



A.D. MDLXII

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI**  
**FACOLTÀ DI AGRARIA**

DOTTORATO DI RICERCA

*Monitoraggio e Controllo degli Ecosistemi Forestali in Ambiente  
Mediterraneo*

XXI Ciclo

**STIMA DELL'IMPATTO AMBIENTALE**  
**DI ATTIVITA' MINERARIE ED INDUSTRIALI**  
**ATTRAVERSO LA DETERMINAZIONE ETAAS**  
**DI METALLI IN TRACCE IN API E MATRICI D'ALVEARE**

**Tesi di dottorato di:**  
Dr.ssa Severyn Salis

**Relatore:** Dr.ssa Maria I. Pilo

**Correlatore:** Dr.ssa Nadia Spano

**Coordinatore:** Prof. Antonio Franceschini

Triennio 2006- 2008

## Indice

<u>Introduzione</u>	pag. 1
<u>Capitolo 1</u>	
<u>Gli ambienti minerari</u>	pag. 4
1 Storia dell'attività mineraria	pag. 4
2 Profilo storico del settore minerario in Sardegna	pag. 6
3 Il distretto piombo-zincifero del Medio Campidano	pag. 19
4 Il distretto minerario-industriale del Sulcis-Iglesiente	pag. 23
5 Impatto ambientale dell'attività mineraria in Sardegna	pag. 26
<u>Capitolo 2</u>	
<u>Biomonitoraggio ambientale</u>	pag. 30
1 Biomonitoraggio e bioindicatori	pag. 30
2 Biomonitoraggio e misure strumentali	pag. 31
3 Biomonitoraggio con le api	pag. 34
4 La società delle api	pag. 36
5 I prodotti apistici nel biomonitoraggio	pag. 38
6 Biovalutazione dei diversi inquinanti	pag. 39
<u>Capitolo 3</u>	
<u>Campionamento</u>	pag. 43
1 Piano di campionamento	pag. 43
2 Aree e frequenza di campionamento	pag. 44
3 Prelievo dei campioni	pag. 46
Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari	

## Capitolo 4

Determinazione dei metalli pesanti via ETAAS pag. 49

1 Cenni sulla Spettroscopia ETAAS pag. 49

2 Pretrattamento dei campioni pag. 51

3 Analisi dei campioni pag. 54

4 Strumentazione e reagenti pag. 98

## Capitolo 5

Validazione pag. 99

1 Introduzione pag. 99

2 Limiti di rivelabilità e di quantificazione pag. 100

3 Precisione pag. 101

4 Accettabilità dei risultati relativi alla precisione pag. 104

5 Accuratezza pag. 112

6 Accettabilità dei risultati relativi al bias pag. 115

## Capitolo 6

Valutazione chemiometrica dei risultati sperimentali pag. 117

1 Analisi delle componenti principali pag. 117

2 Applicazione della PCA ai dati sperimentali pag. 119

3 Discussione dei risultati pag. 123

Conclusioni pag. 126

Bibliografia pag. 129

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

## Introduzione

Il presente lavoro descrive lo sviluppo e i risultati di un progetto di ricerca nato con lo scopo di valutare la diffusione di alcuni metalli pesanti in aree della Sardegna caratterizzate da una forte incidenza di attività minerarie e industriali, attraverso la messa a punto di protocolli chimico-analitici a sostegno e complemento di tecniche biologiche di monitoraggio ambientale. Le aree di indagine, individuate nelle province di Carbonia-Iglesias e del Medio-Campidano, sono indubbiamente tra le più note nell'Isola per la vastità e ricchezza di siti minerari dismessi, ma anche per la presenza di un importante polo industriale nel comune di Portoscuso, costituito da alcuni stabilimenti per la metallurgia dell'alluminio, da centrali termoelettriche e da un impianto per la metallurgia di piombo e zinco.

Per sua natura, l'attività mineraria è tra quelle che maggiormente sono in grado di generare un rilevante impatto ambientale. Comunemente si osservano modificazioni del paesaggio, creazione di morfologie instabili e soggette a frane o crolli o interferenze con i circuiti idrologici. Tuttavia l'effetto più rilevante è senza dubbio dovuto alla dispersione nell'ambiente di elementi tossici quali Cu, Pb, Cd, Zn, Hg, Cr, Mn, Ni, As etc.. Tale dispersione viene veicolata per via meccanica (scivolamento gravitativo, trasporto eolico), o per via chimica (trasporto in soluzione), soprattutto attraverso il circuito delle acque superficiali, determinando la diffusione degli inquinanti anche a notevoli distanze dalla sorgente.

Il metodo di indagine prescelto è quello del biomonitoraggio ambientale mediante le api, già impiegato in passato in diversi lavori scientifici [1-4]. Il biomonitoraggio consiste nella valutazione dello stato di salute di un ambiente, soprattutto per quanto attiene l'impatto di sostanze inquinanti, attraverso l'impiego di organismi viventi, che prendono il nome di bioindicatori. Tra tutti l'ape, per le sue caratteristiche etologiche e il suo intimo rapporto con l'ambiente, ha in sé tutti i requisiti per essere un ottimo indicatore ambientale per diverse tipologie di sostanze, dai metalli pesanti, ai pesticidi, ai radionuclidi. Il biomonitoraggio in generale, e il biomonitoraggio attraverso le api in particolare, è un tipo di approccio metodologico che rappresenta un'importante integrazione alle tecniche analitiche tradizionali. Esso fornisce una panoramica dei sintomi ambientali che permette di indirizzare e guidare l'approfondimento analitico convenzionale in maniera mirata e significativa, con un notevole risparmio di tempo e denaro. In virtù di questi presupposti, il presente lavoro si è articolato attraverso l'installazione di apiari, costituiti da almeno tre arnie ciascuno, nei siti individuati all'interno delle aree di indagine. Per la provincia di Carbonia-Iglesias essi sono stati identificati con il comune di Cortoghiana (area di Portoscuso) e la frazione di Monte Agruxiau (area mineraria), mentre per la provincia del Medio Campidano le localizzazioni sono state quelle del comune di Montevecchio, appartenente ad Arbus e Guspini, e le frazioni di Ingurtosu e Gennemari nell'Arburese, tutti insediamenti a vocazione mineraria. Una sesta stazione, considerata come "bianco", è stata individuata nel comune di Musei, nell'Iglesiente. Il progetto di ricerca è stato concepito per lo svolgimento di un monitoraggio globale dei territori suddetti, attraverso la

valutazione biologica e strumentale di componenti biotiche (api, pollini, vegetazione, miele) ed abiotiche (suolo, acqua).

Le attività analitiche sviluppate nel presente lavoro hanno riguardato la determinazione, attraverso Spettrofotometria di Assorbimento Atomico ad Atomizzazione Termoelettrica, ETAAS, di sette metalli correlabili a situazioni di inquinamento ambientale, ovvero piombo, cadmio, manganese, rame, cobalto, nichel e cromo, in tre tipologie di matrici (api bottinatrici, polline e miele) prelevate mensilmente per un lungo periodo (da giugno 2006 a marzo 2008) in ciascuna delle stazioni suddette.

## Gli ambienti minerari

### 1 Storia dell'attività mineraria

Lo sviluppo di attività estrattive e minerarie ha segnato profondamente l'evoluzione tecnologica dell'uomo nel corso della sua storia. L'estrazione di metalli dai loro minerali, dapprima ottenuti da depositi affioranti e poi dalle prime coltivazioni sotterranee, ha contribuito a dare un ruolo di preminenza nella storia alle grandi civiltà del passato (Persiani, Greci, Assiri, Egizi e Fenici). La diffusione delle attività minerarie presso le culture mediterranee si deve ai Romani, i quali attraverso il loro eccezionale sistema viario e commerciale, resero possibile lo sfruttamento di miniere di ferro, stagno, piombo, oro e argento, cave di pietre ornamentali e marmi disseminate in tutto l'Impero. Le popolazioni barbariche ripresero a sviluppare le estrazioni minerarie a livelli produttivi anche superiori a quelli raggiunti in età romana: a partire dal IX secolo vennero progressivamente abbandonate le cave, sfruttate in età classica e ormai quasi esaurite, e iniziò lo sviluppo di attività estrattive in zone nuove, geologicamente più favorite, in area germanica (Moravia, Boemia, Sassonia). Venne inoltre esteso l'uso delle armature in legno e si costruirono le prime ruote e pompe idrauliche per il sollevamento dei minerali. Dal X secolo cominciò in

Inghilterra lo sfruttamento del carbon fossile, che i popoli mediterranei conoscevano ma non sapevano utilizzare (come invece avveniva in Cina da millenni). Allo sfruttamento delle miniere di Scozia e Galles seguì quello delle miniere belghe (area di Liegi) e di altre località europee. Si sviluppava così sempre più la produzione metallurgica e si conoscevano e sfruttavano nuovi metalli (platino, cobalto, zinco, antimonio). Lo sviluppo tecnologico dell'attività mineraria è illustrato nel *De re metallica* (1556) di Georg Agricola che descrive l'avvento di gallerie a pozzo, di calamenti in traversa (uso del fuoco per rompere la roccia), di gradini per la roccia viva a cielo aperto e della ruota idraulica, mossa dalle acque di canali artificiali, che azionava manovelle e pistoni per il trasporto dei materiali estratti e di quelli di scarto e permetteva di prosciugare le gallerie. L'uso della "polvere nera" fu relativamente tardo (1627) ma ben presto si generalizzò. L'impiego dell'esplosivo implicava la preparazione di camere di scoppio e l'allargamento, il rafforzamento e la ventilazione delle gallerie. A tal scopo si utilizzarono ancora pompe e ruote idrauliche o a trazione animale. A partire dal XVII secolo la necessità di uno sfruttamento intensivo, sia in rapporto alle nuove esigenze produttive che per combattere la concorrenza dei giacimenti americani, diede nuovo sviluppo alle tecniche minerarie europee; la macchina a vapore rappresentò all'inizio soprattutto una risposta a tali esigenze, e anche le prime funi di ferro e la locomotiva vennero anzitutto impiegate in miniera. Si poté così progressivamente scendere a profondità superiori alle decine di metri e costruire gallerie lunghe chilometri. La condizione del lavoratore in miniera perse allora anche gli ultimi caratteri artigianali e la pericolosità del lavoro minerario favorì la formazione di prime



società di mutua assistenza, soprattutto a causa della frequenza delle esplosioni in galleria (la lampada di sicurezza venne inventata solo nel 1816). Il balzo tecnologico definitivo fu dovuto all'uso dell'energia elettrica, all'invenzione di macchine più piccole e - in particolare - all'uso dell'aria compressa per la meccanizzazione del lavoro. A partire dal 1859 iniziò la perforazione dei pozzi di petrolio.

## **2 Profilo storico del settore minerario in Sardegna**

### Preistoria

La lunga e ricca storia mineraria della Sardegna [5] viene fatta risalire al Neolitico (oltre 8000 anni fa), quando cominciò la raccolta dell'ossidiana del Monte Arci, vulcano che si eleva nella parte centro-orientale dell'Isola. La presenza di questo minerale, noto anche come vetro vulcanico, richiamò un gran numero di cavaatori, portando alla creazione di diverse comunità la cui economia si basava principalmente sulla ricerca, la lavorazione e l'esportazione dello stesso verso la Francia meridionale e l'Italia settentrionale.

Nei millenni successivi l'attività estrattiva si estese ad altre aree ed interessò altre materie prime: nel Neolitico medio (cultura di Bonu Ighinu, 4500-3300 a.C.) trovò notevole sviluppo l'arte della lavorazione di materiali lapidei, quali olivina, scisti cristallini, calcari, arenarie, marne, granito e alabastro, principalmente impiegati per la realizzazione di manufatti di vario genere,

- 6 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

come vasi, oggetti ornamentali, anelli e statue, e sostituiti poi nel Neolitico recente (3000 a.C.) dall'impiego della steatite; seguì poi la coltivazione di giacimenti metalliferi e il conseguente avvio della metallurgia, che continuò durante la cultura di San Michele (3300-2900 a.C.) e nei periodi successivi, in particolar modo durante la cultura di Monte Claro, che vide un notevole sviluppo della lavorazione dei metalli, come testimoniano diversi reperti dell'epoca (coltelli e punteruoli in rame). Con il passare del tempo si ebbe un sempre maggiore affinamento delle tecniche di lavorazione, e tra il 1500 e il 1200 a.C., si ebbe la produzione di oggetti di buona fattura (spille, bracciali, borchie, pugnali, accette). Fu proprio a partire dal 1200 a.C., con l'avvento della civiltà Nuragica, che l'attività mineraria dell'Isola ebbe il suo maggior sviluppo grazie all'estrazione del rame che, usato per la fusione del bronzo, divenne il fulcro dell'economia per le popolazioni locali. Ad una vastissima produzione metallurgica si affiancò una intensa attività di fonderia e officina, testimoniata da numerosissimi ritrovamenti, e che raggiunse i più alti livelli con la realizzazione, attraverso il metodo della cosiddetta cera persa, di bronzetti elegantemente rifiniti (350 reperti). Contemporaneamente alla tecnica metallurgica si sviluppò anche quella mineraria: l'estrazione e la lavorazione del ferro si diffusero in Sardegna a partire dal IX secolo a.C., mentre quella dell'argento estratto dai giacimenti locali pare risalire ad epoche più recenti (Fenicia). I Cartaginesi, nel VI secolo a.C., acquisirono il controllo della zona mineraria del Sulcis-Iglesiente, mantenendolo sino al III secolo a.C., come testimoniano le tracce rinvenute nel monte Sirai, mentre della loro attività

estrattiva sono rimaste numerose officine-fonderie nei pressi di Carbonia e testimonianze nell'area della miniera di San Giorgio.

### Epoca romana

Nel 238 a.C. iniziò l'epoca della dominazione romana, in seguito alla formale cessione della Sardegna dai Cartaginesi a Roma dopo la sconfitta nella I guerra punica, sancita nel 226 a.C. con l'attribuzione all'Isola dello statuto di provincia di Roma. Il settore minerario rivestiva una enorme importanza per l'economia e la sicurezza dell'Impero, motivo per il quale veniva regolato, curato e disciplinato nei minimi particolari. In quest'epoca vennero migliorate le tecniche estrattive nello sfruttamento di giacimenti superficiali e delle risorse sotterranee, furono realizzate opere di scavo per aprire pozzi e gallerie, vennero introdotti sistemi di ventilazione, illuminazione e trasporto dei minerali in superficie e ci si preoccupò dell'armamento delle gallerie. La produzione mineraria crebbe intensamente, soprattutto per quanto riguardava i ricchi giacimenti di piombo e argento, adottato come base monetaria già nel 269 a.C. I Romani estesero le ricerche di nuovi giacimenti in tutto il territorio isolano, dalla Nurra al Goceano, alla Barbagia, all'Ogliastra, anche se la zona in cui erano presenti i centri di maggiore attività metallurgica e commercializzazione dei minerali rimaneva quella del Sulcis-Iglesiente. Tra i domini di Roma, la Sardegna divenne, dopo la Spagna e la Bretagna, la terza regione per quantità di metalli prodotti. Si stima che, durante tutto il periodo

della dominazione romana, l'intera produzione mineraria sia consistita in circa seicentomila tonnellate di piombo e mille di argento.

Alla caduta dell'Impero Romano seguì un crollo di tutta l'economia legata all'attività estrattiva, con una graduale perdita di importanza delle miniere sarde, che con il passare del tempo si limitarono esclusivamente a coprire la domanda di minerali proveniente dal solo mercato interno.

### Epoca Medioevale

In seguito alla caduta dell'Impero Romano d'Occidente le vicende storiche della Sardegna si allontanarono da quelle della Penisola per l'avvento del dominio bizantino, durante il quale la produzione mineraria e l'attività metallurgica registrarono una certa rinascita e l'argento tornò ad essere uno dei principali prodotti di esportazione dell'Isola. Si conobbe in questo periodo l'affermarsi di una reale autonomia politico-amministrativa, con la costituzione dei Giudicati di Cagliari, Arborea, Torres e Gallura, e i pochi documenti risalenti al periodo portano a pensare che l'attività estrattiva non venne del tutto abbandonata. Fu però con l'avvento delle Repubbliche Marinare di Pisa e Genova, tra la fine del primo e l'inizio del secondo millennio, che l'economia legata al settore riprese vigore, grazie ad una efficace opera di penetrazione e sfruttamento che riaprì i mercati europei all'Isola, con una significativa ripresa del commercio dell'argento e dei minerali sardi in genere. Nel 1259 gran parte del sud-occidente sardo venne concesso in feudo alla famiglia pisana Donoratico della Gherardesca, che intensificò il controllo sulla zona, fortificò la città di Iglesias, fondò la zecca dove si batteva moneta d'argento e promulgò leggi che favorissero l'attività di scavo: si ebbe così un massiccio sfruttamento

delle risorse del sottosuolo, con l'introduzione di tecniche largamente impiegate negli anni a venire. I giacimenti venivano coltivati mediante scavi di lieve entità che potevano estendersi sia orizzontalmente, con la creazione di gallerie o trincee sulla direzione di vene che potevano portare anche a un discreto sviluppo, sia in profondità, attraverso pozzetti verticali profondi solo pochi metri, dato che all'epoca erano stati individuati soprattutto i ricchi filoni superficiali. I minatori attaccavano la roccia con picconi, punteruoli, mazzette, cunei e leve, trasportavano il materiale in borse di cuoio o lo accumulavano in apposite piazze alla bocca di pozzi e gallerie. Qui veniva eseguita la grossolana frantumazione attraverso pestatura e la prima cernita manuale, per passare poi alla fase di lavaggio lungo i corsi d'acqua, che avveniva attraverso dei crivelli a mano con cui si separava il piombo argentifero da quello sterile. La successiva fase di commercializzazione del materiale arricchito, accuratamente disciplinata, si esplicava in genere già sulla piazza di pestatura e cernita. Essa coinvolgeva direttamente i Guelchi, proprietari degli impianti di fusione spesso localizzati nelle vicinanze di corsi d'acqua, di portata tale da poter garantire la forza motrice sufficiente ad azionare i grossi mantici che insufflavano aria sul carbone di legno nel punto in cui la galena doveva fondere. La fase critica del processo di fusione era la colata, per la cui fuoriuscita erano predisposte apposite bocche laterali dove gli operai specializzati, detti smiratori, separavano manualmente l'argento dal piombo, arrivando ad estrarne fino a 12 kg per tonnellata. La disciplina legislativa promulgata dai Donoratico regolamentò l'attività del Sulcis-Iglesiente fino al XVIII secolo, ispirando, intorno al 1250, la stesura del Breve di Villa di Chiesa, documento con cui

- 10 -

nasce in Sardegna la normativa sulla attività mineraria, e che, dopo vari rimaneggiamenti, raggiunse la formulazione definitiva l'8 giugno 1327 ad opera degli Aragonesi. Tale documento è il più antico in Italia a disciplinare l'attività estrattiva sotto tutti i suoi aspetti, dall'organizzazione del lavoro, al carattere finanziario, alla delimitazione delle proprietà nelle aree di coltivazione mineraria. La politica degli Aragonesi nel XVI secolo non favoriva l'attività estrattiva, con un conseguente calo di produzione che portò ad un rapido declino del settore, anche in concomitanza del nuovo interesse degli Spagnoli verso quelle che sembravano le più allettanti potenzialità delle Americhe. La Sardegna, per secoli una tra le più importanti aree di produzione dell'argento, finì per importare il prezioso metallo che arrivava in ingenti quantità dai possedimenti spagnoli nel Nuovo Mondo, e conservò solo una debole attività estrattiva del piombo. Durante la dominazione spagnola si stabilì l'uso di subordinare l'esercizio dell'attività mineraria all'assegnazione di concessioni statali: ne furono assegnate almeno quaranta per l'esplorazione e lo sfruttamento dei siti minerari sardi, di cui otto estese a tutto il territorio regionale e diciotto limitate al solo distretto di Iglesias. Si registrò quindi una certa ripresa dell'attività estrattiva, con la riapertura di scavi a Portoscuso, Funtanamare e Porto Paglia, dai quali si arrivò ad estrarre oltre 1500 quintali di galena attorno al 1650. Il settore minerario conobbe infine una nuova e definitiva crisi nella seconda metà del XVII secolo, a causa di pestilenze e carestie che portarono l'Isola a una disastrosa situazione economica per il resto del periodo spagnolo.

## Epoca sabauda

Nel 1720 l'Isola passò a far parte dei possedimenti dei duchi di Savoia, che acquisivano così il titolo di re di Sardegna; lo stato sabaudò diede nuovo impulso all'attività mineraria, l'esercizio della quale rimaneva legato all'assegnazione di concessioni generali per l'effettuazione di ricerche e la coltivazione di miniere su tutto il territorio. I primi ad ottenere questo tipo di concessione, della durata di vent'anni, furono i cagliaritari Pietro Nieddu e Stefano Duranti, ma diversi stranieri giunti con i nuovi dominatori diedero inizio alla fase moderna della storia mineraria sarda, con la fondazione della Compagnia Reale delle Miniere di Sardegna ad opera del console svedese Carlo Gustavo Mandel. Egli in breve tempo sottrasse la concessione agli antagonisti ed ottenne anche il diritto in esclusiva alla fusione e alla commercializzazione dei prodotti. La concessione divenne esecutiva nell'agosto del 1741 e Mandel, insieme a Christian Bösen, tecnico tedesco incaricato della direzione delle fonderie e delle miniere, iniziarono il lavoro con una attenta ispezione delle zone minerarie dell'Isola, estraendo un campione di minerali che inviarono in Inghilterra per analizzarne le caratteristiche e farli conoscere al mercato locale. Soprattutto per impulso di Mandel, vennero introdotte diverse innovazioni tecnologiche, tra cui l'impiego dell'esplosivo durante i lavori di estrazione. Egli promosse l'arrivo in Sardegna di maestranze straniere (perlopiù tedesche) esperte nell'attività mineraria e fece costruire presso Villacidro una grande fonderia di piombo. L'obiettivo era quello di poter ottenere in tempi brevi notevoli guadagni, ma le cose andarono diversamente: le difficili condizioni climatiche, un ambiente sociale ostile e la malaria, che in due anni

uccise un terzo degli operai tedeschi, ebbero il sopravvento. Quasi tutti i sopravvissuti poi lasciarono l'isola insieme a Bösen, che abbandonò l'incarico e l'impresa lasciandola sprovvista delle maestranze. Mandel continuò a mandare avanti i lavori anche in questa difficile situazione, ma i risultati economici non arrivarono e la concessione venne revocata nel 1758 per inadempienza contrattuale. Dopo una serie di passaggi a diverse gestioni, nel 1762 i Piemontesi affidarono la responsabilità di tutto il settore minerario al direttore del Distretto delle miniere Pietro del Belly, che lo gestì con notevole impegno e capacità per quasi 30 anni, esplorando l'intera Isola alla ricerca di nuovi giacimenti, con un'opera di coordinazione di un gran numero di piccole miniere dove i cavatori venivano pagati per lo più con una parte del materiale estratto. Alla morte di del Belly, nel 1791, il settore ormai languiva e molte fonderie vennero chiuse, tra le quali quella di Villacidro, che cessò di funzionare dopo 54 anni di attività. Gli ultimi anni del XVIII secolo furono comunque importanti per l'industria mineraria sarda: furono scoperte tracce di ferro presso Arzana e di antimonio nelle vicinanze di Ballao. Un nuovo impulso arrivò agli inizi del XIX secolo: allora esistevano in Sardegna 59 miniere, prevalentemente di piombo, ferro, rame e argento, e numerosi piccoli e grandi imprenditori si cimentarono nel settore estrattivo, ottenendo comunque delle concessioni limitate. Nel rinnovato fervore minerario trovarono posto anche alcuni avventurieri piemontesi e di altre nazioni europee, tra i quali il romanziere francese Honoré de Balzac che, nel 1838, diede vita ad una fallimentare iniziativa volta allo sfruttamento di antiche scorie piombifere nella Nurra. Nel 1840 venne istituita la nuova legge mineraria, che prevedeva la separazione della proprietà del



suolo da quella del sottosuolo, e secondo la quale chiunque poteva richiedere l'autorizzazione ad effettuare ricerche minerarie, con l'unico obbligo per il concessionario di versare all'erario il 3% del valore dei minerali estratti e di risarcire i proprietari dei fondi degli eventuali danni arrecati. L'attività estrattiva veniva suddivisa in quattro gruppi di materiali:

1. miniere
2. torbiere, terre, sabbia aurifera
3. cave di marmi, calce e gesso
4. sale, nitro e salnitro

Le imprese minerarie vennero notevolmente avvantaggiate rispetto ai proprietari dei terreni, spesso eccessivamente esosi nelle richieste finanziarie per l'acquisto o l'affitto dei fondi, quindi l'attività di ricerca ed estrazione riprese con un consistente impulso. Questa disciplina entrò pienamente in vigore in Sardegna solo nel 1848 e richiamò nell'Isola numerosi imprenditori, in particolare liguri e piemontesi, portando alla nascita delle prime Società con lo scopo di sfruttare i promettenti giacimenti sardi. La maggior parte delle Società minerarie operanti nel territorio isolano avevano capitale non sardo, con l'unica e significativa eccezione rappresentata dall'imprenditore Giovanni Antonio Sanna, che nello stesso anno ottenne una concessione perpetua su circa 1200 ettari situati nell'area di Montevecchio. Sotto la sua direzione il polo minerario ebbe una notevole ripresa nella produzione. Il nuovo sviluppo non interessò solo le miniere del Sulcis, ma coinvolse tutta l'Isola, e con l'arrivo di nuovi capitali giunse anche manodopera specializzata continentale, alla quale vennero affidati incarichi di rilievo, mentre i minatori sardi erano impegnati

perlopiù in mansioni generiche. La ripresa economica e industriale in Europa generò un aumento della richiesta di materie prime, tanto che vennero sfruttate anche le discariche di minerali. Ciò è testimoniato dall'edificazione, ad opera di Enrico Serpieri, delle fonderie di Domusnovas e di Fluminimaggiore per lo sfruttamento del minerale di piombo presente nelle scorie di vecchie lavorazioni: nel 1862 le due fonderie di Serpieri producevano il 56% di tutto il piombo d'opera sardo ricavato da vecchie scorie.

