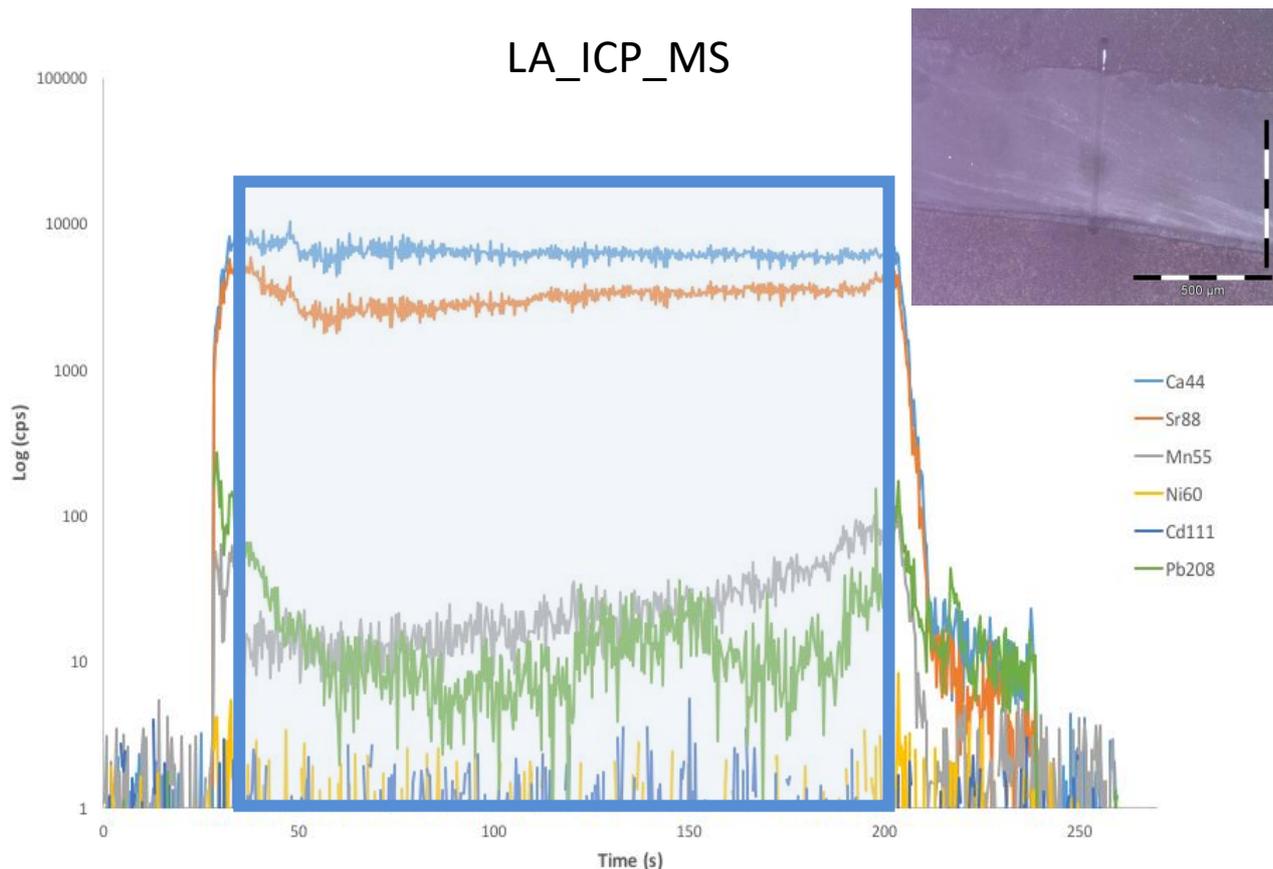


Figura 2: Esempio del tracciato LA-ICP_MS di intensità in funzione del tempo di scansione eseguito su una sezione di conchiglia

Dai lotti forniti sono stati effettuati tre campionamenti e ciascuno di esso è stato macinato e sottoposto ad analisi. Nelle tabelle che seguono i dati vengono riportati come valor medio e deviazione standard dei risultati ottenuti sui tre campionamenti di ciascun lotto.

Tabella 1: composizione chimica di gusci di bivalvi del primo campionamento

Elemento	Campione 1		
	$\mu\text{g/g}$	mg/g	LOD
Vanadio	$2,86 \pm 0,03$		$1,98 \mu\text{g/g}$
Cromo	$4,19 \pm 0,02$		$1,96 \mu\text{g/g}$
Manganese*		$0,17 \pm 0,02$	$0,11 \text{ mg/g}$
Ferro*		$1,02 \pm 0,01$	$0,06 \text{ mg/g}$
Cobalto	$< 1,01$		$1,01 \mu\text{g/g}$
Nichel	$4,15 \pm 0,02$		$0,99 \mu\text{g/g}$
Rame	$2,71 \pm 0,02$		$0,90 \mu\text{g/g}$
Zinco	$8,02 \pm 0,11$		$5,86 \mu\text{g/g}$
Cadmio	$< 0,13$		$0,13 \mu\text{g/g}$
Piombo	$< 2,03 \mu\text{g/g}$		$2,03 \mu\text{g/g}$
Calcio *		$344,80 \pm 0,01$	$0,04 \text{ mg/g}$
Silicio*		$1,23 \pm 0,02$	$0,08 \text{ mg/g}$

