

# Risanare i suoli mantenendone intatte le funzioni: obiettivo strategico per una bonifica sostenibile delle aree contaminate

A.R. Sprocati, C. Cremisini

La rilevanza assunta negli ultimi decenni dalla contaminazione del suolo, per livelli e per estensione spaziale, richiede una valutazione su scala di ecosistema con un approccio a livello di scenario reale, affinché sia possibile correlare esplicitamente il tipo e il grado di contaminazione con il rischio potenziale che essa rappresenta per altri comparti ambientali (principalmente l'acqua, ma implicitamente anche la biodiversità) e per le attività umane a questi connesse, tra le quali il sistema agroalimentare è di peculiare rilevanza, per le dirette implicazioni sulla salute dell'uomo. Occorre poi tener conto delle differenze tra i fenomeni di inquinamento legati a eventi concentrati nel tempo e la contaminazione di tipo "cronico", dovuta ad attività inquinanti prolungate nel tempo e, in entrambi i casi, della possibilità di diffusione degli inquinanti da/a territori limitrofi. Coerentemente, anche la bonifica deve essere valutata a livello di ecosistema mediante un approccio basato sullo scenario reale.

I siti contaminati censiti si aggirano, tra Europa e Stati Uniti, attorno al milione e la problematica nella maggior parte dei casi riguarda i rifiuti pericolosi ed i contaminanti industriali, con le conseguenti ricadute sui costi ambientali, sociali, economici.

Nell'Unione Europea il suolo rappresenta una risorsa essenzialmente non rinnovabile, di circa 400 milioni di ettari, e il problema del suo degrado, stimato in circa 38 miliardi di euro all'anno, è oltretutto intensificato a causa dell'elevata densità di popolazione.

Il permanere dello stato di degrado dei suoli è palesemente in contraddizione e incompatibile con i criteri di sviluppo economico sostenibile, pertanto tra le priorità da considerare per garantire tale sviluppo in modo durevole deve essere inclusa l'adozione e la diffusione di tecnologie produttive pulite (processi e prodotti puliti,

incluse le pratiche agricole) e di tecnologie sostenibili per il ripristino degli ecosistemi.

Un caso interessante è quello delle aree minerarie ove le attività estrattive sono state abbandonate. Nella UE la superficie di suoli influenzati da attività minerarie, e quindi da metalli pesanti, è stata stimata pari allo 0,6% del totale, rispetto a una media mondiale dello 0,2%. La bonifica di queste aree è, quindi, un obiettivo strategico per le politiche europee.

L'estrazione e la lavorazione di minerali hanno prodotto grandi quantità di materiali di scarto con livelli di concentrazione di elementi tossici. Questo materiale di scarto rimane solitamente in-situ o adiacente al sito della lavorazione, in quanto la redditività economica di solito lo rende inadatto per lo smaltimento fuori sede. Questi cumuli di rifiuti minerari contaminati, prodotti in grande quantità dalla rivoluzione industriale, esistono, di fatto, come eredità nel nostro paesaggio, fornendo una fonte di contaminazione ambientale primaria, che continua anche molti anni dopo la fine della produzione industriale. La contaminazione ambientale avviene a causa di gravi errori (esempio: malfunzionamento dei sistemi di contenimento previsti) o in modo cronico, per rilascio di metalli attraverso lisciviazione, dispersione aerea o erosione dei metalli contenuti negli sterili o nei sedimenti contaminati. Questi contaminanti, attraverso l'idrodinamica del bacino di appartenenza, raggiungono anche le pianure alluvionali, che tendono ad essere utilizzate intensivamente per la produzione alimentare agricola, data l'elevata fertilità, con importanti implicazioni per la sicurezza alimentare e la salute umana. La presenza di metalli pesanti è pertanto ormai diffusa ed è rilevabile anche in comparti lontani dalla sorgente della contaminazione, frequentemente anche in suoli a uso agricolo, generando frequentemente il problema della co-contaminazione, laddove si vada a sommare a una contaminazione di origine "organica".

I metalli pesanti (classe nella quale sono compresi elementi di elevata tossicità), come noto, sono inibitori della catena respiratoria nei microrganismi ed esercitano pertanto un'influenza negativa sull'attività metabolica del suolo, con ripercussioni su importanti parametri ecologici dell'ecosistema, quali la struttura e funzione della comunità microbica che incidono direttamente sulla capacità del riciclo degli elementi in natura. La tossicità dei metalli pesanti influenza quindi negativamente anche la "attenuazione naturale" cioè la capacità spontanea di riduzione della contaminazione presente in ambiente, attraverso la quale gli ecosistemi sono in grado di ripristinare un equilibrio ecologico.