### Dopo l'Unità d'Italia

Con l'Unità d'Italia le disponibilità minerarie isolate divennero una importante risorsa strategica, alla quale il governo e diversi uomini politici dedicarono una rinnovata attenzione; tuttavia, cresceva il malessere dell'Isola all'interno del nascente Stato italiano, malessere che nel 1868 sfociò in disordini popolari a Nuoro a causa della vendita da parte dello Stato dei beni demaniali. Questi avvenimenti portarono all'istituzione di una commissione parlamentare di inchiesta presieduta da Agostino de Pretis, e della quale faceva parte il deputato piemontese Quintino Sella, ingegnere minerario. Questi, dopo un viaggio di diciotto giorni nell'Isola attraverso i distretti minerari e le industrie metallurgiche, elaborò una relazione sulle condizioni dell'industria mineraria sarda, pubblicata poi nel 1871, dalla quale ne emergeva chiaramente la crescente importanza nell'ambito dell'economia nazionale: nel 1868-69 erano impiegati nel settore minerario oltre 9000 addetti, con una produzione di circa 128000 tonnellate di minerale, per agevolare il trasporto del quale ai punti di imbarco le Società minerarie sarde avevano costruito, fino al 1870, circa 30 km

di ferrovie e 181 km di strade. Il crescente sviluppo del settore estrattivo favorì l'arrivo nell'Isola di ingegneri, geologi, impiegati amministrativi e manodopera qualificata dalle altre regioni del Regno, e venne portata alla luce una evidente disparità di trattamento economico tra le maestranze sarde e quelle del continente, nonché la necessità di istituire una scuola per capi minatori e fonditori ad Iglesias. La relazione di Sella incitava allo stanziamento di nuovi capitali per agevolare lo sviluppo dell'industria mineraria e sottolineava l'urgenza di realizzare una rete stradale di collegamento tra le miniere e completare le principali strade ferrate, nonché di istituire e sviluppare un adeguato sistema di comunicazioni telegrafiche.

Nel 1871 l'industria mineraria italiana conobbe la nascita di un nuovo settore, infatti, con la definitiva scoperta e l'inizio delle coltivazioni del filone argentifero del Sarrabus, si avviava anche in Italia la produzione dei minerali d'argento, aprendo così un ciclo produttivo della durata di un quarantennio. Nei periodi di maggior splendore il giacimento sarrabese arrivò ad occupare anche 1500 operai, distribuiti tra le miniere di Masaloni, Giovanni Bonu, Monte Narba, Perd'Arba, Baccu Arrodas, Tuviois, S'erra e S'Illici, Nicola Secci.

Successivamente, al piombo e all'argento, da sempre i metalli principalmente estratti nell'Isola, si affiancò lo zinco, grazie al rinvenimento di *calamine* (silicati di zinco) nella miniera di Malfidano a Buggerru, e che rappresentò con il tempo circa il 10% della produzione mondiale. Al grande sviluppo di fine secolo contribuirono soprattutto le innovazioni tecnologiche, quali l'utilizzo della dinamite, l'arrivo dell'energia elettrica, l'impiego delle laverie e nuovi sistemi di eduazione dell'acqua.

Nonostante le difficoltà di mercato di fine '800, le miniere sarde continuarono a svilupparsi, grazie soprattutto all'affermarsi della grande industria nel continente legata in particolare alla produzione del ferro e dell'acciaio.

### Il XX secolo

Il 1900 iniziò sotto i migliori auspici per l'economia della Sardegna: l'arrivo di nuovi capitali contribuì da un lato ad incrementare la produzione di minerale, dall'altro a migliorare la qualità della vita degli operai. Infatti, oltre alla diffusione dell'energia elettrica, furono costruite scuole, ospedali ed abitazioni più confortevoli. Agli inizi di questo secolo Lord Thomas Alnutt Brassey rilevò quasi tutte le concessioni sarde dando vita a una nuova società, la Pertusola, con l'intento di incrementare ulteriormente la produzione grazie soprattutto all'utilizzo dell'energia elettrica nelle miniere. Nacquero così delle centrali elettriche, tra le quali quella di Portovesme, che utilizzava il carbone Sulcis. Inoltre si ebbero ulteriori innovazioni tecnologiche quali la flottazione (per arricchire i minerali) e l'elettrolisi (per recuperare lo zinco residuo). L'incremento della produzione delle miniere del Sulcis andò a discapito degli operai, costretti a turni massacranti e condizioni di vita precarie, anche se migliori rispetto a quelle dei contadini di allora; questa situazione sfociò in scioperi talvolta repressi con la forza, come avvenne a Buggerru nel 1904. La grave crisi del 1929 portò le società minerarie a riduzioni del personale o delle ore di lavoro, ma nonostante queste misure alcune miniere furono costrette ad interrompere la produzione (Malfidano, Arenas, Candiazzus e Nebida); non andò diversamente per la società di Montevecchio, costretta dal governo

fascista a farsi carico di alcune società minori che inevitabilmente la portarono al fallimento e quindi all'acquisto da parte della società Montecatini. Comunque, nonostante la crisi, il nuovo regime autarchico continuò a sviluppare le infrastrutture e la produzione delle miniere: fu così che tutte ripresero sviluppo, soprattutto Montevecchio e le miniere di carbone del Sulcis, le quali portarono alla nascita di Carbonia. La città 'operaia', inaugurata da Mussolini nel 1938, fu da lui stesso voluta fortemente per dimostrare la grande capacità organizzativa e produttiva del fascismo. Anche dopo la II guerra mondiale, nonostante il mercato di libera concorrenza, le miniere continuarono la loro produzione grazie alla richiesta di materie prime necessarie per la ricostruzione del Paese ma, nel 1956, un abbassamento del valore dei minerali portò inesorabilmente alla chiusura di alcune miniere minori, e la stessa Pertusola dimostrò la volontà di abbandonare il settore. La chiusura delle miniere (tra cui l'Argentiera e Ingurtosu) continuò fino al 1968, quando l'intervento pubblico dello Stato portò ad una svolta con la costituzione dell'Ente Minerario Sardo, sotto il controllo della Regione, che l'anno successivo rilevò le miniere appartenenti alla Pertusola. Ma nonostante la partecipazione pubblica, che portò ad una meccanizzazione profonda, non si riuscì a risollevarne una situazione finanziariamente compromessa, ed anche le miniere di carbone, esaurito il periodo favorevole autarchico, entrarono in crisi. I motivi di questo continuo declino sono da ricercare negli alti costi di produzione (che non rendeva il minerale sardo competitivo sul mercato) e nel continuo diminuire del valore dei metalli. Inoltre occorre ricordare che i filoni migliori erano ormai esauriti, il tenore del minerale estratto continuava a

- 18 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

calare e la maggiore presenza degli ossidanti rispetto ai solfuri rendevano il minerale meno pregiato. Nei primi anni '80 le miniere passarono all'ENI che, nonostante ulteriori finanziamenti, non riuscì a migliorare la disastrosa situazione. In seguito, la gestione delle poche miniere metallifere ancora aperte passò alla Società Mineraria Italiana (controllata dalla Regione Sarda), che operò fino al 1995, anno in cui chiuse definitivamente anche l'ultima miniera e i pochi minatori ancora in servizio furono impegnati nelle opere di messa in sicurezza dei cantieri minerari. Attualmente solo le miniere di carbone Seruci e Nuraxi Figus sono aperte (ma non in produzione): il loro destino è ancora incerto, legato al progetto di 'gassificazione' e forse alla vendita della concessione ad una società statunitense.

### **3 Il distretto piombo-zincifero del Medio Campidano**

Si estende nell'Arburese-Guspinese, con un complesso filoniano che si sviluppa per oltre 10 km, e per molto tempo ha rappresentato una fonte di piombo, zinco ed altri metalli (argento, cadmio, rame, antimonio, bismuto) di assoluta rilevanza, non solo regionale, ma anche a livello nazionale ed europeo.

#### La miniera di Montevecchio

- 19 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

La storia della miniera di Montevecchio risale all'età prenuragica, epoca alla quale sono databili i resti rinvenuti nella località di Sciria, presso un filone emergente. I Romani diedero inizio allo sfruttamento del giacimento dei minerali di piombo, tuttavia il primo documento che attesta l'attività mineraria nel luogo risale al 1628 ed è rappresentato dall'editto per la concessione delle miniere sarde, ed in particolare di Montevecchio, a Giacomo Esquirro. Successivamente, sotto il dominio sabauda, l'attività estrattiva ha cambiato diverse gestioni finché nel 1848 un imprenditore sassarese, Giovanni Antonio Sanna, ottiene la concessione perpetua per lo sfruttamento delle miniere della zona di Montevecchio, nei territori di Guspini e Arbus. E' l'inizio di un'avventura umana e sociale che andrà avanti per oltre 150 anni, fino al 1991, anno di chiusura dell'ultimo pozzo e di conclusione definitiva dei lavori di estrazione. In questo lungo arco di tempo la realtà di Montevecchio è andata ampliandosi: è diventata una delle miniere più importanti d'Europa trasformandosi da borgo minerario a cittadina dotata di ospedale, scuole, ufficio postale, cinema e campo sportivo, e abbellita da numerosi edifici che ospitavano gli uffici amministrativi della società. Alla chiusura delle miniere, il borgo è andato spopolandosi e attualmente i circa 400 abitanti vivono negli edifici che un tempo ospitavano i tecnici e gli operai della miniera. Rimangono a testimonianza della passata grandezza i numerosi ed eleganti edifici e palazzine nei cantieri di Levante (Piccalinna, Figura 1.1), di Ponente, e soprattutto nella località di Gennas, collina su cui sorge il borgo e linea di confine tra Levante e Ponente.

La mineralogia primaria del filone di Montevecchio comprende galena e blenda quali minerali utili principali, accompagnati da quantità subordinate di pirite, barite, calcopirite, arsenopirite. Il maggior minerale associato a quelli primari è il quarzo, con locali concentrazioni di carbonati (dolomite, ankerite, calcite).

Figura 1.1



### La miniera di Ingurtosu

Ingurtosu è una frazione del comune di Arbus ed è stata, insieme a Montevecchio, sede di una delle più importanti miniere della Sardegna, in quanto rappresentava il centro direzionale della miniera omonima e di quella vicina di Gennemari, entrambe facenti parte del complesso minerario chiamato *filone di Montevecchio*, dove si estraevano piombo, zinco e argento. Il giacimento di Ingurtosu, sebbene conosciuto fin dall'antichità, è stato coltivato in maniera intensa soprattutto in epoca moderna. In particolar modo la seconda metà del XIX secolo ha visto svilupparsi un complesso minerario ricco di cantieri ed edifici industriali e civili. La prima crisi si ebbe nel 1943, e dopo una lieve ripresa nel dopoguerra, il progressivo declino portò alla chiusura

- 21 -



definitiva nel 1968. Oggi Irgurtosu è un monumento di archeologia industriale mineraria e fa parte di una vasta area dichiarata *patrimonio culturale dell'umanità* dall'Assemblea Generale dell'UNESCO e dal nascente *Parco Geominerario Storico e Ambientale* della Regione Sardegna. Lungo la vallata che collega il villaggio al mare si trovano alcuni pozzi minerari, tra cui il "pozzo Gal" (Figura 1.2) recentemente restaurato, e gli imponenti ruderi della laveria Brassey, costruita nel 1900, in località Naracauli.

Figura 1.2



### La miniera di Gennemari

Nel 1850 i commercianti liguri Marco e Luigi Calvo ottennero i permessi per effettuare ricerche nella regione di Gennemari ed Irgurtosu e costituirono la Società Mineralogica di Gennemari. Qualche anno dopo, nel 1857, la miniera fu venduta ad imprenditori francesi che costituirono la Società Civile delle miniere di Gennemari e Irgurtosu, e chiamarono a dirigerla un esperto tecnico di origini tedesche, l'Ingegnere Bornemann. Nel 1899 le Miniere di Gennemari (Figura 1.3) ed Irgurtosu furono cedute alla più importante società mineraria

- 22 -

inglese, la Pertusola Limited, che, grazie ad un notevole investimento economico, portò alla costruzione di una moderna laveria meccanica nella regione di Naracauli e alla realizzazione di una teleferica per il collegamento con Gennemari. Sotto la gestione della Pertusola il settore riprese vigore per diversi anni, ma nel periodo successivo alla seconda guerra mondiale la miniera, ormai non più competitiva, passò al gruppo Montepioni-Montevecchio, che procedette alla chiusura di tutti i cantieri.

Figura 1.3



#### 4 Il distretto minerario-industriale del Sulcis-Iglesiente

- 23 -

Severyn Salis - “Stima dell’impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d’alveare” - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

Il distretto del Sulcis-Iglesiente è stato uno dei maggiori produttori europei di piombo e zinco, con produzioni significative di altri metalli quali argento, cadmio e mercurio, ma il settore che si è maggiormente sviluppato è sicuramente quello carbonifero. A questo territorio appartiene anche il comprensorio industriale di Portoscuso-Portovesme, costituito da insediamenti produttivi di prima lavorazione del settore metallurgico e centrali termoelettriche.

#### La miniera di Monte Agruxiau

La frazione di Monte Agruxiau appartiene al comune di Iglesias e la sua storia mineraria va collocata all'interno di quella del grande complesso di Monteponi, dove si coltivava un giacimento famoso fin dall'antichità per la ricchezza dei suoi minerali. La miniera (Figura 1.4) conobbe il suo massimo sviluppo nel XIX secolo, quando nel 1876 fu accordata la concessione alla Società Civile delle Miniere di Iglesias, e riguardava principalmente lo sfruttamento di minerali di zinco.

Figura 1.4



## L'area di Cortoghiana

Il territorio di Cortoghiana è inserito in un ambiente di rilevanza sia mineraria (quella di Cortoghiana rappresenta una tra le grandi miniere di carbone della Sardegna che per lungo tempo consentì rilevanti produzioni grazie alla coltivazione di un importante giacimento di lignite) sia industriale, appartenendo alla grande area degli stabilimenti di Portoscuso-Portovesme, costituita da alcuni importanti insediamenti:

- ❑ Eurallumina (Figura 1.5): produce allumina a partire dalla bauxite mediante processo Bayer (attacco alcalino con soda);
- ❑ Alcoa (Figura 1.6): produce alluminio per riduzione elettrolitica dell'allumina, con conseguenti rilasci in ambiente di fluoro (gas e particolato), ossidi di zolfo e in misura minore IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) e COV (Composti Organici Volatili);
- ❑ Otefal Sail: produce laminati di alluminio di diversa tipologia; l'alluminio subisce nella fonderia un primo trattamento di laminazione pesante, quindi passa alla fase di stiratura ed alla laminazione sottile. I rifiuti prodotti sono acque acide e alcaline, inviate al depuratore, e acque contaminate da estratti di vernice, trattate con acido solforico e bisolfito che provoca la riduzione di Cr(VI) a Cr(III), neutralizzate poi con alcali, trattate con del flocculante e infine decantate. I fanghi prodotti vengono filtrati e pressati, le acque scaricate. Le emissioni in atmosfera sono caratterizzate per lo più da polveri e COV;
- ❑ Portovesme (ex Enirisorse): produce piombo, zinco, cadmio, acido solforico e mercurio, principalmente da solfuri, anche misti, di piombo e

zinco, e fumi di acciaieria. Le emissioni in atmosfera sono costituite da polveri, SO<sub>2</sub>, CO, Pb, Zn e Cd;

- ❑ Centrale termoelettrica ENEL Sulcis (Figura 1.6): avviata nel 2006, produce energia elettrica attraverso combustione di gasolio, carbone e olio combustibile, ma anche biomasse, e attualmente è nella fase di messa a regime;
- ❑ Centrale termoelettrica ENEL Portoscuso: attualmente in riserva fredda, produce energia elettrica mediante combustione di olio combustibile desolfurato e gasolio. Le emissioni in atmosfera sono costituite da SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO e polveri, mentre i rifiuti sono principalmente costituiti da ceneri di carbone e olio, gessi non commerciabili e fanghi.

Figura 1.5



Figura 1.6



Figura 1.7



## 5 Impatto ambientale dell'attività mineraria in Sardegna

Le miniere hanno rappresentato per secoli una delle più importanti attività economiche della Sardegna, soprattutto nel Sulcis-Iglesiente e nel Medio Campidano, dove l'attività mineraria ha inciso in maniera profonda sulla storia, sull'economia, sulla cultura e sul paesaggio. Oggi le coltivazioni dei filoni metalliferi sono del tutto cessate, soprattutto a causa della maggiore competitività dei distretti di altre parti del mondo. La dismissione delle miniere ha lasciato però sul territorio un immenso patrimonio di archeologia mineraria, fatto di edifici residenziali e industriali, macchinari, scavi a cielo aperto, gallerie, pozzi ecc., indubbiamente di grande valore storico e culturale, ma anche di rilevante impatto ambientale. Le aree estrattive dismesse rappresentano infatti un serio problema per l'ambiente, in parte per le gravi alterazioni prodotte sul paesaggio, ma soprattutto per la presenza di materiali di scarto abbandonati in discariche grandi e piccole, di cui l'area sud-occidentale dell'Isola appare disseminata. Le tipologie di questi materiali sono estremamente varie: si va dagli sterili di miniera e di laveria ai fanghi di decantazione ed elettrolisi, spesso eterogenei per composizione chimica e

- 27 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

granulometria. Le discariche di sterili post-estrazione hanno una composizione chimica e tenori in metalli generalmente vicina a quella delle rocce di origine e, pertanto, il loro potenziale inquinante potrebbe essere paragonabile a quello del substrato geochimico naturale; per quanto riguarda i depositi di scorie e fanghi derivati dai procedimenti mineralurgici e metallurgici, invece, il potenziale inquinante è decisamente elevato, ed è rappresentato dalla dispersione nell'ambiente di elementi tossici quali Cu, Pb, Zn, Cd, Hg, Mn, Cr, As, Se, Bi, Co ecc.

La veicolazione di questi elementi può avvenire:

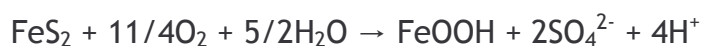
- ❑ per via meccanica, attraverso scivolamento gravitativo, ruscellamento, trasporto eolico;
- ❑ per via chimica, attraverso trasporto in soluzione;

in ogni caso, la via preferenziale è rappresentata dal circuito delle acque superficiali, in grado di trasportare gli elementi tossici anche a distanze notevoli dalla sorgente. Naturalmente si tratta di fenomeni di dispersione che avvengono naturalmente ogni qualvolta rocce mineralizzate affiorano in superficie, ma la cui portata è esaltata enormemente dall'intervento antropico mediante coltivazione mineraria.

#### Meccanismi di rilascio dei metalli negli ambienti minerari

La situazione dei territori oggetto dell'indagine interessa giacimenti di minerali metalliferi in cui i metalli pesanti sono, nella mineralizzazione primaria, associati in prevalenza a solfuri e secondariamente ad ossidi. Poiché i solfuri sono generalmente instabili in condizioni esogene, l'esposizione dei corpi

minerari all'ambiente superficiale provoca la loro ossidazione e/o dissoluzione, con conseguente rilascio dei metalli contenuti. Di notevole importanza è la reazione di ossidazione/dissoluzione della pirite (FeS<sub>2</sub>), il solfuro più comune e abbondante, che può essere così schematizzata:



La reazione produce un ambiente estremamente acido (2<pH<4), che favorisce l'ulteriore dissoluzione di altri solfuri ed il trasporto in soluzione dei metalli pesanti, secondo il fenomeno conosciuto come *acid mine drainage* (AMD), probabilmente il problema di maggior rilevanza ambientale associato all'attività mineraria. Altri solfuri contenenti Fe (pirrotina, arsenopirite, alcune varietà di blenda) hanno un comportamento analogo a quello della pirite.

Nella Tabella 1.1 vengono riportate le caratteristiche di drenaggi da miniere per l'estrazione di piombo e zinco [6].

Tabella 1.1

Parametro	Concentrazione (mg/l) Miniere in siti con caratteristiche acide	Concentrazione (mg/l) Miniere in siti con caratteristiche non acide
Solidi sospesi totali	<2 ÷ 58	2 ÷ 138
COD	15.9 ÷ 95.3	<10 ÷ 631
Oli e lubrificanti	0 ÷ 3	3 ÷ <29
P	0.002 ÷ 0.075	0.03 ÷ 0.15
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /NH <sub>3</sub>	<0.05 ÷ 4.0	<0.05 ÷ 1.0



Hg	0.0001 ÷ 0.0013	<0.0001 ÷ 0.0001
Zn	1.38 ÷ 38.0	0.03 ÷ 0.69
Cu	<0.02 ÷ 0.04	<0.02
Cd	0.016 ÷ 0.055	<0.002 ÷ 0.015
Cr	0.17 ÷ 0.42	<0.02
Mn	<0.02 ÷ 57.2	<0.02 ÷ 0.06
Fe	0.12 ÷ 2.5	<0.02 ÷ 0.90
Solfati	48 ÷ 775	37 ÷ 63
Cloruri	<0.01 ÷ 220	3 ÷ 57
Fluoruri	0.06 ÷ 0.80	0.3 ÷ 1.2

È opportuno sottolineare che la produzione di drenaggio acido viene - più o meno efficacemente - contrastata da reazioni di neutralizzazione (principalmente ad opera di carbonati quali calcite, dolomite, ankerite, e secondariamente di silicati quali olivina, clorite, ecc), che hanno come conseguenza la fissazione dei metalli in minerali secondari attraverso fenomeni di coprecipitazione e/o adsorbimento. Particolarmente significativo il ruolo svolto dagli idrossidi di ferro, che possono adsorbire efficacemente elementi quali As, Pb e altri. Infine possono svolgere un compito importante i batteri, sia per ciò che concerne l'ossidazione dei minerali primari che la fissazione dei metalli in fasi di neoformazione.



### Biomonitoraggio ambientale

#### 1 Biomonitoraggio e bioindicatori

Con il termine biomonitoraggio viene indicato l'insieme di metodologie che studiano lo stato di salute di un ambiente, soprattutto per quanto attiene le azioni di sostanze inquinanti, attraverso l'impiego di esseri viventi. Questo approccio metodologico si basa sulla stretta correlazione esistente tra l'ambiente e gli organismi in esso presenti. Questi ultimi possono essere considerati specchio dell'ambiente stesso, e strumenti per verificare le deviazioni da una situazione che si ritiene normale o di base, avendo stabilito a priori i limiti di accettabilità delle indicazioni ottenute.

Gli organismi viventi impiegati nel biomonitoraggio prendono il nome di indicatori ambientali, e per essi è possibile distinguere tre categorie:

- ❑ Specie indicatrici: organismi, vegetali o animali, la cui presenza (o assenza) in un ambiente può essere addebitata in modo specifico ad un determinato tipo di inquinamento presente nell'ambiente stesso;
- ❑ Indicatori veri: organismi che manifestano modificazioni morfologiche e/o strutturali in seguito alla presenza di un determinato inquinante;

- Accumulatori o collettori: organismi in grado di tollerare la presenza degli inquinanti accumulandoli nei loro tessuti.

In linea di principio un bioindicatore può essere considerato come lo strumento biologico per valutare una modificazione, generalmente degenerativa, della qualità dell'ambiente. Esso, a seconda dei casi, potrà essere una comunità, un gruppo ecologico, una specie particolarmente sensibile, oppure una porzione di organismo (organi, tessuti, cellule, soluzione di estratti enzimatici). I requisiti di un buon bioindicatore variano con la natura dello stesso, con il tipo di risposta che è in grado di esprimere, e con il tipo e la durata dell'alterazione ambientale che si intende rilevare. Il parametro discernente è senza dubbio l'accertata sensibilità nei confronti di un'azione di disturbo, ma altrettanto importanti sono la sua facilità di identificazione, di delimitazione spaziale, di reperibilità e di campionamento. Tutti questi fattori conferiscono maggiore efficacia al biomonitoraggio in termini di qualità di informazione ottenibile attraverso la valutazione degli effetti prodotti dalle alterazioni ambientali sul bioindicatore. I tipi di bioindicatori, le modalità diversificate di risposta e le condizioni ambientali da rilevare permettono una vasta scelta di uso: microrganismi del suolo, organismi vegetali come i licheni e le briofite, tessuti e organi di vegetali, come le radici, le foglie e i fiori, organismi animali come gli anellidi, alcuni insetti, tra cui le api, alcuni anfibi, rettili, pesci, uccelli e mammiferi.

## **2 Biomonitoraggio e misure strumentali**

Il biomonitoraggio rappresenta sicuramente una risposta importante alla necessità di ottenere un quadro conoscitivo di base sullo stato di un ambiente. Tuttavia, quando si indaga su alterazioni ambientali ad opera di agenti inquinanti, è indiscutibilmente necessario verificare in maniera oggettiva la natura e l'entità del danno attraverso protocolli d'analisi chimico-fisiche. È dunque legittimo fare un confronto tra biovalutazione e misure strumentali, al fine di definire meglio le caratteristiche dei due metodi, che si differenziano in maniera sostanziale:

- ❑ la biovalutazione fornisce misure indirette, non caratterizzate da oggettività e precisione, che invece sono insite nelle misure di tipo strumentale;
- ❑ un bioindicatore non può fornire una risposta selettiva, ma rappresenta una sintesi di tutte le componenti ambientali evidenziando, in particolare, effetti combinati delle sostanze su più bioindicatori e consentendo valutazioni incrociate;
- ❑ le stime fornite dagli strumenti di misura sono caratterizzate da selettività e precisione, ma non evidenziano effetti sinergici;
- ❑ il risultato della biovalutazione può essere falsato dalla non continuità nelle prestazioni del bioindicatore. Esso infatti può sviluppare un buon grado di adattamento all'inquinamento, attraverso l'attivazione di barriere selettive, forme di inertizzazione, meccanismi di espulsione rapida delle sostanze tossiche. Gli strumenti di misura, se opportunamente controllati, non subiscono invece variazioni nelle prestazioni;

- ❑ i bioindicatori vanno spesso impiegati in funzione del loro ciclo biologico, mentre la misura strumentale non risente di influenze periodiche;
- ❑ gli indicatori biologici all'interno di uno stesso gruppo o famiglia possono rispondere alle azioni di disturbo in maniera diversificata ed individuale, e uno stesso individuo può variare la sua risposta in modo diverso in periodi diversi;
- ❑ il biomonitoraggio porta ad una valutazione degli effetti di più tipi di inquinanti, segnalando anche la presenza di eventuali nuove sostanze, mentre gli strumenti rivelano solo quelle per cui sono stati progettati;
- ❑ attraverso i bioindicatori si possono ottenere informazioni non determinabili con metodi strumentali, come la complessità biologica, il valore ecologico, la misura del dinamismo (progressivo o regressivo) della comunità, dei processi di accumulo del danno, ecc.;
- ❑ la biovalutazione presenta indubbiamente costi più contenuti rispetto all'analisi strumentale, ed i vantaggi economici aumentano con l'aumentare della vastità delle aree di indagine e negli studi su ampia scala, quando l'inquinamento è diffuso.

