



**ISPRA**

Istituto Superiore per la Protezione  
e la Ricerca Ambientale



Sistema Nazionale  
per la Protezione  
dell'Ambiente

# Applicazione dell'analisi isotopica per l'apportamento della sostanza organica: studio di un vaso artificiale

**QUADERNI  
LABORATORIO  
6/2023**

# Applicazione dell'analisi isotopica per l'apportamento della sostanza organica: studio di un vaso artificiale

---

Non posso darti soluzioni per tutti i problemi della vita,  
Non ho risposte per i tuoi dubbi o timori,  
però posso ascoltarli e dividerli con te.

Non posso cambiare né il tuo passato né il tuo futuro,  
però quando serve starò vicino a te.

Non posso evitarti di precipitare, solamente posso offrirti la mia mano perché ti sostenga e non cada.

La tua allegria, il tuo successo e il tuo trionfo non sono i miei,  
però gioisco sinceramente quando ti vedo felice.

Non giudico le decisioni che prendi nella vita,  
mi limito ad appoggiarti, a stimolarti e aiutarti se me lo chiedi.

Non posso tracciare limiti dentro i quali devi muoverti,  
però posso offrirti lo spazio necessario per crescere.

Non posso evitare la tua sofferenza, quando qualche pena ti tocca il cuore,  
però posso piangere con te e raccogliere i pezzi per rimetterlo a nuovo.

Non posso dirti né cosa sei né cosa devi essere,  
solamente posso volerti come sei ed essere tuo amico.

(tratta da Amicizia di Jorge Luis Borges)

Grazie Flavia

---

## **Informazioni legali**

L'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), insieme alle 21 Agenzie Regionali (ARPA) e Provinciali (APPA) per la protezione dell'ambiente, a partire dal 14 gennaio 2017 fa parte del Sistema Nazionale a rete per la Protezione dell'Ambiente (SNPA), istituito con la Legge 28 giugno 2016, n.132.

Le persone che agiscono per conto dell'Istituto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questa pubblicazione.

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale  
Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma  
[www.isprambiente.gov.it](http://www.isprambiente.gov.it)

ISPRA, QUADERNI Laboratorio 6/2023  
ISBN 978-88-448-1150-1

Riproduzione autorizzata citando la fonte:

Berto D. et al. Applicazione dell'analisi isotopica per l'apportamento della sostanza organica: studio di un vaso artificiale. Quaderni Laboratorio 6/2023, ISPRA, 2023

## **Elaborazione grafica**

Grafica di copertina: Alessia Marinelli - ISPRA – Area Comunicazione Ufficio Grafica  
Foto di copertina: Daniela Berto

## **Coordinamento pubblicazione online:**

Daria Mazzella

**ISPRA** – Area Comunicazione

Gennaio 2023



---

## **Autori**

### ISPRA

Daniela Berto (BIO ACAM)

Nicoletta Calace (CN COS ODC)

Malgorzata Marcelina Formalewicz (BIO ACAM)

Claudia Gion (BIO ACAM)

Federico Rampazzo (BIO ACAM)

Maria Gabriella Andrisani (GEO PSG)

Flavia Saccomandi (CN COS ODC)

### ARPA Basilicata

Bruno Bove

Giuseppe Lanzillotta

Achille Palma

---

## Sommario

<b>Prefazione</b>	<b>6</b>	
<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Teoria degli isotopi</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Inquadramento dell'area di studio</b>	<b>11</b>
3.1	Inquadramento idrogeologico	11
3.2	La diga del Pertusillo	12
3.3	Analisi delle pressioni	13
<b>4</b>	<b>Attività di campo</b>	<b>18</b>
4.1	Campionamento	18
4.2	Trattamento dei campioni	22
<b>5</b>	<b>Elaborazione ed analisi dei risultati</b>	<b>26</b>
5.1	Elaborazione dati chimici	26
5.2	Estrazione ed analisi delle sostanze umiche	26
5.3	Elaborazioni isotopiche	28
5.3.1	Analisi preliminari	28
5.3.2	Modelli di mixing isotopico	33
5.3.2.1	<i>Modello ISOSOURCE</i>	34
5.3.2.2	<i>Modello SIAR</i>	35
5.3.3	Elaborazione isotopica del particellato	36
5.3.4	Elaborazione isotopica sui sedimenti fluviali e dell'invaso	41
<b>6</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>Bibliografia</b>	<b>45</b>

---

## **Prefazione**

Il Quaderno vuole essere l'applicazione dell'analisi isotopica, approccio versatile ed innovativo, ad un invasore artificiale per la valutazione dell'impatto antropico e naturale. Recenti ricerche hanno dimostrato l'efficacia di tali indagini nell'identificazione e nella valutazione dei diversi contributi alla sostanza organica derivanti da sorgenti multiple.

In questo quaderno, viene presentato un caso studio sperimentale basato sull'elaborazione di dati isotopici della sostanza organica presente in varie matrici campionate nell'invasore (sedimenti, materiale particellato sospeso, fitoplancton, sostanze petrolifere, scarichi urbani e fonti agricole) al fine di stimarne il contributo percentuale.

Tale lavoro è frutto di sviluppate e consolidate sinergie tra varie unità organizzative tecnico-scientifiche dell'ISPRA (Centro nazionale per la caratterizzazione ambientale e la protezione della fascia costiera, la climatologia marina e l'oceanografia operativa, Dipartimento per il monitoraggio e la tutela dell'ambiente e per la conservazione della biodiversità e Dipartimento per il Servizio Geologico d'Italia) e rappresenta un esempio di applicazione di un differente e innovativo approccio tecnico scientifico.

E' con grande affetto che questo lavoro viene dedicato alla memoria della carissima collega Flavia Saccomandi il cui prezioso contributo, anche in questa occasione, è stato importante per le sue qualità professionali ed umane e per la sua grande passione etica orientata verso un impegno di ricerca scientifica applicata alle attività istituzionali.

**Maurizio Ferla**

Responsabile del Centro Nazionale per la caratterizzazione ambientale e la protezione della fascia costiera, la climatologia marina e l'oceanografia operativa

---

# 1 Introduzione

La sperimentazione ha avuto la finalità di approfondire il livello conoscitivo circa l'origine della sostanza organica presente nelle acque e nei sedimenti di un invaso artificiale situato in Basilicata. L'approccio isotopico ha permesso di definire i contributi derivanti dalle diverse fonti sia naturali sia di origine antropica della sostanza naturale. Si sottolinea che tale sperimentazione non si è basata su una metodologia standardizzata e riconosciuta a livello normativo bensì su una tecnica innovativa che può essere un utile supporto tecnico-scientifico per le decisioni gestionali.

Valutare e quantificare l'origine della sostanza organica è un'operazione complessa, specialmente nel caso di sorgenti multiple e diversificate che possono avere impatto sull'area in esame, tali valutazioni infatti richiedono la conoscenza sia dei meccanismi di rilascio dalle sorgenti sia di quelli di migrazione/trasformazione chimica, fisica e biologica della sostanza organica in ambiente acquatico.

Attraverso lo studio degli isotopi stabili del carbonio ( $^{13}\text{C}$ ) e dell'azoto ( $^{15}\text{N}$ ) è possibile quantificare il contributo alla sostanza organica totale derivante o dalla trasformazione naturale della componente biotica o da fonti antropiche come, ad esempio, scarichi urbani e/o industriali. Recenti ricerche hanno dimostrato l'efficacia di tali indagini nell'identificazione e nella valutazione dei contributi alla sostanza organica derivanti da sorgenti multiple. Infatti, il carbonio e l'azoto che provengono da diverse fonti mostrano una composizione isotopica caratteristica della sorgente da cui si originano. Questo caso studio si basa sui dati isotopici della sostanza organica presente sia nei sedimenti, sia disciolta in acqua e sia adsorbita sul materiale particellato sospeso. Sono state inoltre caratterizzate dal punto di vista isotopico le potenziali fonti presenti nell'area dell'invaso quali fitoplancton, sostanze petrolifere, scarichi urbani e fonti agricole.

---

## 2 Teoria degli isotopi

Con il termine isotopi (dal greco iso-topos, eguale posto), si intendono atomi dello stesso elemento chimico che hanno lo stesso numero atomico, ma sono caratterizzati da un differente numero di massa atomica. In pratica, gli isotopi hanno lo stesso numero di protoni ed elettroni (uguali proprietà chimiche) e un diverso numero di neutroni (diverse proprietà fisiche). Gli isotopi possono essere naturali o artificiali, stabili o instabili.

La composizione isotopica di un campione è uguale al rapporto tra l'abbondanza della forma isotopica pesante rispetto a quella leggera, (esempio  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e si esprime come deviazione, in parti per mille, rispetto un materiale standard di riferimento individuato a livello internazionale. L'abbondanza isotopica ( $\delta\%$ ) è espressa secondo l'equazione riportata di seguito:

$$\delta(\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{campione}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \times 1000$$

dove, indicando con  $R$  il rapporto tra le abbondanze delle masse relative all'isotopo pesante e a quello leggero,  $R_{\text{campione}}$  è  $R$  misurato nel campione e  $R_{\text{standard}}$  è  $R$  misurato per lo standard. Un valore positivo di  $\delta$  indica che l'isotopo pesante è arricchito nel campione rispetto allo standard mentre un valore negativo indica che nel campione l'isotopo pesante è impoverito (Michener e Lajtha, 2007).

Data una sostanza chimica AB caratterizzata dalla presenza di una certa distribuzione isotopica dell'elemento X possiamo calcolare il fattore di frazionamento ( $\alpha_{AB}$ ) dividendo il rapporto del numero degli isotopi X nel prodotto A con il rapporto del numero degli isotopi X nel prodotto B.

$$\alpha_{AB} = \frac{R_A}{R_B} = 1 + \left[ \frac{(\delta_A - \delta_B)}{1000} \right]$$

dove

$$R = \frac{X_p[\text{atomi dell'isotopo pesante (raro)}]}{X_l[\text{atomi dell'isotopo leggero (abbondante)}]}$$

Il fattore di frazionamento viene però normalmente sostituito dal fattore di arricchimento isotopico ( $\epsilon$ ) che è definito come  $(\alpha-1)*1000$ .

Gli elementi più utilizzati per le indagini isotopiche sono carbonio, azoto, ossigeno, idrogeno e zolfo.

---

Il carbonio organico è principalmente coinvolto nei processi fotosintetici, che determinano una concentrazione dell'isotopo più leggero nel materiale organico prodotto ( $\delta^{13}\text{C}$  pari a circa  $-25\text{‰}$ ) (Michener e Lajtha, 2007). Il frazionamento del carbonio organico è principalmente legato al tipo di pianta che opera la fotosintesi. Le piante terrestri sono classificate come C3 e C4, poiché seguono due vie metaboliche differenti. Entrambe generano sostanza organica caratterizzata da valori di  $\delta^{13}\text{C}$  più negativi rispetto a quello dell'anidride carbonica ( $\sim -7\text{‰}$ ), in quanto durante la fotosintesi la sostanza organica prodotta accumula l'isotopo leggero rispetto a quello pesante. La sostanza organica prodotta sarà soggetta ad ulteriori trasformazioni chimiche e a mescolamenti che ne determinano un'impronta isotopica specifica, a seconda del tipo di matrice in cui vengono misurati.

Per l'azoto valgono le stesse considerazioni formulate per il carbonio, partendo dal presupposto che il bulk azotato, presente nelle differenti matrici ambientali, deriva essenzialmente dalla fissazione dell'azoto atmosferico. Le reazioni che generano ulteriori trasformazioni dell'azoto sono la mineralizzazione, la volatilizzazione, la nitrificazione e la denitrificazione, per la maggior parte mediate da microrganismi.

La conoscenza delle impronte isotopiche delle varie matrici è alla base della possibilità di elaborare i dati di monitoraggio isotopico della sostanza organica presente in acque e sedimenti al fine di quantificare le fonti da cui essa può derivare.

Per tale tipo di elaborazione, negli ultimi anni, sono stati sviluppati diversi modelli di miscelamento (detto anche mixing) isotopico quali ad esempio il MixSIR (Moore and Semmens, 2008) e il SIAR (Parnell e Jackson, 2008; Parnell *et al.*, 2010). Essi sono basati sulla risoluzione di un sistema di equazioni lineari indeterminato mediante l'utilizzo di tecniche di statistica Bayesiana avanzata. I modelli Bayesiani restituiscono i valori dei contributi proporzionali delle sorgenti ad una miscela sotto forma di distribuzione di probabilità, i quali vengono espressi mediante descrittori di tendenza centrale, es. media, moda, e intervalli di confidenza (Moore and Semmens, 2008; Jackson *et al.*, 2009; Parnell *et al.*, 2010; Fry, 2013). In generale, nel caso di sorgenti multiple isotopiche, è possibile definire un sistema di  $n$  equazioni con  $n-1$  sorgenti per determinare il contributo percentuale di ciascuna sorgente ad una miscela.

