

Titolo

**CICLO DI VITA DEL CLORO IN AMBIENTE GEOCHIMICO
E SVILUPPO DI UNA METODOLOGIA DI CAMPIONAMENTO
DEL PERCLORATO IN ACQUE SOTTERRANEE**

Descrittori

Tipologia del documento: rapporto tecnico

Collocazione contrattuale: contratto per il servizio di ricerca relativo allo "studio del ciclo di vita del cloro in ambiente geochimico e di una metodologia di campionamento del perclorato in acque sotterranee"

Argomenti trattati: ciclo del cloro e approfondimento sul cloro-36

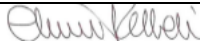

Sommario


Questo rapporto è il secondo volume del "ciclo di vita del cloro" nelle diverse matrici ambientali, che approfondisce le diverse metodologie di campionamento e le tecniche analitiche del cloro.

Sono state raccolte le esperienze eseguite da vari autori nell'analisi del cloro e del suo isotopo ³⁶Cl per valutare l'efficienza analitica delle diverse metodologie utilizzate, osservando le linee guide ed i protocolli proposti.

Note


Autori: *Antonietta Rizzo, Chiara Telloli, Elena Marrocchino, Carmela Vaccaro*

2			NOME			
			FIRMA			
1			NOME			
			FIRMA			
0	EMISSIONE	11/05/2021	NOME	Chiara Telloli	Paride Meloni	Paride Meloni
			FIRMA			
REV.	DESCRIZIONE	DATA		REDAZIONE	CONVALIDA	APPROVAZIONE

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	2	42

Sommario

Premessa	3
1. Tipologie di composti che rilasciano cloro libero disponibile al fine della pianificazione delle metodologie di campionamento ed analisi	8
2. Composti del cloro per i quali vengono prese in esame le metodologie di analisi	10
3. Metodi di campionamento delle acque	13
3.1. Metodi di campionamento dell'acqua	17
3.2. Contenitori per la conservazione dei campioni di acqua.....	20
4. Metodi di campionamento dei suoli	23
5. Metodi di campionamento dei fertilizzanti	24
6. Metodi di campionamento di frutta e verdura	24
7. Metodologie analitiche	25
7.1. Estrazione del campione	25
7.2. Test di cessione o batch test.....	26
7.2.1. Batch test in agitatore	28
7.2.2. Batch test in colonna.....	28
7.3. Analisi di terreno di coltura	29
7.4. Analisi in cromatografia ionica.....	29
7.4.1. Analisi mediante spettroscopia infrarossa "IR"	31
7.4.2. Analisi mediante spettrofotometro UV-visibile.....	31
7.4.3. Cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa HPLC-IRMS	32
7.5. Analisi mediante scintillazione liquida (LSC)	34
Bibliografia	35

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	3	42

Premessa

I composti organici clorurati, comprendono sali incolori che accoppiano atomi di cloro a molecole organiche. Questi composti a base di ione perclorato (ClO_4^-) possono essere dispersi nelle acque (Cheng et al., 2008) e nel suolo, da sorgenti naturali ed antropiche e dato che sono particolarmente pericolosi sono classificate con il gruppo di molecole definite inquinanti organici persistenti (POPs, Persistent Organic Pollutants) (Jones et al., 1999), ad elevato impatto sulla catena trofica, sulla salute umana e sulla biodiversità. I Sali più comuni di perclorato sono il $\text{NH}_4 \text{ClO}_4$, HClO_4 , KClO_4 e NaClO_4 si caratterizzano per essere molto solubili in acqua e l'anione derivante dalla loro dissociazione e dissoluzione ha elevata mobilità. A causa della loro natura idrofila ed elevata stabilità, l'anione perclorato può persistere nell'acqua per lunghi periodi e in presenza di molecole organiche costituisce composti organici clorurati persistente che possono entrare a far parte della catena alimentare, che con l'assunzione di acqua e cibo si bioaccumula fino a essere assimilato dall'uomo (Dasgupta et al., 2006; Dyke et al., 2006; Wang et al., 2009; Lee et al., 2012; Kumarathilaka et al., 2016).

A seguito della biomagnificazione negli esseri viventi, i composti organici clorurati tendono a concentrarsi da un anello all'altro della catena alimentare per i seguenti fattori: i) rapporto inferiore a 1 fra velocità di degradazione naturale (chimica, fisica, biologica e fotolitica) e velocità di immissione nell'ambiente (Muir et al., 2006); ii) solubilità nell'acqua e alta mobilità chimica: il bioaccumulo favorisce il superamento dei valori soglia di tossicità anche se esiste un'elevata incertezza sulle reali concentrazioni che inducono proprietà cancerogene in relazione al grado di esposizione, per cui EFSA (European Food Safety Authority) raccomanda il principio di cautela.

Questa rassegna dello stato di avanzamento delle metodologie di analisi dei composti organici clorurati nelle matrici ambientali è finalizzata a definire modelli concettuali di diffusione e studiare il trasferimento dal suolo alla catena trofica, e a stimare i tempi di esposizione delle specie viventi a queste sostanze.

Le principali sorgenti di origine naturale di composti organici clorurati ed in particolare di perclorato, sono i raggi cosmici che interagiscono con l'atmosfera e per attivazione neutronica producono l'isotopo cloro 36 che con le precipitazioni si trasferisce nel suolo e nei corpi idrici superficiali e sotterranei (Lal et al., 1967) e, reagendo con i composti colloidali (composti organici e argille), può accumularsi nel suolo, nella biosfera e negli acquiferi (Dasgupta et al., 2005; Parker et al., 2008).


Svariate sono le sorgenti che introducono perclorati di origine antropica e la principale fonte è da imputare all'uso di fertilizzanti. L'impiego di fertilizzanti che contengono perclorato solubile, a contatto con l'acqua di irrigazione sono una delle principali cause della diffusione nelle matrici ambientali (acqua, suolo e biosfera), che

sono quindi matrici vulnerabili alle potenziali fonti di contaminazione da perclorati. Il perclorato in parte viene bioaccumulato nella biosfera e in parte migra rapidamente nelle acque sotterranee e nella zona insatura (Urbansky, 2000). Ulteriori importanti fonti sono le industrie militari e spaziali (Trumpolt et al.; 2005, Hatzinger et al., 2018) e le fabbriche di esplosivi e propellenti per razzi per usi militari e civili e anche nella produzione di fuochi d'artificio (Cao et al., 2019). La produzione, uso e smaltimento di perclorato di ammonio in propellenti per razzi, esplosivi, fuochi d'artificio e razzi favorisce la dispersione di queste molecole nell'ambiente (Böhlke et al., 2005). Altre sorgenti sono la produzione di dispositivi di gonfiaggio di airbag e ad altri processi industriali. Il perclorato come contaminante ambientale, può anche formarsi durante la degradazione dell'ipoclorito di sodio utilizzato per disinfettare l'acqua e può compromettere l'approvvigionamento idrico se supera i limiti previsti dalla normativa.

Una sorgente di contaminazione ambientale da cloro (Cl) è costituita dalle soluzioni per l'approvvigionamento energetico alternativo alle fonti fossili ed in particolare l'estrazione di idrogeno dall'acqua, essendo una fonte di energia primaria a bassa emissione di GHG (gas ad effetto serra), e, metodo alternativo a minor impatto, per la produzione di energia nucleare. Il ciclo di estrazione dell'idrogeno da centrali nucleari produce come rifiuto il Cl in quanto la separazione dell'idrogeno dall'ossigeno avviene mediante un metodo termochimico in reattori nucleari che si basa sulle reazioni chimiche che riguardano il composto rame-cloro (Cu-Cl). La divisione dell'acqua in idrogeno e ossigeno si basa sulle diverse fasi di sintetizzazione e la prima fase (il letto fluido) del ciclo Cu-Cl consente la produzione di idrogeno (Orhan et al., 2009). Questi reattori stanno contribuendo a incrementare la presenza del radioisotopo ^{36}Cl , per cui questo isotopo radiogenico può essere presente con concentrazioni superiori ai tassi di produzione cosmogenica.

Data la richiesta sempre maggiore di energia con soluzioni a basso costo finanziario e anche ambientale in termini di contributo climalteranti, si mette in luce l'esigenza di analizzare i tenori di fondo del radioisotopo ^{36}Cl e di valutarne gli impatti sulla salute umana alla luce degli incrementi che sono inevitabilmente prevedibili nell'immediato futuro. Negli scenari dello sviluppo tecnologico queste fonti di energia sono considerate indispensabili, in quanto rispondono all'esigenza sempre più pressante di conciliare la necessità produttiva con la necessità di ridurre le emissioni di CO_2 e/o altri gas climalteranti. L'idrogeno, nei prossimi anni, dovrebbe sostituire i prodotti petroliferi per alimentare tutte le forme di trasporto (stradale, marittimo, aereo e ferroviario), per cui è importante comprendere la natura dei rifiuti che questo ciclo di produzione comporta.

Ulteriori valori anomali di isotopi radioattivi del Cl sono collegati agli esperimenti di armi nucleari condotti negli anni 50 (Synal et al., 1990) e dai due drammatici incidenti nucleari di Chernobyl e Fukushima che hanno rilasciato nei corpi idrici e in atmosfera numerosi radionuclidi antropogenici, fra quelli maggiormente analizzati si hanno i due radioisotopi del Cs (^{134}Cs , ^{137}Cs) il radioisotopo dello Sr (^{90}Sr) e dello Iodio (^{131}I),

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	5	42


mentre poche indagini riguardano i radionuclidi a lunga vita, quali ^{129}I ($T_{1/2} = 1,57 \times 10^7$ anni) e ^{36}Cl ($T_{1/2} = 3,01 \times 10^5$ anni) a causa delle difficoltà analitiche e dell'assenza di protocolli di indagine (Heikkilä et al., 2009; Xu et al., 2013; Miyake et al., 2015).

Lavori scientifici segnalano il radioisotopo ^{36}Cl in rifiuti nucleari quali i pellet di combustibile e come uno dei prodotti di irraggiamento dei tubi in zirconio-niobio utilizzati per la loro alta resistenza alla corrosione e alle condizioni di pressione richieste dagli impianti e nel carburante nucleare (Sheppard et al., 1996), ma pochi dati sono disponibili sulla dispersione di questi elementi per le difficoltà precedentemente segnalate. Questi radioisotopi inducono quindi elevati fattori di rischio e se nell'ambiente sono presenti rifiuti nucleari si deve prevedere l'impatto che essi hanno in caso di incidenti, eventi naturali parossistici o attentati terroristici che possono provocare il rilascio di radioisotopi antropogenici fra cui il ^{36}Cl , tenendo conto che la loro assunzione attraverso acqua, frutta e verdura, li fa entrare nella catena trofica, dove, per la bassa velocità dei processi di degradazione naturale, il bio-accumulo si amplifica nella carne e nell'uomo.

Il ciclo del cloro ed in dettaglio la diffusione del radioisotopo ^{36}Cl può essere indagato con rigore se vengono definiti protocolli di campionamento e di analisi delle distribuzioni delle concentrazioni con metodi statistici. In tale ottica questo report fornisce lo stato di avanzamento delle procedure di campionamento, delle metodologie analitiche e modalità di elaborazione dei dati e risponde all'esigenza di definire protocolli di analisi di Clorati e Perclorato (ClO_4^-) per accertare concentrazioni e distribuzione in modo da ridurre i rischi di esposizione per la salute pubblica.

In considerazione della necessità di indagare l'impatto dei prodotti clorurati e della presenza di radioisotopi del cloro nell'ambiente, questo report fornisce in modo dettagliato le metodologie utilizzate per:

(1) campionamento di suolo, acque superficiali e sotterranee. Queste strategie tengono conto del fatto che i composti Clorati e Perclorato (ClO_4^-) derivati da sorgenti naturali ed antropiche, essendo inquinanti idrosolubili, tendono a migrare (essere idrotrasportati) dalla zona non satura alla zona satura dell'acquifero (Backus et al., 2005). Il campionamento dovrà tener conto di fattori climatici ed in particolare del regime pluviometrico, dei tempi e le modalità di trasferimento dei composti Clorati e Perclorato (ClO_4^-) dalla matrice suolo all'acquifero che è fortemente correlata alla struttura, tessitura e composizione dei sedimenti (granulometria, classazione, percentuale di fasi colloidali organiche e inorganiche). Infine per il campionamento delle risorse idriche sotterranee occorrerà tener conto dei principali parametri idrogeologici quali permeabilità, infiltrazione efficace, trasmissività, ma soprattutto delle geometrie delle varie unità idrogeologiche che condizionano il trasporto/propagazione dei Clorati e Perclorato (ClO_4^-) in falda. Il campionamento richiede la formulazione di un modello idrogeologico concettuale che consente di

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	6	42

mettere in relazione le fluttuazioni stagionali delle concentrazioni rilevate con le modalità di ricarica o scambi fra risorse idriche superficiali e sotterranee. Per tale scopo è fondamentale identificare eventuali spartiacque sotterranei e/o eventuali aree di interazione dell'acquifero indagato con eventuali acque fossili che possono risalire per cause tettoniche o lacune stratigrafiche. Oltre ai suddetti fattori naturali si devono definire i contributi antropici che possono modificare i flussi idrici sotterranei;

(2) preparazione dei campioni per eseguire le varie tipologie di analisi (chimica, isotopica di ossigeno e cloro). Con particolare attenzione alle procedure utili ad estrarre, purificare e arricchire il ClO_4^- in base alle varie matrici da analizzare. Le analisi di concertazione negli ultimi anni sono state affiancate da misure delle abbondanze relative degli isotopi stabili del cloro (^{37}Cl e ^{35}Cl) e dell'ossigeno (^{18}O , ^{17}O e ^{16}O) nella molecola ClO_4^- mediante spettrometria di massa IRMS. Queste misure consentono di distinguere il ClO_4^- naturale da fonti sintetiche e tracciare i processi di degradazione e di bioaccumulo;


(3) elaborazione statistica dei dati e modelli concettuali di diffusione.

Questi protocolli sono redatti in accordo con la normativa internazionale e in particolare con le procedure definite da EPA (United States Environmental Protection Agency) e della Comunità Europea che impegnano gli stati membri a regolamentare i programmi di caratterizzazione, le prescrizioni e sanzioni per i prodotti e molecole pericolose per l'ambiente e la salute umana.