In sintesi, il monitoraggio biologico e quello strumentale sono alternativi soltanto nei metodi, ma non negli scopi, e rappresentano l'uno l'integrazione dell'altro. Il biomonitoraggio rappresenta infatti il necessario studio preliminare dei sintomi ambientali che permette di indirizzare e guidare l'approfondimento chimico-fisico. In tal modo è possibile estendere le indagini sia in senso spaziale che temporale, con un notevole guadagno sia nella qualità dell'informazione ottenuta che nei tempi e nei costi operativi.

### 3 Biomonitoraggio con le api

L'impiego delle api nel biomonitoraggio avvenne per la prima volta nel 1935, ad opera di Jaroslav Svoboda, dell'Istituto delle Ricerche in Apicoltura di Praga, il quale studiò gli effetti negativi degli inquinanti industriali sulle api bottinatrici delle zone ad alta incidenza antropica ed industriale della Cecoslovacchia. Da allora, numerosissime ricerche hanno visto l'uso delle api come indicatori ambientali della presenza di sostanze inquinanti.

L'efficacia di questo imenottero come bioindicatore è dovuta alle sue caratteristiche etologiche e morfologiche, prima fra tutte il dinamismo con il quale si sposta da un luogo a un altro nel compimento delle sue attività vitali. Esso tiene il territorio sotto una costante vigilanza, grazie alla quale è in grado di percepire e segnalare con estrema prontezza le dinamiche di trasformazione in atto negli ambienti frequentati. L'ape contiene in sé tutti i requisiti di un buon bioindicatore:

- è insetto pressoché ubiquitario;
- è di facile allevamento e gestione;
- esercita una imponente attività di raccolta di varie sostanze, come nettare, polline, melata e acqua;

- 34 -

- ❑ ha il corpo quasi interamente ricoperto di peli, in grado quindi di intercettare particelle ed eventuali inquinanti aerodispersi;
- ❑ possiede un alto tasso di riproduzione che, associato ad una vita media relativamente breve (circa due mesi per un'ape operaia), garantisce un continuo rinnovo nell'alveare, con la conseguente disponibilità di un elevato numero di indicatori;
- ❑ nella sua attività di bottinamento garantisce una copertura spaziale di circa 7 km<sup>2</sup>, entrando in contatto con tutti i comparti ambientali (aria, suolo, acqua);
- ❑ effettua numerosi prelievi giornalieri: un'ape bottinatrice visita quotidianamente un migliaio di fiori. Dal momento che in un alveare in buono stato vi sono circa 10.000 bottinatrici, in media sono garantiti 10 milioni di microprelievi al giorno;
- ❑ consente l'ingresso in alveare di materiali esterni di diversa natura;
- ❑ necessita di costi di gestione estremamente contenuti.

I fattori limitanti nell'impiego dell'ape domestica come bioindicatore ambientale sono:

- ❑ la temperatura, che per l'attività di volo non può essere inferiore a 10°C e pertanto impedisce l'utilizzabilità di questo insetto nel periodo invernale;
- ❑ il non rientro in alveare, che può verificarsi a causa di fenomeni di deriva verso altri alveari oppure per mortalità naturale o indotta da altri fattori;
- ❑ la difficoltà di avere in tempo reale il censimento dell'intera colonia in termini del suo grado di sviluppo e di età degli individui;



- la tendenza di ogni colonia a scegliere autonomamente le proprie fonti di cibo.

## 4 La società delle api

L'ape (*Apis mellifera* L.), conosciuta ed apprezzata dall'uomo per la sua capacità di produrre miele, pappa reale e propoli, è la rappresentante della famiglia delle *Apidae*, una società definita da Carlo Linneo come matriarcale, monoginica e pluriannuale, costituita da numerosi individui appartenenti a tre caste polimorfiche. Ciò significa che la colonia, unità sociale in cui si esplica la struttura organizzativa delle api, è costituita da tre classi di individui, specifici per caratteristiche fisiche e comportamentali, che fanno capo a una femmina, l'unica fertile della comunità e incaricata della perpetuazione della stessa per più generazioni. La colonia ha la sua collocazione fisica nell'alveare, una struttura costituita da celle esagonali funzionalizzate per specifiche destinazioni d'uso, ed è formata da più di 100000 individui che si distribuiscono in maniera non omogenea nelle tre caste: la **regina**, le **operaie** e i maschi, detti anche **fuchi** o **pecchioni**. La regina, facilmente distinguibile dagli altri membri della colonia per le peculiari caratteristiche morfologiche, ha come ruolo principale la deposizione delle uova e il controllo ferormonale delle operaie, non interessate

- 36 -

nella riproduzione, che provvedono ad accudirla e nutrirla costantemente con pappa reale. I fuchi, di dimensioni maggiori delle operaie ma più piccoli della regina, sono presenti nell'alveare (da 500 a 2000) soltanto in primavera ed estate, e sono preposti esclusivamente all'accoppiamento.

Le operaie costituiscono una casta monomorfa e presentano caratteri morfofisiologici propri, indotti in parte dal tipo di alimentazione ricevuta nello stadio larvale e in parte da ferormoni emessi dalla regina. Le operaie sono i membri più numerosi della colonia (da 40000 a 100000), femmine sterili che ripartiscono le attività sociali in un'ordinata successione dei ruoli a seconda dell'età. Il primo compito delle giovani operaie che "sfarfallano" dalle celle in cui si sono sviluppate, è quello di ripulire e levigare le celle di nuova costruzione o quelle che devono essere riutilizzate, nelle quali la regina depone incessantemente le uova (da 100 fino a 3000 al giorno). In un secondo momento, diventate capaci di produrre la "pappa reale" (grazie allo sviluppo delle ghiandole sopracerebrali che la secernono), passano ad alimentare le larve. Dopo due settimane le ghiandole sopracerebrali regrediscono a favore dello sviluppo delle ghiandole cerigene e le operaie cambiano nuovamente la loro funzione, trasformandosi da nutrici in costruttrici di favi. Terminata anche questa fase, si spostano all'esterno dell'alveare, prima per la sola difesa, e successivamente per assolvere all'importante compito di **bottinatrici**, ossia di raccoglitrice di nettare, polline, propoli, melata ed acqua. In questa veste, esse sono in grado di trasmettere precise informazioni alle compagne sulla esatta ubicazione di una sorgente di cibo, anche molto distante (fino ad alcuni chilometri), comunicando dati sui rapporti di posizione tra campo fiorito,

- 37 -

alveare e sole attraverso una particolare “danza”. L’abilità di percepire la luce polarizzata consente loro di individuare la posizione del sole, anche se questo è coperto da nubi, purché sia visibile un’area di cielo sereno.

Dopo circa un mese di vita, le api operaie riprendono mansioni interne all’alveare (ventilazione e riscaldamento del nido, sua pulizia e difesa, ecc.), fino a che, percependo vicina la morte, si allontanano dalla comunità e muoiono lontano da essa per non contaminare l’alveare col proprio cadavere.

#### **4 I prodotti apistici nel biomonitoraggio**

Le api rappresentano uno dei principali vettori di impollinazione per numerose varietà di piante selvatiche e colturali e, pertanto, giocano un ruolo chiave in agricoltura e più generalmente nel mantenimento della biodiversità ecologica. I compiti cui assolvono le bottinatrici, ovvero la raccolta di nettare, polline, propoli e melata, nonché il trasporto di acqua (da 10 a 40 litri necessari annualmente alla colonia), rappresentano un vero e proprio “campionamento attivo” che può favorire l’accumulo di diversi tipi e quantità di sostanze inquinanti sia nel loro organismo che nei prodotti d’alveare. Questa attività permette che le api effettuino contemporaneamente anche un cosiddetto “campionamento passivo”, attraverso l’inalazione o l’intercettazione involontaria sul loro corpo di polveri e particelle inquinanti aerodisperse di varia origine che, dopo essersi mescolate con il polline, il nettare e la propoli, arriveranno all’interno dell’alveare. Di conseguenza, questi insetti

- 38 -

rappresentano dei potenti e “imparziali” campionatori, e sia le api stesse che i prodotti di alveare (miele, cera, polline, pappa reale) possono essere impiegati per individuare sostanze chimiche organiche o inorganiche eventualmente presenti nell’ambiente.

All’interno dell’alveare, infatti, avvengono continui scambi tra tutti i componenti della colonia: la produzione del miele, che ha origine nella borsa melaria delle bottinatrici durante il volo di rientro in alveare, avviene a seguito della trofallassi, processo attraverso il quale le api si passano il nettare di bocca in bocca. Lo stesso avviene per il cosiddetto pane d’api, un cocktail di nettare e polline che andrà a nutrire le femmine non destinate ad essere regine. Tali scambi permettono la circolazione all’interno dell’alveare delle sostanze inquinanti campionate casualmente e inconsapevolmente dalle api, portando anche ad eventuali fenomeni di bioaccumulo. Le indagini strumentali condotte sugli insetti ed estese ai prodotti di alveare permettono di ottenere un quadro conoscitivo di questi fenomeni, come dimostra la presenza nella letteratura scientifica di diversi esempi di indagini ambientali condotte attraverso le analisi chimiche di pollini e mieli ed atte alla determinazione di metalli [2-4, 7-20], pesticidi [2, 21-38] e radionuclidi [39-45].

## **5 Biovalutazione dei diversi inquinanti**

**Pesticidi.** In generale, i pesticidi rappresentano una categoria di prodotti chimici che include diverse tipologie di composti impiegati nel controllo di organismi

- 39 -

Severyn Salis - “Stima dell’impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d’alveare” - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

infestanti vegetali e animali. Vengono generalmente classificati in base al loro organismo bersaglio, come segue: insetti (insetticidi), molluschi (molluschicidi), erbacce (erbicidi), batteri (battericidi), funghi (fungicidi), e così via.

Le api mostrano una elevata sensibilità nei confronti dei pesticidi, che agiscono su di loro causandone la morte; per questo fatto, il numero di api morte all'ingresso dell'alveare rappresenta il parametro più importante nella valutazione di tali contaminanti. Gli effetti dei pesticidi sulle api dipendono da diversi fattori: la tossicità del principio attivo impiegato, la presenza e l'estensione delle fioriture delle piante, siano esse spontanee o coltivate, la presenza delle api al tempo del trattamento chimico, gli strumenti usati nella distribuzione del pesticida, la presenza di vento [2]. Le api che vengono colpite direttamente dalla contaminazione di un insetticida non hanno la forza per rientrare in alveare e muoiono nel campo o durante il volo di rientro; altre, contaminate indirettamente mentre bottinano in fiori di specie coltivate volontariamente trattate, o specie spontanee inquinate incidentalmente, moriranno nell'alveare, agendo così da indicatori diretti dell'inquinamento. Nel caso in cui il pesticida non sia particolarmente tossico, le api si comportano come indicatori indiretti, ossia soggetti esposti da cui è possibile ottenere informazioni attraverso valutazione strumentale dei residui presenti nel loro corpo o nei loro prodotti. In letteratura sono inoltre presenti diversi lavori sulla biovalutazione degli effetti subletali di pesticidi che portano ad alterazioni nel comportamento delle api [35-38].

**Radionuclidi.** A seguito dell'emergenza di Chernobyl le api sono state usate in diversi lavori scientifici per valutare la presenza, la distribuzione e la

biodisponibilità dei radionuclidi, dimostrando chiaramente l'efficacia di questi insetti anche nel rilevamento di radioisotopi [39-41, 44, 45]. Le numerose sperimentazioni sono state condotte sia per ciò che riguarda l'impiego della colonia di api come indicatore biologico, sia nella valutazione di elementi radioattivi contenuti nei prodotti d'alveare e della loro dinamica di trasferimento [42-44]. Tra le varie matrici apistiche impiegate, ovvero miele, cera e polline, quest'ultimo si è rivelato particolarmente efficace nella indicazione di inquinamento atmosferico da radionuclidi, in quanto riflette fedelmente quello dell'aria [41], mentre è ancora dibattuta l'utilità del miele a tale fine.

**Metalli pesanti.** Questa tipologia di inquinanti si discosta notevolmente dagli altri, a causa delle diverse modalità di introduzione e permanenza nell'ambiente.

I metalli pesanti vengono continuamente immessi nella biosfera da diverse fonti, naturali e antropiche e, non essendo soggetti a degradazione, entrano ciclicamente nei processi fisico-biologici. Le api possono intercettare i metalli presenti in atmosfera attraverso i peli che ricoprono il loro corpo e portarli in alveare insieme al polline, oppure possono assumerli durante il bottinamento del nettare nei fiori, la raccolta dell'acqua di pozzanghere, fossi e ruscelli, o ancora insieme alla melata degli afidi.

L'impiego delle api o dei prodotti d'alveare nel monitoraggio da metalli pesanti va eseguito tenendo in considerazione una molteplicità di variabili, come ad esempio i fenomeni meteorologici (la pioggia e il vento possono "ripulire" l'atmosfera o trasferire i metalli pesanti in altri comparti ambientali), la

variazione del flusso nettario (solitamente maggiore in primavera rispetto ai mesi estivi o autunnali, che a parità di emissione dei contaminanti potrebbe avere o meno un effetto diluente sugli stessi), e infine l'origine botanica del miele (il nettare dei fiori a morfologia chiusa è indubbiamente meno esposto alla contaminazione rispetto a quello dei fiori a morfologia aperta o alla melata degli afidi). I metalli pesanti, trasportati passivamente sul corpo o assunti dalle api attraverso il nettare o l'acqua, non hanno effetto letale sul bioindicatore che, in questo caso, esplica piuttosto funzione di bioaccumulatore. Sotto questo profilo è possibile ottenere interessanti informazioni studiando la "distribuzione" di uno o più metalli sul corpo dell'ape [49], che può suggerire la localizzazione dell'inquinante: una maggiore concentrazione rilevata sulla superficie corporea indica una dispersione del metallo nell'atmosfera; al contrario, elevate concentrazioni all'interno del corpo rendono plausibile l'ipotesi di una contaminazione attraverso inalazione, o soprattutto ingestione di matrici "impregnate" di inquinanti.

#### 1 Piano di campionamento

Il campionamento costituisce la prima fase di ogni processo analitico, e può essere definito come l'operazione di prelievo di una porzione di sostanza di dimensioni tali da far sì che la proprietà misurata in tale porzione rappresenti, entro un noto limite di accettabilità, la stessa proprietà osservabile nella massa d'origine. In altre parole, il fine del campionamento è quello di consentire la raccolta di porzioni rappresentative della matrice che si intende sottoporre ad analisi. Essa pertanto rappresenta una fase estremamente delicata e complessa che condiziona in maniera pesante ed irreversibile i risultati di tutte le operazioni successive.

La predisposizione del piano di campionamento relativo al presente lavoro si è articolata nel seguente modo:

- individuazione delle aree d'indagine
- scelta del numero e della localizzazione dei punti di campionamento
- modalità di ubicazione delle arnie oggetto dei campionamenti
- determinazione della frequenza e delle procedure di prelievo
- modalità di trasporto, conservazione e trattamento dei campioni.



## 2 Aree e frequenza di campionamento

Le aree di indagine sono state individuate nei territori dei comuni di Iglesias (Sulcis-Iglesiente), Guspini e Arbus (Medio Campidano), tutti rappresentativi di un passato a vocazione esclusivamente mineraria, e nel territorio del comune di Cortoghiana (Sulcis-Iglesiente), collocato in prossimità degli insediamenti industriali di Portoscuso-Portovesme. La distribuzione delle stazioni di campionamento ha previsto l'installazione di appositi apiari (Figura 3.1), ciascuno costituito da almeno tre alveari, all'interno di ognuna di queste aree, nelle località di seguito elencate:

- Cortoghiana
- Monte Agruxiau (Comune di Iglesias)
- Montevecchio, cantiere di Piccalinna (Comuni di Guspini e Arbus)
- Ingurtosu, pozzo GAL(Comune di Arbus)
- Gennemari (Comune di Arbus)

Figura 3.1



Una sesta stazione è stata identificata nell’apiario appartenente al Centro Apidologico Sperimentale dell’Università di Sassari, installato nel Comune di Musei, il cui territorio, pur essendo compreso geograficamente nell’area di indagine, è sufficientemente distante dalle potenziali fonti di inquinamento da poter essere tentativamente ipotizzato come “bianco”. L’area di studio e l’ubicazione dei siti di campionamento sono mostrati nella Figura 3.2.

Figura 3.2



**MONTE AGRUXIAU**

**MUSEI**

**CORTOGHIANA**

I campionamenti sono stati effettuati con cadenza mensile a partire da Giugno 2006 fino a Marzo 2008 nelle stazioni di Cortoghiana, Musei e Monte Agruxiau, mentre per quanto riguarda le stazioni di Montevecchio, Ingurtoosu e Gennemari, hanno avuto inizio nell'Aprile 2007; in nessun caso, comunque, il prelievo dei campioni ha riguardato i mesi invernali, data l'inattività delle colonie di api.

### **3 Prelievo dei campioni**

Il progetto di ricerca nella sua globalità ha previsto, in ciascuna stazione, il prelievo di campioni di diversa tipologia:

- api bottinatrici;
- prodotti d'alveare: miele e polline;

- 46 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

□ matrici ambientali: suolo, acqua, vegetazione.

Nell'ambito del presente lavoro verranno riportate le procedure di campionamento relative alle api ed alle matrici d'alveare, le uniche sulle quali è stato fin qui applicato l'intero protocollo analitico.

**Miele.** Da ogni stazione sono stati prelevati, direttamente dal favo e con l'impiego di spatoline in polietilene, 3 campioni di miele giovane di circa 3 g ciascuno (Figure 3.3 e 3.4).

Figura 3.3



Figura 3.4



**Polline.** È stato prelevato da ciascuna stazione grazie all'impiego di apposite "trappole di cattura", collocate all'ingresso degli alveari, caratterizzate da fori circolari di diametro tale da non impedire l'ingresso delle api bottinatrici nelle

arnie, ma sufficiente a far rilasciare agli insetti il polline raccolto sulle zampe posteriori, determinandone il deposito sulla grata posta perpendicolarmente alle trappole (Figure 3.5 e 3.6).

Figura 3.5



Figura 3.6



**Api bottinatrici.** Sono state catturate manualmente all'ingresso delle trappole di cattura per il polline, collocate in tre alveari per ogni stazione.

Nella tabella 3.1 viene riportato il numero dei campioni prelevati per ciascuna matrice nel periodo di campionamento.

Tabella 3.1

ANNO	MATRICE		
	Miele	Polline	Api
2006	54	11	48
2007	114	36	123

2008

15

6

18

Tutti i campioni prelevati, destinati alla determinazione quantitativa di metalli pesanti, sono stati conservati all'interno di idonei contenitori in polietilene, per evitare qualsiasi forma di contaminazione, e alla temperatura di  $-12^{\circ}\text{C}$ , in modo tale da mantenere inalterate le caratteristiche chimiche e biologiche fino al momento dell'analisi.

### Determinazione dei metalli pesanti via ETAAS

#### 1 Cenni sulla Spettroscopia ETAAS

L'analisi quantitativa dei metalli pesanti nelle matrici campionate è stata condotta mediante la Spettroscopia di Assorbimento Atomico con Atomizzazione Elettrotermica, ETAAS. Essa è basata sulla misurazione dell'assorbimento di specifiche radiazioni monocromatiche, tipiche dello spettro di emissione dell'elemento in analisi, da parte di atomi gassosi nel loro stato energetico fondamentale. La quantità di energia assorbita può essere messa in relazione con la concentrazione dell'elemento in esame, secondo una legge analoga a quella di Lambert-Beer. I campioni vengono introdotti nel compartimento campione dello strumento sotto forma di una soluzione, in genere acquosa, quindi con un opportuno trattamento termico vengono dapprima desolvati e successivamente liberati, per pirolisi, dalla matrice organica. L'analita viene quindi portato allo stato di vapore atomico per dissociazione termica delle molecole in cui è presente e in questa forma interagisce con la radiazione monocromatica emessa da idonea sorgente. Nella tecnica ETAAS i processi termici sul campione avvengono in maniera discontinua per riscaldamento

elettrico di un fornello di grafite in atmosfera inerte. Questo lavoro ha visto l'impiego di fornelli *end-capped* (che garantiscono una maggiore sensibilità) (Figura 4.1) o *standard* (Figura 4.2), tutti provvisti di piattaforma di L'Vov.

Figura 4.1



Figura 4.2



Il pregio principale delle tecniche di assorbimento atomico è quello della assoluta specificità e della quasi totale assenza di interferenze spettrali. L'ETAAS, in particolare, ha rivoluzionato il settore dell'analisi degli elementi in traccia mettendo a disposizione una tecnica semplice, di possibile uso routinario, in grado però di raggiungere limiti di rilevazione estremamente bassi ( $10^{-1} \div 10^{-5}$  ng/ml). Oltre a questi vantaggi di rivelabilità e specificità si deve sottolineare che sono richiesti piccoli volumi di campione (al massimo qualche decina di  $\mu\text{L}$ ) e che i tempi di analisi sono relativamente brevi (qualche minuto per elemento per campione). Il principale problema, specialmente nell'analisi di matrici complesse come quelle biologiche, alimentari o ambientali, è dovuto alla presenza di accentuate interferenze chimiche, che possono in parte essere eliminate mediante sistemi di correzione del fondo e l'uso di modificanti di



matrice. Questi ultimi, in particolare, hanno il compito di stabilizzare l'elemento da determinare sino al momento dell'atomizzazione, in modo da poter rimuovere con la miglior efficacia l'interferenza indotta dalla presenza della matrice. Oltre a stabilizzare l'analita, un buon modificante deve soddisfare altri importanti requisiti:

- ❑ non deve contribuire significativamente all'assorbimento aspecifico da parte del fondo (anzi, ove possibile, dovrebbe ridurlo);
- ❑ deve essere disponibile ad un elevato grado di purezza, e - soprattutto - non contenere esso stesso l'analita;
- ❑ non deve essere costituito da elementi che debbano essere in seguito determinati a bassi livelli di concentrazione, per prevenire un eventuale effetto memoria.

La maggior parte delle applicazioni analitiche dell'ETAAS vedono l'impiego del Pd, spesso in combinazione con il  $Mg(NO_3)_2$ , come modificante di matrice nella determinazione di un gran numero di elementi. Il primo agisce formando una lega o un composto intermetallico con l'analita, aumentandone la temperatura di atomizzazione e minimizzandone le perdite per eccessiva volatilità, mentre il  $Mg(NO_3)_2$  (o anche il  $NH_4H_2PO_4$ ), reagisce con le specie interferenti (es: lo ione  $Cl^-$ ) formando composti maggiormente volatili o che non producano fumi durante la pirolisi e che quindi non interferiscano in fase di lettura dell'assorbimento atomico.

## 2 Pretrattamento dei campioni

- 51 -

Come tutte le tecniche di spettroscopia atomica applicate a matrici complesse, l'applicazione della tecnica ETAAS richiede un trattamento preliminare dei campioni atto a distruggere i componenti organici e a portare in soluzione gli analiti. La letteratura scientifica riporta diverse metodiche di pretrattamento che riguardano le matrici oggetto di questa indagine. Per quanto riguarda il miele, la maggior parte dei lavori prevede procedure di pretrattamento piuttosto drastiche, rappresentate da mineralizzazioni in ambiente fortemente ossidante condotte solitamente in forno a microonde [4, 8, 39, 46, 47], o da incenerimenti condotti ad elevate temperature [3, 9, 48].

Procedure più blande prevedono invece la diluizione del miele in acqua, perossido di idrogeno e acido nitrico e l'impiego del Triton X-100 per ridurre la viscosità [12, 13, 46]. In alternativa il campione, precedentemente diluito in perossido di idrogeno al 10% (v/v) e acido nitrico all'1% (v/v), viene addizionato ad ammonio diidrogenofosfato e sonicato per 5 minuti [7], oppure sottoposto a sonicazione dopo diluizione con acido nitrico all'1% (v/v) [10].

Si è deciso preliminarmente di testare metodi che fossero rappresentativi di ambo le categorie. Le prime prove sono state condotte in accordo con il lavoro di Rodriguez Garcia et al. [46]: 2 g di miele esattamente pesati sono stati solubilizzati in una opportuna quantità d'acqua ultra pura, quindi la soluzione è stata trasferita in matraccio tarato e portata a volume finale di 10 ml. Successivamente 500 µl di soluzione sono stati trasferiti in una cuvetta con 300 µl di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% (v/v), 50 µl di HNO<sub>3</sub> al 10% (v/v) e 20 µl di Triton X-100 all'1% (v/v). Un ulteriore tentativo ha previsto l'adozione della metodica proposta da

Viñas et al. [7]: 2 g di miele, esattamente pesati, addizionati con 5 ml di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% (v/v), 500 µl di HNO<sub>3</sub> al 10% (v/v) e 2 ml di una soluzione di NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> al 25% (p/v), vengono trasferiti in matraccio da 50 ml e portati a volume con acqua ultra pura. La soluzione viene sottoposta a sonicazione per 60 minuti. Infine è stata verificata l'applicabilità della metodica di mineralizzazione con microonde descritta sempre da Rodriguez Garcia et al [46], l'unica, tra quelle testate, che ha consentito di ottenere campioni idonei all'analisi: negli altri casi, infatti, l'elevata viscosità residua impediva la ripetibilità nell'iniezione dei campioni all'interno del fornetto di grafite.

Per quanto riguarda le matrici api e polline, le metodiche proposte in letteratura prevedono, per entrambe, la stessa procedura di mineralizzazione in microonde; nel lavoro di Cesco et al. [4] viene indicata la digestione ad elevata potenza di 1 g di api o pollini, addizionati precedentemente con 10 ml di HNO<sub>3</sub>. Più dettagliata è la procedura proposta da Porrini et al. [49], che prevede l'aggiunta al campione di 1.5 ml di HNO<sub>3</sub> al 67% e 0.4 ml di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% e la successiva mineralizzazione a 500 W di potenza per 5 minuti. Una diversa procedura [21] prevede di aggiungere a 0.5 mg di ceneri di polline, esattamente pesati, 5 ml di HNO<sub>3</sub> al 65% e di impiegare un programma di mineralizzazione in due step a potenze crescenti (2 minuti a 240 W il primo, 3 minuti a 480 W il secondo); successivamente, dopo aggiunta di 0.5 ml di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%, il programma viene nuovamente eseguito e il campione mineralizzato viene trasferito in matraccio da 25 ml e portato a volume con acqua ultra pura. Un trattamento più drastico è quello suggerito nel lavoro di Conti M. E. et al. [3], nel quale viene indicata l'applicazione di un programma costituito da tre step successivi,

ciascuno di 4 minuti, a potenze rispettivamente pari a 210, 420 e 560 watt. I tentativi di applicazione delle metodiche di mineralizzazione riportate in letteratura hanno condotto all'impiego di quella proposta da Rodriguez Garcia et al. [46] per il miele, mentre nel caso delle api e del polline è stata messa a punto una nuova procedura, di seguito descritta, applicata con successo ad entrambe le matrici.