In molte valutazioni ambientali, però, non è sempre possibile sviluppare un tale sistema determinato, e allora subentra la necessità di risolvere un sistema di equazioni indeterminato, ovvero con un numero di variabili  $n-2$  o meno, attraverso strumenti di elaborazione statistica. Il SIAR si basa sulla risoluzione di un sistema di equazioni lineari indeterminato ( $n$  equazioni e  $n-2$  variabili) mediante l'utilizzo di tecniche di statistica Bayesiana per identificare i contributi proporzionali delle varie fonti in una miscela.

Al fine di ottenere risultati robusti dalle elaborazioni dei dati isotopici, è necessario che le sorgenti siano caratterizzate da intervalli isotopici il più possibile diversi tra loro; infatti, più gli intervalli isotopici sono simili, minore è la potenza del modello nel discriminare le sorgenti. Inoltre, è fortemente auspicabile riuscire a definire matematicamente i fattori di



---

correzione delle impronte isotopiche delle sorgenti, tenuto conto delle trasformazioni che possono avvenire a carico delle sorgenti una volta introdotte nell'ambiente.

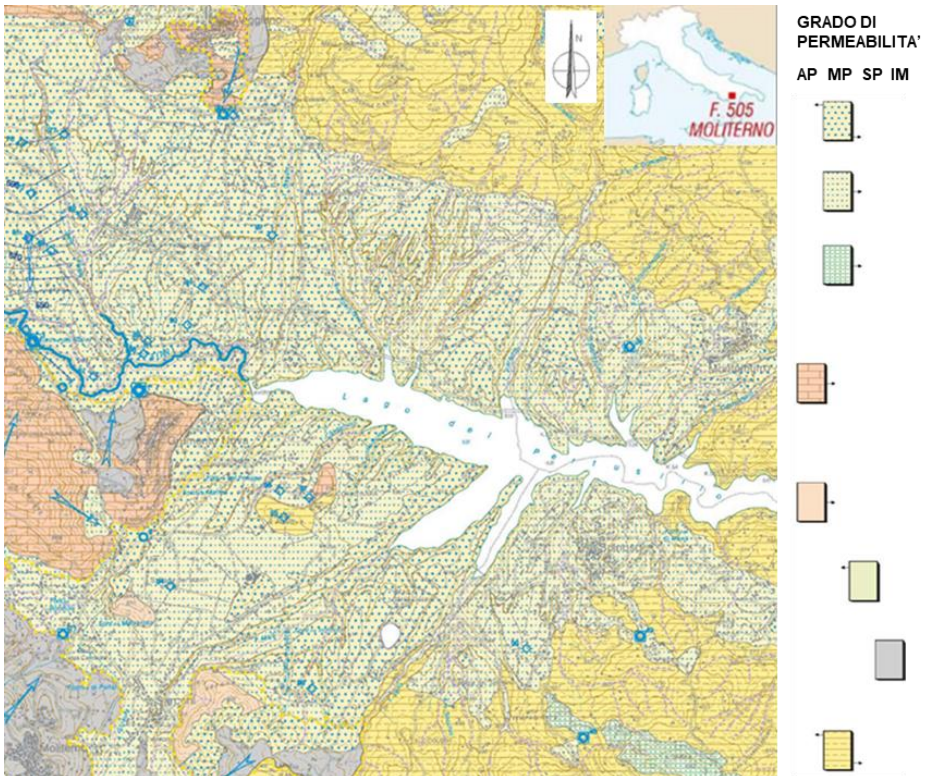
### 3 Inquadramento dell'area di studio

#### 3.1 Inquadramento idrogeologico

L'area di studio è l'invaso del lago di Pietra del Pertusillo, situato nel territorio dei comuni di Grumento Nova, Montemurro e Spinoso, in Basilicata.

Gli elementi idrogeologici di maggiore rilevanza dell'area studio (Figura 1), in cui insiste il lago artificiale generato dallo sbarramento di Pietra del Pertusillo, sono rappresentati dal bacino pleistocenico dell'Alta Val d'Agri e dai rilievi che costituiscono il suo margine occidentale, rappresentato dai Monti della Maddalena caratterizzati da rocce carbonatiche mesozoiche. Si tratta di una delle aree montuose dell'Appennino meridionale più ricche di acque sotterranee di ottima qualità, che si generano e defluiscono all'interno di estese idrostrutture carbonatiche e calcareo-silicee relative al substrato pre-pleistocenico del bacino, e di rilevanti acquiferi porosi del riempimento clastico del bacino, coincidente con la piana alluvionale del fiume Agri.

**Figura 1: Estratto della carta idrogeologica d'Italia. Foglio 505 – Moliterno (scala 1:50.000), in corso di stampa (realizzata nell'ambito del progetto CARG), con la rappresentazione dei complessi: altamente permeabili (AP), mediamente permeabili (MP), scarsamente permeabili (SP) e impermeabili (IM).**

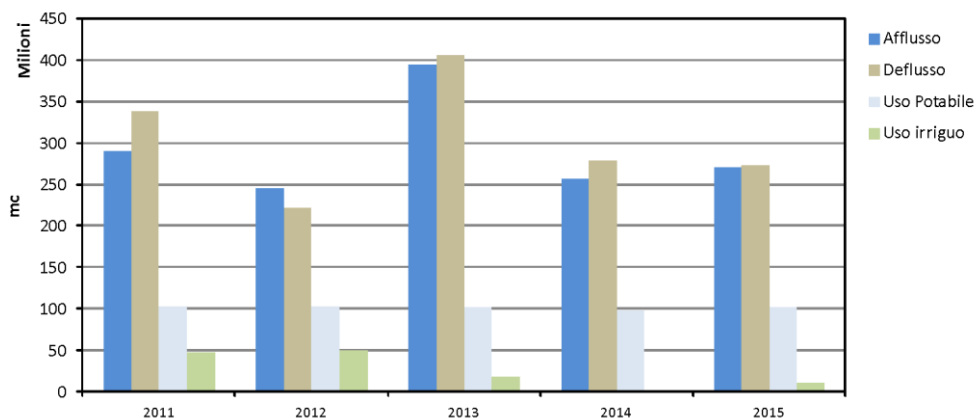


Le caratteristiche idrogeologiche dei depositi di riempimento del bacino intramontano dell'Alta Val d'Agri sono fortemente condizionate dall'assetto stratigrafico strutturale dell'area. La sequenza stratigrafica del bacino dell'Alta Val d'Agri è caratterizzata da eventi di sedimentazione prevalentemente alluvionale, di età compresa tra il Pleistocene e l'Olocene, con sporadici episodi di sedimentazione lacustre pleistocenici. Tali depositi, che affiorano estesamente in corrispondenza del lago del Pertusillo e a monte dello stesso, sono costituiti da limi e sabbie argillose frammisti a lenti conglomeratiche e passanti a conglomerati a matrice sabbiosa. Pertanto, la permeabilità varia notevolmente in relazione alle caratteristiche granulometriche ed allo stato di addensamento dei depositi, rappresentati da valori medio-alti nei depositi sabbioso-ghiaiosi a valori medio-bassi nei depositi sabbioso-limosi. Gli acquiferi, variamente interconnessi sia lateralmente che verticalmente, sono allocati all'interno dei depositi a permeabilità maggiore e ricevono cospicui travasi dalle idrostrutture carbonatiche e calcareo-silicee che delimitano l'area di piana. Anche il corso d'acqua riceve i contributi di numerose sorgenti alimentate da tali strutture presenti in destra e sinistra idrografica nel settore occidentale del bacino, a monte dell'invaso del Pertusillo.

### 3.2 La diga del Pertusillo

La diga del Pertusillo è uno sbarramento costruito tra il 1957 e 1963, sul Fiume Agri, ha una altezza pari a 90,00 m e la superficie del bacino imbrifero sotteso è pari a 530 km<sup>2</sup> (dati, Ente per lo sviluppo dell'Irrigazione e la trasformazione fondiaria in Puglia, Lucania e Irpinia, EIPLI). Il volume totale d'invaso è pari a 159.170.000 m<sup>3</sup>. L'utilizzo dell'invaso prevede una regolazione annuale dei deflussi per uso idroelettrico, potabile e irriguo (dati EIPLI, visibili sul sito [www.eipli.it](http://www.eipli.it)) (Figura 2).

**Figura 2: Utilizzo della risorsa idrica Invaso del Pertusillo per gli anni 2011-2015 (dati EIPLI).**



---

Il bacino del Fiume Agri ricade nel distretto idrografico dell'Appennino Meridionale, ha una superficie di 1770 km<sup>2</sup> <sup>1</sup>, e presenta nel primo tratto caratteri morfologici prevalentemente montuosi, tra la Piana del Lago e Marsico Nuovo, per poi assumere morfologia da collinare a pianeggiante nella pianura di fondovalle fino alla diga del Pertusillo, e anche in seguito fino alla costa ionica (Piana di Metaponto), questa infatti è l'area pianeggiante di maggiore estensione. La quota media del bacino risulta essere di circa 650 m s.l.m., soltanto il 20 % del bacino presenta quota inferiore a 300 m. Il corso d'acqua, caratterizzato da andamento NO-SE, lungo i suoi 136 km, riceve i contributi di numerose sorgenti alimentate dalle strutture idrogeologiche carbonatiche e calcareo silicee presenti in destra e sinistra idrografica nel settore occidentale del bacino, a monte dell'invaso del Pertusillo, poi il suo andamento diviene O-E fino a sfociare in mare. Rispetto al rilievo di Castel di Lepre che separa il bacino dell'Alta Val d'Agri, dalla Valle del Pergola-Melandro, i principali affluenti del Fiume Agri sono il Cavolo, lo Sciaura, il Maglia e il Vella in destra orografica, il Molinara, l'Alli, il Casale-Grumentino ed il Rifreddo in sinistra orografica (Osservatorio Val d'Agri, [www.osservatoriovaldagri.it](http://www.osservatoriovaldagri.it)).

Il Lago del Pertusillo (IT9210143) è stato definito sito di interesse comunitario (SIC) e zona, speciale di conservazione (ZCS) nell'ambito della Rete Natura 2000, ai sensi della direttiva Habitat per la conservazione della biodiversità.

### **3.3 Analisi delle pressioni**

Per elaborare un modello concettuale in grado di definire le potenziali sorgenti di impatto, incidenti sull'invaso del Pertusillo, è stata effettuata preliminarmente un'analisi delle possibili pressioni che insistono sull'invaso. L'elaborazione è basata sulla metodologia DPSIR (Driving forces, Pressure, State, Impact e Response, cioè Determinanti, Pressioni, Stati, Impatti e Risposte adottata dalla Agenzia europea per l'ambiente EEA European Environmental Agency), che è stata proposta in ambito europeo per la valutazione della qualità delle acque, così come richiesto dalla Direttiva 2000/60, infatti questo modello permette di considerare l'insieme degli elementi e delle relazioni che caratterizzano un qualsiasi fenomeno ambientale, mettendolo in relazione con l'insieme delle azioni esercitate su di esso.

In particolare, la nostra analisi ha preso in esame le prime due fasi del processo di valutazione ovvero la definizione dei determinanti e delle pressioni potenzialmente significative insistenti sull'invaso del Pertusillo. È noto che i determinanti, siano essi di origine antropica o naturale, sono fattori che esercitano pressioni sull'ambiente, spesso sono indicatori della presenza di attività antropiche legate a processi economici, produttivi e di consumo, in grado di esercitare un'influenza sull'ambiente e sulla salute pubblica. Per l'invaso del Pertusillo, i determinanti che sono stati selezionati sono: il comparto civile, l'agricoltura, la risorsa idrica ad uso potabile e irriguo, l'industria estrattiva, oltre ai cambiamenti climatici che rappresentano una tendenza globale.

---

<sup>1</sup> Relazione autorità di bacino del 2013 per rischio alluvione, bacino imbrifero 1715

Le pressioni invece rappresentano le variabili direttamente o indirettamente responsabili di un'alterazione dello stato naturale; le pressioni significative ovvero potenzialmente correlabili ad un impatto ambientale sono state individuate sulla base dei criteri presentati nel documento della Commissione Europea "Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) – Guidance Document n. 3 – Analysis of Pressures and Impacts". In Figura 3 sono rappresentate le potenziali pressioni insistenti sul bacino idrografico del Fiume Agri in cui ricade l'invaso del Pertusillo.

**Figura 3: Rappresentazione delle pressioni incidenti sull'invaso del Pertusillo. In rosso sono indicati i pozzi estrattivi, in verde gli scarichi urbani, in viola gli scarichi degli impianti di depurazione, le aree gialle chiare e scure sono le superfici agricole interessate dallo spandimento di reflui zootecnici, le aree bianche a righe sono gli agglomerati urbani.**



La pressione relativa al comparto civile è stata quantificata sulla base dei 7 depuratori con capacità nominale maggiore di 2000 AE (abitanti equivalenti) che scaricano negli affluenti del Fiume Agri, principale alimentatore dell'invaso (Tabella 1), e sui 46 scarichi civili autorizzati. La significatività della pressione puntuale relativa alla presenza dei depuratori è stata calcolata utilizzando il criterio proposto nel Piano di Gestione (PdG) delle Alpi Orientali del 2015, ovvero il rapporto  $R = V_{invaso} / Q_{sc}$ , dove  $V_{invaso}$  è il volume nominale dell'invaso e  $Q_{sc}$  è la portata media annua degli scarichi dei depuratori. La soglia è fissata pari a  $R < 100$  per valutare la significatività della pressione.