L'impatto sulla salute umana della sostanza attiva clorato è stato percepito solo dal 2008, dato che nel 2005 i prodotti clorurati e le concentrazioni di radioisotopi del cloro non erano stati ancora inclusi fra gli inquinanti persistenti ed in particolare non è contemplato nell'allegato I della Direttiva 91/414/CEE recepita in Italia con il Decreto Legislativo 17 marzo 1995, n. 194. (09A06103) (G.U. n.125 del 01-06-2009).

Si deve alla decisione 2008/865/CE della Commissione Europea la revoca delle autorizzazioni per prodotti fitosanitari contenenti clorato. Il clorato come impiego primario in prodotti fitosanitari è una sostanza che si forma anche come sottoprodotto derivante dall'utilizzo di disinfettanti a base di cloro nel trattamento degli alimenti e dell'acqua potabile (York et al., 2003; Kosaka et al., 2007).


Nel periodo compreso fra il 2014 e il 2018 l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha condotto una campagna di indagine dal titolo «Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of chlorate in food», con la quale si è proceduto al monitoraggio del perclorato nella frutta e nella verdura prodotta nell'Unione Europea. I dati pubblicati nell'EFSA Journal 2015;13(6), hanno consentito di stimare l'entità e distribuzione di residui di clorato nel trattamento degli alimenti e dell'acqua potabile, identificando i contesti caratterizzati dalla presenza di residui di clorato con livelli che superano l'LMR di base pari a 0,01 mg/kg. EFSA ha inoltre segnalato che, nonostante l'impiego di buone pratiche agronomiche, i livelli di residui di clorato negli alimenti spesso superano l'LMR vigente con rischi per la

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	7	42

salute pubblica, ed ha stabilito una dose giornaliera tollerabile (DGT) pari a 3 µg/kg di peso corporeo al giorno e una dose acuta di riferimento (DAR) pari a 36 µg/kg di peso corporeo e che lattanti e bambini nella prima infanzia con una lieve o moderata carenza di iodio dei paesi europei spesso superano la DGT.

Gli studi pubblicati in riviste scientifiche hanno inoltre evidenziato che le principali fonti di cloro sono la trasformazione alimentare e il trattamento dell'acqua potabile, per cui nel 2017 gli Stati membri hanno definito il piano d'azione multidisciplinare che prevede a livello dimostrativo azioni e soluzioni di fabbricazione utili a garantire corrette prassi igieniche e quindi basso utilizzo di cloro, azioni di agricoltura intelligente che riducono l'impiego di ammendanti e fertilizzanti. Tutte queste azioni sono utili a ridurre i livelli di clorato nei mangimi, negli alimenti e di conseguenza nella catena trofica.

Nel 2018 EFSA ha rilevato livelli decrescenti di clorurati indotte dalle azioni intraprese con il piano di azione, ed attualmente i livelli massimi di residui di clorato consentiti nei vari prodotti agroalimentari sono definiti dal Regolamento (UE) 2020/749 della Commissione Europea del 4 giugno 2020, che modifica l'allegato III del regolamento (CE) n. 396/2005 del Parlamento europeo e del Consiglio, relativo ai massimi di residui di antiparassitari nei prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale, applicando il principio di garantire livelli più bassi possibili di inquinanti applicando le buone pratiche. Limiti che tengono conto del principio di «tanto basso quanto ragionevolmente ottenibile» (principio ALARA) che per il clorato utilizza il 95° percentile. Si fa presente che i nuovi limiti di Clorati e Perclorato (ClO₄⁻) pubblicati con il decreto del 1 luglio 2020 della Commissione Europea, non sono stati convertiti in decreti legge e norme tecniche attuative dai paesi membri, anche a causa della necessità di utilizzare composti clorurati per sanificare gli ambienti e mitigare la diffusione della pandemia SARS-CoV-2 (acute respiratory syndrome coronavirus 2). La pandemia ha acuitizzato la dispersione di prodotti disinfettanti a base di composti del cloro, in quanto sono in grado di rimanere sulle superfici in modo efficace ad affrontare la contaminazione virale.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	8	42


1. Tipologie di composti che rilasciano cloro libero disponibile al fine della pianificazione delle metodologie di campionamento ed analisi

Nel I volume di questo studio è stato indagato il ciclo di vita del cloro in relazione all'ambiente geochimico, in questo II volume vengono illustrate le metodologie di campionamento del perclorato che sono definite in relazione ai composti chimici presenti e che sono in grado di rilasciare cloro libero disponibile (FAC) nelle risorse idriche superficiali e sotterranee, trasferite al suolo e alla sostanza vegetale e, attraverso la catena trofica, all'uomo.

Concentrazioni anomale di ione perclorato (ClO_4^-) nell'ambiente derivano da:

- 1) fonti naturali: si forma nella stratosfera per reazioni fotochimiche e successivamente raggiunge la superficie terrestre con le precipitazioni o per deposizione secca (Bao e Gu, 2004; Sturchio et al., 2009). Nelle regioni aride indisturbate, ClO_4^- atmosferico rimane in superficie per cui è stato possibile stimarne i contributi naturali. Nelle aree umide le piogge e soprattutto l'irrigazione su larga scala, mobilita il ClO_4^- che tende ad accumularsi nella zona vadosa e nelle acque sotterranee.
- 2) fonti sintetiche: fuochi d'artificio, fiammiferi, airbag, candeggina, razzi di sicurezza, acido perclorico ed erbicidi (Aziz e Hatzinger, 2008). Lo ione perclorato (ClO_4^-) è segnalato nei propellenti solidi a base di perclorato di ammonio (NH_4ClO_4 e KClO_4) per l'industria militare e aerospaziale (es. munizioni subacquee della Marina degli Stati Uniti – Cao et al., 2020), nei fertilizzanti naturali come il nitrato cileno (es. depositi delle "caliche cilene" nel deserto di Atacama), nei prodotti biocidi a base di cloro per la disinfezione dell'acqua, per applicazioni fitosanitarie. Il Dipartimento dell'Agricoltura della California per l'alimentazione e l'agricoltura in un report del 1999 ha rilevato che più di 477.000 tonnellate di nitrato cileno sono state utilizzate in California come fertilizzante tra il 1923 e 1998 (Urbansky et al., 2001).

Queste fonti immettono Cl nell'ambiente, dove le sue concentrazioni si amplificano per gli elevati tassi di bioaccumulo nelle piante (Estrada et al., 2017) che lo catturano e lo accumulano rapidamente come perclorato e lo immagazzinano nelle foglie, le cui analisi hanno indicato valori elevati rispetto ai tenori di fondo naturale (Aziz et al., 2006). Non tutte le piante hanno le stesse capacità di bioaccumulo e la letteratura scientifica mostra come concentrazioni particolarmente elevate sono spesso segnalate nelle verdure a foglia, in particolare la lattuga (Oh et al., 2011; Calderón et al., 2017). L'assunzione di perclorato dall'uomo è infatti attribuito a frutta, verdura e riso (> del 50%) con livelli di esposizione stimati da circa 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$


 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	9	42

(Laparra et al., 2005; Shi et al., 2007; Wang et al., 2009; Kim et al., 2014; Calderón et al., 2017).

I problemi di assunzione di perclorato sono amplificati se riguardano donne nel periodo di allattamento o in stato di gravidanza. È stato, infatti, osservato che durante l'allattamento se vengono assimilati cibi contaminati da clorurati (esposizione attestata con campioni di sangue materno), si ha una amplificazione del rischio per i neonati in quanto con il latte materno assumono elevate concentrazioni di perclorato (Kirk et al., 2003). L'entità del bioaccumulo si evidenzia con l'analisi delle urine dei bambini, mentre per i rischi indotti durante la gravidanza emerge dalle analisi dei referti cordonali. Alcune ricerche hanno messo in evidenza che, in gran parte, in feti e neonati si hanno concentrazioni di perclorato comprese tra 2,82 ng/ml e 36,60 ng/ml, che in considerazione della bassa massa corporea possono far insorgere anomalie nell'assunzione di iodio tiroideo (Domínguez-González et al., 2017).

Per valutare i fattori di rischio di esposizione ci si riferisce alla dose di riferimento (RfD) ng/kg di peso corporeo / giorno definita dalla US Environmental Protection Agency (US EPA) (Srinivasan e Sorial, 2009). L'EFSA sulla base di 11.675 campioni principalmente di prodotti ortofrutticoli e sulla base di dati dalla letteratura relativi ai livelli di perclorato in succhi di frutta, bevande alcoliche, latte vaccino e latte materno analizzati dal gruppo di esperti scientifici CONTAM ha stimato in adulti sani un apporto giornaliero tollerabile di 0,3 µg/kg di peso corporeo al giorno, basato sull'inibizione dell'assunzione di iodio tiroideo di adulti sani esposti al perclorato attraverso assunzione di frutta e verdura.

Per valutare alterazioni dell'assorbimento di iodio da parte della tiroide e quindi le alterazioni delle funzioni metaboliche sono state condotte delle analisi di soggetti accidentalmente esposti a dosi eccessive (Greer et al., 2002), verificando correlazioni con patologie quali ipotiroidismo e problemi metabolici e neurologici in fasce di età vulnerabili come i lattanti (Wang et al., 2011), in quanto il perclorato inibisce la produzione degli ormoni T3 e T4 (Pleus e Corey, 2018) e quindi costituisce un fattore di rischio per la salute umana (Borjan et al., 2011; Tiana et al., 2020). In elevate concentrazioni, oltre la tiroide, colpisce il midollo osseo e il tessuto muscolare. Urbansky (1999) ha evidenziato come l'esposizione al clorato può portare alla formazione di metaemoglobina, emolisi e insufficienza renale. La dose orale di 20 g è letale per clorato di sodio o 230 mg di clorato / kg di peso corporeo (Alfredo et al., 2015). A causa delle prove relativamente recenti della sua tossicità, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha stabilito una concentrazione massima di 700 µg/l di clorato nell'acqua potabile. Ciò ha motivato diverse agenzie ambientali e sanitarie di tutto il mondo ad iniziare a monitorare programmi e studi sulla regolazione del clorato (Alfredo et al., 2015).

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	10	42

2. Composti del cloro per i quali vengono prese in esame le metodologie di analisi

Questa rassegna delle procedure di analisi prevede la raccolta delle metodologie definite per i vari composti del Cl che comprendono il cloro elementare, il biossido di cloro, l'ipoclorito di sodio o di calcio, le clorammine e cloroisocianurati.

In dettaglio si fa presente che l'azione in grado di rilasciare cloro libero disponibile si esplica attraverso le seguenti azioni:

- a) Il biossido di cloro che è un gas di colore verde – giallo, che ossida gli enzimi solfidrilici e gli amminoacidi, produce la clorurazione dell'anello degli amminoacidi causando la perdita del contenuto intracellulare e riduce la capacità di assorbimento dei nutrienti; inibisce la sintesi proteica e riduce l'assorbimento di ossigeno e ossidazione dei prodotti respiratori, diminuendo la produzione di ATP e frammentazione del DNA. È attivo ad alte temperature e pH elevati e viene utilizzato in concentrazioni di 0,2 – 0,8 e producono un residuo che va da 0,1 – 0,3 mg/l. Questo composto è utilizzato per prevenire il rischio microbico per infezione da parte dei seguenti patogeni: i) Enterovirus è un genere della famiglia Picornaviridae, ii) adenovirus (AdV) patogeno virale indice selezionato per essere più persistente alla radiazione UV rispetto agli enterovirus (Hijnen et al., 2006), iii) Campylobacter, iv) Cryptosporidium, v) Giardia. Il biossido di cloro viene utilizzato per l'acqua potabile sicura con l'obiettivo di garantire meno di un'infezione ogni 10.000 persone all'anno (Schijvena et al., 2019). Il biossido di cloro è utilizzato in alternativa al Cloro per la sua maggiore capacità di ossidazione e capacità battericida rispetto al cloro, per migliorare la qualità microbiologica degli effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue e garantire la sicurezza per ortaggi soprattutto nella produzione di verdure a foglia verde. Inoltre il cloro, per la sua alta reattività con la materia organica, può generare sottoprodotti di disinfezione organo-alogenati (es. trihalometani e acidi aloacetici), mentre con l'uso del ClO₂ forma una minore quantità di sottoprodotti organo-alogenati (López-Gálvez et al., 2010; Van Haute et al., 2015; Schijvena et al., 2019), ma produce cloriti (ClO₂⁻) e clorati (ClO₃⁻) nell'acqua trattata.
- b) ipoclorito ClO⁻ è un sale che in acqua si solubilizza generando l'acido ipocloroso (forma dissociata), che è un forte agente ossidante impiegato come igienizzante essendo efficace sugli inquinanti organici, noto come cloro attivo o disponibile (Available Chlorine):



Il rapporto $Cl_2/HClO/ClO^-$ dipende dal pH e dalla temperatura della soluzione acquosa, e in minor misura dalla durezza e dalla presenza di sostanze organiche ed inorganiche nella soluzione. Nel diagramma di fig. 1, tratto dal Report European Chemical Agency – ECHA (2017), sono definiti i campi di stabilità dei composti del cloro a Temperatura ambiente: i) **cloro stabile** a $pH < 4$; ii) **acido ipocloroso** predominante a pH da 4 a 5,5, iii) **anione ipoclorito** predomina a $pH > 10$.

L'acido ipocloroso $HClO$ è un'agente micro biocida molto efficace a pH 6-7.5 in cui prevale, l'acido ipocloroso indissociato che è la forma più attiva per i processi di disinfezione, mentre la forma dissociata del sale ha un'azione microbica più lenta. A pH maggiore a 7,5 la quantità di cloro disponibile come acido ipocloroso diminuisce con l'incrementarsi del pH e il cloro esiste maggiormente nella sua forma meno attiva di ione ipoclorito. Generalmente il pH di soluzioni disinfettanti viene mantenuto tra 6 e 7,5, al fine di assicurare un'adeguata attività microbica, ma anche per salvaguardare eventuali attrezzature che a pH troppo acido potrebbero subire fenomeni di corrosione. Quando il pH scende al di sotto di 4 si forma cloro gassoso altamente irritante per la pelle e le mucose.

