



## **Componente T3**

### **Report T3.1.1**

**Report campionamento e caratterizzazione sedimenti di dragaggio**

## 1 INDICE

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 2   | Introduzione .....   | 3  |
| 3   | Componente T3 - Sviluppo di strategie di gestione e trattamento dei sedimenti di dragaggio contaminati ..... | 3  |
| 4   | Campionamento e caratterizzazione sedimenti – Materiali e metodi.....  | 5  |
| 5   | Campionamenti nel porto di Piombino .....  | 9  |
| 6   | Campionamenti nel porto di Livorno .....   | 12 |
| 7   | Risultati .....  | 13 |
| 7.1 | Granulometria dei campioni del porto di Piombino.....  | 13 |
| 7.2 | Concentrazioni degli inquinanti del porto di Piombino – analisi preliminari.....                             | 16 |
| 7.3 | Concentrazioni degli inquinanti del porto di Piombino – analisi di dettaglio .....                           | 19 |
| 7.4 | Analisi biologiche dati Next Generation Sequencing su sedimenti Piombino .....                               | 22 |
| 7.5 | Granulometria dei campioni del porto di Livorno .....  | 26 |
| 7.6 | Concentrazioni degli inquinanti del Porto di Livorno.....  | 27 |
| 8   | Conclusioni.....   | 30 |
| 9   | Bibliografia .....   | 31 |

## 2 Introduzione

In riferimento allo svolgimento del progetto GRRinPORT finalizzato all'accrescimento della protezione delle acque marine e dei sedimenti nei porti, sono stati effettuati alcuni prelievi di sedimento nell'area portuale di Piombino (LI) e Livorno.

L'attività è stata finalizzata all'individuazione dei sedimenti da sottoporre ai successivi trattamenti di separazione e lavaggio dei sedimenti, di elettrocinesi e di landfarming (Attività T.3).

## 3 Componente T3 - Sviluppo di strategie di gestione e trattamento dei sedimenti di dragaggio contaminati

L'analisi dello stato dell'arte ha consentito di definire una sequenza di trattamenti dei sedimenti di dragaggio contaminati (SDC) consistente in lavaggio e separazione granulometrica (LSG), seguita da trattamento elettrocinetico (EK) ed enhanced landfarming (EL). Questa sequenza sarà oggetto di implementazione in scala pilota. Relativamente a questo report, UNIPi insieme alla nuova Autorità di Sistema Portuale del Tirreno Settentrionale (ASPTS), ha individuato e prelevato dai fondali e/o da vasche di colmata gestite dall'Autorità 4 campioni di SDC a diverse ubicazioni e caratteristiche chimico-fisiche.

Su questi campioni di sedimenti, UNIPi, ISPRA e UNICA effettueranno un'ampia sperimentazione di laboratorio per ottimizzare le condizioni operative dei trattamenti pilota oggetto della successiva fase.

I trattamenti si articoleranno in:

- 1) **trattamento LSG** con separazione nelle frazioni fine (pelitica), media (sabbiosa) e grossolana;
- 2) **trattamento EK** della frazione pelitica per rimuovere i metalli pesanti e degradare gli inquinanti organici;
- 3) **trattamento EL** delle frazioni sabbiosa e grossolana per degradare gli organici.
- 4) **Trattamento combinato EK-EL** delle frazioni pelitiche al fine di rimuovere i metalli prima (EK) e gli idrocarburi poi (EL).

Tali tecniche sono già state verificate e validate in laboratorio (ma solo parzialmente in piena scala) da UNIPi, UNICA e ISPRA, che hanno maturato una notevole e comune esperienza in numerosi progetti.

L'efficacia del trattamento LSG è stata dimostrata nel Life+ Coast-Best, concluso nel 2013, con ISPRA responsabile dell'implementazione di un impianto pilota, e in diverse altre esperienze presso vari porti. In questo progetto ISPRA userà lo stesso impianto, che è ubicato nel porto di Livorno. Le attività saranno condotte da UNIPi e ISPRA in collaborazione.

La decontaminazione EK di SDC è oggetto di dimostrazione in piena scala nel progetto Life+ SEKRET coordinato da UNIPi. Poiché è risultata economicamente vantaggiosa se applicata alla sola frazione fine, la preventiva selezione LSG limiterà il trattamento a tale frazione, che concentra la maggior parte dei contaminanti, specie inorganici (metalli pesanti). Il trattamento EK a scala pilota sarà attuata da UNIPi con ISPRA.

Le restanti frazioni, contenenti inquinanti organici e modeste quantità di inorganici, saranno trattate a scala pilota mediante EL con bioincremento mediante addizione di batteri autoctoni e/o alloctoni coadiuvati da ammendanti, sempre presso il porto di Livorno da UNIPI con ISPRA. I trattamenti biologici di SDC inquinati da idrocarburi sono stati testati in modalità slurry nel Progetto ENPI CBC MED MAPMED, coordinato da UNICA, che ha anche verificato in laboratorio l'efficacia di ceppi batterici selezionati da siti portuali, da utilizzare nei trattamenti EL. Il biotratamento di SDC previa selezione LSG è stato dimostrato dal progetto BIORESNOVA coordinato da UNIPI. Il Piano d'Azione per la gestione sostenibile dei sedimenti di dragaggio contaminati sarà redatto da UNIPI, ISPRA e UNICA, sulla base dell'analisi delle attuali opzioni di gestione di SDC.

## 4 Campionamento e caratterizzazione sedimenti – Materiali e metodi

In questa sezione saranno definiti:

- i metodi di campionamento dei sedimenti;
- i metodi di analisi dei campioni prelevati nei porti di Piombino e Livorno.

Circa le analisi sui campioni sono state effettuate:

- analisi granulometriche;
- analisi chimiche.

Temporalmente si è proceduta a un doppio set di prove:

- Caratterizzazione preliminare:
  - Granulometria
    - *Prima fase* preliminare
  - Contaminanti
    - *Prima fase* preliminare
- Caratterizzazione dettagliata:
  - Granulometria
    - *Seconda fase* di dettaglio
  - Contaminanti
    - *Seconda fase* di dettaglio

Per quanto riguarda le *analisi chimiche* effettuate sui campioni di sedimento dragati, si riporta di seguito una lista di tutti gli inquinanti ricercati e le metodologie di analisi di ciascun elemento effettuate dal laboratorio esterno” **Geochim di Rosi** e C. s.a.s. – Gualdo Tadino (PG) il cui affidamento è stato perfezionato da UNIPi.

Tabella 1 Tipologie di inquinanti e metodologie di analisi

| Parametro                                      | Unità di misura        | Metodo di analisi               |
|--|------------------------|---------------------------------|
| Umidità  | % m/m                  | UNI 9903/7 1992                 |
| Antimonio                                      | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Arsenico                                       | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Berillio                                       | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Cadmio   | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Cobalto  | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Cromo totale                                   | mg/kg ss               | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
| Mercurio                                       | mg/kg ss               | EPA 245-1 1994                  |
| <b>Composti inorganici</b>                     | Nichel                 | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Piombo                 | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Rame                   | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Selenio                | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Stagno                 | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Tallio                 | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Vanadio                | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Zinco                  | EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014 |
|  | Benzo (a) antracene    | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Benzo (a) pirene       | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
| <b>Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)</b> | Benzo (b) fluorantene  | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Benzo (k) fluorantene  | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Benzo (g,h,i) perilene | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Crisene                | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Dibenzo (a,e) pirene   | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Dibenzo (a,l) pirene   | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Dibenzo (a,i) pirene   | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |
|  | Dibenzo (a,h) pirene   | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986  |

|                            |          |                                |
|----------------------------|----------|--------------------------------|
| Dibenzo (a,h)<br>antracene | mg/kg ss | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986 |
| Indeno (1,2,3) pirene      | mg/kg ss | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986 |
| Pirene                     | mg/kg ss | EPA 3550B 1996 + EPA 8100:1986 |
| PCB totali                 | mg/kg ss | EPA 3550C 1996 + EPA 8100 1996 |
| Idrocarburi C $\leq$ 12    | mg/kg ss | ST manuale + EPA 8260C 2006    |
| Idrocarburi C $>$ 12       | mg/kg ss | ISO 16703 2004                 |
| Sostanza organica          | %m/m ss  | D.M. n.185 del 13/09/1999      |

Per quanto riguarda le analisi granulometriche, in figura 2, si riporta la metodica.

Per la *determinazione delle caratteristiche granulometriche* dei sedimenti marini si tratta ogni campione (circa 70 g) con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (1:8) per 48 h a temperatura ambiente, per facilitare la separazione dei granuli.