**Tabella 1. Dati relativi alla popolazione afferente al bacino idrografico dell'invaso del Pertusillo e relativi ai depuratori (Regione Basilicata) che insistono sul bacino.**

Comune	Popolazione <sup>#</sup>	Superficie	Densità	Depuratore	AE
	Residenti	km <sup>2</sup>	abitanti/km <sup>2</sup>	(località) se presenti	
Grumento Nova	1.701	66,65	26	loc. Fontana (c/Da Ronco) <sup>##</sup>	2400
Marsico Nuovo	4.072	100,97	40	---	
Marsicovetere	5.537	38,01	146	---	
Moliterno	3.971	98,55	40	---	
Montemurro	1.227	56,87	22	loc. Valle Gelata	3200
Paterno	3.357	40,74	82	loc. Frassineto (San Giovanni)	7500
Sarconi	1.418	30,69	46	loc. Via Caduti in Guerra	6150
Spinoso	1.448	38,18	38	loc. Improsta	2000
Tramutola	3.061	36,65	84	loc. Martinelli	20000
				loc. Santo Stefano	22000
Viggiano	3.364	89,7	38	---	
<sup>#</sup> dati ISTAT- aggiornamento 01/01/2017 ( <a href="http://www.tuttitalia.it/basilicata/provincia-di-potenza/91-Comuni/popolazione/">http://www.tuttitalia.it/basilicata/provincia-di-potenza/91-Comuni/popolazione/</a> ) <sup>##</sup> a servizio del Comune di Grumento N. e parziale utenza di Viggiano					

Non essendo in possesso dei dati puntuali delle portate di scarico, le portate sono state stimate in base alla potenzialità (espressa AE) degli impianti di depurazione attraverso un fattore di conversione, pari a 1 AE = 250 l/giorno. Così facendo R è stato determinato pari a 80 pertanto la pressione legata ai depuratori è stata considerata potenzialmente significativa.

Per quanto riguarda i 46 punti di scarico domestico (fosse settiche) autorizzati, la significatività della pressione è stata calcolata sulla base del potenziale carico di azoto scaricato nell'ambiente. Le fosse Imhoff sono state considerate come pressione diffusa e il carico ettariale associato alla popolazione non allacciata è stato stimato applicando un fattore di conversione pari a 4,7 kg N/anno per abitante e dividendo il valore di carico risultante per la superficie comunale. La soglia da PdG Alpi Orientali del 2015. è fissata in 100 kg/ha\*anno. (In questo caso la pressione diffusa non è risultata significativa.

Per quanto riguarda le pressioni associate all'agricoltura, per valutare la significatività è stata stimata la superficie agricola utilizzata attribuita ai Comuni ricadenti nel bacino idrografico (Tabella 2).



**Tabella 2. Dati relativi alla superficie comunale (SC), superficie agricola totale (SAT) e superficie agricola utilizzata (SAU) ricadenti nel bacino idrografico dell'invaso del Pertusillo, le superfici sono espresse in ettaro (dati ISTAT). È inoltre indicata per ciascun Comune la superficie agricola utilizzata per gli spandimenti zootecnici (SAUZ) (dati Regione Basilicata).**

Utilizzo dei terreni dell'unità agricola nel territorio	Superficie Comunale (SC)	Superficie zootecnica (SAUZ)	% SAUZ/SAU	% SAU/SC	Superficie Totale (SAT)	Superficie Totale (SAT)								
						Superficie agricola Utilizzata (SAU)	Superficie Agricola Utilizzata (SAU)					Arboricoltura da legno annessa ad aziende agricole	Boschi annessi ad aziende agricole	Superficie agricola non utilizzata e altre superfici
							Seminativi	Vite	Coltivazioni legnose e agrarie, escluso vite	Orti familiari	Prati permanenti e pascoli			
Grumento Nuovo	6665	690,88	4,4	0,024	232,8	156,69	150,04	0,63	1	0,10	4,92	10	60,57	5,53
Marsico Nuovo	10097	12,64	0,0	0,108	1317,0	1090,57	73,64	1,75	2,1	0,47	1012,61	0,83	220,96	4,67
Marsicovetere	3801	22,47	0,2	0,031	145,1	116,47	81,23	0,66	0,15	0,06	34,37	1,31	26	1,28
Moliterno	9855	38,85	0,1	0,041	2121,2	405,54	100,21	0,77	1,96		302,6		1709,57	6,07
Montemurro	5687			0,040	267,0	228,22	64,44		2,12	0,15	161,51	12	25,12	1,70
Palerno	4074			0,062	259,8	254,36	238,27	0,81	14,5	0,72	0,06		1,28	4,15
Sarconi	3069			0,049	192,8	150,55	40,23	0,40	4,31	0,12	105,49		41,49	0,78
Spinosa	3818			0,011	112,3	41,69	10,35		1		30,34		68,3	2,28
Tramutola	3665	125,37	1,3	0,026	259,5	95,45	80,15	0,48	0,5	0,04	14,28	45,72	117,71	0,58
Viggiano	8970	412,35	2,7	0,017	227,6	155,3	81,70	3,16	1,61	0,02	68,81		66,71	5,62

La percentuale di suolo agricolo utilizzato rispetto alla superficie comunale (% SAU/SC) è risultata minore del 1 %. Si sottolinea che la superficie di Bacino comprendente l'invaso del Pertusillo (57.400 ha), è stata stimata pari circa ad un terzo dell'intera superficie del Bacino del Fiume Agri (172.300 ha) e ciò corrisponde all'intera superficie dei Comuni interessati (59.700 ha). Dal calcolo di questo indicatore la pressione legata all'agricoltura non è risultata significativa.

È stato inoltre valutato il surplus di azoto derivante dalle pratiche di fertilizzazione da effluenti zootecnici e da concimazione minerale (fonte dati Regione Basilicata). La stima è stata fatta considerando il carico di azoto immesso al suolo escludendo il fabbisogno colturale (kg N/ha di SAU). La soglia è stata fissata in 40 kg N/ha\*anno (PdG Alpi Orientali, 2015), anche sulla base di tale indicatore la pressione non è risultata significativa.

Per quanto riguarda l'attività estrattiva, oltre ai numerosi pozzi indicati nella Figura 3, nel bacino idrografico dell'invaso ricadono anche circa 40 punti di stoccaggio di olio combustibile. I punti ricadono per lo più nei Comuni di Tramutola e Viggiano e corrispondono ad una percentuale di territorio pari al 20 %. Tenuto conto che entrambi i Comuni sono situati a monte idrologico dell'invaso, la pressione è ritenuta significativa.

L'applicazione del modello DPSIR all'invaso del Pertusillo ha permesso di costruire il modello concettuale preliminare sul quale si basano le fasi successive di elaborazione dei dati del monitoraggio isotopico.

---

Riassumendo, le pressioni che sono risultate significative sono gli scarichi civili dagli impianti di depurazione e l'attività di tipo estrattivo di idrocarburi. In Figura 4 è riportato lo schema del modello concettuale.

**Figura 4: Rappresentazione del modello concettuale applicato per l'indagine delle fonti della sostanza organica nell'invaso del Pertusillo.**



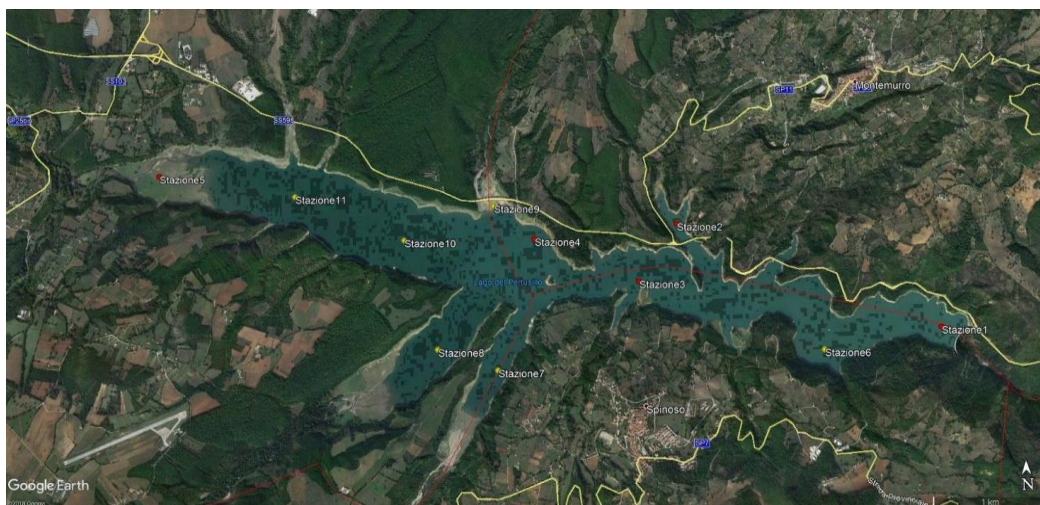
Un concetto non trascurabile in questa trattazione è la presenza della sostanza organica naturale. Questa, infatti, è costituita per la maggior parte da sostanza umica che rappresenta la frazione di sostanza organica completamente degradata e trasformata dai microrganismi. La sostanza umica gioca un ruolo fondamentale nel comparto acquatico per la sua capacità di controllare la degradazione e la mobilità dei contaminanti organici. Dal punto di vista strettamente chimico, la sostanza umica rappresenta una miscela molto eterogenea, caratterizzata dal riarrangiamento strutturale di alcune classi di composti (quali proteine, polisaccaridi e componenti alchiliche lipidiche) a seguito dell'azione dei microrganismi. Il contributo della sostanza organica naturalmente presente nell'ambiente alla miscela isotopica potrebbe non essere trascurabile e per tale motivo viene considerata come potenziale fonte del dato isotopico.

## 4 Attività di campo

### 4.1 Campionamento

La strategia di campionamento prevedeva un campionamento semestrale del sedimento superficiale (0-5 cm) e campionamenti trimestrali per la matrice acqua (frazione disciolta e particellata) in 11 stazioni (Figura 5) localizzate lungo l'asse maggiore dell'invaso e nelle principali insenature dello stesso.

**Figura 5: Stazioni di campionamento: in rosso i punti storicamente monitorati da ARPAB, in giallo nuovi punti di campionamento relativi al caso studio.**



I campionamenti sono stati effettuati da personale ISPRA con il supporto tecnico-scientifico e logistico di ARPAB ed hanno richiesto l'utilizzo di un mezzo nautico a basso pescaggio (Figura 6), indispensabile per raggiungere tutti i punti di indagine. È stato inoltre necessario l'impiego di un operatore subacqueo per il prelievo dei sedimenti nella stazione più profonda (stazione 1), posta vicino allo sbarramento a sud dell'invaso.

**Figura 6: Mezzo nautico a basso pescaggio per il campionamento.**



Durante il periodo di indagine le condizioni meteo climatiche non si sono rivelate favorevoli alle attività previste e pertanto sono state necessarie delle modifiche al piano di campionamento. In particolare, tenuto conto che in molti periodi l'invaso presentava un livello dell'acqua insufficiente a raggiungere tutti i punti selezionati (Figura 7), le attività sono state concentrate sulle stazioni 1, 2, 3, 4, 5, corrispondenti a quelle già monitorate dall' ARPAB mentre il campionamento delle nuove stazioni è stato effettuato solo in due periodi dell'anno (Tabella 3).