L'azione biocida può essere condotta con due modalità: i) ipercolazione shock che consiste nella immissione di cloro (ipoclorito di calcio o di sodio) fino ad ottenere cloro residuo libero pari a 20 mg/l (con tempo di contatto pari a 2 h) o 50 mg/l (per un tempo di contatto pari a 1h), e successivamente si procede ad immettere acqua non contaminata fino a fare rientrare le concentrazioni di Cl nei limiti 0,5 - 1 mg/ previsti dalla normativa, ii) ipercolazione continua che consiste nell'aggiunta di cloro (ipoclorito di calcio o di sodio) fino a mantenere un livello di cloro pari a 1.3 mg/l.

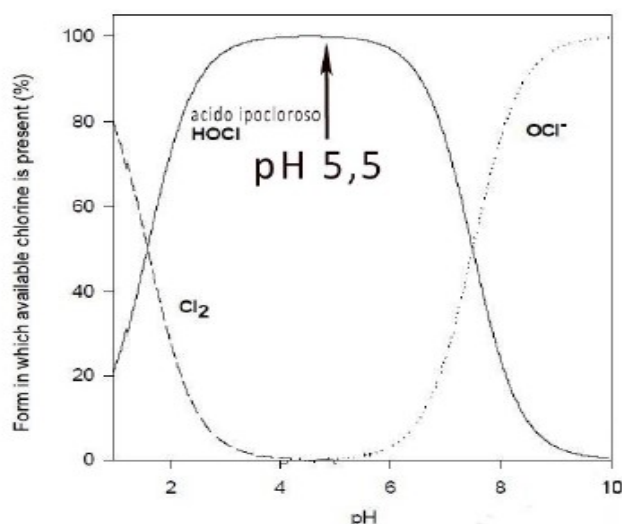



Fig. 1. Diagramma che mostra i campi di stabilità in relazione al pH a temperatura ambiente.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	12	42

c) clorammine, o cloro combinato con ammoniaca (NH_3), usate in alternativa al cloro per la potabilizzazione delle acque. Si hanno tre tipologie di clorammine inorganiche: i) monoclorammina (NH_2Cl stabile a $\text{pH} > 7$) distruggono la pericapside dei virus e agiscono sulle sequenze polipeptidiche dei batteri, ii) diclorammina (NHCl_2 stabile a $3 < \text{pH} < 7$); iii) triclorammina (NCl_3 stabile in condizioni fortemente acide a $\text{pH} < 3$). Per i trialometani (THM) è stata dimostrata una loro implicazione nello sviluppo di tumori nell'uomo, per cui è stato stabilito un limite di legge di $30 \mu\text{g/l}$ per i trialometani totali. In presenza di gruppi amminici (sostanze organiche, quali acidi umici e fulvici) il cloro si complessa con eventuale presenza di sostanze inorganiche e organiche in soluzione acquosa formando le cloroamine, composti stabili, con un più basso potere ossidante rispetto al cloro, capaci di sequestrare il cloro attivo libero. In queste condizioni l'azione disinfettante dell'acido ipocloroso è potenzialmente ridotta.


L'uso diffuso di tutti questi prodotti sta, quindi, producendo una serie di ricadute che consistono in:

- effetti a lungo tempo dovuti all'aumento della tolleranza dei virus ai disinfettanti a base di cloro che è più elevata anche per l'assenza nei virus di un sistema enzimatico metabolico, che di solito rimane il sito bersaglio dei disinfettanti come nel caso di batteri e alla bassa degradazione di questi composti in ambiente riducente come, ad esempio, gli acquiferi;
- tossicità dei prodotti secondari;
- corrosività.

L'immissione di queste sostanze nel suolo è associata alla continua lisciviazione dalla zona insatura, che separa la superficie terrestre dalla falda freatica locale, che sta causando un grave inquinamento delle risorse idriche, e che, in alcuni casi, ha portato alla chiusura di diversi pozzi di acqua potabile da parte dei Comuni che si approvvigionano da acquiferi contaminati.

A seguito delle evidenze scientifiche della tossicità negli ultimi dieci anni sono state emanate raccomandazioni UE di adozione di misure prudenziali e rispetto di soglie di tolleranza. Negli Stati Uniti il limite di perclorato nell'acqua potabile è inferiore a $0,8 \mu\text{g/l}$ e per altri utilizzi è tollerato per concentrazioni comprese in un intervallo tra $0,8$ e $71 \mu\text{g/l}$ (California Department of Public Health, 2007; California Department of Health Services, 2012). L'US Environmental Protection Agency (USEPA) ha stimato che dal 1951 al 1997 negli Stati Uniti il tasso di produzione medio di ClO_4 sintetico è stato circa $7,1 \times 10^6 \text{ kg/anno}$ (Dasgupta et al., 2006; USEPA, 2009).

In Europa il gruppo CONTAM (Contaminanti nella catena alimentare), che fa capo ad EFSA, ha stabilito negli adulti sani che l'esposizione alimentare cronica al perclorato consiste nell'assunzione giornaliera tollerabile di $0,3 \mu\text{g}$ in rapporto ai kg di peso

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	13	42

corporeo, e questa stima si basa sulle misure di inibizione dell'assorbimento di iodio tiroideo. Infatti il sistema ormonale umano è vulnerabile ai Clorati e Perclorati, dato che essi agiscono significativamente sull'ipotalamo-ipofisi-tiroide (HPT), bloccando l'accumulo di ioduro nella tiroide (Chan e Kilby, 2000; Charnley, 2008; Leung et al., 2010; Pleus e Corey, 2018). Le concentrazioni ammesse nelle matrici ambientali e negli alimenti tengono conto dei coefficienti di diffusione dei composti del Cloro nell'acqua e dei suoi tempi di vita, dato che lo ione perclorato (ClO_4^-) in acqua è caratterizzato da una elevata stabilità. Gli elevati tempi di residenza nell'acqua, in aree interessate da dispersioni di inquinanti, favoriscono un graduale incremento delle concentrazioni nel tempo, fino a raggiungere e superare i valori soglia definiti dalla EU Water Framework Directive (WFD), negli alimenti ed in particolare negli ortaggi e per bio-accumulo nei mammiferi e questi incrementi nella catena trofica portano a significativi valori di esposizione per l'uomo. I programmi di bio-monitoraggio del perclorato hanno mostrato onnipresente livelli di fondo di perclorato nella popolazione per diverse fonti di contaminazione. Nel 2010, il Comitato congiunto FAO / OMS per gli additivi alimentari (JECFA) ha osservato concentrazioni medie elevate in verdure ($4,8 < \text{ClO}_4^- < 110 \mu\text{g/kg}$), frutta ($0,5 < \text{ClO}_4^- < 28 \mu\text{g/kg}$), succhi di frutta e verdura ($\text{ClO}_4^- \sim 26 \mu\text{g/kg}$) e alimenti per lattanti ($\text{ClO}_4^- \sim 10 \mu\text{g/kg}$). Nel 2014 il gruppo CONTAM ha raccolto campioni da varie matrici ambientali in siti test di otto Stati membri e, sulla base dei risultati analitici di 11675 campioni, ha riscontrato situazioni critiche per un significativo accumulo dello ione perclorato (ClO_4^-) in vari prodotti ortofrutticoli. Le concentrazioni medie di perclorato più elevate sono state osservate nelle rape ($350 \mu\text{g/kg}$) e nella lattuga, esclusa la lattuga di tipo Iceberg ($120 \mu\text{g/kg}$, UB), mentre per gli altri "Ortaggi" la concentrazione media è risultata inferiore a $70 \mu\text{g/kg}$. Questo bioaccumulo di perclorato negli ortaggi è stato messo in relazione alla composizione e origine di fertilizzanti ed in particolare all'utilizzo di nitrato cilenio. Mentre la "Frutta e prodotti a base di frutta" sono caratterizzati da valori spesso inferiori al limite di rilevamento e raramente superiori a $12 \mu\text{g/kg}$ (EFSA, 2014).

3. Metodi di campionamento delle acque

In questo capitolo viene affrontato il campionamento delle acque superficiali e sotterranee e non dei suoli e della biomassa. Il campionamento delle risorse idriche viene pianificato in base alle seguenti azioni:

- 1) Ricognizione documentale: si avvale dell'individuazione degli stakeholder o soggetti pubblici e privati che detengono informazioni sulle risorse idriche in termini di erogazione del servizio idrico per vari scopi (civile, agricolo,

industriale, ecc...), monitoraggio ambientale (ISPRA e le sue Agenzie Arpa, USL per acquisire dati degli archivi storici, UNMIG, Autorità di Bacino, Enti territoriali quali Comuni, Regioni, Aziende Municipalizzate, Acquedotti, Consorzi di Bonifica, Demanio, Consorzi di aree artigianali ed industriali, singoli cittadini, ecc...). La raccolta e gestione dei dati in Italia è regolamentata dal D. Lgs. 195 (2005) che recepisce la Direttiva 2003/4/CE sull'obbligo della "diffusione dell'informazioni ambientali" detenute dalle autorità pubbliche. Questa fase conoscitiva è finalizzata a costruire, a scala di bacino, un preliminare bilancio idrico e se i dati sono sufficienti il modello concettuale idrogeologico, il modello di ricarica e individuare una rete di potenziali punti di prelievo delle risorse idriche significativi e rappresentativi delle condizioni idrogeologiche, antropiche, di inquinamento. La rete di monitoraggio si avvarrà, ove possibile, dei punti di prelievo esistenti nell'area di indagine, e nel caso di aree prive di dati, stazioni di monitoraggio o pozzi si provvederà alla implementazione con la realizzazione di nuovi pozzi di monitoraggio e l'installazione di sonde multiparametriche e campionatori automatici. Le documentazioni pregresse disponibili che saranno raccolte riguardano prioritariamente i seguenti dati: i) cartografici e mappe tematiche, ii) monitoraggio della subsidenza, iii) studi sulle dinamiche fluviali (portate, variazioni del livello idrometrico, elementi morfologici del sistema fluviale e ricadute sull'assetto idrogeologico connesse all'evoluzione nel tempo della granulometria, classazione, struttura e tessitura dei sedimenti immagazzinati nelle morfostrutture del bacino idrografico; iv) stato chimico delle acque superficiali e sotterranee, e marker geochimici caratteristici dell'area indagata; v) impronta isotopica per gli elementi leggeri; vi) indagini geofisiche (sismiche e geoelettriche) o misure di parametri specifici quali indagini geoelettriche e/o movimenti verticali del livello del suolo oggi possibili mediante rilevamento satellitare.

- 2) Caratterizzazione del sistema acquifero mediante acquisizione dei parametri idrogeologici e chimico-fisici attraverso sonde multiparametriche. Il prelievo dei campioni da sottoporre ad analisi viene pianificato con un preliminare rilevamento delle variazioni dei parametri chimico-fisici attraverso sonde multiparametriche. La restituzione dei dati chimico-fisici in profili e mappe tematiche, consente di pianificare il numero e profondità dei prelievi, eseguiti con appositi campionatori sia in superficie che alle varie profondità. Le eventuali stratificazioni del chimismo dell'acqua vengono individuate con le misure dei parametri chimico fisici o profilo di Conducibilità Elettrica, torbidità, temperatura, pH e ossigeno disciolto. Nei pozzi le variazioni di chimismo spesso caratterizzano i settori in cui si hanno filtri finestre collocati alle profondità dei corpi acquiferi identificati durante la perforazione, per cui se in condizioni statiche sono presenti


repentine variazioni del chimismo si possono identificare le profondità di pescaggio (multifiltro). Questi profili sono utili a caratterizzare pozzi per i quali non è nota la stratigrafia. I parametri e le condizioni chimico-fisiche che caratterizzano il corpo idrico svolgono un ruolo determinante per definire il comportamento degli elementi e dei composti chimici presenti in soluzione e in sospensione. Per cui è possibile verificare se l'eventuale presenza di composti organici clorurati riguarda solo un corpo acquifero o interessa anche eventuali corpi acquiferi più profondi. Le variazioni di chimismo riguardano soprattutto acquiferi soggetti a intrusione del cuneo salino, bacini idrici palustri e/o lagunari dove si possono realizzare condizioni anossiche nel fondale, presenza di cuneo salino, e accumulo di gas endogeni (Van Stempvoort et al., 2019; 2020). Contestualmente all'esecuzione in campo delle misure dei parametri chimico-fisici con sonde multiparametriche, l'analisi in situ dei composti chimici instabili che tendono a precipitare come, ad esempio, avviene per i carbonati. Essi sono infatti soggetti a reazioni che ne modificano stato fisico e concentrazione. In molti casi occorre estrarre dall'acqua il materiale in sospensione o componente solida trattenuta da filtri di porosità pari a 0.45 μm e il filtraggio può essere realizzato in campo o in laboratorio, per cui il campione consiste delle due liquore: solido su filtro e soluzione che contiene il materiale disciolto e per convenzione si intende liquido tutto ciò che è in grado di passare attraverso una membrana filtrante di porosità pari a 0.45 μm .

- 3) Definizione delle stazioni di monitoraggio per procedere ad un campionamento statisticamente significativo, selezione che si basa sulla armonizzazione dei dati e creazione di un database georeferenziato, che oltre a poter essere interrogato consente di elaborare i dati in carte tematiche e con programmi statistici e di big Data, al fine di definire modelli concettuali 4D che forniscono l'assetto spazio-temporale del sistema acquifero e le risposte alle pressioni naturali-climatiche e antropiche. L'analisi dei dati consentirà di definire un efficace piano di monitoraggio e soprattutto di individuare eventuali condizioni di contaminazione e di vulnerabilità nel circuito idrico. L'elaborazione dei dati della caratterizzazione consentirà di progettare un'adeguata rete di monitoraggio, riducendo i costi e i tempi di acquisizione dei campioni e delle misure di parametri chimico-fisici in situ.
- 4) Analisi climatica che tiene conto della distribuzione stagionale delle temperature e soprattutto del regime pluviometrico. Gli annali idrologici consentono di accedere ai dati relativi la termometria, pluviometria, entità e distribuzione degli afflussi meteorici registrati per ogni singola stazione, idrometria, portate e bilanci idrologici, freaticimetria, trasporto torbido, indagini studi ideologici ed eventi di carattere eccezionale. L'elaborazione dei dati a scala locale consentirà di pianificare le frequenze di

campionamento utili a minimizzare i costi senza rinunciare ad accuratezza e precisione nelle attività di caratterizzazione e/o monitoraggio dei corpi idrici superficiali e sotterranei. In base alla analisi dei dati ed in particolare agli andamenti delle piogge calcolate a un'ora, tre ore e giornaliere si individueranno i macroperiodi climatici sulla base dei quali si deciderà se si deve eseguire un campionamento trimestrale, quadrimestrale o semestrale. Le tempistiche sono richieste per correlare le variazioni composizionali osservate alla stagionalità, per verificare gli impatti delle modalità di uso delle risorse ed uso del suolo, e per stimare le pressioni indotte in termini di qualità e quantità dai prelievi effettuati per fini idropotabili, irrigui e/o industriali.

