

IL BIORISANAMENTO DI SUOLI CONTAMINATI DA IDROCARBURI

IL PROGETTO LIFE BIOREST STUDIA L'EFFETTO SINERGICO DI FUNGHI E BATTERI NELLA DEGRADAZIONE DEGLI IDROCARBURI PER LA BONIFICA DI SUOLI INQUINATI. LE ATTIVITÀ SI CONCENTRANO NEL SIN EX CARBOCHIMICA DI FIDENZA E, ANCHE ATTRAVERSO UNO STUDIO LCA, PUNTANO A VALUTARE L'EFFICACIA DELLE ATTIVITÀ DI BIORISANAMENTO.

La contaminazione chimica del suolo è ancora un problema in larga parte irrisolto a livello globale, europeo e regionale. I dati europei mostrano come vi siano circa 5,7 siti contaminati ogni 10.000 abitanti; numero che sale a 42 se si considerano anche i siti potenzialmente contaminati. Le statistiche aggiornate al 2014 stimano in 340.000 il numero di siti che devono essere bonificati in Europa: di questi solo il 15% è stato bonificato o è in corso di bonifica (Van Liedekerke et al., 2014). I metalli pesanti rappresentano la principale forma di contaminazione, con il 35% dei siti interessati; seguono gli idrocarburi lineari (24%), gli idrocarburi policiclici aromatici (Ipa, 11%), i Btex (benzene-toluene-etilbenzene-xylene, 10%) e i cloroidrocarburi (8%). Queste ultime quattro categorie formano nel loro insieme la classe degli idrocarburi, e la loro sommatoria porta al 53% del totale dei siti contaminati in Europa. La situazione in Italia e in Emilia-Romagna riflette i dati europei, con gli idrocarburi che rappresentano la principale tipologia di contaminanti del suolo.

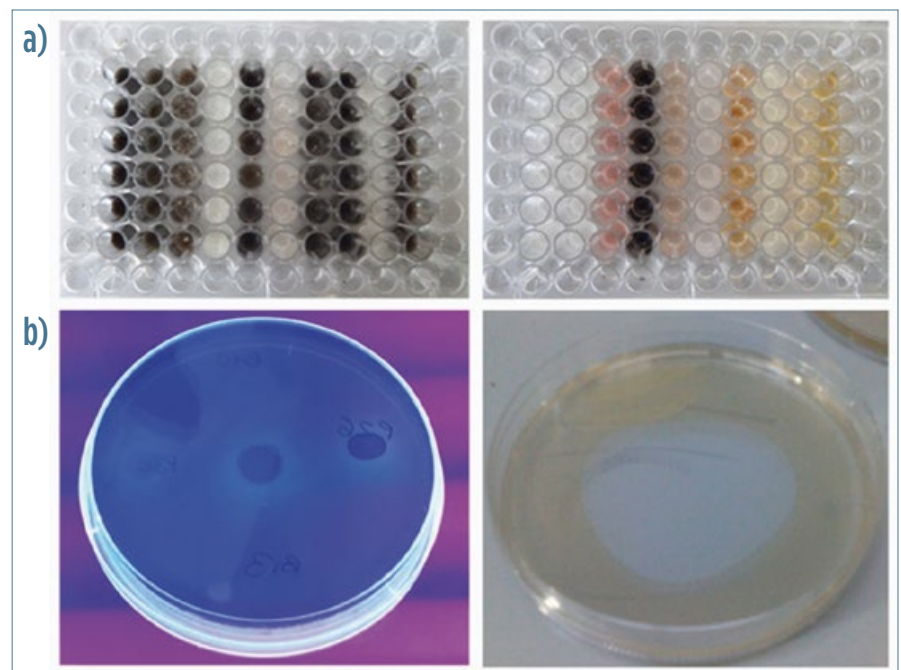
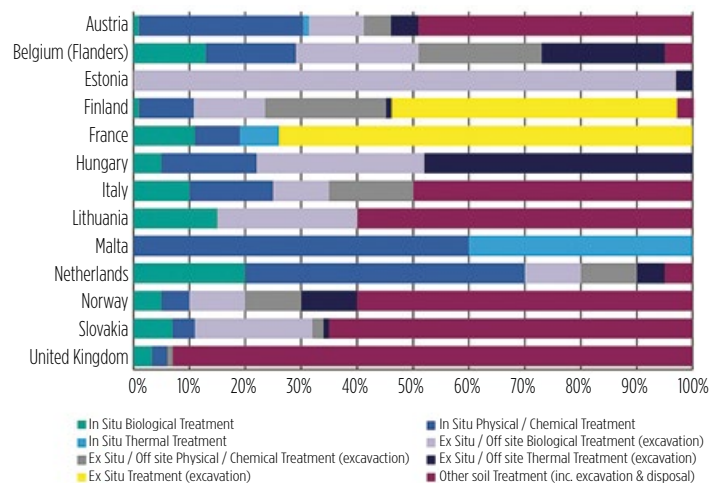
Rispetto a metalli pesanti, gli idrocarburi presentano l'innegabile vantaggio che possono essere degradati a molecole strutturalmente più semplici: nelle migliori delle ipotesi si può arrivare alla completa mineralizzazione degli inquinanti; in caso contrario è importante verificare che la scomparsa degli inquinanti non sia associata alla formazione di intermedi metabolici a tossicità anche maggiore. Il termine biorisanamento indica l'utilizzo di microrganismi o piante per rimuovere o immobilizzare i contaminanti abbassando la tossicità del sistema.

