

Sommario

VALUTAZIONE TEORICA E SPERIMENTALE DI TECNICHE DI FITO-BIORIMEDIAZIONE APPLICATE A SEDIMENTI DI DRAGAGGIO

La recente definizione di una precisa struttura normativa per la gestione delle attività di individuazione e gestione dei siti contaminati avvenuta in Italia col DM 471/99 ha dato luogo alla nascita di svariate problematiche ambientali del tutto nuove e spesso assai rilevanti in termini di numero di casi e di entità dei necessari lavori di ripristino. La maggiore sensibilità per il rispetto dell'ambiente a cui stiamo assistendo negli ultimi anni si è recentemente tradotta in dettami normativi e casistiche analoghe in molti altri Paesi.

La contaminazione di sedimenti derivanti dal dragaggio di porti fluviali o costieri rappresenta un chiaro esempio di come una problematica fino ad un recente passato del tutto trascurata abbia assunto oggi una notevole importanza in termini di numero di casi e di entità quantitativa ed economica delle necessarie attività di ripristino. I porti e le darsene sia fluviali sia costiere, infatti, risultano nella maggioranza dei casi collocati in corrispondenza di corsi d'acqua che, col trasporto solido di fondo, ne provocano una tendenza all'interrimento che viene contrastata con continui interventi di dragaggio. Tali operazioni producono grandi quantità di materiale che possono presentare significativi livelli di contaminazione per lo più da idrocarburi e metalli pesanti. Negli Stati Uniti d'America, ad esempio, circa 300 milioni m³ di sedimenti vengono dragati per mantenere le profondità navigabili di darsene e canali portuali, dei quali 3-12 milioni m³ sono altamente contaminati (Mulligan et al., 2001). Ma anche le vie d'acqua necessitano di interventi di dragaggio: nella sola regione Nord-Pas de Calais (Francia) queste operazioni generano ogni anno circa 250 000 m³ di sedimenti (Lors et al., 2004); in Belgio i sedimenti dragati annualmente per gli stessi motivi ammontano a più di 45 milioni m³ dei quali solo il 7% viene considerato non contaminato (Meers et al., 2005). Nel bacino del Mediterraneo esistono moltissime altre situazioni che presentano questo tipo di problematicità, per cui la messa a punto di procedure di trattamento adeguate sia dal punto di vista tecnico che economico riveste un'importanza rilevante.

A causa degli elevati quantitativi di sedimenti che devono essere trattati ogni anno e degli elevati costi presentati dalle tecniche di bonifica tradizionali, il trattamento convenzionale dei sedimenti dragati non risulta economicamente sostenibile (Meers et al., 2003). La fitorimediazione può costituire una alternativa economica al problema, la cui efficacia è già stata ampiamente sperimentata nel caso dei terreni sia per quanto concerne gli idrocarburi che i metalli (inter alia EPA, 2000; Pivetz, 2001; Schnoor, 2002).

Il problema della decontaminazione di questo materiale deve essere comunque affrontato insieme a quello della sua destinazione finale. La soluzione ideale sarebbe quella di destinarlo ad un impiego utile (Gentilomo, 1999), ma il più delle volte si osservano, insieme ad un livello di contaminazione di solito non particolarmente elevato, caratteristiche fisico-chimiche che ne rendono problematico il riutilizzo. La composizione limoso - argillosa e la salinità, infatti, lo rendono poco adatto sia come materiale da costruzione che per l'utilizzo agronomico. Le grandi quantità prodotte suggerirebbero tuttavia una interessante ipotesi di riutilizzo nella preparazione di materiale di riempimento agronomico da utilizzare per ripristini ambientali di aree degradate. In quest'ottica la fitorimediazione rappresenta un'opzione particolarmente interessante in quanto:

- *è particolarmente efficiente nel trattare bassi livelli di contaminazione, proprio laddove le tecniche chimico-fisiche risultano meno efficaci e particolarmente costose;*
- *risulta efficace per il trattamento combinato di idrocarburi e metalli pesanti;*
- *trova l'applicazione ideale nei casi in cui il materiale possa essere utilizzato per il riempimento di aree degradate, con spessori operativi non eccessivi. In queste situazioni*

Sommario

presenta i costi operativi in assoluto più bassi e consente di ottenere la riqualificazione agronomica del materiale trattato.

Pertanto se le quantità da trattare sono compatibili con la disponibilità di territorio la validità di questo metodo risulta evidente.

Tuttavia la scelta delle piante e dell'eventuale ammendante necessita di una attenzione particolare, dal momento che i sedimenti presentano, rispetto ad un terreno, peculiarità fisico-chimiche che si ripercuotono sulle loro caratteristiche idrauliche ed agronomiche.

Per questo motivo, l'analisi sperimentale condotta nel presente studio rappresenta la fase preliminare di test di laboratorio per la scelta delle piante, della preparazione dei sedimenti e delle tecniche agronomiche da adottare.

L'analisi è stata effettuata su campioni di sedimenti provenienti dal dragaggio del Porto di Livorno, caratterizzati da tessitura granulometrica essenzialmente limoso - argillosa, elevata salinità e contaminazione da idrocarburi e metalli pesanti. E' stato inoltre analizzato il sedimento originario del Porto di Haifa (Israele), nella sua composizione tal quale e nella sua frazione sabbiosa. L'estensione delle analisi ai sedimenti del Porto di Haifa, ha permesso di confrontare il caso di Livorno con un'altra delle più importanti realtà portuali del Bacino del Mediterraneo, evidenziando le affinità delle problematiche e la generalità delle soluzioni adottate.

Nel corso della sperimentazione è stata verificata l'efficacia di diversi possibili trattamenti volti a migliorare le caratteristiche idrauliche, la tessitura e le altre proprietà agronomiche del sedimento, fra cui la miscelazione con modeste frazioni di suolo od ammendanti ed il vermicompostaggio; sono state inoltre effettuate prove di germinazione e di crescita per valutare l'adattabilità di varie essenze vegetali a condizioni agronomiche così inusuali. Tutte le prove sono state condotte tenendo anche in considerazione il grado di reperibilità ed i relativi costi sul mercato al fine di giungere alla scelta della combinazione di interventi ottimale.

Le valutazioni e sperimentazioni suddette sono state effettuate come attività propedeutica alla preparazione di una installazione lisimetrica volta a valutare l'effettiva efficacia e cinetica di fitorimediazione di sedimenti ad alta frazione limoso - argillosa con bassa contaminazione da metalli pesanti ed idrocarburi (vedere Tavole in Allegati).

Si è resa quindi necessaria una prima caratterizzazione chimica, fisica e biologica dei mesocosmi oggetto della sperimentazione, al fine di valutare le condizioni a t_0 . Altre analisi saranno effettuate anche nella fase intermedia e finale, con lo scopo di seguire nel tempo le dinamiche coinvolte nel processo di fitorimediazione e valutarne l'efficacia.

Una modellazione matematica dei processi è stata poi sviluppata per comprendere meglio il ruolo delle piante, dei lombrichi e della popolazione microbica indigena presente nella rizosfera, nei confronti della biodegradazione degli idrocarburi e della estrazione dei metalli. In futuro sarà necessaria una semplificazione e calibrazione del modello, per trasformarlo in uno strumento efficace per le amministrazioni pubbliche e per i tecnici, al fine di ottimizzare il monitoraggio del processo (irrigazione, scelta di ammendanti e piante) e per valutarne il tempo necessario e l'efficacia, con riferimento alle caratteristiche climatiche e di inquinamento.

MATERIALI E METODI

Origine dei sedimenti

I sedimenti oggetto del presente studio provengono dal dragaggio del Porto di Livorno (Italia) e del Porto di Haifa (Israele). In particolare con l'etichetta Livorno 1 e Livorno 2 vengono indicati i campioni di sedimento prelevati nel Porto di Livorno. La denominazione Haifa grezzo si riferisce ad un campione di sedimento proveniente da uno dei bacini di accumulo con i quali il Porto di Haifa gestisce temporaneamente lo stoccaggio del materiale dragato. Haifa sabbia rappresenta la frazione sabbiosa, separata con processo meccanico, dello stesso campione.

ANALISI PRELIMINARI

I test di laboratorio hanno interessato tre tipologie di analisi, riportate nel dettaglio in Tabella 1. Le analisi sono volte a caratterizzare e migliorare i sedimenti dal punto di vista chimico, fisico e biologico, per rendere possibile e più efficace il trattamento di fitorimediazione. I campioni di Livorno sono stati analizzati anche in condizioni di miscelazione con varie tipologie di ammendanti e materiali di preparazione. La maggiore attenzione accordata al materiale proveniente dal Porto di Livorno è giustificata dalla prossima realizzazione dell'installazione lisimetrica a cui le analisi precludono.

Tabella 1: Tabella riassuntiva delle analisi condotte sui vari campioni

TIPOLOGIA DI ANALISI	HAIFA GREZZO	HAIFA SABBIA	LIVORNO 1	LIVORNO 2
Analisi chimiche	✓	✓	✓	✓
Analisi fisiche				
Analisi granulometrica	✓	✓	✓	✓
Conducibilità idraulica	N.D.	N.D.	✓+	N.D.
Analisi biologiche				
Prove di germinazione	✓	✓	✓	✓
Prove di crescita vegetale	N.D.	N.D.	✓+	✓+
Adattamento dei lombrichi	N.D.	N.D.	✓+	✓+

+ nel caso le analisi siano state condotte anche su campione misto ad ammendanti.

N.D. Non determinato

Analisi chimiche

Le metodiche utilizzate per la caratterizzazione chimica dei sedimenti fanno riferimento ai metodi di laboratorio sviluppati dall'ISE (Metodi di Analisi chimica, biochimica e fisica per il laboratorio, Istituto per lo Studio degli Ecosistemi - ISE -Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR - Pisa).

La conducibilità elettrica ed il pH sono stati determinati su estratto acquoso in rapporto 1:10 (peso su volume) mediante, rispettivamente, cella a lamine di platino ed elettrodo METROHM.

La determinazione del carbonio totale (frazione organica e frazione inorganica) è stata effettuata sul materiale organico setacciato molto fine, attraverso l'utilizzo di un analizzatore elementare, RC-412 MULTIPHASE CARBON.

Il carbonio estraibile totale (C_{tot}) ed il carbonio idrosolubile (C_{idro}), frazione di carbonio prontamente disponibile per i microrganismi, vengono determinati sugli estratti acquosi mediante una estrazione con soluzione alcalina di pirofosfato di sodio.

La determinazione dell'azoto totale è stata effettuata sul campione setacciato molto fine,

Sommario

attraverso l'utilizzo di un analizzatore elementare FP-528 PROTEIN/NITROGEN DETERMINATOR.

Gli anioni idrosolubili (fluoruri, cloruri, nitrati, nitriti, solfati, e fosfati) sono stati determinati mediante cromatografia ionica, utilizzando un cromatografo DIONEX.

I metalli pesanti (Ni, Pb, Cu, Cr, Cd) sono stati solubilizzati mediante digestione acida a caldo e successivamente rilevati mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico. Gli idrocarburi leggeri ($C < 12$) e gli idrocarburi pesanti ($C > 12$) sono stati analizzati secondo il metodo EPA 8015b basato su gas cromatografia, previa preparazione del campione.