Acquisiti i dati pregressi, in base alla disponibilità delle informazioni, all'assetto organografico e geologico-stratigrafico e strutturale si procede a selezionare il metodo di campionamento (distribuzione spaziale e temporale della rete di prelievo), che si ricorda deve tener conto prioritariamente della matrice ambientale che si desidera indagare. Vengono di seguito descritte le strategie generalmente adottate nei piani di campionamento, con indicazioni delle motivazioni della scelta sulla idoneità di ogni singolo metodo a descrivere le relazioni fra percentuale di perclorato rilevato ed eventuale modello 4D (spazio-temporale) delle caratteristiche chimico-fisiche e chimiche delle risorse idriche indotte da dinamiche stagionali, dall'assetto idrogeochimico ed idrogeologico dei corpi idrici in relazione alle pressioni naturali ed antropiche:

- strategie di campionamento casuali o random. Questa tipologia di indagine viene eseguita in aree in cui non sono disponibili dati sufficienti a produrre un modello concettuale preliminare geologico- idrogeologico. Questa metodologia, molte volte, è resa necessaria per la bassa disponibilità di pozzi e sorgenti che consentono di indagare il sistema multiacquifero, per cui occorre campionare in base alla disponibilità dei punti di prelievo. Se non si hanno sufficienti informazioni con cui pianificare la campionatura occorre procedere con un approccio preliminare conoscitivo che sarà fondamentale per procedere con una strategia mirata di campionamento e, se necessario, all'incremento dei pozzi utili al monitoraggio. In passato questo metodo veniva applicato in aree caratterizzate da litologie e morfologie omogenee come, ad esempio, pianure alluvionali, ma l'esperienza ha messo in evidenza i limiti dei metodi casuali in quanto i bacini di sedimentazione hanno delle eterogeneità strutturali e tessiturali che inducono locali variazioni che si riflettono sulla permeabilità, sull'efficacia della ricarica e sull'infiltrazione efficace. Dopo la campionatura casuale di norma si procede alla costruzione del modello idrogeologico preliminare con cui si può procedere per poi progettare le strategie di caratterizzazione e campionamento. L'approccio mirato è fondamentale nell'analisi dei plume di inquinamento e per la costruzione dei modelli predittivi di diffusione di specifici inquinanti.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	17	42

- strategie di campionamento stratificate. Metodo utilizzato per aree che non dispongono di un modello concettuale del sistema acquifero. Si applica quando l'area da indagare è estesa o se il numero di pozzi disponibili è elevato e quindi, per procedere con una campionatura che abbia significato statistico, si suddivide il territorio secondo una griglia che consente di procedere con un campionamento casuale ma secondo uno schema statistico.

- strategie di campionamento sistematiche. Metodo di caratterizzazione del sistema multiacquifero e formulazione del modello idrogeologico concettuale. Il prelievo dei campioni avviene sulla base della selezione statistica dei pozzi, che consente di ottimizzare la distribuzione spaziale, in seguito il prelievo viene ripetuto in relazione alla stagionalità. Questo tipo di approccio ottimizza la distribuzione del campionamento, in relazione alla disponibilità di pozzi, in modo da garantire l'uniformità necessaria alla trattazione geostatistica dei dati. Questo metodo comporta costi elevati perché richiede numerose analisi per l'approccio statistico.


- strategie di campionamento preferenziali o ragionate. Metodo che si avvale del modello idrogeologico concettuale per cui è possibile ridurre il numero di campioni e di conseguenza i costi di indagine. Viene adottato per costruire la rete di monitoraggio i cui obiettivi principali sono la definizione un quadro conoscitivo adeguato ed accertare l'evoluzione dello stato qualitativo dei corpi idrici sotterranei in relazione alla ricarica o rapporti con le risorse idriche superficiali, allo sfruttamento della risorsa e alla sua evoluzione nel tempo, rilevare la presenza e gli eventuali effetti derivanti dall'uso di perclorato.

Definite le strategie di campionamento si procede con le attività in campo e di laboratorio che prevedono misure dei principali parametri chimico - fisici e campionamento. L'elaborazione di tutti i dati saranno alla base della progettazione e pianificazione degli eventuali interventi di tutela della risorsa e, in caso di elevate pressioni, di definire il piano di mitigazione degli impatti a contrastare la perdita qualitativa e quantitativa della risorsa. Questi piani sono fondamentali per l'uso sostenibile rispettoso dei tempi e capacità di ricarica e quindi vengono utilizzati per pianificare e regolamentare modalità e frequenza di utilizzo delle risorse.

3.1. Metodi di campionamento dell'acqua

I criteri delle tempistiche e punti di prelievo per il campionamento delle acque sono diversificati in base ai seguenti criteri:

i) corpo idrico: le acque superficiali devono essere campionate trimestralmente per un periodo di un anno; mentre le sorgenti di acque sotterranee dovevano essere campionate semestralmente per un periodo di un anno (Brandhuber et al., 2009).

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	18	42

ii) dimensioni del bacino o sub bacino idrografico prendendo in considerazione due principali questioni: - numero dei dati e stima dei costi.


In base alle indicazioni delle linee guida ISPRA SNPA/13 (2018) (Felluga et al., 2018) la raccolta dell'aliquota di campione da trasferire al laboratorio viene eseguita con tecniche di campionamento che garantiscono rappresentatività rispetto al contesto da indagare. Si adottano, infatti, misure utili a eliminare o ridurre le eventuali fonti di contaminazione del campione (contenitori idonei ad evitare fenomeni di adsorbimento o rilascio di analiti, perdita dei gas disciolti, ecc...). Ogni prelievo viene preceduto dalla pulizia dei campionatori ed avvinamento dei contenitori e ripetizione delle misure eseguite con le sonde, alternate a misure eseguite su campioni di bianco.

In ogni punto di prelievo si deve indicare se il prelievo è relativo ad un solo campione oppure vari campioni eseguiti a diversa profondità dalla superficie. Per correlare le concentrazioni degli eventuali composti organici clorurati con le caratteristiche idrogeologiche e geochimiche delle acque il prelievo deve riguardare non solo la aliquota da destinare alla analisi dei composti organici clorurati ma anche alla caratterizzazione geochimica dei campioni. In alcuni casi, se è presente un plume di inquinamento, si ha la necessità di eseguire dei profili del chimismo. Questi profili sono consigliati nel caso di corpi idrici interessati da variazioni verticali o orizzontali dei parametri idrogeologici che hanno ricadute sul chimismo.

Il volume di acqua utile su cui eseguire le analisi dipende dal piano analitico la cui progettazione è stata precedentemente descritta. Le analisi dei composti organici clorurati sono affiancate da indagini microbiologiche volte ad accertare la loro capacità antibatterica e antivirale, per cui i recipienti devono essere sterili, mentre per le analisi chimiche si procede all'avvinamento, e tutti i contenitori devono avere doppio tappo e perfetta tenuta e per evitare interazioni con l'atmosfera che possono consentire l'ossidazione, la perdita dei gas in soluzione nell'acqua, perdita di campione durante il trasporto.

Il campionamento da pozzi può essere effettuato in pozzi freatici o artesiani e può avvenire nelle seguenti condizioni:


- 1) **dinamico o in flusso**, condizioni tipiche dei pozzi artesiani, mentre si adottano su pozzi freatici quando il prelievo avviene in condizioni di emungimento tramite pompa, subito dopo lo spurgo. Queste condizioni producono un mescolamento delle acque per cui non si apprezza l'eventuale variazione dei parametri chimico – fisici con la profondità. Per evitare l'intorbidamento dell'acqua il prelievo deve avvenire in condizioni di Low Flow (a basso flusso);
- 2) **statico**, tipico di acquiferi freatici e si attua, quando il prelievo è eseguito in un pozzo/piezometro non in emungimento, mediante metodo manuale (es. bailer) oppure per rilevare la presenza di sostanze volatili in soluzione

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	19	42

nell'acqua che a causa della turbolenza possono essere rilasciate per fenomeni di strappaggio delle sostanze volatili. Ove possibile si esegue prima del prelievo lo spurgo e si aspetta il ripristino delle condizioni statiche. Si adotta in acquiferi interessati da intrusione del cuneo salino o da interazione con acque superficiali. Consente di rilevare l'eventuale stratificazione della falda, o per rilevare inquinanti soggetti a segregazione gravitativa.

Per ottimizzare le attività di raccolta dati e censimento dei punti di campionamento si procede con la compilazione di schede classificative, nelle quali vengono inseriti tutti i dati utili. Le schede vengono redatte con modalità che consentono la lettura digitale e quindi la loro archiviazione in data-base georeferenziati che vengono aggiornati con i dati acquisiti durante i campionamenti previsti.

Nella scheda, identificata con una sigla, vengono raccolte informazioni che riguardano la data ed ora di prelievo, il nome dell'operatore e la frequenza di monitoraggio se si tratta di campagne pianificate in relazione al ciclo stagionale, la localizzazione (coordinate geografiche, altitudine, indirizzo con numero civico, immagine estratta da google maps con posizionato il punto di prelievo, foto), le caratteristiche costruttive del pozzo (diametro, anno di costruzione, presenza di motore) e il suo stato di attività (attivo o fermo), foto documentali. Nelle schede occorre inoltre indicare la tipologia di campionamento (manuale, automatico), la profondità del livello piezometrico, le portate per le sorgenti o emergenze naturali delle acque sotterranee, per i pozzi la profondità di prelievo se "campionamento istantaneo" con raccolta di un unico campione da un'unica profondità dal livello piezometrico indicare la quota e o se si procede ad intervalli descrivere le quote. Importanti sono i dati stratigrafici, numero dei filtri, uso dell'acqua prelevata e, se riguarda un appezzamento di terreno agricolo, le tipologie di irrigazione, le colture praticate e avvicendamenti. In aggiunta, la tipologia di bottiglie e contenitori con dettaglio sulle loro chiusure e gli scopi della analisi (es. se si vogliono analizzare anche i gas disciolti occorre utilizzare contenitori idonei), indicare e descrivere l'impiego di eventuali reagenti stabilizzanti e la quantità aggiunta, i parametri chimico fisici da analizzare in campo, modalità di trasporto e conservazione campioni (se trasportati in frigo o mantenuti a temperatura con ghiaccio sintetico). Secondo le procedure ISPRA i campioni devono essere conservati ad una temperatura inferiore a 10 °C, nell'intervallo compreso tra 2 e 8 °C, per cui è opportuno trasportare il campione in un frigo portatile corredato da termocoppie che registrano la temperatura; ma nella prassi si utilizzano contenitori termoisolanti evitando comunque il congelamento del campione (ad eccezione di campioni in cui sono da ricercare virus). Se le condizioni logistiche non lo consentano, i protocolli raccomandano di mantenere i campioni a temperature inferiori a quella rilevata durante il prelievo, ma questo non è sempre possibile come nel caso di acque termali la cui temperatura è molto superiore ai 10 °C, per cui viene considerato idoneo il

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	20	42

trasporto ad una temperatura inferiore a quella posseduta dai campioni all'origine, a condizione che durante il trasporto siano stati adottati sistemi di abbattimento della temperatura, come ad esempio l'inserimento di refrigeranti nei contenitori di trasporto. Nella scheda devono essere infine riportati i parametri che saranno analizzati in laboratorio con indicati per ogni parametro i limiti definiti dal D. Lgs. 152/99, schede redatte in modalità digitale per essere riaperte ed indagate con l'inserimento dei parametri ottenuti con le analisi, e di conseguenza utilizzabili per eventuali elaborazioni statistiche.

I suddetti dati chimico-fisici rilevati al momento del campionamento sono fondamentali in quanto da essi dipende il rapporto di $Cl_2/HClO/ClO^-$.

I dati rilevati vengono quindi elaborati con metodi geostatistici che li mettono in relazione alla stagionalità ed in particolare all'andamento delle precipitazioni e delle temperature, alla ricarica naturale ed artificiale ed entità dei prelievi che forniscono le seguenti mappe tematiche:

- morfologia della superficie piezometrica e monitoraggio delle escursioni piezometriche;
- variazioni delle direzioni di flusso;
- variazioni delle portate delle sorgenti o emergenze naturali delle acque sotterranee;
- variazioni dello stato chimico;
- movimenti verticali del livello del suolo connesse all'estrazione di acqua e/o metano dal sottosuolo.


Il piano di caratterizzazione riguarda ogni singolo acquifero e le concentrazioni dei composti organici clorurati vengono messe in relazione con potenzialità, produttività, grado di sfruttamento e capacità di ricarica naturale ed artificiale. In contesti caratterizzati da elevato solido sospeso il protocollo di analisi può prevedere il filtraggio, che dovrebbe essere effettuato in campo o, se i tempi di trasporto sono brevi, in laboratorio. Se il grado di torbidità del campione è elevato il solido sospeso decantando può adsorbire i composti organici clorurati, per cui è consigliato procedere con il filtraggio in situ utilizzando una siringa con apposito filtro.