**Mineralizzazione del miele:** 0.6000 g di miele, solubilizzati in 1.5 ml di HNO<sub>3</sub> al 2.5% (v/v), vengono trasferiti nei vessel di teflon e sottoposti a mineralizzazione alla potenza di 900 Watt (75% di potenza totale) per 40 secondi. Successivamente il mineralizzato viene trattato con 430 µl di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% (v/v) e 570 µl di acqua ultra pura e sottoposto ad un ulteriore step di mineralizzazione nelle stesse condizioni descritte in precedenza.

**Mineralizzazione di api e polline:** 0.4000 g di campione vengono trasferiti in vessel di mineralizzazione ad alta pressione e addizionati con 2 ml di HNO<sub>3</sub> al 65%, quindi sottoposti a 2 step di irradiazione di microonde, il primo della durata di 30 secondi a 300 W di potenza (25% del totale) ed il secondo della durata di 1 minuto alla potenza di 600 W (50% del totale). La mineralizzazione del polline è stata preceduta da una fase di essiccamento in stufa a 105°C per un'ora.

### 3 Analisi dei campioni

La determinazione quantitativa di piombo, cadmio, cromo, rame, manganese, cobalto e nichel nel miele, nelle api e nel polline provenienti dalle aree minerarie e industriali della Sardegna sud-occidentale, è stata effettuata, come già detto, attraverso la tecnica ETAAS, con applicazione del metodo della calibrazione esterna. Sono state effettuate anche diverse prove per la messa a punto di una metodica per la determinazione quantitativa dello zinco, agendo su tutti i parametri (sistema solvente, modificanti di matrice, programma termico) che potessero condurre all'ottimizzazione delle condizioni operative. Non è stato possibile sino ad ora ottenere risultati soddisfacenti in termini di precisione e linearità di risposta per questo elemento, che comunque viene determinato solitamente mediante Spettroscopia di Assorbimento Atomico in Fiamma (FAAS). Per quanto riguarda la scelta dei modificanti di matrice, per il rame è stato adottato  $Mg(NO_3)_2$ , per piombo e cadmio si è utilizzata una combinazione di  $Mg(NO_3)_2$  con  $NH_4H_2PO_4$ , mentre per gli altri elementi, ad eccezione del cromo che non ha richiesto alcun modificante, è stato impiegato il palladio.

Per ciascun metallo le condizioni operative di analisi sono state messe a punto dopo una idonea procedura di ottimizzazione analitica. Essa ha consentito di verificare la linearità di risposta strumentale nei confronti di opportune soluzioni standard preparate e analizzate secondo le condizioni di default dello strumento stesso. Si è quindi provveduto ad apportare le modifiche che, sulla base dei risultati ottenuti, sono apparse necessarie. Questa fase del lavoro ha riguardato, in particolare:

- ❑ l'individuazione del diluente più opportuno nella preparazione delle soluzioni di analisi;
- ❑ l'impiego della tipologia di fornetto di grafite adatto all'analita in esame;
- ❑ l'ottimizzazione del programma termico in tutte le sue fasi, e in maniera particolare in quelle più delicate di incenerimento e atomizzazione del campione.

Conclusa questa fase, i mineralizzati delle diverse matrici hanno subito un trattamento preliminare all'introduzione nell'atomizzatore termoelettrico in funzione della natura della matrice e del tipo di analita da determinare. In particolare:

- ❑ a tutti i mineralizzati di miele, una volta trasferiti quantitativamente in matracci da 25 ml, sono stati aggiunti 500 µl di Triton X-100 all'1% (v/v) per diminuirne la viscosità. Successivamente, a quelli destinati alla determinazione quantitativa di piombo, cadmio e rame sono stati addizionati 3.30 µl di  $Mg(NO_3)_2$ , per poi essere portati a volume con  $HNO_3$  all'1%; per l'analisi del cromo si è portato a volume con  $H_2O$  ultra pura e per la determinazione di cobalto, manganese e nichel con  $HNO_3$  all'1%;
- ❑ i mineralizzati di api e di polline, una volta trasferiti in matraccio da 25 ml, sono stati portati a volume tutti con  $H_2O$  ultra pura, previa aggiunta di 3.30 µl di  $Mg(NO_3)_2$  a quelli destinati alla determinazione di piombo, cadmio e rame.

Come già accennato, l'analisi quantitativa di tutti gli analiti è stata effettuata mediante metodo di calibrazione esterna, avendo cura di preparare le soluzioni standard con lo stesso diluente ed eventuali modificanti di matrice usati per la preparazione delle soluzioni finali dei campioni. La retta di calibrazione è stata costruita effettuando in triplicato la misura di assorbanza dei singoli standard, dopo di che si è proceduto alle analisi dei campioni, effettuate sempre in tre repliche. Il volume introdotto è sempre stato pari a 20 µl.

Nelle Tabelle di seguito riportate vengono descritte le condizioni operative sviluppate per ciascun analita.

## RAME

Tabella 4.1

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda $\lambda$ (nm)	324.8			
Ampiezza fenditura (nm)	0.7			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 1000 mg/l 0.003 mg in 20 µl iniettati			
Fornetto	Standard			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	130	20	30	250
Incenerimento	1000	10	20	250
Atomizzazione	1900	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 100.0 µg/l				

## MANGANESE

Tabella 4.2

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda $\lambda$ (nm)	279.5			
Ampiezza fenditura (nm)	0.2			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Pd 1000 mg/l 5 $\mu$ l in 20 $\mu$ l iniettati			
Fornetto	Standard			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	130	20	30	250
Incenerimento	900	10	20	250
Atomizzazione	2000	0	5	0
Pulizia	2400	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 100.0 $\mu$ g/l				

## COBALTO

Tabella 4.3

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda $\lambda$ (nm)	242.5			
Ampiezza fenditura (nm)	0.2			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Pd 1000 mg/l 2 $\mu$ l in 20 $\mu$ l iniettati			
Fornetto	End Capped			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	130	20	30	250
Incenerimento	1400	10	20	250
Atomizzazione	2400	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 20.0 $\mu$ g/l				

- 58 -



## NICHEL

Tabella 4.4

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda $\lambda$ (nm)	232.0			
Ampiezza fenditura (nm)	0.2			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Pd 1000 mg/l 1 $\mu$ l in 20 $\mu$ l iniettati			
Fornetto	End Capped			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	130	20	30	250
Incenerimento	1100	10	20	250
Atomizzazione	2300	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 20.0 $\mu$ g/l				

## PIOMBO

Tabella 4.5

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda $\lambda$ (nm)	283.3			
Ampiezza fenditura (nm)	0.7			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> mg/l 0.003 mg in 20 $\mu$ l iniettati NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 25000 mg/l 5 $\mu$ l in 20 $\mu$ l iniettati			
Fornetto	End Capped			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	120	20	30	250

Incenerimento	850	20	20	250
Atomizzazione	1500	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 20.0 µg/l				

## CADMIO

Tabella 4.6

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda λ (nm)	324.8			
Ampiezza fenditura (nm)	0.7			
Diluente	HNO <sub>3</sub> 1%			
Modificante di matrice	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 1000 mg/l 0.003 mg in 20 µl iniettati NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 25000 mg/l 5 µl in 20 µl iniettati			
Fornetto	End Capped			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	20	20	250
Essiccamento	130	20	30	250
Incenerimento	1000	10	20	250
Atomizzazione	1900	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.5 ÷ 20.0 µg/l				

## CROMO [46]

Tabella 4.7

CONDIZIONI OPERATIVE				
Lunghezza d'onda λ (nm)	357.9			
Ampiezza fenditura (nm)	0.7			
Diluente	H <sub>2</sub> O ultra pura			
Modificante di matrice	-			
Fornetto	End Capped			
Programma di temperatura				
Step	Temperatura (°C)	Rampa (sec)	Durata (sec)	Flusso Ar (ml/min)
Condizionamento	110	10	20	250

Essiccamento	130	10	30	250
Incenerimento	1260	10	40	250
Atomizzazione	2600	0	5	0
Pulizia	2600	1	5	250
Intervallo di linearità: 0.2 ÷ 5.0 µg/l				

Nelle Tabelle di seguito riportate sono illustrati i risultati ottenuti dall'analisi dei diversi campioni prelevati dagli alveari distribuiti in tutte le stazioni di campionamento, espressi come media  $\pm$  stima della deviazione standard.

Nel caso della matrice miele il cobalto si è rivelato quantificabile solo in 9 casi, di seguito elencati:

- stazioni Musei 1, Cortoghiana 1 e Monte Agruxiau 2, nel giugno 2006, C=10.21 µg/kg<sub>miele</sub> (s=0.00)
- stazione Monte Agruxiau 3, nel settembre 2007, C=10.13 µg/kg<sub>miele</sub> (s=0.00)
- stazioni Musei 1, Monte Agruxiau 3 e Montevecchio 3, nel marzo 2008, C=10.36 µg/kg<sub>miele</sub> (s=0.00), Cortoghiana 3 C=60.18 µg/kg<sub>miele</sub> (s=0.00) e Monte Agruxiau 2 C=20.25 µg/kg<sub>miele</sub> (s=0.00).

## Miele

Tabella 4.8

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6 µg/kg

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg

Musei 1	Concentrazione (µg/g <sub>miele</sub> )		Concentrazione (µg/kg <sub>miele</sub> )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.18±0.00	2.14±0.04	300±30	-	20±6	18±4
Luglio 2006	0.23±0.00	1.53±0.02	150±30	-	<LdQ	4.18±0.00
Agosto 2006	3.78±0.02	1.59±0.02	162±5	-	<LdQ	<LdQ
Settembre 2006	NON CAMPIONATO					
Ottobre 2006	0.39±0.01	1.36±0.03	43.2±0.4	11±2	11±2	<LdQ
Novembre 2006	0.29±0.00	1.32±0.01	-	-	8±4	<LdQ
Aprile 2007	0.11±0.01	0.27±0.00	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.08±0.00	0.25±0.00	31±6	14±5	8±1	<LdQ
Giugno 2007	0.08±0.00	0.06±0.00	<LdQ	-	20±6	<LdQ
Luglio 2007	0.69±0.01	0.46±0.00	523±8	-	16±4	<LdQ
Agosto 2007	0.37±0.01	0.62±0.00	188±4	-	10±6	<LdQ
Settembre 2007	0.27±0.00	0.40±0.03	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ
Ottobre 2007	0.22±0.00	0.29±0.00	<LdQ	-	<LdQ	5±1
Marzo 2008	0.23±0.00	0.34±0.00	40±10	-	3.3±0.8	4±1

LdQ<sub>Cd</sub> = 7.6 µg/kg

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6 µg/kg

Tabella 4.9

Musei 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.21±0.01	5.4±0.2	242±7	-	13.01±0.00	25.95±0.00
Luglio 2006	0.17±0.01	1.24±0.01	<LdQ	-	11±2	<LdQ
Agosto 2006	0.83±0.03	1.56±0.08	47.6±0.8	-	15±2	7.40±0.00
Settembre 2006	0.52±0.01	1.32±0.01	60±5		<LdQ	2±6
Ottobre 2006	0.16±0.01	0.16±0.02	73±4	49±3	8±4	<LdQ
Novembre 2006	0.31±0.00	0.14±0.00	43±7	-	<LdQ	<LdQ
Aprile 2007	0.06±0.00	0.28±0.01	-	-	6±2	<LdQ
Maggio 2007	0.11±0.01	0.21±0.00	<LdQ	<LdQ	6±3	<LdQ
Giugno 2007	0.16±0.00	0.20±0.00	<LdQ	<LdQ	24±5	12.07±0.00
Luglio 2007	0.35±0.00	1.43±0.06	80±10	-	8±4	<LdQ
Agosto 2007	0.40±0.00	0.47±0.00	31±3	-	18±4	<LdQ
Settembre 2007	0.20±0.00	0.44±0.01	<LdQ	-	<LdQ	6.1±0.2
Ottobre 2007	0.31±0.00	0.37±0.01	-	-	6±3	<LdQ
Marzo 2008	0.57±0.01	0.31±0.00	<LdQ	-	21±4	4±3

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cd</sub> = 7.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.10

Musei 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.20±0.00	1.64±0.01	44±2	-	16.66±0.00	11±2
Luglio 2006	0.14±0.00	1.23±0.02	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ
Agosto 2006	0.33±0.01	1.32±0.04	219±9	-	<LdQ	3.93±0.00
Settembre 2006	0.43±0.00	0.80±0.01	68±6	-	<LdQ	9±2
Ottobre 2006	0.16±0.00	2.07±0.05	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ
Novembre 2006	0.16±0.00	1.60±0.00	-	-	<LdQ	<LdQ
Aprile 2007	0.09±0.01	0.29±0.01	50±7	20±2	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.16±0.01	0.26±0.01	54±6	14.37±0.00	10±7	<LdQ
Giugno 2007	0.13±0.00	0.18±0.01	-	-	79±5	<LdQ
Luglio 2007	0.37±0.01	1.30±0.02	72.8±0.8	-	1.3±0.5	<LdQ
Agosto 2007	0.30±0.01	0.58±0.00	36±2	-	10±3	<LdQ
Settembre 2007	0.22±0.00	0.40±0.01	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ
Ottobre 2007	0.22±0.00	0.37±0.01	-	-	4±1	<LdQ
Marzo 2008	0.20±0.00	0.30±0.00	<LdQ	-	<LdQ	<LdQ

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.11

Cortoghiana 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.23±0.01	0.56±0.00	400±20	-	<LdQ	12.32±0.00
Luglio 2006	0.18±0.00	1.23±0.02	160±20	-	<LdQ	<LdQ
Agosto 2006	0.56±0.01	1.32±0.04	150±10	-	<LdQ	<LdQ
Settembre 2006	0.51±0.01	0.80±0.01	400±20	-	<LdQ	8.06±0.00
Ottobre 2006	0.25±0.00	2.07±0.05	180±10	27±1	<LdQ	<LdQ
Novembre 2006	0.36±0.01	1.60±0.00	213±4	-	<LdQ	3.94±0.00
Aprile 2007	0.19±0.00	1.50±0.08	200±10	-	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.18±0.01	1.38±0.01	-	-	10±2	<LdQ
Giugno 2007	0.10±0.00	0.17±0.01	<LdQ	<LdQ	32±7	<LdQ
Luglio 2007	NON CAMPIONATO					
Agosto 2007	0.28±0.00	0.39±0.01	66±5	<LdQ	20±4	<LdQ
Settembre 2007	0.29±0.00	0.60±0.01	-	-	<LdQ	4.6±0.7
Ottobre 2007	0.28±0.00	0.16±0.00	118±5	<LdQ	10±4	2.8±0.2
Marzo 2008	0.23±0.00	0.43±0.01	-	-	6±2	<LdQ

$\text{LdQ}_{\text{Pb}} = 28.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cd}} = 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cr}} = 2.1 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.12

Cortoghiana 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.33±0.00	2.72±0.08	289±6	119±7	<LdQ	12.49±0.00
Luglio 2006	0.19±0.00	2.9±0.1	290±30	-	4.09±0.00	<LdQ
Agosto 2006	0.63±0.01	2.49±0.03	138±9	12±3	4.32±0.00	<LdQ
Settembre 2006	0.42±0.00	1.61±0.03	180±10	225±8	<LdQ	4.32±0.00
Ottobre 2006	0.22±0.01	2.32±0.05	265±9	-	<LdQ	3.84±0.00
Novembre 2006	0.28±0.01	2.43±0.01	80±5	<LdQ	<LdQ	<LdQ
Aprile 2007	0.29±0.00	1.30±0.03	100±10	24.6±0.4	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.11±0.00	0.59±0.00	-	-	6.2±0.1	<LdQ
Giugno 2007	0.39±0.01	0.51±0.01	33±1	<LdQ	24±4	4.31±0.00
Luglio 2007	NON CAMPIONATO					
Agosto 2007	0.28±0.00	0.48±0.01	<LdQ	<LdQ	22±4	<LdQ
Settembre 2007	0.23±0.01	0.41±0.01	46±10	<LdQ	112±9	<LdQ
Ottobre 2007	0.25±0.00	0.32±0.01	<LdQ	<LdQ	13±2	40±10
Marzo 2008	0.26±0.00	0.40±0.00	<LdQ	<LdQ	<LdQ	<LdQ

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cd</sub> = 7.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.13

Cortoghiana 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.27±0.00	2.56±0.07	662±4	-	<LdQ	11.80±0.00
Luglio 2006	0.22±0.00	2.52±0.05	120±10	-	<LdQ	3.95±0.00
Agosto 2006	0.48±0.01	1.49±0.04	95±8	-	<LdQ	3.58±0.00
Settembre 2006	0.26±0.00	1.55±0.07	140±10	32±1	<LdQ	4.17±0.00
Ottobre 2006	0.29±0.00	1.78±0.01	280±20	-	<LdQ	<LdQ
Novembre 2006	0.28±0.01	1.85±0.02	220±20	-	<LdQ	4.46±0.00
Aprile 2007	0.17±0.00	0.73±0.02	-	-	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.13±0.01	0.65±0.01	41±4	<LdQ	7.98±0.00	<LdQ
Giugno 2007	0.15±0.01	0.11±0.00	<LdQ	<LdQ	22±1	<LdQ
Luglio 2007	NON CAMPIONATO					
Agosto 2007	0.23±0.00	0.33±0.00	30±10	<LdQ	33±6	<LdQ
Settembre 2007	0.24±0.00	0.51±0.01	<LdQ	<LdQ	<LdQ	<LdQ
Ottobre 2007	0.26±0.00	0.08±0.00	29±6	<LdQ	<LdQ	39±1
Marzo 2008	0.16±0.00	0.31±0.02	<LdQ	<LdQ	2.1±0.5	<LdQ

$\text{LdQ}_{\text{Pb}} = 28.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cd}} = 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cr}} = 2.1 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.14

Monte Agruxiau 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.17±0.01	1.48±0.07	65±3	<LdQ	<LdQ	19±2
Luglio 2006	0.18±0.01	1.42±0.03	140±10	-	<LdQ	<LdQ
Agosto 2006	0.76±0.01	1.31±0.04	125±6	-	8±4	4.21±0.00
Settembre 2006	0.69±0.01	1.16±0.01	110±10	-	14±2	4.19±0.00
Ottobre 2006	0.32±0.01	1.51±0.02	200±20	-	16±4	<LdQ
Novembre 2006	0.35±0.01	1.57±0.03	-	-	26.67±0.00	<LdQ
Aprile 2007	0.37±0.01	0.21±0.01	37±8	52±8	26±4	<LdQ
Maggio 2007	0.24±0.00	0.22±0.01	44±6	130±5	14±5	<LdQ
Giugno 2007	0.43±0.01	0.11±0.01	<LdQ	300±40	13±2	16.78±0.00
Luglio 2007	0.45±0.00	0.11±0.00	70±10	307±6	20±3	<LdQ
Agosto 2007	0.49±0.01	0.74±0.00	60±10	76±5	101±6	4.41±0.00
Settembre 2007	0.29±0.01	0.29±0.01	88±4	68±2	<LdQ	<LdQ
Ottobre 2007	0.26±0.01	0.19±0.01	110±10	179±3	<LdQ	<LdQ
Marzo 2008	0.23±0.00	0.27±0.00	39±8	34±1	120±20	<LdQ

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cd</sub> = 7.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.15

Monte Agruxiau 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.35±0.01	1.19±0.02	50±10	-	8±4	14±2
Luglio 2006	0.35±0.00	1.57±0.03	400±20	-	<LdQ	<LdQ
Agosto 2006	0.54±0.01	1.37±0.03	260±30	-	8.56±0.00	<LdQ
Settembre 2006	4.09±0.03	1.41±0.00	330±20	-	17±4	7.89±0.00
Ottobre 2006	0.47±0.02	1.44±0.01	330±40	-	42.09±0.00	3.74±0.00
Novembre 2006	0.72±0.03	1.92±0.01	230±10	-	38.85±0.00	<LdQ
Aprile 2007	0.51±0.01	1.04±0.01	46±6	32.2±0.3	61±5	<LdQ
Maggio 2007	0.46±0.01	1.20±0.01	33±7	18±4	100±2	<LdQ
Giugno 2007	0.46±0.01	0.84±0.01	<LdQ	21±9	108±4	<LdQ
Luglio 2007	0.42±0.00	0.59±0.00	67±9	78±8	64±4	<LdQ
Agosto 2007	0.45±0.00	0.41±0.00	241±9	140±20	207±4	<LdQ
Settembre 2007	1.75±0.03	0.50±0.01	-	-	12±5	24.2±0.8
Ottobre 2007	0.36±0.01	0.37±0.01	60±10	77.6±0.5	22±6	<LdQ
Marzo 2008	0.20±0.00	0.31±0.00	70±10	<LdQ	14±2	5.6±0.9

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cd</sub> = 7.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Ni</sub> = 2.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.16

Monte Agruxiau 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Giugno 2006	0.29±0.00	2.57±0.05	122±7	11±1	<LdQ	7.74±0.00
Luglio 2006	0.58±0.00	0.84±0.07	200±30	-	21.51±0.00	<LdQ
Agosto 2006	0.82±0.01	1.11±0.02	210±20	-	31.52±0.00	<LdQ
Settembre 2006	0.58±0.02	0.63±0.02	490±40	-	41±2	8.11±0.00
Ottobre 2006	0.51±0.00	0.63±0.01	81±2	53±5	89±2	<LdQ
Novembre 2006	0.41±0.00	0.40±0.00	-	-	24±4	<LdQ
Aprile 2007	0.52±0.01	0.48±0.02	47±8	390±20	42±2	<LdQ
Maggio 2007	0.13±0.01	0.09±0.01	<LdQ	13±3	9±3	<LdQ
Giugno 2007	0.26±0.00	0.27±0.00	-	-	33±6	<LdQ
Luglio 2007	0.60±0.01	0.35±0.01	100±20	24±5	23±5	<LdQ
Agosto 2007	0.77±0.01	0.25±0.01	63±6	48±3	52±4	3.99±0.00
Settembre 2007	0.31±0.02	0.41±0.01	80±20	45±3	15±1	<LdQ
Ottobre 2007	0.38±0.00	0.39±0.00	67±9	35.3±0.3	34±7	<LdQ
Marzo 2008	0.38±0.01	0.37±0.00	200±10	83±5	29±4	<LdQ

$\text{LdQ}_{\text{Pb}} = 28.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cr}} = 2.1 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.17

Montevecchio 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
<b>Aprile 2007</b>	0.38±0.01	0.19±0.00	<LdQ	94±1	4.3±0.5	<LdQ
<b>Maggio 2007</b>	0.19±0.00	0.62±0.01	-	-	49±3	<LdQ
<b>Giugno 2007</b>	0.28±0.01	0.12±0.00	<LdQ	<LdQ	14±5	<LdQ
<b>Luglio 2007</b>	1.03±0.02	0.16±0.00	50±10	<LdQ	23±4	<LdQ
<b>Agosto 2007</b>	0.33±0.00	0.27±0.00	44±6	<LdQ	25±4	<LdQ
<b>Settembre 2007</b>	0.36±0.02	0.31±0.00	<LdQ	<LdQ	18±3	8±1
<b>Ottobre 2007</b>	0.31±0.01	0.21±0.00	30±2	<LdQ	7.3±0.7	7±1
<b>Marzo 2008</b>	0.38±0.01	1.85±0.04	130±10	<LdQ	10±2	5±1

Tabella 4.18

Montevecchio 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
<b>Aprile 2007</b>	0.23±0.00	0.69±0.01	40.3±0.7	63±4	4.21±0.00	<LdQ
<b>Maggio 2007</b>	0.17±0.01	0.45±0.01	36±8	30±4	32±3	<LdQ
<b>Giugno 2007</b>	0.18±0.00	0.19±0.00	-		25.7±0.9	12.78±0.00
<b>Luglio 2007</b>	0.31±0.01	0.19±0.00	60±10	<LdQ	6±3	<LdQ
<b>Agosto 2007</b>	0.52±0.00	0.25±0.00	72±6	<LdQ	15.0±0.5	<LdQ
<b>Settembre 2007</b>	0.17±0.00	0.23±0.00	44±8	<LdQ	6±3	<LdQ
<b>Ottobre 2007</b>	0.20±0.01	0.23±0.00	60±10	<LdQ	<LdQ	<LdQ
<b>Marzo 2008</b>	0.31±0.00	0.28±0.00	160±10	<LdQ	1.0±0.3	<LdQ

$LdQ_{Pb} = 28.6 \mu\text{g/kg}$

$LdQ_{Cd} = 7.6 \mu\text{g/kg}$

$LdQ_{Cr} = 2.1 \mu\text{g/kg}$

$LdQ_{Ni} = 2.6 \mu\text{g/kg}$

Tabella 4.19

Montevecchio 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.18±0.00	0.29±0.02	92±7	87±3	4.27±0.00	<LdQ
Maggio 2007	0.31±0.00	0.65±0.02	<LdQ	31±3	33±3	<LdQ
Giugno 2007	0.15±0.01	0.23±0.00	<LdQ	19±1	25±2	<LdQ
Luglio 2007	0.22±0.01	0.27±0.00	51±2	<LdQ	17±4	<LdQ
Agosto 2007	0.32±0.00	0.53±0.00	91±7	8±4	26±1	<LdQ
Settembre 2007	0.20±0.00	0.36±0.01	38±7	<LdQ	<LdQ	19.5±0.2
Ottobre 2007	0.30±0.01	0.34±0.01	152±5	19±3	5.5±0.3	<LdQ
Marzo 2008	0.19±0.00	0.10±0.00	-	-	<LdQ	<LdQ

Tabella 4.20

Ingurtosu 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.38±0.02	0.95±0.01	40±6	54±5	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.44±0.01	1.22±0.02	<LdQ	70±4	51±2	<LdQ
Giugno 2007	0.04±0.01	0.17±0.00	<LdQ	<LdQ	20±3	<LdQ
Luglio 2007	0.31±0.00	0.74±0.01	48±7	30±2	11.6±0.7	<LdQ
Agosto 2007	0.34±0.01	0.45±0.00	35±11	45±6	4.8±0.7	<LdQ
Settembre 2007	0.20±0.00	0.41±0.01	<LdQ	29±3	6±1	17±2
Ottobre 2007	0.29±0.00	0.48±0.00	-	16±1	<LdQ	<LdQ
Marzo 2008	0.25±0.01	0.11±0.00	61±1	-	19±4	<LdQ

$\text{LdQ}_{\text{Pb}} = 28.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cd}} = 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cr}} = 2.1 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$