**Tabella 3: Periodi di campionamento e matrici analizzate**

Anno	Mese	Stazioni											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
2017	Ottobre	SI	SI	SI	SI	SI							
2018	Maggio	PI, SI	PI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI
	Giugno					SI							
	Luglio	PI		PI, SI	PI	PI							
	Agosto	PI		PI, SI	PI, SI	PI, SI							
	Settembre				SI	SI							
	Ottobre	PI	PI	PI, SI	PI	PI							
	Novembre			SI	SI	SI							
2019	Febbraio	PI	PI, SI	PI, SI	PI	PI, SI							
	Marzo		SI	SI	SI	SI							
	Maggio		SI	SI	SI	SI							
	Giugno			SI	SI	SI							
	Luglio		SI	SI		SI							
	Agosto		SI	SI	SI	SI							
	Settembre		SI	SI	SI								
	Ottobre	PI, SI	PI, SI	PI, SI	PI, SI		PI, SI	PI, SI	PI, SI			PI, SI	
Particellato Invaso (PI); Sedimenti Invaso (SI)													

**Figura 7: Diversi livelli dell'acqua nell'invaso: a sinistra l'invaso a dicembre 2017, a destra l'invaso a maggio 2018.**

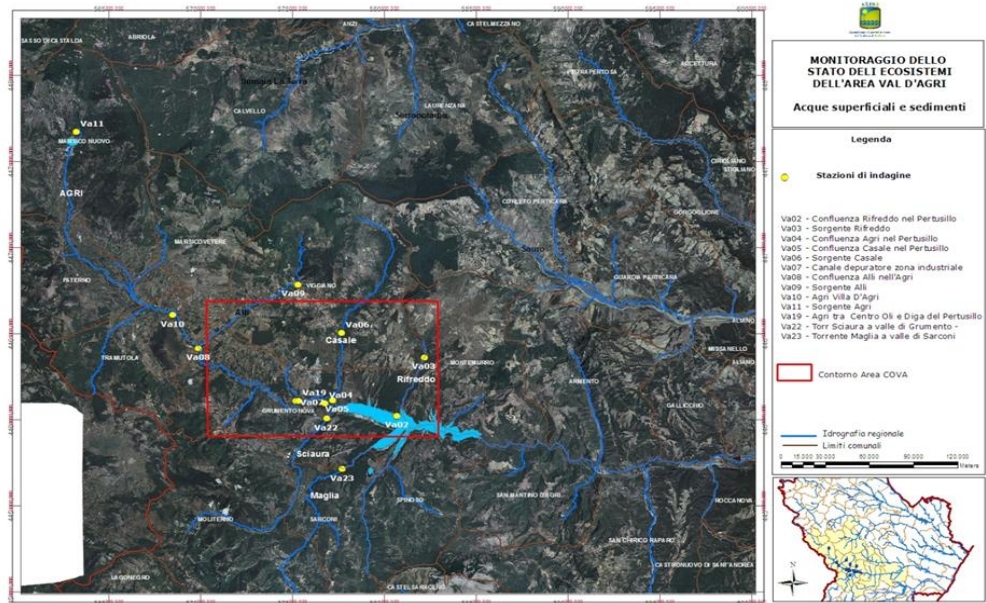


Al fine di approfondire la conoscenza delle relazioni che intercorrono tra pressioni e impatti, sono stati analizzati anche sedimenti fluviali e carote di sedimento dell'invaso prelevati in periodi antecedenti (2018) a questo studio e conservati a -20 °C, temperatura idonea a mantenere inalterati i campioni.

In particolare, sono stati analizzati sedimenti fluviali prelevati in 13 stazioni distribuite uniformemente nell'intero bacino idrografico dell'invaso (Figura 8 e Tabella 4) e 4 carote di sedimento prelevate in punti localizzati in prossimità delle stazioni 2, 6, 8 e 11. Le carote di sedimento erano caratterizzate da una lunghezza variabile tra i 40 cm e 110 cm e sono state suddivise in quattro strati caratterizzati da uno spessore variabile in funzione delle caratteristiche visive delle carote stesse.



**Figura 8: Stazioni di sedimento fluviale campionate da ARPAB nel 2018 (mesi di gennaio, febbraio, marzo e aprile), punti gialli.**





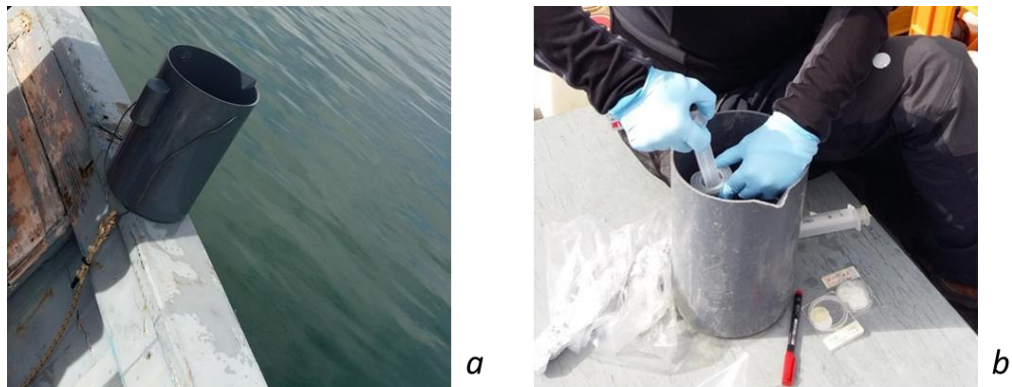
**Tabella 4: Stazioni di campionamento del sedimento fluviale effettuate da ARPAB nel 2018**

FIUME AGRI E AFFLUENTI			
STAZIONI DI CAMPIONAMENTO FLUVIALI			
DESCRIZIONE	CODICE STAZIONE	COORDINATE X_WGS84	COORDINATE Y_WGS84
Sorgente Rifreddo	Va03	582284	4463903
Confluenza Agri nel Pertusillo	Va04	576721	4460990
Confluenza Casale nel Pertusillo	Va05	577388	4461327
Sorgente Casale	Va06	577707	4465059
Canale depuratore zona industriale	Va07	575238	4461535
Confluenza Allì nell'Agri	Va08	569905	4465288
Sorgente Allì	Va09	575309	4467846
Agri Villa d'Agri	Va10	368636	4466285
Sorgente Agri	Va11	563450	4476706
Agri - area compresa tra Centro Oli e Diga del Pertusillo	Va19	575289	4460908
Torrente Sciaura a valle di Grumento Nova	Va22	576748	4459740
Torrente Maglia a valle di Sarconi	Va23	577383	4456891

## 4.2 Trattamento dei campioni

I campioni d'acqua superficiale sono stati prelevati con appositi contenitori (Figura 9a) e sono stati filtrati in campo (Figura 9b), mediante utilizzo di filtri GF/F (pretrattati in muffola a 450 °C) per la separazione della fase disciolta da quella sospesa. I filtri corrispondenti sono stati immediatamente refrigerati (4 °C) e conservati -20 °C. I campioni di particolato sono stati inviati al laboratorio ISPRA di Chioggia per eseguire le analisi previste dal progetto: isotopi stabili del carbonio ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e dell'azoto ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e concentrazioni di carbonio (POC) ed azoto (TPN) particellati e relativi rapporti POC/TPN.

**Figura 9: a) Contenitore assicurato ad una cima per il prelievo del campione d'acqua superficiale; b) Filtrazione del campione per le analisi del carbonio organico - particellato (POC) e azoto totale particellato (TPN).**



La fase disciolta è stata analizzata presso i laboratori di ARPAB per i parametri: fosforo totale (TP),  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , ossigeno disciolto,  $\text{BOD}_5$  e Clorofilla  $\alpha$ . È stato inoltre determinato il contenuto di idrocarburi totali e idrocarburi policiclici aromatici (IPA), presso i laboratori di ARPAB dove sono state effettuate anche le analisi per il contenuto di idrocarburi  $\text{C} > 12$ , IPA e toluene nei sedimenti.

Il prelievo del sedimento è stato effettuato mediante un retino a maglia fine (200  $\mu\text{m}$ ) di forma triangolare con bordi rinforzati da barre di metallo (Figura 10) in grado di affondare nel sedimento; questo retino è stato trascinato per un tempo variabile utile per raccogliere i quantitativi di campione necessari per le analisi previste, previa omogeneizzazione del campione.

**Figura 10: Retino a maglia fine di forma triangolare, con bordi rinforzati, per il prelievo del sedimento (foto relativa al prelievo nella stazione 3).**



---

I campioni di sedimento, subito dopo il prelievo, sono stati immediatamente refrigerati (+4 °C) e successivamente congelati in laboratorio (-20 °C) fino al momento delle analisi. Essi sono stati analizzati presso il laboratorio ISPRA di Chioggia per i parametri  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  e carbonio organico ed azoto totale. Le analisi chimico-fisiche sono state effettuate invece dai laboratori ARPAB.

In 4 stazioni, scelte in base ai dati territoriali e all'analisi delle pressioni, sono stati prelevati anche campioni di zooplancton con retino da 200  $\mu\text{m}$  (Figura 11).

**Figura 11: Particolare del bicchiere del retino con cui è stato raccolto il plancton.**



Inoltre, per cercare di caratterizzare al meglio le varie potenziali pressioni di sostanza organica, che insistono sull'invaso del Pertusillo, sono stati prelevati: campioni di acque derivanti da scarichi urbani provenienti da 7 depuratori della zona; campioni di idrocarburi prelevati da affioramenti naturali (Figura 12 a, b, c, d) ed i relativi sedimenti pregni degli stessi composti; un campione di petrolio prelevato da uno sversamento accidentale riferito all'incidente del COVA (fornito ad ISPRA da ARPAB) e infine 6 campioni di idrocarburi provenienti da diversi serbatoi di stoccaggio dislocati sul territorio che affaccia sul lago (forniti da ENI). In questo modo la numerosità campionaria è risultata tale da rendere il dato robusto.

Figura 12: a, b, c, d, Affioramenti naturali di idrocarburi nell'area del Pozzo Tramutola 2.



*a*



*b*



*c*



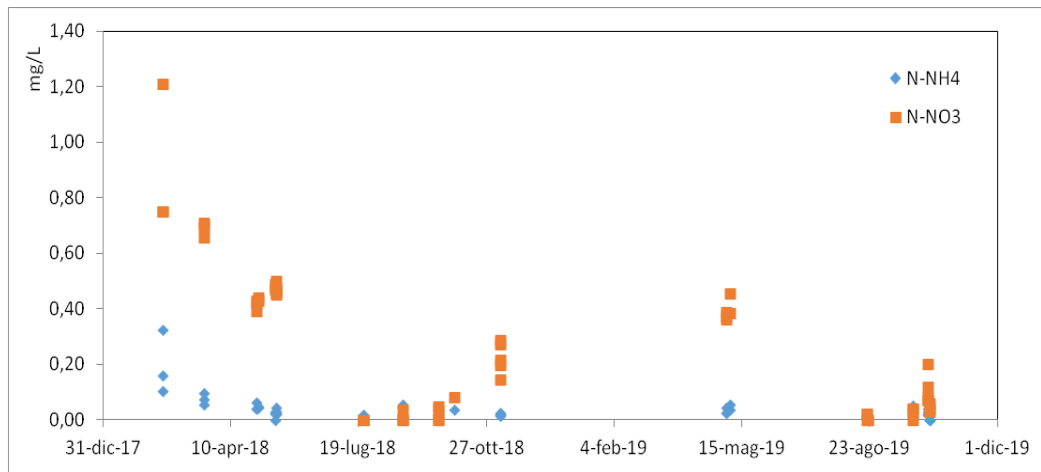
*d*

## 5 Elaborazione ed analisi dei risultati

### 5.1 Elaborazione dati chimici

L'analisi dei nutrienti disciolti nei campioni d'acqua dell'invaso, svolta da ARPAB, ha mostrato in media, una concentrazione delle sostanze chimiche azotate piuttosto simile nelle varie stazioni campionate; invece è stata evidenziata una tendenza decrescente in funzione del tempo, nel periodo da dicembre 2017 a dicembre 2019 (Figura 13).

**Figura 13: Andamento delle forme di azoto nitrico e ammoniacale in funzione del tempo.**



Gli altri parametri analizzati ossia fosforo, ortofosfato e clorofilla ( $\alpha$ ) presentano un andamento costante nel periodo considerato pur con una certa variabilità tra le diverse stazioni all'interno dell'invaso.

Per quanto riguarda l'analisi degli idrocarburi nelle acque dell'invaso svolta da ARPAB, gli idrocarburi totali sono sempre risultati inferiori al limite di quantificazione ( $50 \mu\text{g/l}$ ) mentre nel campionamento effettuato a maggio 2018 in tutte le stazioni monitorate sono state determinate tracce di alcuni idrocarburi policiclici aromatici (IPA), in particolare è stata evidenziata la presenza di fenantrene, fluorantene, pirene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene, benzo(a)pirene, benzo(g, h, i)perilene.

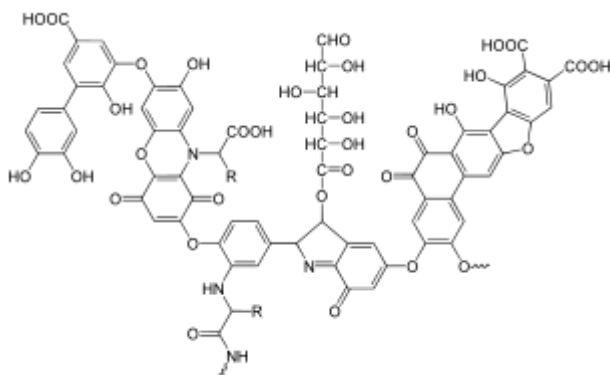
### 5.2 Estrazione ed analisi delle sostanze umiche

Le sostanze umiche si formano a seguito dalla degradazione microbica dei tessuti di organismi morti. La loro formazione è stata spiegata da differenti teorie, tra le quali le più accreditate sono la teoria della lignina di Waksman (1932), la teoria dei polifenoli e la teoria della condensazione di zucchero-ammina di Maillard (1911). Le sostanze umiche sono resistenti alla biodegradazione e rappresentano pertanto la frazione residuale della

sostanza organica, che risulta infine refrattaria ad ulteriori attacchi da parte dei microrganismi. Tali sostanze possono essere suddivise in tre frazioni principali: acidi umici, acidi fulvici e umina.