3.2. *Contenitori per la conservazione dei campioni di acqua*

La capacità dei contenitori di plastica e/o bottiglie monouso in materiale plastico è generalmente compresa fra 250 e 500 ml. Alcune analisi, quali ad esempio le isotopiche, prevedono arricchimenti per evaporazione o le analisi biologiche prevedono arricchimenti in situ, per cui servono significativi volumi ed i contenitori

possono essere anche > di 2 litri. Generalmente i barattoli in polietilene a bassi costi, hanno doppio tappo e sono sterili e resistenti alle variazioni termiche. Le acque destinate al consumo umano sono spesso disinfettate con sostanze a base di cloro che sono l'oggetto di questa analisi. Il rapporto ISTISAN 07/5 descrive le caratteristiche dei campionatori e, in base a quanto riportato nel suddetto rapporto nel caso dei prelievi effettuati per l'analisi di acque destinate al consumo umano da rubinetti, dato che è necessario accertare la presenza di patogeni, è prassi prima del campionamento usare detergenti o agenti disinfettanti per eliminare sostanze che possono avere influenza sui risultati dell'analisi microbiologica quali incrostazioni, polvere, mucillagini, sostanze grasse. Nel nostro caso, essendo il focus l'analisi dei composti clorurati, se lo studio è rivolto ad indagare gli impatti sulla biodiversità occorre prelevare più campioni e quello destinato alla determinazione di composti organici clorurati deve essere prelevato prima che si proceda all'impiego di detergenti che possono contenere sostanze clorate. In dettaglio il prelievo riguarda:

- 1) un campione destinato all'analisi dei composti clorurati prelevato prima di disinfettare il punto di prelievo per indagare i composti organici clorurati e nel caso di presenza di alghe e polvere procedere alla rimozione dei potenziali contaminanti mediante abrasione fisica e lavaggio con sola acqua, se il film vegetale è consistente solo su rubinetti metallici si può prevedere il flambaggio del rubinetto, che, utilizza in fiamma (gas propano o butano) per eliminare i prodotti di degrado e la raccolta del campione avviene dopo avere fatto scorrere dal rubinetto l'acqua per 1-3 minuti;
- 2) un campione destinato all'analisi della biodiversità dopo aver lavato il rubinetto con una soluzione disinfettante, lasciata agire per 2-3 minuti. Per assicurarsi che non ci siano più residui di disinfettante che possono compromettere la componente biologica del campione, prima del prelievo occorre fare scorrere l'acqua per un tempo sufficiente ad eliminare i contaminanti prima della raccolta del campione. Eventuali depositi di grasso devono essere rimossi strofinando con 2-propanolo. Per garantire la conservazione della componente biologica, nell'acqua raccolta nei barattoli o bottiglie viene di norma addizionata una soluzione al 10% di sodio tiosolfato nella quantità di 0,1 mL per ogni 100 mL di capacità della bottiglia in grado di neutralizzare fino a 5 mg/L di cloro residuo libero e combinato. In commercio sono disponibili bottiglie sterili già contenenti il sodio tiosolfato in concentrazione idonea per cui non si deve fare avvinamento per il prelievo per analisi microbiologiche. Il risciacquo espone i recipienti a possibili contaminazioni ed asporterebbe il sodio tiosolfato. Se i campioni sono destinati all'esecuzione di indagini epidemiologiche il collo al suo interno non deve essere pulito. Per la pulizia deve essere eseguita una disinfezione con una soluzione di sodio ipoclorito o analoghi disinfettanti: possono essere utilizzate soluzioni al

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	22	42


10% di sodio ipoclorito commerciale o di sodio dicloroisocianurato. Le soluzioni vanno utilizzate dagli operatori con particolari cautele poiché a contatto con la pelle hanno effetto corrosivo;

- 3) un campione per analizzare gas in soluzione nell'acqua e in tal caso si utilizzano bailer di polietilene.

All'atto del prelievo, occorre aprire la bottiglia sterile avendo cura di non toccare la parte interna del tappo che andrà a contatto con il campione prelevato, né l'interno del collo della bottiglia, e provvedere all'immediata chiusura della stessa subito dopo il prelievo, avendo cura di riempirla completamente al fine di evitare il degassamento e lo scambio con l'atmosfera. Anche le apparecchiature eventualmente necessarie per il campionamento devono risultare sterili anche allo scopo di evitare fenomeni di contaminazione crociata. Se il prelievo viene effettuato per immersione, la bottiglia o il contenitore devono essere sterilizzati avvolti in fogli protettivi. All'atto del prelievo, dopo avere liberato dall'involucro la bottiglia, la superficie esterna che entrerà in contatto con il campione non deve mai essere toccata con le mani, bensì la bottiglia deve essere afferrata con una pinza sterile o con altro analogo idoneo sistema. L'apparecchiatura più semplice per lo svolgimento del campionamento istantaneo a profondità predeterminata è rappresentata da flaconi zavorrati che, immersi chiusi nella massa di acqua, si aprono a comando alla profondità prestabilita. Il campione prelevato deve essere accompagnato da tutte le indicazioni necessarie alla sua identificazione, quali la data e l'ora del campionamento, il tipo di acqua, la precisa annotazione del punto in cui è stato effettuato il prelievo e devono altresì essere trasmesse, con il campione, tutte le indicazioni concernenti le eventuali determinazioni effettuate in loco e qualunque altra osservazione possa risultare utile nella interpretazione dei risultati di laboratorio. A parte ogni esigenza di natura giuridica, che può prevedere precise modalità di identificazione del campione, è comunque necessario che il campione venga contrassegnato sia con il codice numerico, sia con l'indicazione in chiaro del punto di campionamento.

Per l'analisi di sostanze e molecole fotosensibili occorre mantenere i campioni perfettamente al buio, questo ad esempio riguarda l'uso di sostanze fluorescenti come traccianti utilizzati per indagare i tempi di ricarica o diffusione di plume di inquinamento. Infine per analizzare i gas disciolti in acqua si deve evitare il gorgoglio, e si utilizzano portacampioni di vetro a doppio rubinetto, oppure portacampioni in metallo dotati di valvola a tenuta all'interno dei quali è stato fatto il vuoto per cui l'acqua contenente i gas viene aspirata e poi mediante la valvola può essere prelevato il gas mantenuto in soluzione. Altro metodo è immergere un contenitore di vetro nell'acqua evitando il gorgoglio, riempiendo fino al collo il contenitore che viene tappato con tappi da fiala con copritappo a tenuta.

Per quanto possibile, si devono quindi limitare alterazioni dell'aliquota ridotta di acqua mantenuta in un contenitore chiuso che possono avere origine dalla

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	23	42


condizione di spazio confinato in cui si ritrovano e anche da fattori fisico-chimicobiologici (composizione chimica dell'acqua, pH, azoto proteico, qualità e quantità della flora batterica presente, fenomeni di fagocitosi, ecc.) e dai tempi lunghi e degassamento indotto dalla eccessive vibrazioni durante il trasporto (Rapporto ISTISAN 07/5).

Se si vuole analizzare una soluzione in cui sono disperse nano-plastiche o composti organici fotosensibili, il campione deve essere protetto dalla luce (ultravioletta e visibile) e dalle alte temperature e deve essere trasportato in laboratorio in idonee condizioni igieniche.

Nel caso di acque destinate al consumo umano, se contestualmente alla analisi dei composti organici clorurati si eseguono indagini microbiologiche per cui il campione deve essere analizzato per la componente biologica entro le 24 ore dal prelievo. Quando ciò non sia possibile, almeno per alcune, sarebbe opportuno utilizzare idonei sistemi analitici portatili o laboratori mobili. Prelievo e conservazione del campione Il prelievo delle risorse idriche si cura dovrà essere prestata per eliminare o ridurre al minimo qualsiasi contaminazione indotta dalle apparecchiature di prelievo e di custodia del campione. Deve essere quindi attentamente valutata la capacità di assorbire o rilasciare analiti da parte delle diverse componenti del sistema di campionamento (tubi, attrezzi, contenitori ecc.); pertanto è fondamentale prevedere, nello schema di campionamento, una idonea procedura di decontaminazione delle apparecchiature.

4. Metodi di campionamento dei suoli

Campioni di suolo devono essere raccolti attraverso una trivella manuale a tre campioni a diverse profondità in funzione della profondità degli apparati radicali delle specie vegetali che si vogliono indagare (Seyfferth et al., 2008). Ogni singolo campione viene quartato per ottenere due aliquote rappresentative, la prima aliquota viene setacciata per eliminare i frammenti litici delle ghiaie (< 2,0 mm) che non dovrebbero contenere cloro biodisponibile. I frammenti litici vengono conservati per eseguire l'analisi del ³⁶Cl cosmogenico, mentre la seconda aliquota viene utilizzata per l'analisi del campione tal quale. Tutti i campioni sono conservati in sacche di polietilene a 4 °C per evitare alterazioni e/o ossidazioni che ne possono compromettere l'analisi. Si ricorda che eventuali clasti di carbonati possono contenere il ³⁶Cl cosmogenico per cui vengono estratti ed analizzati a parte, in quanto la concentrazione di cloro rilevato è di origine naturale. Per avere un campione statistico per ogni campo si procede al prelievo di più campioni (almeno 3) prelevati in diversi settori, i campioni vengono miscelati per ottenere una miscela

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	24	42

rappresentativa. Successivamente dal campione viene prelevato il campione da sottoporre all'analisi mediante quartatore automatico. Ogni campione viene quindi sottoposto a test di cessione in modo da estrarre i composti solubili di perclorato.


5. Metodi di campionamento dei fertilizzanti

Si esegue una analisi dei fertilizzanti utilizzati nell'area di interesse ed ogni tipologia viene indagata, anche in questo caso, prelevando campioni da sacchi diversi e mescolandoli per poi estrarre, mediante quartatura, il campione da analizzare. Di solito si esegue una replica della campionatura per validare il dato ottenuto. I campioni sono conservati in sacche di polietilene a 4 °C per evitare alterazioni e/o ossidazioni che ne possono compromettere l'analisi.

6. Metodi di campionamento di frutta e verdura

Frutta e verdura vengono raccolte dalle piante avendo cura di prelevare per la frutta anche le foglie, mentre per la verdura si procede alla raccolta anche dell'apparato radicale che sarà analizzato separatamente dal resto della pianta. Per ogni punto di indagine si esegue il prelievo contestualmente del prodotto agricolo da indagare, il suolo e l'apparato radicale della pianta e l'acqua di irrigazione e/o l'acqua epidermica mediante pozzi piezometrici che vengono installati per consentire il prelievo dell'acqua.

La frutta e verdura vengono liofilizzate ed omogeneizzate, fortificate con una miscela di standard interno contenente Br 18 O 3 (98%) e mescolate con 4 mL di acido acetico (1%), vortexate e portate a un volume finale di 10 mL con acetonitrile (ACN). La soluzione viene centrifugata e l'estratto trasferito in un'altra provetta di polipropilene. Al residuo viene aggiunto 1 mL di metanolo. L'estratto viene passato attraverso una cartuccia Envi-carb preconditionata con 3 mL di ACN e acido acetico all'1% (Water, Milford, MA, USA). Quindi 1 mL dell'eluente viene filtrato utilizzando un filtro per siringa in nylon da 0,20 µm per essere analizzato mediante HPLC-MS / MS.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	25	42

7. Metodologie analitiche

Diversi approcci analitici sono stati sviluppati per determinare tracce di perclorato in campioni di acqua e in questo report vengono messe a confronto le seguenti metodologie sviluppate e standardizzate dalla US EPA:

- US EPA 314.0 metodo di iniezione diretta con o senza precedente trattamento del campione di eliminazione della matrice off-line per determinazioni di perclorato;
- US EPA metodo 331.0: cromatografia ionica con ionizzazione / massa elettrospray;
- US EPA 332.0: cromatografia liquida ad alte prestazioni con ionizzazione elettrospray / spettrometria di massa;
- US EPA 6850: cromatografia liquida ad alte prestazioni con ionizzazione a elettrospray / spettrometria di massa;
- US EPA 6860: cromatografia ionica con elettrospray ionizzazione / spettrometria di massa, anche utilizzando la spettrometria di massa per ClO_4^- il rilevamento, inoltre, non può misurare le abbondanze isotopiche relative alla sensibilità e alla precisione richiesto per analisi forensi. Un riassunto di questi e altri metodi analitici per ClO_4^- è fornito in USEPA (2009).


L'acqua utilizzata per preparare le soluzioni campione e le soluzioni standard e calibrazione deve ripondere ai requisiti della ISO 3696.

7.1. Estrazione del campione

Dai campioni prelevati e trasferiti in laboratorio, si procede all'estrazione del perclorato, essi possono essere campioni di suolo, di acqua, fertilizzanti, campioni vegetali, ecc. seguendo con lievi modifiche le procedure definite da Calderon et al. (2020).

Per i campioni d'acqua l'estrazione avviene mediante cromatografia (vedi capitolo dedicato alle metodologie di analisi cromatografica).

Per i campioni di suolo e fertilizzanti si procede sul campione setacciato ($\phi < 1\text{mm}$) all'esecuzione di test di cessione e successivamente sul campione di soluto ottenuto con la cessione si procede all'estrazione delle molecole da analizzare mediante cromatografia. Mentre per i campioni dei frammenti litici delle ghiaie estratte per setacciatura dai campioni di suolo, sedimenti e fertilizzanti e anche sui campioni tal quali si procede alla frantumazione in mortaio a ganasce e successiva macinazione

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	26	42

in mortaio di agata fino ad ottenere un campione con $\phi < 1$ mm. Il campione così ottenuto potrà essere analizzato direttamente se solubilizzato mediante attacco acido o potrà essere sottoposto a batch test per estrarre le componenti solubili fra cui i composti organici clorurati.

Per i campioni di prodotti vegetali e frutta occorre procedere alla solubilizzazione del campione e successiva separazione cromatografica.

7.2. Test di cessione o batch test

Questi test si basano sul rilascio di componenti chimiche contenute nei campioni a seguito di interazione acqua solido. Questi meccanismi vengono distinti in:

- Rilascio potenziale: in base al tempo di interazione del campione solido con acqua distillata elementi e molecole vanno in soluzione la frazione disponibile alla lisciviazione;
- Solubilità: minerali solubili si sciolgono in acqua e le dinamiche di solubilizzazione come la natura dei composti è regolata da fattori che influenzano la lisciviazione (pH, potenziale redox, anfoterismo, temperatura).