Tabella 2: composizione chimica di capulerio del secondo campionamento

Elemento	Campione 2		
	$\mu\text{g/g}$	mg/g	LOD
Vanadio	$< 1,99$		$1,99 \mu\text{g/g}$
Cromo	$< 1,96$		$1,96 \mu\text{g/g}$
Manganese	$32,8 \pm 0,2$		$0,46 \mu\text{g/g}$
Ferro	$43,6 \pm 2,4$		$12,5 \mu\text{g/g}$
Cobalto	$< 1,01$		$1,01 \mu\text{g/g}$
Nichel	$< 0,99$		$0,99 \mu\text{g/g}$
Rame	$2,15 \pm 0,02$		$0,90 \mu\text{g/g}$
Zinco	$19,55 \pm 0,11$		$5,87 \mu\text{g/g}$
Cadmio	$< 0,13$		$0,37 \mu\text{g/g}$
Piombo	$< 2,03$		$2,03 \mu\text{g/g}$
Calcio*		$386,20 \pm 0,01$	$0,01 \text{ mg/g}$
Silicio*		$0,15 \pm 0,01$	$0,01 \text{ mg/g}$

Le due tipologie di analisi hanno consentito di ottenere informazioni sia sulla composizione chimica delle conchiglie che sulla distribuzione degli elementi al loro interno in modo da poter eventualmente mettere in luce eventuali disomogeneità composizionali anche derivanti da esposizioni passate ad inquinanti.

Entrambi i lotti forniti non evidenziano una contaminazione rilevante in termini di metalli pesanti, anche se il lotto del primo campionamento evidenzia una maggior presenza di metalli in concentrazione superiore al limite di rivelabilità.

2.2 Caratterizzazione strutturale

Le polveri di gusci di bivalvi sono state analizzate mediante tecnica di Diffrazione a Raggi X. L'indagine ha dimostrato una composizione chimica del carbonato di calcio in forma prevalente di calcite, come confermato dai dati riportati nella tabella sottostante, dove sono indicati i parametri di cella ottenuti mediante raffinamento.

Tabella 3: Analisi diffrattometrica di polvere di capulerio

Scallop shells					
Calcite	a	c	α,β	γ	Volume
	4.99884(17)	17.1108(6)	90	120	370.286(22)
Cd-loaded Scallop shells					
Calcite	a	c	α,β	γ	Volume
	4.996763	17.108103	90	120	369.922(29)

2.3 Caratterizzazione dimensionale

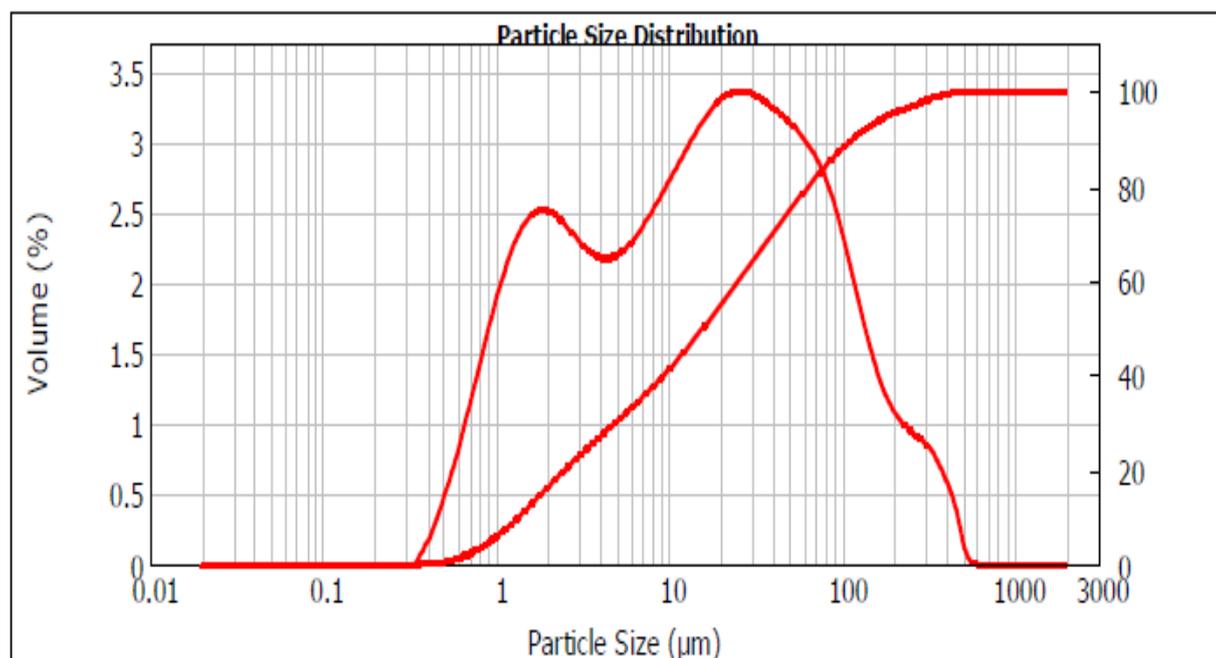


Figura 3: Distribuzione dimensionale delle particelle ottenute per macinazione con mulino di capulerio ottenuta con Zetasizer.

Come si osserva le particelle hanno una distribuzione dimensionale multimodale caratterizzata da particelle con dimensioni nell'intervallo 1-700 μm i valori della distribuzione sono riportati in Tabella 4.

Tabella 4: distribuzione dimensionale delle particelle ottenute per macinazione del capulerio.