La possibilità di ridurre la contaminazione nel sito di origine e di contenere, di conseguenza, la dispersione nei comparti ad esso collegati, richiede la messa in atto misure e tecnologie che permettano, su scala di ecosistema, di garantire il recupero dell'uso del suolo, con un impatto positivo sui sistemi idrici a valle.

Il mantenimento delle superfici agricole oggi disponibili dipende, quindi, anche dalle misure che riusciamo a mettere in atto per mitigare la contaminazione di aree non utilizzate per l'agricoltura e arrestarne la diffusione alle aree limitrofe adibite ad uso agricolo.

Queste misure devono essere compatibili con la conservazione della qualità del suolo e, quindi, delle sue funzioni.



Figura 1  
Prelievo in campo di carote indisturbate di suolo (ASTM Standard Guide)

Le tecnologie di trattamento di tipo chimico-fisico, per abbattere la contaminazione al livello limite restituiscono, nella generalità dei casi, un suolo sostanzialmente sterile dopo il trattamento: privato cioè delle sue funzioni di riciclo degli elementi in natura, funzione peculiarmente assolta dai microrganismi e primaria per la sopravvivenza della vita sul Pianeta. Al momento, sebbene non sia ancora completamente matura, il biorisanamento è l'unica tecnologia in grado di risanare il suolo preservandone le funzioni.

Il razionale del biorisanamento si basa sul fatto che i microrganismi, responsabili per la degradazione dei contaminanti organici e per la trasformazione e detossificazione dei contaminanti inorganici, sono la forza motrice che guida l'attenuazione naturale, ossia la capacità di autodepurazione di un ecosistema. Tuttavia l'accumulo in ambiente di contaminanti tossici rimarca il fatto che i microrganismi, alle concentrazioni cui sono abitualmente presenti, sono insufficienti, da soli, a proteggere la biosfera dal flusso dell'inquinamento di origine antropica. Il loro potenziale metabolico può però essere catturato e tradotto in nuove strategie di risanamento. Tra le vie fattibili per attivare questo potenziale metabolico le più percorse sono due: la *bio-stimulation* (e tecniche affini), che agisce attraverso il cambiamento dei parametri chimico-fisici del suolo, quali nutrienti, pH, temperatura, ossigeno, donatori o accettori di elettroni ecc. e la *bioaugmentation*, che agisce attraverso un aggiustamento "di nicchia ecologica", inoculando nel sistema microrganismi competenti per le funzioni metaboliche necessarie alla trasformazione degli inquinanti. Questo approccio offre una via per procurare al sistema microrganismi, autoctoni o alloctoni, in numero sufficiente per portare a termine la biodegradazione necessaria a smaltire il carico di contaminanti.

Ciascuna via presenta una serie di punti a favore e critici, che ne hanno determinato benefici e insuccessi, per cui, prima di decidere il metodo più appropriato di intervento, sono necessari studi di fattibilità sito-specifici.

### Ripristinare preservando: un approccio vincente

Le esperienze sviluppate nel Centro Ricerche ENEC Casaccia sono state rivolte a due problematiche che costituiscono i principali colli di bottiglia per l'applicazione del biorisanamento: la presenza concomitante di inquinanti organici e metalli pesanti (co-contaminazione) e il risanamento di siti influenzati da attività minerarie (metalli pesanti). La *bioaugmentation* è stata scelta come strategia di intervento, mediante un approccio "knowledge based", che si fonda su una sele-

zione razionale dell'inoculo, guidata da dati ecologici. I fallimenti della bioaugmentation riportati in letteratura sono, infatti, principalmente legati alla carenza di dati ecologici circa il destino e l'attività dei microrganismi inoculati e, se alloctoni, circa la relazione tra i microrganismi introdotti e le comunità microbiche indigene.

La strategia applicata in ENEA parte dalla conoscenza della comunità microbica nativa del sistema da bonificare, individuando quali gruppi metabolici governano i principali flussi energetici, al fine di selezionare i gruppi funzionali che possono essere impiegati per potenziare le funzioni metaboliche necessarie per la bonifica. Nel caso in cui le funzioni metaboliche necessarie sono già presenti nella comunità microbica, semplicemente si potenzia la carica microbica delle specie che sono già parte dei principali gruppi metabolicamente attivi verso i contaminanti; nel caso contrario in cui non siano presenti nel sito microrganismi competenti, la diversità microbica viene incrementata attraverso l'introduzione di microrganismi metabolicamente competenti, scelti in modo di impattare il meno possibile la struttura della comunità nativa. La metodologia sperimentale impiegata si basa su un approccio polifasico che comprende la microbiologia classica, la biologia e l'ecologia molecolare (rRNA16/18S PCR, PCR-DGGE, t-RFLP, metagenomica ambientale), l'analisi fenotipica globale (BIOLOG™ System).