Per simulare la diffusione dei composti organici clorurati dalle matrici campionate (sedimento, suolo, fertilizzanti, ecc.) vengono eseguite prove di rilascio per dilavamento “Wash Out”, che prevedono il contatto di una aliquota di campione con l’acqua. Questo simula l’interazione in ambiente naturale con l’acqua meteorica, con le acque di falda, con l’acqua di irrigazione, o in casi eccezionali con acqua derivata da esondazione. Per questa simulazione si procede all’estrazione dei composti organici clorurati attraverso la lisciviazione in acqua distillata del composto inserito in un contenitore a tenuta agitato per un numero definito di ore. La solubilizzazione produce la medesima concentrazione di equilibrio indipendentemente dal rapporto L/S utilizzato, mentre la massa rilasciata per unità di peso di campione solido si incrementa nel tempo, in quanto i composti presenti tendono a cedere elementi per reazioni di idrolisi, per decomposizione delle fasi composti solubili e per rilascio dei metalli e molecole adsorbite nei composti colloidali (argille o sostanza organica). In dettaglio i fattori che possono influenzare il rilascio per dilavamento si dividono in fattori:

- i) Fisici: 1) Dimensione delle particelle (più piccole sono le particelle maggiore è la superficie di contatto e quindi maggiore è la cessione), 2) Temperatura di esercizio, 3) Velocità di agitazione, 4) Tempo di contatto del campione con la soluzione che consente la dissoluzione progressiva (sali poco solubili), 5) Omogeneità del campione (motivo per il quale si procede con campione setacciato); 6) Rapporto L/S , si fa presente che i batch test


sono in genere condotti con un rapporto L/S di 10 acqua distillata : 1 solido, anche se per alcuni campioni particolarmente ricchi di fasi solubili il rapporto può essere di 20:1 al fine di evitare che i composti che vanno in soluzione possono precipitare per saturazione; 7) macro e micro porosità dei componenti, 8) presenza o formazione di composti colloidali; 9) rilascio ritardato

- ii) Chimici e Biologici: 1) pH (parametro che si modifica nel tempo a causa della interazione dell'acqua con i composti solubili rilasciati dal campione), 2) Potenziale redox, 3) Complessazione e flocculazione, 4) Precipitazione di Sali per saturazione, 5) Contenuto di carbonio organico, 6) Presenza di sostanze azotate, 7) Capacità di scambio cationico dei minerali e della sostanza organica colloidale presente, 8) Reazione con le componenti volatili presenti nell'atmosfera che possono andare in soluzione nell'acqua quali ossigeno disciolto e la CO₂ che possono disciogliersi nell'acqua (essendo la prova condotta in contenitori sigillati non viene preso in considerazione questo fattore che è molto importante nelle dinamiche di rilascio in ambiente naturale dove le matrici sono esposte all'interazione con l'atmosfera, mentre il test simula condizioni di interazione in acquiferi confinati), 9) Solubilità dei composti presenti, 10) Variazione del chimismo dell'agente lisciviante, 11) Presenza di virus e batteri (per evitare questo problema e per non compromettere la salute degli operatori si procede con la sterilizzazione del campione in autoclave dopo aver eseguito il test di cessione). I virus e batteri in particolare i batteri anaerobici possono modificare lo stato di ossidazione dei metalli e far precipitare solfuri modificando il chimismo e il pH della soluzione.

Il rilascio dei composti organici clorurati, come per gli altri elementi e sostanze solubili, avviene proporzionalmente all'avanzamento delle reazioni, producendo un eluato in cui la concentrazione dei composti mobili cresce nel tempo in maniera generalmente lineare. La procedura con cui è valutato il rilascio è nota come "test di cessione" ed è regolamentata dalla norma UNI 10802:2013.

Le Norme Uni regolamentano due tipologie di test:

- in condizioni di equilibrio (batch test a pH controllato) UNI CEN/TS 14997 (2015) che prevede continue correzioni del pH mediante titolante acido o basico in modo da raggiungere i valori di pH desiderati. Le prove da eseguire sono almeno 8 a valori di pH che coprono da un minimo di pH 4 a pH 12. Per valori di pH < 7 viene registrata la quantità di acido nitrico aggiunto (da 0,1 M a 5 M) espressa in mmol di H⁺/Kg di materiale secco, mentre per pH > 7 viene registrata la quantità di idrossido di sodio aggiunta (concentrazioni da 0,1 M a 5 M), espressa in mmol di OH⁻/Kg di materiale secco;

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	28	42

- in condizioni dinamiche (dipendenti dal tempo, come i test in agitatore o i test in colonna con flusso ascendente per materiali granulari) (UNI CEN/TS 14405, 2017).


Generalmente si eseguono analisi di batch test dinamici che possono essere eseguiti sul campione setacciato a granulometria < a 2 mm o su campione opportunamente frantumato e polverizzato (in frantoio e successivamente macinato in mortaio d'agata).

7.2.1. Batch test in agitatore

Il campione viene inserito in un contenitore o provetta e messo a contatto con la soluzione di estrazione (acqua distillata) in rapporto di 1:10 per i suoli. Nel caso di fertilizzanti il rapporto solido liquido è di 1:50 e se si osservano precipitati si può arrivare ad un rapporto di 1:500, essendo questi campioni particolarmente ricchi di composti solubili che facilmente possono andare in soluzione. Quindi il campione viene collocato in un agitatore per un numero di ore o giorni predefinite nel piano di analisi. Generalmente l'agitazione meccanica viene eseguita per 24 ore a 50 rpm e poi si procede a centrifugare il campione (a 4000 rpm) per separare la fase liquida da quella solida. L'eluato ottenuto viene prelevato con una siringa per essere filtrato, trasferito nel contenitore dal quale sarà estratto per essere diluito e inserito nella colonna del cromatografo per l'analisi chimica.

7.2.2. Batch test in colonna

Il campione viene introdotto in una colonna a cui viene aggiunta in modo continuo la soluzione liscivante per produrre percolato; questo test dinamico può essere molto rappresentativo delle condizioni in campo simulando la percolazione della pioggia. Possono insorgere problemi operativi, quali la canalizzazione e l'occlusione della colonna, possono portare a risultati non riproducibili. Per rendere le analisi affidabili il test viene replicato preparando con lo stesso campione 5 colonne. Le colonne sono preparate inserendo nella colonna di vetro i campioni setacciati o macinati per ottenere l'opportuna granulometria. In ogni colonna si inseriscono 5 grammi di campione. In ogni colonna viene aggiunto un volume di acqua distillata di 50 ml. Le soluzioni ottenute vengono filtrate utilizzando un filtro a siringa in nylon da 0,20 µm per poter poi essere analizzati mediante HPLC-MS / MS.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	29	42

7.3. *Analisi di terreno di coltura*

I batteri misti possono ridurre il perclorato per cui nell'analisi di fanghi attivi di impianto di trattamento di acque reflue domestiche si devono prevedere analisi degli effetti dell'accrescimento di batteri che riducono il perclorato. Il terreno di coltura viene preparato con acqua distillata al fine di non immettere inquinanti. Prima della analisi della capacità di abbattimento del perclorato si procede con lo spurgo di azoto e ossigeno libero per garantire condizione di ambiente anossico durante la crescita dei batteri. I campioni vengono inseriti in un reattore dove sono posti in agitazione per 47 ore, controllando periodicamente il pH al fine di mantenere il $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$ con l'aggiunta di HCl e/o NaOH in base alle variazioni del pH osservati. L'analisi del campione prima e dopo i test cinetici batch consentono di stimare la capacità dei batteri di abbattere la concentrazione iniziale di perclorato attraverso una efficiente riduzione biologica (Zhu et al., 2016).

7.4. *Analisi in cromatografia ionica*

Viene utilizzato per determinare i composti organici clorurati seguendo le procedure USEPA 314.0 (USEPA, 1999), che consente di quantificare la concentrazione di ClO₄ in acqua e altre matrici (Grimshaw et al., 2003; El Aribi et al., 2006; Gandhi e Procter, 2014; West et al., 2015).

La cromatografia si basa sulla separazione dei componenti di una miscela e successivo riconoscimento qualitativo e quantitativo con metodi spettrofotometrici o di spettrometria di massa. Esistono diversi metodi cromatografici e precisamente cromatografia di ripartizione, cromatografia di adsorbimento, cromatografia ionica (Urbansky et al., 2000; Liu et al., 2002; Krynitsky et al., 2004; 2006) e cromatografia a esclusione dimensionale. Per le analisi di nostro interesse viene utilizzata la cromatografia liquida ad alta prestazione (High Performance Liquid Chromatography – HPLC) che consente di separare i componenti presenti nella soluzione liquida del campione da analizzare "fase mobile" inniettandolo all'interno della colonna cromatografica "fase stazionaria". Gli elementi e le molecole presenti nel campione impiegheranno tempi diversi (tempo di ritenzione) in base alla loro affinità con le molecole che costituiscono la colonna o "fase stazionaria", per cui le molecole meno affini percorreranno la colonna cromatografica in tempi brevi, rispetto ai composti affini al materiale che costituisce la colonna.


I moderni cromatografi consentono le analisi attraverso tre fasi:

- 1. Eluizione della miscela con la fase mobile attraverso la fase stazionaria.** Il campione prelevato con una siringa monouso da 10 ml dotata di filtro per siringa

monouso in acetato di cellulosa non sterile (0,45 µm, 25 mm, VWR international, Darmstadt, Germania) e OnGuard a tre strati viene inserito in un autocampionatore con loop di iniezione generalmente con volumi compresi tra 500 e 1000 µl mediante iniezione ad anello parziale per volumi inferiori a 1000 µl. L'eluente per queste tipologie di analisi è caratterizzato da una soluzione di 35 mmol/l KOH, e viene prodotto elettroliticamente dall'operatore. Una pompa a gradiente, applicando pressioni dell'ordine delle centinaia di atmosfere, produce un flusso di costante (di solito 0,25 ml/min) del campione attraverso la fase stazionaria. L'elevata pressione è necessaria per un'elevata efficienza nella separazione, per definire una adeguata velocità di flusso dell'eluente.

2. Separazione dei componenti in seguito all'eluizione. Sono disponibili varie tipologie di colonne tarate in modo da associare i tempi di ritenzione con la composizione dei composti da identificare. La separazione viene condotta a temperatura fissa, per cui la strumentazione è dotata di termostato per convenzione impostato a 30 °C. I vantaggi principali di questa procedura sono la dimensione ridotta della colonna (di solito si usano colonne di lunghezza tra 10-30 cm, diametri interni tra 2 a 5 mm e particelle con un diametro di 3 o 10 µm) che evita problemi di eterogeneità nel flusso o canalizzazioni in percorsi alternativi; consente di avere una velocità costante e regolabile di eluizione durante il passaggio in colonna; utilizzo di piccole quantità di soluzione per l'analisi (dai 5 ai 10 microgrammi in funzione delle caratteristiche della colonna). Normalmente le strumentazioni di elevata prestazione sono dotate di una precolonna, che ha la funzione di bloccare il particolato e impurezze presenti nel campione e quindi di aumentare il periodo di utilizzo della colonna e garantire flussi costanti del campione in colonna. Anche se il costo delle strumentazioni HPLC è elevato la rapida velocità di esecuzione della misura (di solito 30 minuti per ogni campione) accoppiata all'elevata accuratezza e precisione rispetto alla cromatografia su colonna tradizionale rende vantaggiose queste analisi. Si utilizza la cromatografia classica solo quando la fase stazionaria è costituita dal campione che si vuole indagare (test di cessione dinamica). L'analisi del campione viene alternata con l'analisi di una soluzione di lavaggio e test per determinare i valori del bianco. È fondamentale non avere anomalie dovute a memoria o contaminazione del sistema. L'eluente e la colonna sono scelti per fornire sia l'eluizione rapida che la migliore risoluzione cromatografica per il perclorato, assicurando allo stesso tempo il rumore più basso possibile nel rilevamento della conduttività soppressa, facilitando una determinazione del perclorato in tracce a basse concentrazioni µg/l. Per monitorare la resa chimica nell'analisi del ³⁶Cl è necessario prevedere l'aggiunta di uno standard interno prima del trattamento e della separazione chimica (iodio stabile). In campioni a basso contenuto di Cl si aggiunge una aliquota di cloro stabile al campione.

Per la calibrazione e analisi delle condizioni di lavoro si adottano metodi standard ISO che prevedono utilizzo di 10 soluzioni standard di diverse concentrazioni di

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	31	42

perclorato. Per verificare la replicabilità del dato le soluzioni vengono iniettate con tre repliche. Analisi preliminari sono condotte per definire la diluizione del set di campioni al fine di definire l'intervallo di lavoro.

3. Rivelazione dei composti separati. All'uscita della colonna la soluzione viene analizzata con un rilevatore che, in base alla configurazione, consente di ottenere un cromatogramma la cui misura di diversa accuratezza e precisione permette di ottenere le concentrazioni dei composti. Ai cromatografi possono infatti essere associati 4 diversi tipi di rilevatori:


- a) IR - Spettroscopia infrarossa;
- b) UV-VIS;
- c) spettrofluorimetrico;
- d) spettrometro di massa.

7.4.1. Analisi mediante spettroscopia infrarossa "IR"

È una tecnica spettroscopica vibrazionale. La radiazione infrarossa, il cui spettro elettromagnetico è compreso tra il visibile e le microonde ($20 - 14000 \text{ cm}^{-1}$), viene assorbita dalle molecole dei composti clorurati che vengono eccitate e questo produce un salto del livello vibrazionale i cui moti vibrazionali sono specifici, e le bande di assorbimento collocate a frequenze caratteristiche permettono l'identificazione delle molecole. Si ottiene uno spettro IR irraggiando il campione con un intervallo piuttosto ampio di radiazione infrarossa e a ogni lunghezza d'onda si osserva se la radiazione viene assorbita dal campione a seconda dei gruppi funzionali presenti nella molecola. I picchi di concentrazione saranno determinati con approccio comparativo rispetto ai picchi degli standard di riferimento ottenuti con soluzioni standard, registrando le relative aree dei picchi. Con gli standard si costruisce una curva di taratura e per ogni singolo composto viene determinata la concentrazione.

7.4.2. Analisi mediante spettrofotometro UV-visibile

I metodi spettrofotometrici forniscono informazioni sulla struttura e sui legami caratteristici di una molecola attraverso lo studio delle vibrazioni indotte dalla interazione con radiazione elettromagnetica che abbia un'energia sufficiente ad indurre transizioni vibrazionali sulla molecola stessa. Essi sono utilizzati per l'analisi del biossido di cloro e clorito in acque potabili in relazione all'assorbimento nella


 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	32	42

regione rossa, che si riferisce a quella parte dello spettro elettromagnetico che si trova tra le regioni del visibile e delle microonde dello spettro visibile (metodo US EPA method 330.5). Il metodo US EPA 330.5 prevede che l'assorbimento caratteristico avviente a 633 nm, in quanto si utilizza il "cromoforo" lissamina B (LGB).