Size (μm)	Vol Under %	Size (μm)	Vol Under %	Size (μm)	Vol Under %	Size (μm)	Vol Under %	Size (μm)	Vol Under %	Size (μm)	Vol Under %
0.010	0.00	0.105	0.00	1.096	7.07	11.482	43.84	120.226	90.48	1258.925	100.00
0.011	0.00	0.120	0.00	1.259	9.04	13.183	46.49	138.038	92.11	1445.440	100.00
0.013	0.00	0.138	0.00	1.445	11.17	15.136	49.26	158.489	93.48	1659.587	100.00
0.015	0.00	0.158	0.00	1.660	13.41	17.378	52.13	181.970	94.64	1905.461	100.00
0.017	0.00	0.182	0.00	1.905	15.69	19.953	55.09	208.930	95.65	2187.762	100.00
0.020	0.00	0.209	0.00	2.188	17.96	22.909	58.11	239.883	96.56	2511.886	100.00
0.023	0.00	0.240	0.00	2.512	20.17	26.303	61.15	275.423	97.41	2884.032	100.00
0.026	0.00	0.275	0.00	2.884	22.32	30.200	64.19	316.228	98.20	3311.311	100.00
0.030	0.00	0.316	0.00	3.311	24.38	34.674	67.20	363.078	98.91	3801.894	100.00
0.035	0.00	0.363	0.01	3.802	26.39	39.811	70.16	416.869	99.48	4365.158	100.00
0.040	0.00	0.417	0.14	4.365	28.36	45.709	73.07	478.630	99.89	5011.872	100.00
0.046	0.00	0.479	0.42	5.012	30.33	52.481	75.92	549.541	99.99	5754.399	100.00
0.052	0.00	0.550	0.90	5.754	32.35	60.256	78.70	630.957	100.00	6606.934	100.00
0.060	0.00	0.631	1.61	6.607	34.43	69.183	81.40	724.436	100.00	7585.776	100.00
0.069	0.00	0.724	2.58	7.586	36.61	79.433	83.97	831.764	100.00	8709.636	100.00
0.079	0.00	0.832	3.81	8.710	38.90	91.201	86.38	954.993	100.00	10000.000	100.00
0.091	0.00	0.955	5.31	10.000	41.31	104.713	88.57	1096.478	100.00		

La polvere ottenuta è stata separata mediante setacci in tre frazioni granulometriche, la frazione con particelle di dimensioni nell'intervallo 100-600 micrometri sono state utilizzate nelle successive sperimentazioni di adsorbimento. Le conchiglie inoltre sono state sottoposte a frantumazione e il materiale ottenuto è stato frazionato mediante batterie di setacci. In questo modo sono state preparate frazioni di granulometria più grossolana, con diametro di particelle nell'intervallo 1-4 mm che sono state utilizzate nelle sperimentazioni successive in mesocosmi

3 Valutazione delle proprietà del capulerio

3.1 Adsorbimento di metalli pesanti

Sono state fatte delle prove preliminari per verificare l'adsorbimento del Cd^{2+} da parte della polvere di capulerio per stabilire la quantità di adsorbente da utilizzare per la determinazione delle isoterme di adsorbimento. Inoltre, questi esperimenti hanno permesso di controllare le variazioni di pH e la perdita del carbonato di calcio (CaCO_3) associati al fenomeno di scambio cationico e al contatto del bioadsorbente con la matrice acquosa.

La figura sottoriportata mostra l'andamento delle concentrazioni del calcio e del cadmio in soluzione a contatto con la polvere nei primi 60 minuti.

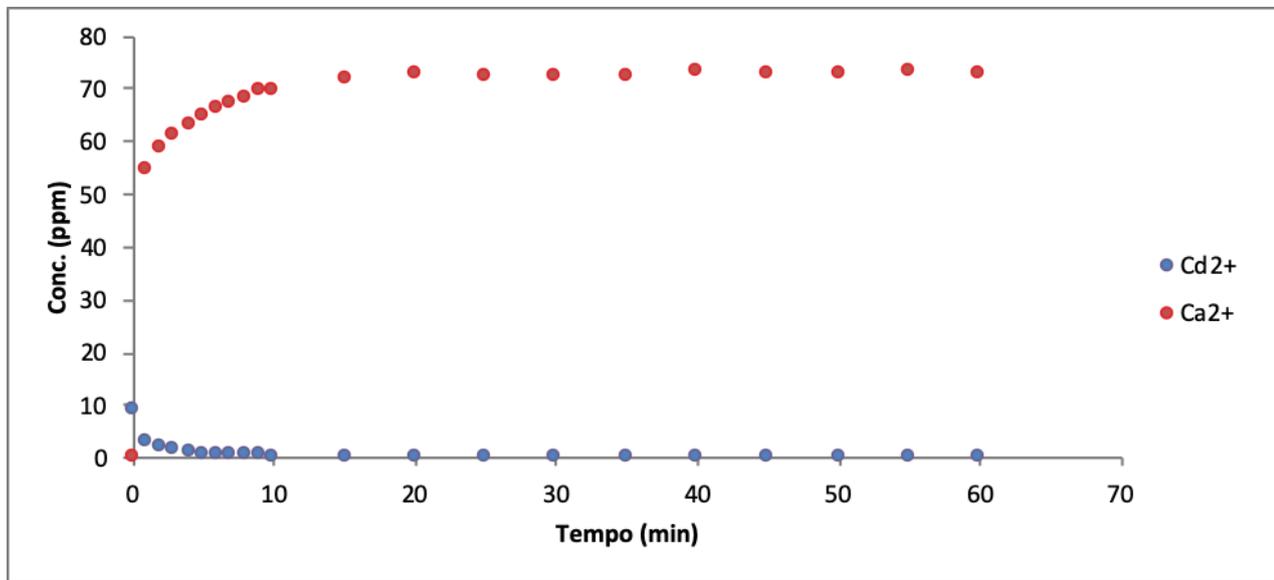
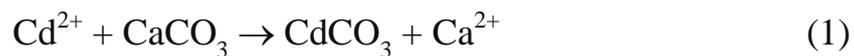


Figura 4: Andamento della concentrazione di ioni Ca e Cd in soluzione ottenuta mettendo a contatto una soluzione acquosa di ioni Cadmio (10 ppm) con polvere di capulerio.