In seguito, si separa il sedimento su maglia da 63  $\mu$ m in umido con acqua distillata; le due frazioni così ottenute vengono essiccate in stufa a 60 °C e successivamente pesate.

Si procede a vagliare la frazione > 63  $\mu$ m (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da 2000, 1000, 500, 250, 125 e 63  $\mu$ m della serie ASTM; si pesa il sedimento corrispondente a ciascun intervallo e al termine delle operazioni si calcola in quale percentuale le varie frazioni sono presenti all'interno del campione.

# Analisi delle caratteristiche granulometriche

SEDIMENTI – scheda 3 – Analisi delle caratteristiche granulometriche

## – PROCEDIMENTO

Per la determinazione delle caratteristiche granulometriche dei sedimenti marini si consiglia la seguente metodica.

Trattare ogni campione con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (2:3) per 48 ore a temperatura ambiente per facilitare la separazione dei granuli.

In seguito, separare il sedimento su maglia da 63 µm in umido con acqua distillata; le due frazioni ottenute vanno essiccate in stufa a 60°C e successivamente pesate.

Vagliare la frazione > 63 µm (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da -1 a 4 phi con un intervallo di 0,5 phi (phi = -log<sub>2</sub> del valore in mm) della serie ASTM; pesare il sedimento corrispondente a ciascun intervallo ed al termine delle operazioni calcolare il peso dell'intera frazione.

Le unità in possesso di strumentazione idonea alla determinazione della frazione fine o pelitica (< 63 µm) devono operare così che la frazione:

- sia quartata per ottenere la massima distribuzione casuale dei granuli;
- sia 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, sia trattata con ultrasuoni ed analizzata mediante sedigrafo a raggi X o granulometro laser.

## – RAPPRESENTAZIONE DEI RISULTATI ANALITICI

I risultati analitici, espressi in percentuale (come rapporto tra il peso della frazione granulometrica ed il peso del campione totale), vanno rappresentati sotto forma tabellare, suddividendo il campione nelle classi granulometriche ghiaia, sabbia, silt e argilla, secondo le classi dimensionali riportate in tabella.

Il sedimento può essere, eventualmente, classificato secondo il diagramma triangolare proposto da Shepard (1954).

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

## BIBLIOGRAFIA

Shepard F.P. (1954) *Nomenclature based on sand, silt, clay ratios*, Journal Sedimentary Petrology, 24, 151-158.

Figura 1: Metodica ICRAM usata per definire la granulometria



## 5 Campionamenti nel porto di Piombino

L'attività di prelievo dei sedimenti è stata eseguita in tre giornate lavorative: il giorno 17/05/2018 sono stati effettuati alcuni prelievi di sedimento nell'area portuale di Piombino, mirati all'individuazione di caratteristiche fisico-chimiche idonee alle successive attività sperimentali, mentre il giorno 15/06/2018 sono stati effettuati altri campionamenti di sedimento allo scopo di confermare la composizione granulometrica riscontrata nella precedente campagna di indagini del mese di giugno, ed estendere il sondaggio esplorativo ad altre maglie dell'area portuale non indagate durante il campionamento precedente. Nella seconda campagna di giugno 2018 sono stati prelevati inoltre 25 Kg di sedimento dall'area P25 necessari ad avviare un pre-trattamento sperimentale preliminare nei laboratori ISPRA di Livorno. La terza giornata a marzo 2019 si sono prelevati in grandi quantità di campione dalle maglie P84, P87, e P91 di vasca Pescherecci utili all'effettuazione delle prove pilota e ad una caratterizzazione di dettaglio.

I tecnici di ISPRA - Ing. Andrea La Camera, Ing. Enrichetta Barbieri ed Ing. Fabiano Pilato - e dell'Università di Pisa - Ing. Renato Iannelli e Ing. Isabella Pecorini - con il supporto dell'Autorità Portuale hanno presenziato e collaborato alle operazioni di prelievo dei sedimenti, avvenute da mezzo nautico e mediante operatori subacquei, nei punti appartenenti al sistema di grigliatura utilizzato in precedenti caratterizzazioni.

I prelievi di sedimento sono stati effettuati da operatori tecnici subacquei, mediante l'infissione di liner nei fondali interessati e georeferenziando le posizioni di prelievo. I quantitativi recuperati sono stati pari a circa 5 kg cadauno. In particolare:

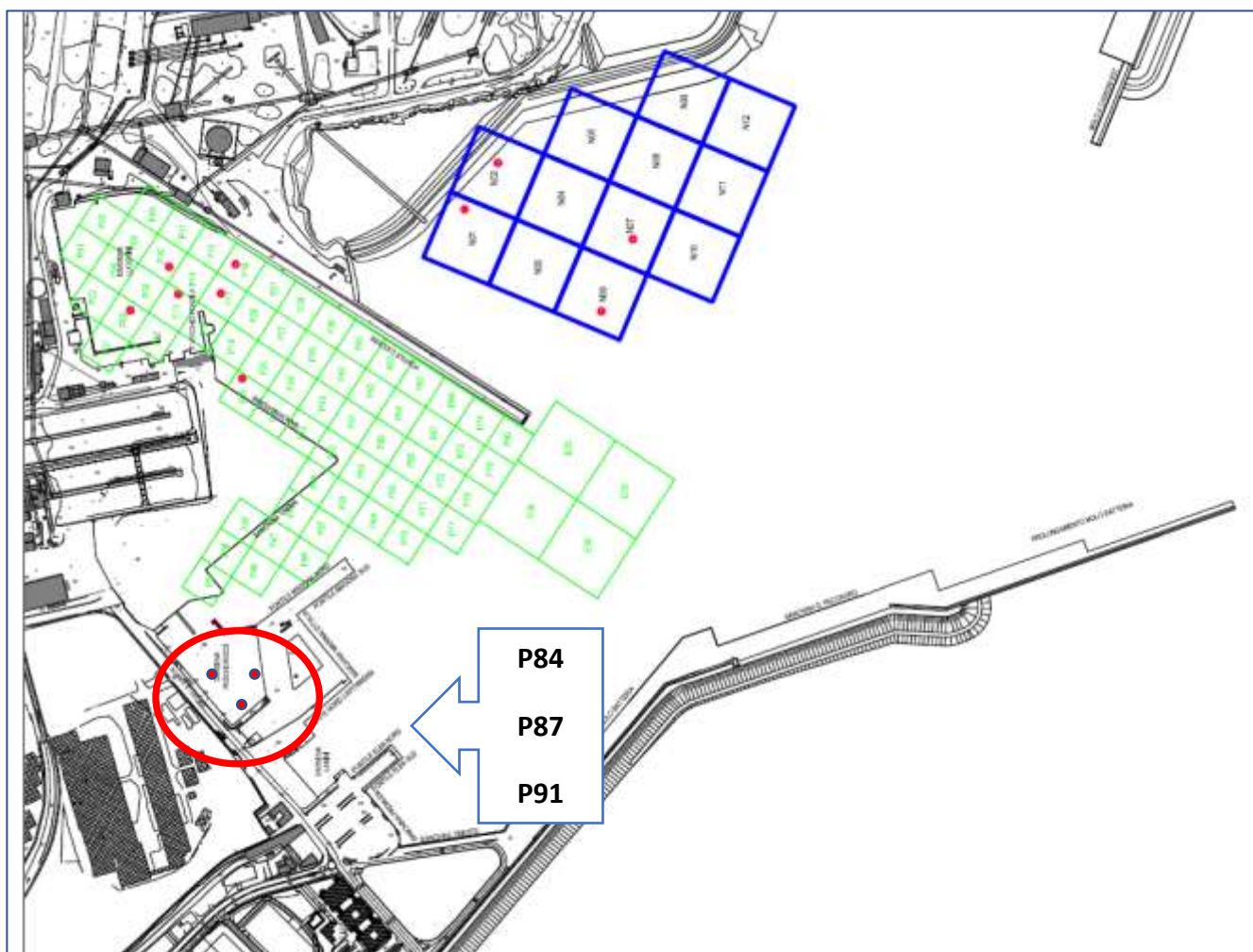


Figura 2: Campioni prelevati in Darsena Pescherecci – Porto di Piombino – marzo 2019

La terza campagna di prelievo è stata effettuata recentemente, precisamente il 22 marzo 2019 sempre nel Porto di Piombino, all'interno della Darsena Pescherecci (campioni P84, P87, P91) con l'obiettivo di prelevare il quantitativo di sedimenti necessario sia al riempimento del reattore di decontaminazione elettrocinetica sia per l'esperimento in scala di laboratorio sia per il futuro impianto pilota. Come nella prima campagna sono stati utilizzati dei campionatori a carota ed il materiale, raccolto grazie alle immersioni dai sommozzatori della ditta portuale STMP di Piombino e rappresentativo anche in questo caso dei primi 20-30 cm di sedimento. Il materiale è stato poi suddiviso in scatole a chiusura ermetica e conservato in frigorifero ad una temperatura di 4-5 °C. Di seguito si riporta documentazione fotografiche relative ai prelievi effettuati a marzo 2019.