Il metodo US EPA method 327.0, invece, prevede la raccolta di tre campioni di acqua in fiale di vetro da 16 ml color ambra: 1) il primo tal quale; 2) il secondo di acqua degassata per gorgogliamento con un gas inerte idoneo a rimuovere completamente il biossido di cloro e poter quindi determinare le concentrazioni di clorito, 3) il terzo riempito con la soluzione del reagente. In ciascuna fiala viene aggiunta un'aliquota di 1,0 mL di un tampone di acido citrico concentrato contenente glicina. La glicina viene utilizzata in quanto reagisce con il cloro libero disponibile per formare acido cloroaminoacetico, eliminando eventuali interferenze. La procedura analitica prevede che nei tre campioni viene aggiunta un'aliquota da 1,0 mL di un reagente verde di lissamina B (LGB) /perossidasi di rafano (HRP), per convertire il clorito in biossido di cloro. Si utilizzano inoltre campioni standard di clorito a varie concentrazioni per costruire la curva di calibrazione e in base alla comparazione dell'intensità /assorbimento saranno calcolate le concentrazioni di biossido di cloro. Il campione tal quale viene utilizzato per determinare la concentrazione totale di clorito e biossido di cloro, mentre il campione degassato viene utilizzato per determinare la concentrazione di clorito. La concentrazione di biossido di cloro è la differenza tra questi due valori.

7.4.3. Cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa HPLC-IRMS

Metodologia di analisi che abbina in sequenza la cromatografia liquida ad alta prestazione (High Performance Liquid Chromatography – HPLC) con uno spettrometro di massa che ha il compito di identificare tali componenti. Il cromatografo consente di separare le varie specie chimiche inniettando il campione in soluzione acquosa che contiene disciolti i vari analiti da separare che vengono analizzati mediante spettrometria di massa con rapporto isotopico (IRMS). Con questo metodo si determinano i rapporti isotopici stabili di O e Cl in perclorato che è un metodo utile per fornire dati significativi nonostante le piccole quantità di perclorato. La determinazione dei rapporti isotopici o abbondanze naturali degli isotopi stabili richiede uno spettrometro di massa di media bassa sensibilità ma con elevata capacità di risoluzione e precisione. Per tale scopo viene utilizzato lo spettrometro di massa a rapporto isotopico (IRMS), in cui in una camera di combustione il campione viene trasformato in fase gassosa per poi entrare nella sorgente di ioni dove, per interazione con un fascio di elettroni, si generano ioni


 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	33	42

positivi dai composti del campione. Gli ioni positivi vengono accelerati e condotti all'interno dell'analizzatore di massa dove gli ioni sono separati a seconda del loro rapporto massa/carica (m/z) ed infine gli ioni sono raccolti e contati da un rivelatore. L'introduzione del campione nella strumentazione IRMS può avvenire con due sistemi: a) il Dual Inlet (DI-IRMS) che consente di convertire in gas gli elementi che costituiscono la soluzione, prima che esso sia iniettato nello spettrometro e 2) il Continuous Flow (CF-IRMS) che introduce il campione in un flusso di elio che lo trasporta fino alla sorgente dello spettrometro. Nello spettrometro si procede all'analisi delle abbondanze relative degli isotopi stabili di cloro (^{37}Cl e ^{35}Cl) e ossigeno (^{18}O , ^{17}O e ^{16}O) in ClO_4^- determinate in spettrometria IRMS e analisi dell'abbondanza relativa dell'isotopo radioattivo ^{36}Cl misurata usando la spettrometria di massa abbinata all'acceleratore (AMS). Questa metodologia consente di discriminare se il ClO_4^- deriva da fonti sintetiche o naturali e monitora la biodegradazione di ClO_4^- nel ambiente. Questo approccio fornisce misurazioni accurate e precise delle abbondanze relative degli isotopi stabili di cloro (^{37}Cl e ^{35}Cl), mentre l'ossigeno (^{18}O , ^{17}O e ^{16}O) in ClO_4^- viene determinato usando la spettrometria di massa (IRMS). I rapporti isotopici stabili sono riportati come differenze rispetto agli standard riconosciuti a livello internazionale che per il $\delta^{37}\text{Cl}$ sono lo Standard Mean Ocean Chloride (SMOC) e lo Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW). Indicando lo standard utilizzato si ottiene un valore riportato per convenzione come valore "delta" (δ o Δ) e sono riportati in parti per mille (‰), che è una modalità di rappresentazione che consente l'interconfronto fra i diversi laboratori (Coplen, 1996):

$$\delta^{37}\text{Cl} = \left[\left(\frac{^{37}\text{Cl}}{^{35}\text{Cl}} \right)_{\text{campione}} - \left(\frac{^{37}\text{Cl}}{^{35}\text{Cl}} \right)_{\text{standard}} \right] / \left(\frac{^{37}\text{Cl}}{^{35}\text{Cl}} \right)_{\text{standard}} * 1000$$

L'abbondanza atomica o molare dei due isotopi dell'elemento da caratterizzare sono espressi collocando l'isotopo di massa atomica superiore per convenzione al numeratore.

Un valore $\delta^{37}\text{Cl}$ positivo indica che il rapporto degli isotopi pesanti / leggeri nel campione è superiore a quello dello standard, mentre un valore δ negativo indica che il rapporto degli isotopi pesante / leggero nel campione è inferiore a quello dello standard. In soluzioni ottenute mediante cromatografia previa solubilizzazione dei campioni solidi, vengono analizzati in spettrometria di massa ed utilizzato 1 mg di ^{35}Cl come vettore il rapporto isotopico $^{36}\text{Cl}/\text{Cl}_{\text{tot}}$ corrispondente a 1 nBq.


 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	34	42

7.5. *Analisi mediante scintillazione liquida (LSC)*

L'analisi di ^{36}Cl , essendo un radionuclide cosmogenico con un'emivita di 301.000 anni e in perclorato naturale di origine recente il rapporto $^{36}\text{Cl} / \text{Cl}$ relativamente alto che indica una fonte atmosferica, ne consente una attendibile determinazione mediante metodo radiometrico che utilizza un contatore proporzionale a gas o mediante scintillazione liquida (LSC). Le analisi sono sempre condotte su campioni in soluzioni acquose ottenute mediante i metodi di solubilizzazione e arricchimento descritti nei precedenti capitoli.

I vantaggi della Liquid Scintillation Counting (LSC) sono molteplici e precisamente questo metodo consente di determinare in maniera rapida e riproducibile numerosi campioni in modo accurato per radioisotopi che hanno attività α e β . L'uso di LSC per emettitori α consente di raggiungere efficienze dei conteggi del 100%, inoltre i campioni arricchiti con i metodi precedentemente descritti sono semplici da preparare per l'analisi in scintillazione (Sánchez-Cabeza e Pujol, 1995). Una proprietà distintiva dell'interazione delle particelle α con i mezzi di scintillazione liquida è una bassa scintillazione o resa di fotoni rispetto agli emettitori beta. Quasi tutta l'energia cinetica associata all'emissione α viene ceduta al mezzo in una distanza relativamente breve. La resa relativa di scintillazione dipende da potenziali di ionizzazione specifici. Maggiore è il potenziale di ionizzazione specifico, minore è la resa relativa del fotone che si traduce in una scarsa risoluzione dell'energia dei radionuclidi α .

Anche in acquiferi a ricarica lenta o considerati fossili, questo metodo di analisi del ^{36}Cl è significativo per i contributi immessi dai test nucleari condotti durante il periodo 1952-1964. Questo metodo consente di datare i tempi di ricarica degli acquiferi e quindi è un prezioso supporto per individuare le risorse strategiche non rinnovabili per definire i piani di tutela. Negli ultimi anni con le perdite qualitative e quantitative delle risorse sta emergendo la necessità di estendere la datazione a tutte le riserve del pianeta e un metodo performante come la scintillazione liquida sarà spesso utilizzato. Ad esempio degli Stati Uniti sud-occidentali misure in perclorato estratto dalle acque sotterranee con età superiore a 10 ka calcolata con datazione del ^{14}C hanno consentito di verificare rapporti di $^{36}\text{Cl}/\text{Cl}$ significativi di circa 8000×10^{-15} (Poghosyan e Sturchio, 2015). Il miglioramento dei metodi di arricchimento stanno mettendo in evidenza come anche in contesti con basse concentrazioni di ^{36}Cl in ambiente, che in passato potevano essere analizzati solo con la spettrometria di massa, oggi possono essere determinate anche con LSC. L'aggiunta di un liquido scintillante ad alta resa luminosa in acqua consente la rilevazione di particelle con un'energia inferiore alla soglia di Cherenkov preservando i vantaggi dell'acqua pura, capacità direzionale, costo e scalabilità. Regolando il contenuto dello scintillatore nella miscela, si può massimizzare il potenziale di un rivelatore Water-based Liquid Scintillator come quello sviluppato presso il Brookhaven National Laboratory che

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	35	42

mescola acqua pura e uno scintillatore liquido organico (Fischer e Tiras, 2020; Yeh et al., 2011).

Negli ultimi anni nuove applicazioni di LSC sono state favorite dalla ottimizzazione del sistema introducendo analizzatori multicanale (MCA) che hanno consentito di separare e quantificare spettri α e β sovrapposti, superando limiti analitici che fino a poco tempo fa limitavano l'uso di questa metodologia. Infatti in passato non essendo possibile separare gli spettri dell'altezza dell'impulso dei radionuclidi α sovrapposti agli spettri degli emettitori β di maggiore energia per isotopi come ^{137}Cs , ^{36}Cl e ^{90}Sr / ^{90}Y limitava le applicazioni (McKlveen e McDowell, 1984). Fischer e Tiras (2020) hanno sviluppato strategie utili a differenziare l'emissione α da β e compensare questa interferenza.

Bibliografia

Alfredo K, Stanford B, Roberson JA, Eaton A (2015). Chlorate Challenges for Water Systems. *J Am Water Work Ass* 107, E187-E196.

Aziz CE, Borsch R, Nicholson P, Cox E (2006). Alternative causes of wide-spread, low concentration perchlorate impacts to groundwater. Gu B, Coates JD, (eds) *Perchlorate: Environmental Occurrences, Interactions, and Treatment*. Springer: New York, 71–88.

Aziz CE, Hatzinger PB (2008). Perchlorate sources, source identification, and analytical methods. Stroh HF, Ward CH, (eds) *In Situ Bioremediation of Perchlorate in Groundwater*. Springer: New York, 55-77.


Backus SM, Klawuun P, Brown S, D'sa I, Sharp S, Surette C, Williams DJ (2005). Determination of perchlorate in selected surface waters in the Great Lakes Basin by HPLC/MS/MS. *Chemosphere* 61, 834-843.

Bao H, Gu B (2004). Natural Perchlorate Has a Unique Oxygen Isotope Signature. *Environ Sci Technol* 38, 5073-5077.

Böhlke JK, Sturchio NC, Gu B, Horita J, Brown GM, Jackson WA, Batista J, Hatzinger PB (2005). Perchlorate isotope forensics. *Anal Chem* 77, 7838-7842.

Borjan M, Marcella S, Blount B, Greenberg M, Zhang J, Murphy E, Robson M (2011). Perchlorate exposure in lactating women in an urban community in New Jersey. *Sci Total Environ* 409, 406-464.

Brandhuber P, Clark S, Morley K (2009). A review of perchlorate occurrence in public drinking water systems. *Am Water Work Ass* 101, 63-73.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	36	42

Calderón R, Godoy F, Escudey M, Palma P (2017). A review of perchlorate (ClO₄⁻) occurrence in fruits and vegetables. *Environ Monit Assess* 189, 82.

Calderon R, Rajendiran K, Kim UJ, Palma P, Arancibia-Miranda N, Silva-Moreno E, Corradini F (2020). Sources and fates of perchlorate in soils in Chile: A case study of perchlorate dynamics in soil-crop systems using lettuce (*Lactuca*). *Environ Poll* 264, September 2020, 114682.

California Department of Health Services (2012). Perchlorate in Drinking Water. Available online: <http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinkingwater/pages/Perchlorate.aspx>

California Department of Public Health (2007). State Water Resources Control Board. History of perchlorate in California drinking water. Available online: http://www.waterboards.ca.gov/drinking_water/certlic/drinkingwater/Perchloratehistory.shtml

Cao F, Jaunat J, Sturchio N, Cancès B, Morvan X, Devos A, Barbin V, Ollivier P (2019). Science of the total environment worldwide occurrence and origin of perchlorate ion in waters: a review *Sci Total Environ* 661, 737-749.

Cao F, Sturchio NC, Ollivier P, Devau N, Heraty LJ, Jaunat J (2020). Sources and behavior of perchlorate in a shallow Chalk aquifer under military (World War I) and agricultural influences. *J Hazard Mater* 398, 123072.

Chan S, Kilby MD (2000). Thyroid hormone and central nervous system. *J Endocrinol* 165, 1-8.

Charnley G (2008). Perchlorate: overview of risks and regulation. *Food Chem Toxicol* 46, 2307-2315.


Cheng Q, Liu F, Smith PN, Jackson WA, McMurry ST, Hooper MJ (2008). Perchlorate distribution, excretion, and depuration in prairie voles and deer mice. *Water Air Soil Poll* 192, 127-139.

Clo TUR, Schnoor JL (2002). Evidence of perchlorate (ClO₄⁻) reduction in plant tissues (*Poplar*). *Environ Sci Technol* 36, 2783-2788.

Coplen TB (1996). New guidelines for reporting stable hydrogen, carbon, and oxygen isotope-ratio data. *Geochim Cosmochim Acta* 60, 3359-3360.

Dasgupta PK, Martinelango PK, Jackson WA, Anderson TA, Tian K, Tock RW, Rajacopalan S (2005). The origin of naturally occurring perchlorate: The role of atmospheric processes. *Environ Sci Technol* 39, 1569-1575.