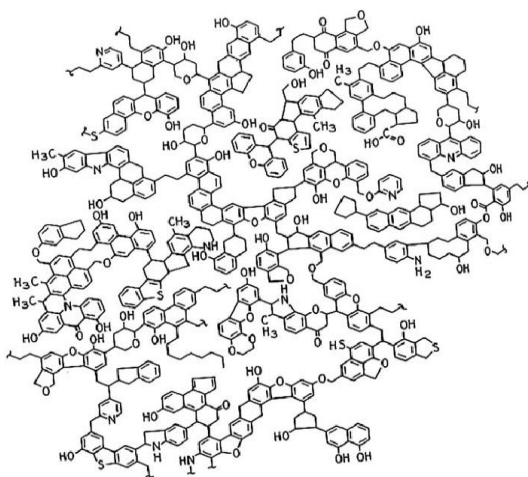
Le sostanze umiche vengono estratte dai campioni (suolo, sedimento e particellato) mediante una soluzione acquosa fortemente basica di idrossido di sodio o idrossido di potassio. Gli acidi fulvici si solubilizzano in ambiente acido e basico a differenza degli acidi umici (Figura 14) che essendo insolubili a pH acido precipitano. L'umina rappresenta la frazione insolubile e rimane come precipitato dopo estrazione.

**Figura 14: Frammento di struttura di un acido umico.**



Nella Figura 15 è rappresentato un frammento bituminoso caratterizzante la frazione umica. La sostanza umica presente nel suolo è in grado di creare interferenza in alcuni metodi di analisi nella quantificazione degli idrocarburi, in quanto sono considerati idrocarburi non derivati dal petrolio e possiedono molte affinità chimiche.

**Figura 15: Frammento di prodotto bituminoso.**





Le sostanze umiche sono state analizzate in cinque campioni di sedimento prelevati nelle stazioni 1, 2, 3, 4 e 5. Nella Tabella 5 per le stazioni indagate sono riportati sia il contenuto di carbonio organico totale, sia il carbonio organico fresco labile sia le frazioni di carbonio fulvico, umico e umina.

**Tabella 5: Contenuto della sostanza organica totale e delle componenti umiche e non umiche.**

Stazioni	C <sub>org</sub> [totale]	C <sub>org</sub> [fresco]	C <sub>org</sub> [fulvico]	C <sub>org</sub> [umico]	C <sub>org</sub> [umina]
	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g) (*)	(mg/g)	(mg/g)
staz1	1,5	0,2	0,1	0,4	0,8
staz2	12	0,4	6,1	2,7	2,8
staz3	26	1,1	11	11	2,9
staz4	4,9	0,6	0,8	3,2	0,3
staz5	28	1,1	4	20	2,9
(*) calcolato come differenza della somma delle altre frazioni rispetto al totale					

La componente organica naturale refrattaria varia tra 87 e 97 % del carbonio organico totale e rappresenta pertanto la maggior parte del contenuto di sostanza organica sedimentaria.

### 5.3 Elaborazioni isotopiche

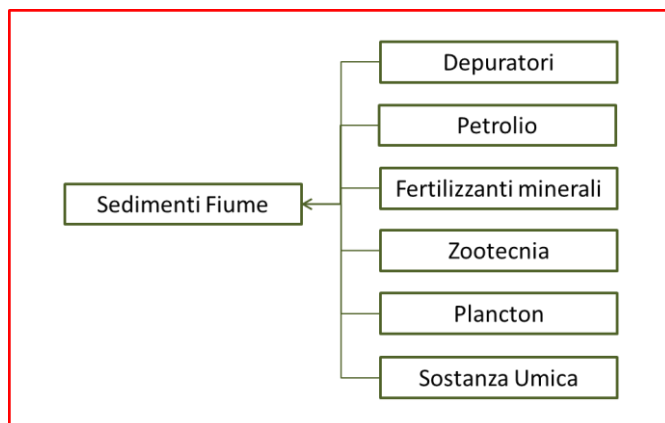
Prima di effettuare le elaborazioni isotopiche, applicando differenti modelli di calcolo, è fondamentale analizzare la distribuzione isotopica dei dati in funzione delle sorgenti identificate nel modello concettuale.

#### 5.3.1 Analisi preliminari

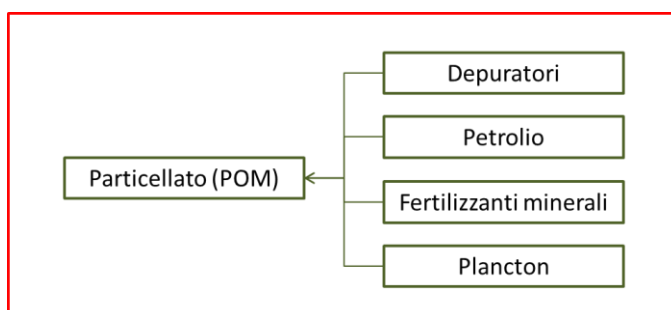
Ai fini dell'applicazione del modello di mixing isotopico sono state quindi definite le relazioni sito-specifiche tra le potenziali sorgenti e le matrici analizzate: sedimenti fluviali, materiale particellato sospeso nell'acqua del lago (materiale organico particellato o POM e/o seston), sedimenti dell'invaso.

Nelle Figure 16, 17 e 18 sono schematizzati i modelli concettuali definiti per l'elaborazione del contributo percentuale delle pressioni insistenti e delle componenti naturali rispettivamente per sedimenti fluviali, per POM e per sedimenti dell'invaso.

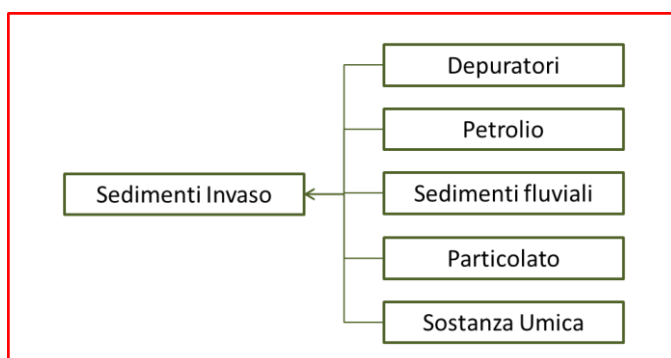
**Figura 16: Modello concettuale definito per l'elaborazione del contributo percentuale ai sedimenti fluviali delle pressioni insistenti sull'invaso e della componente naturale.**



**Figura 17: Modello concettuale definito per l'elaborazione del contributo percentuale al POM lacustre delle pressioni insistenti sull'invaso e della componente naturale.**



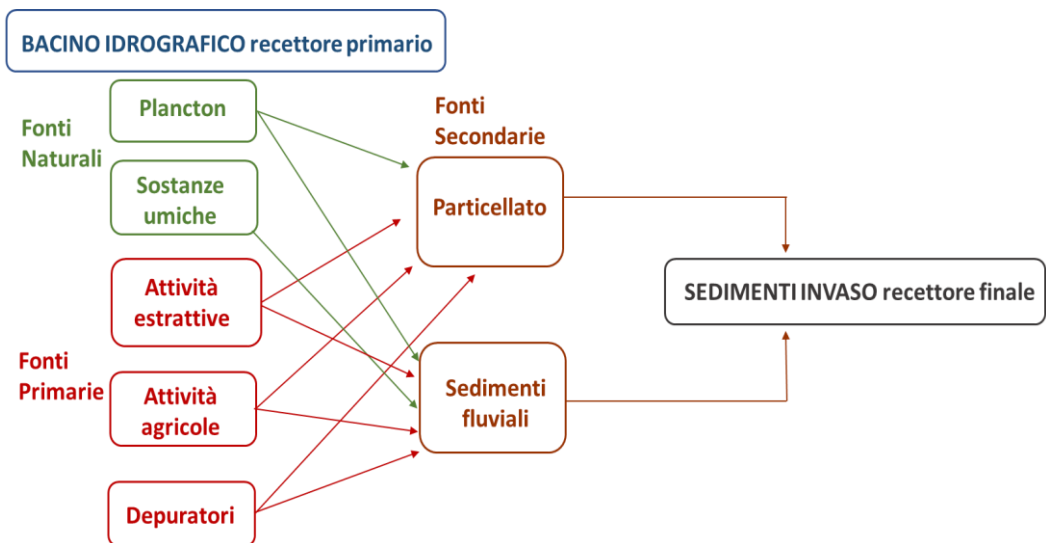
**Figura 18: Modello concettuale definito per l'elaborazione del contributo percentuale ai sedimenti dell'invaso delle pressioni insistenti sull'invaso e della componente naturale.**



I modelli concettuali sono stati definiti in funzione delle differenti tipologie di ambiente indagato.

In generale si è tenuto conto dei processi di diffusione ambientale che vedono l'intero bacino idrografico come recettore primario (fonti primarie) e i sedimenti dell'invaso come recettore finale (mixing di fonti primarie e secondarie). Si intendono per fonti primarie quelle direttamente ascrivibili alle pressioni che insistono sul bacino (attività estrattive di idrocarburi, depuratori, attività agricole), per fonti secondarie le matrici già recettore, ma che possono ancora diffondersi nell'ambiente (particellato e sedimenti fluviali). Nella Figura 19 è riportata la rappresentazione schematica del modello concettuale definito per l'intero bacino idrografico.

**Figura 19: Modello concettuale definito per il bacino idrografico.**



Per l'individuazione dei contributi nei sedimenti fluviali si è pertanto considerato il potenziale *input* derivante: dalle attività di estrazione (petrolio), dalle attività agricole (fertilizzanti minerali e zootecnia), dalla presenza degli scarichi di depuratori civili (depuratori) e da fonti naturali (plancton e sostanze umiche).

Per quanto riguarda il particellato dell'invaso analizzato, sono stati individuati i potenziali *input* derivanti: dalle attività di estrazione (petrolio), dalla presenza degli scarichi di depuratori civili (depuratori), dalle attività agricole (fertilizzanti minerali) e da fonti naturali (plancton).

Infine, per quanto riguarda i sedimenti dell'invaso, tra le potenziali sorgenti sono state individuate: i sedimenti fluviali, il particellato, le attività di estrazione (petrolio), gli scarichi di depuratori civili (depuratori) e le fonti naturali (sostanze umiche).

---

Ai fini dell'applicazione dei modelli per le elaborazioni isotopiche è stata effettuata una raccolta bibliografica di dati isotopici del carbonio e dell'azoto, relativi alle potenziali sorgenti identificate a seguito dell'analisi delle pressioni condotta nell'area dell'invaso.

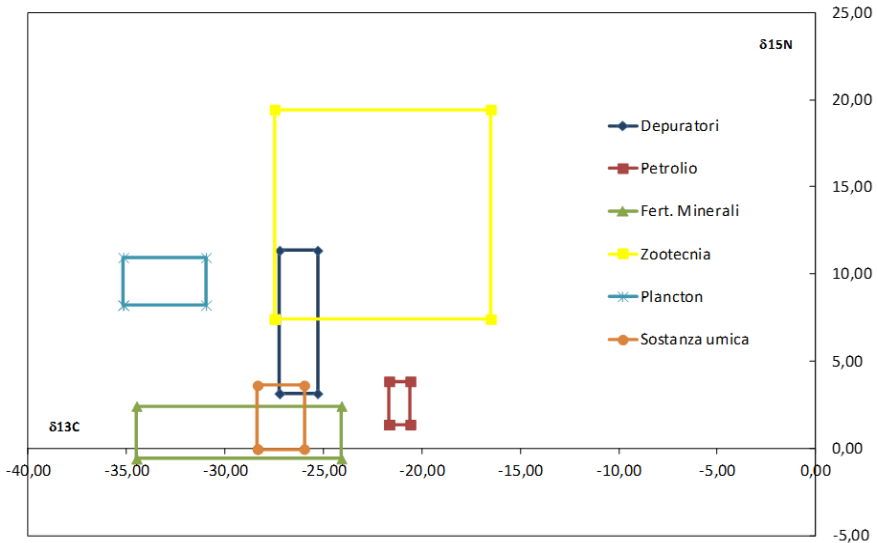
La ricerca bibliografica effettuata sulla sorgente di idrocarburi petroliferi ha permesso di costruire un data-set relativo al carbonio di 153 campioni, mentre la numerosità campionaria relativa all'azoto è rappresentata da soli 6 dati (Stahl, 1977; Yeh *et al.*, 1981; Sonibare *et al.*, 2008; Marcano *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015; Chung *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017; Berto, dati non ancora pubblicati). Il range isotopico attribuibile alla matrice idrocarburi petroliferi è pertanto ben robusto per l'isotopo del carbonio e meno per l'azoto; pertanto, per sopperire a questa mancanza di dati è stata implementata l'analisi isotopica dei prodotti petroliferi.