*Figura 3: Prelevi con il sommozzatore di marzo 2019*



## 6 Campionamenti nel porto di Livorno

I campioni di Livorno sono stati prelevati dalla vasca di colmata, raccolti manualmente nel periodo di giugno 2018.

Sono stati individuati 3 differenti punti di campionamento, da ciascuno dei quali sono state prelevate aliquote di materiale opportunamente omogeneizzato e da destinarsi ai laboratori.

I quantitativi sono stati scelti in funzione delle attività analitiche previste ovvero:

- nei laboratori di **Livorno** sono state determinate le concentrazioni dei metalli pesanti (Hg, Cd, Pb, As, Cr tot, Cu, Ni, Zn, Al, V, Mn, Fe) e sostanza organica; sono stati eseguiti analisi granulometrica
- nei laboratori di **Ancona** sono state determinate le concentrazioni di IPA, PCB e idrocarburi.

Per uniformità si specifica che le risultanze di seguito riportate sono comunque riferite al laboratorio Geochim.

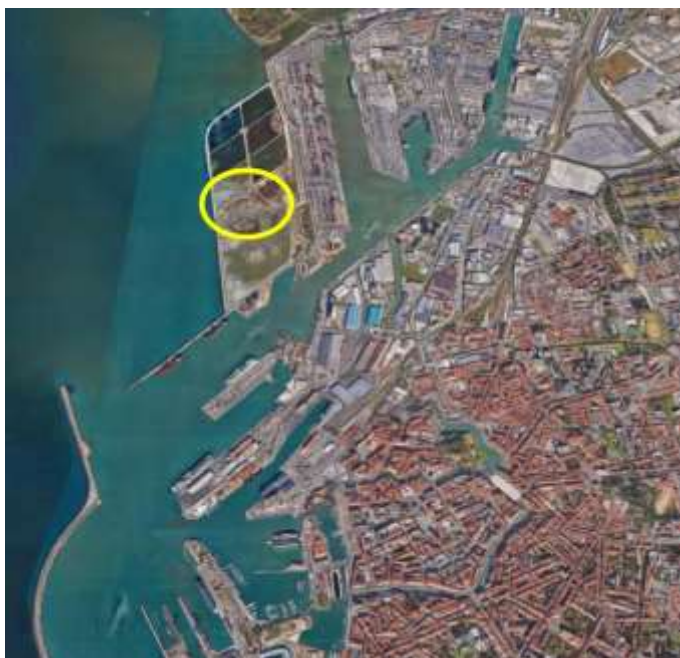


Figura 4: Punti di prelievo porto di Livorno



Punti di prelievo campioni dalla Vasca di colmata di Livorno

## 7 Risultati

Di seguito vengono presentati i risultati circa la caratterizzazione dei sedimenti dei posti di Piombino e Livorno. Si rappresenta prima la caratterizzazione granulometrica e poi quella chimica.

In generale si osserva che i campioni di Piombino hanno una frazione fine predominante mentre i campione di Livorno sembrano essere maggiormente sabbiosi.

### *7.1 Granulometria dei campioni del porto di Piombino*

I campioni prelevati il 15/06/2019 dal porto di Piombino (P111, P91, P87) sono in generale risultati pelitici, mentre i campioni prelevati dalla spiaggia di San Vincenzo e dall'area antistante la vasca di colmata di Piombino (V1, V2, V3) sono risultati prevalentemente sabbiosi.

Tabella 2 Caratterizzazione granulometrica dei sedimenti prelevati a Piombino il 15/06/2018

| Caratterizzazione preliminare: Porto di Piombino 15/06/2018 |              |              |             |             |             |            |             |
|---|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| Valori espressi in % (p.s.)                                 |              |              |             |             |             |            |             |
| Campione  | GHIAIE       | SABBIE       |             |             |             |            | PELITI      |
|   | 2000 $\mu$ m | 1000 $\mu$ m | 500 $\mu$ m | 250 $\mu$ m | 125 $\mu$ m | 63 $\mu$ m | <63 $\mu$ m |
| <b>S Vincenzo Porto</b>                                     | 7,47         | 4,98         | 4,56        | 8,71        | 20,75       | 2,90       | 50,62       |
| <b>S Vincenzo Spiaggia Nord</b>                             | 2,27         | 13,27        | 42,56       | 33,17       | 8,58        | 0,16       | 0,00        |
| <b>P111</b>   | 0,00         | 2,52         | 2,10        | 1,26        | 1,68        | 2,52       | 89,92       |
| <b>P91</b>  | 2,01         | 2,68         | 2,35        | 2,01        | 6,38        | 5,37       | 79,19       |
| <b>P87</b>  | 0,64         | 1,27         | 0,96        | 1,27        | 11,46       | 9,87       | 74,52       |
| <b>N44</b>  | 4,82         | 2,01         | 4,42        | 6,02        | 41,57       | 30,52      | 10,64       |
| <b>V1</b>   | 13,81        | 3,54         | 4,07        | 4,96        | 48,32       | 8,85       | 16,46       |
| <b>V2</b>   | 5,44         | 4,17         | 4,90        | 2,36        | 50,09       | 9,98       | 23,05       |
| <b>V3</b>   | 2,75         | 2,20         | 1,10        | 4,40        | 60,62       | 9,89       | 19,05       |

| SINTESI (%)                     |        |        |        |
|---------------------------------|--------|--------|--------|
| Campione                        | GHIAIE | SABBIE | PELITI |
| <b>S Vincenzo Porto</b>         | 7,47   | 41,91  | 50,62  |
| <b>S Vincenzo Spiaggia Nord</b> | 2,27   | 97,73  | 0,00   |
| <b>P111</b>                     | 0,00   | 10,08  | 89,92  |
| <b>P91</b>                      | 2,01   | 18,79  | 79,19  |
| <b>P87</b>                      | 0,64   | 24,84  | 74,52  |
| <b>N44</b>                      | 4,82   | 84,54  | 10,64  |
| <b>V1</b>                       | 13,81  | 69,73  | 16,46  |
| <b>V2</b>                       | 5,44   | 71,51  | 23,05  |
| <b>V3</b>                       | 2,75   | 78,21  | 19,05  |

Figura 5:

I campioni prelevati dal porto di Piombino in data 17 maggio 2018 sono risultati pelitici questo conferma i risultati preliminari precedenti all'eccezione del P25 che ha frazione prevalente sabbiosa.

Tabella 3 Caratterizzazione granulometrica dei sedimenti prelevati a Piombino il 17/06/2018

| Caratterizzazione preliminare: Porto di Piombino 17/05/2018 |              |              |             |             |             |            |             |
|---|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|
| Valori espressi in % (p.s.)                                 |              |              |             |             |             |            |             |
| Campione  | GHIAIE       | SABBIE       |             |             |             |            | PELITI      |
|   | 2000 $\mu$ m | 1000 $\mu$ m | 500 $\mu$ m | 250 $\mu$ m | 125 $\mu$ m | 63 $\mu$ m | <63 $\mu$ m |
| P25   | 2,54         | 12,11        | 13,80       | 15,49       | 21,69       | 8,45       | 25,92       |
| P18   | 0,56         | 1,11         | 2,23        | 3,06        | 14,21       | 5,57       | 73,26       |
| P17   | 0,62         | 1,54         | 1,23        | 2,16        | 7,72        | 10,49      | 76,23       |
| P8  | 2,24         | 1,68         | 1,68        | 2,24        | 6,16        | 7,84       | 78,15       |
| P10   | 1,45         | 1,73         | 2,31        | 3,76        | 8,67        | 9,83       | 72,25       |
| N1  | 0,51         | 1,53         | 2,81        | 3,32        | 15,05       | 13,52      | 63,27       |
| N6  | 0,57         | 1,42         | 1,42        | 2,55        | 6,23        | 7,08       | 80,74       |
| N2  | 0,50         | 1,00         | 1,25        | 1,25        | 2,74        | 3,24       | 90,02       |
| N7  | 0,26         | 0,26         | 0,53        | 2,63        | 7,89        | 13,42      | 75,00       |
| P13   | 2,85         | 1,90         | 1,58        | 2,53        | 6,96        | 7,59       | 76,58       |

| SINTESI (%) |        |        |        |
|-------------|--------|--------|--------|
|             | GHIAIE | SABBIE | PELITI |
| P25         | 2,54   | 71,55  | 25,92  |
| P18         | 0,56   | 26,18  | 73,26  |
| P17         | 0,62   | 23,15  | 76,23  |
| P8          | 2,24   | 19,61  | 78,15  |
| P10         | 1,45   | 26,30  | 72,25  |
| N1          | 0,51   | 36,22  | 63,27  |
| N6          | 0,57   | 18,70  | 80,74  |
| N2          | 0,50   | 9,48   | 90,02  |
| N7          | 0,26   | 24,74  | 75,00  |
| P13         | 2,85   | 20,57  | 76,58  |

## 7.2 Concentrazioni degli inquinanti del porto di Piombino – analisi preliminari

Dopo l'analisi granulometrica, si è proceduto all'analisi chimica dei campioni di sedimento prelevati.

