



**Relazione finale relativa alla valutazione della
salubrità ambientale dell'area circostante le
discariche di Gorla Maggiore, Gorla Minore,
Mozzate e Gerenzano**

Milano, Ottobre 2015

Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente



Unità d'Igiene Industriale ed Ambientale





Funzione e ruolo della nostra Fondazione

*L'Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" è una
Fondazione Scientifica che opera nel campo della*

Ricerca Biomedica.

*È stato costituito giuridicamente nel 1961 e ha iniziato le attività
nella sede di Milano il 1° febbraio 1963, fin dall'inizio diretto dal
prof. Silvio Garattini.*

*Scopo fondamentale delle attività dell'Istituto è contribuire alla
difesa della salute e della vita umana.*

*Il nostro istituto è una fondazione senza scopo di lucro elevata
ad ente morale con decreto del presidente della Repubblica, ed è
sia per statuto, che per etica professionale "super partes".*

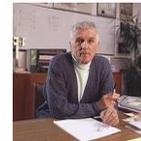
*Il nostro istituto dimostrando eccellenza nella organizzazione e gestione dei
servizi sanitari e nello sviluppo della ricerca nel campo biomedico, in seguito ad
una attenta valutazione da parte del Ministero della Salute, nel gennaio 2013 ha
ricevuto il "riconoscimento del carattere scientifico nell'area clinica di*

*competenza", ed è stato quindi qualificato come **IRCCS***

(Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico)

*nella disciplina «Farmacologia e sperimentazione clinica sulle malattie
neurologiche, rare ed ambientali».*

*L'indipendenza da istituzioni pubbliche e private, ci porta a svolgere sempre i
nostri studi applicando le conoscenze scientifiche più aggiornate, nell'interesse
della protezione della salute e dell'ecosistema nel quale viviamo.*



Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente



Unità d'Igiene Industriale ed Ambientale

Sommario

Descrizione del Progetto e Considerazioni.....	4
Conclusioni	5
Parte 1 – Risultati delle Indagini Sperimentali	6
Qualità dell’Aria.....	7
Qualità dei Suoli Superficiali	9
Qualità delle Acque Superficiali	10
Parte 2 – Studio del potenziale rischio eco tossicologico con modelli computazionali “ <i>in silico</i> ”.....	12
L’utilizzo di un indice di qualità ambientale.....	13
L’utilizzo di un indice di qualità dell’aria.....	13
L’utilizzo di un indice di qualità dei Suoli Superficiali	17
L’utilizzo di un indice di qualità delle Acque Superficiali	19
L’utilizzo dell’analisi di rischio	21
Il nostro approccio metodologico: Indici di Qualità Estesi	25
Applicazione degli indici di qualità estesi	26
Indice Esteso di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB)	28
Parte 3 – Valutazione della salubrità ambientale mediante l’impiego di biosaggi.....	30
Premessa	31
Matrice “ACQUE SUPERFICIALI”	31
Matrice “SUOLO”	34
Quadro Riassuntivo delle Evidenze Sperimentali	47
Riferimenti Bibliografici	48

Descrizione del Progetto e Considerazioni

L'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri è stato incaricato di svolgere un progetto finalizzato alla valutazione della salubrità ambientale dell'area circostante le discariche di Gorla Maggiore, Gorla Minore, Mozzate e Gerenzano. Tale progetto realizzato nel triennio 2011-13 e conclusosi in via definitiva nel 2015 con le ultime azioni, ha comportato la realizzazione dei seguenti punti:

1. Monitoraggio sperimentale e quantificazione degli inquinanti presenti nelle tre matrici ambientali considerate (aria, acque superficiali e suolo).
2. Elaborazioni *in silico* finalizzate alla definizione della qualità e salubrità ambientale (totale e per singola matrice) e del rischio (eco)tossicologico associato al quale risultano esposti i diversi recettori (umani/ambientali) presenti sul territorio.
3. Valutazione sperimentale della salubrità ambientale dedotta dagli studi condotti su colture cellulari (biosaggi tossicologici) ed organismi animali e vegetali rappresentativi dell'ecosistema (biosaggi ecotossicologici).

E' necessario sottolineare che tutti i risultati presentati devono essere riferiti alla globalità del territorio e non al singolo territorio comunale: se questo appare evidente per la definizione della qualità delle acque superficiali e dei suoli, risulta invece estremamente importante evidenziare che i risultati del monitoraggio degli inquinanti atmosferici sono influenzati in parte dalle caratteristiche del sito di monitoraggio (urbano/suburbano/traffico), ma soprattutto dal periodo climatologico (caldo/freddo) dell'anno nel quale il monitoraggio è avvenuto. Analogamente alla definizione della qualità dell'aria, anche le valutazioni della salubrità e del rischio associato hanno senso solo se viene considerata l'area di indagine nella sua totalità al fine di non ottenere un risultato parziale e inattendibile.

I risultati delle 3 fasi descritte ai punti precedenti (e riportati in dettaglio nelle parti 1, 2 e 3 della presente relazione) sono riassunti ai seguenti 6 punti che descrivono, a propria volta, le finalità del progetto svolto:

1. valutare la qualità dell'aria nel complesso dell'area circoscritta dai comuni di Carbonate, Cislago, Gerenzano, Gorla Maggiore, Gorla Minore, Marnate, Mozzate, Locate Varesino, Rescaldina e Uboldo:

L'utilizzo di "indici sintetici e/o estesi" consente di riassumere la Qualità dell'Aria con un giudizio che tiene conto delle concentrazioni di tutti gli inquinanti misurati. In particolare, per quanto riguarda l'area in oggetto, la Qualità dell'Aria è classificabile, secondo dell'indice utilizzato, come "Molto Insalubre" (AQI), "Da Insalubre a Molto Insalubre" (IRQA Assoluto) o "Da Insalubre per i gruppi Sensibili ad Insalubre" (IRQA Relativo). Evidenza questa che mostra da un lato la scarsa qualità dell'atmosfera (comunque comune alla maggior parte delle aree urbanizzate nel bacino padano) e dall'altro un potenziale rischio per la salute per tutti gli esposti ai contaminanti ambientali.

2. Valutare lo stato di qualità e salubrità ambientale del territorio dei Comuni interessati dalle discariche di Gorla Maggiore, Mozzate e Gerenzano:

Le valutazioni relative alla qualità ambientale ed allo stato di salubrità ambientale dell'area sono state eseguite valutando la qualità di ciascuna delle tre matrici ambientali (aria, acqua e suolo) considerate dal progetto. Tale valutazione ha preso inoltre in considerazione quattro profili espositivi (standard, di riferimento, urbano e agricolo) riconducibili a tipologie di recettori (umani) presenti all'interno dell'area di indagine. Il risultato finale è espresso da un giudizio complessivo sintetizzato da un indice tossicologico relativo alla qualità ambientale ed al potenziale rischio associato. Nel caso specifico è risultata una "Qualità Ambientale da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre" associata ad un "Rischio da Moderato a Rilevante" per tutti i profili espositivi utilizzando l'indice esteso IRTQAMB.

3. Affrontare la caratterizzazione dell'ambiente circostante le discariche relativamente al problema della contaminazione chimica, ed in funzione della protezione della salute umana e degli organismi viventi nell'ecosistema, prendendo in considerazione la presenza e gli effetti dei principali inquinanti:

Gli effetti potenziali del danno ambientale sono stati verificati sperimentalmente esponendo degli organismi modello alle matrici ambientali contaminate (aria, acque, suoli) considerando sia gli effetti negativi sulla salute umana che sull'ambiente. L'utilizzo di "saggi (eco)tossicologici" permette di

analizzare i diversi comparti ambientali nel loro insieme, tenendo in considerazione gli effetti indotti da tutti gli inquinanti presenti. Dalla analisi a carattere ambientale risulta che le acque campionate non presentano tossicità, mentre limitate criticità sono presenti nei suoli di tipo agricolo. Per quanto riguarda i saggi relativi agli impatti sulla salute umana, sono stati riscontrati potenziali criticità sia nei suoli di tipo agricolo sia per la qualità dell'aria dovuta al particolato atmosferico.

4. Individuare le principali situazioni di criticità presenti:

Il confronto delle concentrazioni misurate nell'area di indagine con i valori limite (o obiettivo) proposti dalla vigente normativa (D.L. 155/2010) ha evidenziato che le principali situazioni di criticità sono rappresentate dal non rispetto dei parametri di qualità per il particolato aerodisperso, in particolare il PM10 (concentrazione media annua di 46.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, maggiore del Valore Limite di 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), il PM2.5 (concentrazione media annua di 38.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, maggiore del Valore Obiettivo di 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) e l'Ozono (50 superamenti del Valore Limite di 120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ invece di 25), mentre la concentrazione media annuale di NO₂ pur essendone al di sotto (38.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) è molto vicino al Valore Limite (40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Al contrario le misure di altri inquinanti tossici, ma non normati, mettono in evidenza basse concentrazioni comunque rientranti nei range tipici delle aree rurali (PCDD/F: 0.02 pg/m^3 ; PCBs: 0.002 pg/m^3) o di background (HCB: 40.9 pg/m^3 ; Hg: 5.1 ng/m^3).

5. Fornire ai comuni uno strumento interattivo "WEB" con la possibilità di poter continuare a valutare l'andamento temporale della qualità e salubrità ambientale anche dopo la fine di questo progetto:

Nell'ottobre 2015 è stato "consegnato" lo strumento interattivo WEB denominato Sistema Integrato di Tossicologia Ambientale (SITA). Il SITA è consultabile via web dall'apposito portale al seguente indirizzo: <http://sita-web.marionegri.it/Login.aspx>. Lo strumento permette di effettuare Valutazioni di Impatto Ambientale, Valutazioni di Impatto Sanitario o più in generale Valutazioni di Salubrità Ambientale. Dal punto di vista gestionale lo strumento rappresenta un valido aiuto per la progettazione di misure di mitigazione dell'esposizione dei recettori (umani/ambientali) ai contaminanti ambientali e concettualmente rappresenta uno strumento di prevenzione delle "malattie ambientali".

6. Esporre alla popolazione i contenuti delle ricerche:

Dal 2011 al 2013 sono stati forniti agli amministratori locali (comunali/regionali) documenti relativi all'avanzamento dei lavori e dei parziali risultati ottenuti dal progetto. Questo documento rappresenta la versione riassuntiva finale dell'intero studio di salubrità ambientale. Potranno infine essere svolti futuri programmi di divulgazione dei risultati dello studio alla popolazione da concordare con le amministrazioni locali.

Conclusioni

Anche se non si può certamente riassumere in una sola frase la Qualità Ambientale, i Rischi potenziali associati all'esposizione degli inquinati, si può però sintetizzare che la Salubrità Ambientale complessiva dell'ecosistema nella quale la comunità dei 10 comuni vive, è analogo a quello della popolazione della Pianura Padana, Località altamente antropizzata con particolare climatologia che la rende fra le aree dove è certamente maggiore lo sforzo che si deve fare per mitigare sia i reali che potenziali effetti negativi che la salute umana e l'ambiente subiscono dall'assunzione "volontaria ed involontaria" della miscela di sostanze chimiche (e fisiche) presenti.

Per approfondire lo stato di salubrità ambientale è necessario effettuare ulteriori approfondimenti, in particolare con un approccio epidemiologico, per evidenziare gli strati di popolazione potenzialmente soggetti a "Malattie Ambientali" come previsto dalle recenti linee guida regionali (Valutazioni di Impatto Sanitario delibera regionale Gennaio 2014)

Parte 1 – Risultati delle Indagini Sperimentali

Qualità dell'Aria

Si è proceduto alla valutazione della qualità dell'aria, con tecniche sperimentali attive e di seguito viene fornito un quadro riassuntivo di quanto determinato, riportando le concentrazioni medie in aria degli inquinanti determinati nelle dieci aree comunali circostanti gli impianti di smaltimento rifiuti (discariche) di Gorla Maggiore, Mozzate e Gerenzano e il loro confronto con i Valori Limite, Obiettivo e Riferimento riportati in letteratura.

Tabella 1: Concentrazione in aria degli inquinanti monitorati nelle dieci aree comunali circostanti gli impianti di smaltimento rifiuti (discariche) di Gorla Maggiore, Mozzate e Gerenzano e loro confronto con i Valori Limite (VL), Obiettivo (VO) e Riferimento (VR) sono riportati in Letteratura^(1,2,3,4,5,6).

Inquinante	Periodo di Mediazione	Tipo di Limite	VL/VO/VR	da Marzo 2011 a Giugno 2012
Biossido di Azoto	Orario (per non più di 18 volte all'anno)	VL	200 µg/m ³	38.4±17.9µg/m ³
	Annuo		40 µg/m ³	
Benzene	Annuo	VL	5 µg/m ³	0.6±0.6µg/m ³
	Giornaliero (non più di 35 volte all'anno)		50 µg/m ³	
Particolato PM ₁₀	Annuo	VL	40 µg/m ³	46.3±21.1µg/m ³
	Annuo al 2010 (+MT) [valore di riferimento]		29 µg/m ³	
Particolato PM _{2.5}	Annuo al 2015	VL	25 µg/m ³	38.1±17.6µg/m ³
	Anno		0.5 µg/m ³	
Piombo	Media max giornaliera su 8 ore	VO	120 µg/m ³	50.9±23.0µg/m ³
Arsenico	Tenore totale di ciascun inquinante presente nella frazione PM ₁₀ del materiale	VO	6.0 ng/m ³	3.0±1.8ng/m ³
Cadmio	particolato, calcolato come media su un anno civile		5.0 ng/m ³	0.6±0.3ng/m ³
Nichel			20.0 ng/m ³	9.4±7.4ng/m ³
Benzo(a)Pirene			1.0 ng/m ³	0.5±0.8ng/m ³
Diossine (TCDD Eq)	Area Remota	VR	< 0.01 pg/m ³	0.02±0.02pg/m ³
	Area Rurale		0.02-0.05 pg/m ³	
	Area Urbana/Industriale		0.1-0.4 pg/m ³	
	BackGround Area Urbana		0.12±0.094 pg/m ³	
PCB (TCDD Eq)	BackGround Area Rurale	VR	0.013 pg/m ³	0.002±0.002pg/m ³
	Area Rurale		0.001-0.01 pg/m ³	
	Area Urbana/Industriale		0.01-0.05 pg/m ³	
	BackGround Area Rurale		0.00071 pg/m ³	
HCB	BackGround Area Urbana	VR	0.0009pg/m ³	40.9±15.8pg/m ³
	Background		18-55 pg/m ³	
Mercurio	U.S. EPA	VR	210 pg/m ³	5.1±4.3ng/m ³
	Background		2.0 ng/m ³	
	Area Rurale/Urbana		2-10 / 10-40 ng/m ³	

Dai risultati ottenuti si può osservare che, il **Biossido di Azoto** (misurato tramite la tecnica On-line) è stato determinato con una concentrazione media di $38.4 \pm 17.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$, in linea con il valore limite annuo di $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$. I valori medi orari invece sono tutti al di sotto del valore limite di $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Il **Benzene** (viene riportato il valore determinato sui campionatori passivi, in linea col valore medio del periodo misurato con lo strumento On-line) è stato determinato con una concentrazione media di $0.6 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$, valore circa 8 volte inferiore al valore limite annuo di $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Il **PM₁₀** è stato determinato con una concentrazione media di $46.3 \pm 21.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, cioè 1.2 volte superiore al valore limite annuo di $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Inoltre sono stati riscontrati valori superiori al valore limite giornaliero ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$) in 13 giornate del periodo di monitoraggio.

Per il **PM_{2.5}** entrerà in vigore, a partire dal 2015, un valore limite pari a $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ come concentrazione media annuale. A questo valore viene poi associato un margine di tolleranza valido dal 2008 al 2015 pari a $4 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Il decreto impone anche un valore obiettivo per il 2010 di $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Nell'indagine condotta il **PM_{2.5}** è stato riscontrato con una concentrazione media pari a $38.1 \pm 17.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$, ovvero 1.5 volte superiore al valore limite che entrerà in vigore a partire dal 2015.

Per il **Piombo** le determinazioni analitiche hanno mostrato una concentrazione media nell'aria di $0.01 \pm 0.01 \mu\text{g}/\text{m}^3$, ovvero 50 volte inferiore al valore limite annuo di $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Per Ozono, Arsenico, Cadmio, Nichel, e Benzo(a)pirene, il D.L. 155 del 2010 fissa dei valori obiettivo: $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media sulle 8 ore) da non superare per più di 25 volte in un anno per l'**Ozono**, $6 \text{ ng}/\text{m}^3$ per l'**Arsenico**, $5 \text{ ng}/\text{m}^3$ per il **Cadmio** e $20 \text{ ng}/\text{m}^3$ per il **Nichel**.

Le concentrazioni determinate per i metalli sono tutte in linea con questi valori obiettivo, in particolare l'**Arsenico** presenta una concentrazione media di $3.0 \pm 0.8 \text{ ng}/\text{m}^3$, il **Cadmio** presenta una concentrazione media di $0.6 \pm 0.3 \text{ ng}/\text{m}^3$ e il **Nichel** una concentrazione media di $9.4 \pm 7.4 \text{ ng}/\text{m}^3$. Per quanto riguarda l'**Ozono**, il valore obiettivo misurato sulle 8 ore di $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (da non superare per più di 25 volte in un anno), durante il periodo di indagine viene superato per 50 volte.

Il valore obiettivo per il **Benzo(a)pirene** sancito dal D.L. 155 del 2010 è pari a $1 \text{ ng}/\text{m}^3$, le determinazioni analitiche hanno verificato quantità in aria di questo inquinante inferiori a tale valore obiettivo, mostrando una concentrazione media nell'area indagata pari a $0.5 \pm 0.8 \text{ ng}/\text{m}^3$.

