
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

VALENTINO UMBERTO FOSSATO, ELVINO SIVIERO

**Idrocarburi alifatici in mitili prelevati da una
stazione del Golfo di Venezia, scelta quale
riferimento nella valutazione del grado di
inquinamento della Laguna**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.4, p. 641–646.*
Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_4_641_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_4_641_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Ecologia. — *Idrocarburi alifatici in mitili prelevati da una stazione del Golfo di Venezia, scelta quale riferimento nella valutazione del grado di inquinamento della Laguna.* Nota di VALENTINO UMBERTO FOSSATO e ELVINO SIVIERO (*), presentata (**), dal Corrisp. B. BATTAGLIA.

SUMMARY. — In 1973-1974 twenty samples of mussels, *Mytilus galloprovincialis*, were periodically collected from the submerged portion of an offshore survey platform in the Upper Adriatic (Gulf of Venice) about eight miles equidistant from the port entrances of Lido and Malamocco.

Analysis of the samples has indicated rather low levels of contamination with fossil fuels, but a significant level of some hydrocarbons of recent biogenic origin, probably accumulated from suspended material utilized as food. Using gas-chromatographic techniques with columns of increasing polarity, the latter compounds were identified and their retention indices determined.

The concentration of aliphatics in mussels collected from this station had a mean of 0.65 ± 0.11 mg/100 g wet weight. This value was used as a reference base for estimating the degree of pollution in the Lagoon of Venice as indicated by contamination levels in mussels collected from various areas therein.

INTRODUZIONE

Precedenti ricerche effettuate nella Laguna di Venezia hanno permesso di accertare come il mitilo, *Mytilus galloprovincialis*, sia in grado di accumulare gli idrocarburi alifatici in quantità notevoli e differenziate così da rispecchiare le condizioni di inquinamento delle acque in cui esso si è sviluppato (Fossato e Siviero, 1974). Questo modo di affrontare lo studio della polluzione da idrocarburi offre diversi vantaggi pratici rispetto all'analisi diretta delle acque, perciò in questo senso si è inteso attuare un programma che prevede di fornire un quadro del grado di contaminazione della Laguna. Poiché parallelamente era necessario definire il livello normale di idrocarburi nei mitili al quale fare riferimento nel valutare l'incidenza dell'inquinamento, sono stati analizzati 20 campioni prelevati periodicamente durante gli anni 1973-1974 da una stazione fissa nella parte centrale del Golfo di Venezia, area meno direttamente soggetta a fenomeni di polluzione.

I risultati di tale indagine sono esposti nel presente lavoro.

METODI

I campioni sono stati prelevati a una profondità compresa fra 1,0 e 2,0 m dalle strutture sommerse di una piattaforma situata nel Golfo di Venezia a circa 8 miglia dalle bocche di porto del Lido e di Malamocco.

(*) Istituto di Biologia del Mare del C.N.R., Venezia.

(**) Nella seduta del 12 aprile 1975.

La separazione degli idrocarburi è stata realizzata mediante saponificazione dei molluschi con potassa alcolica e successiva loro estrazione con *n*-esano. Dall'estratto è stata separata quantitativamente una frazione contenente gli idrocarburi alifatici mediante cromatografia su colonna di gel di silice e allumina, usando *n*-esano come eluente. Su questa frazione sono state successivamente eseguite tutte le indagini riportate di seguito.

Il procedimento di saponificazione, di estrazione e di separazione per cromatografia su colonna è già stato descritto in dettaglio in una Nota precedente (Fossato e Siviero, 1974).

Al fine di verificare la completa eliminazione della matrice biologica, la frazione alifatica, concentrata, è stata sottoposta a gas cromatografia prima e dopo un trattamento con acido solforico concentrato secondo il metodo di purificazione proposto per gli idrocarburi clorurati stabili da Murphy (1972).

La presenza di composti insaturi è stata messa in rilievo mediante analisi gas cromatografiche prima e dopo la bromurazione della frazione alifatica secondo il procedimento di McPherson, Sawicki e Fox (1966). Ulteriori informazioni sulla presenza di doppi legami sono state ricavate con analisi gas cromatografiche prima e dopo l'idrogenazione catalitica con platino.