Analisi granulometrica

Per l'analisi granulometrica del sedimento è stato utilizzato un analizzatore di particelle a diffrazione laser (MICROTRAC). Questo strumento impiega una sorgente laser He/Ne a trasmissione per fibra ottica, con adattamento automatico del diametro del raggio accoppiato con la lunghezza focale. E' gestito da un computer esterno con un software di acquisizione e valutazione dei dati secondo il modello Fraunhofer per le particelle submicroniche. Il sistema modulare di analisi laser è costituito da un'unica unità centrale in grado di coprire l'intervallo dimensionale che si estende da 0,1 a 700 μm . Insieme al sedimento, per evitare l'aggregazione delle particelle di piccole dimensioni, è stato inserito un disperdente (etamesafosfato di sodio).

Conducibilità idraulica

Il sedimento proveniente dal Porto di Livorno ha una tessitura granulometrica essenzialmente limoso - argillosa, praticamente impermeabile e quindi inutilizzabile nell'ambito della fitorimediazione. E' stato quindi necessario miscelare al sedimento un modesto quantitativo (20% in peso) di un altro materiale (materiale di preparazione) capace di migliorarne la permeabilità. I materiali di preparazione analizzati sono: fango biologico proveniente dal trattamento di reflui civili, ghiaio, compost, FOS (Frazione Organica Stabilizzata), terreno di scavo, sansa di olive. La conducibilità idraulica di ciascuna tesi è stata valutata mediante prove di laboratorio a carico variabile.

Prove di germinazione in piastra

Questo test è stato utilizzato per valutare l'eventuale tossicità dei sedimenti sulla germinazione dei semi di una essenza vegetale di riferimento (*Lepidium sativum*). Il test è stato condotto sugli estratti acquosi dei sedimenti, ottenuti centrifugando il campione con acqua deionizzata con un rapporto in peso pari ad 1:10 ed 1:2. Per le prove sono state utilizzate delle piastre Petri, opportunamente chiuse per ridurre al minimo l'evaporazione; l'esperimento è stato condotto a temperatura ambiente ed al buio fino al momento della germinazione (dopo 72 ore circa). Il controllo è costituito da acqua deionizzata; per il resto sono state mantenute le stesse condizioni delle tesi. L'indice di germinazione si determina mediante la (1):

$$IG = G \cdot \frac{L_m}{L_c} \quad (1)$$

dove:

L_m = lunghezza media delle radici nella tesi

L_c = lunghezza media delle radice nel controllo

$G = n/n_c \cdot 100$ percentuale di semi germinati nella tesi (n) rispetto al controllo (n_c)

Prove di crescita in vaso

Il test è servito per valutare l'eventuale effetto tossico o inibente del sedimento in riferimento alla crescita di 10 semi appartenenti ad una essenza vegetale di riferimento (*Avena sativa*). Per effettuare questo test è stato preparato un terreno di crescita, ottenuto unendo ai sedimenti alcuni tra i materiali usati nelle prove di laboratorio per migliorarne la permeabilità. Per il controllo è stato scelto il terreno di scavo utilizzato come materiale di preparazione dei sedimenti.

Adattamento dei lombrichi (*Eisenia foetida*)

Il vermicompostaggio rappresenta una tecnica di miglioramento della qualità agronomica del suolo ampiamente verificata (Ceccanti et al., 2000) e promette risultati interessanti anche nell'ambito della fitorimediazione e della biorimediazione dei sedimenti contaminati. La possibilità di adattamento della specie *Eisenia foetida* ai sedimenti dragati miscelati con ghiaio e compost è stata studiata verificando la vitalità dei lombrichi all'interno della miscela dopo alcuni giorni di permanenza al suo interno.

CARATTERIZZAZIONE DEI MESOCOSMI A t_0

La caratterizzazione dei mesocosmi ha interessato tre tipologie di analisi, riportate nel dettaglio in Tabella 2. Le analisi sono volte a caratterizzare le miscele costituenti i mesocosmi dal punto di vista chimico, fisico e biologico.

Sono state effettuate delle analisi anche sui materiali utilizzati (il sedimento tal quale, la terra di scavo unita al sedimento per formare la miscela, in un rapporto in peso pari al 30% ed il fango biologico stabilizzato unito alla miscela, 50% in peso, per formare la strato superiore di semina). Le analisi svolte sul percolato raccolto da ogni mesocosmo sono state fatte per valutare essenzialmente, il contenuto di metalli solubili, indice di un potenziale rischio di contaminazione di falda.

Tabella 2: Tabella riassuntiva delle analisi condotte sui vari campioni

TIPOLOGIA DI ANALISI	MATERIALI	MISCELE	PERCOLATO	SUBSTRATO SEMINA
<i>Analisi chimiche</i>	✓	✓	✓	✓
<i>Analisi fisiche</i>	✓	✓		
<i>Analisi biologiche</i>	✓	✓		✓

Analisi chimiche

Le metodiche utilizzate per la caratterizzazione chimica dei materiali, miscele e percolato, sono le stesse usate per le analisi preliminari dei sedimenti, con in aggiunta la determinazione dell'umidità dei campioni, delle sostanze umiche e del fosforo totale; per il percolato sono stati valutati anche i metalli assimilabili ed il COD.

L'umidità è stata calcolata come differenza tra la massa di un campione fresco e la massa del medesimo campione dopo essiccazione a 105 °C per 24 ore ed è espressa in percentuale.

Le sostanze umiche sono state determinate sugli estratti in pirofosfato alcalino; in particolare, la determinazione degli acidi fulvici viene eseguita sull'estratto in pirofosfato alcalino trattato con H_2SO_4 concentrato fino al raggiungimento del valore 2 di pH, mentre la determinazione del carbonio umico è stata fatta per differenza tra il carbonio estraibile in PPI-NaOH 0,1M a pH 11 del campione e il carbonio di acidi fulvici dello stesso estratto.

Il fosforo totale è stato misurato mediante BLOCK DIGESTOR, mettendo in tubi da idrolisi il

Sommario

campione secco unito ad acido nitrico (HNO₃).

Gli elementi assimilabili, costituendo una porzione degli elementi totali presente nel terreno in forma solubile e quindi assorbibile dalle piante, prevedono una estrazione mediante una soluzione tamponata a pH = 6,4.

Il COD è stato determinato a partire dal carbonio idrosolubile, moltiplicato per 8/3, rapporto stechiometrico per passare dal carbonio all'ossigeno.

Per aumentare la solubilità dei metalli pesanti legati alla frazione colloidale del sedimento, permettendone così una migliore assimilazione da parte delle piante, sono state testate le proprietà chelanti di tre diversi tipi di estraenti, quali l' EDTA, l' acido citrico e le sostanze umiche, mediante lo studio delle cinetiche di estrazione dei metalli attraverso la formazione di complessi chimici.

Sono state preparate cinque concentrazioni diverse per ogni estraente e lasciate a contatto con il sedimento, in agitazione per ½ ora, 1 ora, 2 ore, 4 ore e 8 ore.

Per la determinazione dei metalli estratti in soluzione è stato utilizzato uno spettrometro al plasma in emissione ottica (ICP-AES).

Per la preparazione delle soluzioni con il sale EDTA (Carlo Erba) è stata preparata una soluzione a 480 mg/l facendo sciogliere 0,24g di acido dietilendiamminicotetracetico sale bisodico (EDTA) in acqua deionizzata. Per diluizione sono state preparate le altre soluzioni a 30, 60, 120 e 240 mg/l in matracci da 100 ml.

E' stato utilizzato Acido Citrico (AnalaR) in polvere per la preparazione di una soluzione a 2000 mg/l facendo sciogliere 1 g di acido citrico in acqua deionizzata in un matraccio da 500 ml. Per la preparazione della soluzione a 1000 mg/l è stato fatto sciogliere 0,1 g di acido citrico in acqua deionizzata e sempre all'interno di un matraccio portato a volume di 100 ml. Mentre per la preparazione delle soluzioni a 50, 100 e 500 mg/l sono state fatte delle diluizioni partendo dalla soluzione a 2000 mg/l in matracci da 100 ml.

Le sostanze umiche utilizzate sono state ricavate da vermicompost, attraverso un' estrazione in pirofosfato a pH neutro, in modo da ottenere una frazione di carbonio biochimicamente attiva e legata agli enzimi extracellulari del terreno. L'estratto è stato dializzato mediante l'impiego di tubi da dialisi (CelluSep T1) 3000, per poter eliminare i sali presenti nel campione (come il pirofosfato di sodio) ed ottenere un campione purificato.

Analisi fisiche

Le analisi fisiche consistono nella verifica della conducibilità idraulica dei mesocosmi (già testata sperimentalmente in laboratorio, mediante le analisi preliminari sui sedimenti) e nella misura del contenuto d'acqua all'interno dei mesocosmi, valutato in due situazioni differenti: a saturazione ed a medium insaturo.

La determinazione del quantitativo di acqua è stata fatta utilizzando una specifica apparecchiatura: la sonda capacitiva DIVINER 2000 (Sentek, Australia).

Il metodo su cui è basato il funzionamento della sonda capacitiva è di tipo FDR (riflettometria nel dominio delle frequenze). La sonda ricorre ad un metodo di misura indiretto, basato sull'uso di sensori di capacitanza collegati ad un oscillatore che genera un campo di corrente alternata. Al fine di effettuare la misura, la sonda viene inserita e fatta scorrere all'interno di un pozzetto in PVC del diametro di 56 mm infisso nel medium. Lo strumento, attivato per mezzo di frequenze radio, rileva i cambiamenti della frequenza operativa associandoli a variazioni di contenuto d'acqua.

La sonda effettua misure di contenuto d'acqua per strati di spessore 10 cm e il singolo dato risente dell'effetto dei 5 cm superiori e inferiori al punto in esame. Ciò comporta un'accuratezza limitata dei risultati; in particolare nelle vicinanze dell'interfaccia aria-acqua questa accuratezza ridotta è più evidente.

Per rendere più precisi i dati forniti dal DIVINER 2000 è necessaria la successiva applicazione di un filtro numerico che permetta di aumentare l'accuratezza dei dati e quindi il passaggio dal profilo del contenuto d'acqua registrato dallo strumento a quello effettivo nel sistema.

Analisi biologiche

Le analisi biologiche sono relative alle attività enzimatiche totali, ovvero alla deidrogenasi, β -glucosidasi, fosfatasi, ureasi e proteasi. Le metodiche utilizzate per la valutazione delle attività enzimatiche dei campioni, fanno riferimento ai metodi di laboratorio sviluppati dall'ISE (Metodi di Analisi chimica, biochimica e fisica per il laboratorio, Istituto per lo Studio degli Ecosistemi - ISE - Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR - Pisa).

Le deidrogenasi sono enzimi intracellulari, appartenenti al gruppo delle ossidoreduttasi e catalizzano l'ossidazione di composti organici. Il substrato della reazione è costituito dalla sostanza organica, mentre il cofattore sintetico utilizzato per la misura dell'attività deidrogenasica è costituito dall'INT (P-Iodio-Nitro-Tetrazolium-chloride) che per riduzione forma un prodotto colorato, INTF (p-Iodo-Nitro-Tetrazolium-Formazano) determinabile per via spettrofotometrica (Masciandaro et al., 2000).