Per quanto riguarda invece **PCDD**, **PCDF**, **PCB**, **HCB** e **Mercurio** non esistono dei valori limite o obiettivo. I risultati ottenuti sono quindi stati confrontati con i valori di riferimento trovati in letteratura e/o ottenuti da studi precedentemente condotti.

La concentrazione media in aria di **PCDD** e **PCDF** si attesta intorno ai $0.02 \pm 0.02 \text{ pg}/\text{m}^3$, i valori ottenuti sono all'interno del range di concentrazioni tipiche per le aree rurali ($0.02-0.05 \text{ pg}/\text{m}^3$).

Per i **PCB** la concentrazione media in aria si attesta intorno ai $0.002 \pm 0.0002 \text{ pg}/\text{m}^3$, valore all'interno del range di concentrazioni riscontrato in diverse aree rurali ($0.001-0.01 \text{ pg}/\text{m}^3$).

La concentrazione media in aria di **HCB**, risulta essere pari a $40.9 \pm 15.8 \text{ pg}/\text{m}^3$, tale valore risulta all'interno del range di valori di background ($18-55 \text{ pg}/\text{m}^3$).

Per il **Mercurio** la concentrazione media in aria si attesta intorno ai $5.1 \pm 4.3 \text{ ng}/\text{m}^3$, quantità superiore al valore di $2 \text{ ng}/\text{m}^3$, valore indicato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità come valore di background nelle linee guida per la qualità dell'aria, ma all'interno del range tipico per le aree rurali ($2-10 \text{ ng}/\text{m}^3$).

Qualità dei Suoli Superficiali

Le concentrazioni di Microinquinanti Organici e Metalli determinate nei suoli ad uso agricolo e ad uso urbano, prelevati durante l'indagine sono di seguito riassunte e confrontate con i valori di concentrazione soglia di contaminazione (CSC) imposti dal DLgs. 152 del 2006 per i siti ad uso verde, pubblico, privato e residenziale e siti ad uso commerciale ed industriale.

Tabella 2: Concentrazione in aria degli inquinanti monitorati nei suoli Urbani nell'area urbanizzata circostante gli impianti di smaltimento rifiuti (discariche) di Gorla Maggiore, Mozzate e Gerenzano e loro confronto con i Valori Limite⁽⁷⁾.

Espresso Come	udm	Media		Siti ad uso verde pubblico privato e residenziale	Siti ad uso Commerciale e industriale
PCDD/Fs	mg/kg	1.8E-06	± 7.6E-07	1.E-05	1.E-04
PCB totali	mg/kg	0.012	± 0.005	0.06	5
HCB	mg/kg	0.002	± 0.004	0.05	5
Pirene	mg/kg	0.08	± 0.05	5	50
Benzo(a)antracene*	mg/kg	0.05	± 0.03	0.5	10
Crisene*	mg/kg	0.04	± 0.03	5	50
Benzo(b)fluorantene*	mg/kg	0.08	± 0.07	0.5	10
Benzo(k)fluorantene*	mg/kg	0.11	± 0.11	0.5	10
Benzo(a)pirene*	mg/kg	0.09	± 0.06	0.1	10
Indeno(1,2,3cd)pirene	mg/kg	0.05	± 0.03	0.1	5
Benzo(ghi)perilene*	mg/kg	0.07	± 0.04	0.1	10
Dibenzo(a,h)antracene	mg/kg	0.009	± 0.005	0.1	10
Dibenzo(a,e)pirene*	mg/kg	0.003	± 0.003	0.1	10
Dibenzo(a,h)pirene*	mg/kg	0.001	± 0.001	0.1	10
Dibenzo(a,i)pirene*	mg/kg	0.002	± 0.001	0.1	10
Dibenzo(a,l)pirene*	mg/kg	0.002	± 0.002	0.1	10
IPA Totali D.Lgs. 152/2006*	mg/kg	0.44	± 0.30	10	100
Cadmio	mg/kg	0.3	± 0.1	2	15
Antimonio	mg/kg	1.0	± 0.5	10	30
Arsenico	mg/kg	15.3	± 4.0	20	50
Piombo	mg/kg	51.3	± 15.9	100	1000
Cromo	mg/kg	82.2	± 9.2	150	800
Cobalto	mg/kg	9.0	± 0.9	20	250
Rame	mg/kg	29.9	± 8.8	120	600
Nichel	mg/kg	60.9	± 45.4	120	500
Vanadio	mg/kg	43.2	± 4.1	90	250
Mercurio	mg/kg	0.1	± 0.03	1	5
Tallio	mg/kg	0.5	± 0.2	1	10

Dal tale confronto emerge che le concentrazioni medie degli inquinanti determinate nei terreni prelevati durante il periodo di indagine nell'area indagata sono inferiori alle CSC previste dal DLgs. 152 del 2006 per i siti ad uso verde, pubblico, privato e residenziale.

Qualità delle Acque Superficiali

Per i fiumi sono definiti dei parametri che definiscono lo stato chimico delle acque superficiali, per definire i criteri di qualità delle acque superficiali. Lo stato chimico è definito in base alla media aritmetica annuale delle concentrazioni di sostanze pericolose nelle acque superficiali. Ai fini della prima classificazione, la valutazione dello stato chimico dei corpi idrici superficiali è effettuata in base ai valori soglia riportati in Tabella 1/A dell'Allegato 1 del DLgs. 152 del 2006. Le autorità competenti possono altresì effettuare il rilevamento di parametri aggiuntivi relativi ad inquinanti elencati in Tabella 1/B dell'Allegato 1 del DLgs. 152 del 2006, individuati in funzione delle informazioni delle analisi di impatto della attività antropica, come definito nell'Allegato 3 e al piano di tutela come, definito nell'Allegato 4 del medesimo decreto. Inoltre nell'Allegato 2 del DLgs 152 del 2006 in Tabella 1/A vengono riportati i criteri per la classificazione della acque superficiali utilizzate o destinate ad essere utilizzate per la produzione di acqua potabile dopo i trattamenti. Sulla base di ampi monitoraggi chimici, fisici e biologici, è infine possibile classificare lo stato di qualità delle acque con appositi indici quali IBE e SECA. Noi in questa fase di monitoraggio della salubrità ambientale ci siamo limitati a verificare la concentrazione dei maggiori inquinanti chimici, analogamente alle altre matrici ambientali analizzate.

Le concentrazioni di **Metalli** e **Pesticidi** nei campioni di acque superficiali sono di seguito riassunte.

Tabella 3: Confronto dei risultati ottenuti per Metalli e Pesticidi con i valori dei parametri di base e con i parametri che identificano le caratteristiche di qualità delle acque superficiali per la produzione di acque potabili, stabiliti dal DLgs 152 del 2006⁽⁷⁾.

Inquinante	udm	Standard di Qualità DLgs. 152 del 2006	Caratteristiche di Qualità delle Acque Superficiali per la produzione di Acque Potabili						Olona
			A1		A2		A3		
			G	I	G	I	G	I	
As	µg/L	10	10	50	-	50	50	100	1.73
Cd	µg/L	1	1	5	1	5	1	5	<0.002
Cr	µg/L	50	-	50	-	50	-	50	1.18
Hg	µg/L	1	5	1	5	1	5	1	<0.009
Ni	µg/L	20	-	-	-	-	-	-	6.05
Pb	µg/L	10	-	50	-	50	-	50	2.08
Zn	µg/L		500	2000	1000	5000	1000	5000	783.09
Sb	µg/L	-	-	-	-	-	-	-	0.93
Co	µg/L	-	-	-	-	-	-	-	<0.15
V	µg/L	-	-	-	-	-	-	-	<0.1
Mn	µg/L	-	50	-	100	-	1000	-	0.99
Cu	µg/L	-	20	50	50	-	1000	-	9.01
Sn	µg/L	-	-	-	-	-	-	-	<0.1
Tl	µg/L	-	-	-	-	-	-	-	<0.1
Atrazina	ng/L	100	-	-	-	-	-	-	1.2
Atrazina-desetil	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	1.0
Atrazina-desisopropil	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	2.0
Terbutilazina	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	3.1
Terbutilazina-desetil	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	1.3
Simazina	ng/L	100	-	-	-	-	-	-	0.7
Tert-octilfenolo	ng/L								<5.8
Octilfenolo	ng/L								<3.4
Nonilfenolo mix	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<4.3
Bisfenolo A	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	6.1
Estrone	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<1.8
Estradiolo	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<5.6
Estriolo	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<3.8
Etinilestradiolo	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<5.0
Linuron	ng/L	-	-	-	-	-	-	-	<0.5

Per quanto attiene i **Metalli** i valori riscontrati sono tutti inferiori a quanto previsto dal Dlgs 152 del 2006 per i parametri di base da monitorare nelle acque superficiali. Le analisi hanno riscontrato inoltre la presenza di Rame e Zinco, per i quali il Dlgs 152 del 2006 non fissa dei valori di concentrazione, ma rientra nella lista dei parametri aggiuntivi da monitorare nelle acque superficiali. Inoltre confrontando le concentrazioni di Metalli riscontrate nelle Acque superficiali con i parametri previsti per soddisfare le caratteristiche di qualità delle acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile, è possibile assegnare ai corsi d'acqua indagati la categoria A1.

Per quanto attiene i **Pesticidi** degli analiti riscontrati il Dlgs 152 del 2006 fissa un valore di standard per la qualità delle acque superficiali di 0.1 µg/L (100 ng/L) per l'Atrazina e la Simazina. Nel caso dell'atrazina le concentrazioni riscontrate sono risultate essere circa 80 volte inferiori al valore limite, mentre per quanto riguarda la simazina le concentrazioni determinate nei campioni prelevati sono risultate essere circa 135 volte inferiori al valore limite imposto dal Dlgs 152 del 2006.

Va tuttavia precisato che valori riportati dal Dlgs 152 del 2006 sono applicabili ai corsi d'acqua significativi, ovvero tutti i corsi d'acqua naturali di primo ordine (cioè quelli recapitati direttamente in mare il cui bacino imbrifero abbia una superficie maggiore di 200 km² e tutti i corsi naturali di secondo ordine o superiore il cui bacino imbrifero abbia una superficie maggiore di 400 km²). Inoltre va precisato che lo stato chimico dei fiumi è definito in base alla media aritmetica annuale delle concentrazioni di sostanze pericolose e su un più ampio spettro di inquinanti, quindi i risultati riportati rappresentano solo un primo screening della qualità delle acque superficiali dell'area indagata.

Parte 2 – Studio del potenziale rischio eco tossicologico con modelli computazionali “*in silico*”

L'utilizzo di un indice di qualità ambientale

E' possibile servirsi di strumenti per valutare la qualità ambientale in quanto sono un ottimo metodo per comunicare con la popolazione, in modo semplice e immediato in quanto si tramutano valori di concentrazione di inquinanti in numeri assoluti riferibili ad una scala metrica definita.

Il valore numerico assoluto (Indice) si ottiene dal rapporto fra la concentrazione dell'inquinante (posta al numeratore) e il suo valore limite e/o obiettivo e/o di riferimento (posto al denominatore); questo comporta che il valore numerico 1 (o 100 nel caso di elaborazioni computazionali) indicherà il valore di soglia di riferimento. La scelta di cosa mettere al denominatore definirà anche la tipologia dell'indice ovvero se esprimerà prevalentemente una valutazione Tossicologica e/o di Qualità e/o di Rischio.

Al valore numerico è associato un giudizio, formando di fatto una classificazione che vuole essere nelle intenzioni, la traduzione "semplificata e immediatamente recepibile" dalla popolazione, dove razionalmente, per esempio ad un valore che superi il valore di soglia si avrà un giudizio di Qualità negativo (es Pessimo) associato ad un Rischio potenziale per la salute (es Pericoloso).

E' sempre però utile essere cauti nella lettura degli indici, in quanto per loro natura possono evidenziare aspetti diversi, mostrando i diversi possibili scenari (più o meno conservativi) che devono essere tutti complessivamente considerati.

L'utilizzo di un indice di qualità dell'aria

L'indice di qualità dell'aria, proposto originariamente dall'Agenzia per la protezione dell'ambiente americana (E.P.A.), prende il nome di *Air Quality Index* (AQI); anche in Europa molti Stati applicano un indice paragonabile a quello americano come strumento per sensibilizzare l'opinione pubblica alla qualità dell'aria.

Di solito, per creare un indice di qualità dell'aria si procede nella maniera seguente:

- I. Si scelgono alcuni inquinanti di riferimento (solitamente quelli che hanno effetti noti a breve termine sulla salute umana, quali, ad es., PM₁₀, monossido di carbonio CO, biossido di azoto NO₂ etc.)
- II. Si crea un sottoindice per ciascun inquinante (dividendo il valore per il limite previsto dalla legislazione per la difesa della salute e moltiplicando per 100, come fattore di sicurezza. Nel caso di più limiti, si sceglie, per essere il più conservativi possibile, quello più basso).
- III. Si costruisce poi un indice sintetico unico. Questo rappresenta un punto cruciale nella definizione degli indici. Le soluzioni adottabili in questo ambito si possono ricondurre a due categorie: si sceglie come valore dell'indice sintetico il più elevato tra tutti i sottoindici calcolati oppure si calcola il valore dell'indice sintetico come media tra tutti o alcuni dei sottoindici, con eventualmente qualche correzione. La "ragionevolezza" tossicologica porterebbe a ipotizzare un effetto additivo o moltiplicativo di una miscela di diversi inquinanti. I valori di indice vengono poi raggruppati in più classi, che sono indicatrici (in associazione con un determinato colore) della qualità dell'aria del sito in analisi. Il numero e la definizione delle classi di indice sono determinati da esigenze di natura comunicativa più che da motivazioni di tipo epidemiologico o tossicologico.

L'EPA è stato uno dei primi organismi internazionali ad utilizzare questo tipo di approccio, e l'indice in questione si chiama "Air Quality Index", di solito riportato come AQI. Si sviluppa focalizzandosi in modo particolare su alcuni inquinanti, definiti "macroinquinanti", ovvero: O₃ (orario e su 8 ore), PM_{2,5}, PM₁₀, CO e a questi valori si associa il valore corrispondente del sottoindice relativo a quell'inquinante. **Il valore finale dell'indice coincide con il massimo valore del sottoindice peggiore**, specificando qual'è l'inquinante responsabile del valore assunto dall'indice. Ad ogni livello assunto dall'AQI vengono associati dei giudizi di qualità (buona, moderata...) e dei consigli sanitari. L'indice presenta un range di valori da 1 a 500.

A partire dalla concentrazione dei macroinquinanti e dai parametri per il calcolo dell' AQI come precedentemente descritto, si individuano per tali inquinanti 5 classi di danno così distribuite:

Tabella 4: Categorie di qualità dell'aria secondo l'AQI dell'U.S. EPA.

CATEGORIE DI QUALITA' DELL'ARIA-AQI CATEGORIES (U.S. EPA)		
BUONA-GOOD	0	50
MODERATO-MODERATE	51	100
INSALUBRE PER I GRUPPI SENSIBILI-UNHEALTHY FOR SENSITIVE GROUPS	101	150
INSALUBRE-UNHEALTHY	151	200
MOLTO INSALUBRE-VERY UNHEALTHY	201	300
PERICOLOSO-DANGEROUS	301	500

Anche altre nazioni europee utilizzano indici specifici per la stima della qualità dell'aria, sfruttando il dato ottenuto anche per la comunicazione dello stato dell'aria alla popolazione. Di solito o fanno riferimento ai limiti di legge in vigore nel paese, oppure si rifanno ai limiti dell'EPA. Esempi di questi indici sono l'indice ATMO in Francia e l'indice API della Gran Bretagna.

Come descritto, quindi, è **possibile fare uso di diverse tipologie di indici**, ciascuno dei quali, tuttavia, dà come output un numero, adimensionale, che, all'interno di una scala di riferimento, dà **la stima di quanto l'aria è salubre o meno**: a seconda di come si procede nel costruire e nel valutare un indice (ovvero a seconda di quali parametri di riferimento si utilizzino, di come si stimino i sottoindici, e poi di come si scelga il valore definitivo di definizione e di come si costruisca infine una scala di riferimento) **si possono ottenere giudizi variabili, che sono correlati a una "valutazione" della qualità dell'aria.**

Occorre precisare quanto segue:

- laddove i valori delle analisi dell'inquinante siano risultati inferiori ai limiti di rilevabilità (L.O.D.) dello strumento, si è convenzionalmente considerata la presenza di una concentrazione pari alla metà dello stesso L.O.D., e si è incluso tale valore nel pool utilizzato per la media;
- In alcune postazioni non è stata effettuata la misurazione di tutti i macroinquinanti, e tale mancanza rende incompleta l'analisi del rischio. Per sopperire a tale mancanza si è ragionevolmente assunto di poter utilizzare invece del dato mancante i valori di concentrazioni delle stazioni di rilevamento ARPA

Non ci si è limitati solo alla valutazione della qualità dell'aria rispetto alla salute umana, ma si è messa a punto anche l'analisi del rischio per l'ecosistema.

Il risultato ottenuto col confronto con i limiti suggeriti dall'EPA (NAAQs) è il seguente:

Tabella 5: Risultati per la qualità dell'aria relativamente alla tossicità umana ottenuti dal confronto con i limiti suggeriti dall'EPA (NAAQs).

AQI	NO _x	SO _x	CO	O ₃	PM ₁₀	PM _{2,5}
Tossicità Umana	39	5	3	35	31	254
Tossicità sull'Ecosistema	39	0.3	3	35	31	254

In questa maniera la qualità dell'aria per la salute umana e per l'ecosistema risulta essere molto insalubre a causa del PM_{2,5}.

Con l'**obiettivo di effettuare una valutazione più completa della salubrità ambientale** abbiamo esteso il metodo della standardizzazione rispetto ai limiti di legge a tutti gli inquinanti normati dalla legislazione in vigore per la qualità dell'aria e scelto altri inquinanti definiti "prioritari" (standardizzando la loro concentrazione in aria ambiente rispetto ai valori di riferimento ricavati dalla letteratura scientifica e internazionale).