La ricerca bibliografica dei dati isotopici di carbonio e azoto, relativi agli scarichi degli impianti di depurazione delle acque reflue urbane, ha prodotto un set di dati maggiormente significativo per l'azoto rispetto a quello del carbonio (Cravotta, 1997; Rogers, 2003; Curt *et al.*, 2004; Ramirez-Alvarez *et al.*, 2007; Oakes *et al.*, 2010; El Gaouzi *et al.*, 2013; Bridgeman *et al.*, 2014; Belli *et al.*, 2015; Berto dati non pubblicati). È stata comunque implementata l'analisi isotopica delle sorgenti sito-specifiche al fine di aumentare la numerosità campionaria per entrambi gli isotopi.

Nel caso della sostanza organica naturale, dei fertilizzanti minerali e della zootecnia, i dati di letteratura hanno prodotto un range di dati robusto per entrambi gli isotopi (>50 dati).

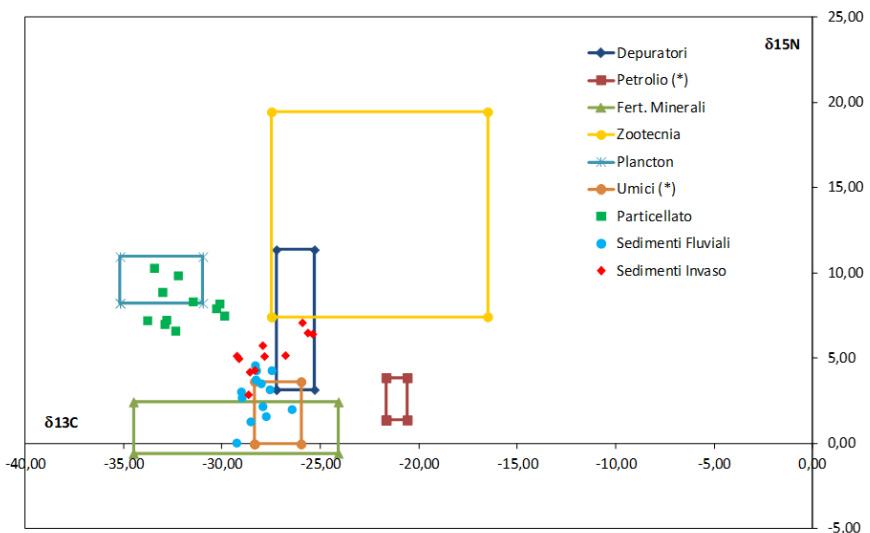
Infine, nel caso del plancton, i dati di letteratura già numerosi sono stati incrementati con analisi sito-specifiche. Nella Figura 20 sono rappresentati i range relativi alle impronte isotopiche delle sorgenti identificate (Stuermer *et al.*, 1978; Ikan *et al.*, 1990; Giani *et al.*, 2009; Zaccone *et al.*, 2011, Katsumi *et al.*, 2015).

**Figura 20: Rappresentazione dei range isotopici delle sorgenti identificate nel modello concettuale.**



Nella Figura 21 sono rappresentati i domini isotopici ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) caratteristici delle sorgenti considerate in questo studio e i dati relativi alle 3 matrici analizzate: particellato nelle acque dell'invaso; sedimenti fluviali; sedimenti nell'invaso.

**Figura 21: Domini isotopici delle sorgenti: depuratori, petrolio, fertilizzanti minerali, attività zootecnica, plancton e sostanze umiche considerate nei diversi modelli concettuali e i dati relativi alle tre matrici analizzate ovvero: particellato nelle acque dell'invaso, sedimenti fluviali e sedimenti nell'invaso.**



---

Nell'ambito di questa convenzione è stato analizzato anche lo zolfo isotopico ( $\delta^{34}\text{S}$ ) e i valori medi registrati per i campioni sono: nel particellato  $9,35 \pm 1,30$  ‰, nei sedimenti  $-0,90 \pm 3,20$  ‰, nel plancton  $-4,50 \pm 0,46$  ‰, nelle sostanze umiche  $3,37 \pm 0,27$  ‰, nei depuratori  $6,42 \pm 0,94$  ‰ ed infine nel petrolio  $-8,49 \pm 2,25$  ‰. Poiché il numero di campioni in cui è stato possibile determinare lo zolfo è piuttosto ridotto si è scelto di non utilizzarlo per elaborare i modelli di mixing.

### 5.3.2 Modelli di mixing isotopico

L'elaborazione dei dati isotopici può essere finalizzata per valutazioni sia qualitative sia quantitative.

Per rispondere a esigenze di analisi di tipo quantitativo, negli ultimi anni, sono stati elaborati dei modelli di mixing isotopico, in grado di calcolare su base statistica e probabilistica il potenziale contributo delle sorgenti, definite nel modello concettuale, sulla matrice indagata. Per una più estesa e dettagliata conoscenza dell'applicazione dei modelli isotopici e della metodica di analisi isotopica si rimanda alla lettura del Quaderno ISPRA: ISOTOPI: dalla teoria alla pratica; – Quaderni – 2/2018 ([www.isprambiente.it](http://www.isprambiente.it)).

In generale tutti i modelli di mixing sono basati sullo sviluppo di un sistema indeterminato di equazioni lineari; tenendo fisso l'utilizzo di 2 isotopi, in questi sistemi maggiore è il numero di sorgenti considerate, maggiore sarà l'incertezza associata alla soluzione del sistema.

Esistono numerosi software sviluppati per il calcolo dei modelli di mixing isotopico; l'elaborazione dei dati isotopici acquisiti nell'ambito della convenzione è stata effettuata utilizzando il modello ISOSOURCE ed il modello SIAR sviluppato in ambiente R.

Tutti i modelli di miscelamento isotopico sono tuttavia soggetti ad alcune limitazioni, quali:

- le sorgenti devono essere caratterizzate da intervalli isotopici il più possibile diversi tra loro; più gli intervalli isotopici sono simili, minore è la capacità del modello nel discriminare le sorgenti;
- le sorgenti devono presentare valori isotopici costanti nel tempo;
- in molti casi è necessario operare dei raggruppamenti a priori al fine di limitare l'incertezza delle soluzioni probabilistiche (e ciò è possibile solo avendo una conoscenza approfondita del sistema indagato);
- la qualità dei dati di ingresso deve essere precisa ed accurata.

---

### 5.3.2.1 *Modello ISOSOURCE*

Il modello ISOSOURCE si basa sulla costruzione di un dominio isotopico entro cui devono cadere i dati isotopici dei campioni da apporzionare.

I vari passaggi di calcolo sono:

- generazione di combinazioni numeriche di potenziali distribuzioni percentuali applicando un incremento percentuale per i vari contributi. In generale, l'incremento percentuale può variare da 0,5 % a 2 %; un incremento pari all'1 % è considerato il migliore (se si tiene conto di 3 o 4 sorgenti con due isotopi). Esso rappresenta il livello di precisione per elaborare le varie combinazioni; un numero elevato di sorgenti fa aumentare in modo esponenziale il numero di possibili combinazioni numeriche e quindi può risultare sufficiente fissarlo pari al 2 %;
- applicazione delle combinazioni generate all'equazione di bilancio di massa isotopica;
- confronto della stima ottenuta dal calcolo combinatorio con la misura isotopica del campione; se la stima risulta uguale o vicino alla misura (entro una tolleranza del bilancio di massa dello 0,1 ‰), essa viene assunta come potenziale soluzione; la tolleranza del bilancio di massa può essere scelta tra  $\pm 0,05$  ‰,  $\pm 0,1$  ‰ e  $\pm 0,2$  ‰;
- trattazione statistica di tutte le soluzioni probabili; vengono cioè calcolati i principali descrittori statistici, la frequenza di ciascuna combinazione, ecc... Generalmente il massimo (MAX) e il minimo (MIN) di ciascuna fonte delimitano l'intervallo del potenziale contributo della fonte al campione; tenendo però in considerazione che il massimo ed il minimo sono altamente sensibili alle code di distribuzione di frequenza, si preferisce definire l'intervallo di variazione con i percentili 1 e 99.

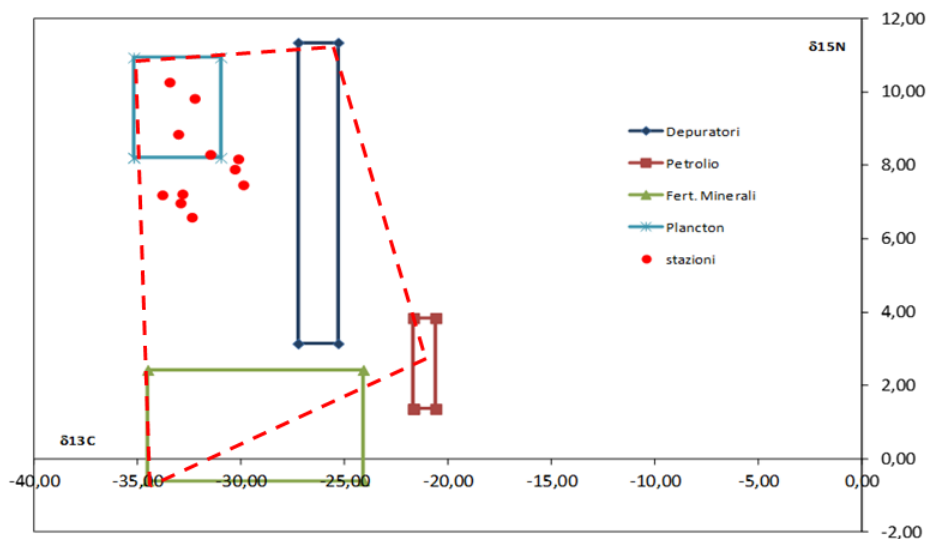
Per le elaborazioni effettuate in questo studio sono stati fissati un incremento pari a 1 % e una tolleranza del bilancio di massa pari a 0,1 ‰.

Il modello ISOSOURCE è caratterizzato da alcune criticità di elaborazione:

- non è in grado di stimare il contributo tenendo conto della varianza dei domini isotopici delle sorgenti. E' sempre necessario costruire a priori un poligono, costituito da punti ricadenti nei domini isotopici delle sorgenti, entro il quale ricadano i campioni da caratterizzare in termini di apporzionamento delle sorgenti stesse (Figura 22);
- non è in grado di introdurre informazioni a priori inerenti la probabile distribuzione percentuale (peso probabile di ciascun contributo alla miscela);
- non è in grado di elaborare i fattori di frazionamento isotopico che possono influenzare i domini delle sorgenti nel mixing. Tali fattori sono imputabili alle

reazioni chimiche e ai processi di distribuzione nell'ambiente a cui le sorgenti possono partecipare. Per i dati raccolti non è stato possibile determinare tali fattori di frazionamento.

**Figura 22: Rappresentazione del poligono (linea rossa tratteggiata) costruito per l'elaborazione dei dati relativi al particellato nell'invaso (pallini rossi).**



### 5.3.2.2 Modello SIAR

Il modello SIAR (Phillips e Koch, 2002; Phillips e Gregg, 2003; Moore e Semmens, 2008; Parnell *et al.*, 2010; Xue *et al.*, 2012) è basato sul calcolo del sistema indeterminato di equazioni lineari mediante l'utilizzo di tecniche di statistica Bayesiana avanzata al fine di identificare i contributi proporzionali delle varie sorgenti potenziali identificate dal modello concettuale. I modelli Bayesiani restituiscono i valori dei contributi proporzionali sotto forma di distribuzione di probabilità (descrittori di tendenza centrale e intervalli di fiducia) (Moore *et al.*, 2006; Moore e Semmens, 2008; Jackson *et al.*, 2009; Parnell *et al.*, 2010; Fry, 2013). Il software è liberamente accessibile on-line (<http://cran.r-project.org/web/packages/siar/index.html>).

Il modello SIAR è:

- in grado di stimare il contributo tenendo conto della varianza dei domini isotopici delle sorgenti;
- in grado di introdurre informazioni a priori inerenti la probabile distribuzione percentuale (peso probabile di ciascun contributo alla miscela);



- 
- in grado di elaborare i fattori di frazionamento isotopico che possono influenzare i domini delle sorgenti nel mixing.

Tuttavia, la maggiore criticità di calcolo evidenziata dal modello SIAR è dovuta al fatto che la miscela da caratterizzare in termini di apporzionamento delle sorgenti deve essere rappresentata da un numero sufficiente di dati; maggiore è il numero dei dati, migliore è la stima dei contributi proporzionali.

Pertanto, è stato necessario operare un accorpamento delle stazioni al fine di ottenere la numerosità campionaria sufficiente a rendere significativi i risultati della distribuzione degli input sulla matrice analizzata.