Il β -glucosidasi è un enzima che indica il ciclo del carbonio, in quanto catalizza l'idrolisi del cellobiosio (dimero derivante dalla degradazione della cellulosa) a glucosio. La determinazione dell'attività di questo enzima si basa sul metodo di Masciandaro et al., (1994). Tale metodo consiste nella determinazione per via colorimetrica (lunghezza d'onda di 398nm) del rilascio del para-nitrofenolo (PNF), dopo l'incubazione dei campioni con para-nitrofenil-glucoside (PNG) (substrato di reazione).

La fosfatasi catalizza l'idrolisi degli esteri fosforici a fosfato ed è, quindi, un enzima rappresentativo del ciclo del fosforo. Il metodo è basato sulla determinazione per via colorimetrica del Para-nitrofenolo (PNF), prodotto dall'idrolisi del para-nitrofenil-fosfato-esaidrato (PNP), che è il substrato impiegato in questo saggio enzimatico (Nannipieri et al., 1990).

L'ureasi è un enzima idrolitico presente in molte piante superiori, animali e in numerosi microrganismi e catalizza l'idrolisi dell'urea, un intermedio del ciclo dell'azoto, in ammoniaca e anidride carbonica. La stima dell'attività ureasica si basa sulla determinazione dell'ammoniaca quale prodotto dell'idrolisi enzimatica dell'urea (Nannipieri et al., 1990).

Le proteasi sono un gruppo di enzimi idrolitici legati al ciclo dell'azoto; esse hanno la funzione di catalizzare l'idrolisi di proteine in oligopeptidi o dipeptidi. La proteasi BAA interviene, in particolare, nell'idrolisi di un peptide sintetico l' N - α -benzoyl-L-arginammide idrocloruro monoidrato (BAA). L'attività viene misurata dalla concentrazione di NH_4^+ che viene liberata per deaminazione (Nannipieri et al., 1990).

Sono state ripetute anche delle prove di crescita in vaso e delle prove di germinazione in piastra sulle miscele ottenute e sul sedimento tal quale.

RISULTATI*ANALISI PRELIMINARI*Caratterizzazione chimica

In Tabella 3 sono riportati i risultati delle analisi chimiche condotte sui quattro campioni di sedimenti. Dal confronto con i valori di concentrazione limite imposti dal DM 471/99 per la bonifica dei siti inquinati da destinare ad uso commerciale ed industriale (Tabella 4), emerge quanto segue (Figura 1). La contaminazione da metalli pesanti (Ni, Pb, Cu, Cr, Cd) si presenta sostanzialmente in maniera uniforme per tutti i campioni. La contaminazione da Cadmio risulta la più gravosa in tutti i campioni, pur rimanendo sempre al di sotto dei limiti che la legge stabilisce per i suoli. La concentrazione degli idrocarburi pesanti raggiunge il valore massimo ed eccede il limite imposto dal decreto ministeriale in uno dei campioni prelevati dal Porto di Livorno. E' interessante notare che il campione rappresentante la frazione sabbiosa del sedimento proveniente dal Porto di Haifa mostra livelli di contaminazione sempre minori, in alcuni casi anche in maniera sostanziale, rispetto al sedimento tal quale. Ciò è in accordo con l'osservazione più volte ripetuta in letteratura che la frazione sabbiosa di un sedimento è di norma meno contaminata rispetto alla restante parte (inter alia Gentilomo, 1999). Si noti inoltre l'elevata salinità dei campioni tal quali (la frazione sabbiosa del sedimento di Haifa è stata sottoposta a trattamento con acqua dolce).

Tabella 3: Risultati delle analisi chimiche

PARAMETRI	HAIFA GREZZO	HAIFA SABBIA	LIVORNO 1	LIVORNO 2	UNITA'
pH	7,515	7,545	7,73	7,875	/
CE	2,58	0,325	3,015	3,605	mS/cm
Ctot	2,15	1,92	2,24	2,79	%
Corg	0,86	0,22	1,42	1,67	%
Cinorg	1,29	1,7	0,82	1,13	%
Cidros	976	294	1126	1700	mg/g
Ntot	0,073	0,022	0,018	0,074	µg/g
Metalli pesanti:					mg/Kg
Ni	51,8	43,4	69,1	80,8	
Pb	60	57,2	102,6	80,1	mg/Kg
Cu	43,3	11	35,2	54,6	mg/Kg
Cr	45,3	21,2	83,1	122,7	mg/Kg
Cd	5,6	4	10,2	6	mg/Kg
Idrocarburi:					
C<12	<100	<100	<100	<100	mg/Kg
C>12	585	493	204	1908	mg/Kg
Anioni:				3	
Fluoruri	150	202	29,7	7,04	µg/g
Cloruri	7500	147	7738	10266	µg/g
Nitrati	0	0	2,59	14,3	µg/g
Fosfati	0	0	31,27	97,5	µg/g
Solfati	2413	980	2479	2065	µg/g

Tabella 4: Valori di concentrazione limite per alcuni metalli pesanti e per gli idrocarburi riferiti alla specifica destinazione d'uso secondo il DM 471/99.

LIMITI (mg/Kg)	Ni	Pb	Cu	Cr	Cd	C>12	C>12
Uso A (verde pubblico, privato e residenziale)	120	100	120	150	2	10	50
Uso B (commerciale ed industriale)	500	1000	600	800	15	250	750

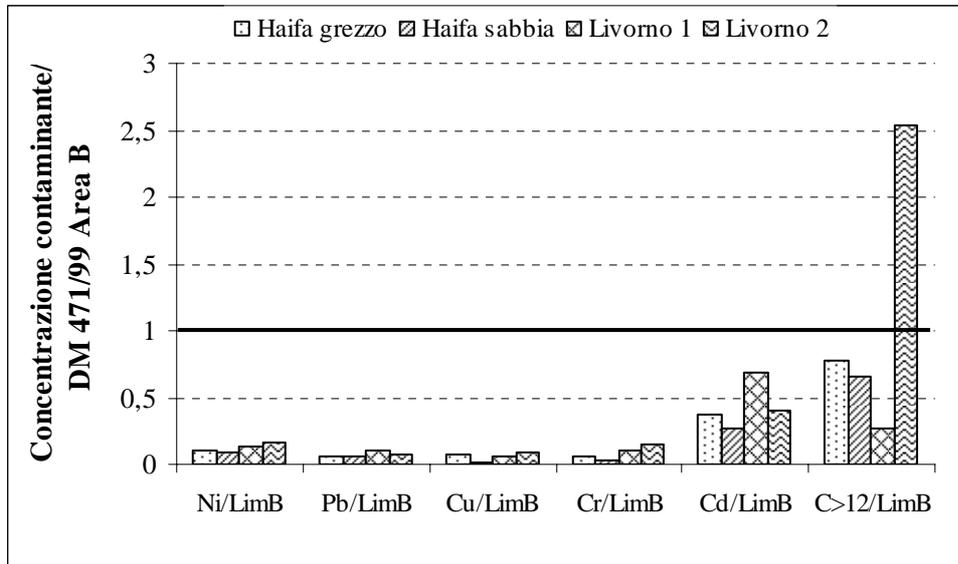


Figura 1: Valori di concentrazione di metalli ed idrocarburi pesanti rilevati nei campioni in rapporto ai valori di concentrazione limite secondo il DM 471/99, Uso B.

Caratterizzazione fisica

I risultati ottenuti dall'analisi granulometrica sono rappresentati in forma grafica in Figura 2. E' evidente la sostanziale differenza tra i sedimenti provenienti dal Porto di Haifa, che presentano una frazione sabbiosa prevalente (in riferimento al campione tal quale) ed i sedimenti del Porto di Livorno, caratterizzati da una matrice essenzialmente limoso – argillosa.

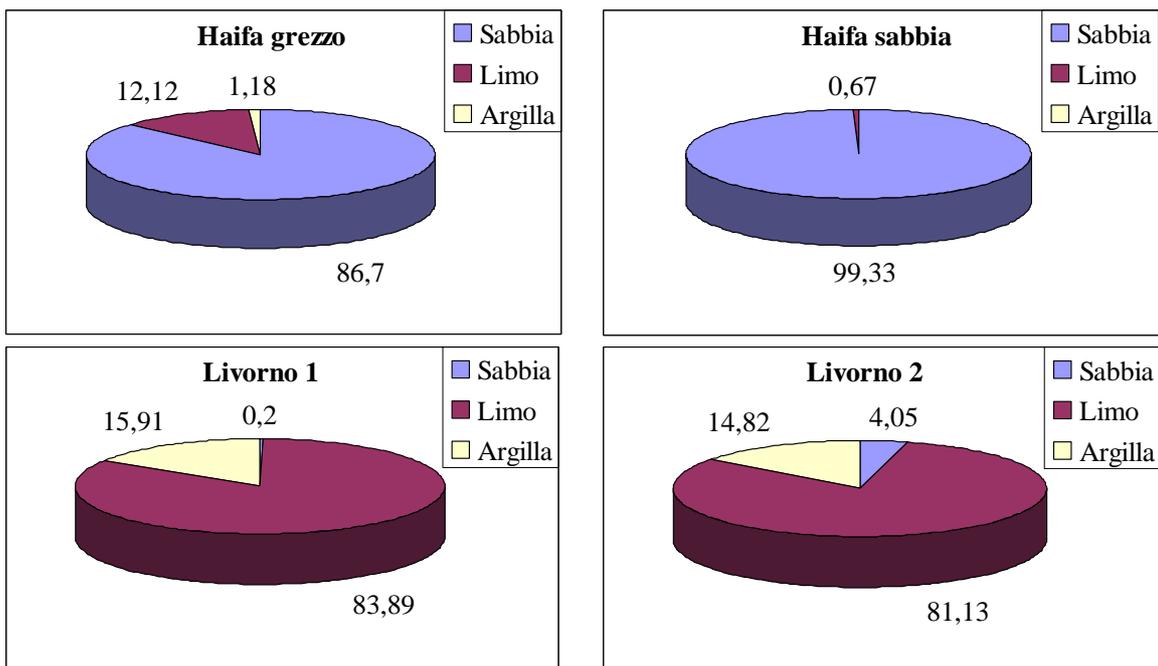


Figura 2: Rappresentazione grafica dell'analisi granulometrica condotta sui campioni.

I test di conducibilità idraulica, condotti esclusivamente sul sedimento proveniente dal Porto di Livorno, mostrano una sostanziale impermeabilità del sedimento tal quale, in linea con la natura limoso – argilloso del sedimento (Tabella 5). La miscelazione con fango biologico (anche in accoppiamento con altri materiali di preparazione) non ha migliorato le proprietà idrauliche del sedimento originale. Risultati positivi sono stati rilevati nel caso di miscelazione del sedimento con compost, ghiaino, terreno di scavo, FOS e sansa. In particolare la sansa conferisce al sedimento una permeabilità molto elevata.

Tabella 5: Risultati dei test di conducibilità idraulica (ordinati per permeabilità crescente).

DESCRIZIONE DELLA TESI	TEMPO DI PERCOLAZIONE (secondi)	PERMEABILITA' (m/s)
Livorno 1	non definibile	non rilevabile
Livorno 1 + fango biologico *	non definibile	non rilevabile
Livorno 1 + fango biologico + ghiaino*	non definibile	non rilevabile
Livorno 1 + fango biologico + sansa*	non definibile	non rilevabile
Livorno 1 + compost *	532	$k = 10^{-4}$
Livorno 1 + ghiaino *	178	$k = 10^{-3}$
Livorno 1 + terra di scavo *	34	$k = 10^{-3}$
Livorno 1 + FOS *	20	$k = 10^{-3}$
Livorno 1 + sansa *	2	$k = 10^{-1}$

* gli ammendanti ed i materiali di preparazione sono stati aggiunti con una percentuale in peso del 20%

Caratterizzazione biologica

I test di germinazione hanno indicato una percentuale di germinazione in piastra elevata per tutti i campioni dei sedimenti analizzati (Figura 3). La diluizione dell'estratto acquoso non sembra influenzare il risultato.