I sistemi sperimentali comprendono diverse scale, da quella di bancone al campo sperimentale e, in particolare, per gli studi preliminari vengono impiegati i Microcosmi terrestri [ASTM E1197-87(2004)] che, contrariamente alla piccola scala di laboratorio, sono rappresentativi dell'ecosistema sotto studio, su scala microbiologica e biochimica e permettono di estrapolare i risultati ottenuti direttamente al campo, evitando fallimenti (Figura 1).

La preparazione dell'inoculo praticata consiste nell'isolare le comunità microbiche direttamente dalla matrice contaminata, testare la presenza di metabolismo attivo o inducibile verso i contaminanti presenti e sviluppare formule microbiche "su misura" per le diverse situazioni. In questo modo, partendo dal progetto "Integrated Decontamination Technologies, DM MIUR n. 790 del 21/6/2004, D.Lgs. 297/1999, 2002-2006, è stata costituita una collezione di ceppi di laboratorio di interesse biotecnologico, "ENEA-Lilith", che, arricchita grazie a diversi progetti, ora comprende circa 500 ceppi originali *wild type*, che costituiscono una risorsa per la messa a punto di formule microbiche, impiegate per studi di co-contaminazione di gasolio e metalli pesanti in suoli industriali (Alisi *et al.* *Process*

*Biochem.*, 2012, 47(11):1694-1655) e agricoli (Sprocati *et al.*, *Environ. Sc. Poll. Res.*, 2014, 21(11):6939-51), ottenendo un abbattimento del 70-75% degli idrocarburi in presenza di metalli pesanti (zinco e piombo). Le formule microbiche così selezionate hanno dimostrato di essere in grado di sopravvivere e di innescare un processo che ha coinvolto il resto della comunità, attivandola lungo la catena biodegradativa del gasolio, sia nel caso di formule native che alloctone. L'approccio messo a punto è subito sembrato una via promettente verso il superamento di un grave fattore limitante del biorisanamento.

Per i siti minerari, nell'ambito del progetto UMBRELLA (UE-FP7- 226870), è stato sviluppato un approccio integrato per il risanamento del suolo attraverso processi bio-geologici, applicando il fitorisanamento assistito da microrganismi, per la regolazione della mobilità dei metalli su scala di ecosistema. Lo studio ha riguardato sei siti minerari per stabilire misure migliorative, economicamente efficienti e sostenibili, per la bonifica da metalli pesanti, in diverse regioni geografiche e climatiche d'Europa, su larga scala. L'obiettivo del progetto, quello di utilizzare il potenziale offerto dai microrganismi nativi per accelerare le attuali tecniche di fitorisanamento, è stato perseguito con un approccio di ricerca interdisciplinare nei settori della microbiologia, della fisiologia vegetale e della (idro)-geochimica, mirato allo studio



Figura 2  
Campo sperimentale di fitorisanamento assistito da microrganismi, allestito nel sito minerario di Ingurtosu (Cagliari), in località Valle degli Sterili

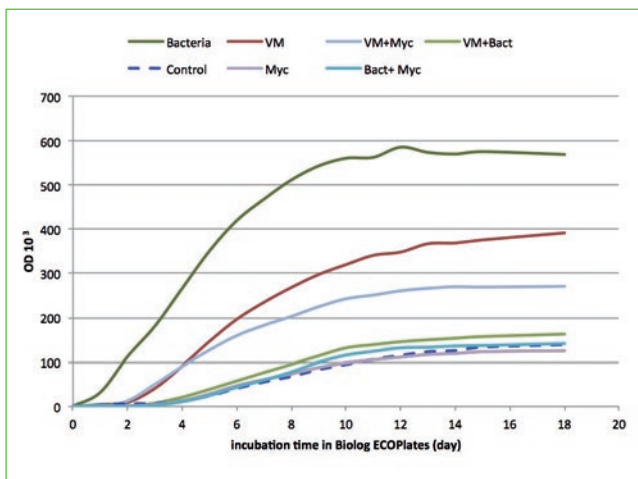


Figura 3  
Attività metabolica del suolo espressa nelle diverse condizioni sperimentali, rispetto al controllo (sole piante): +batteri, +ViroMine (VM), + micorrize (Myc) e loro combinazioni (dati relativi a due anni e mezzo dall'inizio della sperimentazione)

dell'influenza microbica sui cicli biogeochimici dei metalli e dell'impatto del loro impiego nella protezione del suolo e delle acque a livello di bacino. Il progetto ha individuato per ogni sito un insieme di "toolbox" (microrganismi e piante in associazione, approccio metodologico e modelli previsionali) da fornire agli utilizzatori finali della tecnologia per azioni di bonifica in situ, a basso costo e a basso impatto ambientale.