L'identificazione dei picchi gas cromatografici è stata ottenuta per aggiunta di uno standard interno di *n*-paraffine e per confronto degli indici di ritenzione sperimentali, calcolati con la formula di Kovats (1958), con quelli reperibili in letteratura. Per questo scopo sono state usate colonne in acciaio da 300 cm × 0,32 cm impaccate con fasi liquide a crescente polarità (Apiezon L, Silicone UCC-W-982, FFAP, Carbowax 20M-TAT) su Chromosorb W-AW-DMCS, 80-100 mesh. Nella routine sono state invece impiegate colonne da 180 cm × 0,32 cm di Silicone UCC-W-982 su Chromosorb W-AW-DMCS. Il gas cromatografo è uno Hewlett-Packard 5750 G.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Alcuni gas cromatogrammi di estratti di mitili del Golfo di Venezia sono presentati in fig. 1 *a, b, c*. Essi regolarmente mostrano un numero limitato di picchi significativi sovrapposti a un segnale imputabile a un miscuglio molto complesso e poco risolto di componenti singolarmente in concentrazione più bassa. Tale segnale non può essere imputato al persistere nella frazione alifatica di una matrice biologica, infatti esso non varia apprezzabilmente dopo un ulteriore trattamento di purificazione con acido solforico concentrato.

Nella fig. 1 è stato inserito anche un gas cromatogramma, eseguito su un campione di eguale peso, di un estratto di mitili prelevati in un'area lagunare inquinata da prodotti petroliferi. Il confronto permette così di evidenziare come, nel caso di molluschi inquinati, i gas cromatogrammi siano qualitativamente molto più complessi: il petrolio greggio e i più comuni prodotti petroliferi sono miscugli di idrocarburi, di conseguenza, solo l'uso di una tecnica

di analisi altamente selettiva, come la gas cromatografia, può fornircene una descrizione adeguata. Risulta inoltre evidente che gas cromatogrammi semplici come quelli in fig. 1 *a, b, c* non possono essere attribuiti a mitili contaminati. Queste considerazioni e il conforto della letteratura (Blumer, Souza e Sass, 1970; Clark e Blumer, 1967) permettono invece di ipotizzare che i picchi risolti di fig. 1 *a, b, c* possono essere attribuiti a idrocarburi di origine biologica recente naturalmente presenti nell'ambiente marino e accumulati dai mitili attraverso l'alimento.