Come si nota dal confronto dei due grafici il processo di scambio ha una cinetica veloce dato che si raggiungono basse concentrazioni di cadmio in soluzione dopo i primi 10 minuti, e la specie con cui scambia è il catione Ca^{2+} come è ben visibile dal grafico riportato sopra. Questo risultato ha confermato che in presenza di gusci contenenti carbonato, il Cd^{2+} è stato in grado di fissarsi alla superficie del materiale e scambiarsi con il Ca^{2+} .

L'equazione 1 mostra lo scambio cationico:



Sono state svolte altre due prove cinetiche variando la concentrazione della soluzione di partenza del cadmio (5 ppm e 15 ppm), replicate nello stesso modo della prova precedente sia come esperienza che procedura di analisi dei dati acquisiti.

Si è quindi studiato l'adsorbimento a tre diverse temperature: 9°C, 38°C e temperatura ambiente (21°C), i dati sperimentali sono stati interpolati mediante relazioni matematiche che rappresentano diversi modelli di isoterma.

La quantità adsorbita all'equilibrio è esprimibile con il parametro q_e che indica la quantità di adsorbato (Cd^{2+}) in milligrammi per grammo di adsorbente, calcolato mediante l'equazione 2:

$$q_e = (C_i - C_{eq}) * V / g_{ads} \quad (2)$$

dove C_i e C_{eq} sono rispettivamente le concentrazioni iniziali e all'equilibrio in mg/L, V è il volume della soluzione in litri e g_{ads} è la massa in grammi dell'adsorbente.

Dalle prove eseguite si è ottenuto che ad una quantità di adsorbente pari a 0,1 g corrisponde una q_e di 16 mg/g per la soluzione di 10 ppm, quindi deduciamo che vi è un buon adsorbimento da parte di questo materiale.

Per trovare la q_{\max} (capacità di saturazione) per ogni isoterma si ricorre ad un fitting non lineare utilizzando come equazione descrittiva dell'adsorbimento l'isoterma di Langmuir. Questo modello è basato sull'adsorbimento monostrato su siti equivalenti da un punto di vista energetico, ed in assenza di interazioni adsorbato-adsorbato o al più trascurabili rispetto quelle adsorbato-adsorbente. Il grafico in Fig 5 mostra il fitting delle tre isoterme e per trovare i parametri si è fatto uso dell'equazione:

$$q_e = \frac{q_{\max} b c_e}{1 + b c_e} \quad \text{Eq. di Langmuir} \quad (3)$$

dove c_e è la concentrazione di Cd^{2+} all'equilibrio espressa in mg/L, q_e è l'adsorbimento in mg/g ad una determinata concentrazione e b è una costante dell'isoterma di Langmuir (dm^3/mg).

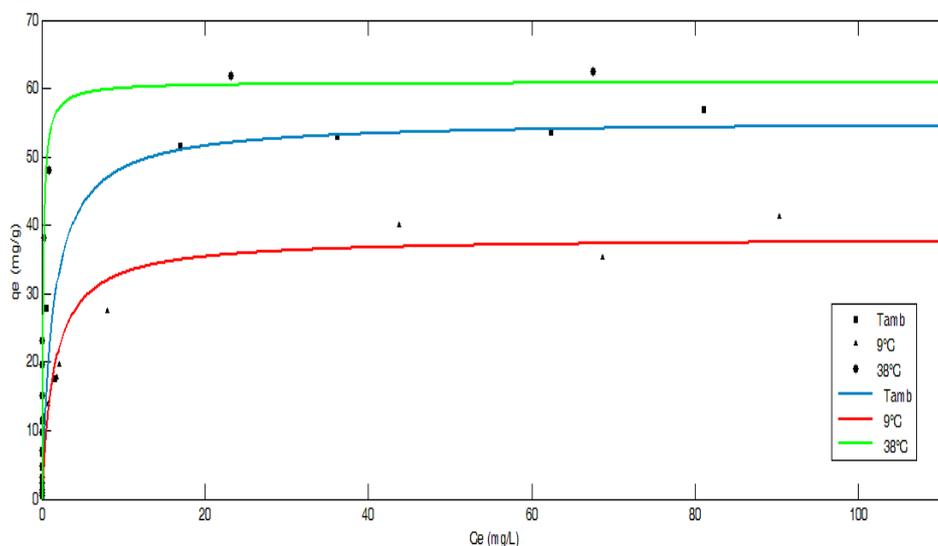


Figura 5. Dati di adsorbimento ottenuti a diversa temperatura e risultati del fitting non lineare con modello Langmuir.

I parametri ricavati dal fitting non lineare sono riportati in Tabella 5.

Tabella 5: Parametri delle isoterme di adsorbimento.

Isoterma (°C)	q _{max} (mg/g)	b (dm ³ /mg)	R ²
9,0	38,14 ± 8,68	0,6485±0,7474	0,9336
21,0	54,95 ± 14,71	0,7688±1,1766	0,9313
38,0	60,88 ± 4,56	7,112±2,015	0,9949

Si nota che il valore della q_{max} aumenta con la temperatura di esercizio, questo significa che il materiale migliora la sua capacità di adsorbimento con l'aumentare della temperatura.

Per il calcolo del ΔG di adsorbimento si è fatto uso dell'equazione:

$$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_{\text{ads}} \quad (4)$$

dove R è la costante dei gas (8,314 J/mol K) e T la temperatura espressa in Kelvin.

Tabella 6: Dati termodinamici relativi all'adsorbimento di ioni cadmio su polvere di capulerio.

T (°C)	T (K)	K _{ads}	lnK _{ads}	ΔG° (KJ/mol)
9,2	282,2	141,54	4,95258	-11,620
21,0	294,0	226,40	5,42230	-13,254
38,4	311,4	363,29	5,89520	-15,263

I valori della variazione dell'energia libera ottenuti sono tutti negativi, che indicano che il processo di adsorbimento del Cd²⁺ sui gusci di bivalvi è spontaneo.