Tabella 4.21

Ingurtosu 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.18±0.00	0.29±0.02	-	-	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.31±0.00	0.65±0.02	<LdQ	73±6	34±2	21.57±0.00
Giugno 2007	0.15±0.01	0.23±0.00	<LdQ	38±8	26±4	<LdQ
Luglio 2007	0.22±0.01	0.27±0.00	110±10	40±4	9±3	<LdQ
Agosto 2007	0.32±0.00	0.53±0.00	41±9	83±6	8±3	<LdQ
Settembre 2007	0.20±0.00	0.36±0.01	<LdQ	54±3	15±2	11.8±0.6
Ottobre 2007	0.30±0.01	0.34±0.01	76±9	91±2	5.73±0.00	1.8±0.2
Marzo 2008	0.19±0.00	0.10±0.00	<LdQ	<LdQ	33±4	<LdQ

Tabella 4.22

Ingurtosu 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.20±0.00	0.18±0.00	-		<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.23±0.00	0.58±0.02	<LdQ	14±2	26±1	<LdQ
Giugno 2007	0.20±0.00	0.25±0.00	<LdQ	<LdQ	16±2	<LdQ
Luglio 2007	0.15±0.00	0.42±0.01	90±20	41.0±0.3	7±1	<LdQ
Agosto 2007	0.45±0.01	0.58±0.01	29±5	47±2	14±3	<LdQ
Settembre 2007	0.17±0.00	0.37±0.02	38±4	44±2	4±2	<LdQ
Ottobre 2007	0.31±0.01	0.34±0.00	52±4	34±4	<LdQ	<LdQ
Marzo 2008	0.32±0.00	0.11±0.00	105±5	18.4±0.9	40±5	<LdQ

$\text{LdQ}_{\text{Pb}} = 28.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cd}} = 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Cr}} = 2.1 \mu\text{g}/\text{kg}$

$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.23

Gennemari 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.19±0.00	0.84±0.01	-		<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.09±0.00	0.70±0.02	150±20	<LdQ	25±1	<LdQ
Giugno 2007	0.10±0.00	0.24±0.00	<LdQ	<LdQ	11±2	<LdQ
Luglio 2007	0.47±0.01	1.06±0.00	130±10	<LdQ	<LdQ	<LdQ

Tabella 4.24

Gennemari 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.19±0.00	0.70±0.00	-	-	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.20±0.00	0.72±0.02	<LdQ	<LdQ	39±4	16±2
Giugno 2007	0.17±0.00	0.57±0.00	<LdQ	<LdQ	28±1	<LdQ
Luglio 2007	0.10±0.01	0.32±0.01	<LdQ	<LdQ	6±1	<LdQ

Tabella 4.25

Gennemari 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{miele}}$ )		Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{miele}}$ )			
	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	Cr
Aprile 2007	0.39±0.01	1.05±0.01	<LdQ	<LdQ	<LdQ	<LdQ
Maggio 2007	0.15±0.00	0.67±0.01	<LdQ	<LdQ	21±1	<LdQ
Giugno 2007	0.11±0.00	0.33±0.01	49±3	<LdQ	25.6±0.5	<LdQ
Luglio 2007	0.43±0.00	0.57±0.00	32±8	<LdQ	18±1	<LdQ

**LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$**

**LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$**

- 77 -

Severyn Salis - "Stima dell'impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d'alveare" - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

$LdQ_{Cd} = 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

$LdQ_{Ni} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$

**Api**  
Tabella 4.26

Musei 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{Kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Giugno 2006</b>	2.306±0.003	24.8±0.3	46±3	3.02±0.05	0.2±0.01	105±7	530±10
<b>Luglio 2006</b>	3.54±0.06	25.9±0.4	24±4	1.16±0.01	<LdQ	31±2	73±4
<b>Agosto 2006</b>	0.470±0.004	13.6±0.2	21.1±0.1	0.76±0.01	<LdQ	30±1	120±10
<b>Settembre 2006</b>	1.31±0.06	17.6±0.5	30±1	0.70±0.02	0.100±0.003	39.0±0.0	133±3
<b>Ottobre 2006</b>	1.06±0.04	11.9±0.1	26.7±0.3	0.20±0.04	0.004±0.000	52.0±0.0	149±9
<b>Novembre 2006</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Aprile 2007</b>	0.61±0.01	9.4±0.1	14.2±0.2	0.069±0.002	1.52±0.02	41.3±0.5	130±10
<b>Maggio 2007</b>	0.30±0.01	10.9±0.1	12.2±0.3	<LdQ	0.80±0.05	30±3	52±9
<b>Giugno 2007</b>	0.33±0.01	12.8±0.4	20.5±0.3	0.61±0.04	1.16±0.05	30±1	86±5
<b>Luglio 2007</b>	0.73±0.01	4.81±0.06	74±1	0.12±0.01	0.68±0.03	50±7	190±20
<b>Agosto 2007</b>	0.77±0.01	13.90±0.08	15.59±0.06	0.080±0.009	0.48±0.02	30±1	410±10
<b>Settembre 2007</b>	0.85±0.01	17.1±0.1	8.39±0.09	0.818±0.006	0.17±0.03	38±3	9±2
<b>Ottobre 2007</b>	0.761±0.005	18.04±0.02	12.9±0.1	0.124±0.001	0.24±0.05	<LdQ	158±7
<b>Marzo 2008</b>	1.93±0.01	14.55±0.05	20.16±0.03	0.30±0.03	0.17±0.02	61±6	90±20

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6 µg/kg

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg

LdQ<sub>Co</sub> = 5.4 µg/kg

Tabella 4.27

Musei 2	Concentrazione (µg/g <sub>Api</sub> )					Concentrazione (µg/Kg <sub>Api</sub> )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
Giugno 2006	1.24±0.01	12.64±0.06	94±11	0.50±0.01	0.262±0.002	98.4±0.4	680±30
Luglio 2006	1.36±0.02	12.2±0.5	13.8±0.1	0.44±0.02	0.007±0.000	24.5±0.4	42.9±0.4
Agosto 2006			21.1±0.8		<LdQ	43±1	87±6
Settembre 2006	1.6±0.1	15.5±0.2	30.4±0.2	0.93±0.02	0.01±0.00	58±7	160±10
Ottobre 2006	0.92±0.04	9.89±0.05	25.70±0.03	0.17±0.02	<LdQ	25±5	78±3
Novembre 2006	NON CAMPIONATO						
Aprile 2007	0.320±0.004	4.74±0.05	15.28±0.07	0.09±0.01	0.59±0.07	24±2	42±2
Maggio 2007	0.61±0.01	7.68±0.06	20.62±0.09	<LdQ	0.99±0.08	30±2	110±20
Giugno 2007	0.75±0.01	13.6±0.3	32.27±0.07	0.94±0.01	1.49±0.11	43±1	68±8
Luglio 2007	1.263±0.005	15.36±0.02	31.8±0.3	0.22±0.02	0.26±0.04	40±7	320±20
Agosto 2007	0.94±0.01	15.7±0.1	14.3±0.1	0.22±0.02	0.26±0.01	30±1	250±10
Settembre 2007	0.535±0.002	14.75±0.09	16.0±0.2	0.681±0.003	1.28±0.03	66±3	260±10
Ottobre 2007	1.02±0.01	16.3±0.2	21.62±0.09	0.14±0.01	139±4	26.0±0.0	740±70

<b>Marzo 2008</b>	1.765±0.006	19.0±0.2	24.2±0.1	0.146±0.005	0.08±0.01	346±9	27±7
		<b>LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6 µg/kg</b>		<b>LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg</b>			

Tabella 4.28

Musei 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
Giugno 2006	1.95±0.02	102.8±0.4	38±2	2.61±0.01	0.185±0.002	108±6	293±8
Luglio 2006	1.8±0.1	18.65±0.07	18±2	1.65±0.02	0.085±0.004	47.0±0.5	140±10
Agosto 2006	1.38±0.02	13.3±0.3	27±1	0.514±0.004	<LdQ	60.0±0.0	101±5
Settembre 2006	1.52±0.02	15.6±0.5	23.8±0.4	0.57±0.02	0.02±0.00	76±4	115.2±0.5
Ottobre 2006	0.98±0.04	12.62±0.08	21.6±0.1	1.12±0.05	0.02±0.00	31±7	90±5
Novembre 2006	NON CAMPIONATO						
Aprile 2007	0.79±0.04	9.00±0.05	18.4±0.3	<LdQ	0.41±0.03	37.1±0.8	84±5
Maggio 2007	0.66±0.02	9.2±0.1	18.1±0.2	<LdQ	0.73±0.02	33.0±0.8	98±6
Giugno 2007	0.52±0.01	13.6±0.3	33.4±0.2	1.37±0.04	0.59±0.08	53.1±0.5	93±5
Luglio 2007	1.17±0.01	13.49±0.04	74.7±0.1	0.19±0.03	0.33±0.02	45±2	140±10
Agosto 2007	0.532±0.004	17.3±0.2	13.30±0.05	0.48±0.01	0.61±0.03	40±1	750±20
Settembre 2007	0.85±0.01	17.5±0.2	14.0±0.1	0.66±0.02	0.39±0.04	56±3	63±5
Ottobre 2007	0.702±0.003	13.08±0.07	10.42±0.06	0.10±0.04	0.63±0.06	12±3	88.3±0.4
Marzo 2008	1.299±0.003	17.17±0.04	20.9±0.2	0.47±0.02	0.18±0.02	99±5	65±7



**LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6 µg/kg**

**LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg**

Tabella 4.29

Cortoghiana 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
Giugno 2006	8.3±0.2	23.4±0.1	34±1	23.83±0.05	0.2±0.0	125±4	740±20
Luglio 2006	2.24±0.05	16.57±0.06	33.8±0.8	5.427±0.003	0.054±0.003	89±3	120±10
Agosto 2006	NON CAMPIONATO						
Settembre 2006			54±2		0.47±0.03	63.6±0.5	490±30
Ottobre 2006	1.42±0.06	10.36±0.02	27±1	2.9±0.1	0.0117±0.0001	42±5	230±10
Novembre 2006	1.58±0.02	12.9±0.3	13.2±0.1	11.40±0.06	1.18±0.06	30±6	101±5
Aprile 2007	1.08±0.01	14.0±0.2	65.3±0.4	0.99±0.03	0.65±0.04	39±5	240±30
Maggio 2007	1.30±0.02	18.7±0.2	71±2	0.67±0.04	1.04±0.02	34±4	420±50
Giugno 2007	1.093±0.002	15.8±0.4	71.8±0.2	2.71±0.01	0.64±0.06	43±4	120±20
Luglio 2007	1.136±0.006	15.00±0.00	0.12±0.01	0.93±0.01	<LdQ	6±1	130±10
Agosto 2007	0.62±0.01	13.55±0.06	25.39±0.07	0.94±0.02	0.34±0.02	34±3	160±10
Settembre 2007	1.04±0.02	17.9±0.3	25.7±0.2	1.46±0.01	0.16±0.03	21±4	160±20
Ottobre 2007	0.674±0.006	13.7±0.1	18.8±0.3	0.64±0.03	0.49±0.12	<LdQ	95±8
Marzo 2008	1.69±0.03	79±2	24.67±0.02	2.42±0.02	0.18±0.02	20±10	70±10

**LdQ<sub>Co</sub> = 5.4 µg/kg**

**LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg**

Tabella 4.30

Cortoghiana 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
Giugno 2006	7.9 $\pm$ 0.2	24.6 $\pm$ 0.4	46 $\pm$ 2	12.88 $\pm$ 0.05	0.08 $\pm$ 0.00	123 $\pm$ 4	530 $\pm$ 10
Luglio 2006	28.3 $\pm$ 0.2	22.3 $\pm$ 0.4	34.03 $\pm$ 0.06	15.32 $\pm$ 0.08	0.07 $\pm$ 0.01	108 $\pm$ 1	216.5 $\pm$ 0.5
Agosto 2006	NON CAMPIONATO						
Settembre 2006	1.81 $\pm$ 0.04	15.44 $\pm$ 0.07	26 $\pm$ 1	5.56 $\pm$ 0.02	0.008 $\pm$ 0.004	77 $\pm$ 4	251 $\pm$ 5
Ottobre 2006	5.82 $\pm$ 0.09	13.02 $\pm$ 0.03	23.9 $\pm$ 0.1	1.51 $\pm$ 0.02	<LdQ	40 $\pm$ 1	81 $\pm$ 4
Novembre 2006	1.74 $\pm$ 0.01	13.2 $\pm$ 0.3	15.87 $\pm$ 0.07	5.5 $\pm$ 0.2	1.04 $\pm$ 0.09	35.9 $\pm$ 0.4	81 $\pm$ 3
Aprile 2007	1.18 $\pm$ 0.01	13.9 $\pm$ 0.2	47 $\pm$ 1	1.28 $\pm$ 0.02	167.61 $\pm$ 0.08	38 $\pm$ 4	2100 $\pm$ 100
Maggio 2007	1.07 $\pm$ 0.03	17.8 $\pm$ 0.3	27.4 $\pm$ 0.4	1.15 $\pm$ 0.06	0.99 $\pm$ 0.02	32 $\pm$ 3	190 $\pm$ 10
Giugno 2007	0.82 $\pm$ 0.02	14.6 $\pm$ 0.6	56.3 $\pm$ 0.7	2.91 $\pm$ 0.01	0.38 $\pm$ 0.02	37 $\pm$ 3	115 $\pm$ 7
Luglio 2007	0.65 $\pm$ 0.02	20.25 $\pm$ 0.04	22.3 $\pm$ 0.3	1.61 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.00	23.1 $\pm$ 0.8	334 $\pm$ 8
Agosto 2007	0.72 $\pm$ 0.01	14.24 $\pm$ 0.07	12.2 $\pm$ 0.2	0.93 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.00	60 $\pm$ 2	197 $\pm$ 9
Settembre 2007	0.60 $\pm$ 0.01	14.38 $\pm$ 0.06	14.18 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.03	20 $\pm$ 5	32 $\pm$ 8
Ottobre 2007	0.92 $\pm$ 0.01	12.3 $\pm$ 0.2	26.8 $\pm$ 0.2	0.47 $\pm$ 0.01	0.30 $\pm$ 0.06	<LdQ	470 $\pm$ 20
Marzo 2008	1.296 $\pm$ 0.003	20.0 $\pm$ 0.3	18.8 $\pm$ 0.2	2.64 $\pm$ 0.02	0.031 $\pm$ 0.008	59.0 $\pm$ 0.0	70 $\pm$ 10

$LdQ_{Co} = 5.4 \mu\text{g/kg}$

$LdQ_{Cr} = 2.1 \mu\text{g/kg}$

Tabella 4.31

Cortoghiana 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
Giugno 2006	26.0±0.5	22.9±0.3	38±1	14.4±0.2	0.057±0.002	100±20	440±20
Luglio 2006	3.4±0.1	15.7±0.1	41±2	4.488±0.001	0.02±0.00	74.0±0.5	160±10
Agosto 2006	NON CAMPIONATO						
Settembre 2006	6.4±0.2	17.1±0.3	30.1±0.7	5.22±0.05	<LdQ	77±9	233±6
Ottobre 2006	3.1±0.3	11.2±0.3	25.4±0.2	0.87±0.05	<LdQ	47±2	200±20
Novembre 2006	1.43±0.01	12.2±0.2	20.65±0.02	4.15±0.03	0.96±0.06	45±3	151.0±0.0
Aprile 2007	1.201±0.005	16.03±0.04	28.2±0.2	1.12±0.02	74.0±0.5	25±3	560±30
Maggio 2007	1.08±0.01	20.26±0.08	28.7±0.5	0.72±0.04	0.98±0.02	24.1±0.4	84±9
Giugno 2007	1.04±0.01	14.4±0.2	66.2±0.4	3.98±0.09	0.94±0.04	29.7±0.5	120±10
Luglio 2007	2.42±0.02	16.8±0.2	68.4±0.6	5.17±0.03	0.53±0.00	45±3	340±20
Agosto 2007	0.86±0.01	17.8±0.1	16.29±0.06	1.49±0.01	0.22±0.03	23.6±0.6	131.9±0.7
Settembre 2007	0.957±0.003	14.0±0.1	18.71±0.04	1.41±0.02	0.19±0.02	34±2	35±1
Ottobre 2007	0.68±0.01	17.9±0.2	23.2±0.3	0.61±0.02	0.28±0.01	8±4	230±30

Marzo 2008	1.315±0.004	20.74±0.02	24.88±0.04	0.96±0.01	0.06±0.04	<LdQ	39±7
		LdQ <sub>Co</sub> = 5.4 µg/kg		LdQ <sub>Cr</sub> = 2.1 µg/kg			

Tabella 4.32

Monte Agruxiau 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Giugno 2006</b>	34.7 $\pm$ 0.5	106 $\pm$ 3	31.3 $\pm$ 0.3	9.25 $\pm$ 0.08	0.105 $\pm$ 0.004	114 $\pm$ 1	560 $\pm$ 30
<b>Luglio 2006</b>	5.04 $\pm$ 0.02	15.40 $\pm$ 0.09	20.6 $\pm$ 0.8	3.427 $\pm$ 0.002	0.04 $\pm$ 0.00	101 $\pm$ 1	582 $\pm$ 5
<b>Agosto 2006</b>			24.62 $\pm$ 0.04		0.032 $\pm$ 0.002	137 $\pm$ 5	108 $\pm$ 5
<b>Settembre 2006</b>	33 $\pm$ 2	18.4 $\pm$ 0.3	32.2 $\pm$ 0.2	4.98 $\pm$ 0.04	0.274 $\pm$ 0.009	152 $\pm$ 3	164 $\pm$ 4
<b>Ottobre 2006</b>	29.0 $\pm$ 0.6	6.64 $\pm$ 0.03	19.6 $\pm$ 0.3	1.24 $\pm$ 0.05	0.90 $\pm$ 0.05	66 $\pm$ 8	162 $\pm$ 8
<b>Novembre 2006</b>	6.35 $\pm$ 0.08	11.20 $\pm$ 0.03	81 $\pm$ 1	1.16 $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.02	63 $\pm$ 8	77 $\pm$ 4
<b>Aprile 2007</b>	27 $\pm$ 1	15.6 $\pm$ 0.3	46.26 $\pm$ 0.06	0.935 $\pm$ 0.005	6.2 $\pm$ 0.4	270 $\pm$ 20	140 $\pm$ 30
<b>Maggio 2007</b>	23 $\pm$ 1	12.9801 $\pm$ 0.0004	17.52 $\pm$ 0.07	1.223 $\pm$ 0.005	0.80 $\pm$ 0.06	29.8 $\pm$ 0.7	78 $\pm$ 8
<b>Giugno 2007</b>	2.552 $\pm$ 0.003	5.29 $\pm$ 0.02	17.4 $\pm$ 0.3	1.436 $\pm$ 0.005	0.36 $\pm$ 0.06	21 $\pm$ 1	80 $\pm$ 20
<b>Luglio 2007</b>	2.287 $\pm$ 0.005	5.73 $\pm$ 0.07	23.0 $\pm$ 0.9	1.88 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.03	30 $\pm$ 4	160 $\pm$ 10
<b>Agosto 2007</b>	2.15 $\pm$ 0.02	53 $\pm$ 1	12.39 $\pm$ 0.04	1.94 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.02	57.3 $\pm$ 0.8	70 $\pm$ 10
<b>Settembre 2007</b>	3.08 $\pm$ 0.02	15.49 $\pm$ 0.06	20.60 $\pm$ 0.05	6.11 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.08	58.5 $\pm$ 0.8	<LdQ
<b>Ottobre 2007</b>	10.2 $\pm$ 0.1	4.87 $\pm$ 0.02	17.26 $\pm$ 0.08	1.33 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.01	21 $\pm$ 7	284 $\pm$ 2
<b>Marzo 2008</b>	2.560 $\pm$ 0.004	15.1 $\pm$ 0.1	18.9 $\pm$ 0.3	1.87 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.00	86 $\pm$ 3	67 $\pm$ 7



$$\text{LdQ}_{\text{Ni}} = 2.6 \mu\text{g}/\text{kg}$$

Tabella 4.33

Monte Agruxiau 2	Concentrazione ( $\mu\text{g/g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g/g}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Giugno 2006</b>	7.2±0.2	101±1	27.0±0.7	6.25±0.03	0.11±0.00	120±4	340±10
<b>Luglio 2006</b>	1.68±0.07	11.5±0.1	16.2±0.1	3.73±0.02	0.02±0.00	61±4	220±10
<b>Agosto 2006</b>	7.8±0.2	18.2±0.1	24.14±0.06	33.4±0.3	0.02±0.00	136±4	130±20
<b>Settembre 2006</b>	45±2	21.8±0.3	34.0±0.9	3.21±0.04	0.037±0.004	170±10	182±5
<b>Ottobre 2006</b>	40±1	14.2±0.1	20.8±0.1	1.58±0.01	0.77±0.01	33±2	85.9±0.9
<b>Novembre 2006</b>	6.68±0.08	9.4±0.2	43±2	1.156±0.007	0.65±0.02	36±1	119.0±0.0
<b>Aprile 2007</b>	25.16±0.08	11.51±0.02	51.2±0.4	0.96±0.03	1.57±0.01	90±20	122±2
<b>Maggio 2007</b>	7.1±0.4	13.4±0.1	52.0±0.4	0.97±0.08	0.73±0.05	36.1±0.9	48±3
<b>Giugno 2007</b>	2.56±0.06	15.789±0.003	62.6±0.2	5.46±0.06	0.50±0.04	63±3	70±10
<b>Luglio 2007</b>	2.35±0.06	16.0±0.2	21.28±0.05	1.386±0.007	0.75±0.04	34±4	288±3
<b>Agosto 2007</b>	2.37±0.02	17.08±0.04	17.2±0.3	2.28±0.03	0.043±0.007	53±4	92±2
<b>Settembre 2007</b>	2.84±0.02	13.4±0.2	14.2±0.1	3.996±0.001	0.19±0.02	52±2	27±3
<b>Ottobre 2007</b>	11.96±0.03	6.23±0.04	25.7±0.2	1.35±0.03	0.16±0.02	30±20	160±10
<b>Marzo 2008</b>	7.76±0.06	18.7±0.3	28.4±0.2	2.99±0.04	0.16±0.02	146±4	72.0±0.6



Tabella 4.34

Monte Agruxiau 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Giugno 2006</b>	35±2	105.7±0.2	35±2	7.80±0.04	0.100±0.000	102±6	400±30
<b>Luglio 2006</b>	39±2	24.4±0.1	31±2	8.32±0.04	0.01±0.00	120.4±0.5	323±8
<b>Agosto 2006</b>	7.58±0.08	14.0±0.1	22.3±0.2	4.93±0.02	0.004±0.000	190±3	100±6
<b>Settembre 2006</b>	38.5±0.4	10.59±0.08	32.2±0.2	1.199±0.008	0.02±0.00	80±10	162±4
<b>Ottobre 2006</b>	40±2	9.9±0.1		3.10±0.01			
<b>Novembre 2006</b>	5.14±0.05	11.46±0.02	42.8±0.9	1.59±0.03	0.65±0.02	48±3	109±0
<b>Aprile 2007</b>	31.7±0.8	13.1±0.2	66.1±0.9	1.49±0.03	0.98±0.08	57.6±0.9	250±30
<b>Maggio 2007</b>	31.0±0.1	14.6±0.2	18.6±0.3	1.17±0.03	0.90±0.02	53±1	80±10
<b>Giugno 2007</b>	3.17±0.04	14.65±0.07	28.0±0.3	2.30±0.04	0.62±0.04	45±3	64±5
<b>Luglio 2007</b>	2.28±0.02	17.89±0.05	21.4±0.1	3.87±0.02	0.13±0.02	37.1±0.9	380±20
<b>Agosto 2007</b>	2.322±0.004	15.40±0.02	17.2±0.3	3.56±0.01	0.038±0.006	61±6	43±6
<b>Settembre 2007</b>	2.80±0.01	15.896±0.004	22.6±0.2	5.29±0.05	0.33±0.02	62±2	64±9
<b>Ottobre 2007</b>	10.2±0.2	11.97±0.08	20.31±0.08	1.55±0.03	0.35±0.04	26±3	250±20

<b>Marzo 2008</b>	2.63±0.01	12.16±0.03	23.9±0.2	2.177±0.008	0.039±0.008	125±7	80±20
-------------------	-----------	------------	----------	-------------	-------------	-------	-------

Tabella 4.35

Montevecchio 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.609±0.005	11.50±0.02	23.97±0.02	0.18±0.02	1.83±0.08	26±4	112±3
<b>Maggio 2007</b>	1.223±0.005	12.90±0.09	20.57±0.08	0.37±0.02	0.89±0.02	38±3	130±20
<b>Giugno 2007</b>	1.458±0.005	12.4±0.2	31.8±0.4	1.16±0.02	0.28±0.02	40±1	63±8
<b>Luglio 2007</b>	0.26±0.01	66±7	27.7±0.7	0.82±0.02	0.09±0.02	35±1	320±20
<b>Agosto 2007</b>	2.44±0.02	21.60±0.04	21.5±0.2	1.68±0.02	0.06±0.02	48.8±0.5	100±10
<b>Settembre 2007</b>	2.63±0.05	17.4±0.2	16.4±0.1	1.448±0.007	0.07±0.02	47±1	7±3
<b>Ottobre 2007</b>	2.33±0.09	12.48±0.04	17.9±0.2	0.95±0.03	0.26±0.02	22±8	118±4
<b>Marzo 2008</b>	1.33±0.01	13.480±0.006	20.12±0.09	1.49±0.02	<LdQ	82±6	60±20

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.36

Montevecchio 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.84±0.02	12.96±0.08	24.2±0.1	0.466±0.008	0.86±0.02	32.9±0.4	101±9
<b>Maggio 2007</b>	24.3±0.1	15.96±0.01	51.0±0.2	1.42±0.08	0.92±0.04	58±3	100±20
<b>Giugno 2007</b>	1.34±0.02	16.1±0.3	23.5±0.3	3.64±0.08	0.18±0.02	32±2	61±5
<b>Luglio 2007</b>	1.85±0.04	70±10	30.00±0.04	3.78±0.02	0.149±0.009	33±2	770±40
<b>Agosto 2007</b>	2.49±0.03	18.7±0.1	18±1	2.53±0.03	0.071±0.009	42±2	80±5
<b>Settembre 2007</b>	13.3±0.2	20.8±0.1	22.98±0.03	4.16±0.04	0.11±0.02	28.2±0.9	70±20
<b>Ottobre 2007</b>	2.66±0.02	13.55±0.07	22.70±0.09	1.10±0.02	0.49±0.05	24±3	280±20
<b>Marzo 2008</b>	2.724±0.004	16.07±0.03	29.0±0.1	1.54±0.03	0.06±0.03	74±8	100±10