L'accorpamento è stato effettuato sulla base dei seguenti criteri:

- **particellato**: è stato effettuato l'accorpamento dei campioni non tenendo conto della variabilità stagionale (cioè unendo tutti i dati dei campionamenti anche se di anni diversi);
- **sedimenti fluviali**: è stato effettuato l'accorpamento non tenendo conto della variabilità stagionale e sono state accorpate le stazioni in funzione della distribuzione territoriale nel bacino idrografico (Figura 8); nello specifico sono state accorpate le stazioni nel modo seguente:
  - primo gruppo: Va03 e Va06;
  - secondo gruppo: Va04, Va05, Va07, Va19;
  - terzo gruppo: Va08, Va09 e Va10;
  - quarto gruppo: Va22 e Va23;
  - le stazioni Va02 e Va11, non essendo associabili a nessuno dei raggruppamenti, non sono state inserite nel modello.
- **sedimenti invaso**: sono stati accorpate i sedimenti superficiali campionati da ISPRA (Figura 5) con quelli profondi delle stazioni 11, 8, 2, 6 campionati da ARPAB, senza considerare la variabilità stagionale.

### 5.3.3 Elaborazione isotopica del particellato

Nel caso dei campioni del particellato dell'invaso è stata effettuata l'elaborazione isotopica sia mediante il modello ISOSOURCE che mediante il modello SIAR. Operando un confronto statistico dei risultati ottenuti dai due diversi tipi di elaborazione è stata valutata la presenza di differenze statisticamente significative tra i due modelli al fine di verificare se, in assenza di particolari forzanti di calcolo, sia indifferente la scelta del modello da applicare.

Nel caso del particellato le fonti considerate hanno tutte la stessa probabilità di contribuire alla miscela e per tale motivo è utilizzabile anche il modello ISOSOURCE.

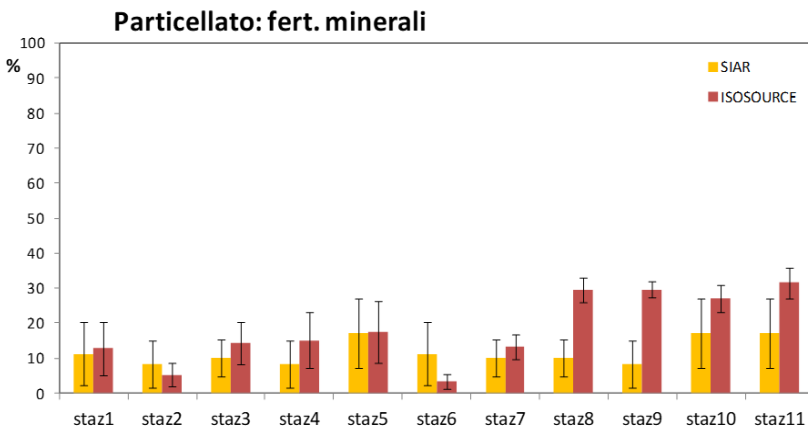
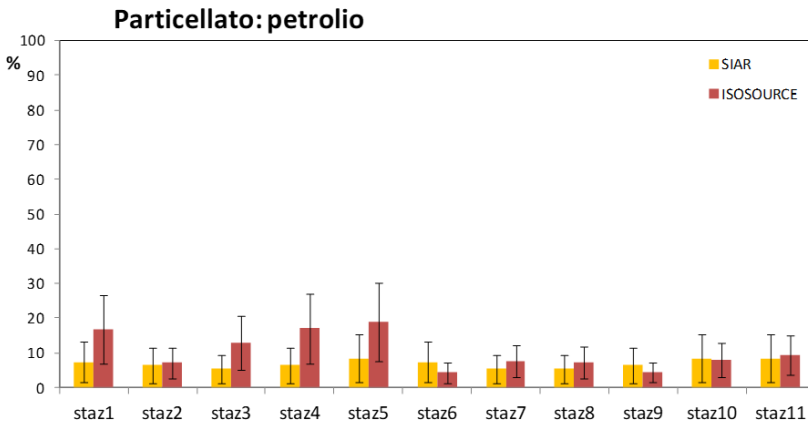
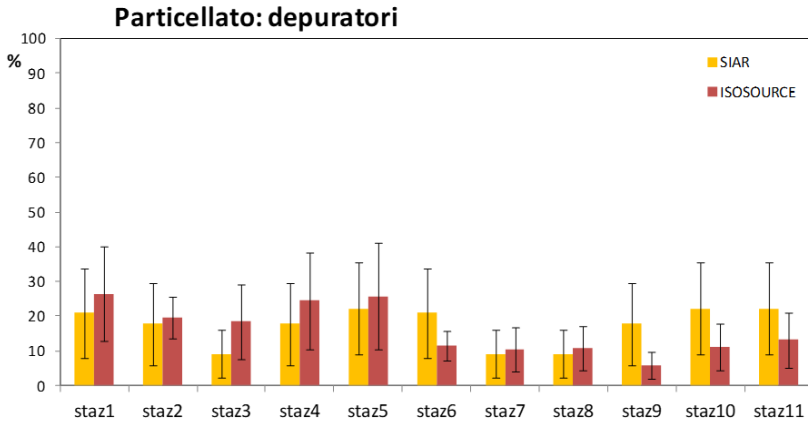
I risultati ottenuti dall'applicazione del modello ISOSOURCE e del modello SIAR sono riportati nella Tabella 6.

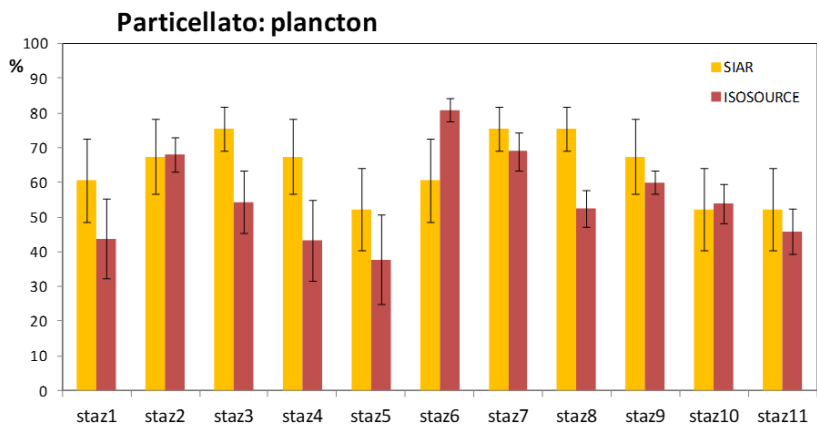
**Tabella 6: Risultati relativi al contributo percentuale espresso come media e deviazione standard delle sorgenti incidenti sul particellato, elaborati con modelli di mixing ISOSOURCE e SIAR.**

Stazioni	ISOSOURCE				SIAR			
	Media (Deviazione standard) (%)				Media (Deviazione standard) (%)			
	Depuratori	Petrolio	Fertil. Minerali	Plancton	Depuratori	Petrolio	Fertil. Minerali	Plancton
staz1	27 (14)	17 (10)	13 (8)	44 (11)	21 (13)	7 (6)	11 (9)	61 (12)
staz2	20 (6)	7 (4)	5 (3)	68 (5)	18 (12)	6 (5)	8 (7)	67 (11)
staz3	18 (11)	13 (8)	14 (6)	54 (9)	9 (7)	5 (4)	10 (5)	75 (6)
staz4	25 (14)	17 (10)	15 (8)	43 (12)	18 (12)	6 (5)	8 (7)	67 (11)
staz5	26 (15)	19 (11)	18 (9)	38 (13)	22 (13)	8 (7)	17 (10)	52 (12)
staz6	12 (4)	4 (3)	3 (2)	81 (3)	21 (13)	7 (6)	11 (9)	61 (12)
staz7	10 (6)	8 (5)	13 (4)	69 (5)	9 (7)	5 (4)	10 (5)	75 (6)
staz8	11 (6)	7 (5)	30 (4)	52 (5)	9 (7)	5 (4)	10 (5)	75 (6)
staz9	6 (4)	4 (3)	30 (2)	60 (3)	18 (12)	6 (5)	8 (7)	67 (11)
staz10	11 (7)	8 (5)	27 (4)	54 (6)	22 (13)	8 (7)	17 (10)	52 (12)
staz11	13 (8)	9 (6)	32 (5)	46 (7)	22 (13)	8 (7)	17 (10)	52 (12)

L'analisi statistica basata sul confronto delle medie e sulla varianza non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra i due modelli. Nella Figura 23 riportiamo la rappresentazione grafica dei risultati ottenuti mediante l'applicazione dei due modelli di mixing.

**Figura 23: Rappresentazione grafica dei risultati relativi ai contributi percentuali elaborati mediante i due modelli di mixing ISOSOURCE (arancione) e SIAR (giallo).**





I risultati ottenuti evidenziano che il particolato nelle acque dell'invaso è caratterizzato da una prevalenza di plancton, maggior contribuente alla matrice per tutte le stazioni, per entrambi i modelli di mixing. Seguono i contributi dovuti agli scarichi dei depuratori nelle stazioni 1, 2, 3, 4, 5, 6 in entrambi i modelli e dovuti ai fertilizzanti minerali nelle stazioni 7, 8, 9, 10, 11. Sarebbe trascurabile il contributo ascrivibile alle attività di estrazione petrolifera (prodotti petroliferi).

È stata quindi effettuata una sorta di "validazione" dell'approccio isotopico, calcolando la frazione di sostanza organica particolata attribuibile ai prodotti petroliferi in relazione alla concentrazione di idrocarburi totali determinati da ARPAB.

Per prima cosa la quantità in grammi di carbonio organico particolato è stata convertita in sostanza organica particolata mediante il coefficiente di Van Bemmelen (1,724) (Decreto Ministeriale 13/09/1999); dopodiché è stata calcolata la concentrazione minima e massima dei prodotti petroliferi presenti nella colonna d'acqua ( $\mu\text{g/l}$ ), applicando la percentuale minima e massima ottenuta mediante l'approccio isotopico alla concentrazione di sostanza organica particolata. I risultati ottenuti sono evidenziati nella Tabella 7.

**Tabella 7: Concentrazioni minima e massima dei prodotti petroliferi ottenute mediante l'approccio isotopico e concentrazione degli idrocarburi totali ottenuta mediante il metodo classico.**

Stazioni	Prodotti petroliferi (mediante approccio isotopico)		Idrocarburi totali ( $\mu\text{g/l}$ )
	MIN ( $\mu\text{g/l}$ )	MAX ( $\mu\text{g/l}$ )	
staz1	50	191	< 50
staz2	35	146	< 50
staz3	75	311	< 50
staz4	71	286	< 50
staz5	120	470	< 50
staz6	16	80	< 50
staz7	46	194	< 50
staz8	38	168	< 50
staz9	13	60	< 50
staz10	42	179	< 50
staz11	43	181	< 50

Tenuto conto che quando si parla di idrocarburi (o prodotti petroliferi) ci si deve necessariamente riferire ad una miscela complessa di composti chimici organici e che proprio per questa complessità ed indeterminatezza non è detto che cambiando metodo di determinazione si vadano ad analizzare esattamente le stesse componenti, risulta molto significativa la comparazione tra i metodi in quanto l'ordine di grandezza ottenuto

---

è praticamente lo stesso. Infatti, in molte stazioni l'intervallo di concentrazione ottenuto mediante l'approccio isotopico contiene il dato determinato con il metodo diretto, anche se in alcuni casi la stima isotopica risulta eccessiva rispetto all'analisi diretta.

### 5.3.4 Elaborazione isotopica sui sedimenti fluviali e dell'invaso

Nel caso delle elaborazioni sui sedimenti è stato necessario tenere in considerazione che la sostanza organica sedimentaria è composta da una elevata percentuale di sostanza umica.

Sulla base dei risultati relativi alla determinazione di tale componente organica, riportata sopra, è stato definito un potenziale contributo medio di sostanza umica sedimentaria pari al 75 % ( $\pm 20$  %).

Tale valore è stato utilizzato per fare un'ipotesi della probabile distribuzione percentuale. Nel caso del modello SIAR è infatti possibile inserire questo "*peso a priori*" al fine di considerare tutte le informazioni che si hanno sul contributo delle sorgenti, mentre nel modello ISOSOURCE questo tipo di calcolo non è possibile e per tale ragione nel caso dei sedimenti si è utilizzato solo il modello SIAR.

Il modello SIAR restituisce i vari contributi come somma a 1; quindi nel caso delle sostanze umiche è stato assegnato un "*peso a priori*" pari a 0,7. Per le altre fonti, non avendo informazioni a priori, è stato ipotizzato un probabile contributo di ciascuna sorgente alla miscela pari a  $(1 - 0,70)/N-1$  dove N è il numero di sorgenti identificate dal modello concettuale. Quindi nel caso dei sedimenti fluviali  $N=6$ , nel caso dei sedimenti dell'invaso  $N=5$ .