Si ottiene quindi un indice denominato "**Indice di Rischio e Qualità dell'Aria Ambiente (IRQA)**" definito tenendo conto anche delle procedure di valutazione del rischio chimico (DLgs n81 del 2008)⁸.

Tabella 6: Categorie di Rischio e Qualità dell'Aria Ambiente secondo la standardizzazione rispetto ai limiti di legge e valori di riferimento.

IRQA	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità dell'ARIA
IRQA ≤ 0.0001	Rischio Irrilevante / Q.A. Ottima
0.0001 ≤ IRQA < 0.001	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.A. da Ottima a Buona
0.001 ≤ IRQA < 0.01	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A. da Buona a Moderata
0.01 ≤ IRQA < 0.1	Rischio da Basso a Moderato / Q.A. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
0.1 ≤ IRQA < 1.0	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
1.0 ≤ IRQA < 10	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A. da Insalubre a Molto Insalubre
10 ≤ IRQA < 100	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.A. da molto Insalubre a Cattiva
100 ≤ IRQA < 1000	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.A. da Cattiva a Molto Cattiva
IRQA ≥ 1000	Rischio Molto Pericoloso / Q.A. Pessima

Applicando l'IRQA ad ogni singolo inquinante si ottengono i seguenti risultati:

Tabella 7: Indice di Rischio e Qualità dell'Aria Ambiente per ogni singolo inquinante.

Inquinante	IRQA	Giudizio
NO _x	0.96	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
SO _x	0.03	Rischio da Basso a Moderato / Q.A. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
CO	0.03	Rischio da Basso a Moderato / Q.A. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
O ₃	0.42	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
PM ₁₀	1.16	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A. da Insalubre a Molto Insalubre
PM _{2,5}	1.53	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A. da Insalubre a Molto Insalubre
Benzene	0.12	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Be(a)P	0.51	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Cd	0.12	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
As	0.50	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Pb	0.01	Rischio da Basso a Moderato / Q.A. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Ni	0.47	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Hg	2.57	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A. da Insalubre a Molto Insalubre
PCDD/F+PCB (TCDD Eq)	0.12	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
HCB	0.39	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre

Dai risultati sopra riportati si può osservare che ci sono valori di IRQA superiori alla soglia di rischio e/o qualità (1) per il PM₁₀ (1.16), per il PM_{2,5} (1.53) e per il Mercurio (2.57). I valori di IRQA ottenuti dalle concentrazioni in aria ambiente dei rimanenti composti sono invece tutti inferiori alla soglia di rischio e/o qualità.

Per quanto attiene la **valutazione della miscela di inquinanti** è da considerare che in quanto non esistono normative in vigore, si può ipotizzare l'adozione di due sistemi di valutazione, ovvero:

- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati** che fornisce una valutazione conservativa in quanto il valore limite assoluto è uguale ad 1 indipendentemente dal numero degli inquinanti analizzati (**IRQA Assoluto**) ed è quindi evidente che ci si avvicinerà o supererà tale limite anche con valutazioni sedi singoli inquinanti sempre inferiori ad 1 se gli inquinanti sono sufficientemente numerosi;
- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati con **valutazione pesata tenendo conto del numero di sostanze che compongono la miscela** monitorata (**IRQA Relativo**) formando un numero che di fatto è un valore medio dei diversi sottoindici.

Applicando "l'IRQA Assoluto e Relativo" ai risultati delle indagini sperimentali si ottengono le valutazioni di seguito riportate.

Tabella 8: Indice di Rischio e Qualità dell'Aria Ambiente Assoluto e Relativo.

Indice Numerico	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità dell'ARIA	IRQA Assoluto	IRQA Relativo
$IRQA \leq 0.0001$	Rischio Irrilevante / Q.A. Ottima		
$0.0001 \leq IRQA < 0.001$	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.A. da Ottima a Buona		
$0.001 \leq IRQA < 0.01$	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A. da Buona a Moderata		
$0.01 \leq IRQA < 0.1$	Rischio da Basso a Moderato / Q.A. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili		
$0.1 \leq IRQA < 1.0$	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre		0.6
$1.0 \leq IRQA < 10$	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A. da Insalubre a Molto Insalubre	8.9	
$10 \leq IRQA < 100$	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.A. da molto Insalubre a Cattiva		
$100 \leq IRQA < 1000$	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.A. da Cattiva a Molto Cattiva		
$IRQA \geq 1000$	Rischio Molto Pericoloso / Q.A. Pessima		

Dai risultati sopra riportati si può osservare che:

- L'**IRQA assoluto** ottenuto presenta un valore superiore alla soglia di qualità e rischio (**8.9** invece di 1) tradotto in classificazione del rischio da "Rilevante ad Alto" e un giudizio di qualità dell'aria da "Insalubre a Molto Insalubre";
- L'**IRQA relativo** ottenuto presenta un valore paria a **0.6** inferiore alla soglia di qualità e rischio (1) tradotto in classificazione del rischio da "Moderato a Rilevante" e un giudizio di qualità dell'aria da "Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre".

L'utilizzo di un indice di qualità dei Suoli Superficiali

Con l'obiettivo di effettuare una valutazione più completa della salubrità ambientale abbiamo esteso il metodo della standardizzazione rispetto ai limiti di legge agli inquinanti normati dalla legislazione in vigore per la qualità dei suoli superficiali e scelto altri inquinanti definiti "prioritari" (standardizzando la loro concentrazione in aria ambiente rispetto ai valori di riferimento ricavati dalla letteratura scientifica e internazionale).

Si ottiene quindi un indice denominato "Indice di Rischio e Qualità dei Suoli Superficiali (IRQSS)".

Tabella 9: Categorie di Rischio e Qualità dei Suoli Superficiali secondo la standardizzazione rispetto ai limiti di legge e valore di riferimento.

IRQSS	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità dei Suoli Superficiali
$IRQA \leq 0.0001$	Rischio Irrilevante / Q.S.S. Ottima
$0.0001 \leq IRQA < 0.001$	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.S.S. da Ottima a Buona
$0.001 \leq IRQA < 0.01$	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.S.S. da Buona a Moderata
$0.01 \leq IRQA < 0.1$	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
$0.1 \leq IRQA < 1.0$	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
$1.0 \leq IRQA < 10$	Rischio da Rilevante a Alto / Q.S.S. da Insalubre a Molto Insalubre
$10 \leq IRQA < 100$	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.S.S. da molto Insalubre a Cattiva
$100 \leq IRQA < 1000$	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.S.S. da Cattiva a Molto Cattiva
$IRQA \geq 1000$	Rischio Molto Pericoloso / Q.S.S. Pessima

Applicando l'IRQSS ad ogni singolo inquinante si ottengono i seguenti risultati:

Tabella 10: Indice di Rischio e Qualità dei Suoli Superficiali per ogni singolo inquinante.

Inquinante	IRQSS	Giudizio
Cd	0.15	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Sb	0.10	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
As	0.76	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Pb	0.51	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Cr	0.55	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Co	0.45	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Cu	0.25	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Ni	0.51	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
V	0.48	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Hg	0.10	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Tl	0.46	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Pyr	0.02	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
B(a)A	0.10	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Cry	0.01	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.S.S. da Buona a Moderata
B(b)F	0.16	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
B(k)F	0.22	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
B(a)P	0.88	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
I(1,2,3cd)	0.54	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
B(g,h,i)	0.69	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Db(a,e)P	0.03	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Db(a,h)P	0.01	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Db(a,i)P	0.02	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
D(a,l)P	0.02	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Σ IPA D.Lgs.	0.04	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Diossine (TCDFEq)	0.18	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
PCB totali	0.20	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
EsaCloroBenzene	0.04	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili

i valori di IRQSS ottenuti dalle concentrazioni dei rimanenti composti sono invece tutti inferiori alla soglia di rischio e /o qualità.

Per quanto attiene la **valutazione della miscela di inquinanti** è da considerare che in quanto non esistono normative in vigore, si può ipotizzare l'adozione di due sistemi di valutazione, ovvero:

- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati** che fornisce una valutazione conservativa in quanto il valore limite assoluto è uguale ad 1 indipendentemente dal numero degli inquinanti analizzati (**IRQSS Assoluto**) ed è quindi evidente che ci si avvicinerà o supererà tale limite anche con valutazioni sedi singoli inquinanti sempre inferiori ad 1 se gli inquinanti sono sufficientemente numerosi;
- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati con , **valutazione pesata tenendo conto del numero di sostanze che compongono la miscela** monitorata (**IRQSS Relativo**) formando un numero che di fatto è un valore medio dei diversi sottoindici .

Applicando "l'IRQSS Assoluto e Relativo" ai risultati delle indagini sperimentali si ottengono le valutazioni di seguito riportate.

Tabella 11: Indice di Rischio e Qualità dei Suoli Superficiali Assoluto e Relativo.

Indice Numerico	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità dei Suoli Superficiali	IRQSS Assoluto	IRQSS Relativo
IRQA \leq 0.0001	Rischio Irrilevante / Q.S.S. Ottima		
0.0001 \leq IRQA $<$ 0.001	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.S.S. da Ottima a Buona		
0.001 \leq IRQA $<$ 0.01	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.S.S. da Buona a Moderata		
0.01 \leq IRQA $<$ 0.1	Rischio da Basso a Moderato / Q.S.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili		
0.1 \leq IRQA $<$ 1.0	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.S.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre		0.3
1.0 \leq IRQA $<$ 10	Rischio da Rilevante a Alto / Q.S.S. da Insalubre a Molto Insalubre	7.5	
10 \leq IRQA $<$ 100	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.S.S. da molto Insalubre a Cattiva		
100 \leq IRQA $<$ 1000	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.S.S. da Cattiva a Molto Cattiva		
IRQA \geq 1000	Rischio Molto Pericoloso / Q.S.S. Pessima		

Dai risultati sopra riportati si può osservare che:

- **L'IRQSS assoluto** ottenuto presenta un valore superiore alla soglia di qualità e rischio (**7.5** invece di 1) tradotto in classificazione del rischio da "Rilevante ad Alto" e un giudizio di qualità dei suoli superficiali da "Insalubre a Molto Insalubre";
- **L'IRQSS relativo** ottenuto presenta un valore paria a **0.3** inferiore alla soglia di qualità e rischio (1) tradotto in classificazione del rischio da "Moderato a Rilevante" e un giudizio di qualità dei suoli superficiali da "Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre".

L'utilizzo di un indice di qualità delle Acque Superficiali

Con l'obiettivo di effettuare una valutazione più completa della salubrità ambientale abbiamo esteso il metodo della standardizzazione rispetto ai limiti di legge agli inquinanti normati dalla legislazione in vigore per la qualità delle Acque Superficiali e scelto altri inquinanti definiti "prioritari" (standardizzando la loro concentrazione in aria ambiente rispetto ai valori di riferimento ricavati dalla letteratura scientifica e internazionale).

Si ottiene quindi un indice denominato "Indice di Rischio e Qualità delle Acque Superficiali (IRQAS)".

Tabella 12: Categorie di Rischio e Qualità delle Acque Superficiali secondo la standardizzazione rispetto ai limiti di legge e valore di riferimento.

IRQAS	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità dei Acque Superficiali
$IRQA \leq 0.0001$	Rischio Irrilevante / Q.A.S Ottima
$0.0001 \leq IRQA < 0.001$	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.A.S da Ottima a Buona
$0.001 \leq IRQA < 0.01$	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata
$0.01 \leq IRQA < 0.1$	Rischio da Basso a Moderato / Q.A.S da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
$0.1 \leq IRQA < 1.0$	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
$1.0 \leq IRQA < 10$	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A.S da Insalubre a Molto Insalubre
$10 \leq IRQA < 100$	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.A.S da molto Insalubre a Cattiva
$100 \leq IRQA < 1000$	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.A.S da Cattiva a Molto Cattiva
$IRQA \geq 1000$	Rischio Molto Pericoloso / Q.A.S Pessima

Applicando l'IRQAS ad ogni singolo inquinante si ottengono i seguenti risultati:

Tabella 13: Indice di Rischio e Qualità delle Acque Superficiali per ogni singolo inquinante.

Inquinante	IRQAS	Giudizio
Cd	0.002	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata
Sb	0.19	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
As	0.17	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Pb	0.21	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Cr	0.02	Rischio da Basso a Moderato / Q.A.S da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Cu	0.01	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata
Mn	0.02	Rischio da Basso a Moderato / Q.A.S da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Ni	0.30	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
V	0.002	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata
Hg	0.01	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata
Atrazina	0.012	Rischio da Basso a Moderato / Q.A.S da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
Simazina	0.007	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S da Buona a Moderata

i valori di IRQAS ottenuti dalle concentrazioni in aria ambiente dei rimanenti composti sono invece tutti inferiori alla soglia di rischio e /o qualità.

Per quanto attiene la **valutazione della miscela di inquinanti** è da considerare che in quanto non esistono normative in vigore, si può ipotizzare l'adozione di due sistemi di valutazione, ovvero:

- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati** che fornisce una valutazione conservativa in quanto il valore limite assoluto è uguale ad 1 indipendentemente dal numero degli inquinanti analizzati (**IRQAS Assoluto**) ed è quindi evidente che ci si avvicinerà o supererà tale limite anche con valutazioni dei singoli inquinanti sempre inferiori ad 1 se gli inquinanti sono sufficientemente numerosi;
- sommatoria della miscela d'inquinanti monitorati con **valutazione pesata tenendo conto del numero di sostanze che compongono la miscela** monitorata (**IRQAS Relativo**) formando un numero che di fatto è un valore medio dei diversi sottoindici .

Applicando “l’IRQAS Assoluto e Relativo” ai risultati delle indagini sperimentali si ottengono le valutazioni di seguito riportate.

Tabella 14: Indice di Rischio e Qualità delle Acque Superficiali Assoluto e Relativo.

Indice Numerico	Classificazione del Rischio e Giudizio di Qualità delle Acque Superficiali	IRQAS Assoluto	IRQAS Relativo
$IRQA \leq 0.0001$	Rischio Irrilevante / Q.A.S.. Ottima		
$0.0001 \leq IRQA < 0.001$	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / Q.A.S.. da Ottima a Buona		
$0.001 \leq IRQA < 0.01$	Rischio da Molto Basso a Basso / Q.A.S.. da Buona a Moderata		
$0.01 \leq IRQA < 0.1$	Rischio da Basso a Moderato / Q.A.S.. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili		0.08
$0.1 \leq IRQA < 1.0$	Rischio da Moderato a Rilevante / Q.A.S.. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre	0.96	
$1.0 \leq IRQA < 10$	Rischio da Rilevante a Alto / Q.A.S.. da Insalubre a Molto Insalubre		
$10 \leq IRQA < 100$	Rischio da Alto a Molto Alto / Q.A.S.. da molto Insalubre a Cattiva		
$100 \leq IRQA < 1000$	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / Q.A.S.. da Cattiva a Molto Cattiva		
$IRQA \geq 1000$	Rischio Molto Pericoloso / Q.A.S.. Pessima		

Dai risultati sopra riportati si può osservare che:

- L’**IRQAS assoluto** ottenuto presenta un valore pari a **0.96** inferiore alla soglia di qualità e rischio (1) tradotto in classificazione del rischio da “Moderato a Rilevante” e un giudizio di qualità delle Acque Superficiali da “Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre”;
- L’**IRQAS relativo** ottenuto presenta un valore paria a **0.08** inferiore alla soglia di qualità e rischio (1) tradotto in classificazione del rischio da “Basso a Moderato” e un giudizio di qualità delle Acque Superficiali da “Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili”.

L'utilizzo dell'analisi di rischio

Per quanto riguarda i limiti tossicologici, è necessario fare dei distinguo fra la valutazione **di rischio per la salute umana e per l'ecosistema**.

Nella valutazione del **rischio per la salute umana** si valutano sia gli effetti tossici sia gli effetti cancerogeni utilizzando per la loro computazione le linee guida proposte dall'Istituto Superiore di Sanità, l'ISPRA o l'U.S. EPA (Environmental Protection Agency)^(9,10,11,12,13,14).

Il potenziale tossico a breve termine viene ottenuto attraverso l'Hazard Index (HQ) ottenuto dal rapporto tra la Chronic Daily Intake (CDI) e la Reference Dose (RfD), mentre il potenziale tossico a lungo termine, Cancer Risk (CR), è dato dal prodotto tra la CDI e lo Slope Factor (SF).

La CDI rappresenta la dose cronica giornaliera di esposizione ed è correlata alla concentrazione dell'inquinante e alle diverse vie di esposizione, la RfD, che rappresenta la dose giornaliera di esposizione alla quale si può essere esposti senza effetti tossici e lo SF rappresenta un fattore di probabilità di incremento di tumori.

La valutazione del rischio per l'ecosistema, Qualità Ecologica (EQ), viene ottenuta dal semplice rapporto di due fattori, detti PEC (=predicted environmental concentration, la concentrazione stimata o misurata di contaminante nel comparto ambientale in esame) e PNEC (=predicted no effect concentration, ovvero la concentrazione più bassa della sostanza in esame a cui non si verificano effetti tossici). Le PNEC sono elaborate per tre livelli trofici di base (produttori, consumatori primari e secondari per ogni matrice abiotica) e derivano dai database internazionali, dalla letteratura scientifica oppure possono essere predetti con gli opportuni modelli QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship). *Si sceglie una sola PNEC per sostanza valutando quale sia il target più sensibile: questa è una scelta volta a garantire il più alto livello di protezione possibile, perché tutelando la specie più sensibile è più probabile tutelare l'intero sistema.*

Per gli effetti TOSSICI si otterrà il superamento della soglia di rischio se l'HQ e l'EQ sono >1 sia per le singole sostanze che per la miscela (che viene valutata come sommatoria); mentre per gli effetti CANCEROGENI si otterrà il superamento della soglia di rischio se $CR > 10^{-6}$ per le singole sostanze, e $CR > 10^{-5}$ per le miscele (per tenere conto degli effetti cumulativi).