È stato ricostituito un campione unico per ogni darsena o vasca ed è stato analizzato tenendo presenti i parametri di cui alle concentrazioni di soglia dei contaminanti Tabella 1 (col A e B) del D.Lgs 152/2006 e ssmmii.

Tabella 4 Concentrazione dei principali inquinanti (\*)

| <b>PARAMETRO</b>             | <b>SEDIMENTI DARSENA LUCCHINI</b>     |                   | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/2006) Col. A</b> | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/206) Col. B</b> |
|------------------------------|---------------------------------------|-------------------|---|--|
|                              | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>            | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>                                  | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>                                 |
| Antimonio                    | 6,8                                   | ± 0,7             | 10  | 30   |
| Arsenico                     | 17,8                                  | ± 1,8             | 20  | 50   |
| Berilio                      | 0,587                                 | ± 0,059           | 2   | 10   |
| Cadmio                       | 2,2                                   | ± 0,3             | 2   | 15   |
| Cobalto                      | N.R                                   | N.R               | 20  | 250  |
| Cromo Totale                 | 32,5                                  | ± 3,7             | 150   | 800  |
| Mercurio                     | 0,286                                 | ± 0,051           | 1   | 5  |
| Nichel                       | 12,7                                  | ± 1,5             | 120   | 500  |
| Piombo                       | 379,2                                 | ± 50              | 100   | 1000   |
| Rame                         | 12,8                                  | ± 1,8             | 120   | 600  |
| Selenio                      | N.R                                   | N.R               | 3   | 15   |
| Stagno                       | 59,8                                  | ± 6,0             | 1   | 350  |
| Tallio                       | N.R                                   | N.R               | 1   | 10   |
| Vanadio                      | 21,1                                  | ± 2,8             | 90  | 250  |
| Zinco                        | 330                                   | ± 40              | 150   | 1500   |
| Benzo (a) antracene          | 2,6                                   | ± 0,4             | 0,5   | 10   |
| Benzo (a) pirene             | 2,2                                   | ± 0,4             | 0,1   | 10   |
| Benzo (b) fluorantene-s      | 0,961                                 | ± 0,154           | 0,5   | 10   |
| Benzo (k) fluorantene-s      | 1,8                                   | ± 0,3             | 0,5   | 10   |
| Benzo (g-h-i) perilene-s     | 1,5                                   | ± 0,2             | 0,1   | 10   |
| Crisene                      | 1,1                                   | ± 0,2             | 5   | 50   |
| Dibenzo (a-e) pirene         | 0,384                                 | ± 0,061           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-l) pirene         | 0,429                                 | ± 0,069           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-i) pirene         | 2,6                                   | ± 0,4             | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) pirene         | 0,456                                 | ± 0,073           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) antracene      | 0,513                                 | ± 0,082           | 0,1   | 10   |
| Indeno (1,2,3) pirene        | 0,102                                 | ± 0,016           | 0,1   | 5  |
| Pirene                       | 7,3                                   | ± 1,2             | 5   | 50   |
| PCB Totali                   | 0,65                                  | ± 0,13            | 0,06  | 5  |
| Idrocarburi C<12             | 0,48                                  | ± 0,07            | 10  | 250  |
| Idrocarburi C>=12            | 52,2                                  | ± 5,0             | 50  | 750  |
| Sost. Organica Totale [%m/t] | 5                                     | ± 0,9             |   |  |
|                              |                                       |                   |   |  |
| <b>PARAMETRO</b>             | <b>SED. PIOMBINO DARSENA LUCCHINI</b> |                   |   |  |
|                              | <i>Misura [% m/m]</i>                 | <i>Incertezza</i> |   |  |
| Azoto disponibile (*)        | <0,0005                               | -                 |   |  |
| Fosforo disponibile          | <0,0005                               | -                 |   |  |
| Carbonio organico            | 1,8                                   | ± 0,3             |   |  |
| Acidi umici                  | <0,05                                 | -                 |   |  |
| Acidi fulvici                | 0,05                                  | ± 0,02            |   |  |

(\*)=Somma di azoto nitrico, nitroso ed ammoniacale

(\*) D.lgs. 152/2006: concentrazione soglia di contaminazione nel suolo e nel sottosuolo riferiti alla specifica destinazione d'uso dei siti da bonificare. Evidenziato in **giallo** se la concentrazione di contaminanti misurata è > della soglia limite prevista dal decreto.



Tabella 5 Concentrazione dei principali inquinanti (\*)

| <b>PARAMETRO</b>          | <b>SED.DARSENA PESCHERECCI</b> |                   | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/2006) Col. A</b> | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/206) Col. B</b> |
|---------------------------|--------------------------------|-------------------|---|--|
|                           | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>      | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                   | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                  |
| Antimonio                 | 17,5                           | ± 1,8             | 10  | 30   |
| Arsenico                  | 83,3                           | ± 8,3             | 20  | 50   |
| Berilio                   | 1,8                            | ± 0,2             | 2   | 10   |
| Cadmio                    | 4,4                            | ± 0,7             | 2   | 15   |
| Cobalto                   | N.R                            | N.R               | 20  | 250  |
| Cromo Totale              | 194,1                          | ± 22,6            | 150   | 800  |
| Mercurio                  | N.R                            | N.R               | 1   | 5  |
| Nichel                    | 62,8                           | ± 7,5             | 120   | 500  |
| Piombo                    | 785                            | ± 103             | 100   | 1000   |
| Rame                      | 74,7                           | ± 10,4            | 120   | 600  |
| Selenio                   | N.R                            | N.R               | 3   | 15   |
| Stagno                    | 185                            | ± 18              | 1   | 350  |
| Tallio                    | N.R                            | N.R               | 1   | 10   |
| Vanadio                   | 70,8                           | ± 9,3             | 90  | 250  |
| Zinco                     | 1458                           | ± 177             | 150   | 1500   |
| Benzo (a) antracene       | 0,512                          | ± 0,082           | 0,5   | 10   |
| Benzo (a) pirene          | 0,357                          | ± 0,057           | 0,1   | 10   |
| Benzo (b) fluorantene-s   | 0,162                          | ± 0,026           | 0,5   | 10   |
| Benzo (k) fluorantene-s   | 0,301                          | ± 0,048           | 0,5   | 10   |
| Benzo (g-h-i) perilene-s  | 0,31                           | ± 0,05            | 0,1   | 10   |
| Crisene                   | 0,571                          | ± 0,091           | 5   | 50   |
| Dibenzo (a-e) pirene      | 0,081                          | ± 0,013           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-l) pirene      | 0,063                          | ± 0,010           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-i) pirene      | 0,075                          | ± 0,012           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) pirene      | 0,067                          | ± 0,011           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) antracene   | 0,096                          | ± 0,015           | 0,1   | 10   |
| Indeno (1,2,3) pirene     | 0,012                          | ± 0,002           | 0,1   | 5  |
| Pirene                    | 0,99                           | ± 0,158           | 5   | 50   |
| PCB Totali                | 0,23                           | ± 0,046           | 0,06  | 5  |
| Idrocarburi C<12          | <0,5                           |                   | 10  | 250  |
| Idrocarburi C>=12         | 26,3                           | ± 5               | 50  | 750  |
| Sost. Organica Totale [%] | 4,3                            | ± 0,8             |   |  |

| <b>PARAMETRO</b>                                   | <b>SED. PIOMBINO DARSENA PESCHERECCI</b> |                   |  |  |
|--|--|-------------------|--|--|
|  | <i>Misura [% m/m]</i>                    | <i>Incertezza</i> |  |  |
| Azoto disponibile (*)                              | 0,0006                                   | 0,0001            |  |  |
| Fosforo disponibile                                | 0,0014                                   | 0,0002            |  |  |
| Carbonio organico                                  | 1,6                                      | ± 0,3             |  |  |
| Acidi umici  | <0,05                                    | -                 |  |  |
| Acidi fulvici                                      | <0,05                                    | -                 |  |  |
| (*)=Somma di azoto nitrico, nitroso ed ammoniacale |  |                   |  |  |