3.2 Rigenerazione e riutilizzo del materiale adsorbente

Si sono condotte inoltre alcune prove preliminari per valutare la possibilità di rigenerare l'adsorbente e di recuperare il metallo adsorbito. Per verificare la possibilità di rigenerazione si sono impiegati diverse soluzioni estraenti. Dalle varie prove di estrazione è emerso che gli estraenti con % di estrazione maggiore sono EDTA 0,005 M a pH 7 e MilliQ a pH tra 4 e 5, con rapporto sol/liq pari a 5 mg/mL e 10 mg/mL. I risultati sono riportati in tabella. La polvere recuperata è stata utilizzata per nuove prove di adsorbimento con Cd a 150 e 200 ppm. Le q_e ottenute col secondo ciclo di adsorbimento sono inferiori a quelle del primo ciclo; comunque si deduce che la polvere può essere riutilizzata seppur con rese minori e che il metallo può essere recuperato con rese attorno al 70%.

Tabella 7: Recupero del capulerio in polvere dopo adsorbimento di cadmio

	Batch	pH _i	pH 24h	g shell+Cd	mg Cd (ads)	mg Cd estratti	% estrazione
S/L=5 mg/mL	EDTA 0.005 M	5.37	6.38	0.10038	3.9167	3.1	79.148
	H ₂ O pH 4-5	4.85	5.42	0.10030	3.9136	1.7	43.438
S/L=10 mg/mL	EDTA 0.005 M	5.4	6.53	0.10035	3.9155	2.69	68.701
	H ₂ O pH 4-5	4.62	5.44	0.10020	3.9097	2.74	70.082

3.3 Azione tamponante della polvere di capulerio

Sono stati compiuti esperimenti in cui si è monitorato il pH e la concentrazione di ioni Ca in soluzione mettendo a contatto soluzioni saline acidificate acido carbonico con polvere di gusci di bivalvi. In questi esperimenti si sono impiegate frazioni granulomeriche inferiori a 1 mm (100-600 micrometri) di polvere di conchiglia.

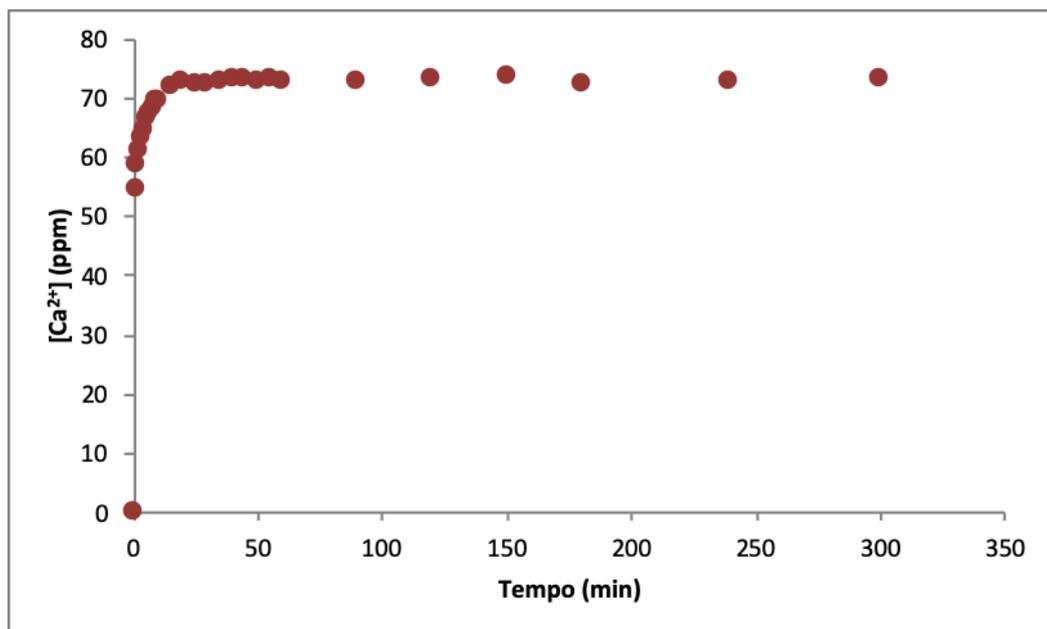


Figura 6: Cinetica di rilascio di ioni calcio in soluzione ottenuta mettendo a contatto polvere di capulerio con soluzioni di acido carbonico.

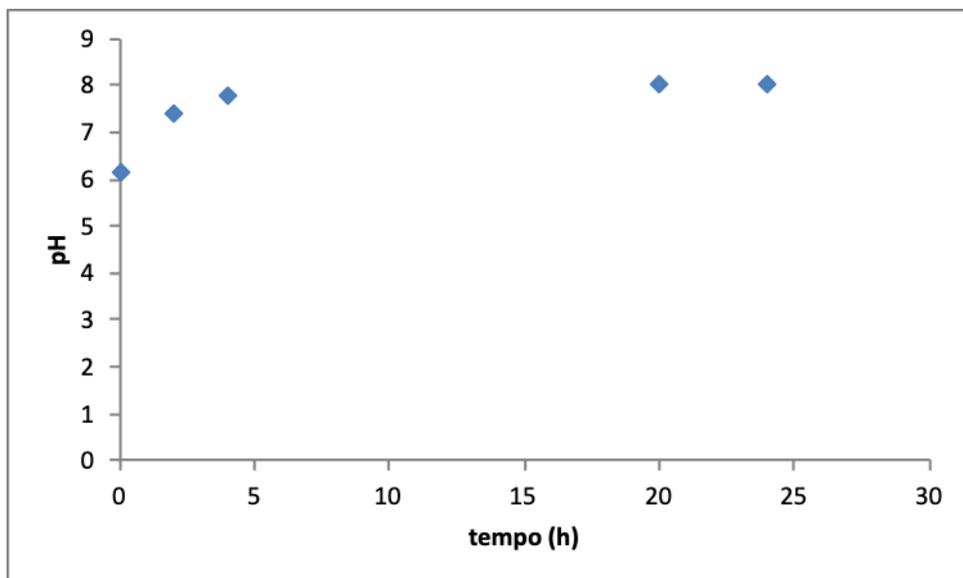


Figura 7: Cinetica della variazione di pH ottenuta mettendo a contatto polvere di capulerio con soluzioni di acido carbonico.