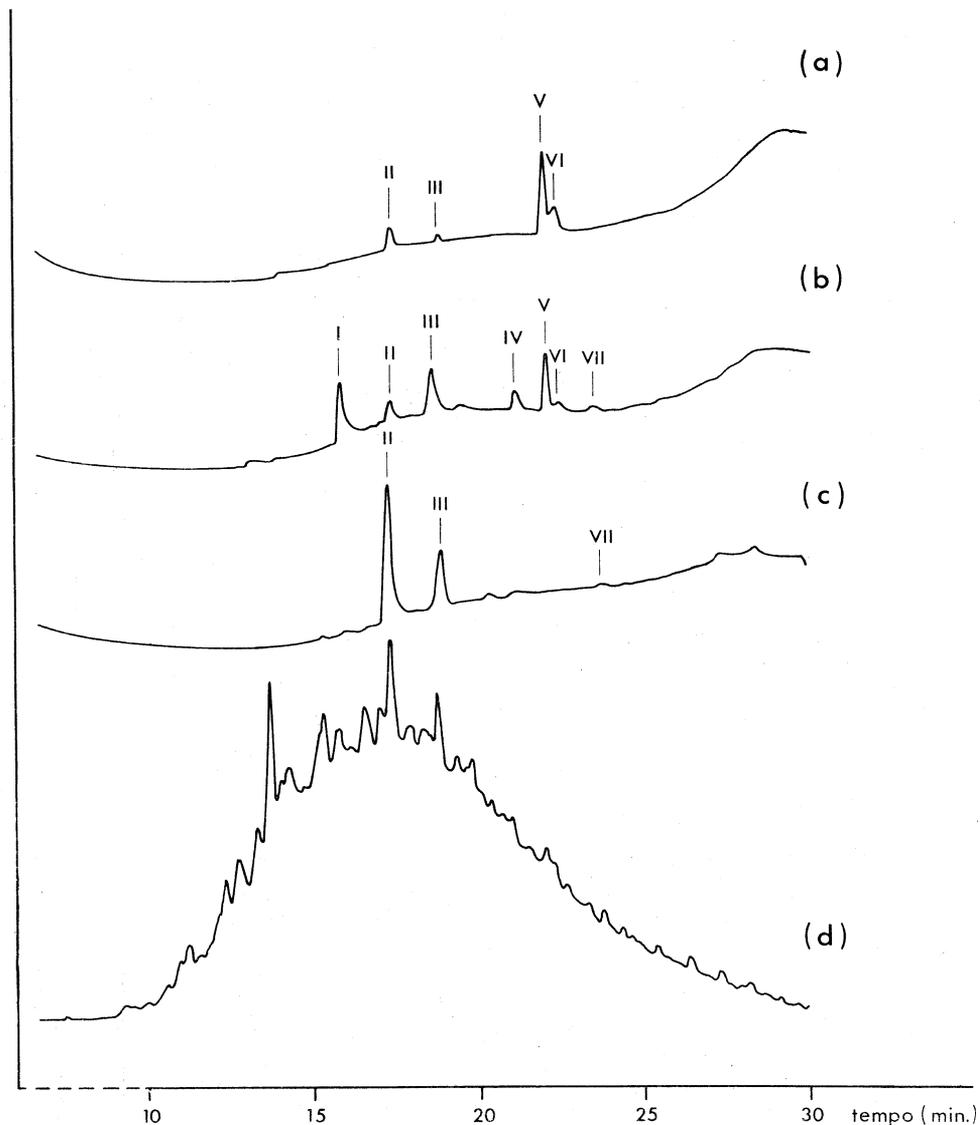


Fig. 1. - Gas cromatogrammi eseguiti su estratti di mitili (70 g) del Golfo di Venezia (*a, b, c*) e di un'area inquinata della Laguna (*d*). Colonne da $180 \times 0,32$ cm di Silicone UCC-W-982, programma da 100° a 300° a $8^\circ\text{C}/\text{min.}$, gas di trasporto elio a $30 \text{ cm}^3/\text{min.}$, rivelatore a fiamma.

Al fine di chiarire ulteriormente questo aspetto, è stata tentata la identificazione dei picchi più significativi.

Il carattere saturo dei picchi I, II, III, IV, VII e quello insaturo dei picchi V, VI è stato accertato per bromurazione seguita da cromatografia in fase liquida su allumina (per eliminare i bromoderivati formati per somma ai doppi legami) e gas cromatografia. Anche dopo idrogenazione i picchi I, II, III, IV, VII non subiscono alterazioni, mentre il V e VI scompaiono dando luogo a un nuovo e unico picco corrispondente al *n*-eneicosano. Da ciò consegue che entrambi questi composti devono avere una catena lineare a 21 atomi di carbonio e differiscono fra loro solo per un diverso grado di saturazione.

Sulla base dei valori sperimentali degli indici di ritenzione, ottenuti con fasi stazionarie a crescente polarità (2015 con Apiezon L; 2090 con Silicone UCC-W-982; 2385 con FFAP), il picco V è attribuibile al 3,6,9,12,15,18 eneicosaeene (21 : 6) idrocarburo molto diffuso in tracce nell'ambiente marino (Blumer, Mullin e Guillard, 1970). Meno sicura è invece l'identificazione del picco VI: dai valori degli indici di ritenzione (2054 con Apiezon L; 2110 con Silicone UCC-W-982; 2287 con FFAP) potrebbe trattarsi del 3,6,9,12,15 eneicosapentaene (21 : 5), non è però da escludere la presenza del 3,6,9,12 eneicosatetraene (21 : 4). Entrambi infatti sono stati identificati in alcune specie di alghe (Youngblood, Blumer, Guillard e Fiore, 1971; Blumer, Guillard e Chase, 1971). Nel caso in esame è molto probabile che siano ambedue presenti in diverso rapporto nelle varie stagioni; ciò è confermato dal fatto che in alcuni campioni il picco VI è parzialmente risolto in due, come nel caso riportato in fig. 2.