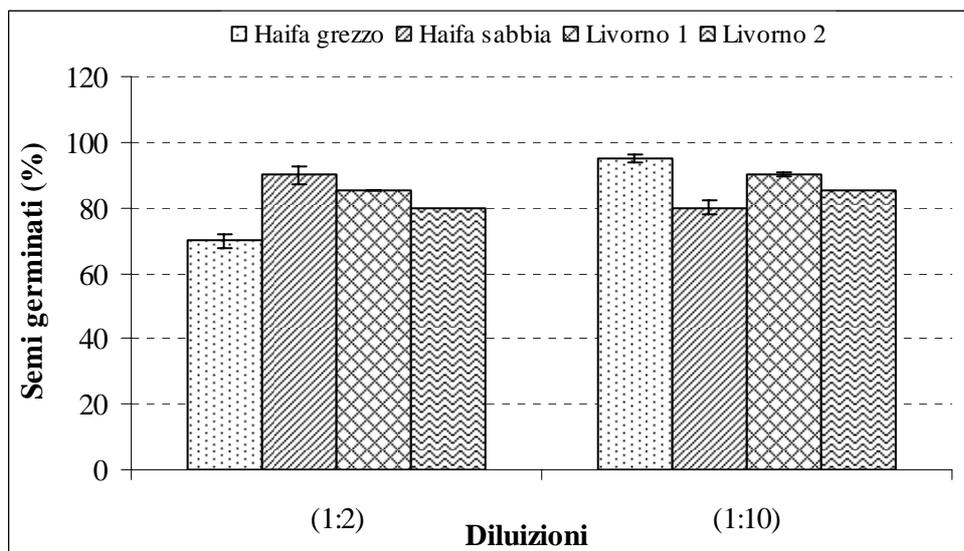


Figura 3: Percentuale di germinazione in piastra

L'effetto della diluizione è invece evidenziato dai dati relativi all'indice di germinazione complessivo (Figura 4), che considera non solo la percentuale di semi germinati, ma anche la lunghezza media della radice. L'effetto inibitorio dovuto alle sostanze contenute nei sedimenti e all'elevata salinità del campione risulta quindi limitato allo sviluppo del *Lepidium sativum*,

Sommario

mentre sortisce un effetto ridotto nei confronti della germinazione. Si osservi che nel caso della frazione sabbiosa proveniente dal Porto di Haifa tale effetto è pressoché assente, in accordo con il basso livello di contaminazione e salinità presentato da questo campione.

I test di crescita in vaso, condotti con *Avena sativa*, mostrano come la germinazione possa avvenire anche solo con l'utilizzo di un materiale di preparazione quale la terra di scavo (Tabella 6). L'aggiunta di compost rende più rapido lo sviluppo della pianta ed incrementa la percentuale di germinazione delle sementa fino a livelli più che accettabili.

Le condizioni agronomiche inusuali presentate dai sedimenti (elevata salinità, contaminazione da sostanze tossiche) non impediscono la germinazione e lo sviluppo delle essenze vegetali analizzate; l'utilizzo di una modesta quantità di ammendanti può ulteriormente migliorare le condizioni di crescita.

Per quanto concerne l'utilizzo dei lombrichi, un buon adattamento dell'*Eisenia foetida* è stato osservato per entrambi i campioni provenienti dal Porto di Livorno.

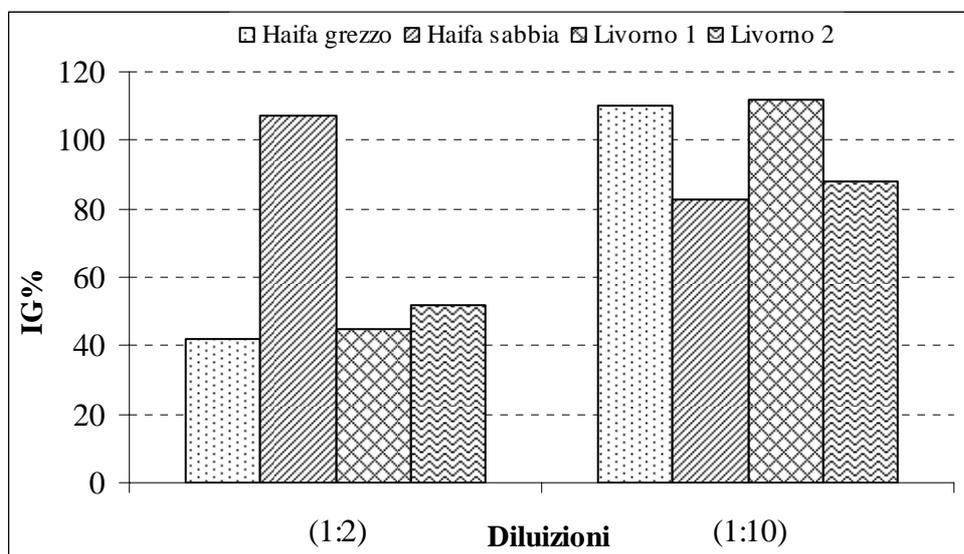


Figura 4: Indice di germinazione in piastra

Tabella 6: Risultati dei test di crescita

DESCRIZIONE DELLA TESI	TEMPO DI GERMINAZIONE (settimane)	SEMI GERMINATI
Controllo (terra di scavo)	1	90%
Livorno 1 + ghiaino + compost*	1	80%
Livorno 2 + ghiaino + compost*	2	80%
Livorno 1 + terra di scavo*	3	40%
Livorno 2 + terra di scavo*	3	60%
Livorno 1 + sansa + compost*	2	70%
Livorno 2 + sansa + compost*	3	60%
Livorno 1 + FOS + compost*	2	80%

* gli ammendanti ed i materiali sono stati aggiunti con una percentuale in peso del 20%

Analisi di fattibilità tecnico - economica

Alle prove sperimentali è stato affiancata un'analisi tecnico – economica, finalizzata alla verifica di fattibilità su scala reale delle soluzioni analizzate in laboratorio. In particolare tale analisi è stata condotta considerando contemporaneamente il costo di mercato e la reperibilità su vasta scala dei materiali e degli ammendanti scelti.

I risultati di questa indagine hanno evidenziato come molte delle ipotesi verificate in maniera più che soddisfacente nei test preliminari, presentino problematiche di applicazione a scala reale spesso insormontabili. L'utilizzo del compost ne è un primo esempio: eccellente come nutrimento per la pianta e sufficiente a migliorare la permeabilità del sedimento, non è facilmente reperibile in quantità consistenti e presenta costi molto elevati. Allo stesso modo la sansa, derivata dalla spremitura dei noccioli di oliva trattati chimicamente, presenta costi elevati e scarsa reperibilità. La FOS (Frazione Organica Stabilizzata) presenta invece problemi dal punto di vista di interazione chimica con il sedimento, in quanto è ricca di idrocarburi derivanti dalla fusione di materiale plastico presente nei rifiuti solidi urbani da cui ha origine. Il ghiaino può essere preso in considerazione in termini di costo e reperibilità solamente se in vicinanza dell'impianto di fitorimediazione è collocata una cava.

La terra di scavo rappresenta l'ipotesi operativa più sostenibile nel caso di riutilizzo del sedimento come materiale di riempimento agronomico per ripristini ambientali di aree degradate: i costi sono limitati alle operazioni di scavo e di miscelazione ed il problema della reperibilità non sussiste una volta che sia stata individuata l'area da ripristinare.

CARATTERIZZAZIONE DEI MESOCOSMI A t_0

Caratterizzazione chimica

Miscele e materiali

In Tabella 8 sono riportati i risultati delle analisi chimiche condotte sulle miscele e sui materiali (come legenda per la Tabella 8 e le successive tabelle, fare riferimento alla Tabella 7). Osservando i dati, emerge come le miscele ottenute siano omogenee e come la conducibilità elettrica (C.E.) sia elevata, in accordo con l'origine marina dei sedimenti.

Il contenuto di carbonio e le sostanze umiche, che ne costituiscono la parte estraibile, sono riportate in Tabella 9. Con riferimento ai risultati, le sostanze umiche totali (HS) sono scarse: ciò evidenzia la necessità di un ammendante capace di migliorare la miscela, da un punto di vista agronomico.

Riferendoci al rapporto tra carbonio:azoto:fosforo, la combinazione ottimale è di 100:10:1 (Cookson 1995; Hutchinson et al. 2001). Dai risultati, emerge come i mesocosmi necessitano di un fertilizzante, come supporto alla crescita vegetale e per la massimizzazione dell'attività microbica indigena, la sola capace di degradare i contaminanti.

Il contenuto di metalli pesanti è riportato in Tabella 10. I risultati confermano ancora il grado di buona omogeneizzazione delle miscele ottenute.

Dal confronto con i valori di concentrazione limite imposti dal DM 471/99 (Ni, Pb, Cu, Cr, Cd, Zn) per la bonifica dei siti inquinati da destinare ad uso commerciale ed industriale (Tabella 4), emerge come tutti i valori ottenuti siano al di sotto dei limiti prestabiliti (Figura 5); la contaminazione da Rame risulta comunque la più alta, sia per le miscele che per il sedimento tal quale.

I valori ottenuti per la forma solubile del contenuto totale dei metalli, è mostrato in Tabella 11.

Sommario

Tabella 7: Descrizione dei mesocosmi.

TESI	DESCRIZIONE
C	Controlli (in doppio)
L	Mesocosmi con aggiunta di lombrichi (specie <i>Eisenia foetida</i>) (in doppio)
PL	Mesocosmi piantati, con aggiunta di lombrichi (specie <i>Eisenia foetida</i>) (in triplo)
P	Mesocosmi piantati (in triplo)

Tabella 8: Risultati delle analisi chimiche per le miscele ed i materiali.

CAMPIONI	C.E. (dS/m)	pH	Umidità (%)	P-tot (mg kg ⁻¹)	N-tot (%)	NH ₃ (mg Kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg Kg ⁻¹)	Cl ⁻ (mg Kg ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg Kg ⁻¹)
C1	3,37	8,71	32,1	481	0,114	10,8	0,00	7981	12993
C2	3,49	7,34	31,5	432	0,068	9,41	0,00	8890	15338
L1	2,56	7,96	34,4	264	0,061	8,82	179	6317	14811
L2	2,20	8,06	33,5	399	0,093	10,5	320	6532	11905
PL1	2,82	8,45	32,9	284	0,108	8,05	14,0	7385	10504
PL2	3,19	8,06	35,0	332	0,053	10,6	188	7078	12643
PL3	5,06	8,33	31,3	264	0,047	10,6	0,00	14474	34703
P1	3,35	8,05	35,8	597	0,043	8,77	175	8248	18328
P2	3,92	8,33	36,8	508	0,065	16,0	32,1	10531	14105
P3	2,54	9,08	37,3	262	0,101	7,88	0,00	6128	11311
Sedimento	2,91	8,69	41,0	300	0,154	8,04	33,6	10375	12387
Fango biologico stabilizzato	3,22	6,79	57,1	N.D.	5,267	49,9	65,8	1889	30125
Terra di scavo	0,43	8,33	3,33	233	0,086	4,69	36,1	52	18541

N.D. dato non disponibile

Sommario

Tabella 9: Contenuto di carbonio e sostanze umiche presenti nelle miscele e nei materiali.