Come si può osservare la polvere di gusci di bivalve è in grado di ripristinare il pH della soluzione acidificata in tempi brevi.

4 Messa a punto di mesocosmi

Per la messa a punto di mesocosmi ci si è avvalsi dei lavori di effettuati in precedenza da Fondazione CFP Cesta .

L'acqua marina utilizzata per l'esecuzione dei test è stata preparata aggiungendo ad acqua MilliQ sale marino artificiale Instant Ocean®. Per valutarne l'impiego come ammendante la frazione granulometrica di gusci con diametro 1-4 mm è stata miscelata con un uguale quantità di materiale sedimentario fangoso e dopo una settimana di maturazione si sono monitorati ad intervalli di 15 gg i parametri chimico fisici delle acque a contatto. In questa sperimentazione non sono stati impiegati organismi e si è operato in un sistema a ciclo chiuso con areazione forzata e in assenza di filtro per evidenziare l'azione del capulerio come ammendante. La composizione chimica dei sedimenti è stata determinata mediante spettroscopia atomica ICP/MS.

	media	dev. St
Cr (mg/kg)	34.8	2.7
Mn (mg/kg)	340.4	20.0
Cu (mg/kg)	5.8	0.78
Zn (mg/kg)	42.2	2.3
Pb (mg/kg)	9.8	0.50
Ni (mg/kg)	17.9	1.5
Ba (mg/kg)	46.4	11.9

Fe (mg/kg)	12345.0	344.6
Al (mg/kg)	12671.2	913.0
As (mg/kg)	7.4	0.65
Cd (mg/kg)	0.2	0.048

Nella figura sotto riportata sono rappresentati alcuni dei parametri chimico fisici misurati (salinità, pH, ossigeno disciolto e temperatura). Come si può osservare i parametri osservati sono pressochè costanti nel tempo e con valori di ossigenazione prossimi alla saturazione, indicando quindi un'azione favorevole del capulerio nel mantenimento delle condizioni di salubrità delle acque.

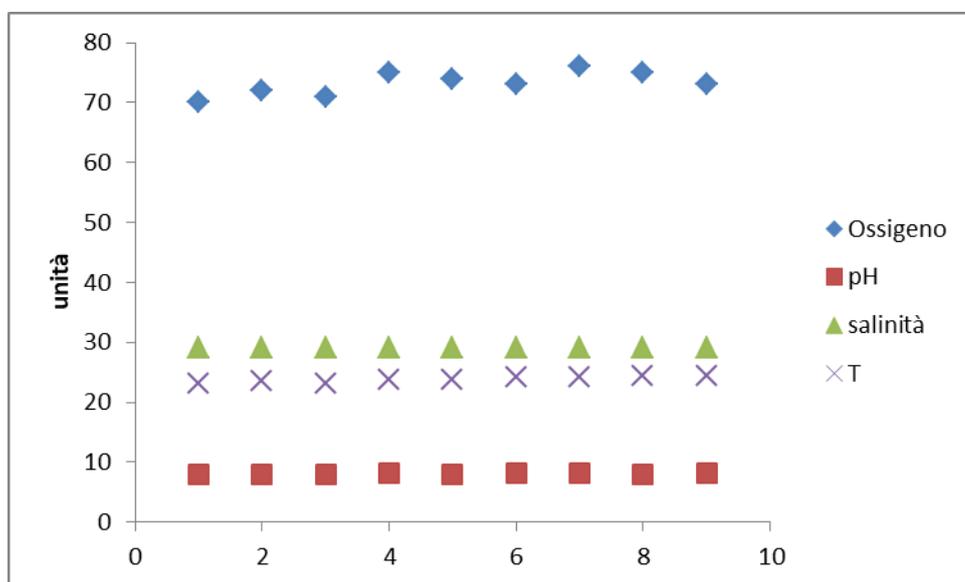


Figura 8: Andamento temporale di alcuni parametri chimico fisici misurati in mesocosmi.

Infine si è testato l'azione filtrante e ammendate del capulerio in mesocosmi. In questa sperimentazione si è impiegato un impianto simile a quello descritto in precedenza ma dotato di un sistema di filtrazione esterna con ricircolo delle acque effettuato mediante una pompa. In via preliminare per verificare l'idoneità del materiale trattato all'impiego in ambiente, sono stati condotti test ecotossicologici con un organismo sentinella (acquadella, *Atherina boyeri*) che non hanno evidenziato mortalità degli organismi o rilascio di contaminanti nelle acque del mesocosmo.