Dasgupta PK, Dyke JV, Kirk AB, Jackson WA (2006). Perchlorate in the United States. Analysis of relative source contributions to the food chain. *Environ Sci Technol* 40, 6608-6614.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	37	42

Decreto Legislativo 19 agosto 2005, n. 195. Attuazione della direttiva 2003/4/CE sull'accesso del pubblico all'informazione ambientale. Gazzetta Ufficiale n. 222 del 23 settembre 2005.

Decreto Legislativo 11 maggio 1999, n. 152. Testo aggiornato del decreto legislativo 11 maggio 1999, n. 152, recante: "Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole", a seguito delle disposizioni correttive ed integrative di cui al decreto legislativo 18 agosto 2000, n. 258. Gazzetta Ufficiale n. 246 del 20 ottobre 2000 - Supplemento Ordinario n. 172.

Direttiva 2003/4/CE del 28 gennaio 2003 emessa in sostituzione della direttiva 90/313/CEE - Accesso del pubblico all'informazione ambientale. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea n.L41/26 del 14/02/2003.

Domínguez-González MR, Chiocchetti GM, Herbello-Hermelo P, Vélez D, Devesa V, Bermejo-Barrera P (2017). Evaluation of iodine bioavailability in seaweed using in vitro methods. *J Agr Food Chem* 65, 8435-8442.

Dyke JV, Kirk AB, Martinelango PK, Dasgupta PK (2006). Sample processing method for the determination of perchlorate in milk. *Anal Chim Acta* 567, 73-78.

EFSA (2014). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of perchlorate in food, in particular fruits and vegetables. *EFSA Journal*.


El Aribi H, Le Blanc YJ, Antonsen S, Sakuma T (2006). Analysis of perchlorate in foods and beverages by ion chromatography coupled with tandem mass spectrometry (IC-ESI-MS/MS). *Anal Chim Acta* 567, 39-47.

Estrada NL, Böhlke JK, Sturchio NC, Gu B, Harvey G, Burkey KO, Grantz DA, McGrath MT, Anderson TA, Rao B, Sevanthi R, Hatzinger PB, Jackson WA (2017). Stable isotopic composition of perchlorate and nitrate accumulated in plants: Hydroponic experiments and field data. *Sci Total Environ* 595, 556-566.

Felluga A, Fonte A, Fioretti M, Moncalvo B, Usai MP, Abita A, Fiore M, Gerbaz D, Zanon F, Potalivo M (2018). Il campionamento delle acque interne finalizzato alla determinazione dei parametri chimici e misura in campo dei parametri chimico - fisici di base per la ridettiva quadro sulle acque. ISPRA, Manuali e Linee Guida 181/2018, 1-75.

Fischer V, Tiras E (2020). Water-based Liquid Scintillator detector as a new technology testbed for neutrino studies in Turkey. *Nucl Inst Meth A* 969, 163931.

Gandhi J, Procter S (2014). Trace level analysis of perchlorate and bromate in various water matrices using suppressed ion chromatography. *Metrohm*.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	38	42

Greer MA, Goodman G, Pleus RC, Greer SE (2002). Health effects assessment for environmental perchlorate contamination: the dose response for inhibition of thyroidal radioiodine uptake in humans. *Environ Health Perspect* 110, 927-937.

Grimshaw JJ, Richman D, Analysis K (2003). Perchlorate by Ion Chromatography: Significant Recent Findings. American Pacific Corp.: Las Vegas, NV, USA.

Hatzinger PB, Bohlke JK, Sturchio NC, Izbicki J, Teague N (2018). Four-dimensional isotopic approach to identify perchlorate sources in groundwater: application to the Rialto-Colton and Chino subbasins, southern California (USA). *Appl Geochem* 97, 213-225.

Heikkilä U, Beer J, Feichter J, Alfimov V, Synal HA, Schotterer U, Eichler A, Schwikowski M, Thompson L (2009). ³⁶Cl bomb peak: Comparison of modeled and measured data. *Atmos Chem Phys* 9, 4145-4156.

Hijnen WAM, Beerendonk EF, Medema GJ (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo) cysts in water: a review. *Water Res* 40, 3-22.

Jones KC, De Voogt P (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution* 100, 209-221.

Kim DH, Yoon Y, Baek K, Han J, Her N (2014). Occurrence of perchlorate in rice from different areas in the Republic of Korea. *Environ Sci Pollut Res* 21, 1251-1257.

Kirk AB, Smith EE, Tian K, Anderson TA, Dasgupta PK (2003). Perchlorate in milk. *Environ Sci Technol* 37, 4979-4981.

Kosaka K, Asami M, Matsuoka Y, Kamoshita M, Kunikane S (2007). Occurrence of perchlorate in drinking water sources of metropolitan area in Japan. *Water Res* 41, 3473-3482.


Krynitsky AJ, Niemann RA, Nortrup DA (2004). Determination of perchlorate anion in foods by ion chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 76, 5518-5522.

Krynitsky AJ, Niemann RA, Williams AD, Hopper ML (2006). Streamlined sample preparation procedure for determination of perchlorate anion in foods by ion chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 567, 94-99.

Kumarathilaka P, Oze C, Indraratne SP, Vithanage M (2016). Perchlorate as an emerging contaminant in soil, water and food. *Chemosphere* 150, 667-677.

Lal D, Peters B (1967). Cosmic ray produced radioactivity on the Earth. In *Kosmische Strahlung II/Cosmic Rays II*. Sitte, K., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg 9/46/2, 551-612.

Laparra JM, Vélez D, Barberá R, Farré R, Montoro R (2005). Bioavailability of inorganic arsenic in cooked rice: Practical aspects for human health risk assessments. *J Agric Food Chem* 53, 8829-8833.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	39	42

Lee JW, Oh SH, Oh JE (2012). Monitoring of perchlorate in diverse foods and its estimated dietary exposure for Korea populations. *J Hazard Mater*, 243, 52-58.

Leung AM, Pearce EN, Braverman LE (2010). Best practice & research clinical endocrinology & metabolism perchlorate, iodine and the thyroid. *Best. Pract Res Clin Endocrinol Metab* 24, 133-141.

Liu Y, Mou S, Heberling S (2002). Determination of trace level bromate and perchlorate in drinking water by ion chromatography with an evaporative preconcentration technique. *J Chromatogr A* 956, 85-91.

McKlveen JW, McDowell WJ (1984). Liquid Scintillation alpha spectrometry techniques. *Nucl Instrum Methods Phys Res* 223, 372-376.

Miyake Y, Matsuzaki H, Sasa K, Takahashi T (2015). Measurement of long-lived radionuclides in surface soil around F1NPP accident site by Accelerator Mass Spectrometry. *Nuc Instrum Meth B* 361, 627-631.

Muir DC, Howard PH (2006). Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ Sci Technol* 40, 7157-7166.

Oh SH, Lee JW, Mandy P, Oh JE (2011). Analysis and exposure assessment of perchlorate in Korean dairy products with LC-MS/MS. *Environmental Health and Toxicology* 26, e2011011.

Orhan MF, Dincer I, Rosen MA (2009). Energy and exergy analyses of the fluidized bed of a copper–chlorine cycle for nuclear-based hydrogen production via thermochemical water decomposition. *Chem Eng Res Des* 87, 684-694.

Parker DR, Seyfferth AL, Reese BK (2008). Perchlorate in groundwater: A synoptic survey of “Pristine” sites in the coterminous United States. *Environ Sci Technol* 42, 1465-1471.


Pleus RC, Corey LM (2018). Environmental exposure to perchlorate: A review of toxicology and human health. *Toxicol Appl Pharmacol* 358, 102-109.

Poghosyan A, Sturchio NC (2015). Temporal evolution of ³⁶Cl abundances in the Great Lakes. *J Environ Radioact* 144, 62-68.

Sánchez-Cabeza JA, Pujol LI (1995). A rapid method for the simultaneous determination of gross alpha and beta activities in water samples using a low background liquid scintillation counter. *Health Physics* 68, 674-682.

Schijvena J, Teunis P, Suylen T, Ketelaars H, Hornstra L, Rutjes S (2019). QMRA of adenovirus in drinking water at a drinking water treatment plant using UV and chlorine dioxide disinfection. *Water Research* 158, 34-45.

Seyfferth AL, Sturchio NC, Parker DR (2008). Is perchlorate metabolized or re-translocated within lettuce leaves? A stable-isotope approach. *Environ Sci Technol* 42, 9437-9442.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	40	42

Sheppard S, Johnson L, Goodwin B, Tait J, Wuschke D, Davison C (1996). Chlorine-36 in nuclear waste disposal—1. Assessment results for used fuel with comparison to 129I and 14C. *Waste Manag* 16, 607-614.

Shi Y, Zhang P, Wang Y, Shi J, Cai Y, Mou S, Jiang G (2007). Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China. *Environ Int* 33, 955-962.

Srinivasan R, Sorial GA (2009). Treatment of perchlorate in drinking water: A critical review. *Sep Purif Technol* 69, 7-21.

Sturchio NC, Caffee M, Beloso AD Jr, Heraty LJ, Böhlke JK, Hatzinger PB, Jackson WA, Gu B, Heikoop JM, Dale M (2009). Cloro-36 come tracciante di origine perclorato. *Environ Sci Technol* 43, 6934-6938.

Synal HA, Beer J, Bonani G, Suter M, Wölfli W (1990). Atmospheric transport of bomb-produced ³⁶Cl. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B* 52, 483-488.

Tiana Y, Xua H, Liua S, Fanga M, Wub Y, Gong Z (2020). Study on the bioaccessibility and bioavailability of perchlorate in different food matrices in vitro. *Food Chem* 333, 127470.

Trumpolt CW, Crain M, Cullison GD, Flanagan SJP, Siegel L (2005). Lathrop Perclorato. *Remed J* 16, 65-89.

UNI 10802 (2013). Rifiuti - Campionamento manuale, preparazione del campione ed analisi degli eluati.

UNI CEN/TS 14997 (2015). Caratterizzazione dei rifiuti - Prove di comportamento alla lisciviazione - Influenza del pH sulla lisciviazione con controllo continuo del pH.


UNI CEN/TS 14405 (2017). Caratterizzazione dei rifiuti - Prove di comportamento alla lisciviazione - Prova di percolazione a flusso ascendente (nelle condizioni specificate).

US EPA Method 314.0. Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography, Revision 1.0. United States Environmental Protection Agency.

US EPA Method 327.0. Determination of Chlorine Dioxide and Chlorite Ion in Drinking Water Using Lissamine Green B and Horseradish Peroxidase with Detection by Visible Spectrophotometry. United States Environmental Protection Agency.

US EPA Method 330.5. Total Residual Chlorine by Spectrophotometer. United States Environmental Protection Agency.

US EPA Method 331.0. Determination of perchlorate in drinking water by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. United States Environmental Protection Agency.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	41	42

US EPA Method 332.0. Determination of perchlorate in drinking water by ion chromatography with suppressed conductivity and electrospray ionization mass spectrometry. United States Environmental Protection Agency.

US EPA Method 6850. Perchlorate in Water, Soils and Solid Wastes Using High Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization/Mass Spectrometry (HPLC/ESI/MS or HPLC/ESI/MS/MS). United States Environmental Protection Agency.

US EPA Method 6860. Perchlorate in Water, Soils and Solid Wastes Using Ion Chromatography/Electrospray Ionization/Mass Spectrometry (IC/ESI/MS or IC/ESI/MS/MS). United States Environmental Protection Agency.

US EPA (2009). <http://water.epa.gov/drink/contaminants/unregulated/perchlorate.cfm>

Urbansky ET (2000). Quantitation of perchlorate ion: Practices and advances applied to the analysis of common matrices. *Crit Rev Anal Chem* 30, 311-343.

Urbansky ET, Schock MR (1999). Issues in managing the risks associated with perchlorate in drinking water. *J Environ Manag* 56, 79-95.

Urbansky ET, Brown SK, Magnuson ML, Kelty CA (2001). Perchlorate levels in samples of sodium nitrate fertilizer derived from Chilean caliche. *Environ Pollut* 112, 299-302.

Van Haute S, López-Gálvez F, Gómez-López VM, Eriksson M, Devlieghere F, Allende A (2015). Methodology for modeling the disinfection efficiency of fresh-cut leafy vegetables wash water applied on peracetic acid combined with lactic acid. *Int J Food Microbiol* 208, 102-113.


Van Stempvoort DR, Struger J, Brown SJ (2019). Perchlorate in environmental waters of the Laurentian Great Lakes watershed: Evidence for uneven loading. *J Great Lakes Res* 45, 240-251.

Van Stempvoort DR, MacKay DR, Brown SJ, Collins P (2020). Environmental fluxes of perchlorate in rural catchments, Ontario, Canada. *Scie Total Environ* 720, 137426.

Wang Z, Forsyth D, Lau BPY, Pelletier L, Bronson R, Gaertner D (2009). Estimated dietary exposure of Canadians to perchlorate through the consumption of fruits and vegetables available in Ottawa markets. *J Agric Food Chem* 57, 9250-9255.

Wang Z, Lau BPY, Tague B, Sparling M, Forsyth D (2011). Determination of perchlorate in infant formula by isotope dilution ion chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam* 28, 799-806.

West DM, RuiPu Mu, Gamagedara S, Yinfa Ma, Craig A, Todd E, Burken JC, Shi H (2015). Simultaneous detection of perchlorate and bromate using rapid high-performance ion exchange chromatography–tandem mass spectrometry and perchlorate removal in drinking water. *Environ Sci Pollution Res* 22, 8594-8602.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 040	0	L	42	42

Xu S, Freeman SPHT, Hou X, Watanabe A, Yamaguchi K, Zhang L (2013). Iodine isotopes in precipitation: Temporal responses to ¹²⁹I emissions from the Fukushima nuclear accident. *Environ Sci Technol* 47, 10851-10859.

Yeh M, Hans S, Beriguete W, Rosero R, Hu L, Hahn RL, Diwan MV, Jaffe DE, Kettell SH, Littenberg L (2011). A new water-based liquid scintillator and potential applications. *Nucl Instrum Meth A* 660, 51.

York RG, Funk KA, Girard MF, Mattie D, Strawson JE (2003). Oral (drinking water) developmental toxicity study of ammonium perchlorate in sprague-dawley rats International. *J Toxicol* 22, 453-464.

Zhu Y, Gao N, Chu W, Wang S, Xu J (2016). Bacterial reduction of highly concentrated perchlorate: kinetics and influence