Tabella 4.37

Montevecchio 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	1.11±0.01	11.93±0.03	19.8±0.2	0.76±0.03	0.94±0.04	33.6±0.9	103±6
<b>Maggio 2007</b>	5.21±0.01	16.7±0.2	21.89±0.06	0.534±0.007	0.70±0.09	39±2	150±20
<b>Giugno 2007</b>	1.43±0.04	15.3±0.3	15.59±0.06	1.94±0.02	0.18±0.02	29.8±0.3	40±10
<b>Luglio 2007</b>	1.53±0.02	20.0±0.2	27.5±0.2	4.80±0.05	0.05±0.00	38.6±0.6	460±20
<b>Agosto 2007</b>	2.60±0.02	17.7±0.4	24.7±0.3	2.60±0.01	<LdQ	56±3	85±6
<b>Settembre 2007</b>	2.512±0.003	12.0±0.1	18.91±0.04	2.06±0.01	0.45±0.08	39±1	70±20
<b>Ottobre 2007</b>	2.08±0.03	12.49±0.03	18.21±0.3	0.65±0.03	0.80±0.05	23±4	140±10
<b>Marzo 2008</b>	2.602±0.028	16.41±0.01	31.98±0.05	1.02±0.01	45±3	210±20	54±9

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.38

Ingurto <u>s</u> u 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	1.148 $\pm$ 0.005	14.499 $\pm$ 0.002	21.9 $\pm$ 0.7	4.02 $\pm$ 0.06	1.96 $\pm$ 0.03	46 $\pm$ 4	233 $\pm$ 9
<b>Maggio 2007</b>	5.8 $\pm$ 0.1	17.1 $\pm$ 0.4	52 $\pm$ 1	0.11 $\pm$ 0.03	0.75 $\pm$ 0.05	66 $\pm$ 9	150 $\pm$ 20
<b>Giugno 2007</b>	2.28 $\pm$ 0.04	15.84 $\pm$ 0.09	25.2 $\pm$ 0.1	2.60 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.02	35 $\pm$ 2	80 $\pm$ 10
<b>Luglio 2007</b>	6.3 $\pm$ 0.2	81.0 $\pm$ 0.9	62.4 $\pm$ 2	1.60 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.02	46.2 $\pm$ 0.9	370 $\pm$ 40
<b>Agosto 2007</b>	2.76 $\pm$ 0.02	19.6 $\pm$ 0.2	29.25 $\pm$ 0.05	0.60 $\pm$ 0.01	<LdQ	71 $\pm$ 3	130 $\pm$ 10
<b>Settembre 2007</b>	12.44 $\pm$ 0.01	12.27 $\pm$ 0.05	19.3 $\pm$ 0.3	0.54 $\pm$ 0.02	0.068 $\pm$ 0.009	53 $\pm$ 1	41 $\pm$ 4
<b>Ottobre 2007</b>	2.72 $\pm$ 0.04	15.01 $\pm$ 0.07	18.05 $\pm$ 0.02	0.27 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.05	21 $\pm$ 0	130 $\pm$ 20
<b>Marzo 2008</b>	1.45 $\pm$ 0.01	12.08 $\pm$ 0.02	25.11 $\pm$ 0.06	0.17 $\pm$ 0.01	9.2 $\pm$ 0.3	154 $\pm$ 9	70 $\pm$ 10

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.39

Ingurtosu 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	1.04±0.07	13.32±0.07	20.98±0.06	<LdQ	1.9±0.1	28±1	155±8
<b>Maggio 2007</b>	4.11±0.04	13.58±0.02	30.2±0.2	0.24±0.01	1.03±0.04	54±1	110±10
<b>Giugno 2007</b>	2.09±0.01	13.6±0.2	24.9±0.2	3.00±0.02	0.32±0.02	36±3	150±20
<b>Luglio 2007</b>	2.69±0.05	19.1±0.2	45.99±0.06	1.065±0.006	0.15±0.04	57±4	242±6
<b>Agosto 2007</b>	2.83±0.01	14.7±0.1	30.5±0.4	0.22±0.01	<LdQ	53±3	138±6
<b>Settembre 2007</b>	11.2±0.2	5.88±0.03	27.8±0.1	0.51±0.01	0.09±0.02	41±3	80±20
<b>Ottobre 2007</b>	9.4±0.5	13.7±0.1	21.8±0.1	0.23±0.02	0.6±0.1	26±3	120±20
<b>Marzo 2008</b>	0.609±0.003	15.35±0.04	14.84±0.05	<LdQ	0.044±0.009	220±10	51±1

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.40

Ingurtosu 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.821 $\pm$ 0.005	12.19 $\pm$ 0.07	28.3 $\pm$ 0.1	0.070 $\pm$ 0.002	1.2 $\pm$ 0.1	42 $\pm$ 3	164 $\pm$ 4
<b>Maggio 2007</b>	2.4 $\pm$ 0.1	16.0 $\pm$ 0.2	27.4 $\pm$ 0.2	0.36 $\pm$ 0.02	0.88 $\pm$ 0.04	43 $\pm$ 1	110 $\pm$ 10
<b>Giugno 2007</b>	2.26 $\pm$ 0.03	15.64 $\pm$ 0.08	56 $\pm$ 3	7.2 $\pm$ 0.2	0.38 $\pm$ 0.02	260 $\pm$ 6	90 $\pm$ 20
<b>Luglio 2007</b>	2.64 $\pm$ 0.04	18.74 $\pm$ 0.09	28.6 $\pm$ 0.2	0.52 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	47 $\pm$ 2	268 $\pm$ 7
<b>Agosto 2007</b>	2.79 $\pm$ 0.01	13.07 $\pm$ 0.02	57 $\pm$ 1	1.96 $\pm$ 0.05	0.569 $\pm$ 0.007	74 $\pm$ 1	150 $\pm$ 20
<b>Settembre 2007</b>	50 $\pm$ 1	13.26 $\pm$ 0.04	26.61 $\pm$ 0.02	0.629 $\pm$ 0.001	<LdQ	30.4 $\pm$ 0.5	110 $\pm$ 20
<b>Ottobre 2007</b>	10.47 $\pm$ 0.01	13.48 $\pm$ 0.06	23.5 $\pm$ 0.1	0.47 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.04	24 $\pm$ 8	170 $\pm$ 10
<b>Marzo 2008</b>	1.53 $\pm$ 0.01	17.49 $\pm$ 0.03	27.4 $\pm$ 0.4	0.078 $\pm$ 0.004	<LdQ	168 $\pm$ 6	74 $\pm$ 4

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.41

Gennemari 1	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.18 $\pm$ 0.01	11.4 $\pm$ 0.1	27.0 $\pm$ 0.2	0.04 $\pm$ 0.01	0.94 $\pm$ 0.09	59 $\pm$ 0	69 $\pm$ 9
<b>Maggio 2007</b>	0.44 $\pm$ 0.01	13.0 $\pm$ 0.1	22.9 $\pm$ 0.7	<LdQ	0.169 $\pm$ 0.002	69 $\pm$ 2	210 $\pm$ 20
<b>Giugno 2007</b>	0.217 $\pm$ 0.004	14.7 $\pm$ 0.1	26.7 $\pm$ 0.2	0.520 $\pm$ 0.009	0.73 $\pm$ 0.01	99 $\pm$ 3	100 $\pm$ 10
<b>Luglio 2007</b>	0.52 $\pm$ 0.02	17.0 $\pm$ 0.1	72.46 $\pm$ 0.02	0.99 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.02	38 $\pm$ 3	300 $\pm$ 10
<b>Agosto 2007</b>	0.88 $\pm$ 0.01	15.37 $\pm$ 0.05	22 $\pm$ 1	0.23 $\pm$ 0.02	0.085 $\pm$ 0.007	47 $\pm$ 3	70 $\pm$ 20
<b>Settembre 2007</b>	1.01 $\pm$ 0.01	15.07 $\pm$ 0.01	17.53 $\pm$ 0.06	0.12 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02	33 $\pm$ 1	100 $\pm$ 10
<b>Ottobre 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Marzo 2008</b>	1.568 $\pm$ 0.006	16.332 $\pm$ 0.003	25.5 $\pm$ 0.2	<LdQ	0.24 $\pm$ 0.02	190 $\pm$ 30	120 $\pm$ 10

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.42

Gennemari 2	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.153±0.005	14.7±0.2	21.6±0.2	0.43±0.01	1.1±0.1	33.6±0.5	69±9
<b>Maggio 2007</b>	0.42±0.01	10.8±0.2	27.3±0.2	<LdQ	0.195±0.009	37±3	96±1
<b>Giugno 2007</b>	1.24±0.01	12.975±0.005	52.49±0.01	0.14±0.01	0.16±0.02	67±4	151±4
<b>Luglio 2007</b>	0.69±0.01	18.6±0.1	21.8±0.2	0.34±0.01	0.146±0.007	38±3	243±8
<b>Agosto 2007</b>	0.85±0.01	15.21±0.06	16.6±0.1	<LdQ	8.0±0.3	28±2	314±9
<b>Settembre 2007</b>	1.090±0.005	13.116±0.001	14.6±0.1	0.049±0.005	0.14±0.03	38±4	115.00±0.00
<b>Ottobre 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Marzo 2008</b>	1.49±0.01	12.1±0.1	31±1	<LdQ	0.14±0.02	76±8	460±30

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.43

Gennemari 3	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Api}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Api}}$ )	
	Cd	Cu	Mn	Pb	Cr	Co	Ni
<b>Aprile 2007</b>	0.34±0.04	16.82±0.05	27.3±0.1	<LdQ	1.32±0.04	57.0±0.5	160±20
<b>Maggio 2007</b>	0.402±0.005	10.0±0.2	16.39±0.07	0.044±0.007	0.166±0.009	49±2	160±20
<b>Giugno 2007</b>	0.519±0.004	12.12±0.06	103.5±0.4	0.462±0.08	0.45±0.05	78±4	132±7
<b>Luglio 2007</b>	0.112±0.002	19.3±0.1	98±1	0.080±0.008	0.13±0.01	44±4	136±4
<b>Agosto 2007</b>	0.92±0.01	14.1±0.1	15.8±0.3	<LdQ	68±4	24±1	720±30
<b>Settembre 2007</b>	0.932±0.001	15.84±0.04	17.0±0.1	<LdQ	0.4±0.1	31.5±0.7	259±5
<b>Ottobre 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Marzo 2008</b>	1.57±0.01	15.0±0.3	18.99±0.00	<LdQ	0.02±0.00	30±10	160±10

LdQ<sub>Pb</sub> = 28.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$



## Polline

Tabella 4.44

Musei	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
<b>Giugno 2006</b>	110 $\pm$ 2	0.71 $\pm$ 0.07	61 $\pm$ 3	2.13 $\pm$ 0.04	0.648 $\pm$ 0.004	30 $\pm$ 5	220 $\pm$ 4
<b>Settembre 2006</b>	80 $\pm$ 10	2.7 $\pm$ 0.1	10.1 $\pm$ 0.3	0.91 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.01	43 $\pm$ 5	41 $\pm$ 7
<b>Ottobre 2006</b>	170 $\pm$ 9	2.63 $\pm$ 0.02	10.0 $\pm$ 0.4	0.99 $\pm$ 0.00	0.791 $\pm$ 0.004	80 $\pm$ 10	79 $\pm$ 2
<b>Novembre 2006</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Aprile 2007</b>	30 $\pm$ 3	0.93 $\pm$ 0.05	11.57 $\pm$ 0.00	0.78 $\pm$ 0.00	0.42 $\pm$ 0.01	60 $\pm$ 10	51.6 $\pm$ 0.6
<b>Maggio 2007</b>	25 $\pm$ 2	0.45 $\pm$ 0.09	14.5 $\pm$ 0.2	0.48 $\pm$ 0.04	0.126 $\pm$ 0.001	12.79 $\pm$ 0.00	40 $\pm$ 2
<b>Giugno 2007</b>	187.0 $\pm$ 0.50	0.67 $\pm$ 0.03	24.0 $\pm$ 0.9	2.53 $\pm$ 0.09	0.59 $\pm$ 0.01	56 $\pm$ 5	220 $\pm$ 2
<b>Luglio 2007</b>	27 $\pm$ 2	1.6 $\pm$ 0.3	14.2 $\pm$ 0.4	0.92 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.02	30 $\pm$ 10	162 $\pm$ 5
<b>Agosto 2007</b>	15 $\pm$ 1	3.7 $\pm$ 0.3	12.8 $\pm$ 0.1	1.64 $\pm$ 0.04	0.214 $\pm$ 0.004	40 $\pm$ 10	216 $\pm$ 5
<b>Settembre 2007</b>	16.0 $\pm$ 0.7	0.60 $\pm$ 0.03	4.91 $\pm$ 0.06	1.42 $\pm$ 0.00	0.23 $\pm$ 0.01	32 $\pm$ 6	119 $\pm$ 3
<b>Ottobre 2007</b>	19 $\pm$ 1	0.99 $\pm$ 0.05	6.6 $\pm$ 0.1	1.44 $\pm$ 0.08	0.2792 $\pm$ 0.0008	27 $\pm$ 9	242 $\pm$ 2
<b>Marzo 2008</b>	29 $\pm$ 4	0.36 $\pm$ 0.08	6.3 $\pm$ 0.1	0.31 $\pm$ 0.00	0.28 $\pm$ 0.01	39.46 $\pm$ 0.00	2.3 $\pm$ 0.4

Tabella 4.45

Cortoghiana	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
Giugno 2006	185 $\pm$ 5	1.4 $\pm$ 0.2	70 $\pm$ 10	39.1 $\pm$ 0.2	0.798 $\pm$ 0.003	40 $\pm$ 10	439 $\pm$ 5
Settembre 2006	130 $\pm$ 10	3.5 $\pm$ 0.2	6.67 $\pm$ 0.06	2.21 $\pm$ 0.09	0.774 $\pm$ 0.003	70 $\pm$ 10	35 $\pm$ 7
Ottobre 2006	62.1 $\pm$ 0.7	1.32 $\pm$ 0.08	15.2 $\pm$ 0.4	8.0 $\pm$ 0.3	0.662 $\pm$ 0.003	43 $\pm$ 5	68 $\pm$ 3
Novembre 2006	26 $\pm$ 2	0.65 $\pm$ 0.04	12.8 $\pm$ 0.2	3.22 $\pm$ 0.00	0.417 $\pm$ 0.002	47 $\pm$ 9	36 $\pm$ 1
Aprile 2007	94 $\pm$ 4	0.84 $\pm$ 0.02	112.1 $\pm$ 0.3	10.6 $\pm$ 0.5	0.59 $\pm$ 0.01	20 $\pm$ 9	60 $\pm$ 2
Maggio 2007	203 $\pm$ 7	1.0 $\pm$ 0.2	13.21 $\pm$ 0.06	1.72 $\pm$ 0.04	0.215 $\pm$ 0.002	<LdQ	25 $\pm$ 1
Giugno 2007	113 $\pm$ 9	0.40 $\pm$ 0.03	20.8 $\pm$ 0.6	4.09 $\pm$ 0.09	0.491 $\pm$ 0.005	<LdQ	126 $\pm$ 4
Luglio 2007	13.1 $\pm$ 0.7	1.22 $\pm$ 0.03	10.42 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.00	0.396 $\pm$ 0.002	30 $\pm$ 10	66 $\pm$ 2
Agosto 2007	29.0 $\pm$ 0.6	1.20 $\pm$ 0.04	9.8 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.3	0.418 $\pm$ 0.004	39 $\pm$ 6	76 $\pm$ 2
Settembre 2007	90 $\pm$ 10	4 $\pm$ 1	5.78 $\pm$ 0.06	6.9 $\pm$ 0.2	0.45 $\pm$ 0.01	46 $\pm$ 9	53 $\pm$ 0.4
Ottobre 2007	89 $\pm$ 1	0.84 $\pm$ 0.04	6.1 $\pm$ 0.2	1.90 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.01	<LdQ	69 $\pm$ 1
Marzo 2008	17 $\pm$ 1	0.25 $\pm$ 0.01	5.83 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.2	0.46 $\pm$ 0.01	13 $\pm$ 3	39 $\pm$ 1

LdQ<sub>Co</sub> = 5.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.46

Monte Agruxiau	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
Giugno 2006	140 $\pm$ 10	0.83 $\pm$ 0.03	19.9 $\pm$ 0.5	32.7 $\pm$ 0.1	0.799 $\pm$ 0.004	60 $\pm$ 10	470 $\pm$ 10
Settembre 2006	103 $\pm$ 9	0.7 $\pm$ 0.1	6.25 $\pm$ 0.00	4.8 $\pm$ 0.3	0.77 $\pm$ 0.01	31 $\pm$ 4	24 $\pm$ 2
Ottobre 2006	200 $\pm$ 6	1.0 $\pm$ 0.2	9.6 $\pm$ 0.3	3.09 $\pm$ 0.05	0.84 $\pm$ 0.01	50 $\pm$ 10	49 $\pm$ 2
Novembre 2006	25 $\pm$ 0.7	0.54 $\pm$ 0.01	8.61 $\pm$ 0.03	3.06 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.01	40 $\pm$ 10	397 $\pm$ 3
Aprile 2007	90 $\pm$ 1	0.51 $\pm$ 0.01	109 $\pm$ 2	9.4 $\pm$ 0.4	1.53 $\pm$ 0.05	29 $\pm$ 5	39 $\pm$ 2
Maggio 2007	29 $\pm$ 1	0.71 $\pm$ 0.03	167 $\pm$ 3	2.57 $\pm$ 0.00	0.61 $\pm$ 0.01	32 $\pm$ 9	88 $\pm$ 2
Giugno 2007	111 $\pm$ 9	0.408 $\pm$ 0.002	20.7 $\pm$ 0.3	6.6 $\pm$ 0.3	0.8189 $\pm$ 0.0005	40 $\pm$ 9	195 $\pm$ 1
Luglio 2007	118 $\pm$ 6	0.51 $\pm$ 0.02	9.2 $\pm$ 0.2	11.9 $\pm$ 0.7	3.27 $\pm$ 0.06	30 $\pm$ 10	68.3 $\pm$ 0.6
Agosto 2007	83 $\pm$ 4	0.61 $\pm$ 0.07	6.29 $\pm$ 0.07	19.9 $\pm$ 0.9	17.0 $\pm$ 0.3	41 $\pm$ 4	535 $\pm$ 58
Settembre 2007	62 $\pm$ 3	0.42 $\pm$ 0.02	4.5 $\pm$ 0.1	19 $\pm$ 1	13.8 $\pm$ 0.1	40 $\pm$ 10	79 $\pm$ 1
Ottobre 2007	71.3 $\pm$ 0.6	0.77 $\pm$ 0.02	5.81 $\pm$ 0.06	6.7 $\pm$ 0.4	12 $\pm$ 2	37 $\pm$ 4	140.4 $\pm$ 0.6
Marzo 2008	93 $\pm$ 2	0.33 $\pm$ 0.02	6.0 $\pm$ 0.2	3.36 $\pm$ 0.04	1.51 $\pm$ 0.06	20 $\pm$ 7	<LdQ

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.47

Montevecchio	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
<b>Aprile 2007</b>	30 $\pm$ 1	1.02 $\pm$ 0.04	14.0 $\pm$ 0.3	2.47 $\pm$ 0.09	0.337 $\pm$ 0.003	50 $\pm$ 10	49 $\pm$ 1
<b>Maggio 2007</b>	20.3 $\pm$ 0.8	0.88 $\pm$ 0.04	10.0 $\pm$ 0.1	11.78 $\pm$ 0.00	1.64 $\pm$ 0.03	50 $\pm$ 10	18 $\pm$ 2
<b>Giugno 2007</b>	138 $\pm$ 2	0.32 $\pm$ 0.01	14.1 $\pm$ 0.4	0.75 $\pm$ 0.04	0.228 $\pm$ 0.002	17 $\pm$ 5	57 $\pm$ 3
<b>Luglio 2007</b>	110 $\pm$ 4	0.29 $\pm$ 0.03	22.5 $\pm$ 0.5	12.2 $\pm$ 0.2	3.37 $\pm$ 0.09	20 $\pm$ 9	45 $\pm$ 2
<b>Agosto 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Settembre 2007</b>	70 $\pm$ 10	1.06 $\pm$ 0.04	5.1 $\pm$ 0.1	13.6 $\pm$ 0.4	22.0 $\pm$ 0.7	46.31 $\pm$ 0.00	89 $\pm$ 1
<b>Ottobre 2007</b>	23 $\pm$ 2	2.1 $\pm$ 0.1	11.2 $\pm$ 0.2	3.43 $\pm$ 0.09	10.6 $\pm$ 0.8	16 $\pm$ 4	6.9 $\pm$ 0.4
<b>Marzo 2008</b>	23.1 $\pm$ 0.8	0.37 $\pm$ 0.04	4.81 $\pm$ 0.07	1.89 $\pm$ 0.04	2.47 $\pm$ 0.09	33.30 $\pm$ 9	<LdQ

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$



Tabella 4.48

Ingurtosu	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
<b>Aprile 2007</b>	158 $\pm$ 5	0.75 $\pm$ 0.02	15 $\pm$ 0.2	0.81 $\pm$ 0.04	0.63 $\pm$ 0.01	50 $\pm$ 20	59 $\pm$ 1
<b>Maggio 2007</b>	170 $\pm$ 20	2.31 $\pm$ 0.05	15.8 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.1	0.73 $\pm$ 0.01	60 $\pm$ 10	40 $\pm$ 1
<b>Giugno 2007</b>	180 $\pm$ 20	0.33 $\pm$ 0.04	19 $\pm$ 2	1.13 $\pm$ 0.04	0.67 $\pm$ 0.01	38 $\pm$ 4	78 $\pm$ 2
<b>Luglio 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Agosto 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Settembre 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Ottobre 2007</b>	72 $\pm$ 6	1.6 $\pm$ 0.1	5.60 $\pm$ 0.04	0.47 $\pm$ 0.00	2.6 $\pm$ 0.2	40 $\pm$ 10	17.0 $\pm$ 0.6
<b>Marzo 2008</b>	25 $\pm$ 3	0.44 $\pm$ 0.05	4.95 $\pm$ 0.00	0.23 $\pm$ 0.00	0.432 $\pm$ 0.002	40 $\pm$ 10	<LdQ

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabella 4.49

Gennemari	Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{Polline}}$ )					Concentrazione ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Polline}}$ )	
	Mn	Ni	Cu	Pb	Cd	Co	Cr
<b>Aprile 2007</b>	93 $\pm$ 1	0.67 $\pm$ 0.05	12.1 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.1	0.69 $\pm$ 0.01	110 $\pm$ 30	319 $\pm$ 4
<b>Maggio 2007</b>	115 $\pm$ 6	0.75 $\pm$ 0.03	10.1 $\pm$ 0.2	0.39 $\pm$ 0.00	0.463 $\pm$ 0.002	69.68 $\pm$ 0.00	<LdQ
<b>Giugno 2007</b>	250 $\pm$ 9	0.76 $\pm$ 0.02	22.06 $\pm$ 0.09	0.94 $\pm$ 0.00	0.77 $\pm$ 0.02	13 $\pm$ 3	45 $\pm$ 2
<b>Luglio 2007</b>	175 $\pm$ 4	0.25 $\pm$ 0.03	25.1 $\pm$ 0.6	0.61 $\pm$ 0.00	0.70 $\pm$ 0.01	<LdQ	18 $\pm$ 1
<b>Agosto 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Settembre 2007</b>	29 $\pm$ 1	2.2 $\pm$ 0.2	11.0 $\pm$ 0.2	2.31 $\pm$ 0.04	1.47 $\pm$ 0.08	50 $\pm$ 20	43 $\pm$ 2
<b>Ottobre 2007</b>	NON CAMPIONATO						
<b>Marzo 2008</b>	27 $\pm$ 3	0.46 $\pm$ 0.05	6.2 $\pm$ 0.1	1.78 $\pm$ 0.04	1.22 $\pm$ 0.07	90 $\pm$ 20	<LdQ

LdQ<sub>Co</sub> = 5.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$

LdQ<sub>Cr</sub> = 2.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$

## 4 Strumentazione e reagenti

### Strumentazione

#### Spettrofotometro

Perkin-Elmer 5100 PC  
Atomic Absorption Spectrophotometer  
with Zeeman Furnace Module and  
Autosampler

#### Software di gestione

GEM/3 Desktop

#### Mineralizzatore a microonde

MileStone mls 1200

### Reagenti

Piombo Standard per AAS

Cadmio Standard per AAS

(Fluka)

Rame Standard per AAS

(Fluka)

Cobalto Standard per AAS

(Fluka)

Cromo Standard per AAS

(Fluka)

Nichel Standard per AAS

(Fluka)

Manganese Standard per AAS

(Fluka)

Palladio Standard per AAS

(Fluka)

Magnesio Modificante di Matrice

(Fluka)

Acido nitrico

(Fluka)

Perossido di idrogeno

(Fluka >69%)

Triton X-100

(Riedel-de Haën puriss. 30%)

Ammonio fosfato monobasico

(Sigma-Aldrich)

Acqua ultra pura

(Riedel-de Haën puriss. <99%)

#### 1 Introduzione

La validazione delle procedure analitiche messe a punto nell'ambito di questo lavoro è stata effettuata attraverso la determinazione di alcuni parametri, di seguito elencati:

- ❑ limite di rivelabilità (LdR): è la concentrazione minima di analita in grado di produrre un segnale significativamente diverso da quello del bianco;
- ❑ limite di quantificazione (LdQ): è la più bassa concentrazione di analita quantificabile;
- ❑ precisione: esprime il grado di accordo tra i risultati di misure ripetute dello stesso analita, eseguite sullo stesso campione, e può essere definita in termini di ripetibilità e di riproducibilità. In particolare, la ripetibilità indica la bontà dell'accordo fra una serie di misure eseguite dallo stesso operatore, con la stessa metodica, nelle stesse condizioni operative e all'interno della medesima sessione analitica; la riproducibilità è invece definita come l'accordo tra misure eseguite da operatori diversi, con la stessa metodica, in differenti condizioni sperimentali e in più sessioni analitiche;

- accuratezza: viene valutata in termini di bias che incide sul metodo analitico cambiando il risultato in una sola direzione (deviazioni positive o negative del valor medio dei risultati analitici dal valore vero).

## 2 Limiti di rivelabilità e di quantificazione

Tra i vari modelli proposti per il calcolo dell'LdR e dell'LdQ di un metodo analitico, molti sono basati sulla valutazione del segnale del bianco, attraverso l'acquisizione di un numero opportuno di misure dello stesso nelle condizioni operative definite nella metodica. Il modello adottato in questo lavoro definisce come segue i limiti di rivelabilità e di quantificazione:

$$LdR \text{ e } LdQ = 2 * k * \sqrt{\frac{s_B^2 + s_a^2 + \frac{s_b^2 * (a - \mu_B)^2}{b^2}}{b}} \quad (\text{Eq.1})$$

dove:

$k=3.3$  per LdR e  $k=10$  per LdQ,

$\mu_B$  e  $s_B$  sono il segnale medio del bianco e la relativa deviazione standard,

$b$  e  $s_b$  sono la pendenza della retta di calibrazione e la relativa deviazione standard,

$a$  e  $s_a$  sono l'intercetta della retta di calibrazione e la relativa deviazione standard.