4.1 Test in mesocosmi

Le vongole impiegate nei test sono state raccolte presso la Sacca di Goro. Gli esemplari sono stati prima fatti acclimatare per due settimane nelle condizioni di laboratorio. Successivamente le vongole sono state intro-

dotte in 2 mesocosmi (1 trattato con Cu e 1 di controllo senza addizione di Cu), aerati mediante impiego di pompe e dotati di sistema di filtrazione in cui sono state poste 30 vongole. Nel mesocosmo trattato si è addizionata una soluzione di sali rameici fino ad ottenere una concentrazione di Cu pari a $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Si è quindi effettuato il monitoraggio del Cu nel campione abiotico (acqua) e nella polpa delle vongole effettuando 6 campionamenti nell'arco di 4 mesi. Per la determinazione quantitativa si è impiegata la tecnica descritta precedentemente al paragrafo 2.1 per la caratterizzazione dei gusci di bivalvi. La figura sotto riportata mostra la concentrazione di Cu in funzione del tempo di sperimentazione in entrambi i mesocosmi, di controllo e soggetto al trattamento con Cu a $50 \mu\text{g l}^{-1}$.

La figura sotto riportata mostra la concentrazione del Cu nei tessuti delle vongole trattate e di controllo, in cui si osserva un bioaccumulo del metallo nei tessuti degli esemplari trattati.

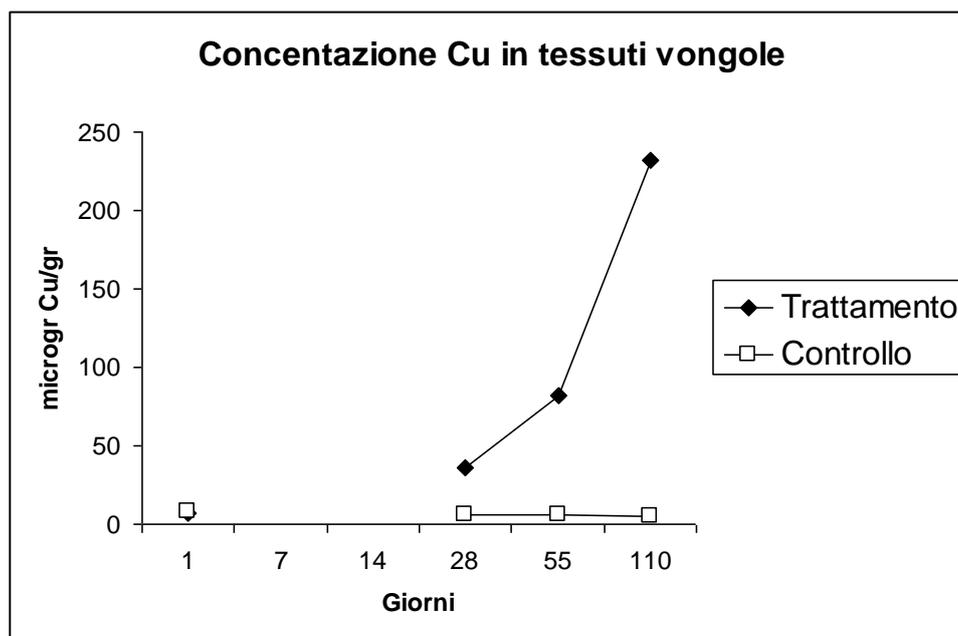


Figura 9. Accumulo di Cu nei tessuti delle vongole.

Si sono quindi effettuati due campagne di monitoraggio biologico consistenti ciascuna di 6 campionamenti nei periodi febbraio-marzo e giugno-luglio. Ciascun campione (quattro esemplari) è stato sottoposto a determinazioni fisiologiche. Il tasso di respirazione è stato misurando il consumo di ossigeno nell'unità di tem-

po in una camera respirometrica in cui sono stati inseriti i campioni. Il tasso di respirazione (R) è stato quindi calcolato mediante la relazione:

$$R = (C_{t_0} - C_{t_1}) \times V \times 60 / (t_1 - t_0) \quad (5)$$

dove C_t è la concentrazione di ossigeno nell'acqua al tempo t , V il volume di acqua nella camera respirometrica, t_0 e t_1 i tempi iniziali e finali (in minuti) della prova. Il valore di R è stato standardizzato sull'unità di peso secco della vongola. Il tasso di respirazione è stato quindi convertito in equivalenti energetici (1 mmol $O_2 = 0,456$ J). I tassi di respirazione, nelle due campagne di monitoraggio sono risultati maggiori ($p < 0.05$) nelle vongole trattate con rame.