CAMPIONI	TOC (%)	C-Ino (%)	C-Idros (mg Kg ⁻¹)	HS (mg Kg ⁻¹)	HF (mg Kg ⁻¹)	HA (mg Kg ⁻¹)
C1	1,84	0,87	754	3237	1939	1298
C2	2,34	0,96	901	2796	2212	584
L1	2,38	0,75	948	2922	2359	563
L2	1,76	0,81	864	3101	1799	1302
PL1	2,09	0,77	707	3017	2149	584
PL2	1,83	0,84	649	3059	2065	994
PL3	2,09	0,93	1163	3731	2569	1162
P1	2,05	0,85	917	3322	1981	1550
P2	2,04	0,71	907	2702	2608	95
P3	1,75	0,10	949	3069	2566	1217
Sedimento	2,55	0,51	1206	3773	2149	1624
Fango biologico stabilizzato	43,1	0,07	40408	39411	55581	N.D.
Terra di scavo	1,03	1,77	187	1726	1330	395

N.D. dato non disponibile

Tabella 10: Contenuto di metalli pesanti nelle miscele e nei materiali (mg/kg).

CAMPIONI	Cr	Cu	Ni	Cd	Pb	Zn
C1	58,09	62,29	44,68	0,69	101,25	157
C2	45,91	60,88	44,15	0,39	55,14	206
L1	27,30	69,50	52,70	0,73	76,18	75,9
L2	30,45	60,73	53,56	0,32	57,83	122
PL1	26,90	57,70	54,20	0,70	68,77	70,0
PL2	30,10	61,00	53,20	0,59	70,60	70,1
PL3	28,50	56,40	48,00	0,98	65,18	89,5
P1	39,36	59,63	50,74	0,39	71,90	217
P2	25,17	85,38	50,27	0,18	62,74	191
P3	36,03	55,58	55,62	0,79	58,62	120
Sedimento	37,70	73,80	58,70	1,29	102,94	109
Fango biologico stabilizzato	23,88	314,0	19,99	4,08	83,10	343
Terra di scavo	30,01	58,37	33,33	0,44	98,69	119

Tabella 11: Contenuto di metalli assimilabili nelle miscele e nei materiali (mg/kg).

CAMPIONI	Cr	Cu	Ni	Cd	Pb	Zn
C1	0,21	29,13	42,27	2,99	0,22	1456
C2	0,29	22,61	29,83	2,17	0,04	1142
L1	0,23	27,01	2,92	1,89	0,00	952
L2	0,00	13,44	11,15	1,57	0,00	779
PL1	0,35	18,20	3,55	2,17	0,00	1110
PL2	0,50	N.D.	0,00	N.D.	N.D.	782
PL3	0,53	N.D.	2,76	N.D.	N.D.	889
P1	0,02	19,18	14,00	2,22	0,00	1089
P2	0,24	28,96	21,91	2,56	0,01	796
P3	0,70	17,04	5,70	2,05	0,00	1163
Sedimento	0,22	15,82	25,61	2,13	0,29	1584
Fango biologico stabilizzato	N.D.	32,74	N.D.	5,14	0,00	N.D.
Terra di scavo	0,25	11,93	0,00	0,06	0,39	324

N.D. dato non disponibile

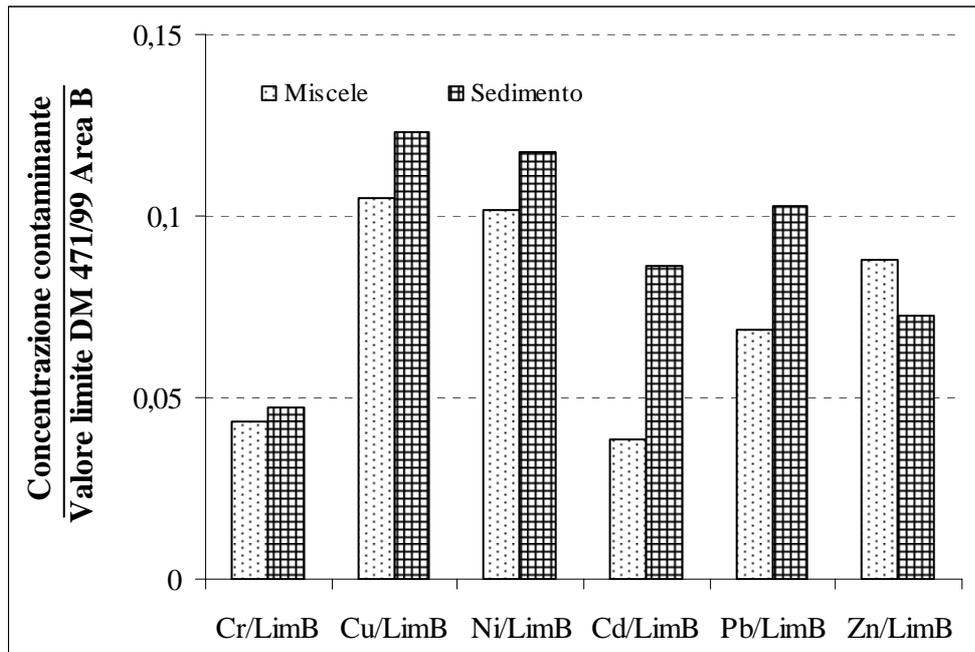


Figura 5: Valori di concentrazione di metalli pesanti rilevati nei campioni in rapporto ai valori di concentrazione limite secondo il DM 471/99, Uso B.

Percolato

In Tabella 12 sono riportati i risultati chimici ottenuti per il percolato: i valori della conducibilità (C.E.) e degli anioni solubili sono molto alti a causa del lisciviaggio del sedimento marino. Con riferimento ai valori di legge (Dlgs n. 152, 1999, Tabella 4: limiti di emissione per le acque reflue ed industriali che recapitano sul suolo), il contenuto di COD (misura del carbonio presente nelle sostanze liquide) è molto alto (valore limite: 100 mg/l).

Si è fatto riferimento ai limiti di emissione per le acque reflue ed industriali che recapitano sul suolo (Dlgs n. 152/1999, Tabella 4), in quanto il percolato raccolto può essere inteso come acqua reflua formata dal lisciviaggio di sedimenti marini, contaminati da metalli ed idrocarburi, depositati direttamente sul suolo.

La misura dei metalli nel percolato è quindi essenziale per valutare e misurare un'ipotetica contaminazione di falda, su scala reale. I valori dei metalli pesanti totali trovati nel percolato non sono molto elevati (Tabella 14), anche se superano i valori limite (con riferimento al rame, piombo e zinco, Tabella 13). Considerando però la natura del sedimento (e quindi delle miscele che ne derivano), causa questa di un ridotto quantitativo di acqua percolata, ed il tempo totale di percolazione (tre settimane), i risultati sono rappresentativi di un effetto limitato.

Quindi, riferendoci anche ai risultati sperimentali ricavati con le prove di permeabilità (vedi caratterizzazione fisica), dato il basso valore di permeabilità idraulica ottenuto, il rischio ambientale di contaminazione di falda è molto ridotto. Inoltre, non dobbiamo dimenticare che questa è una caratterizzazione a t_0 di una sperimentazione collocata all'interno di un più ampio processo, che prevede l'utilizzo di piante e lombrichi atti a ridurre e migliorare il sedimento e la sua liscivazione.

La presenza invece della frazione assimilabile nel percolato (Tabella 15), è imputabile all'assenza di piante.

Sommario

Tabella 12: Risultati delle analisi chimiche sul percolato ricavato da ogni mesocosmo.

CAMPIONI	C.E. (dS/m)	pH	COD (mg/l)	NH3 (mg/l)	Cl- (mg/l)	SO ₄ ²⁻ (mg/l)
C1	47,60	8,77	4854	1,8	21026	25869
C2	46,40	8,81	4798	1,7	20509	24897
L1	45,50	8,71	5162	1,8	15843	16379
L2	45,70	8,72	4798	1,6	22430	23173
PL1	42,50	8,55	3594	1,6	17586	18297
PL2	44,00	8,78	3930	1,6	18401	22512
PL3	44,40	8,83	4322	1,4	19553	20879
P1	48,30	8,71	6114	1,7	22410	21970
P2	48,70	8,68	6758	1,7	21814	23205
P3	48,80	8,42	4322	1,7	23948	22998

Tabella 13: Valori di concentrazione limite per alcuni metalli pesanti secondo il Dlgs. n.152, 1999.

METALLO	VALORE LIMITE
Cr	1 (mg/l)
Ni	0,2 (mg/l)
Pb	0,1 (mg/l)
Cu	0,1 (mg/l)
Zn	0,5 (mg/l)

Tabella 14: Metalli pesanti nel percolato, prelevato da ogni mesocosmo (mg/l).

CAMPIONE	Cr	Cu	Ni	Cd	Pb	Zn
C1	1,57	3,24	0,10	0,8	0,94	4,31
C2	1,62	2,38	0,07	0,0	0,73	2,63
L1	1,32	2,17	0,00	11,5	3,21	4,28
L2	1,30	2,55	0,00	2,5	2,41	3,62
PL1	1,33	2,11	0,00	11,3	3,49	2,47
PL2	1,34	3,50	0,00	0,0	0,73	3,25
PL3	1,32	2,87	0,00	0,0	0,74	2,20
P1	1,32	2,41	0,00	2,1	0,88	3,18
P2	1,32	1,71	0,00	3,8	2,86	3,54
P3	1,32	1,49	0,00	5,3	1,80	2,54

Tabella 15: Metalli assimilabili nel percolato, prelevato da ogni mesocosmo (mg/l).

CAMPIONE	Cr	Cu	Ni	Cd	Pb	Zn
C1	0,10	2,65	0,00	0,00	19,60	717
C2	0,11	2,24	0,00	0,00	20,00	710
L1	0,09	2,86	0,00	0,00	16,70	694
L2	0,10	1,83	0,00	0,00	18,40	670
PL1	0,10	1,54	0,00	0,00	15,30	602
PL2	0,00	2,27	0,00	0,00	15,60	587
PL3	0,07	1,62	0,00	0,02	16,00	650
P1	0,07	1,68	0,02	0,23	N.D.	N.D.
P2	N.D.	4,86	0,48	0,01	N.D.	N.D.
P3	0,04	1,19	0,00	0,04	N.D.	N.D.

N.D. dato non disponibile

Cinetica di estrazione dei metalli pesanti

La cinetica di estrazione ha conferito buoni risultati soprattutto per l'EDTA e gli acidi umici. L'EDTA è un estraente sintetico dalle note proprietà chelanti, specialmente nei confronti del piombo, rame e zinco, noto in letteratura. Gli acidi umici invece, rappresentano un'innovazione nel campo dei chelanti; la loro origine (ricavati da vermicompost, attraverso un'estrazione in pirofosfato a pH neutro) ed i risultati ottenuti con lo studio della cinetica di estrazione (del tutto comparabili con quelli ricavati mediante l'utilizzo dell'EDTA), fan sì che queste sostanze rappresentino un nuovo tipo di estraente di cui testare, in modo più approfondito, le capacità di complessazione, mediante lo studio delle cinetiche di estrazione.