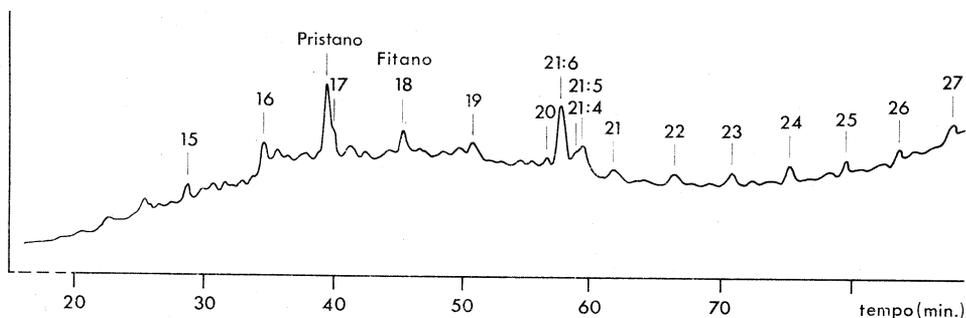


Fig. 2. - Gas cromatogramma eseguito su un estratto di mitili (200 g) del Golfo di Venezia. Colonne da $300 \times 0,32$ cm di Apiezon L, programma da 100° a 300° a $2^\circ \text{C}/\text{min.}$, gas di trasporto elio a $30 \text{ cm}^3/\text{min.}$, rivelatore a fiamma.

I picchi I, IV, VII, che non subiscono alterazioni con i trattamenti descritti, per confronto con uno standard di *n*-paraffine sono da assegnare rispettivamente all'esadecano (16), all'eicosano (20) e al docosano (22).

Il picco II con colonne polari si risolve chiaramente in due, di cui il principale (1690 con Apiezon L; 1669 con FFAP; 1653 con Carbowax 20M-TAT) è da attribuire al pristano, mentre il secondo al *n*-eptadecano (17). Il pristano, idrocarburo a catena ramificata (2,6,10,14 tetrametilpentadecano), a basse

concentrazioni è molto diffuso nell'ambiente marino; di esso è stata ipotizzata la sintesi dal fitolo delle alghe ad opera dello zooplancton e questa si presume sia la principale fonte di pristano per gli organismi marini (Blumer, Mullin e Thomas, 1964).

Il picco III ha un comportamento gas cromatografico del tutto analogo al precedente: esso è da attribuire a due composti. Il primo, con indici di ritenzione 1794 con Apiezon L, 1775 con FFAP, 1760 con Carbowax 20M-TAT, è il fitano, il secondo è il *n*-octadecano (18). Anche per il fitano (2,6, 10,14 tetrametilesadecano) è stata ipotizzata la sintesi nell'ambiente marino per idrogenazione dei fitadieni a loro volta derivati dal fitolo (Blumer e Thomas, 1965).

Analizzando dei pesi maggiori di mitili, possono essere messi in evidenza anche altri componenti, fra cui i più frequenti sono il *n*-pentadecano (15) e alcune *n*-paraffine a elevato peso molecolare (fig. 2). Osservando la struttura complessa di questi gas cromatogrammi e ricordando che il punto di prelievo, pur lontano dalla costa, è prossimo alla rotta delle navi per il porto di Venezia, è legittimo dubitare che questi mitili siano completamente esenti da contaminazione da prodotti petroliferi. È tuttavia difficile valutarne l'incidenza; i picchi sopra studiati, ad esempio, rappresentano solo il 10-15 per cento del contenuto totale di idrocarburi.