Una volta costruita la retta di calibrazione, sono state effettuate dieci misure del segnale del bianco, rispettando le condizioni sperimentali messe a punto per ogni analita, quindi l'applicazione dell'Equazione 1 ha fornito i seguenti risultati:

Tabella 5.1

Metalli	LdR ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LdQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Cr	0.7	2.1
Mn	8.8	26.6
Ni	0.9	2.6
Cu	11.4	34.7
Co	1.8	5.4
Pb	9.4	28.6
Cd	2.5	7.6

### 3 Precisione

La precisione della metodica analitica è stata valutata in termini di ripetibilità e riproducibilità.

#### Ripetibilità

Tale grandezza è stata stimata per ciascun analita, nei rispettivi intervalli di concentrazione, come valore medio del coefficiente di variazione percentuale, CV% definito come:

- 101 -

$$CV\% = \frac{S}{\bar{C}} \times 100 \quad (\text{Eq.2})$$

dove

s è la stima della deviazione standard per tre misure replicate della concentrazione di un analita in un dato campione, nell'ambito della stessa sessione analitica

$\bar{C}$  è il valore medio delle concentrazioni ottenute sperimentalmente.

Nelle Tabelle seguenti sono riportati i valori ottenuti per le singole matrici.

Tabella 5.2

**Miele**

Metalli	Intervallo di concentrazione	CV% medio
Cr	<LdQ ÷ 40 µg/kg	13
Mn	0.06 ÷ 5.40 mg/kg	2.0
Ni	<LdQ ÷ 207 µg/kg	18
Cu	0.04 ÷ 4.09 mg/kg	1.8
Co	<LdQ ÷ 60 µg/kg	0.0
Pb	<LdQ ÷ 662 µg/kg	14
Cd	<LdQ ÷ 390 µg/kg	6.9

Tabella 5.3

**Polline**

Metalli	Intervallo di concentrazione	CV% medio
Cr	<LdQ ÷ 470 µg/kg	3.8
Mn	13.1 ÷ 250 mg/kg	6.0

Ni	0.25 ÷ 4 mg/kg	8.0
Cu	4.5 ÷ 167 mg/kg	1.9
Co	<LdQ ÷ 110 µg/kg	21
Pb	0.23 ÷ 39.1 mg/kg	2.8
Cd	0.126 ÷ 22.0 mg/kg	2.2

Tabella 5.4

**Api**

Metalli	Intervallo di concentrazione	CV% medio
Cr	<LdQ ÷ 167.61 mg/kg	9.3
Mn	0.12 ÷ 103.5 mg/kg	1.5
Ni	<LdQ ÷ 2100 µg/kg	9.2
Cu	4.74 ÷ 106 mg/kg	1.7
Co	<LdQ ÷ 346 µg/kg	7.8
Pb	<LdQ ÷ 33.4 mg/kg	5.6
Cd	0.112 ÷ 50 mg/kg	2.3

Riproducibilità

La riproducibilità nelle determinazioni dei singoli metalli è stata valutata attraverso tre misure ripetute su alcuni campioni delle singole matrici in 5 diverse sessioni analitiche ed espressa come CV%, dopo aver calcolato la media delle concentrazioni sperimentali e la relativa deviazione standard.

Nelle Tabelle seguenti sono riportati i valori ottenuti.

Tabella 5.5

**Miele**

Metalli	Campioni	CV%	n
---------	----------	-----	---



Cr	Musei 1 (giugno 2006)	36	5
Mn	Montevecchio 1 (aprile 2007)	20	5
Ni	Monte Agruxiau 3 (luglio 2006)	11	5
Cu	Cortoghiana 3 (novembre 2006)	19	5
Co	Musei 1 (giugno 2006)	22	5
Pb	Musei 3 (luglio 2007)	15	5
Cd	Cortoghiana 3 (maggio 2007)	10	5

Tabella 5.6

**Polline**

Metalli	Campioni	CV%	n
Cr	Ingurtosu (giugno 2007)	7.3	5
Mn	Musei (ottobre 2006)	8.3	5
Ni	Gennemari (giugno 2007)	16	5
Cu	Monte Agruxiau (luglio 2007)	3.3	5
Co	Monte Agruxiau (agosto 2007)	26	5
Pb	Montevecchio (ottobre 2007)	9.0	5
Cd	Cortoghiana (settembre 2007)	7.2	5

Tabella 5.7

**Api**

Metalli	Campioni	CV%	n
Cr	Musei 3 (marzo 2008)	13	5
Mn	Cortoghiana 3 (ottobre 2006)	5.9	5
Ni	Montevecchio 1 (aprile 2007)	11	5
Cu	Monte Agruxiau 1 (giugno 2007)	4.2	5
Co	Ingurtosu 3 (aprile 2007)	16	5
Pb	Cortoghiana 1 (luglio 2006)	9.4	5

#### 4 Accettabilità dei risultati relativi alla precisione

Il grado di accettabilità dei risultati ottenuti nella valutazione della precisione è stato stimato attraverso il modello matematico sviluppato da William Horwitz [50], che descrive la dipendenza dei coefficienti di variazione percentuale del parametro riproducibilità in funzione della concentrazione. Attraverso l'analisi di un'elevata serie di dati prodotti tra il 1915 e il 1995, con metodi che coprivano l'intera gamma di tecniche analitiche applicati a diversi intervalli di concentrazione, Horwitz giunse alla formulazione di un'equazione empirica che descriveva la relazione esistente tra l'ordine di grandezza della concentrazione e il coefficiente di variazione percentuale, secondo la quale una diminuzione di due ordini di grandezza della concentrazione produceva un raddoppio del CV%.

L'equazione è espressa come segue:

$$CV\%_R = 2^{1-0.5\log C} \quad (\text{Eq.3})$$

dove

$C$  è la concentrazione espressa come frazione decimale ( $1\text{mg/g}=10^{-3}$ )

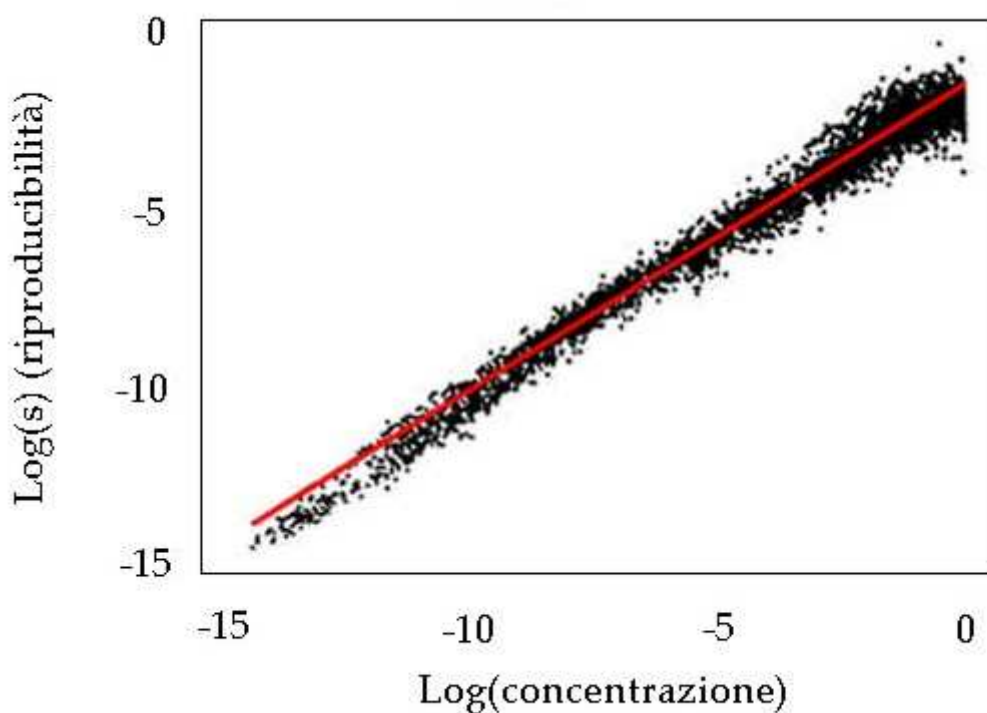
$CV\%_R$  è il coefficiente di variazione percentuale di riproducibilità.

Dall'Equazione 3 se ne ottiene un'altra, equivalente, che esprime la relazione tra la deviazione standard di riproducibilità e la concentrazione:

$$S_R = 0.02C^{0.8495} \quad (\text{Eq.4})$$

che, in funzione logaritmica, diventa:

$$\log_{10} S_R = 0.8495 * \log_{10} C - 1.699 \quad (\text{Eq.5})$$



L'elaborazione grafica dell'Equazione 5 mostra un andamento lineare del  $\log_{10} S_R$  in funzione del  $\log_{10} C$  dal quale si evince che:

- il CV% non dipende né dalla natura dell'analita, né dalla matrice né tantomeno dal metodo analitico, ma dipende solo dalla concentrazione

- la maggior parte dei dati sperimentali rientra nell'intervallo comunemente definito “banda di Horwitz”:

$$0.5s_R < s_{sperimentale} < 1.5s_R \quad (\text{Eq.6})$$

e quindi

$$0.5CV\%_R < CV\%_{sperimentale} < 1.5CV\%_R \quad (\text{Eq.7})$$

Horwitz ha inoltre espresso la relazione tra la precisione di ripetibilità ( $r$ ) e quella di riproducibilità ( $R$ ) attraverso l'Equazione 8:

$$CV\%_r = CV\%_R * 0.66 \quad (\text{Eq.8})$$

L'equazione di Horwitz ha acquisito una grande utilità nella valutazione delle prestazioni di un metodo analitico in termini di riproducibilità e ripetibilità, soprattutto in ambito agroalimentare: un valore di CV% ottenuto sperimentalmente è ritenuto generalmente accettabile se inferiore al limite superiore della banda di Horwitz (Equazione 7), come espresso anche dalla relazione che definisce il cosiddetto indice HorRat, acronimo di **Horwitz Ratio**

$$HorRat_R(Ho) = \frac{CV\%}{CV\%_R} < 1.5 \quad (\text{Eq.9})$$

dove

- 107 -

CV% è il coefficiente di variazione percentuale di riproducibilità ricavato sperimentalmente

CV%<sub>R</sub> è il coefficiente di variazione percentuale calcolato mediante l'equazione di Horwitz.

Un'analoga equazione definisce l'indice di HorRat per valutare la ripetibilità:

$$HorRat_r(Ho) = \frac{CV\%}{CV\%_r} < 1.5 \quad (\text{Eq.10})$$

dove

CV% è il coefficiente di variazione percentuale di ripetibilità ricavato sperimentalmente

CV%<sub>r</sub> è il coefficiente di variazione percentuale calcolato mediante l'Equazione 8.

Seguendo i criteri di accettabilità individuati da Horwitz, sono stati calcolati i CV%<sub>R</sub> e, impiegando i CV% di riproducibilità riportati nelle Tabelle 5.5, 5.6 e 5.7, i rapporti HorRat<sub>R</sub> per ognuno dei metalli oggetto dell'indagine in ciascuna matrice. Le Tabelle seguenti illustrano i risultati ottenuti: in tutti i casi HorRat<sub>R</sub><1.5, pertanto le performance, in termini di riproducibilità, delle metodiche d'analisi risultano statisticamente soddisfacenti.

#### Tabella 5.8

- 108 -

### Miele

Metalli	Campioni	CV% <sub>R</sub>	HorRat <sub>R</sub>
Cr	Musei 1 (giugno 2006)	30	1.26
Mn	Montevecchio 1 (aprile 2007)	20	0.71
Ni	Monte Agruxiau 3 (luglio 2006)	27	0.45
Cu	Cortoghiana 3 (novembre 2006)	20	0.84
Co	Musei 1 (giugno 2006)	33	0.19
Pb	Musei 3 (luglio 2007)	24	0.64
Cd	Cortoghiana 3 (maggio 2007)	34	0.31

Tabella 5.9

### Polline

Metalli	Campioni	CV% <sub>R</sub>	HorRat <sub>R</sub>
Cr	Ingurtosu (giugno 2007)	23	0.31
Mn	Musei (ottobre 2006)	7.4	1.12
Ni	Gennemari (giugno 2007)	17	0.93
Cu	Monte Agruxiau (luglio 2007)	11	0.29
Co	Monte Agruxiau (agosto 2007)	26	0.99
Pb	Montevecchio (ottobre 2007)	13	0.68
Cd	Cortoghiana (settembre 2007)	18	0.40

Tabella 5.10

### Api

Metalli	Campioni	CV% <sub>R</sub>	HorRat <sub>R</sub>
---------	----------	------------------	---------------------

- 109 -

Cr	Musei 3 (marzo 2008)	21	0.64
Mn	Cortoghiana 3 (ottobre 2006)	10	0.60
Ni	Montevecchio 1 (aprile 2007)	22	0.49
Cu	Monte Agruxiau 1 (giugno 2007)	12	0.34
Co	Ingurtosu 3 (aprile 2007)	26	0.62
Pb	Cortoghiana 1 (luglio 2006)	12	0.76
Cd	Cortoghiana 3 (settembre 2006)	12	0.55

Per ciò che concerne l'accettabilità dei dati di ripetibilità vengono riportate le seguenti Tabelle con il raffronto tra i valori sperimentali e quelli ottenuti applicando le relazioni di Horwitz, per la minima (in verde) e la massima (in rosso) concentrazione quantificata per ciascun metallo in ogni matrice:

Tabella 5.11  
Miele

Metalli	Concentrazione	CV%	HorRat <sub>r</sub>
Cr	2.80 µg/kg	29	1.45
	40.00 µg/kg	2.5	0.13
Mn	0.06 µg/g	17	1.25
	5.40 µg/g	3.7	0.28
Ni	3.30 µg/kg	6.1	0.34
	207.00 µg/kg	1.9	0.11
Cu	0.04 µg/g	25	1.91
	4.09 µg/g	0.73	0.06
Co	10.00 µg/kg	0.00	0.00
	60.00 µg/kg	0.00	0.00
Pb	29 µg/kg	21	1.32
	662 µg/kg	0.60	0.04
Cd	8 µg/kg	50	2.2
	390 µg/kg	5.1	0.22

Tabella 5.12

Polline

Metalli	Concentrazione	CV%	HorRat <sub>r</sub>
Cr	2.3 µg/kg	17	1.12
	470 µg/kg	2.1	0.14
Mn	13.1 µg/g	5.3	1.15
	250 µg/g	3.6	0.78
Ni	0.25 µg/g	4.0	0.36
	4 µg/g	25	2.23
Cu	4.5 µg/g	2.2	0.30
	167 µg/g	1.8	0.25
Co	12.79 µg/kg	0.0	0.00
	110 µg/kg	27	1.57
Pb	0.23 µg/g	0.0	0.00
	39.1 µg/g	0.51	0.06
Cd	0.126 µg/g	0.79	0.07
	22.0 µg/g	3.2	0.27

Tabella 5.13

Api

Metalli	Concentrazione	CV%	HorRat <sub>r</sub>
Cr	0.004µg/g	0.00	0.00
	167.61 µg/g	0.05	3.61*10 <sup>-3</sup>
Mn	0.12 µg/g	8.3	1.26
	103.5 µg/g	0.39	0.06
Ni	7 µg/kg	43	2.96
	2100 µg/kg	4.8	0.33
Cu	4.74 µg/g	1.0	0.13
	106 µg/g	2.8	0.35
Co	6 µg/kg	17	0.99
	346 µg/kg	2.6	0.15
Pb	0.04 µg/g	25	3.16
	33.4 µg/g	0.90	0.11
Cd	0.112 µg/g	1.8	0.23



50 µg/g

2.0

0.25

In questo caso gli indici  $\text{HorRat}_r$  non sempre sono inferiori a 1.5: in particolare, la ripetibilità non appare soddisfacente per le concentrazioni di rame e cadmio nel miele, in misura lieve ( $\text{HorRat}_r = 1.57$  vs 1.50) per quelle del nichel e del cobalto nel polline, e per quelle di nichel e piombo nelle api. In tutti i casi, ad eccezione dell'anomalia riscontrata per il Co, gli indici sono relativi al limite inferiore dell'intervallo di concentrazioni determinato sperimentalmente, probabilmente a causa del fatto che i valori misurati sono assai prossimi ai limiti di quantificazione.

## 5 Accuratezza

La stima del bias (presenza/assenza di errore sistematico) è stata effettuata mediante prove di recupero, a causa dell'indisponibilità commerciale di idonei Materiali Certificati di Riferimento. Le prove sono state condotte su un campione di miele millefiori, la cui produzione risale al periodo e all'area d'indagine del progetto di monitoraggio, uno di polline e uno di api, scelti tra quelli campionati. Nel corso di ogni prova sono state pesate quattro aliquote di

campione, tre di esse sono state addizionate con quantità note e crescenti del metallo di interesse e tutte e quattro sono state sottoposte all'intera procedura d'analisi. In questo modo è stato possibile calcolare il recupero percentuale per ogni analita in ciascuna matrice, essendo l'andamento delle concentrazioni sperimentalmente determinate nelle quattro aliquote una funzione delle quantità di analita aggiunte ai campioni, così come è espresso dalla seguente relazione:

$$C_{sp} = C_0 + \frac{q_a}{m} \quad (\text{Eq.11})$$

dove

$C_{sp}$  è la concentrazione dell'analita, determinata sperimentalmente

$C_0$  è la concentrazione di analita nel campione senza aggiunta

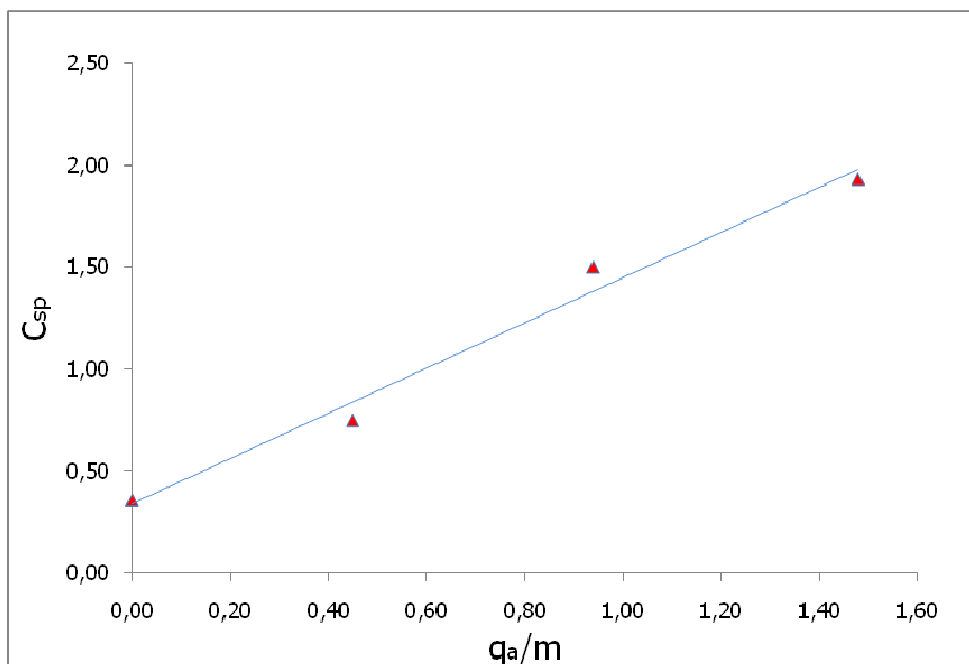
$q_a$  è la quantità di standard aggiunta

$m$  è la quantità pesata di campione.

Applicando dunque il metodo dei minimi quadrati al grafico che si ottiene con i dati sperimentali si ottiene l'equazione della miglior retta, la cui pendenza esprimerà proprio il valore del recupero.

Nella Figura 5.1 è riportata la funzione di recupero ottenuta sperimentalmente per il recupero del rame nel miele:

Figura 5.1



$$y = (1.1 \pm 0.1)x + (0.34 \pm 0.09)$$

Nelle Tabelle seguenti sono riportati i recuperi percentuali ottenuti per ogni metallo in ciascuna matrice e la concentrazione tipica determinata nei campioni impiegati.

Tabella 5.14

**Miele**

Metalli	Concentrazione (Frazione di massa)	Recupero (%)
Cr	$10^{-8}$	120±20
Mn	$10^{-6} \div 10^{-8}$	120±10

Ni	$10^{-9} \div 10^{-7}$	92±4
Cu	$10^{-6} \div 10^{-8}$	110±30
Co	$10^{-9} \div 10^{-8}$	99±8
Pb	$10^{-8} \div 10^{-7}$	99±3
Cd	$10^{-9} \div 10^{-7}$	109±2

Tabella 5.15

**Polline**

Metalli	Concentrazione (Frazione di massa)	Recupero (%)
Cr	$10^{-9} \div 10^{-7}$	92±2
Mn	$10^{-5} \div 10^{-4}$	98±3
Ni	$10^{-7} \div 10^{-6}$	95±2
Cu	$10^{-6} \div 10^{-4}$	101±4
Co	$10^{-9} \div 10^{-7}$	99±5
Pb	$10^{-7} \div 10^{-5}$	100±7
Cd	$10^{-7} \div 10^{-5}$	97±8

Tabella 5.16

**Api**

Metalli	Concentrazione (Frazione di massa)	Recupero (%)
Cr	$10^{-9} \div 10^{-7}$	93±3

Mn	$10^{-7} \div 10^{-4}$	97±2
Ni	$10^{-9} \div 10^{-6}$	98±5
Cu	$10^{-6} \div 10^{-4}$	93±2
Co	$10^{-9} \div 10^{-7}$	100±3
Pb	$10^{-8} \div 10^{-5}$	96±4
Cd	$10^{-7} \div 10^{-5}$	91±6

## 6 Accettabilità dei risultati relativi al bias

Per valutare la stima della “bontà” dei recuperi si è soliti confrontare i valori dei dati sperimentali con quelli del recupero quantitativo, 100%, utilizzando il Test di Student: quanto più il recupero sperimentale si discosta dal 100%, tanto più è probabile l’esistenza di un errore sistematico. Tuttavia, come è stato opportunamente fatto notare dall’AOAC nel suo manuale per i Peer Verified Methods Program, in tale valutazione non è possibile prescindere dall’effetto della concentrazione dell’analita. Man mano che la concentrazione dell’analita diminuisce, i recuperi si possono allontanare *fisiologicamente* in maniera anche sensibile dalla quantitatività [51], come mostrato nella Tabella 5.17, dove sono evidenziati i recuperi medi accettabili per i livelli di concentrazione tipicamente determinati nei nostri campioni.

Tabella 5.17

Concentrazione (frazione di massa)	Concentrazione	Recupero Medio %
---------------------------------------	----------------	------------------

1	1 kg/kg	98-102
$10^{-1}$	100 g/kg	98-102
$10^{-2}$	10 g/kg	97-103
$10^{-3}$	1 g/kg	95-105
$10^{-4}$	100 mg/kg	90-107
$10^{-5}$	10 mg/kg	80-110
$10^{-6}$	1 mg/kg	80-110
$10^{-7}$	100 µg/kg	80-110
$10^{-8}$	10 µg/kg	60-115
$10^{-9}$	1 µg/kg	40-120

In questo caso il confronto viene fatto non rispetto al 100%, bensì rispetto al range di recupero medio atteso per quel certo livello di concentrazione. Sulla base di tali considerazioni, si ritengono senz'altro accettabili i recuperi per tutti i metalli determinati nelle tre matrici, fatta eccezione per quelli relativi alla determinazione di manganese e cromo nel miele per i quali è evidente un leggero bias di sovrastima.

### Valutazione chemiometrica dei risultati sperimentali

#### 1 Analisi delle componenti principali

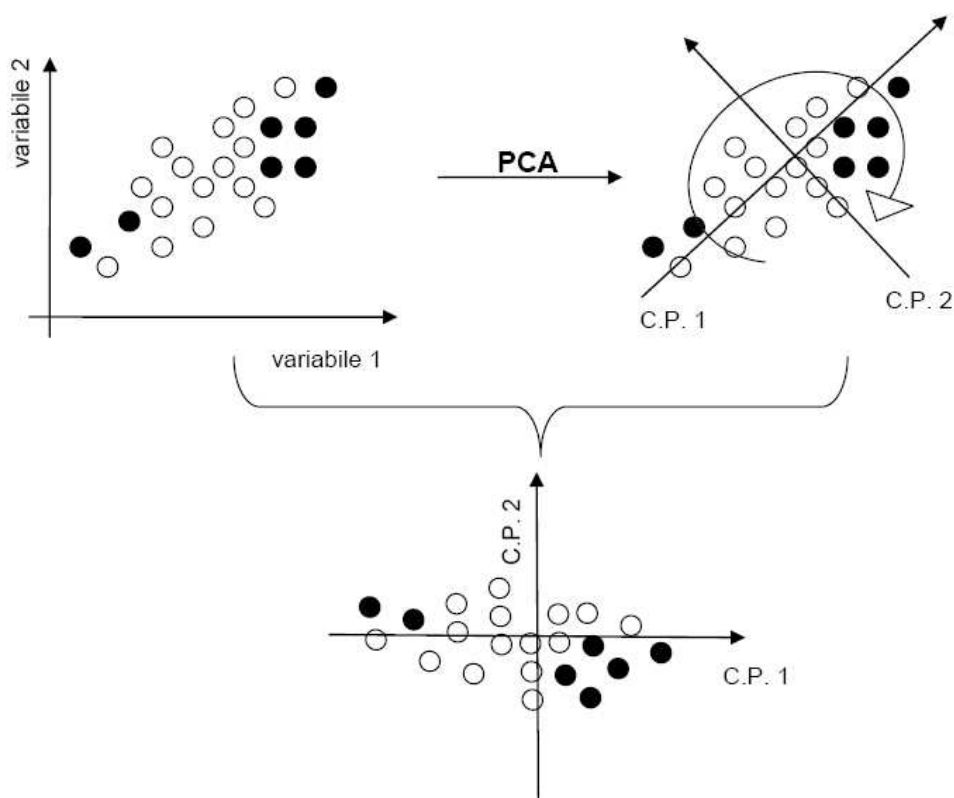
L'analisi delle componenti principali, PCA, è una delle tecniche fondamentali per l'elaborazione multivariata di dati ottenuti sperimentalmente. Essa prevede la trasformazione delle variabili che descrivono i dati in nuove variabili, chiamate componenti principali, attraverso combinazioni lineari delle variabili originarie. Le componenti principali hanno la caratteristica di essere ortogonali tra loro. Mediante questa tecnica è possibile:

- valutare le correlazioni tra le variabili e la loro rilevanza;
- visualizzare gli oggetti in modo chiaro e diretto, evidenziando l'eventuale presenza di outlier, raggruppamenti, ecc.;
- sintetizzare la descrizione dei dati;
- ridurre la dimensionalità dei dati;
- ricercare proprietà peculiari nei raggruppamenti individuati.