E' interessante notare come le cinetiche fornite dalle sostanze umiche, siano rappresentative dell'effetto indiretto svolto dai lombrichi, sui processi di biorimediazione nella rizosfera: il loro ruolo è quello di migliorare il suolo in cui vivono e riproducono, acidificandolo e quindi incentivando la fito-estrazione dei metalli e l'attività microbica.

L'unica nota a sfavore potrebbe essere l'ingente quantitativo di acidi umici da adottare (1000-2000 mg/l), capace di esplicare un'efficace cinetica di estrazione e quindi anche il numero di lombrichi necessario per produrre tale giusta quantità: per esempio, per la produzione di 6000 mg/l, prodotta in circa due mesi, sono necessari 30 lombrichi per ogni 500 gr di suolo. (Sodini, 2004).

Riferendoci, per esempio alla cinetica del rame (Cu), e confrontando i risultati ottenuti con l'utilizzo dell'EDTA e degli acidi umici (Figura 6 e Figura 7), notiamo come il quantitativo di sostanze umiche necessarie per estrarre una concentrazione di metallo di un ordine di grandezza inferiore a quella ottenibile con l'EDTA, sia di circa un ordine di grandezza superiore.

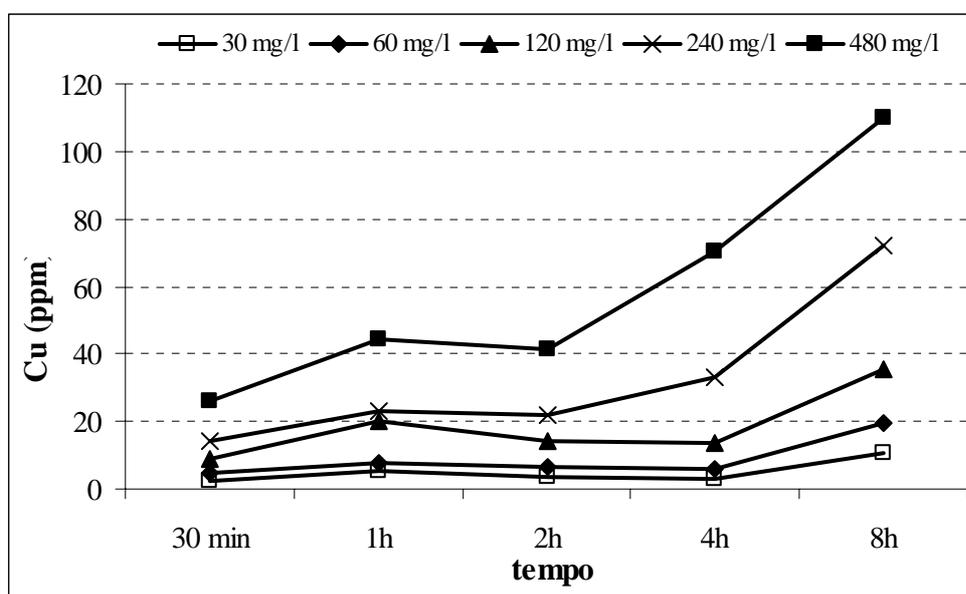


Figura 6: Cinetica di estrazione per il rame ottenuta utilizzando l'EDTA come estraente, in cinque concentrazioni diverse.

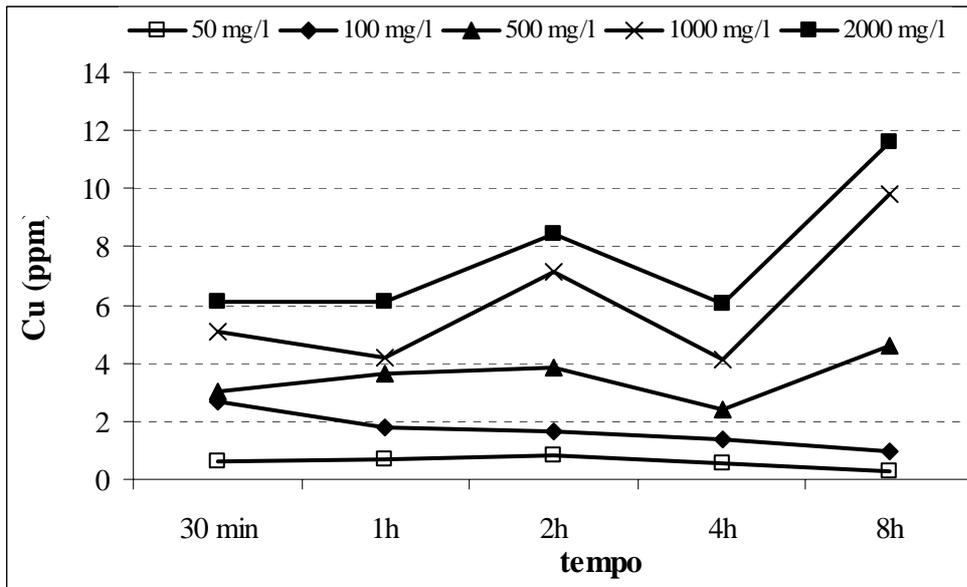


Figura 7: Cinetica di estrazione per il rame ottenuta utilizzando gli acidi umici come estraente, in cinque concentrazioni diverse.

I risultati ottenuti con le sostanze umiche sono comunque molto interessanti e meritevoli di studi più approfonditi, con lo scopo di testare le loro presunte capacità chelanti; tale approfondimento è essenziale soprattutto per poter estendere ed applicare i risultati anche su scala reale.

Caratterizzazione biologica

In Tabella 16 sono riportati i risultati delle analisi biologiche per le miscele ed i materiali, concernenti le attività enzimatiche totali. I valori delle deidrogenasi sono bassi se riferiti ad un suolo non contaminato (Masciandaro e Ceccanti, 1999), e quindi del tutto plausibili per una miscela formata al 70% da sedimento marino, contaminato sia da metalli pesanti che idrocarburi. Un valore basso è indice sicuramente di scarsa attività enzimatica, in quanto le deidrogenasi sono enzimi intracellulari, appartenenti al gruppo delle ossidoreduttasi, che catalizzano l'ossidazione di composti organici. Ciò è confermato anche da quanto segue.

Il β -glucosidasi è un enzima che catalizza l'idrolisi del cellobiosio (dimero derivante dalla degradazione della cellulosa) a glucosio: è ragionevole quindi trovare bassi valori per le miscele e più alti valori per il fango biologico stabilizzato. In un normale suolo, il β -glucosidasi assume valori dello stesso ordine di grandezza della fosfatasi, la quale catalizza l'idrolisi degli esteri fosforici a fosfato; in un sedimento questo può non accadere (Masciandaro e Ceccanti, 1999; Marin et al., 2005).

Tabella 16: Attività enzimatiche totali ottenute per le miscele ed i materiali.

CAMPIONI	Deidrogenasi	β -Glucosidasi	Fosfatasi	Ureasi	Proteasi
C1	0,74	2,92	183	2,85	1,68
C2	3,00	3,15	147	2,32	1,53
L1	3,18	1,65	92	2,43	1,65
L2	0,33	2,47	181	2,50	1,83
PL1	0,52	1,20	74	1,45	0,79
PL2	0,76	4,19	76	1,43	0,49
PL3	2,13	5,99	89	1,59	0,72
P1	1,07	2,32	159	1,77	2,79
P2	0,57	4,94	123	2,30	1,94
P3	1,45	1,42	138	3,23	1,68
Sedimento	0,59	2,92	131	1,28	0,83
Fango biologico stabilizzato	0,66	46,09	326	56,53	55,65
Terra di scavo	4,84	7,64	4,96	3,96	2,31

L'ureasi (enzima idrolitico presente in molte piante superiori, animali e in numerosi microrganismi che catalizza l'idrolisi dell'urea in ammoniaca e anidride carbonica) e la proteasi (gruppo di enzimi idrolitici legati al ciclo dell'azoto) sono importanti perché rappresentano un concime minerale naturale; valori bassi (come nel nostro caso) indicano la necessità di utilizzo di un concime esterno, da unire alla miscela, come appunto il fango biologico stabilizzato.

I test di crescita in vaso, come del resto anche i test di germinazione in piastra, non hanno dato esiti positivi.

Per i primi, non si è verificata una soddisfacente crescita, in un tempo totale di tre settimane; ciò è dovuto essenzialmente alla crescente salinità del sedimento proprio nelle prime settimane di crescita, a causa del rilascio di sale da parte del sedimento marino, causa questa fondamentale per l'inibizione della crescita. E' stato osservato comunque, che dopo circa cinque settimane, il sedimento ritorna al valore di conducibilità che possedeva prima del rilascio, grazie all'irrigazione dello stesso. Sarebbe quindi opportuno aspettare circa un mese prima di effettuare la semina, al fine di stabilizzare il contenuto salino e la conducibilità.

Un'altra causa del fallimento, in accordo con il test di germinazione in piastra effettuato

Sommario

sulle miscele ed i materiali, tra cui il fango biologico stabilizzato, può imputarsi sulla scelta dell'ammendante stesso, utilizzato come ammendante agronomico per il substrato di semina; dai risultati riportati in Tabella 17, emerge come il fango biologico stabilizzato non rappresenti un idoneo substrato di crescita, dal punto di vista agronomico. La scelta ottimale, da verificare, potrebbe ricadere sul compost verde, unito a terra di scavo.

Tabella 17: Indice di germinazione (IG%) e la percentuale di semi germinati (*Lepidium sativum*) rispetto al controllo (G%).

CAMPIONI	G%	IG%
<i>Miscele:</i>		
PL1	97	103
PL2	95	100
PL3	105	127
P1	81	83
P2	92	100
P3	95	99
L1	89	91
L2	97	113
C1	97	75
C2	92	75
<i>Substrato di semina:</i>		
PL1	89	64
PL2	100	63
PL3	106	66
P1	100	101
P2	94	119
P3	94	67
L1	106	66
L2	106	76
<i>Materiali:</i>		
Sedimento	105	121
Fango biologico stabilizzato	70	21
Terra di scavo	92	104

Caratterizzazione fisica

Le prove di conducibilità idraulica effettuate sulle miscele di ciascun mesocosmo, hanno confermato l'omogeneità delle miscele ottenute e la validità delle prove idrauliche preliminari, effettuate per scegliere il materiale più idoneo da unire al sedimento, con lo scopo di incrementarne la conducibilità idrica (terra di scavo al 20% in peso). Infatti, i nuovi valori ottenuti per i coefficienti di permeabilità k (m/s), esplicano una media permeabilità e capacità di drenaggio per tutte le miscele, in accordo con i risultati delle prove preliminari.

La misura del contenuto di acqua all'interno di ciascun mesocosmo, mediante la sonda capacitiva Diviner2000, ha sottolineato ancora una volta l'omogeneità e uniformità delle miscele e quindi dei mesocosmi. Inoltre, è stata confermata la natura delle miscele (prettamente limoso-argillosa) poiché le misure, effettuate nelle due differenti condizioni (a saturazione ed a medium insaturo) hanno portato agli stessi risultati, in termini di contenuto d'acqua. Il profilo idrico all'interno di ciascun mesocosmo a condizioni insature, è riportato in Figura 8; il profilo a saturazione è riportato invece in Figura 9.