I risultati ottenuti dall'analisi di rischio relativi ai dati di qualità dei suoli superficiali, delle acque superficiali e dell'aria ottenuti nel corso delle indagini sperimentali condotte sono riassunti di seguito.

Tabella 15: Riepilogo dei risultati dell'analisi di Rischio per gli potenziali effetti TOSSICI sulla salute umana e sull'ecosistema ricavati dai dati di qualità dell'aria dei suoli e delle acque superficiali.

Aria Ambiente	HQ					EQ
	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti	
Arsenico	2.E-03	5.E-03	4.E-03	3.E-03	2.E-03	2.E-04
Cadmio	3.E-03	6.E-03	5.E-03	3.E-03	2.E-03	2.E-05
Cromo totale	4.E-06	8.E-06	7.E-06	4.E-06	3.E-06	8.E-04
Mercurio	1.E-02	3.E-02	3.E-02	2.E-02	1.E-02	3.E-07
Nichel	1.E-04	3.E-04	2.E-04	1.E-04	1.E-04	2.E-05
Piombo	4.E-05	1.E-04	7.E-05	5.E-05	4.E-05	3.E-07
Benzene	2.E-02	4.E-02	3.E-02	2.E-02	1.E-02	2.E-05
IPA (BaP EPA eq)	6.E-08	1.E-07	1.E-07	6.E-08	5.E-08	3.E-04
Diossine (TCDD eq)	7.E-04	2.E-03	1.E-03	7.E-04	6.E-04	4.E-04
PCB (TCDD eq)	1.E-04	2.E-04	2.E-04	1.E-04	9.E-05	6.E-05
EsaCloroBenzene	1.E-05	3.E-05	2.E-05	1.E-05	1.E-05	3.E-08
Rischio Cumulativo	0.04	0.08	0.07	0.04	0.03	0.002

Suoli Superficiali	HQ					EQ
	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti	
Arsenico	3.E-01	4.E-01	1.E-01	1.E-01	1.E-01	0.85
Cadmio	2.E-03	3.E-03	4.E-04	2.E-04	2.E-04	0.82
Cromo totale	9.E-01	3.E-04	7.E-05	5.E-05	5.E-05	3.16
Mercurio	1.E-03	2.E-03	4.E-04	3.E-04	3.E-04	0.005
Nichel	7.E-01	2.E-02	4.E-03	3.E-03	3.E-03	1.60
Piombo	6.E-01	8.E-02	2.E-02	1.E-02	1.E-02	4.66
IPA (BaP EPA eq)	7.E-03	7.E-07	5.E-07	4.E-07	4.E-07	0.001
Diossine (TCDD eq)	3.E-08	6.E-03	3.E-03	2.E-03	2.E-03	0.15
PCB (TCDD eq)	1.E-08	2.E-03	8.E-04	6.E-04	6.E-04	0.05
EsaCloroBenzene	8.E-05	3.E-05	2.E-05	2.E-05	1.E-05	4.E-05
Rischio Cumulativo	2.48	0.48	0.17	0.13	0.13	11.30

Acque Superficiali	HQ					EQ
	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti	
Arsenico	2.E-01	2.E-01	1.E-01	9.E-02	1.E-01	3.46
Cadmio	1.E-04	1.E-04	9.E-05	6.E-05	8.E-05	0.003
Cromo totale	3.E-05	3.E-05	2.E-05	1.E-05	2.E-05	0.35
Mercurio	1.E-03	1.E-03	7.E-04	5.E-04	6.E-04	0.03
Nichel	1.E-02	1.E-02	7.E-03	5.E-03	6.E-03	0.13
Piombo	2.E-02	2.E-02	1.E-02	1.E-02	1.E-02	2.00
Atrazina	1.E-06	1.E-06	8.E-07	6.E-07	7.E-07	0.16
Rischio Cumulativo	0.23	0.23	0.16	0.11	0.14	6.12

Tabella 16: Riepilogo dei risultati dell'analisi di Rischio per gli potenziali effetti **CANCEROGENI** sulla salute umana ricavati dai dati di qualità dell'aria dei suoli e delle acque superficiali.

Aria Ambiente	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti
Arsenico	7.9E-08	1.2E-06	1.6E-06	1.1E-06	3.3E-06
Cadmio	6.9E-09	1.1E-07	1.4E-07	1.0E-07	2.9E-07
Cromo totale	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Mercurio	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Nichel	1.4E-08	2.1E-07	2.9E-07	2.0E-07	5.8E-07
Piombo	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Benzene	2.8E-08	4.4E-07	5.9E-07	4.1E-07	1.2E-06
IPA (BaP EPA eq)	1.0E-08	1.6E-07	2.1E-07	1.5E-07	4.3E-07
Diossine (TCDD eq)	3.1E-09	4.8E-08	6.4E-08	4.5E-08	1.3E-07
PCB (TCDD eq)	4.6E-10	7.2E-09	9.6E-09	6.7E-09	1.9E-08
EsaCloroBenzene	1.1E-10	1.8E-09	2.4E-09	1.7E-09	4.8E-09
Rischio Cumulativo	1.4E-07	2.2E-06	2.9E-06	2.1E-06	6.0E-06
Suoli Superficiali	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti
Arsenico	8.9E-07	8.3E-06	5.6E-06	5.2E-06	1.7E-05
Cadmio	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Cromo totale	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Mercurio	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Nichel	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Piombo	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
IPA (BaP EPA eq)	1.1E-07	7.8E-07	8.6E-07	8.4E-07	2.8E-06
Diossine (TCDD eq)	1.0E-08	9.7E-08	6.5E-08	6.0E-08	1.9E-07
PCB (TCDD eq)	3.3E-09	3.0E-08	2.0E-08	1.9E-08	6.1E-08
EsaCloroBenzene	2.7E-10	2.0E-09	2.1E-09	2.0E-09	6.6E-09
Rischio Cumulativo	1.0E-06	9.2E-06	6.5E-06	6.1E-06	2.0E-05
Acque Superficiali	Neonati 0-6 mesi	Bambini 6 mesi-4 anni	Ragazzi 5-11 anni	Ragazzi 12-19 anni	Adulti
Arsenico	6.5E-07	4.5E-06	5.2E-06	4.2E-06	1.8E-05
Cadmio	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Cromo totale	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Mercurio	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Nichel	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Piombo	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.	NON CANC.
Atrazina	6.9E-11	4.8E-10	5.5E-10	4.4E-10	1.9E-09
Rischio Cumulativo	6.5E-07	4.5E-06	5.2E-06	4.2E-06	1.8E-05

Per quanto attiene la **qualità dell'aria** dall'analisi di rischio si possono trarre le seguenti conclusioni:

- non si evidenzia nessun rischio potenziale con conseguenti effetti acuti sulla salute a seguito di una esposizione a breve termine sia per la tossicità umana che per l'ecosistema ($HQ < 1$ $EQ < 1$), analizzando gli effetti dei singoli composti e gli effetti della miscela che vanno a comporre;
- si evidenzia un rischio potenziale ($CR > 10^{-6}$) per gli effetti cancerogeni a seguito di una esposizione a lungo termine per l'arsenico nei bambini, nei ragazzi e negli adulti;
- si evidenzia un rischio potenziale ($CR > 10^{-6}$) per gli effetti cancerogeni a seguito di una esposizione a lungo termine per il benzene negli adulti;
- non si osserva nessun rischio potenziale ($CR < 10^{-5}$) analizzando gli effetti della miscela di inquinanti.

Per quanto attiene la **qualità dei suoli superficiali** dall'analisi di rischio condotta si può osservare che:

- si evidenzia un rischio potenziale ($EQ > 1$) a seguito di una esposizione a breve termine per l'ecosistema analizzando gli effetti di Cromo, Nichel e Piombo;
- si evidenzia un rischio potenziale della miscela delle singole sostanze con conseguenti effetti acuti per l'ecosistema ($EQ > 1$);
- non si evidenzia nessun rischio potenziale con conseguenti effetti acuti sulla salute a seguito di una esposizione a breve termine per la tossicità umana ($HQ < 1$) per i singoli composti della miscela;
- si evidenzia un rischio potenziale della miscela delle singole sostanze con conseguenti effetti acuti a seguito di una esposizione a breve termine per la tossicità umana nei neonati ($HQ > 1$);
- si evidenzia un rischio potenziale ($CR > 10^{-6}$) per gli effetti cancerogeni a seguito di una esposizione a lungo termine (effetto cronico) all'arsenico per bambini, ragazzi ed adulti;
- si evidenzia un rischio potenziale ($CR > 10^{-6}$) per gli effetti cancerogeni a seguito di una esposizione a lungo termine (effetto cronico) al benzo(a)pirene per gli adulti;
- si osserva un rischio potenziale ($CR > 10^{-5}$) analizzando gli effetti della miscela di inquinanti negli adulti.

Per quanto attiene la **qualità delle acque superficiali** si possono trarre le seguenti conclusioni:

- non si evidenzia nessun rischio potenziale con conseguenti effetti acuti sulla salute a seguito di una esposizione a breve termine sia per la tossicità umana ($HQ < 1$), analizzando gli effetti dei singoli composti della miscela che vanno a comporre;
- si evidenzia un rischio potenziale ($EQ > 1$) per gli effetti acuti a seguito di una esposizione a breve termine per l'ecosistema analizzando gli effetti di arsenico e piombo;
- si evidenzia inoltre un rischio potenziale con conseguenti effetti acuti a seguito di una esposizione a breve termine per l'ecosistema ($EQ > 1$), analizzando gli effetti della miscela di inquinanti;
- si evidenzia un rischio potenziale ($CR > 10^{-6}$) per gli effetti cancerogeni a seguito di una esposizione a lungo termine all'arsenico per bambini, ragazzi ed adulti;
- si osserva un rischio potenziale ($CR > 10^{-5}$) analizzando gli effetti della miscela di inquinanti negli adulti.

Il nostro approccio metodologico: Indici di Qualità Estesi

La valutazione della qualità ambientale è finora stata valutata in base a :

- Confronto primario diretto delle concentrazioni degli inquinanti determinate in aria con i valori limite, obiettivo del Dlgs. 155 del 2010 e valori di riferimento ricavati dalla letteratura scientifica nazionale ed internazionale;
- Confronto primario diretto delle concentrazioni degli inquinanti determinate nei suoli e nelle acque superficiali con i valori limite del Dlgs. 152 del 2006;
- Standardizzazione rispetto ai limiti di legge, valori obiettivo e di riferimento degli inquinanti determinati in aria, acqua e suoli con lo sviluppo di Indici di Rischio e Qualità (IRQA, IRQSS, IRQAS);
- L'indice AQI, per determinare la qualità dell'aria, sviluppato dell'EPA per i macro inquinanti (NO_x; SO_x; O₃; CO; PM₁₀; PM_{2.5});
- L'analisi di rischio per valutare i potenziali effetti nocivi sull'uomo e sull'ecosistema dei microinquinanti (As, Cd, Pb, Cr, Ni, Hg, IPA espressi come B(a)P equivalenti; Benzene, Atrazina, PCDD+PCDF+PCB espressi come TEQ; Esaclorobenzene).

Ognuno di questi approcci, a nostro giudizio, fornisce una valutazione della qualità ambientale basata su informazioni sintetiche e/o parziali, rispetto all'effettiva esposizione dei recettori alle sostanze inquinanti.

Abbiamo quindi sviluppato un nuovo approccio, con l'obiettivo di effettuare una valutazione più completa della salubrità ambientale che si traduce nello sviluppo dei seguenti indici di qualità:

- **Indice esteso di Rischio Tossicologico e Qualità dell'Aria (IRTQA)**, che integra in modo pesato le informazioni derivanti dall'AQI e dall'analisi di rischio cumulativa, per valutare prioritariamente gli effetti cumulativi Tossici e Cancerogeni della miscela di inquinanti presi in considerazione.
- **Indice esteso di Rischio Tossicologico e Qualità dei Suoli Superficiali (IRTQSS)** che integra in modo pesato le informazioni derivanti dall'analisi di rischio cumulativa condotta sui suoli superficiali, per valutare prioritariamente gli effetti Tossici e Cancerogeni della miscela di inquinanti presi in considerazione;
- **Indice esteso di Rischio Tossicologico e Qualità delle Acque Superficiali (IRTQAS)** che integra in modo pesato le informazioni derivanti dall'analisi di rischio cumulativa condotta sulle acque superficiali, per valutare prioritariamente gli effetti cumulativi Tossici e cancerogeni della miscela di inquinanti presi in considerazione.

I valori così ottenuti vengono convertiti in una scala numerica continua, analoga a quella già adottata dall'EPA nell'AQI (**Tabella 17**) e dagli altri organismi internazionali, dove la soglia di rischio e/o valore limite di qualità è stabilito a 100.

Tabella 17: Scala di Giudizio Indice esteso di Rischio Tossicologico e Qualità (Aria, Acqua e Suoli).

IRTQA, IRTQSS, IRTQAS	Giudizio di Rischio Potenziale - Qualità
<1	Rischio Irrilevante / QUALITÀ Ottima
1-25	Rischio da Irrilevante a Molto Basso / QUALITÀ da Ottima a Buona
25-49	Rischio da Molto Basso a Basso / QUALITÀ da Buona a Moderata
50-99	Rischio da Basso a Moderato / QUALITÀ da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
100-149	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
150-199	Rischio da Rilevante a Alto / QUALITÀ da Insalubre a Molto Insalubre
200-299	Rischio da Alto a Molto Alto / QUALITÀ da molto Insalubre a Cattiva
300-399	Rischio da Molto Alto a Pericoloso / QUALITÀ da Cattiva a Molto Cattiva
> 400	Rischio Molto Pericoloso / QUALITÀ Pessima

Applicazione degli indici di qualità estesi

Applicando gli indici estesi di Rischio Tossicologico e Qualità dell'Aria (IRTQA), dei Suoli Superficiali (IRTQSS) e delle Acque Superficiali (IRTQAS) i risultati delle indagini sperimentali condotte si ottengono le valutazioni di seguito riportate.

Tabella 18: Risultati dell'Indice Esteso di Rischio Tossicologico e Qualità dell'Aria (IRTQA).

Recettore	IRTQA	Giudizio
Neonati 0-6 Mesi	116	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Bambini 6 mesi-4 anni	130	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Bambini 4-11 anni	131	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Ragazzi 12-19 anni	130	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Adulti	137	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Media Profili	129 ± 8	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre

Tabella 19: Risultati dell'Indice Esteso di Rischio Tossicologico e Qualità dei Suoli Superficiali (IRTQSS).

Recettore	IRTQSS	Giudizio
Neonati 0-6 Mesi	163	Rischio da Rilevante a Alto / QUALITÀ da Insalubre a Molto Insalubre
Bambini 6 mesi-4 anni	156	Rischio da Rilevante a Alto / QUALITÀ da Insalubre a Molto Insalubre
Bambini 4-11 anni	145	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Ragazzi 12-19 anni	144	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Adulti	169	Rischio da Rilevante a Alto / QUALITÀ da Insalubre a Molto Insalubre
Media Profili	156 ± 11	Rischio da Rilevante a Alto / QUALITÀ da Insalubre a Molto Insalubre

Tabella 20: Risultati dell'Indice Esteso di Rischio Tossicologico e Qualità delle Acque Superficiali (IRTQAS).

Recettore	IRTQAS	Giudizio
Neonati 0-6 Mesi	105	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Bambini 6 mesi-4 anni	116	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Bambini 4-11 anni	116	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Ragazzi 12-19 anni	113	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Adulti	140	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Media Profili	118 ± 13	Rischio da Moderato a Rilevante / QUALITÀ da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre

Dai risultati sopra riportati si possono trarre le seguenti considerazioni:

- l'IRTQA è superiore alla soglia di rischio e/o valore limite di qualità (129±8 invece di 100); tradotto in un giudizio per la qualità dell'aria che risulta essere da "Insalubre per i Gruppi Sensibili a insalubre", con un "Rischio Potenziale da Moderato a Rilevante".

- L'IRTQSS è superiore alla soglia di rischio e/o valore limite di qualità (**156±11** invece di **100**); tradotto in un giudizio per la qualità dei suoli che risulta essere “da Insalubre a Molto Insalubre”, con un “Rischio Potenziale da Rilevante ad Alto”.
- L'IRTQAS è superiore alla soglia di rischio e/o valore limite di qualità (**118±13** invece di **100**); tradotto in un giudizio per la qualità dell'aria che risulta essere da “Insalubre per i Gruppi Sensibili a insalubre”, con un “Rischio Potenziale da Moderato a Rilevante”.

Indice Esteso di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB)

L'esposizione dell'uomo è per definizione "un'esposizione personale", ovvero non vi è nessun altro che ha un'identica esposizione, è peraltro vero che però vi sono analoghe esposizioni di persone che hanno simili stili di vita il che porta ad ipotizzare "un'esposizione tipica" che può accumulare fasce di popolazione che sono tipicamente e mediamente esposte agli stessi contaminanti ambientali, vengono così assegnati dei pesi ai tre indici ottenuti per aria, acque e suoli superficiali, ottenendo un "Indice di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB)", composto dai seguenti quattro differenti profili di esposizione:

- **Profilo 1 (Standard):** si assume che i recettori siano generalmente ugualmente esposti ai tre comparti ambientali, aria acque e suoli superficiali;
- **Profilo 2 (Riferimento):** rappresentativo della generale esposizione differenziale dei recettori ai tre comparti ambientali, aria acque e suoli superficiali;
- **Profilo 3 (Agricolo):** rappresentativo dell'esposizione differenziale dei recettori ai tre comparti ambientali, aria acque e suoli superficiali in ambiente agricolo;
- **Profilo 4 (Urbano):** rappresentativo dell'esposizione differenziale dei recettori ai tre comparti ambientali, aria acque e suoli superficiali in ambiente urbano.