Sostanzialmente la PCA consiste nella rotazione dei dati originali, definiti da una matrice  $X$ , in modo che il primo nuovo asse sia orientato nella direzione di massima varianza dei dati, mentre il secondo, ortogonale al primo, sia nella

direzione di “seconda” massima varianza, e così di seguito per tutti gli assi definiti dalle tipologie di variabili.

Figura 6.1



Nella Figura 6.1 viene mostrato un esempio relativo a un set di dati caratterizzato da due sole variabili. La prima componente principale PC1 è nella direzione di massima varianza dei dati, la seconda componente principale PC2, ortogonale alla prima, rappresenta parte della varianza residua.

In linea generale, per un sistema composto da  $p$  variabili, si avranno  $p$  componenti principali che andranno a spiegare varianze progressivamente inferiori. Spesso la maggior parte della varianza è spiegata dalle prime due componenti principali.



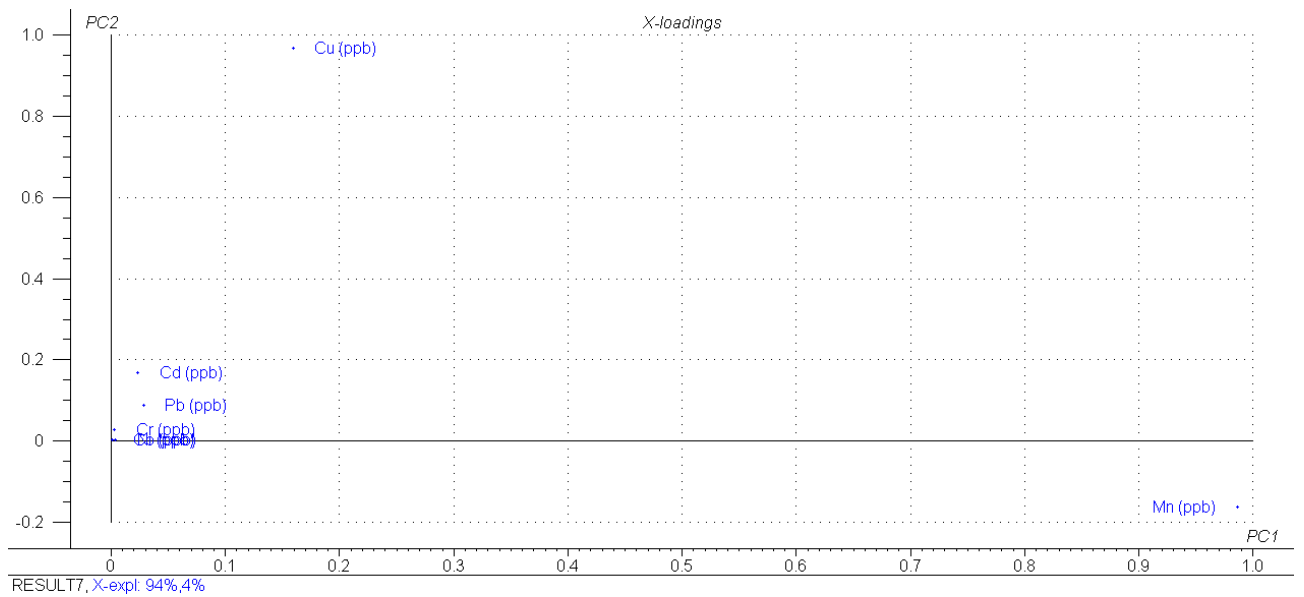
## 2 Applicazione della PCA ai dati sperimentali

Il set di dati sperimentali, oggetti o *scores*, è costituito da tutti i campioni sottoposti ad analisi. Come variabili, o *loadings*, sono state prese in considerazione:

- ❑ il tipo di metallo;
- ❑ la concentrazione sperimentale;
- ❑ la localizzazione geografica dei siti di campionamento;
- ❑ la natura del sito di campionamento (bianco, sito minerario, sito industriale).

Le variabili che da sole sono state in grado di spiegare il 98% della varianza totale dei nostri dati sono state le variabilità di concentrazione di Cu e Mn, risultate le più ampie tra quelle di tutti i metalli indagati, come mostrato nel seguente *Loadings plot*.

Figura 6.2



La prima componente principale (PC1) è relativa alla variabilità della concentrazione del Mn (ppb), mentre la seconda componente principale (PC2) a quella del contenuto in Cu. Lungo la PC2 è possibile individuare un discreto contenuto di Pb e Cd, mentre si osserva che Cr, Ni e Co possiedono una bassa variabilità lungo entrambe le componenti principali.

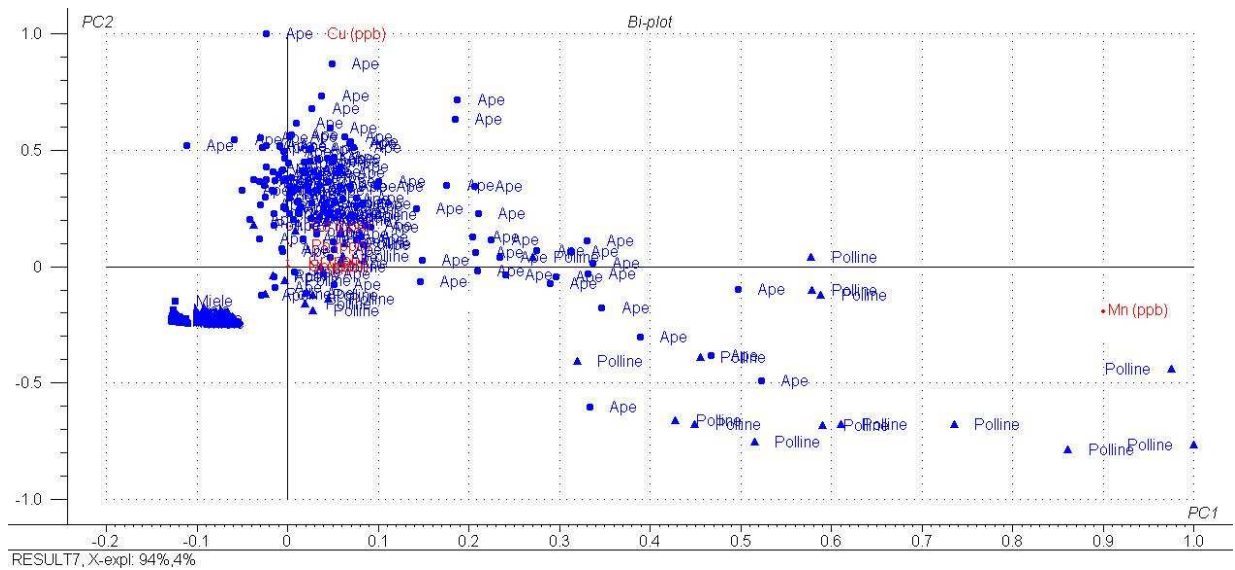
La distribuzione dei campioni rispetto alle prime due componenti principali (*Score Plot*) è riportata nella Figura 6.3.

Figura 6.3



Lo *Score Plot* mostra lungo la prima componente principale (PC1) una netta separazione tra la matrice miele e le altre due matrici (api e polline): il miele presenta infatti concentrazioni più basse di tutti gli analiti. Si evidenzia inoltre una leggera differenziazione tra le matrici polline e api lungo entrambe le componenti: benché la maggior parte di questi campioni mostrino concentrazioni paragonabili di tutti gli analiti, può essere evidenziato che il maggior contenuto di rame caratterizza maggiormente la matrice ape, mentre il maggior tenore di manganese risulta tipico di alcuni campioni di polline, come meglio descritto dal *Biplot* riportato in Figura 6.4.

Figura 6.4



Sono stati fatti ulteriori tentativi di differenziazione dei campioni impiegando come nuove variabili la localizzazione geografica dei siti e l'incidenza o meno di attività antropica sugli stessi. I risultati sono riportati graficamente negli *Score Plot* delle Figure 6.5 e 6.6.

Figura 6.5

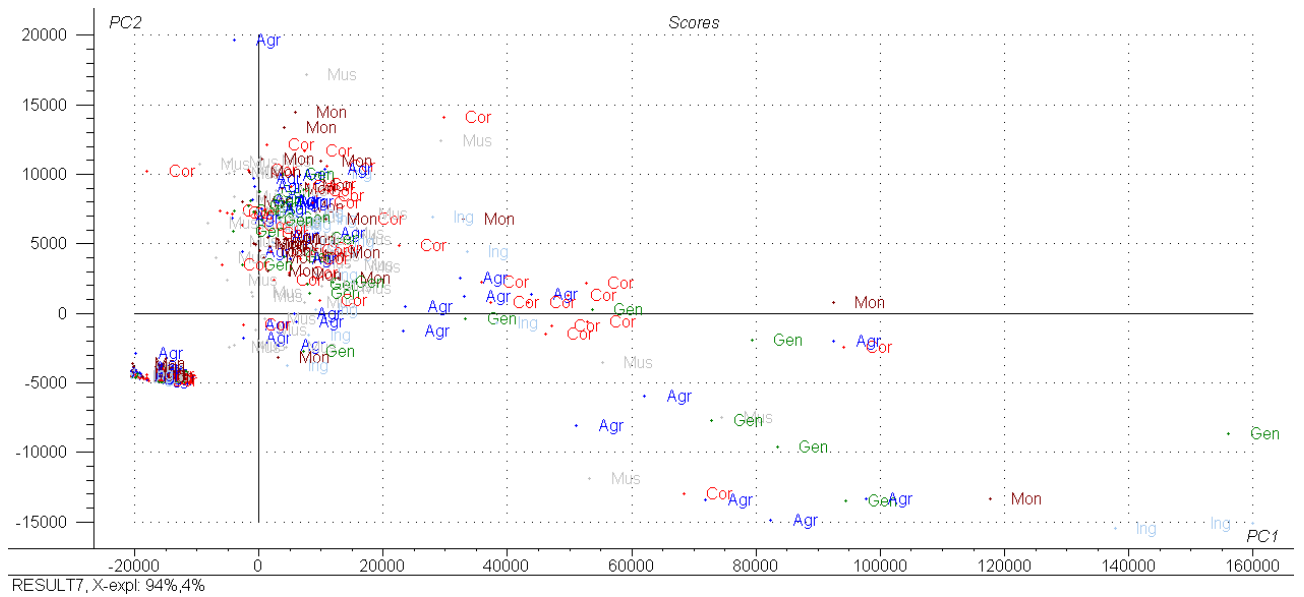
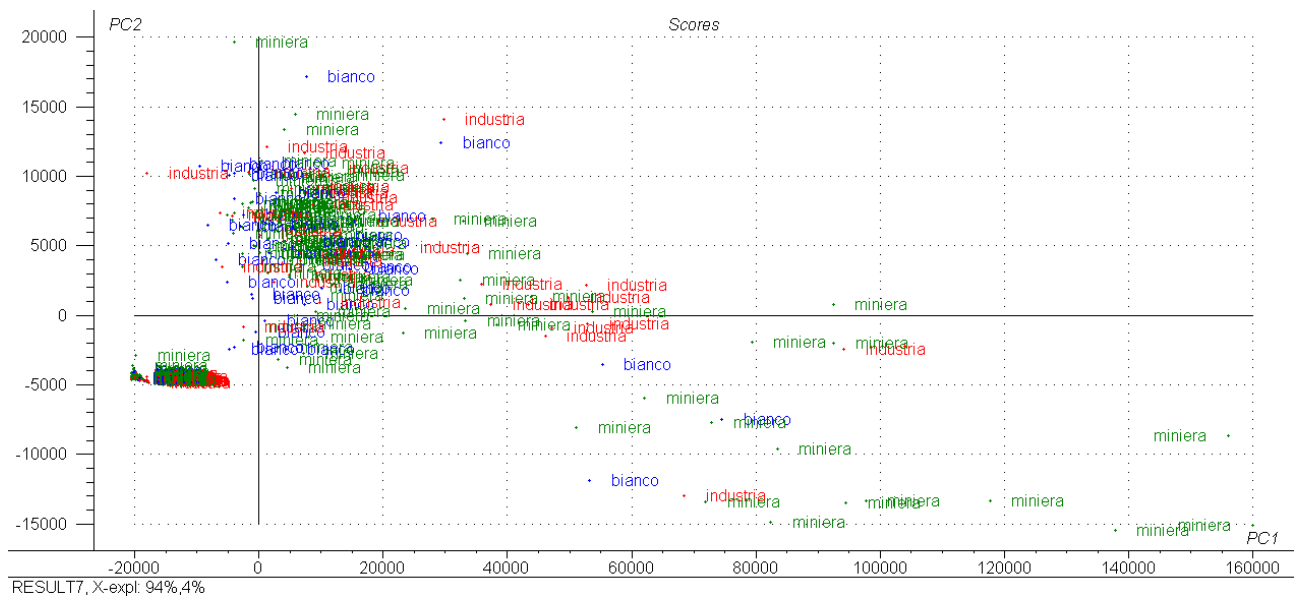


Figura 6.6



In nessuno dei due casi l'analisi PCA permette di individuare differenze degne di nota tra i campioni legate alle due variabili: pare quindi che non vi siano correlazioni tra la distribuzione dei metalli nei diversi campioni e la località in cui essi sono stati prelevati.

### 3 Discussione dei risultati

L'intento di questo lavoro era di monitorare alcune zone della Sardegna sud-occidentale le quali, per la pregressa attività mineraria e la presenza di alcuni insediamenti industriali tuttora operativi, potevano essere concretamente soggette a forme di inquinamento ambientale, prima fra tutte quella dovuta alla diffusione di metalli pesanti.

L'ubiquitarietà e la permanenza nell'ambiente di questi inquinanti rende attuabile la valutazione della loro presenza e diffusione attraverso lo strumento del biomonitoraggio. Tale approccio si avvale dell'impiego di diverse tipologie di bioindicatori che, per le loro caratteristiche fisiologiche, morfologiche, etologiche ecc., rispondono in maniera peculiare alle sollecitazioni ambientali a cui sono esposti. Le api, il polline e il miele sono già stati impiegati in diversi lavori come indicatori per l'inquinamento da metalli, attraverso l'applicazione di protocolli di monitoraggio che prevedevano il loro impiego individuale o sinergico [49]. Grazie a queste esperienze è stato possibile concludere che è difficile trovare correlazioni tra i risultati forniti dalle tre differenti matrici [4] e che, riducendo il confronto ai soli prodotti d'alveare (cera, polline, miele, pappa reale), il più adatto a rappresentare l'ambiente sia il polline [47, 52, 53].

Inoltre considerando l'ape come un sensore viaggiante che entra in contatto con tutti i settori ambientali (aria, acqua, piante e suolo), bioaccumulando inquinanti come i metalli, appaiono ancora più evidenti i limiti di un possibile confronto con i prodotti d'alveare.

I risultati ottenuti nel presente lavoro, elaborati mediante la PCA, si sono rivelati conformi a quanto osservato dagli altri Autori. Ad esempio, le concentrazioni di ciascun metallo determinate nei campioni di miele risultano decisamente inferiori rispetto a quelle rilevate in api e polline, spesso al di sotto del limite di quantificazione. Ciò comporta in taluni casi la perdita di informazione ed induce a concludere che, tra le tre, la matrice miele sia la meno adatta a questo tipo di monitoraggio.

I dati relativi alle api e al polline non sembrano però correlati tra loro per quanto riguarda le concentrazioni dei metalli più abbondanti: il rame raggiunge i livelli più elevati in campioni di api, mentre il manganese mostra questo tipo di andamento nel polline.

Inoltre, nessuna delle tre matrici ha indicato una correlazione tra i livelli di concentrazione degli analiti e la distribuzione geografica dei siti di campionamento, suggerendo che né l'appartenenza a diversi distretti geografici né la natura delle attività antropiche in essi sviluppate abbiano avuto influenza sui livelli di concentrazione determinati.

In ultima analisi sarebbe opportuno poter confrontare i risultati quantitativi ottenuti nel presente lavoro con valori soglia desunti dalla letteratura. Tuttavia, l'elevata complessità dei progetti di ricerca che riguardano il monitoraggio ambientale, rende difficile individuare valori di riferimento, soprattutto per matrici come api o polline. Porrini et al. [49] hanno raccolto dati relativi a concentrazioni di piombo, nichel e cromo nelle api, riportati nella Tabella 6.1.

Tabella 6.1

Metallo	Limite inferiore (mg/kg)	Limite superiore (mg/kg)
Pb	0.40	2.0
Ni	0.10	0.40
Cr	0.04	0.25

Per quanto riguarda il nichel e il cromo le concentrazioni sono risultate oltre la soglia di sicurezza solo in pochi campioni di api provenienti dai vari siti, mentre per il piombo sono stati osservati discostamenti in eccesso in circa l'80% dei campioni provenienti dalle stazioni del Sulcis-Iglesiente (Cortoghiana e Monte Agruxiau). Ciò sembra indicare per questa area un'incidenza di inquinamento da piombo, non del tutto inattesa data la concomitante presenza di insediamenti industriali e pregressa attività mineraria.



## Conclusioni

Questo lavoro di Tesi rappresenta la messa in opera di un ampio progetto di ricerca concepito per lo svolgimento di un monitoraggio ambientale indirizzato a valutare la diffusione di alcuni metalli pesanti nei distretti minerari del Medio Campidano e in quelli minerari ed industriali del Sulcis-Iglesiente. Tali distretti, infatti, possono ragionevolmente essere considerati come zone ad alto rischio ambientale non solo per la presenza del comprensorio industriale di Portoscuso-Portovesme, destinato alla raffinazione di piombo e zinco, alla produzione di alluminio e di energia elettrica, ma anche per la lunga storia di attività mineraria, potenziale fonte di rilevante impatto ambientale. Tra gli effetti che essa è in grado di generare, quello di maggior rilievo è indubbiamente rappresentato dalla dispersione nell'ambiente di elementi tossici quali Cu, Pb, Cd, Zn, Hg, Cr, Mn, Ni, As etc.. Tale dispersione avviene per via preferenziale attraverso il circuito delle acque superficiali, determinando la diffusione degli inquinanti anche a notevoli distanze dalla sorgente.

Il presente lavoro ha riguardato lo sviluppo e la messa a punto di procedure chimico-analitiche ad integrazione di uno studio di biomonitoraggio attraverso le api (già largamente usato in diversi lavori scientifici) delle aree di interesse, con l'intento di ottenerne un quadro conoscitivo globale sul potenziale inquinamento da metalli pesanti. In virtù di queste premesse, la progettazione del lavoro ha previsto l'installazione di apiari, costituiti da almeno tre alveari ciascuno, nei

siti individuati all'interno delle aree di indagine. Per la provincia di Carbonia-Iglesias essi sono stati identificati con il comune di Cortoghiana (area di Portoscuso) e la frazione di Monte Agruxiau (area mineraria), mentre per la provincia del Medio Campidano le localizzazioni sono state quelle del comune di Montevecchio, appartenente ad Arbus e Guspini, e le frazioni di Ingurtosu e Gennemari nell'Arburese, tutti insediamenti a vocazione mineraria. Una sesta stazione, ipotizzata come "bianco", è stata individuata nel comune di Musei, nell'Iglesiente. Il progetto si è quindi articolato nella pianificazione di un campionamento di porzioni rappresentative di diverse matrici, ambientali (suolo, acqua, vegetazione), biologiche (api bottinatrici), e d'alveare (polline e miele). Le attività analitiche sin qui condotte hanno riguardato la determinazione via ETAAS di sette metalli correlabili a situazioni di inquinamento ambientale, ovvero Pb, Cd, Mn, Cu, Co, Ni e Cr, in tre tipologie di matrici (api bottinatrici, polline e miele) prelevate mensilmente da giugno 2006 a marzo 2008 in ciascuna delle stazioni suddette. Nel complesso, l'attività sperimentale si è articolata nella messa a punto delle idonee procedure sia di pretrattamento che di analisi dei campioni, attraverso ottimizzazione analitica di tutti i parametri di interesse: scelta del diluente, dei modificanti di matrice, del fornetto di grafite e dei programmi termici opportuni per la determinazione di ciascun analita. Le analisi, condotte in tre repliche per ciascun campione applicando il metodo della calibrazione esterna, hanno fornito risultati caratterizzati nel complesso da una buona precisione (espressa in termini di ripetibilità e riproducibilità) e da assenza di errore sistematico (valutata attraverso prove di recupero).

I dati sperimentali sono stati elaborati attraverso analisi multivariata mediante il metodo della PCA, che ha evidenziato una netta separazione tra la matrice miele, che presenta concentrazioni più basse di tutti gli analiti, e le altre due matrici; api e polline, infatti, pur mostrando concentrazioni paragonabili di tutti i metalli, si discostano lievemente nel contenuto di manganese (maggiore per alcuni campioni di polline) e di rame, che caratterizza piuttosto la matrice ape. Non appaiono correlazioni alcune, invece, tra la distribuzione dei metalli nei diversi campioni e la localizzazione geografica dei siti di provenienza, o l'incidenza o meno di attività antropica sugli stessi.

## Bibliografia

- [1] Kevan P. G., *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1999, 74: 373-393
- [2] Porrini C. et al., *Apiacta*, , 2003, 38: 63-70
- [3] Conti M. E. et al., *Environmental Monitoring and Assessment*, 2001, 69: 267-282
- [4] Cesco S. et al., *Apicoltura*, 1994, 9: 103-118
- [5] Fadda A. F., “Paesaggi minerari in Sardegna”, 2003, Coedisar
- [6] Balkau F., *Pollution Prevention and Abatement Guidelines for the Mining Industry*, UNEP/IE, 1993
- [7] Viñas P. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45, 3952-3956
- [8] Przybyłowski P. et al., *Food Chem.*, 2001, 74, 289-291
- [9] Rowarth J. S., *Journal of Apicultural Research*, 1990, 29 (3), 177-180
- [10] Jones K. C., *Water, Air and Soil Pollution*, 1987, 33, 179-189
- [11] Morse R. A. et al., *American Bee Journal*, July 1980, 522-523
- [12] Rodríguez García J. C. et al., *Talanta*, 2003, 61, 509-517
- [13] Rodríguez García J. C. et al., *Food Chem.*, 2005, 91, 435-442
- [14] Ioannidou M. D. et al., *Talanta*, 2005, 65, 92-97
- [15] Caroli S. et al., *Talanta*, 1999, 50, 327-336
- [16] Yilmaz H. et al., *Food Chem.*, 1999, 65, 475-476
- [17] Packer A. P. et al., *Spectrochimica Acta Part B*, 2001, 56, 69-75
- [18] Buldini P. L. et al., *Food Chem.*, 2001, 73, 487-495
- [19] Úren A. et al., *Food Chem.*, 2001, 73, 487-495
- [20] Sanna G. et al., *Anal. Chim. Acta*, 2000, 415, 165-173

- 129 -

Severyn Salis - “Stima dell’impatto ambientale di attività minerarie ed industriali attraverso la determinazione ETAAS di metalli in tracce in api e matrici d’alveare” - Tesi di Dottorato in Monitoraggio e controllo degli ecosistemi forestali in ambiente mediterraneo - Università degli Studi di Sassari

- [21] Franco M. A., et al., Riv. Merceol., 1997, 36, 67-78
- [22] Rodríguez García J. C. et al., J. Agric. Food Chem., 2006, 54: 7206-7212
- [23] Muñoz E. et al., Food Chem., 2006, 94: 478-483
- [24] Albero B. et al., J. Agric. Food Chem., 2004, 52: 5828-5835
- [25] Blasco C. et al., J. Agric. Food Chem., 2003, 51: 8132-8138
- [26] Kadar A. et al., J. Agric. Food Chem., 2006, 54: 9741-9746
- [27] Zhu S.-H. et al., Anal. Chim. Acta, 2008, 619: 165-172
- [28] Erdoğrul O., Food Control, 2007, 18: 866-871
- [29] Pirard C. et al., Journal of Chromatography A, 2007, 1152: 116-123
- [30] Rissato S. R. et al., Food Chem., 2007, 101: 1719-1726
- [31] Zhen J. et al., Chin. J. Chromatogr., 2006, 24(5): 440-446
- [32] Campillo N. et al., Anal. Chim. Acta, 2006, 562: 9-15
- [33] Tahboub Y. R. et al., Anal. Chim. Acta, 2006, 558: 62-68
- [34] Blasco C., Journal of Chromatography A, 2004, 1049: 155-160
- [35] Schricker B. et al., Journal of Apicultural Research, 1970, 9: 155-164
- [36] MacKenzie K. E. et al., Journal of Economic Entomology, 1989, 82: 75-82
- [36] MacKenzie K. E. et al., Apidology, 1989, 20: 29-40
- [38] Vandale R. et al., Environmental Toxicological Chemistry, 1995, 14: 855-860
- [39] Conti M. E. et al., Journal of Food Science and Nutrition, 1998, 27 (2)
- [40] Panatto D. et al., Science of the Total Environment, 2007, 382: 147-152
- [41] Tonelli D. et al., J. Radioanal. Nucl. Chem., 1990, 141 (2): 427-436
- [42] Barišić D. et al., Apidologie, 1992, 23: 71-78
- [43] Barišić D. et al., Apidologie, 1999, 30: 277-287
- [44] Ford B. C. et al., Chemosphere, 1988, 17 : 1153-1157

- [45] Giovani C. et al, Apicoltura, 1991, 7 : 137-149
- [46] Rodriguez Garcia J.C. et al., J. Agric. Food Chem., 2005, 53, 6616-6623
- [47] Di Giacomo F. et al., Riv. Merceol., 1996, 35 (IV), 296-310
- [48] Hernández O.M. et al., Food Chem., 2005, 93, 449-458
- [49] Porrini C. et al., Honey Bees : estimating the enviromental impact of chemicals, 2002, 186-247
- [50] Horwitz W., Anal.Chem., 1982, 54, 67-76
- [51] AOAC Peer Verified Methods Programs, Manual on Policies and Procedures, Arlington, VA, Nov.1993
- [52] Franco M. A., et al., Riv. Merceol., 1997, 35, 295-309
- [53] Franco M. A., et al., Riv. Merceol., 1998, 37, 3-11