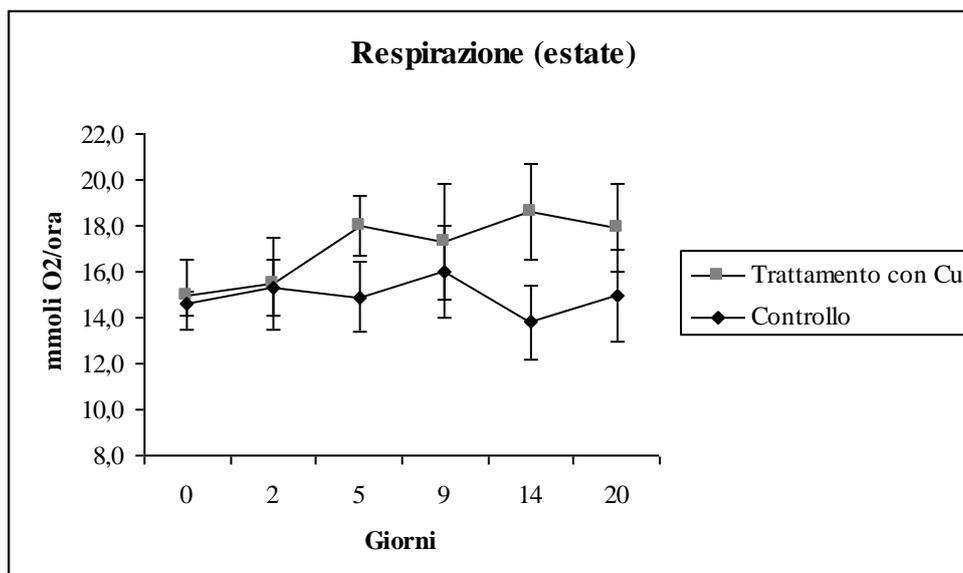
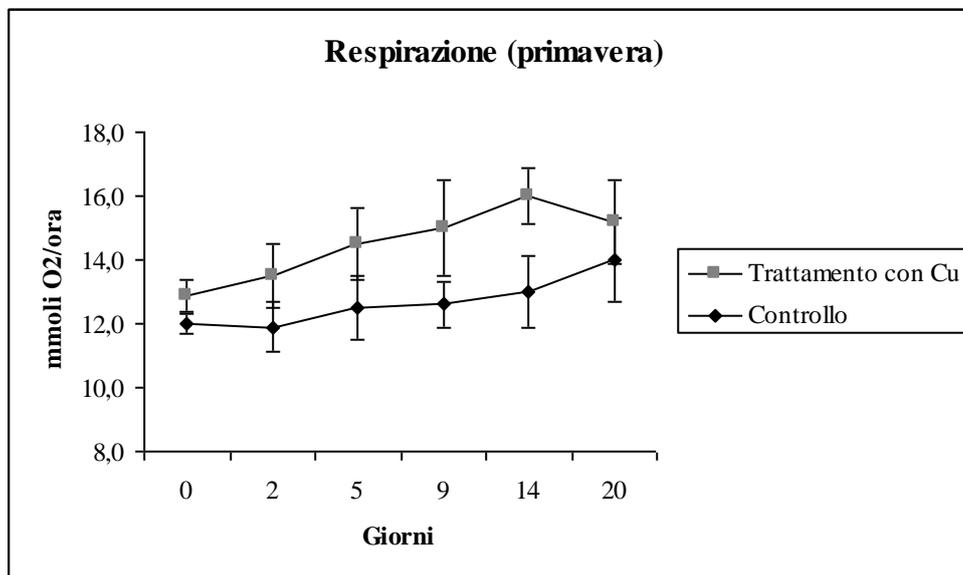


Figura 10. Variazioni nei valori del tasso di respirazione per le vongole trattate con Cu e per le vongole non trattate (controllo) nel tempo

La concentrazione di Cu nei mesocosmi è risultata subletale, non si sono infatti osservati episodi di mortalità in nessuno degli organismi sperimentali. L'accumulo del Cu negli organismi studiati pur comportando una modifica nelle risposte fisiologiche, indicano che le vongole sono in grado di limitare gli effetti dannosi del metallo tossico. E' noto in letteratura che numerosi bivalvi riescono parzialmente inibire gli effetti tossici dei metalli mediante complessazione e sequestro degli stessi, spesso tramite la produzione di particolari proteine che legano il metallo, le metallotioneine [7]. A causa della elevata affinità delle metallotioneine per numerosi cationi, quali il mercurio (Hg), il cadmio (Cd), ed il rame, la loro funzione pare essere quella di proteggere le strutture cellulari dalla interazione non-specifica dei metalli pesanti con le molecole biologiche, ed allo stesso tempo sono in grado di detossificare l'eccesso di metallo che penetra nelle cellule [8]. I dati biochimici della concentrazione di metionine confermano queste ipotesi.

4 Conclusioni

La caratterizzazione dei gusci di bivalvi non ha mostrato evidenti fenomeni di contaminazione ambientale da metalli pesanti della zona di raccolta.

Lo studio ha evidenziato la capacità di gusci di bivalvi trattati ad agire efficacemente come materiale adsorbente nei confronti di metalli pesanti. I dati sperimentali mostrano infatti una buona capacità di saturazione ed una cinetica veloce. Inoltre questi materiali esercitano un'efficace azione tamponante nei confronti di fenomeni di acidificazione indotti da anidride carbonica (acido carbonico) e conferiscono una buona permeabilità ai sedimenti. Possono quindi trovare impiego in sistemi di rimeditazione ambientale

Bibliografia

- 1) A. Amorosi, I. Sammartino (2007) Influence of sediment provenance on background values of potentially toxic metals from near-surface sediments of Po coastal plain (Italy), *Int. J. Earth Sci.*, 96: 389-396.
- 2) V. Pitacco, M. Mistri, C. Munari, (2018) Long-term variability of macrobenthic community in a shallow coastal lagoon (Valli di Comacchio, northern Adriatic): is community resistant to climate changes? *Mar Environ. Res.*, 137: 73-87.
- 3) Cariou E., Guivel C., La C., Lenta L., Elliot M. (2017) Lead accumulation in oyster shells, a potential tool for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 125: 19 – 29.
- 4) Liu Y., Sun C., Xu J., Li Y. (2009) The use of raw and acid-pretreated bivalve mollusk shells to remove metals from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 156 – 162.
- 5) Peña-Rodríguez S., Fernández-Calviño D., Nóvoa-Muñoz J. C., Arias-Estévez M., Núñez-Delgado A., Fernández-Sanjurjo M. J., Álvarez-Rodríguez E. (2010) Kinetics of Hg(II) adsorption and desorption in calcinated mussel shells. *Journal of Hazardous Materials*, 180: 622 – 627.
- 6) Risk M. J., Burchell M., de Roo K., Nairn R., Tubrett M., Forsterra G. (2010) Trace elements in bivalve shells from the Río Cruces, Chile. *Aquatic Biology*, 10: 85 – 97.
- 7) Roesijadi G (1980) Influence of copper on the clam *Protothaca staminea*: effects on the gills and occurrence of copper-binding proteins. *Biological Bulletin* 158: 233-247
- 8) Viarengo A, Pertica M, Mancinelli G, Capelli R, Orunesu M (1981) Effects of copper on the uptake of amino acids, on protein synthesis and on ATP content in different tissues of *Mytilus galloprovincialis* (Lam). *Marine Environmental Research* 4: 145-152