Nello specifico si distingue tra *biostimolazione*, quando elementi nutritivi (principalmente N e P) vengono aggiunti al suolo per ripristinare rapporti ottimali per la crescita e l'attività dei microrganismi, e *bioaugmentazione*, quando ceppi selezionati con spiccate capacità degradative vengono aggiunti al suolo da bonificare.

FIG. 1
BIOREMEDIATION

Tecniche di bonifica applicate nei principali paesi europei, suddivisione percentuale.

Fonte: pubblicata in Van Liedekerke et al. (2014).



1

Negli ultimi decenni l'efficacia e la convenienza economica del biorisanamento sono stati ampiamente dimostrati (Azubuile et al., 2016). Ciononostante, la diffusione di questa tecnica a livello europeo e nazionale è ancora limitata: il trattamento biologico *in situ* è applicato in meno del 20% dei casi e

con percentuali differenti nei paesi europei (Van Liedekerke et al., 2014, figura 1). Vi è quindi un'importante lacuna tra l'avanzamento scientifico raggiunto negli ultimi decenni in tema di biorisanamento e l'applicazione di questa tecnica. Per tale motivo la comunità europea ha finanziato il progetto Life Biorest - *Bioremediation*

and revegetation to restore the public use of contaminated land (www.lifebioest.com), con l'obiettivo di dimostrare i vantaggi di un protocollo di bonifica basato sull'applicazione di batteri, funghi e piante opportunamente selezionati. La storica separazione della ricerca microbiologica tra batteriologi e micologi ha spesso portato allo studio dissociato di questi due gruppi di organismi che invece in natura coesistono e interagiscono con importanti implicazioni a livello ecologico, clinico ed economico (Frey-klett et al., 2011). In natura funghi, batteri (e piante) spesso formano consorzi interdipendenti fisicamente e metabolicamente con proprietà distinte da quelle dei singoli componenti. Grazie alla complementarietà dei differenti gruppi di ricerca, il progetto Life-Bioest mira a valorizzare gli effetti sinergici tra questi differenti gruppi di organismi. Nel dettaglio, le attività del progetto sono concentrate sul sito di interesse nazionale (Sin) ex Carbochimica di Fidenza, un'area di oltre 80.000 m² a ridosso della città con una vasta e complessa contaminazione principalmente da idrocarburi. Nel Sin è già in corso un'estesa attività di bonifica con biopile addizionate di nutrienti (biostimolazione), finalizzata al raggiungimento dei limiti tabellari B del decreto legislativo 152/2006, ovvero quelli per uso commerciale ed industriale. La sfida di Life Bioest è dimostrare come l'utilizzo nei biopile di un consorzio di funghi e batteri autoctoni selezionati per le spiccate capacità degradative nei confronti di differenti inquinanti, seguito da una fase di rivegetazione in cui le piante selezionate continuano a supportare l'attività di biotrasformazione del consorzio microbico, possa portare a un abbattimento degli inquinanti tale da rientrare in tabella A (siti a uso verde pubblico, privato e residenziale). Grazie al supporto del Comune di Fidenza, sarà inoltre possibile comparare l'efficacia e la sostenibilità dei processi con e senza l'aggiunta degli organismi attuando il *Life cycle assessment* (Lca) dei processi. Le attività del progetto sono iniziate nel luglio 2016, e proseguiranno sino all'estate del 2019. Nel primo anno di attività dal suolo di Fidenza sono stati isolati e identificati centinaia di specie di funghi e batteri riconducibili