Tabella 6: Concentrazione dei principali inquinanti (\*)

| <b>PARAMETRO</b>                                   | <b>SED. VASCA PICCOLA</b>               |            | CONC. SOGLIA CONTAMINANTE<br>(D.Lgs. 152/2006) Col. A | CONC. SOGLIA CONTAMINANTE<br>(D.Lgs. 152/2006) Col. B |
|--|---|------------|---|---|
|  | Misura [mg/kg s.s.]                     | Incertezza | Misura [mg/kg s.s.]                                   | Misura [mg/kg s.s.]                                   |
| Antimonio  | 15,3                                    | ± 1,5      | 10  | 30  |
| Arsenico   | 39,5                                    | ± 4,0      | 20  | 50  |
| Berilio  | 0,943                                   | ± 0,094    | 2   | 10  |
| Cadmio   | N.R.                                    | N.R.       | 2   | 15  |
| Cobalto  | N.R.                                    | N.R.       | 20  | 250   |
| Cromo Totale                                       | 26,1                                    | ± 3,3      | 150   | 800   |
| Mercurio   | 0,132                                   | ± 0,024    | 1   | 5   |
| Nichel   | 21,9                                    | ± 2,6      | 120   | 500   |
| Piombo   | 62,9                                    | ± 0,1      | 100   | 1000  |
| Rame   | 12                                      | ± 1,7      | 120   | 600   |
| Selenio  | 4,2                                     | ± 0,4      | 3   | 15  |
| Stagno   | 7,2                                     | ± 0,7      | 1   | 350   |
| Tallio   | N.R.                                    | N.R.       | 1   | 10  |
| Vanadio  | 27,4                                    | ± 3,6      | 90  | 250   |
| Zinco  | 159                                     | ± 19       | 150   | 1500  |
| Benzo (a) antracene                                | 0,142                                   | ± 0,023    | 0,5   | 10  |
| Benzo (a) pirene                                   | 0,086                                   | ± 0,014    | 0,1   | 10  |
| Benzo (b) fluorantene-s                            | 0,034                                   | ± 0,006    | 0,5   | 10  |
| Benzo (k) fluorantene-s                            | 0,063                                   | ± 0,010    | 0,5   | 10  |
| Benzo (g-h-i) perilene-s                           | 0,065                                   | ± 0,010    | 0,1   | 10  |
| Crisene  | 0,319                                   | ± 0,051    | 5   | 50  |
| Dibenzo (a-e) pirene                               | 0,021                                   | ± 0,003    | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-l) pirene                               | 0,018                                   | ± 0,003    | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-i) pirene                               | 0,019                                   | ± 0,003    | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-h) pirene                               | 0,017                                   | ± 0,003    | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-h) antracene                            | 0,017                                   | ± 0,003    | 0,1   | 10  |
| Indeno (1,2,3) pirene                              | 0,102                                   | ± 0,016    | 0,1   | 5   |
| Pirene   | 0,308                                   | ± 0,049    | 5   | 50  |
| PCB Totali   | 0,11                                    | ± 0,02     | 0,06  | 5   |
| Idrocarburi C<12                                   | 0,72                                    | ± 0,10     | 10  | 250   |
| Idrocarburi C>=12                                  | 10,3                                    | ± 5        | 50  | 750   |
| Sost. Organica Totale [%m/m]                       | 2,4                                     | ± 0,4      |   |   |
|  |   |            |   |   |
| <b>PARAMETRO</b>                                   | <b>SED. PIOMBINO AREA VASCA PICCOLA</b> |            |   |   |
|  | Misura [% m/m]                          | Incertezza |   |   |
| Azoto disponibile (*)                              | 0,0006                                  | 0,0001     |   |   |
| Fosforo disponibile                                | 0,0009                                  | 0,0001     |   |   |
| Carbonio organico                                  | 1,2                                     | ± 0,2      |   |   |
| Acidi umici  | <0,05                                   | -          |   |   |
| Acidi fulvici                                      | <0,05                                   | -          |   |   |
| (*)=Somma di azoto nitrico, nitroso ed ammoniacale |   |            |   |   |

In giallo si osservano i superamenti delle concentrazioni di soglia riferiti ai valore del D.Lgs 152/2006.

La darsena maggiormente contaminata sembra essere la “Darsena Pescherecci”. Per questo motivo si è proceduto ad approfondire lo studio in questa vasca.

In generale si osserva un inquinamento diffuso da metalli pesanti e in alcuni casi da PCB e Idrocarburi pesanti.

### 7.3 Concentrazioni degli inquinanti del porto di Piombino – analisi di dettaglio

Nei tre campioni prelevati dalla “Darsena Pescherecci” si riscontrano superamenti sia della colonna A che B del D.Lgs 152/2006 in generale dei metalli pesanti e degli idrocarburi e PCB.

Tabella 7: Concentrazione dei principali inquinanti

| <b>PARAMETRO</b>          | <b>SED.DARSENA PESCHERECCI P91</b> |                   | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/2006) Col. A</b> | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/206) Col. B</b> |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------|---|--|
|                           | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>          | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                   | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                  |
| Antimonio                 | 37,7                               | ± 3,8             | 10  | 30   |
| Arsenico                  | 77,8                               | ± 7,8             | 20  | 50   |
| Berilio                   | 0,87                               | ± 0,1             | 2   | 10   |
| Cadmio                    | 4                                  | ± 0,6             | 2   | 15   |
| Cobalto                   | N.R                                | N.R               | 20  | 250  |
| Cromo Totale              | 97                                 | ± 25,5            | 150   | 800  |
| Mercurio                  | N.R                                | N.R               | 1   | 5  |
| Nichel                    | 40,4                               | ± 4,8             | 120   | 500  |
| Piombo                    | 462                                | ± 58              | 100   | 1000   |
| Rame                      | 121                                | ± 16              | 120   | 600  |
| Selenio                   | N.R                                | N.R               | 3   | 15   |
| Stagno                    | 116                                | ± 12              | 1   | 350  |
| Tallio                    | N.R                                | N.R               | 1   | 10   |
| Vanadio                   | 50,2                               | ± 6,1             | 90  | 250  |
| Zinco                     | 1749                               | ± 213             | 150   | 1500   |
| Benzo (a) antracene       | 6,6                                | ± 1,1             | 0,5   | 10   |
| Benzo (a) pirene          | 6,4                                | ± 1               | 0,1   | 10   |
| Benzo (b) fluorantene-s   | 7,9                                | ± 1,3             | 0,5   | 10   |
| Benzo (k) fluorantene-s   | 3,6                                | ± 0,6             | 0,5   | 10   |
| Benzo (g-h-i) perilene-s  | 4                                  | ± 0,6             | 0,1   | 10   |
| Crisene                   | 8,8                                | ± 1,4             | 5   | 50   |
| Dibenzo (a-e) pirene      | 0,021                              | ± 0,003           | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-l) pirene      | <0,01                              | -                 | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-i) pirene      | <0,01                              | -                 | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) pirene      | <0,01                              | -                 | 0,1   | 10   |
| Dibenzo (a-h) antracene   | 1                                  | ± 0,2             | 0,1   | 10   |
| Indeno (1,2,3) pirene     | 1,8                                | ± 0,3             | 0,1   | 5  |
| Pirene                    | 9,6                                | ± 1,5             | 5   | 50   |
| PCB Totali                | 1,04                               | ± 0,17            | 0,06  | 5  |
| Idrocarburi C<12          | <0,5                               | -                 | 10  | 250  |
| Idrocarburi C>=12         | 2884                               | ± 461             | 50  | 750  |
| Sost. Organica Totale [%] | 7,7                                | ± 1,2             |   |  |