I pesi applicati per ottenere questi profili sono di seguito riassunti.

Tabella 21: Punteggio associato ai diversi profili espositivi per ottenere l'Indice di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB).

Profili	Profilo 1 (Standard)	Profilo 2 (Riferimento)	Profilo 3 (Agricolo)	Profilo 4 (Urbano)
Aria	0.33	0.50	0.40	0.60
Suolo	0.33	0.35	0.45	0.30
Acqua	0.33	0.15	0.15	0.10

i valori così ottenuti vengono inseriti in una scala numerica continua, analoga a quella già adottata precedentemente, dove la soglia di rischio e/o valore limite di qualità è stabilito a 100.

Tabella 22: Scala di Giudizio Indice di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB).

Indice numerico IRTQAMB	Giudizio di Rischio Potenziale / Qualità Ambientale
< 1	Rischio Irrilevante /Q. AMB. Ottima
1-25	Rischio da Trascurabile a Molto Basso /Q. AMB. da Molto Buona a Buona
25-50	Rischio da Molto Basso a Basso /Q. AMB. da Buona a Moderata
50-100	Rischio da Basso a Moderato /Q. AMB. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili
100-150	Rischio da Moderato a Rilevante /Q. AMB. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
150-200	Rischio da Rilevante a Molto Rilevante /Q. AMB. da Insalubre a Molto Insalubre
200-300	Rischio da Molto Rilevante ad Alto /Q. AMB. da molto Insalubre a Cattiva
300-400	Rischio da Alto a Molto Alto /Q. AMB. da Cattiva a Molto Cattiva
≥ 400	Rischio Pericoloso / QUALITÀ Pessima

Applicando l'IRTQAMB ai risultati delle indagini sperimentali condotte si ottiene la valutazione riportata.

Tabella 23: Risultati Indice di Rischio Tossicologico e Qualità Ambientale (IRTQAMB).

Recettore	Area di Indagine	Giudizio di Rischio Potenziale/ Qualità Ambientale
Profilo 1	134	Rischio da Moderato a Rilevante / Q. AMB. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Profilo 2	136	Rischio da Moderato a Rilevante / Q. AMB. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Profilo 3	137	Rischio da Moderato a Rilevante / Q. AMB. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre
Profilo 4	137	Rischio da Moderato a Rilevante / Q. AMB. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre

Dai risultati ottenuti si può osservare che l'indice esteso di qualità ambientale applicato a tutti i **Profili (1,2,3,4)** è in tutta l'area indagata superiore alla soglia di rischio e/o valore limite di qualità (**100**); tradotto in un giudizio per la Qualità Ambientale che risulta essere da "Insalubre per i Gruppi Sensibili a insalubre", con un "Rischio Potenziale da Moderato a Rilevante".

Parte 3 – Valutazione della salubrità ambientale mediante l'impiego di biosaggi

Premessa

Con l'entrata in vigore del Testo Unico Ambientale in Italia, al monitoraggio di tipo chimico è stato affiancato il monitoraggio di tipo biologico. Infatti, gli effetti tossici registrabili sugli organismi viventi sono solo in parte prevedibili sulla base della valutazione quantitativa degli xenobiotici presenti nelle matrici ambientali analizzate. Inoltre, difficilmente è possibile conoscere a priori tutte le sostanze chimiche potenzialmente inquinanti presenti in ciascuna matrice e stabilire quale sia la loro frazione realmente biodisponibile. I due approcci sono complementari: semplificando, le analisi chimiche identificano e quantificano i diversi composti presenti in una matrice ambientale rispondendo ai requisiti previsti dalla norma mentre i biosaggi rispondono al carico tossicologico totale tenendo conto degli effetti additivi o sinergici che possono essere indotti negli organismi dall'esposizione contemporanea a più stressors, anche quelli non identificati dalla caratterizzazione chimica.

All'interno della campagna di monitoraggio da noi effettuata nei territori in esame sono stati applicati biosaggi acuti che possono essere classificati in:

- Biosaggi tossicologici in grado di fornire informazioni sui rischi per la salute della popolazione umana,
- Biosaggi ecotossicologici che caratterizzano rischi per l'ecosistema e l'ambiente.

Rientrano nella prima categoria i saggi che impiegano le linee cellulari di origine umana (tumoral e immortalizzate) e il saggio di trasformazione cellulare mentre nel secondo gruppo sono compresi i saggi di immobilizzazione di *Daphnia magna*, il test di fitotossicità e il test su *Caenorhabditis elegans*.

I biosaggi applicati nella campagna di monitoraggio sono stati selezionati tra quelli prescritti all'interno del Testo Unico Ambientale, delle linee guida per l'analisi del suolo e delle acque redatte dalle agenzie ambientali nazionali ed internazionali oppure utilizzati da centri ricerca internazionali e pubblicati sulle riviste scientifiche di settore.

Di seguito saranno introdotti i diversi tipi di biosaggi utilizzati, raccolti per tipologia di matrice (acque, aria e particolato, suolo) con una breve spiegazione sulla tipologia di organismo impiegato, le modalità di esecuzione dei test e la guida all'interpretazione dei dati con annesso riferimento normativo, dove presente.

Matrice "ACQUE SUPERFICIALI"

Durante la campagna di campionamento sono stati raccolti 4 campioni compositi di acque superficiali presenti nella zona in esame. Nel dettaglio sono stati analizzati i corpi idrici Olona e il corso d'acqua che scorre ad ovest della discarica di Gorla Maggiore.

I campioni sono stati filtrati per rimuovere il particolato grossolano sospeso ed eventuali residui di materia organica e successivamente conservati in bottiglie scure a 4°C al buio fino al momento dell'analisi.

- Il saggio di ecotossicità acuta con *Daphnia magna*

Intro: Gli studi di ecotossicità sulla matrice "acqua" sono stati effettuati utilizzando il crostaceo di acqua dolce *Daphnia magna* come modello degli organismi acquatici. *Daphnia* è uno degli organismi più utilizzati nell'ecotossicologia acquatica e, a livello normativo, gli studi sui daphnidi possono essere utilizzati per a) il controllo degli effluenti, b) la valutazione degli effetti degli scarichi sui recettori, c) la valutazione degli effetti della disinfezione sulla tossicità degli effluenti depurati e d) il monitoraggio dei corpi idrici superficiali.

Protocollo: Il protocollo utilizzato è quello descritto nella UNI EN ISO 6341:1999.

Per i saggi di tossicità acuta vengono utilizzati i neonati di età



inferiore alle 24 ore ottenuti a partire dagli efippi messi ad incubare in condizioni di temperatura controllata 72-80 ore prima dell'esecuzione del test. I neonati sono stati poi nutriti con una sospensione algale di spirulina per due ore, contanti e trasferiti in acqua standard per l'esecuzione del test. Per ciascun campione di acqua analizzato sono stati esposti 40 individui effettuando 8 replicati da 5 individui ciascuno secondo quanto previsto dalle linee guida nazionali IRSA-CNR. La prova poi è stata ripetuta in un esperimento indipendente per conferma. Gli organismi sono stati esposti per 48 ore a 20°C al campione di acqua tal quale con valutazione della mobilità (endpoint del test) a 24 e 48 ore. In parallelo è stato effettuato un test di controllo con bicromato di potassio per verificare la sensibilità degli organismi utilizzati per il saggio.

Analisi dei risultati: due sono i criteri di accettabilità contenuti nel DLgs 152/2006 per l'accettabilità del campione nel saggio di tossicità acuta con daphnia:

- Per gli scarichi in acque superficiali (criterio più affine al monitoraggio ambientale): Il campione non è accettabile quando dopo 24 ore il numero degli organismi immobili è uguale o maggiore del 50% del totale;
- Per gli scarichi in rete fognaria: il campione non è accettabile quando dopo 24 ore il numero degli organismi immobili è uguale o maggiore del 80% del totale.

Ulteriori criteri adottati da ARPA Lombardia⁽¹⁵⁾ sono:

- Un campione è considerato tossico per percentuali di immobilità > 20%.
- Un campione è considerato pretossico quando causa una percentuale di effetto pari al 10 %

Risultati: Nelle figure 1 e 2 sono riportati i risultati del test di immobilizzazione con *Daphnia magna* rispettivamente a 24 e 48 ore. I valori riportati rappresentano le medie delle due sedute indipendenti eseguite per ciascun campione (analisi in doppio). Focalizzandosi sul test richiesto dalla normativa vigente (test a 24 ore, figura 1) è possibile osservare che non vi sono effetti tossici indotti dai campioni analizzati nell'organismo modello. Il test è stato prolungato di ulteriori 24 ore ed è stata effettuata una nuova valutazione della mobilità degli organismi a 48 ore (figura 2) senza registrare organismi immobili denotando quindi assenza di tossicità.

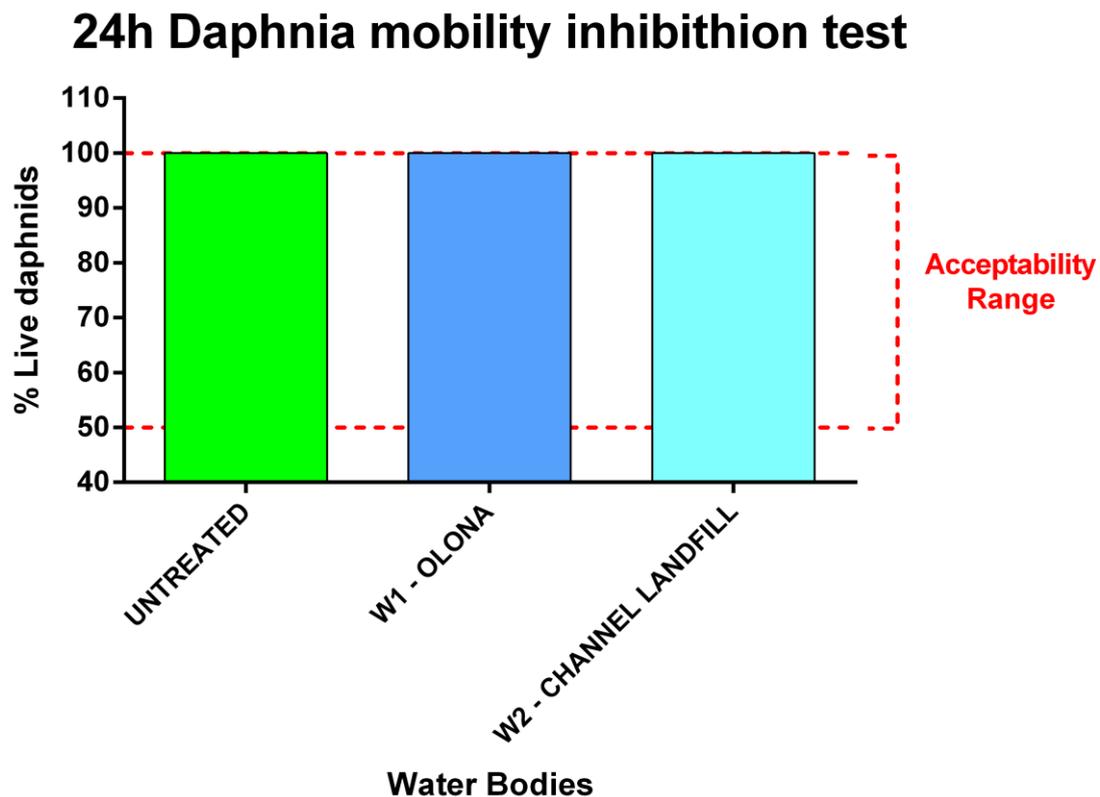


Figura 1: Test di immobilizzazione con D. magna: endpoint a 24 ore.

48h Daphnia mobility inhibition test

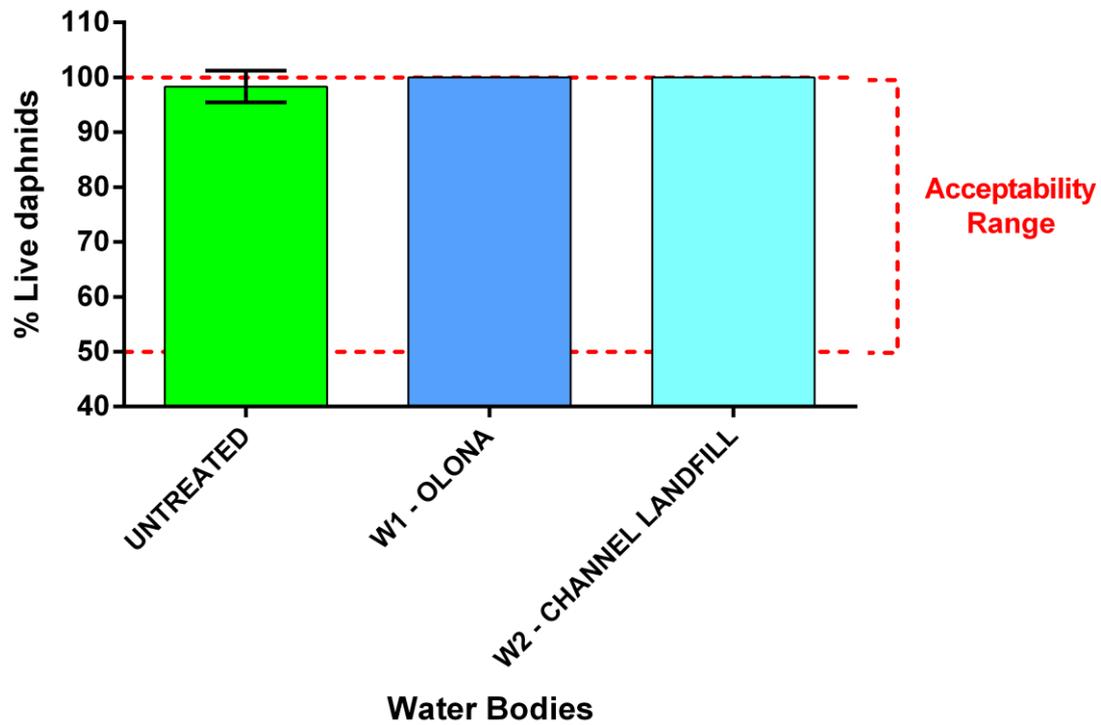


Figura 2: Test di immobilizzazione con D. magna: endpoint a 48 ore.

Matrice “SUOLO”

Per la matrice suoli sono stati compiuti due saggi ecotossicologici utilizzando piante e nematodi e uno studio di tossicità orientata alla tutela della salute umana con una linea cellulare epatica.

L'area oggetto di studio è stata suddivisa in 3 macroaree secondo distribuzione geografica e i suoli campionati in ciascuno dei comuni all'interno delle macroaree sono stati miscelati per formare un campione composito da sottoporre allo studio. Per ciascuna macroarea sono stati campionati due tipi di suoli: suoli assimilabili a tipologia urbana e suoli assimilabili a terreni agricoli.

- Il saggio di fitotossicità acuta con piante superiori

Intro: Lo studio della tossicità dei suoli per la flora è stato compiuto mediante test di fitotossicità (o fitotest) con piante superiori. Il test di fitotossicità è stato effettuato con tre semi, rappresentativi delle piante di interesse dal punto di vista nutrizionale, agronomico ed economico: sorgo (monocotiledone, *Sorghum saccharatum*, SOS), cetriolo (*Cucumis sativus*, CUS, dicotiledone) e crescione (*Lepidium sativum*, LES, dicotiledone).

Il sorgo può essere quindi utilizzato come modello di cereali (esempio riso, orzo, avena, frumento) e mais mentre il cetriolo e il crescione come modello delle più comuni piante da frutta (melo, pero, pesco) e degli ortaggi e legumi in generale (piselli, fagioli, patate, pomodoro, soia, lattuga, girasole)

I semi di ciascuna specie sono stati messi a dimora nei terreni raccolti durante la campagna di campionamento.

I campioni sono stati utilizzati dopo setacciatura al vaglio di 2mm e successivamente essiccati all'aria.

Protocollo: Il test è condotto secondo il metodo UNICHIM 1651 (2003)⁽¹⁶⁾. 10 grammi di suolo sono stati prelevati, disposti all'interno di capsule Petri ed idratati. Il terreno reidratato è stato appianato e poi sulla superficie è stato disposto un filtro di carta precedentemente inumidito. Per ogni specie vegetale, sono stati preparati 4 replicati per ogni terreno. In ciascuna serie, 10 semi sono stati disposti sul filtro, sigillati con parafilm lungo i bordi delle capsule e incubati per 72 ore al buio ed a 25 °C. In parallelo è stato allestito un set di controllo, mettendo i semi in capsule contenenti un suolo standard OECD composto da sabbia quarzosa (70%), argilla (20%) e torba di sfagno (10%). Alla fine della prova sono stati registrati il numero dei semi germinati e la lunghezza radicale e successivamente i due valori sono stati combinati in un Indice di Germinazione che tiene conto sia della germinazione che dell'accrescimento radicale.

Analisi dei risultati: Non esiste un criterio di accettabilità previsto dalla legislazione attuale.

Gli effetti a carico delle specie vegetali analizzate sono stati quantificati mediante comparazione dell'indice di germinazione percentuale tra semi controllo (terreno OECD) e semi esposti ai terreni compositi provenienti dalle tre zone precedentemente individuate.

I parametri che concorrono al calcolo dell'indice di germinazione (IG%) sono il numero di semi germinati (tasso di germinazione) e la lunghezza delle radici (allungamento radicale).

Accanto ad un approccio statistico, è per la valutazione della tossicità dei suoli sono stati utilizzati i criteri proposti da Viarengo⁽¹⁷⁾ e Pasini⁽¹⁸⁾ e compresi nel protocollo redatto dal CESIRICERCA⁽¹⁹⁾:

IG% = 80-120: Assenza di effetti tossici (NT)

IG% = 40-80: Effetti tossici da lievi a moderati (LMT)

IG% < 40: Effetti tossici gravi (HT)

IG% > 120: Presenza di effetti biostimolatori (B).