Figura 8: Il profilo di acqua all' interno dei mesocosmi, ricavato dai dati registrati dalla sonda capacitiva Diviner2000 (medium insaturo).

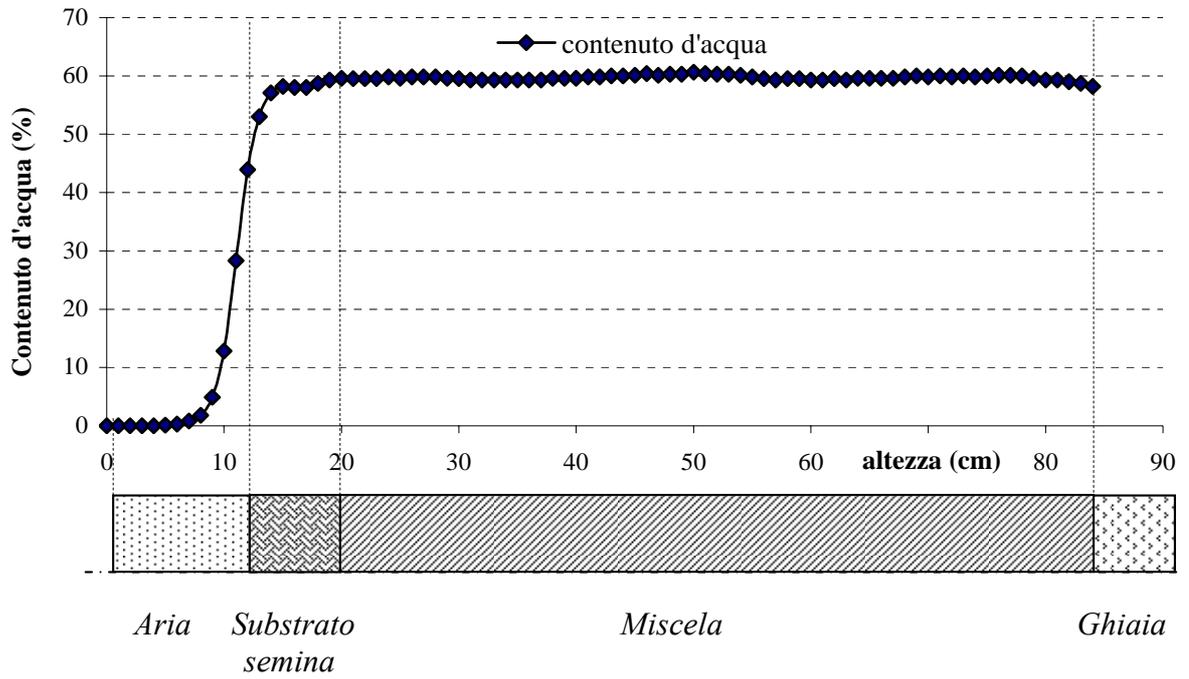
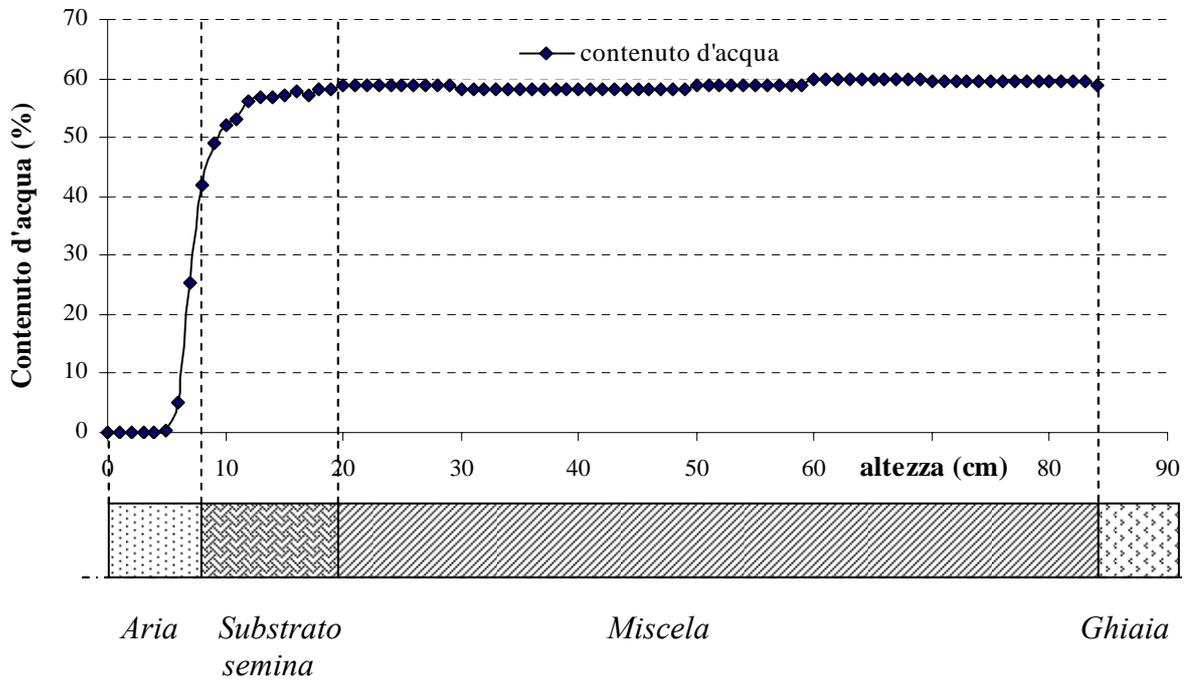


Figura 9: Il profilo di acqua all' interno dei mesocosmi, ricavato dai dati registrati dalla sonda capacitiva Diviner2000 (medium saturo).



MODELLO MATEMATICO

BIORIMEDIAZIONE NELLA RIZOSFERA

Ruolo dei lombrichi (*Eisenia foetida*)

Il ruolo dei lombrichi nel processo di biorimediazione è essenzialmente di tipo indiretto: mediante il “casting” ricco di nutrienti, stimolano l’attività microbica; grazie alle loro escrezioni, acidificano il suolo nella rizosfera, aiutando l’estrazione dei metalli ad opera della pianta (fitoestrazione). Inoltre smuovendo il suolo, ne incrementano l’aerazione, favorendo così i processi aerobici.

La loro attività fa aumentare anche la capacità di campo ed aiuta lo sviluppo delle piante, grazie ai canalicoli e piccoli passaggi che i lombrichi creano nel primo strato di suolo (circa 20 cm, in dipendenza del tipo di pianta e quindi, dell’estensione dell’apparato radicale).

Abbiamo dimostrato, seguendo la cinetica di presa ed eliminazione dei contaminanti, come la loro influenza sulla presa ed eliminazione dei composti organici ed inorganici (quali idrocarburi e metalli pesanti), sia irrilevante. La diretta degradazione dei composti organici (come gli idrocarburi) è trascurabile: in letteratura è stato dimostrato come si possa parlare di degradazione diretta solo in esperimenti di laboratorio, con bassi livelli di contaminazione ed un elevato numero di lombrichi (10 lombrichi per 50g di suolo) e quindi non estendibili su sperimentazioni in scala reale. (Contreras-Ramos et al., 2006; Mueller et al., 1991a; Kastner and Mahro, 1996; Banerjee et al., 1995; Juhasz, 2000).

La cinetica di presa ed eliminazione è espressa mediante la (2) (Belfroid et al., 2005):

$$C_w = C_s \cdot \frac{k_1}{(k_2 + k_g)} \cdot (1 - e^{-(k_2 + k_g)t}) \quad (2)$$

dove:

C_w = concentrazione dell’inquinante nel lombrico (ng/mg);

C_s = concentrazione dell’inquinante nel suolo (ng/mg);

k_1 = costante di presa (d^{-1});

k_2 = costante di eliminazione (d^{-1});

k_g = costante di crescita (d^{-1}).

Effettuando un bilancio di massa e le seguenti ipotesi cautelative, la concentrazione dell’inquinante nel suolo valutata all’equilibrio, è espressa dalla (3).

Ipotesi di base:

- 1) Concentrazione nel suolo costante e pari a quella massima (a t_0) (C_{s0});
- 2) Solo lombrichi attivi (maturi);
- 3) Densità dei lombrichi considerata in suolo non inquinato.

$$C_s = C_{s0} - d_w C_w \quad (3)$$

dove:

C_s = concentrazione dell’inquinante nel suolo a regime (t_∞) (ng/mg);

C_{s0} = concentrazione dell’inquinante nel suolo a t_0 (ng/mg);

C_w = concentrazione dell’inquinante nel lombrico a regime (t_∞)(ng/mg);

d_w = densità dei lombrichi (kg/kg).

Sostituendo ai parametri coinvolti i valori trovati in letteratura (Xiao et al., 2005), la

concentrazione dell'inquinante nel suolo, a regime, è rimasta praticamente inalterata, in quanto l'abbattimento dell'inquinante ad opera dei lombrichi è risultato del solo 0,2% per gli idrocarburi e dello 0,003% per i metalli. Si nota come i metalli abbiano anche un effetto tossico sui lombrichi.

Ruolo della popolazione microbica indigena

Il ruolo dei microrganismi nella rizosfera, nel processo di biorimediazione, è fondamentale: entrano in gioco direttamente nella degradazione dei composti organici, quali gli idrocarburi. E' quindi essenziale mantenere attiva la popolazione microbica indigena, garantendo il giusto rapporto tra carbonio:azoto:fosforo. In genere vengono utilizzati dei fertilizzanti artificiali nel rapporto 100:10:1, fintanto che le piante, con i loro essudati radicali, non garantiscono il giusto apporto di nutrienti (nella prima fase di crescita). Anche i lombrichi con il loro "casting" ricco di nutrienti, contribuiscono ad incentivare l'attività microbica.

La popolazione microbica esplica la sua attività, degradando il substrato presente, costituito dal contaminante organico (idrocarburi). Per valutare questo abbattimento, è fondamentale seguirne insieme la cinetica di crescita microbica, mediante l'equazione di Monod (4):

$$\frac{dC_m}{dt} = \left(\mu_m(T) \left(\frac{C_s}{k_s + C_s} \right) \left(\frac{C_o}{k_o + C_o} \right) - k_d \right) \cdot C_m \quad (4)$$

dove:

- $C_m =$ concentrazione microbica nel suolo (g/cm^3);
- $C_s =$ concentrazione di substrato disciolto (g/cm^3);
- $C_o =$ concentrazione degli accettori di elettroni nel suolo (g/cm^3);
- $k_s =$ costante di semivelocità (g/cm^3);
- $k_o =$ accettori di elettroni (g/cm^3);
- $k_d =$ coefficiente di decadimento endogeno (d^{-1});
- $\mu_m(T) =$ velocità di crescita apparente in funzione della temperatura (h^{-1}).