Tabella 8: Concentrazione dei principali inquinanti

| <b><u>PARAMETRO</u></b>    | <b>SED.DARSENA PESCHERECCI P84</b> |                   | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/2006) Col. A</b> | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE<br/>(D.Lgs.152/2006) Col. B</b> |
|----------------------------|------------------------------------|-------------------|---|---|
|                            | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>          | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                   | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>                                   |
| Antimonio                  | 7,5                                | ± 0,7             | 10  | 30  |
| Arsenico                   | 68,6                               | ± 6,9             | 20  | 50  |
| Berilio                    | 0,74                               | ± 0,09            | 2   | 10  |
| Cadmio                     | 4,4                                | ± 0,7             | 2   | 15  |
| Cobalto                    | N.R                                | N.R               | 20  | 250   |
| Cromo Totale               | 169                                | ± 36              | 150   | 800   |
| Mercurio                   | N.R                                | N.R               | 1   | 5   |
| Nichel                     | 91,7                               | ± 10,8            | 120   | 500   |
| Piombo                     | 478                                | ± 60              | 100   | 1000  |
| Rame                       | 180                                | ± 23              | 120   | 600   |
| Selenio                    | N.R                                | N.R               | 3   | 15  |
| Stagno                     | 230                                | ± 23              | 1   | 350   |
| Tallio                     | N.R                                | N.R               | 1   | 10  |
| Vanadio                    | 50,7                               | ± 6,2             | 90  | 250   |
| Zinco                      | 2006                               | ± 244             | 150   | 1500  |
| Benzo (a) antracene        | 7,1                                | ± 1,1             | 0,5   | 10  |
| Benzo (a) pirene           | 6                                  | ± 1               | 0,1   | 10  |
| Benzo (b) fluorantene-s    | 9,1                                | ± 1,5             | 0,5   | 10  |
| Benzo (k) fluorantene-s    | 2,7                                | ± 0,4             | 0,5   | 10  |
| Benzo (g-h-i) perilene-s   | 3,4                                | ± 0,5             | 0,1   | 10  |
| Crisene                    | 0,05                               | ± 0,01            | 5   | 50  |
| Dibenzo (a-e) pirene       | 0,02                               | ± 0,00            | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-l) pirene       | <0,01                              | -                 | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-i) pirene       | 0,04                               | ± 0,01            | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-h) pirene       | <0,01                              | -                 | 0,1   | 10  |
| Dibenzo (a-h) antracene    | 0,9                                | ± 0,1             | 0,1   | 10  |
| Indeno (1,2,3) pirene      | 1,4                                | ± 0,2             | 0,1   | 5   |
| Pirene                     | 11,8                               | ± 1,9             | 5   | 50  |
| PCB Totali                 | 0,84                               | ± 0,15            | 0,06  | 5   |
| Idrocarburi C<12           | <0,5                               | -                 | 10  | 250   |
| Idrocarburi C>=12          | 3882                               | ± 621             | 50  | 750   |
| Sost. Organica Totale [%m/ | 8,6                                | ± 1,4             |   |   |

Tabella 9 Concentrazione dei principali inquinanti

| <b>PARAMETRO</b>          | <b>SED.DARSENA PESCHERECCI P87</b> |                   | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE</b><br>(D.Lgs.152/2006) Col. A | <b>CONC.SOGLIA CONTAMINANTE</b><br>(D.Lgs.152/2006) Col. B |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------|--|--|
|                           | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>         | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>                                 | <i>Misura [mg/kg s.s.]</i>                                 |
| Antimonio                 | 7,9                                | ± 0,8             | 10   | 30   |
| Arsenico                  | 142,6                              | ± 14,3            | 20   | 50   |
| Berilio                   | 1,1                                | ± 0,1             | 2  | 10   |
| Cadmio                    | 5,9                                | ± 0,9             | 2  | 15   |
| Cobalto                   | N.R                                | N.R               | 20   | 250  |
| Cromo Totale              | 128                                | ± 17,1            | 150  | 800  |
| Mercurio                  | N.R                                | N.R               | 1  | 5  |
| Nichel                    | 63,7                               | ± 7,5             | 120  | 500  |
| Piombo                    | 668                                | ± 84              | 100  | 1000   |
| Rame                      | 140                                | ± 18              | 120  | 600  |
| Selenio                   | N.R                                | N.R               | 3  | 15   |
| Stagno                    | 147                                | ± 15              | 1  | 350  |
| Tallio                    | N.R                                | N.R               | 1  | 10   |
| Vanadio                   | 60,1                               | ± 7,3             | 90   | 250  |
| Zinco                     | 2948                               | ± 359             | 150  | 1500   |
| Benzo (a) antracene       | 4,9                                | ± 0,8             | 0,5  | 10   |
| Benzo (a) pirene          | 4,8                                | ± 0,8             | 0,1  | 10   |
| Benzo (b) fluorantene-s   | 11,1                               | ± 1,8             | 0,5  | 10   |
| Benzo (k) fluorantene-s   | 2,7                                | ± 0,4             | 0,5  | 10   |
| Benzo (g-h-i) perilene-s  | 2,8                                | ± 0,4             | 0,1  | 10   |
| Crisene                   | 7,3                                | ± 1,2             | 5  | 50   |
| Dibenzo (a-e) pirene      | 0,11                               | ± 0,02            | 0,1  | 10   |
| Dibenzo (a-l) pirene      | 0,05                               | ± 0,01            | 0,1  | 10   |
| Dibenzo (a-i) pirene      | 0,03                               | ± 0,01            | 0,1  | 10   |
| Dibenzo (a-h) pirene      | 0,09                               | ± 0,01            | 0,1  | 10   |
| Dibenzo (a-h) antracene   | 0,56                               | ± 0,09            | 0,1  | 10   |
| Indeno (1,2,3) pirene     | 4,5                                | ± 0,7             | 0,1  | 5  |
| Pirene                    | 8,8                                | ± 1,4             | 5  | 50   |
| PCB Totali                | 0,79                               | ± 0,13            | 0,06   | 5  |
| Idrocarburi C<12          | <0,5                               | -                 | 10   | 250  |
| Idrocarburi C>=12         | 2422                               | ± 388             | 50   | 750  |
| Sost. Organica Totale [%m | 8                                  | ± 1,3             |  |  |

#### 7.4 *Analisi biologiche dati Next Generation Sequencing su sedimenti Piombino*

Il sedimento proveniente dall'attività di dragaggio del Porto di Piombino è stato caratterizzato da UNIFI attraverso tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing, NGS) al fine di ottenere un profilo microbiologico completo per le attività sperimentali previste nel corso del presente progetto.

Il sedimento, caratterizzato rispettivamente da una percentuale pelitica del 74,72% e sabbiosa pari al 24,84% è stato ammendato con matrice lignocellulosica al fine di migliorarne la granulometria. La caratterizzazione chimica iniziale ha mostrato uno sbilanciamento del rapporto tra i macronutrienti a favore del carbonio dovuto alla contaminazione della matrice in esame. È risultata quindi necessaria una correzione del bilancio tra i macronutrienti C, N, e P con rapporto 100:10:1, al fine di garantire il corretto fabbisogno all'intera comunità microbica del sedimento.

Il DNA totale è stato estratto a partire da 0.5 g di sedimento, correttamente omogenato, con FastDNA Spin kit for soil (MP Biomedicals), secondo le istruzioni del produttore. Lo spettrofluorimetro Qubit 3.0 (Thermo-Scientific, USA) è stato utilizzato per la misurazione della quantità di DNA estratto, seguendo le istruzioni per il dosaggio ad alta sensibilità. Gli stessi campioni sono stati utilizzati per la valutazione della qualità del DNA totale mediante la misurazione del rapporto tra le assorbanze del campione a 260/280 nm e 260/230 nm utilizzando lo spettrofotometro Spectrostar Nano UV-Vis (BMG Labtech).

Per il sequenziamento sono stati usati duecento (200) ng di DNA totale per replica (6 repliche totali). La piattaforma di sequenziamento NGS utilizzata è stata l'Illumina, con uno screening sulle regioni ipervariabili V4-V5 del gene 16S rRNA (primer 515F e 907R) della comunità batterica nel sedimento ammendato con la matrice lignocellulosica.

Le Paired-end reads ottenute sono state assemblate utilizzando il software FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>). La qualità delle *raw tags* è stata eseguita al fine di ottenere *clean tag* di alta qualità, utilizzando il tool Qiime (V1.7.0, [http://qiime.org/scripts/split\\_libraries\\_fastq.html](http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html)). Le *clean tag* sono state confrontate con il database di riferimento (database Gold, [http://drive5.com/uchime/uchime\\_download.html](http://drive5.com/uchime/uchime_download.html)) utilizzando l'algoritmo UCHIME (UCHIME Algorithm, [http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime\\_algo.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)) per rilevare e rimuovere eventuali sequenze chimera (<https://drive5.com/usearch/manual/chimeras.html>).

L'analisi delle sequenze è stata eseguita con il software Uparse (Uparse v7.0.1001 <http://drive5.com/uparse/>). Le sequenze con un'omologia  $\geq 97\%$  sono state assegnate alle stesse OTU (Operational Taxonomic Unit). Il database SILVA (<http://www.arb-silva.de/>) per le SSUrRNA del 16S rDNA è stato consultato attraverso il software Mothur, al fine di annotare le specie batteriche (regno, phylum, classe, ordine, famiglia, genere, specie). Analisi statistiche sulle OTU ottenute sono state effettuate al fine di ottenere informazioni sulla biodiversità del campione in esame.