Risultati: Nelle figure 4-6 sono riportati i risultati relativi ai campioni di suolo analizzati per il crescione, il sorgo e il cetriolo. Ad ogni campione è stato associato il relativo score di tossicità e i risultati dell'analisi statistica effettuata applicando l'ANOVA a singola via e il test di Tukey per la comparazione multipla dei campioni.

L'indice di germinazione medio di tutti i suoli in tutte e tre le specie vegetali non sono statisticamente diversi da quelli ottenuti nei relativi controlli ovvero nei semi non trattati.

Il saggio condotto con i semi di crescione (LES) ha evidenziato un leggero effetto biostimolatorio nei semi esposti ai suoli S1 urbano e S1 agricolo (entrambi provenienti dalla macroarea “Valle dell'Olona” (figura 4).

Dal saggio condotto con CUS, il suolo S1 urbano (Valle dell'Olona) è classificabile come suolo in grado di indurre effetti tossici da lievi o moderati mentre il suolo S2 di tipo agricolo (Area Sud-Est) risulta leggermente biostimolante.

Il saggio condotto con SOS non ha evidenziato nessuna variazione e i suoli sono quindi classificabili come "non tossici".

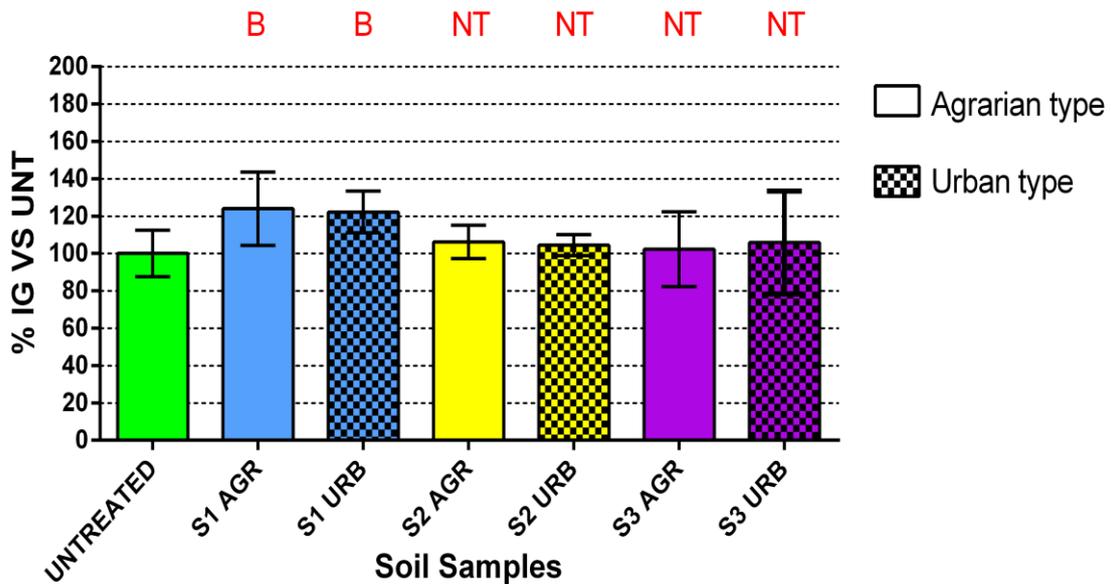
Applicando i criteri di classificazione (scoring) del campione basati sul posizionamento dei singoli valori di IG% relativi al campione, la classificazione dei suoli è la seguente:

Tabella 24: Classificazione dei Suoli in base ai saggi SOS, CUS e LES.

Sample	SOS		LES		CUS		
	IG%	Score	IG%	Score	IG%	Score	
Comuni della Valle dell'Olona	S1 Agricolo	102.14	NT	123.95	B	103.19	NT
	S1 Urbano	74.28	LMT	122.21	B	101.49	NT
Comuni dell'Area Sud-Est	S2 Agricolo	122.76	B	106.19	NT	92.04	NT
	S2 Urbano	86.48	NT	104.46	NT	88.60	NT
Comuni del Seprio	S3 Agricolo	95.99	NT	102.27	NT	109.76	NT
	S3 Urbano	89.67	NT	105.86	NT	95.22	NT

In tutti i casi di biostimolazione l'effetto è molto contenuto ed è registrato principalmente in campioni provenienti da campi nei quali è probabile riscontrare la presenza di fertilizzanti e concimi che possono indurre fenomeni di aumentata crescita nelle piante.

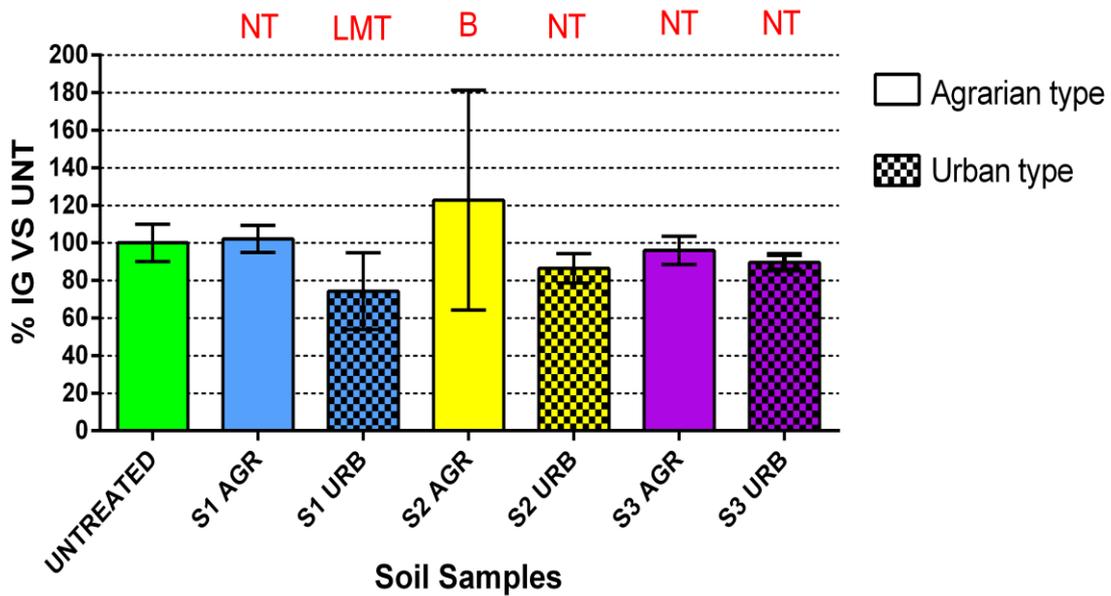
Cress (LES)



One-way Anova, Tukey's multiple comparisons
**** $p < 0,0001$

Figura 3: Test di fitotossicità: Crescime B = biostimolazione, NT = assenza di tossicità

Cucumber (CUS)

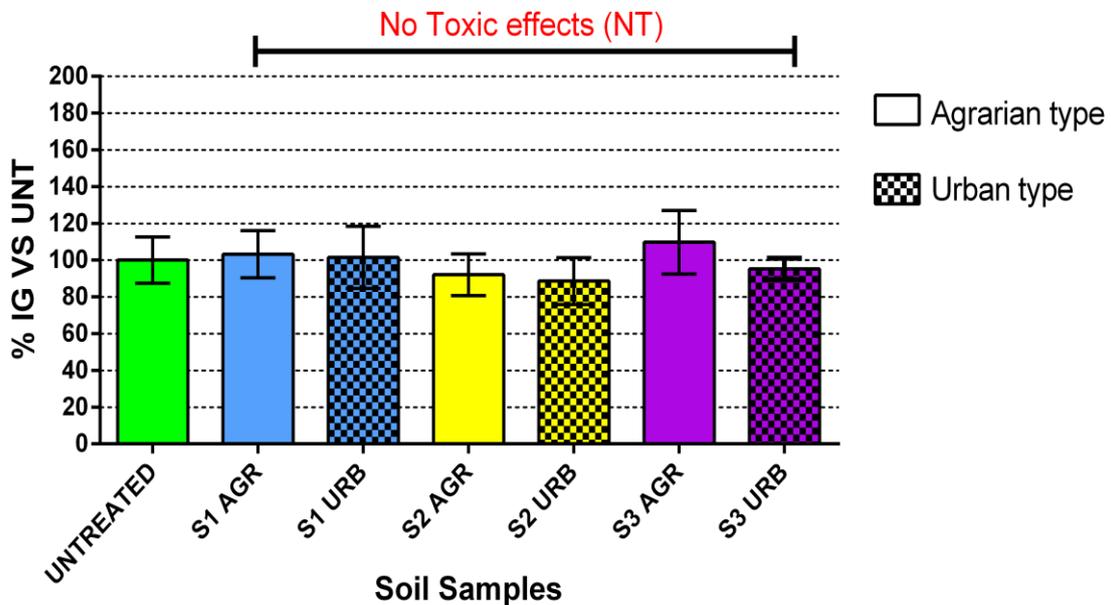


One-way Anova, Tukey's multiple comparisons

 * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0,0001

Figura 4: Test di fitotossicità: Sorgo NT= assenza di tossicità, B= biostimolazione

Sorghum (SOS)



One-way Anova, Tukey's multiple comparisons

 *** p < 0.001, **** p < 0,0001

Figura 5: Test di fitotossicità: Sorgo NT= assenza di tossicità, B= biostimolazione

- Il saggio di tossicità acuta con *C. elegans*

Intro: *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) è un nematode sempre più utilizzato per studi in vivo, in particolare in campo biomedico e nel campo della tossicologia in quanto offre alcune caratteristiche complementari a quelle dei modelli cellulari. I vantaggi correlati all'uso di *C. elegans*, rispetto ad altri modelli animali utilizzati per questo tipo di studi (come per esempio il lombrico), comprendono: le sue ridotte dimensioni, la trasparenza del suo corpo, la velocità con cui si riproduce, la breve durata della vita, oltre che la possibilità di essere congelato in modo analogo a quanto avviene per i sistemi cellulari. Inoltre, essendo *C. elegans* un vero e proprio organismo animale, è possibile condurre studi di tipo comportamentale, di caratterizzazione biochimica dei suoi processi metabolici e studi di tracciabilità genetica.



È noto, per esempio, che alcuni pathways metabolici di *C. elegans*, come la risposta allo stress ossidativo e l'espressione di enzimi antiossidanti e/o detossificanti, sono ben conservati nell'uomo. I valori di LD50 (Lethal Dose 50, la dose di composto che causa la morte del 50% degli animali trattati) ottenuti su *C. elegans* correlano con quelli ottenuti nei roditori, e questo lo rende un buon modello sperimentale per predire la tossicità nei mammiferi.

Protocollo: Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti su *Caenorhabditis elegans*, utilizzando il ceppo ancestrale N2 proveniente dal *Caenorhabditis* Genetic Center (University of Minnesota, USA). I vermi sono stati coltivati su piastre di agar contenente Nematode Growth Medium (NGM) e nutriti con *E. coli* (ceppo OP50, *Caenorhabditis* Genetic Center).

I campioni di terreni sono stati preparati idratando 1 g di terreno standard OECD (Terreno controllo) o prelevato in Lomellina con 1 ml di acqua e sono stati lasciati ad equilibrare per 2 ore.

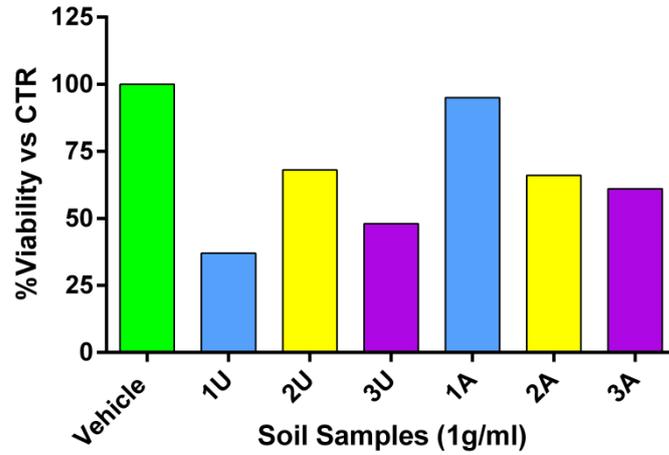
Per la valutazione della tossicità, i vermi (50/200 µl) sono stati risospesi nei terreni idratati. Dopo due ore di incubazione a temperatura ambiente, i vermi sono stati depositati su un lato di una piastra petri da 100 mm senza batteri e depositando all'estremo opposto della piastra 100 µl di *E. coli* OP50. Dopo 24 ore è stato determinato il numero di nematodi che dal terreno è migrato verso i batteri per evidenziare potenziali effetti tossici (mortalità). Successivamente, è stato effettuato il test del "pumping rate" registrando il numero di contrazioni che la faringe del verme compie in un minuto.

Analisi dei risultati: Non esistono riferimenti normativi per quanto riguarda la tossicità sui nematodi. L'analisi dei risultati prevede l'adozione di un approccio statistico volto all'individuare differenze tra organismi controllo ed organismo esposti e, in caso di effetti tossici marcati, viene ricavata la dose in grado di indurre effetti avversi nel 50% degli organismi esposti al trattamento (LD50/IC50).

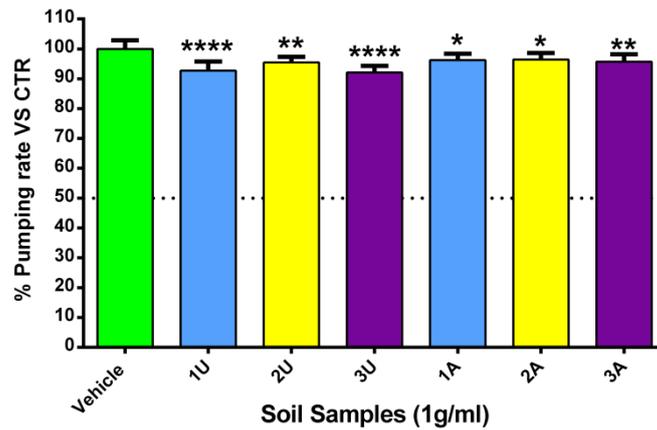
Risultati: L'incubazione dei vermi nei terreni prelevati dalla zona in esame è in grado di causare mortalità nell'organismo modello. I terreni che risultano più tossici sono i terreni di tipo urbano provenienti dalle macroaree "Valle dell'Olona" e "Comuni del Seprio" con un tasso di mortalità superiore al 50% mentre i campioni agricolo ed urbano dell'area "Area Sud-Est" (S2) e il campione agricolo dell'area "Comuni del Seprio" risultano anch'essi tossici ma con una minore tossicità. Infine il campione composito di tipo agricolo proveniente dall'area "Valle dell'Olona" non causa significativa mortalità negli organismi esposti. (Figura 7, in alto).

Inoltre sono stati osservati effetti inibitori anche sul comportamento alimentare dei nematodi sopravvissuti (figura 7, in basso), misurato con il test del "pumping rate" come numero di contrazioni che la faringe del nematode compie in un minuto. L'inibizione riflette quanto ottenuto analizzando il tasso di mortalità, con differenze statisticamente significative ma piuttosto contenute.

Viability of *C. elegans* after soil exposure



Effect of soil exposure on pumping rate of survived *C. elegans*

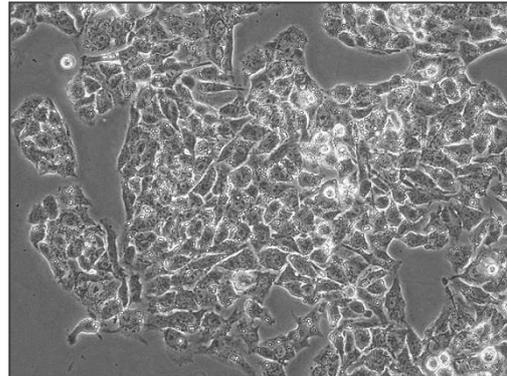


*p<0.05, **p<0.01 and ****p<0.0001 vs vehicle according to one-way Anova and Tukey's *post hoc* test

Figura 6: Test di tossicità con *C. elegans*: vitalità (in alto) e pumping rate (in basso)

- **Il saggio di citotossicità a 72 ore acuta con cellule epatiche**

Intro: i suoli dell'area in esame sono stati sottoposti ad estrazione solido-liquido con diclorometano al fine di ottenere un estratto contenente gli inquinanti organici liposolubili (es. Diossine, IPA, PCBs). L'estratto è stato poi addizionato al medium di coltura delle cellule HepG2, una linea cellulare di epatocarcinoma umana molto utilizzata negli studi di tossicità^(20,21,22) in quanto esprimono antiossidanti ed enzimi coinvolti nel metabolismo degli xenobiotici, la cui regolazione è simile a quella riscontrabile negli epatociti primari umani⁽²³⁾.



Protocollo: Il disegno sperimentale è simile a quello riportato nell'articolo di Baderna et al., 2011.

Le cellule HepG2 sono state mantenute in coltura in medium MEM addizionato con 10% FBS, 1% Pen-Strept, 1% Glutamina, 1% Sodio piruvato e 1% NEAA in un incubatore a 37°C, 5% CO₂ e sono state successivamente seminate in piastra da 96 pozzetti. Il giorno successivo le cellule sono state esposte all'estratto organico dei suoli a diverse concentrazioni. Il trattamento è durato 72 ore con valutazione degli endpoint di tossicità ogni 24 ore.

Sono stati valutati gli effetti sulla proliferazione cellulare (MTS assay) e sulla citotossicità (CellTox Green) per valutare le differenze rispetto alle cellule esposte al bianco estrattivo (controllo).

Analisi dei risultati: Non esistono riferimenti normativi per quanto riguarda la citotossicità *in vitro*.