I risultati ottenuti per i sedimenti fluviali sono mostrati nella Tabella 8.

**Tabella 8: Risultati relativi al contributo percentuale espresso come media e deviazione standard delle sorgenti incidenti sui sedimenti fluviali (nd – non determinato).**

Stazioni	Media (Deviazione standard) (%)					
	Depuratori	Petrolio	Fert. Minerali	Plancton	Zootecnia	Sost. umiche
Va 02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Va 03	5 (4)	6 (5)	11 (8)	5 (3)	3 (2)	70 (9)
Va 04	6 (4)	4 (3)	8 (5)	16 (5)	3 (2)	63 (7)
Va 05	6 (4)	4 (3)	8 (5)	16 (5)	3 (2)	63 (7)
Va 06	5 (4)	6 (5)	11 (8)	5 (3)	3 (2)	70 (9)
Va 07	6 (4)	4 (3)	8 (5)	16 (5)	3 (2)	63 (7)
Va 08	5 (4)	4 (3)	11 (7)	12 (5)	2 (2)	66 (8)
Va 09	5 (4)	4 (3)	11 (7)	12 (5)	2 (2)	66 (8)
Va 10	5 (4)	4 (3)	11 (7)	12 (5)	2 (2)	66 (8)
Va 11	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Va 19	6 (4)	4 (3)	8 (5)	16 (5)	3 (2)	63 (7)
Va 22	6 (5)	4 (3)	9 (6)	10 (6)	4 (3)	67 (10)
Va 23	6 (5)	4 (3)	9 (6)	10 (6)	4 (3)	67 (10)

I risultati ottenuti per i sedimenti fluviali mostrano che tra le fonti antropiche i fertilizzanti minerali hanno un contributo non trascurabile mentre i depuratori, i prodotti petroliferi e la zootecnia non sembrano essere fonti significative.

Nel caso dei sedimenti dell'invaso, invece, i risultati ottenuti (Tabella 9) evidenziano nelle stazioni 3, 4, 5 un apporto non trascurabile degli scarichi dei depuratori e anche nella stazione 5 la presenza di una frazione di sostanza organica dovuta a prodotti petroliferi.



**Tabella 9: Risultati relativi al contributo percentuale espresso come media e deviazione standard delle sorgenti incidenti sui sedimenti dell'invaso (nd – non determinato).**

Stazioni	Media (Deviazione standard) (%)				
	Depuratori	Petrolio	Sed.Fluviali	Particellato	Sost.umiche
staz1	9 (8)	6 (6)	6 (6)	7 (7)	73 (12)
staz2	13 (9)	3 (3)	6 (6)	23 (8)	55 (12)
staz3	22 (15)	12 (8)	4 (5)	6 (6)	55 (14)
staz4	29 (16)	14 (9)	4 (4)	7 (7)	47 (13)
staz5	20 (14)	18 (9)	4 (4)	6 (6)	52 (13)
staz6	5 (6)	2 (2)	5 (6)	32 (8)	55 (9)
staz7	7 (7)	5 (5)	6 (6)	10 (9)	72 (12)
staz8	8 (6)	3 (3)	7 (7)	18 (8)	64 (10)
staz9	nd	nd	nd	nd	nd
staz10	7 (7)	5 (5)	6 (6)	10 (9)	72 (12)
staz11	8 (6)	3 (3)	8 (7)	22 (8)	59 (11)

---

## 6 Conclusioni

In conclusione, nell'intero bacino idrografico i risultati evidenziano che il principale contributo alla sostanza organica circolante è ascrivibile a fonti naturali.

In particolare, nel caso del particellato è il plancton il principale contribuente al bulk organico (vedi Tabella 6 e Figura 23) mentre nel caso dei sedimenti la sostanza umica è la componente che descrive in misura maggiore la sostanza organica.

Per quanto riguarda le fonti antropiche, nel caso del particellato nelle acque dell'invaso, si evidenzia un contributo non trascurabile degli scarichi dei depuratori e dei fertilizzanti minerali in tutti i punti indagati; nelle stazioni 1, 2, 3, 4, 5 è stato evidenziato un contributo non trascurabile anche dei prodotti petroliferi secondo modello ISOSOURCE (Tabella 6).

L'approccio isotopico è risultato molto utile nella validazione delle analisi chimiche classiche e ha aggiunto informazioni inerenti alle potenziali fonti a cui può essere ascritta la componente organica presente nell'invaso. Esistono ancora delle limitazioni nell'applicabilità di tale approccio analitico e di calcolo ma, grazie all'implementazione di altri isotopi e la costruzione di banche dati relative alla caratterizzazione isotopica delle fonti legate alle pressioni incidenti potrà diminuire il grado di incertezza ascrivibile all'applicazione dei modelli di mixing isotopico.

---

## 7 Bibliografia

Belli M. et al., 2015. *La contaminazione da nitrati nelle acque: applicazione di un modello isotopico nelle Regioni del Bacino del Po, della Pianura Veneta e del Friuli-Venezia Giulia*, Rapporto ISPRA 217/2015

Berto D., Calace N., Rampazzo F., Saccomandi F., 2018. *Isotopi: dalla teoria alla pratica*, ISPRA, Quaderni – Laboratorio 2/2018

Bridgeman J., Gulliver P., Roe J., Baker A., 2014. *Carbon isotopic characterisation of dissolved organic matter during water treatment*. Water Research 48: 119-125, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.09.025>

Carta idrogeologica d'Italia. Foglio 505 – Moliterno (scala 1:50.000). *Progetto CARG (in corso di stampa)*

Chung I-M, Lee T-J., Oh I-T., Ghimire B. K., Jang I-B, Kim S-H., 2016. *Ginseng authenticity testing by measuring carbon, nitrogen, and sulfur stable isotope compositions that differ based on cultivation land and organic fertilizer type*. Journal of Ginseng Research, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2016.03.004>

Cravotta III C. A., 1997. *Use of Stable Isotopes of Carbon, Nitrogen, and Sulfur to Identify Sources of Nitrogen in Surface Waters in the Lower Susquehanna River Basin, Pennsylvania*. U.S. GEOLOGICAL SURVEY WATER-SUPPLY PAPER 2497.

Curt M. D., Aguado P., Sánchez G., Bigeriego M., Fernández J., 2004. *Nitrogen isotope ratios of synthetic and organic sources of nitrate water contamination in Spain*. Water, Air, and Soil Pollution 151: 135–142, <https://doi.org/10.1023/B:WATE.0000009889.36833.c0>

Decreto Ministeriale del 13/09/1999. Approvazione dei “Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo”.

Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Quadro sulle Acque – DQA)

El Gaouzi F-Z. J., Sebilo M., Ribstein P., Plagnes V., Boeckx P., Xue D., Derenne S., Zakeossian M., 2013. *Using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  values to identify sources of nitrate in karstic springs in the Paris basin (France)*. Applied Geochemistry 35: 230–243, <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.04.015>

Fry B., 2013. *Alternative approaches for solving underdetermined isotope mixing problems*. Mar Ecol Prog Ser Vol. 472: 1-13, <https://doi.org/10.3354/meps10168>

Giani M., Berto D., Rampazzo F., Savelli F., Alvisi F., Giordano P., Ravaioli M., Frascari F., 2009. *Origin of sedimentary organic matter in the North Western Adriatic Sea Estuarine*. Coastal & Shelf Science Vol. 84: 573-583, <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.07.031>

R., Dorsey T. Kaplan I. R., 1990. *Characterization of natural and synthetic humic substances (melanoidins) by stable carbon and nitrogen isotope measurements and elemental compositions*. Analytica Chimica Acta, 232: 11-18, [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)81221-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)81221-0)

- 
- Jackson, A.L., R. Inger, S. Bearhop, and A. Parnell, 2009. *Erroneous behaviour of MixSIR, a recently published Bayesian isotope mixing model: A discussion of Moore & Semmens (2008)*. *Ecol. Lett.* 12: E1–E5, <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01233.x>
- Katsumi N., Yonebayashi K., Fujitake N., Okazaki M., 2015. *Relationship between stable carbon and nitrogen isotope ratios of humic acids extracted from Andisols and non-Andisols*. *Catena* 127: 214–221, <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.01.005>
- Liu Y., Xu J., Chen W., Li Y., 2017. *Effects of short-term weathering on the stable carbon isotope compositions of crude oils and fuel oils*. *Marine Pollution Bulletin*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.003>
- Maillard, L. C., 1911. *Condensation des acides amines en presence de la glycerine: Cycloglycylglycine et polypeptides*. *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 153, 1078-1080.
- Marcano N., Larter S., Mayer B., 2013. *The impact of severe biodegradation on the molecular and stable (C, H, N, S) isotopic compositions of oils in the Alberta Basin, Canada*. *Organic Geochemistry* 59: 114–132, <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2013.04.001>
- Michener R., Lajtha K., 2007. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, Blackwell Publishing Ltd
- Moore J. W., Semmens B. X., 2008. *Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models*. *Ecology Letters*, 11: 470–480, <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01163.x>
- Moore, K.B., Ekwurzel, B., Esser, B.K., Bryant Hudson, G., Moran, J.E., 2006. *Sources of ground water nitrate revealed using residence time and isotope methods*. *Appl. Geochem.* 21, 1016–1029, <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.03.008>
- Oakes J., Eyre B., Ross D. J., Turner S., 2010. *Stable Isotopes Trace Estuarine Transformations of Carbon and Nitrogen from Primary-and Secondary-Treated Paper and Pulp Mill Effluent*. *Environ. Sci. Technol.*, 44: 7411–7417, <https://doi.org/10.1021/es101789v>
- Parnell, A., Jackson, A., 2008. SIAR: *Stable isotope analysis in R* Available from: <http://cran.r-project.org/web/packages/siar/index.html>
- Parnell, A.C., R. Inger, S. Bearhop, and A.L. Jackson, 2010. *Source partitioning using stable isotopes: Coping with too much variation*. *PLoS ONE* 5(3): E9672, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009672>
- PdG Alpi Orientali, 2015. <http://www.alpiorientali.it>
- Phillips, D. L., Gregg, J.W., 2003. *Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources*. *Oecologia* 136, 261–269, <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1218-3>
- Phillips, D. L., P. L. Koch., 2002. *Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models*. *Oecologia* 130:114–125, <https://doi.org/10.1007/s004420100786>
- Ramirez-Alvarez N., Macias-Zamora J. V., Burke R. A., Rodriguez-Villanueva L. V., 2007. *Use of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and carbon to nitrogen ratios to evaluate the impact of sewage-derived*

---

*particulate organic matter on the benthic communities of the southern California bight.* Environ. Toxicol. Chem., Vol. 26, N. 11: 2332–2338, <https://doi.org/10.1897/06-651>

Rogers K. M., 2003. *Stable carbon and nitrogen isotope signatures indicate recovery of marine biota from sewage pollution at Moa Point, New Zealand.* Marine Pollution Bulletin 46: 821–827, [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00097-3](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00097-3)

Sonibare O., Alimi H., Jarvie D., Ehinola O.A., 2008. *Origin and occurrence of crude oil in the Niger delta, Nigeria.* Journal of Petroleum Science and Engineering 61: 99–107, <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2008.05.002>

Stahl W. J., 1977. *Carbon and nitrogen isotopes in hydrocarbon research and exploration.* Chemical Geology, 20: 121–149, [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(77\)90041-9](https://doi.org/10.1016/0009-2541(77)90041-9)

Stuermer D. H., Peters E., Kaplan I. R., 1978. *Source indicators of humic substances and protokerogen. Stable isotope ratios, elemental compositions and electron spin resonance spectra.* Geochimica et Cosmochimica Acta Vol 42: 989-997, [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(78\)90288-0](https://doi.org/10.1016/0016-7037(78)90288-0)

Waksman S.A., 1932. *Humus*, Wiley, Baltimore

Wang Q., Hao F., Xu C., Wang Y., Zou H., 2015. *Geochemical characterization of QHD29 oils on the eastern margin of Shijiutuo uplift, Bohai Sea, China: Insights from biomarker and stable carbon isotope analysis.* Marine and Petroleum Geology 64: 266-275, <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2015.03.010>

Xue, D., De Baets B., Van Cleemput O., Hennessy C., Berglund M., Boeckx P., 2012. *Use of a Bayesian isotope mixing model to estimate proportional contributions of multiple nitrate sources in surface water.* Environ. Pollut. 161:43–49, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.09.033>

Yeh H-W., Epstein S., 1981. *Hydrogen and carbon isotopes of petroleum and related organic matter.* Geochimica et Cosmochimica Acta Vol. 45: 753-762, [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(81\)90046-6](https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90046-6)

Zaccone C., Casiello G., Longobardi F., Bragazza L., Sacco A., Miano T.M., 2011. *Evaluating the 'conservative' behavior of stable isotopic ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{18}\text{O}$ ) in humic acids and their reliability as paleoenvironmental proxies along a peat sequence.* Chemical Geology 285: 124–132, <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.03.018>

**QUADERNI**  
LABORATORIO

**6/2023**