1 a) Funghi e batteri cresciuti sui differenti inquinanti durante lo screening miniaturizzato delle loro capacità degradative; b) screening di ceppi per la produzione di biosurfattanti.

2 Funghi accresciuti su lolla di riso per l'allestimento di micro- e mesocosmi.



2

a numerosi generi e specie in grado di utilizzare come unica fonte di carbonio i contaminanti più rappresentativi del Sin di Fidenza: naftalene, fenantrene, pirene, eptadecano, olio di paraffina, benzene e petrolio. Attraverso la messa a punto di un innovativo sistema di *screening* miniaturizzato sono stati selezionati i ceppi più performanti in termini di biodegradazione degli inquinanti (foto 1a), produzione di biosurfattanti (foto 1b) e di enzimi redox. Sono stati selezionati una trentina di ceppi di funghi e batteri per i quali, anche grazie alla partecipazione di un partner industriale (Actygea srl) è stata ottimizzata la produzione industriale di inoculo e la modalità di introduzione nel suolo contaminato (foto 2). I ceppi di funghi e batteri sono stati analizzati singolarmente e in differenti combinazioni (consorzi) per verificare la capacità di abbattere la concentrazione dei differenti inquinanti nell'arco di due mesi attraverso l'allestimento di microcosmi contenenti alcune centinaia di grammi del suolo contaminato. I 6 consorzi di funghi e batteri più promettenti sono stati utilizzati per allestire una serie di mesocosmi di 15 kg di suolo: nel corso della prova attualmente in corso, è monitorata la capacità di rimuovere gli inquinanti e ridurre la tossicità del suolo. Il miglior consorzio microbico sarà applicato in una



biopila nel sito di Fidenza per trattare circa 350 m³ di suolo contaminato. Il suolo dei mesocosmi viene anche utilizzato per selezionare tra i genotipi di 20 specie di piante quelle più adatte alla rivegetazione del suolo bonificato nella biopila, creando un'area dimostrativa accessibile al pubblico. Al termine del progetto, l'efficacia della bonifica sarà valutata non solo dal punto di vista chimico, ma anche ecotossicologico e microbiologico, per verificare il ripristino delle funzioni ecologiche e biologiche alla base della sua fertilità. Inoltre, attraverso l'analisi Lca verrà valutata la sostenibilità economica e ambientale dell'intero processo, paragonandolo a quelli più tradizionali. Infine, per diffondere l'uso delle buone pratiche di biorisanamento attraverso esempi dimostrativi, la stessa metodologia verrà replicata anche su campioni di suolo messi a disposizione dai partner francesi e spagnoli del progetto.

**Edoardo Puglisi¹, Federica Spina²,
Giulia Spini¹, Giovanna Cristina Varese²**

1. Dipartimento di Scienze e tecnologie alimentari per la sostenibilità della filiera agro-alimentari, Facoltà di Scienze agrarie, alimentari e ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

2. Dipartimento di Scienze della vita e biologia dei sistemi, Università degli studi di Torino

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Arpa Emilia-Romagna, *Catasto dei siti contaminati*, report 2015.

Azubuike C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C., 2016, "Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects", *World J Microbial Biotechnol*, 2016; 32(11): 180.