L'analisi dei risultati è stata condotta mediante analisi statistica ed è stata poi ricavata la dose in grado di indurre effetti avversi nel 50% delle cellule esposte al trattamento (IC50) successivamente paragonata alla dose prevista dalle linee guida per l'analisi del rischio (italiane e canadesi) per l'ingestione accidentale di suolo contaminato.

Risultati: Nelle figure 8 e 9 sono riportati i risultati ottenuti dopo 72 ore di esposizione alle diverse concentrazioni di estratto organico dei suoli campionati nell'area in esame.

Gli estratti organici di tutti i suoli sono in grado di inibire la proliferazione cellulare in modo dose dipendente e gli estratti provenienti dai terreni di tipo agricolo risultano più tossici rispetto ai corrispettivi terreni di tipo agricolo e generalmente più tossici in quanto inibiscono maggiormente la proliferazione cellulare nelle condizioni sperimentali da noi adottate (figura 7).

Dall'analisi dei dati ottenuti dai test di citotossicità (Figura 8) è possibile affermare che gli estratti organici dei suoli sono in grado di indurre mortalità nelle cellule esposte alle concentrazioni più alte di estratto organico del suolo.

Nella figura 10 sono riportati i valori di IC50 relativi ai sei diversi campioni compositi di suolo e sono evidenziate le concentrazioni di suolo relative all'ingestione accidentale per bambini e adulti come descritte dalle linee guida italiane e canadesi dell'analisi del rischio legato al suolo. Il quadro complessivo mostra come l'ingestione accidentale di suolo risulta generalmente sicura per bambini e adulti secondo l'approccio canadese (meno conservativo) in quanto tutti i terreni presentano valori di IC50 superiori a 80 e 20 mg, porzioni di suolo assunte accidentalmente rispettivamente da bambini e adulti secondo il ministero della sanità canadese ad eccezione del suolo agricolo della macroarea "Comuni del Seprio" che mostra un valore di IC50 paragonabile al valore di ingestione accidentale per i bambini.

Per quanto riguarda l'approccio italiano, invece, i suoli di tipo agricolo provenienti dalle aree "Comuni del Seprio" (S3) e "Area Sud-Est" (S2) risultano potenzialmente pericolosi per i bambini in quanto la IC50 di questi terreni è inferiore a 200 mg che costituiscono l'assunzione accidentale di suolo per i bambini ipotizzata nelle linee guida italiane che risultano essere molto conservative, ovvero lontane dalla reale e possibile ingestione accidentale di suolo.

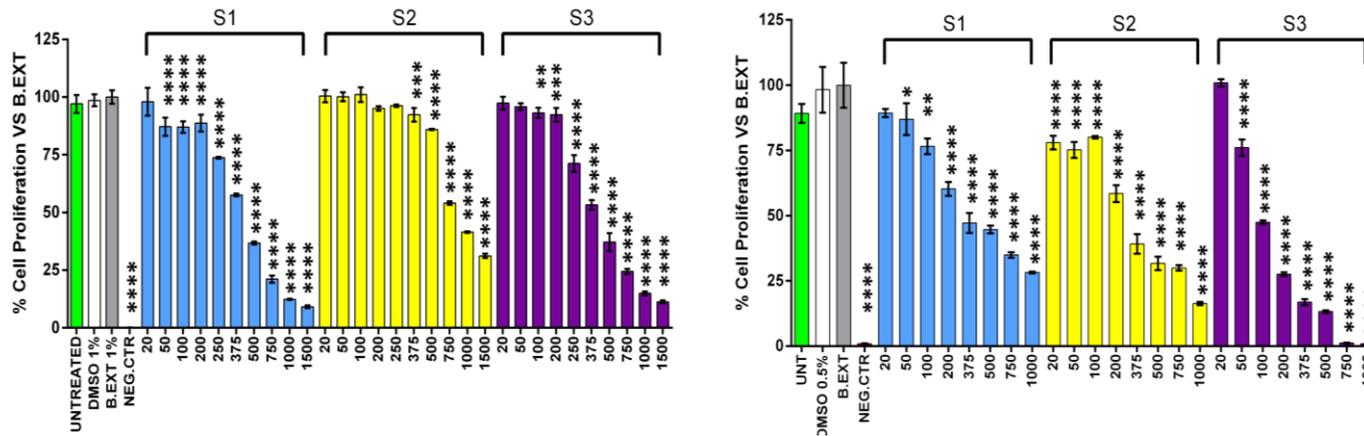


Figura 7: Effetti degli estratti organici dei suoli sulle cellule HepG2: proliferazione cellulare. A sinistra Suoli di tipo urbano. A sinistra suoli di tipo agricolo.

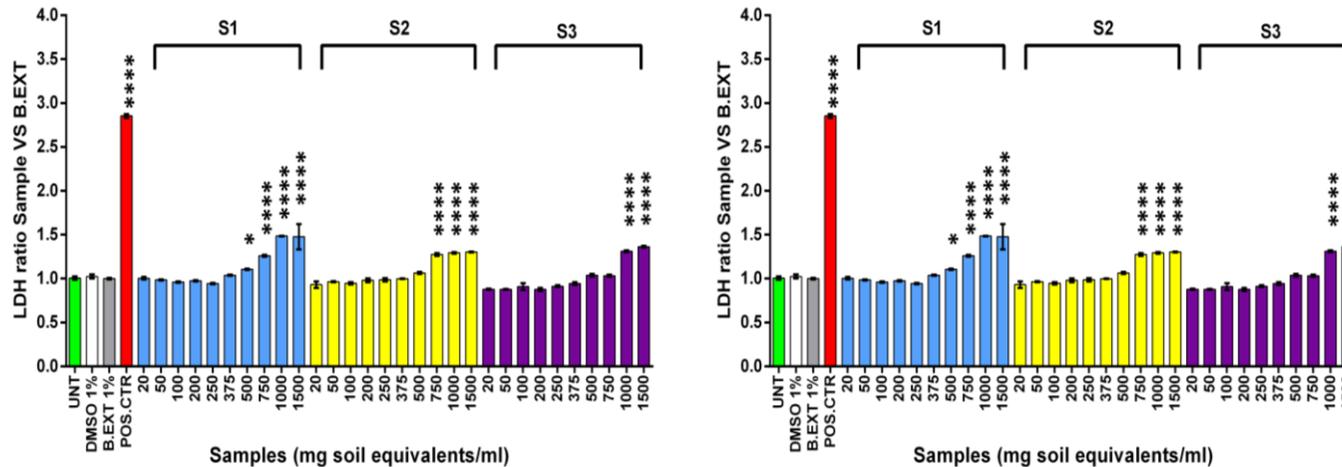


Figura 8: Effetti degli estratti organici dei suoli sulle cellule HepG2: citotossicità. A sinistra Suoli di tipo urbano. A sinistra suoli di tipo agricolo.

ANOVA+Tukey post hoc * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.0001

72h IC50 HepG2 exposed to EOM from Soils

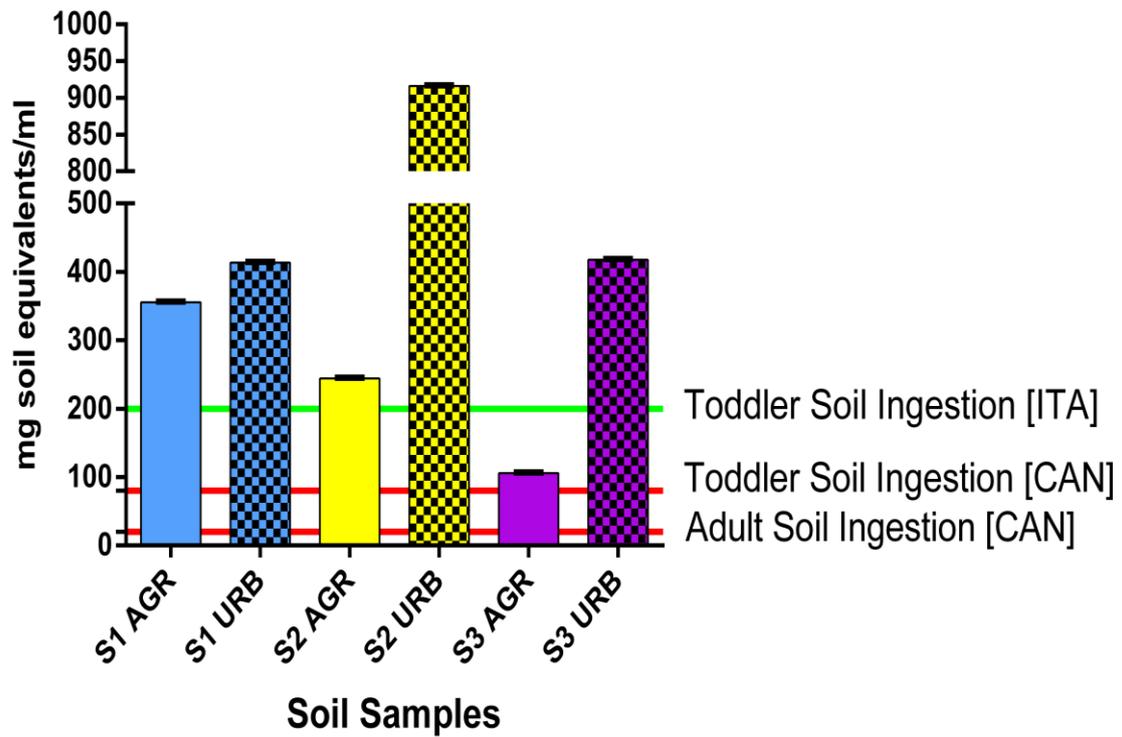


Figura 9: IC50 a 72 nelle cellule HepG2 esposte agli estratti organici dei suoli e riferimenti derivati dall'analisi del rischio. Si evidenzia in verde la dose di suolo accidentalmente ingerito dai bambini secondo la normativa italiana e in rosso le dosi per bambini (toddler) e adulti secondo la linea guida canadese.

- Il saggio di trasformazione cancerogena

Intro: Le polveri aerodisperse (PM_{2.5}, PM₁₀ e polveri totali sospese) nell'area oggetto di studio sono state campionate mediante campionatori attivi e le membrane contenenti le polveri sono state sottoposte ad estrazioni solido-liquido con diclorometano. L'estratto organico così ottenuto è stato poi somministrato a cellule tumorali utilizzate come modello dell'apparato respiratorio. Nel dettaglio sono state utilizzate le cellule A549 come modello di cellule alveolari mentre come modello di cellule bronchiali sono stati utilizzate le cellule BEAS-2B. Entrambi i modelli sono spesso utilizzate come modello dell'apparato respiratorio in studi di farmacologia, tossicologia e patologia virale o batterica.

Gli estratti organici dei suoli sono stati analizzati anche mediante test di trasformazione cancerogena, utilizzando un apposito modello al momento in validazione come metodo alternativo agli studi di cancerogenesi nell'animale. Il metodo basato sull'utilizzo delle cellule BALB/c 3T3 clone A31-1-1, permette di valutare il potenziale cancerogeno di una sostanza

o di una miscela mediante valutazione dell'induzione di pile di cellule (foci) di tipo cancerogeno in seguito a trattamento con le sostanze in esame.

Protocollo: Il disegno sperimentale è riportato nell'articolo di Baderna et al., 2013.

Le cellule BALB/c 3T3 clone A31-1-1, sono state mantenute in coltura in medium MEM addizionato con 10% FBS, 1% Pen-Strept, 1% Glutamina in un incubatore a 37°C, 5% CO₂ e sono state successivamente seminate in piastra petri per lo studio di tossicità preliminare esponendo le cellule per 48 ore a diverse concentrazioni di estratto organico dei suoli, addizionato al medium di coltura. Le concentrazioni non troppo tossiche sono poi state testate nel test di trasformazione morfologica per la caratterizzazione del potenziale cancerogeno dei diversi estratti.

Analisi dei risultati: Non esistono riferimenti normativi per quanto riguarda il test di trasformazione *in vitro*.

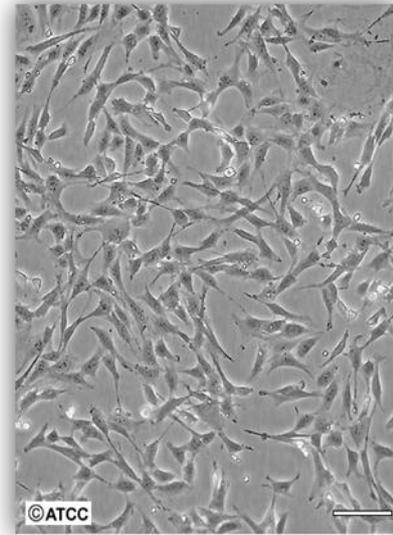
L'analisi dei risultati è stata condotta mediante analisi statistica valutando se in seguito a trattamento con gli estratti dei suoli, nel modello da noi utilizzato si verificasse induzione di foci ed incremento della frequenza di trasformazione.

Risultati: Nella figura 11 sono riportati i risultati ottenuti con gli estratti organici dei suoli composti rappresentativi delle tre macroaree. Sono state testate le concentrazioni 20 e 200 mg di suolo equivalente per petri per tutti i suoli ad eccezione del suolo agricolo dell'area "Comuni del Seprio" per il quale sono state testate le concentrazioni 20 e 50 mg s.e./petri in quanto le altre concentrazioni risultarono troppo citotossiche.

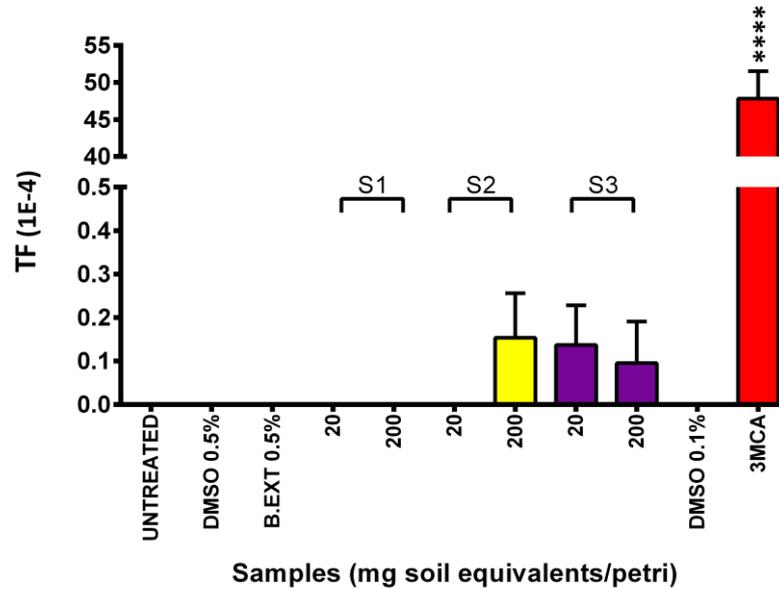
Le due concentrazioni scelte rappresentano il tasso di ingestione di suolo per adulti (20 mg, secondo la linea guida canadese) e per i bambini (200 mg secondo l'approccio italiano).

Gli estratti organici dei suoli non sono in grado di indurre un numero statisticamente significativo di foci rispetto a quanto ottenuto nelle cellule controllo.

Sebbene l'analisi chimica abbia determinato la presenza di composti cancerogeni nei suoli, gli estratti organici non sono in grado di indurre trasformazione nelle condizioni sperimentali da noi adottate probabilmente perché i livelli di tali sostanze negli estratti non sono risultati sufficientemente alti per indurre trasformazione nel modello da noi utilizzato.



BALB/c CTA Transformation Frequency - Urban Soils



BALB/c CTA Transformation Frequency - Agrarian Soils

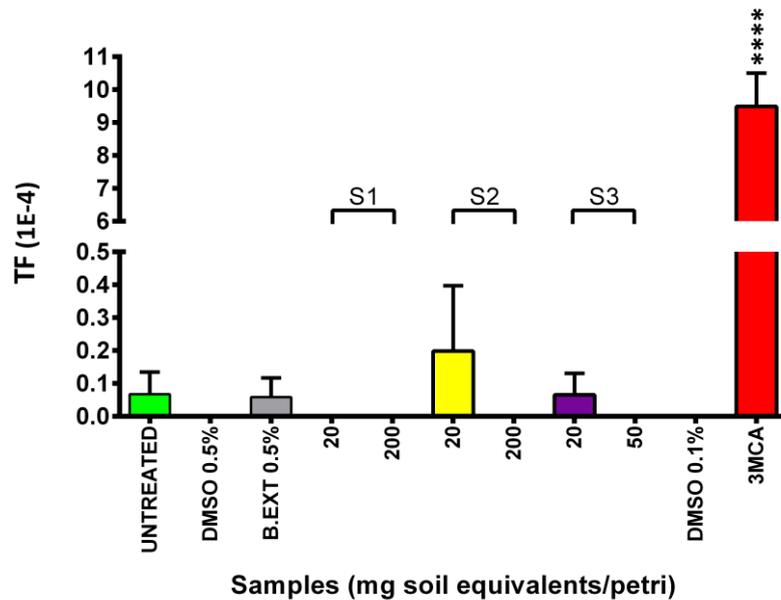


Figura 10: Potenziale cancerogeno degli estratti dei suoli: frequenza di trasformazione (TF) nel modello in vitro BALB/c 3T3 A31-1-1. 3MCA = cancerogeno utilizzato come controllo positivo. In altro suoli urbani, in basso suoli agricoli.

- Il saggio di citotossicità a 72 ore acuta con cellule dell'apparato respiratorio

Intro: Gli estratti organici dei suoli sono stati analizzati anche mediante test di trasformazione cancerogena, utilizzando un apposito modello al momento in validazione come metodo alternativo agli studi di cancerogenesi nell'animale. Il metodo basato sull'utilizzo delle cellule BALB/c 3T3 clone A31-1-1, permette di valutare il potenziale cancerogeno di una sostanza o di una miscela mediante valutazione dell'induzione di pile di cellule (foci) di tipo cancerogeno in seguito a trattamento con le sostanze in esame.