L'equazione di Monod sopra descritta (equazione del primo ordine), vale quando il substrato (il contaminante) non è inibitore del processo; in tal caso, è necessario passare ad una cinetica del secondo ordine, espressa per esempio, dall'equazione di Heldane (5):

$$\frac{dC_m}{dt} = \left(\mu_a \left(\frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \right) - k_d \right) \cdot C_m \quad (5)$$

dove:

- $S =$ concentrazione dell'inquinante inibente (mg/l);
- $k_i =$ costante di inibizione, specifica dell'inquinante (mg/l);
- $\mu_a =$ velocità di crescita (h^{-1}), correlata alla crescita massima mediante la (6):

$$\mu_{max} = \frac{\mu_a}{1 + 2 \cdot \sqrt{\frac{k_s}{k_i}}} \quad (6)$$

Si capisce come i parametri coinvolti siano molti e tutti di fondamentale importanza per seguire la cinetica di abbattimento del substrato e di crescita microbica. E' quindi essenziale

Sommario

un'accurata ricerca in letteratura riguardante l'esatta determinazione dei sopradetti parametri.

Per rendere attuabile il modello , inteso come strumento pratico nelle mani di tecnici ed enti pubblici, con lo scopo di prevedere i successi o le limitazioni inerenti la tecnica di fito-biorimediazione, sarà necessaria un successiva semplificazione e calibrazione del modello stesso. E' infatti di fondamentale importanza riuscire a stimare anche i tempi che tale processo necessita per il raggiungimento dei risultati prefissati. Non sempre infatti la complessità è sinonimo di applicabilità.

Per esempio, con lo scopo di semplificare il processo, può essere fatta un misura indiretta dell' attività microbica, mediante la determinazione della CO₂ prodotta: più alti valori assume tale indice respirometrico e più sono attivi i microrganismi, con conseguente incremento della degradazione del substrato inquinante e dell' efficacia della biorimediazione e riduzione invece, dei tempi totali del processo.

CONCLUSIONI

Le analisi preliminari condotte sui sedimenti dragati dalle aree portuali di Haifa e Livorno si sono rivelate un utile ed efficace mezzo per acquisire una gran quantità di informazioni riguardanti le caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche dei sedimenti ed hanno perciò permesso di ottimizzare la preparazione dei sedimenti stessi e le tecniche agronomiche al fine di rendere possibile e più efficiente il processo di fitorimediazione.

Le analisi chimiche hanno innanzitutto mostrato come il livello di contaminazione da metalli pesanti (Ni, Pb, Cu, Cr, Cd) sia sostanzialmente simile nei sedimenti di Haifa ed in quelli di Livorno, a rimarcare l'omogeneità della problematica per almeno due delle più importanti realtà portuali del Mediterraneo.

Inoltre dall'analisi chimica emerge come il grado di contaminazione dei sedimenti non sia particolarmente elevato e coinvolga contemporaneamente idrocarburi e metalli pesanti: queste condizioni rappresentano un ambito di elezione per l'applicazione delle tecniche di fitorimediazione.

La caratterizzazione granulometrica e le prove di conducibilità idraulica condotte sui sedimenti del Porto di Livorno evidenziano la natura limoso – argillosa del sedimento tal quale e la sua impermeabilità. Per rendere possibile l'applicazione delle tecniche di fitorimediazione è quindi necessario miscelare il sedimento con una modesta quantità di materiale di preparazione che sia in grado di incrementarne la permeabilità: risultati apprezzabili sono stati forniti da vari materiali tra i quali si cita il terreno di scavo.

I test di crescita in piastra ed in vaso hanno mostrato che le condizioni agronomiche inusuali presentate dai sedimenti (elevata salinità, contaminazione da sostanze tossiche) non impediscono la germinazione e lo sviluppo delle essenze vegetali analizzate; l'utilizzo di una modesta quantità di ammendanti può ulteriormente migliorare le condizioni di crescita.

Le analisi di fattibilità tecnico – economica ha permesso di individuare tra le soluzioni sperimentate in laboratorio la terra di scavo come quella che meglio si adatta, in termini di costi e di reperibilità dei materiali scelti, all'applicazione della fitorimediazione su scala reale nel caso di riutilizzo del sedimento come materiale di riempimento agronomico per ripristini ambientali di aree degradate.

*La selezione delle piante è stata condotta considerando contemporaneamente i diversi processi di fitorimediazione che avvengono nella matrice solida ed eventualmente anche l'interazione (positiva o negativa) che si instaura tra i diversi contaminanti: la soluzione più efficace consiste nell'utilizzo di una successione temporale di colture, dal momento che una certa tipologia di piante può presentare caratteristiche più adatte al trattamento di una specifica classe di inquinanti. Si è scelto di utilizzare il girasole (*Heliantus annuus*) nei mesi estivi e la colza (*Brassica Rapa*) nei mesi invernali, intervallando con la semina di una comune specie erbacea (*Lolium multiflorum*).*

La possibilità di piantare essenze vegetali con cicli stagionali diversi in successione, rappresenta un'innovazione in questo campo e presenta notevoli vantaggi: l'efficacia nei confronti di diverse tipologie di contaminazione, la continuità del trattamento con la conseguente riduzione dei tempi di bonifica (che rappresentano il principale svantaggio nell'applicazione delle tecniche di fitorimediazione), la continua presenza di un manto vegetale sul sito da bonificare, con vantaggio di una riduzione dell'impatto ambientale (tra i punti di forza della fitorimediazione).

L'utilizzo di agenti chelanti inoltre, una volta definita la giusta quantità al fine di prevenire l'effetto tossico sulle piante, incentiva l'estrazione dei metalli pesanti dal sedimento, in quanto li rende solubili, facilitandone l'assorbimento da parte delle piante stesse: buoni risultati di cinetica di estrazione sono stati forniti dagli acidi umici (ricavati da vermicompost), seppur in elevate quantità.

I rischi ambientali derivanti dall'impiego di agenti chelanti sono legati alla loro persistenza nel

suolo ed alla possibile lisciviazione verso gli orizzonti inferiori con inquinamento delle acque di falda; questo fenomeno deve essere prevenuto nei suoli contaminati, specialmente quando gli elevati apporti idrici possono causare processi di percolazione: la piantumazione, pertanto, può considerarsi come un intervento di messa in sicurezza provvisorio.

Il lavoro di ricerca previsto sull'installazione lisimetrica allestita sulla base delle analisi preliminari, permette di valutare inoltre, l'efficacia della tecnica di fitorimediazione applicata a sedimenti dragati da aree portuali, consentendo così di mettere a punto una procedura di trattamento adeguata, sia dal punto di vista tecnico che economico, per risolvere una problematica estesa e quantomai attuale.

Fondamentale è stata infatti la caratterizzazione a t_0 dei mesocosmi, per dare un'idea del livello di contaminazione di partenza, con cui confrontare i valori che saranno ottenuti nel seguito della sperimentazione e per definire l'efficacia del trattamento stesso.

Tale caratterizzazione conferma i risultati ricavati con le prove preliminari, soprattutto dal punto di vista fisico e biochimico: si sono ottenute miscele omogenee sia chimicamente che fisicamente (miscele preparate sulla base dei risultati preliminari), con un grado di permeabilità ed un livello di contaminazione del tutto comparabili con quelli di partenza.

In particolare emerge come il sedimento debba essere migliorato dal punto di vista fisico a causa della sua natura limoso-argillosa, e dal punto di vista agronomico, a causa del basso contenuto di sostanze umiche e di una scarsa attività enzimatica. Per tale scopo, è essenziale l'utilizzo di un ammendante capace di conferire alle miscele ottenute, le caratteristiche di un suolo, permettendo così la crescita vegetale (compost vegetale unito a terra di scavo); tutto questo deve essere accompagnato dall'utilizzo di un fertilizzante, in modo da conferire il giusto apporto di nutrienti. Anche la presenza dei lombrichi, aiuta in quanto detto.

Importante è stata anche la caratterizzazione del percolato, ottenuto dopo circa un mese di irrigazione delle miscele, al fine di valutare soprattutto il contenuto di metalli, indice questo di un'ipotetica contaminazione di falda. I valori ottenuti superano di poco quelli definiti dal Dlgs n. 152, 1999: considerando la natura del sedimento (e quindi delle miscele che ne derivano), causa questa di un ridotto quantitativo di acqua percolata, ed il tempo totale di percolazione, i risultati ottenuti sono plausibili ed accettabili.

Inoltre, non dobbiamo dimenticare che questa è una caratterizzazione a t_0 di una sperimentazione collocata all'interno di un più ampio processo (fito-biorimediazione), che prevede l'utilizzo di piante atte a ridurre e migliorare il livello di contaminazione del sedimento e la sua lisciviazione.

Il modello matematico è stato fondamentale invece, per capire fino in fondo tutti i meccanismi legati al processo di fito-biorimediazione, portando ad individuare quale sia l'effettivo ruolo della popolazione microbica indigena e dei lombrichi (specie Eisenia foetida) presenti nella rizosfera.

E' emerso come il processo di biorimediazione sia basato sull'attività dei microrganismi esogeni aerobici presenti nella rizosfera (millimetri di suolo adiacenti alle radici delle piante): essi sono capaci di degradare gli inquinanti organici (quali gli idrocarburi), aiutati nella loro attività, dagli essudati radicali e dal "casting" dei lombrichi, i quali apportano nutrienti ed in generale, condizioni favorevoli per lo sviluppo ed incentivazione dell'attività microbica.

I microrganismi aiutano, a loro volta, la fitoestrazione dei metalli, in quanto incentivano il rilascio dei metalli pesanti dal suolo, grazie ad un'acidificazione del suolo stesso in vicinanza dell'apparato radicale delle piante.

Sommario

Il ruolo dei lombrichi nel processo, è quindi invece di tipo indiretto, ma comunque importante: stimolano l'attività microbica ed aiutano la crescita delle piante grazie essenzialmente all'aerazione del suolo ed alla sua parziale acidificazione.

Come piano futuro, è prevista una semplificazione e calibrazione del modello, con lo scopo di trasformarlo in un strumento di facile e pronta attuazione, nelle mani di tecnici e di amministrazioni pubbliche.

L'ottenimento di una modellazione semplice ed attuabile del processo di fito-biorimediazione, è cosa del tutto innovativa: è il solo modo per poter prevedere, a partire dai livelli iniziali di inquinamento, il grado di abbattimento raggiungibile al termine della sperimentazione e soprattutto, il tempo necessario per il conseguimento degli obiettivi di bonifica.

Il tutto deve essere comunque seguito da accurate analisi di laboratorio, al fine di poter confrontare (in un tempo intermedio ed alla fine della sperimentazione) i risultati realmente ottenuti con gli obiettivi previsti. Molto difficile infatti è la coincidenza tra la previsione e la realtà sperimentale, che va quindi verificata e costatata.

RINGRAZIAMENTI

Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto di Cooperazione Ambientale tra Italia ed Israele "Approccio integrato per la bonifica di sedimenti di fiume contaminati - Trattamento dei sedimenti fluviali dragati dal fiume Kishon in Israele" e del Programma di Ricerca Scientifica di Rilevante Interesse Nazionale – Anno 2004 "Valutazione delle prestazioni dei processi di fitodegradazione, rizodegradazione, fitoestrazione e fitostabilizzazione per la bonifica di suoli inquinati".

Si ringrazia per la disponibilità e la collaborazione l'ISE – Istituto per lo studio degli ecosistemi – CNR - Pisa, ed in particolare il Dott. Brunello Ceccanti e della Dott.sa Grazia Masciandaro per l'assistenza tecnica nelle misurazioni chimiche e biologiche.

Si ringrazia inoltre per la disponibilità accordataci, l'Autorità Portuale di Livorno – Direzione Sicurezza Qualità e Ambiente, nelle persone dell'Ing. Giovanni Motta e del Dott. Massimo Dini.