Al campione in esame sono state associate 3312 OTU medie. Il grafico ad albero dell'annotazione delle specie presenti nel sedimento ammendato con la matrice lignocellulosica è stato realizzato con

GraPhlAn. Il grafico Graphlan (fig. 6) mostra come il campione in esame sia caratterizzato da una forte presenza di batteri appartenenti al phylum dei Proteobatteri, subito seguito da altri tre phyla dominanti quali i Firmicutes, gli Attinobatteri e i Batteriodetes.



Figura 6 Albero delle annotazioni delle OTU costruito con GraPhlAn. La dimensione dei cerchi rappresenta l'abbondanza di specie. Colori diversi indicano phyla diversi. I cerchi pieni rappresentano le prime 40 specie più abbondanti.

La “Species Composition Analysis” ha fornito informazioni circa i primi 10 taxon più abbondanti nel sedimento. Le abbondanze relative delle OTU assegnate ai vari phyla sono rappresentate nell'istogramma di seguito (fig. 7).

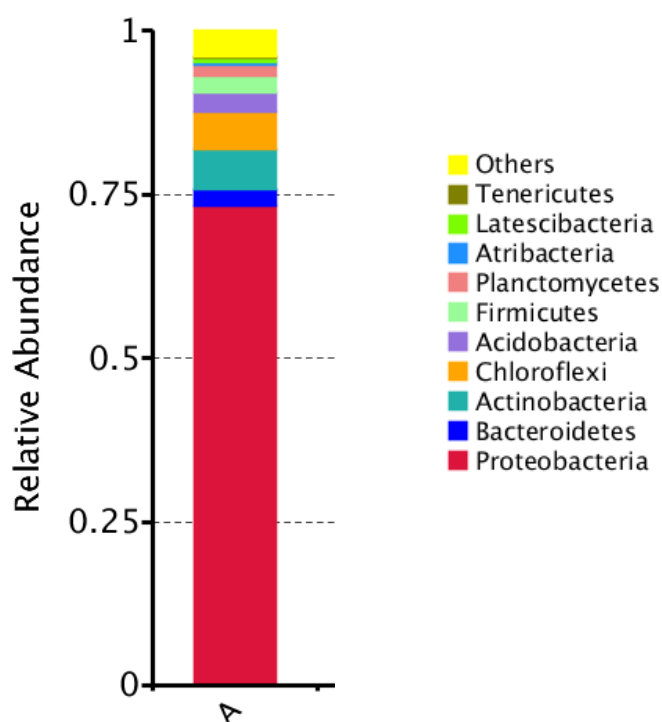


Figura 7 Abbondanza relativa dei primi 10 phylum batterici più abbondanti

Attraverso la “Taxonomic abundance heatmap” è possibile caratterizzare la comunità batterica del sedimento anche a livello di genere. I risultati ottenuti dall'analisi sono mostrati in Figura 8.



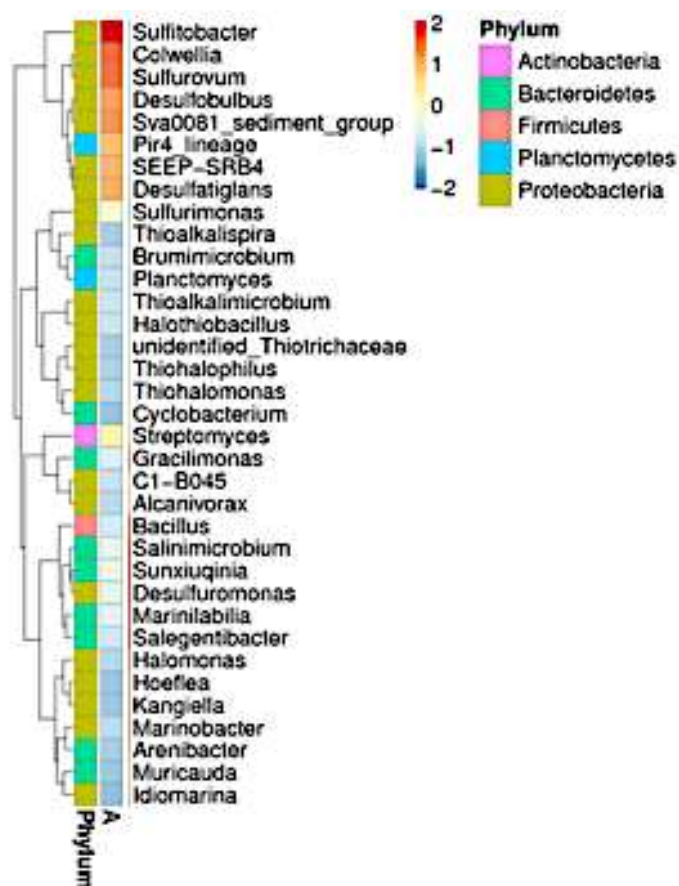


Figura 8 Heatmap dell'abbondanza tassonomica. Il nome del campione è sull'asse X e l'asse Y rappresenta il genere. Il valore assoluto di 'z' rappresenta la distanza tra il punteggio grezzo e la media della deviazione standard. 'Z' è negativo quando il punteggio grezzo è inferiore alla media e viceversa.

La composizione della comunità batterica autoctona al sedimento ammendato con la matrice lignocellulosica, risulta in linea con quanto affermato in precedenti studi in letteratura svolti su matrici come suoli e sedimenti contaminate da inquinanti organici di varia origine quali TPH, PAH e PCB (Becarelli et al., 2019; Siracusa et al., 2018; Siracusa, 2018; Di Gregorio et al., 2016 a,b). La presenza di phyla quali Attinobatteri e Firmicutes, ad esempio, è inoltre associabile alla matrice lignocellulosica ammendata. I batteri appartenenti a questi phyla infatti sembrano essere coinvolti ad esempio nei processi di compostaggio.

La comunità batterica così composta risulta quindi in grado di resistere all'elevato livello di contaminazione e di tossicità della matrice non risulta però in grado di avviare un processo degradativo che porti al raggiungimento degli obiettivi preposti entro i tempi previsti dal progetto. Si rende necessario per cui un intervento di biorisanamento *ad hoc* volto alla rimozione della contaminazione e al ripristino di una matrice non tossica, attraverso ad esempio un intervento di myco-augmentation che ne ridurrebbe la contaminazione, creando una matrice resiliente grazie anche ad una comunità batterica autoctona metabolicamente interessante per il processo.

La caratterizzazione della comunità fungina autoctona al sedimento è in corso.

### 7.5 Granulometria dei campioni del porto di Livorno

Nel sito portuale di LIVORNO i campioni prelevati hanno evidenziato una composizione granulometrica differente nei 3 campioni: i campioni prelevati dai PUNTI 1 e 3 della vasca di colmata presentano una composizione granulometrica per metà formata da sabbia (50-53%) e l'altra metà divisa tra peliti (38%) e ghiaie (8-10%); il campione prelevato dal PUNTO 2 presenta anch'esso una prevalenza della frazione sabbiosa (40%), ma una più evidente frazione ghiaiosa (51%) a discapito della pelitica (6 %).

Tabella 10 Composizione granulometrica dei sedimenti prelevati a Livorno

| Caratterizzazione preliminare: Porto di Livorno |         |        |       |       |       |      |        |
|---|---------|--------|-------|-------|-------|------|--------|
| Valori espressi in % (p.s.)                     |         |        |       |       |       |      |        |
| Campione  | GHIAIE  | SABBIE |       |       |       |      | PELITI |
|   | 2000 µm | 1000µm | 500µm | 250µm | 125µm | 63µm | <63µm  |
| LIVORNO PUNTO 1                                 | 10,62   | 8,92   | 9,54  | 6,77  | 18,46 | 7,23 | 38,46  |
| LIVORNO PUNTO 2                                 | 51,67   | 13,94  | 13,48 | 9,55  | 3,03  | 1,67 | 6,67   |
| LIVORNO PUNTO 3                                 | 8,13    | 7,66   | 6,70  | 9,09  | 21,05 | 8,61 | 38,76  |
|   |         |        |       |       |       |      |        |

| SINTESI (%)     |        |              |              |
|-----------------|--------|--------------|--------------|
| Campione        | GHIAIE | SABBIE       | PELITI       |
| LIVORNO PUNTO 1 | 10,62  | <b>50,92</b> | <b>38,46</b> |
| LIVORNO PUNTO 2 | 51,67  | <b>41,67</b> | <b>6,67</b>  |
| LIVORNO PUNTO 3 | 8,13   | <b>53,11</b> | <b>38,76</b> |
|                 |        |              |              |