Per il sito italiano, situato nella miniera di Ingurto, in Sardegna (Figura 2), il *tool-box* individuato è rappresentato da una pianta pioniera endemica *Euphorbia*

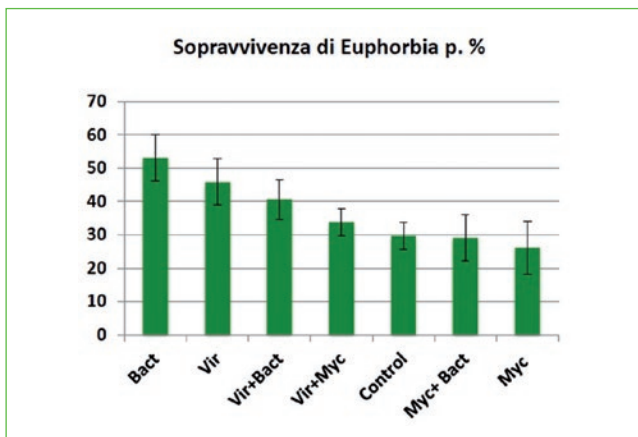


Figura 4  
Percentuale di sopravvivenza dei *Euphorbia p.* nel suolo arricchito di batteri (Bact) rispetto al controllo (Control) e al suolo arricchito di altri ammendanti (da soli o con batteri)

*bia pythiusa* e da un consorzio di batteri (Umbrella Ingurto) selezionati all'interno della comunità nativa, per capacità di promozione della crescita delle piante (PGP). I primi risultati della sperimentazione in campo [10 diverse condizioni, 27 plot di 2,5 x 2,5 m ciascuno], preceduta da una larga sperimentazione in serra, hanno dimostrato che *E. pythiusa* ha la capacità di assorbire metalli pesanti (metallofita) nella parte aerea della pianta, che l'introduzione di *E. pythiusa* migliora l'attività metabolica del suolo anche in assenza di *bioaugmentation*, ma che la presenza del consorzio microbico UI ha migliorato decisamente la qualità del suolo espandendone la diversità funzionale e specialmente l'affinità dei batteri per gli essudati plantari, a testimonianza dell'avvenuta associazione pianta-batteri.

A distanza di circa due anni e mezzo dall'inoculo, nelle porzioni di suolo dove è stata applicata la *bioaugmentation*, permane una attività metabolica del suolo nettamente migliore, sia come intensità che come diversità funzionale, in corrispondenza al miglior tasso di sopravvivenza delle piante (circa 60%) (Figure 3 e 4). La sperimentazione prosegue all'interno del progetto Cluster "Sviluppo di METodologie per la progettazione di interventi di bioRimedio", finanziato dalla Regione Sardegna e coordinato dall'Università di Cagliari. I più recenti sviluppi riguardano l'evoluzione del "toolbox", realizzata attraverso l'arricchimento dell'associazione vegetale con piante di *Juncus acutus*, che rappresentano le vere e prime piante pioniere di quelle discariche e, inoltre, replicando la *bioaugmentation* con il consorzio originario arricchito con nuovi ceppi PGP, emersi per successione ecologica, in seguito all'introduzione di piante e batteri. Nella stessa attività sperimentale sono stati inoltre ottenuti interessanti risultati sia in ambito mineralogico (Sprocati *et al.*, *Am. Mineral.*, 2014, 99:1761-1766) che analitico-ambientale (Cremisini *et al.*, *J. Soil Sedim.*, 2010, 10:1115-1122). Nel primo caso è stata evidenziata la presenza di un nuovo minerale di origine biogenica e nell'altro è stato messo a punto a punto un efficace e rapido metodo analitico per la valutazione, in campo, della concentrazione e mobilità di elementi tossici, utile per la caratterizzazione dei suoli contaminati e per la verifica dell'efficacia della tecnologia di decontaminazione applicata.

Per approfondimenti:  
annarosa.sprocati@enea.it

Carlo Cremisini, Anna Rosa Sprocati  
ENEA, Divisione Protezione e valorizzazione  
del territorio e del capitale naturale