Protocollo: Il disegno sperimentale prevede l'esposizione delle cellule agli estratti di polveri addizionati nel medium di coltura e la verifica degli effetti sulla proliferazione cellulare e sulla mortalità.

Le cellule A549 e BEAS-2B sono state mantenute nei relativi medium di coltura completi (con 10% FBS e 1% Pen-Strept) in un incubatore a 37°C, 5% CO₂ e sono state successivamente seminate in piastra da 96 pozzetti.

Il giorno successivo, le cellule sono state esposte all'estratto organico delle polveri suoli a diverse concentrazioni. Il disegno sperimentale prevede l'esposizione delle cellule alveolari (A549) agli estratti di PM_{2.5} e PM₁₀ mentre le cellule bronchiali (BEAS-2B) sono esposte agli estratti di PM₁₀ e PTS, secondo lo scenario espositivo che vede le polveri più sottili penetrare più in profondità nell'albero respiratorio rispetto alle particelle con diametro aerodinamico più grande.

Il trattamento è durato 72 ore con valutazione degli endpoint di tossicità ogni 24 ore. Le concentrazioni scelte comprendono concentrazioni pari a quelle inalate da adulti e bambini secondo le linee guida dell'analisi del rischio.

Sono stati valutati gli effetti sulla proliferazione cellulare (MTS assay) e sulla citotossicità (CellTox Green) per valutare le differenze rispetto alle cellule esposte al bianco estrattivo (controllo).

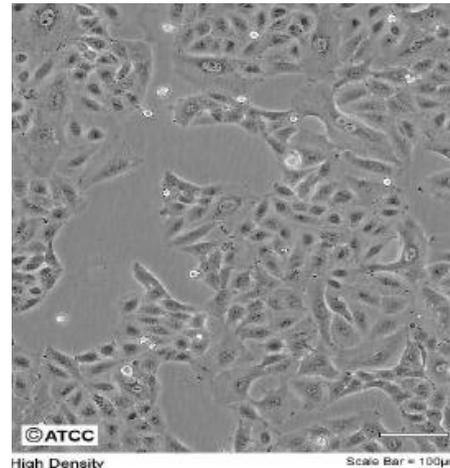
Analisi dei risultati: Non esistono riferimenti normativi per quanto riguarda il test di proliferazione *in vitro*.

L'analisi dei risultati è stata condotta mediante analisi statistica ed è stata poi ricavata la dose in grado di indurre effetti avversi nel 50% delle cellule esposte al trattamento (IC₅₀) successivamente paragonata alla dose prevista dalle linee guida per l'analisi del rischio per l'inalazione di aria e polveri.

Risultati: Nella figura 12 sono riportati i risultati ottenuti nei saggi condotti sulle cellule dell'apparato respiratorio esposte per 72 ore agli estratti organici delle polveri.

Gli estratti organici delle polveri sono in grado di inibire la proliferazione cellulare in modo dose dipendente. I risultati mostrano che gli estratti del PM_{2.5} sono più tossici degli estratti del PM₁₀ nelle cellule alveolari (A549) mentre nelle cellule bronchiali (BEAS-2B), gli estratti del PM₁₀ risultano più tossici degli estratti delle polveri totali sospese. Essendo stati testati su due sistemi cellulari differenti non è possibile paragonare gli effetti di tutte e tre le polveri sullo stesso modello. Dall'analisi dei dati ottenuti dai test di citotossicità (Figura 12, in basso) è possibile affermare che gli estratti organici delle polveri sono in grado di indurre mortalità nelle cellule esposte alle concentrazioni più alte (10 e 20 metri cubi/ml) di estratto organico di polveri aerodisperse.

Nella figura 13 sono riportati i valori di IC₅₀ relativi ai campioni di polveri aerodisperse e sono evidenziate le concentrazioni relative all'inalazione di aria per bambini e adulti come descritte dalle linee guida italiane e canadesi dell'analisi del rischio di aria e polveri. Il quadro complessivo mostra come l'inalazione di polveri di tipo PM_{2.5} e PM₁₀ risulta accettabile per il modello alveolare in quanto entrambi gli estratti presentano valori di IC₅₀ superiori al tasso di inalazione per bambini e adulti mentre nel modello bronchiale si registrano potenziali alerts in quanto i valori di IC₅₀ ottenuti con gli estratti di PM₁₀ e PTS sono inferiori al tasso di inalazione.



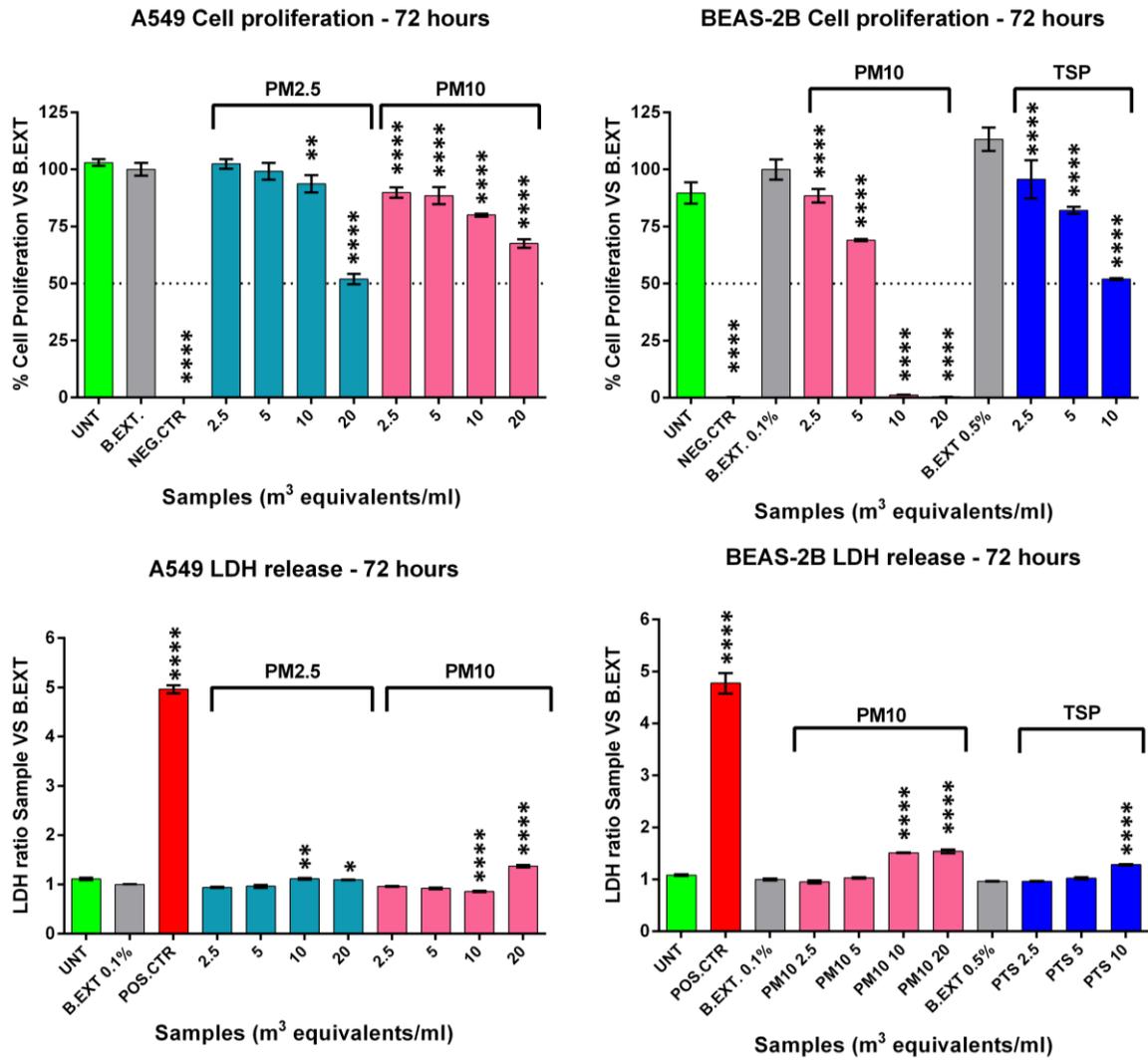


Figura 11: Effetti degli estratti organici delle polveri aerodisperse sulle cellule A549 e BEAS. Sopra, test di proliferazione, sotto saggio di citotossicità. ANOVA+Tukey post hoc * p<0.05, ** p<0.01, ** p<0.0001**

IC50 Air Particulate Matter

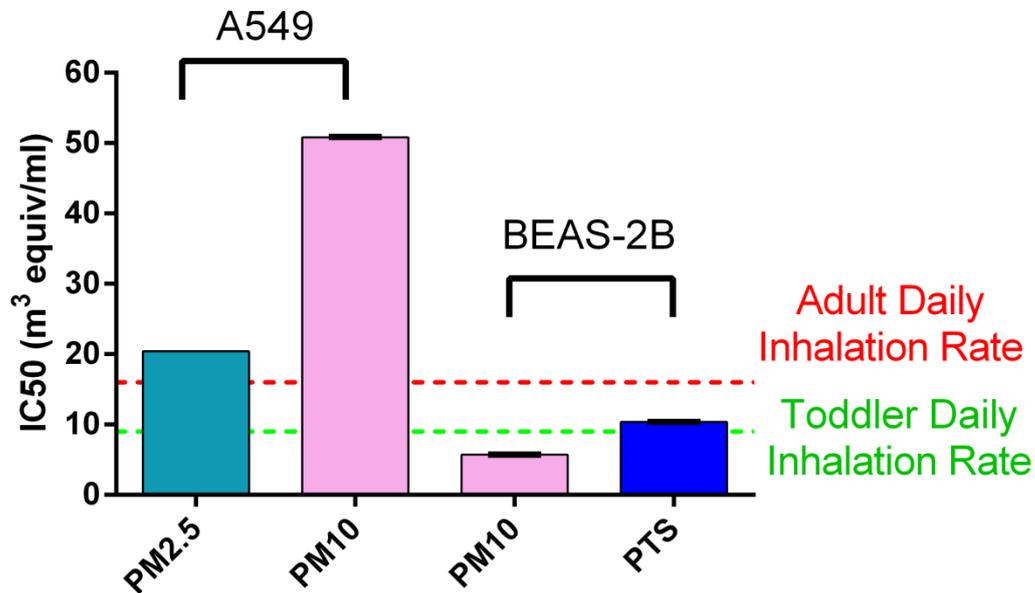


Figura 12: IC50 a 72 nelle cellule A549 e BEAS-2B esposte agli estratti organici delle polveri aerodisperse e riferimenti derivati dall'analisi del rischio. Si evidenzia in verde la dose di aria e polveri inalate dai bambini (9.8 metri cubi) e in rosso le dosi per gli adulti (circa 15 metri cubi).

Quadro Riassuntivo delle Evidenze Sperimentali

Campione	Giudizio	
ACQUE - Test di immobilizzazione con <i>Daphnia magna</i>		
Olona	Accettabile – Non Tossico (24 e 48 ore)	
Canale limitrofo alla discarica		
SUOLO - Test di Fitotossicità		
	Tipo Urbano	Tipo Agricolo
Valle dell'Olona	Potenziale Alert (CUS)	Potenziale Alert (LES)
Area Sud Est	Non Tossico	Potenziale Alert (CUS)
Comuni del Seprio	Non Tossico	Potenziale Alert (LES)
SUOLO - Test su <i>C. Elegans</i>		
	Tipo Urbano	Tipo Agricolo
Valle dell'Olona	Potenziale Alert	Poco Tossico
Area Sud Est	Potenziale Alert	Potenziale Alert
Comuni del Seprio	Potenziale Alert	Potenziale Alert
SUOLO - Test sulle Cellule Epatiche		
	Tipo Urbano	Tipo Agricolo
Valle dell'Olona	Accettabile	Accettabile
Area Sud Est	Accettabile	Potenziale Alert
Comuni del Seprio	Accettabile	Potenziale Alert
SUOLO - Test di Trasformazione		
	Tipo Urbano	Tipo Agricolo
Valle dell'Olona	Accettabile	Accettabile
Area Sud Est	Accettabile	Accettabile
Comuni del Seprio	Accettabile	Accettabile
ARIA - Test sulle Cellule dell'Apparato Respiratorio		
	Alveoli	Bronchi
PM2.5	Accettabile	Non testato
PM10	Accettabile	Potenziale Alert
PTS	Non testato	Potenziale Alert

Riferimenti Bibliografici

- ¹Decreto Legislativo del 13 agosto 2010, n.155 "Attuazione della direttiva 2008/50/CE relativa alla qualità dell'aria ambiente e per un'aria più pulita in Europa".
- ²WHO, 2000. Air quality guidelines for Europe. WHO Regional Publications, European Series, World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen
- ³Lohmann, R.; Jones, K. C., 1998. Dioxins and furans in air and deposition: a review of levels, behaviour and processes. *Sci. Total Environ.* 219, 53-81.
- ⁴U.S. E.P.A. Environmental Protection Agency (1994) Health assessment document for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds. U.S. Environmental Protection Agency (EPA/600/BP-92/001a-c).
- ⁵Castro-Jiménez J., Mariani G., Eisenreich S.J., Christoph E. H., Hanke G., Canuti E., Skejo H., Umlauf, G., 2008. Atmospheric input of POPs into Lake Maggiore (Northern Italy): PCDD/F and dioxin-like PCB profiles and fluxes in the atmosphere and aquatic system *Chemosphere* 73, S122-S130.
- ⁶<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc195.htm#SubSectionNumber:5.1.1>
- ⁷Decreto Legislativo del 3 aprile 2006, n. 152 "Norme in materia ambientale".
- ⁸D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106. TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO.
- ⁹Istituto Superiore di Sanità (ISS), 2014. Banca Dati ISS-INAIL per Analisi di Rischio Sanitario Ambientale. Available at: <http://www.iss.it/iasa/?lang=1&tipo=40> (last access 29/1/2015).
- ¹⁰Health Canada/Santè Canada, 2004. Federal Contaminated Site risk Assessment in Canada. Part 1: Guidance on Human Health Preliminary Quantitative Risk Assessment (PQRA). Environmental Health Assessment Services, Safe Environments Programme.
- ¹¹Health Canada/Santè Canada, 2012. Federal Contaminated Site Risk Assessment in Canada, Part I: Guidance on Human Health Preliminary Quantitative Risk Assessment (PQRA), Version 2.0. ISBN: 978-1-100-17671-0.
- ¹²USEPA, 1989. Risk assessment guidance for superfund. Volume I: Human Health Evaluation Manual (Part A). EPA/540/1-89/002 Washington, DC, 20450: Office of Emergency and Remedial Response.
- ¹³USEPA, 2005. Guidelines for carcinogen risk assessment. EPA/630/P-03/001FWashington, DC, 20450: Office of Emergency and Remedial Response.
- ¹⁴USEPA, 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. EPA/630/R-95/002F. Available at <http://www.epa.gov/raf/publications/guidelines-ecological-risk-assessment.htm> (last access 22/1/2015).
- ¹⁵Pasini M.A., Marangoni E., Secondi A., Villa M., 2001. Impiego di saggi multispecie nella caratterizzazione ecotossicologica di diverse matrici acquose. 14° congresso int.le dei biologi "salute, sicurezza e qualità: obiettivi di una professione" altavilla milicia (Pa) 11/14 ottobre 2001
- ¹⁶UNICHIM, 2003. Metodo UNICHIM 1651. Qualità dell'acqua. Determinazione dell'inibizione della germinazione e dell'allungamento radicale in *Cucumis sativus* L. (cetriolo), *Lepidium sativum* L. (crescione), *Sorghum saccharatum* Moench (sorgo). Saggio di tossicità cronica breve. UNICHIM, pp.22.
- ¹⁷Viarengo A., Olivieri C., Griselli B., Guiotto C., Cometto P, Ferrari S., 2004. The utilization of *Heterocypris incongruens* in a bioassay for toxicity evaluation of contaminated sites. Personal Communications, III Scuola Nazionale Residenziale Siti Contaminati "Analisi del rischio ecologico: dal dato chimico alla valutazione dell'effetto ecologico. Lo studio del sito dell'Acna di Cengio", Alessandria, 20-22 dicembre 2004.
- ¹⁸Pasini M.A., Gazzola M., Secondi A., Villa M., 2000. Monitoraggio di corpi idrici superficiali mediante test ecotossicologici multispecie su acque e sedimenti. Atti del Convegno Nazionale di Ecotossicologia, Torino, 2000: 78-83.
- ¹⁹Martignon G., 2009. Linee guida per la misura della tossicità dei suoli. Test di fitotossicità per il suolo.
- ²⁰Baderna D., Maggioni S., Boriani E., Gemma S., Molteni M., Lombardo A., Colombo A., Bordonali S., Rotella G., Lodi M., Benfenati E., 2011. A combined approach to investigate the toxicity of an industrial landfill's leachate: Chemical analyses, risk assessment and in vitro assays. *Environmental Research*, 111(4): 603-613.
- ²¹Valentin-Severin, I., Le Hegarat, L., Lhuguenot, J.C., Le Bon, A.M., Chagnon, M.C., 2003. Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screening: comparative investigation between comet and micronucleus assays. *Mutat. Res.*, 53:79-90.
- ²²Vidic, T., Lah, B., Berden-Zrimec, M., Marinsek-Logar, R., 2009. Bioassays for evaluating the water-extractable genotoxic and toxic potential of soils polluted by metal smelters. *Environ Toxicol*; 24(5):472-483.
- ²³Wilkening, S., Stahl, F., Badera, A., 2003. Comparison of primary human hepatocytes and hepatoma cell line HepG2 with regard to their biotransformation properties. *Durg Metab Dispos.*, 31:1035-1042.