## 7.6 Concentrazioni degli inquinanti del Porto di Livorno

Nel sito di LIVORNO i 3 campioni hanno evidenziato mediamente una contaminazione prevalentemente rappresentata dalla concentrazione dei seguenti elementi:

- Ni
- As
- Pb
- Mn

Tabella 11 Concentrazione dei principali metalli (analisi ISPRA) dei campioni prelevati dal Porto di Livorno

|                 | metalli |      |      |     |      |      |         |       |       |     |      |      |      |      | S.O. |
|-----------------|---------|------|------|-----|------|------|---------|-------|-------|-----|------|------|------|------|------|
| CAMPIONE        | Al      | As   | Ba   | Cd  | Cr   | Cu   | Fe      | Hg*   | Mn    | Mo  | Ni   | Pb   | V    | Zn   | [%]  |
| LIVORNO PUNTO 1 | 10987,2 | 11,3 | 52,5 | 0,2 | 43,6 | 17,6 | 14014,2 | 40,4  | 613,2 | 1,1 | 34,8 | 25,2 | 29,4 | 57,3 | 1,46 |
| LIVORNO PUNTO 2 | 6136,2  | 17,6 | 27,6 | 0,1 | 24,8 | 16,8 | 13025,7 | 30,7  | 294,0 | 4,3 | 24,2 | 22,5 | 17,7 | 60,3 | 2,03 |
| LIVORNO PUNTO 3 | 8330,5  | 10,0 | 41,9 | 0,2 | 13,0 | 15,6 | 7893,8  | 242,6 | 107,7 | 2,8 | 10,9 | 59,1 | 18,8 | 83,1 | 2,10 |

Per effettuare le prove sull'impianto pilota di sediment washing è stato scelto il campione N. 3.

Di seguito si riporta la caratterizzazione iniziale (pre-trattamento) del campione inviato all'impianto di sediment washing eseguita a dicembre 2018.

Tabella 12 Concentrazione dei principali inquinanti dei campioni prelevati dal Porto di Livorno

| <b><u>PARAMETRO</u></b>      | <b>SED. LIVORNO TAL QUALE</b> |                   | <b>CONC.SOGLIA<br/>CONTAMINANTE</b> | <b><u>CONC.SITO &gt;<br/>CONC.SOGLIA</u></b> |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------------------------|--|
|                              | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>     | <i>Incertezza</i> | <i>Misura [mg/kg s.s]</i>           |  |
| Antimonio                    | 6,7                           | ± 0,7             | 10                                  | NO   |
| Arsenico                     | 23,8                          | ± 2,4             | 20                                  | SI   |
| Berilio                      | 0,567                         | ± 0,057           | 2                                   | NO   |
| Cadmio                       | N.R                           | N.R               | 2                                   | ---  |
| Cobalto                      | N.R                           | N.R               | 20                                  | ---  |
| Cromo Totale                 | 15,7                          | ± 3,3             | 150                                 | NO   |
| Mercurio                     | N.R                           | N.R               | 1                                   | ---  |
| Nichel                       | 13,2                          | ± 1,6             | 120                                 | NO   |
| Piombo                       | 37,8                          | ± 0,0             | 100                                 | NO   |
| Rame                         | 7,2                           | ± 1,0             | 120                                 | NO   |
| Selenio                      | 4                             | ± 0,4             | 3                                   | SI   |
| Stagno                       | 4,3                           | ± 0,4             | 1                                   | SI   |
| Tallio                       | N.R                           | N.R               | 1                                   | ---  |
| Vanadio                      | 16,5                          | ± 2,2             | 90                                  | NO   |
| Zinco                        | 95                            | ± 12              | 150                                 | NO   |
| Benzo (a) antracene          | <0,1                          | -                 | 0,5                                 | NO   |
| Benzo (a) pirene             | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Benzo (b) fluorantene-s      | <0,1                          | -                 | 0,5                                 | NO   |
| Benzo (k) fluorantene-s      | <0,1                          | -                 | 0,5                                 | NO   |
| Benzo (g-h-i) perilene-s     | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Crisene                      | <0,1                          | -                 | 5                                   | NO   |
| Dibenzo (a-e) pirene         | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Dibenzo (a-l) pirene         | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Dibenzo (a-i) pirene         | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Dibenzo (a-h) pirene         | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Dibenzo (a-h) antracene      | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Indeno (1,2,3) pirene        | <0,1                          | -                 | 0,1                                 | NO   |
| Pirene                       | 0,017                         | ± 0,003           | 5                                   | NO   |
| PCB Totali                   | <0,001                        | -                 | 0,06                                | NO   |
| Idrocarburi C<12             | <0,5                          | -                 | 10                                  | NO   |
| Idrocarburi C>=12            | 217,4                         | ± 5               | 50                                  | SI   |
| Sost. Organica Totale [%m/m] | 1,9                           | ± 0,3             |                                     | ---  |

Circa le analisi ecotossicologiche emerge una tossicità evidente solo dal test di sviluppo embrionale condotte con il riccio di mare.

Risulta invece trascurabile la ecotossicologia con l'alga *Phaeodactylum tricornutum* e con il batterio marino *vibrio fischeri*.

Tabella 13 tossicità ecotossicologica dei campioni prelevati dal Porto di Livorno

|                       | tossicità ecotossicologica   |  |                      |
|-----------------------|--|--|----------------------|
| CAMPIONE/ Echantillon | Inibizione della crescita dell'alga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | test sviluppo embrionale del Riccio di mare <i>Paracentrotus lividus</i> | MTX                  |
| LIVORNO PUNTO 1       | Assente/Trascurabile   | Moderata   | Assente/Trascurabile |
| LIVORNO PUNTO 2       | Assente/Trascurabile   | Alta   | Assente/Trascurabile |
| LIVORNO PUNTO 3       | Assente/Trascurabile   | Alta   | Assente/Trascurabile |

Legenda scala di tossicità:

| Tossicità            |
|----------------------|
| Biostimolazione      |
| Assente/Trascurabile |
| Moderata             |
| Alta                 |
| Molto Alta           |

Per brevità non si riportano le metodiche analitiche utilizzate per le prove ecotossicologiche da ISPRA.

## 8 Conclusioni

In conclusione, dallo studio circa la caratterizzazione granulometrica e analisi chimica dei sedimenti dei porti di Livorno e Piombino emerge quanto segue:

- al fine di applicare la tecnica dell'elettrocinesi e del landfarming i sedimenti del porto di Piombino risultano maggiormente significativi in conseguenza ai livelli elevati di metalli e idrocarburi rilevati nonché alla natura pelitica degli stessi;
- al fine di applicare la tecnica del sediment washing i sedimenti raccolti dalla vasca di colmata del port di Livorno risultano più idonei data la frazione sabbiosa in essi contenuta.

## 9 Bibliografia

- Iannelli, R., M. Masi, A. Ceccarini, M. Ostuni, R. Lageman, A. Muntoni, D. Spiga, A. Poletti, A. Marini, and R. Pomi (2015). "Electrokinetic remediation of metal-polluted marine sediments: experimental investigation for plant design". In: *Electrochimica Acta* 181, pp. 146–159. DOI: 10.1016/j.electacta.2015.04.093.
- Iannelli, R., M. Masi, and A. Ceccarini (2016). "Gestione e trattamento degli elettroliti nella bonifica elettrocinetica di matrici contaminate da metalli pesanti". In: *Ingegneria dell'Ambiente* 3.2, pp. 140–152. DOI: 10.14672 /ida.v3i2.466.
- ICRAM (2006). Progetto preliminare di bonifica dell'area marina inclusa nella perimetrazione del sito di bonifica di interesse nazionale di Livorno. Tech. rep., p. 134.
- Lageman, R and WPool (2009). "Experiences with field applications of electrokinetic remediation". In: *Electrochemical Remediation Technologies for Polluted Soils, Sediments and Groundwater*, C. Cameselle and K. R. Reddy. John Wiley & Sons, Inc., pp. 697–717. DOI: 10.1002/9780470523650.ch7.
- Lageman, R, W Pool, and G. A. Seffinga (1989). "In-Situ Bodensanierung durch elektrokinetischen Schadstofftransport". In: *Sanierung kontaminierter Standorte*. Ed. by E. S. Verlag. Vol. 33. Abfallwirtschaft in Forschung und Praxis. Berlin, Germany, pp. 255–282.
- Masi, M. and R. Iannelli (2015). "Trattamento elettrocinetico di sedimenti di dragaggio portuale contaminati da metalli pesanti: il progetto life+ "SEKRET"". In: *Ingegneria dell'Ambiente* 2.2, pp. 45–58. DOI: 10.14672 /ida.v2i2.334.