La media dei venti campioni esaminati è risultata di $0,65 \pm 0,11$ mg di idrocarburi alifatici per 100 g di polpa umida di mitili (probabilità del 95%). I valori sono distribuiti fra un massimo di 1,05 e un minimo di 0,25. Con i dati disponibili non è possibile affermare l'esistenza di un andamento stagionale, anche se questo è molto probabile: i valori più elevati sono stati registrati normalmente durante i primi mesi dell'anno e analoghe osservazioni sono state contemporaneamente fatte anche per i mitili della Laguna Veneta.

Le considerazioni su una eventuale variazione stagionale del contenuto di idrocarburi nei mitili e la convinzione che il loro livello naturale sia più basso del valore medio sopra riportato spiegano perché l'uso di questo valore fisso, quale livello di base su cui valutare il grado di inquinamento, sia accettabile solo in prima approssimazione.

CONCLUSIONE

Le indagini gas cromatografiche eseguite su venti campioni di mitili prelevati periodicamente in due anni nel Golfo di Venezia danno un quadro della composizione degli idrocarburi naturalmente presenti nell'ambiente marino e accumulati dai molluschi attraverso l'alimento.

Il segnale gas cromatografico ottenuto con questi campioni è generalmente semplice e contrasta con la complessità di quello ottenibile in analoghe condizioni da campioni prelevati in aree lagunari inquinate. La complessità del gas cromatogramma è un importante indice nel giudicare la presenza di contaminazione: il petrolio greggio e i principali prodotti petroliferi sono miscugli complessi di idrocarburi, per cui ogni loro scarica nell'ambiente

marino provoca in questo una profonda variazione della loro composizione naturale, riprodotta dai molluschi ivi insediati ed evidenziabile attraverso l'analisi gas cromatografica.

Il valore medio è risultato di $0,65 \pm 0,11$ mg/100g di polpa umida di mitili; esso rappresenta, in prima approssimazione, il livello di riferimento nel valutare il grado di inquinamento delle diverse aree della Laguna Veneta.

BIBLIOGRAFIA

- BLUMER M., GUILLARD R. R. L. e CHASE T. (1971) - *Hydrocarbons of marine phytoplankton*, «Mar. Biol.», 8, 183-189.
- BLUMER M., MULLIN M. M. e GUILLARD R. R. L. (1970) - *A polyunsaturated hydrocarbon (3,6,9,12,15,18-heneicosahexaene) in the marine food web*, «Mar. Biol.», 6, 226-235.
- BLUMER M., MULLIN M. M. e THOMAS D. W. (1964) - *Pristane in the marine environment*, «Helgoländer wiss. Meeresunters», 10, 187-201.
- BLUMER M., SOUZA G. e SASS J. (1970) - *Hydrocarbon pollution of edible shellfish by an oil spill*, «Mar. Biol.», 5, 195-202.
- BLUMER M. e THOMAS D. W. (1965) - *Phytadienes in zooplankton*, «Scienze, N. Y.», 147, 1148-1149.
- CLARK R. C. e BLUMER M. (1967) - *Distribution of n-paraffins in marine organisms and sediment*, «Limnol. Oceanogr.», 12, 79-87.
- FOSSATO V. U. e SIVIERO E. (1974) - *Oil pollution monitoring in the Lagoon of Venice using the mussel Mytilus galloprovincialis* «Mar. Biol.», 25, 1-6.
- KOVATS E. (1958) - *Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil I. Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone*, «Helv. chim. Acta», 41, 1915-1932.
- MCPHERSON S. P., SAWICKI E. e FOX F. T. (1966) - *Characterization and estimation of n-alkanes in airborne particulates*, «J. Gas Chromat.», 4, 156-159.
- MURPHY P. G. (1972) - *Surfuric acid for the clean-up of animal tissues for analysis of acid-stable chlorinated hydrocarbon residues*, «J. Ass. off. agric. Chem. Wash.», 55, 1360-1361.
- YOUNGBLOOD W. W., BLUMER M., GUILLARD R. R. L. e FIORE F. (1971) - *Saturated and unsaturated hydrocarbons in marine benthic algae*, «Mar. Biol.», 8, 190-201.