Frey-Klett P., Burlinson P., Deveau A., Barret M., Tarkka M., Sarniguet A., 2011, "Bacterial-Fungal Interactions: Hyphens between Agricultural, Clinical, Environmental, and Food Microbiologists", *Microbial Mol Biol Rev*, 2011; 75(4): 583-609.

Van Liedekerke M., Prokop G., Rabl-Berger S., Kibblewhite M., Lowagie G., *Progress in the Management of Contaminated Sites in Europe*, EUR 26376 2014.

LIFE BIOREST

BIORISANAMENTO, RIVEGETAZIONE E RECUPERO AMBIENTALE. LA STRATEGIA PER RESTITUIRE ALLA CITTÀ NUOVI SPAZI VERDI

Il progetto Life Biorest (www.lifebiorest.com), finanziato dalla Commissione europea nell'ambito del programma Life "Environment and Resource Efficiency" ha la finalità di dimostrare l'efficacia di un metodo biologico di riqualificazione di suoli inquinati da sostanze chimiche come idrocarburi e derivati della lavorazione del greggio e del benzene, che rappresentano in Europa il 45% del totale dei contaminanti. Il progetto prevede attività sperimentali condotte presso il sito di interesse nazionale di Fidenza (Parma), grazie al supporto del Comune che mette a disposizione infrastrutture e spazi già interessati da altre attività di bonifica.

Life Biorest propone un metodo biologico di bonifica integrato che prevede l'uso di batteri e funghi autoctoni selezionati per le loro spiccate capacità degradative nei confronti dei principali inquinanti del sito, al fine di validare un modello applicativo esportabile a livello regionale, nazionale e comunitario.

L'investimento complessivo di quasi 1,8 milioni di euro, sostenuto da un contributo europeo di circa 970 mila euro, consentirà di proporre un protocollo di bonifica e successiva rivegetazione compatibile con l'uso pubblico del suolo e di sostenere le attività della pubblica amministrazione e degli enti locali in tema di tutela del suolo e salvaguardia delle risorse del territorio.

La prima fase del progetto è finalizzata a selezionare una libreria di batteri e funghi con elevata capacità di degradazione di differenti inquinanti. Nello stesso tempo sarà validato un protocollo per la produzione di microorganismi su scala industriale in grado di bonificare fino a 400 mc di suolo. La seconda fase è finalizzata al trattamento del terreno contaminato nel sito di Fidenza attraverso l'utilizzo di biopile e alla rivegetazione del suolo riportato alle sue funzioni ecologiche originarie. La sostenibilità del processo sarà garantita monitorando costantemente le emissioni di gas serra e l'impatto ambientale.

Life Biorest contribuirà a sostenere la *Soil Thematic Strategy* promuovendo iniziative educative e di sensibilizzazione sul tema dell'inquinamento del suolo. In particolare, sono già state organizzate una serie di attività di comunicazione e disseminazione dei risultati in stretta collaborazione con la città di Fidenza, attraverso l'organizzazione di workshop tematici, attività di informazione e di educazione anche con il diretto coinvolgimento delle scuole e dei cittadini.

Obiettivi

- Dimostrare l'efficienza e la sostenibilità economica di un approccio di biorisanamento basato sull'uso di ceppi batterici e fungini ad elevata capacità di degradazione degli inquinanti
- ottimizzare protocolli e linee guida per il biorisanamento che siano applicabili a livello nazionale ed europeo
- dimostrare come l'approccio adottato può ottenere una riduzione della concentrazione di inquinanti, rispetto ai limiti di soglia per uso residenziale e pubblico del suolo
- valorizzare la bonifica con tecniche microbiologiche di siti contaminati al fine di diffondere conoscenza e consapevolezza in materia di: inquinamento, valutazione del rischio, biodiversità, ecotossicologia, ecologia del suolo e bioeconomia.

Risultati

- Efficiente biorisanamento di un'area dimostrativa (circa 400 m²) presso il sito industriale di Fidenza
- linee guida per la valorizzazione di microorganismi autoctoni per la bonifica di terreni contaminati da alcani, idrocarburi policiclici aromatici e Btex estendibile in altre aree dell'Unione europea
- riduzione della concentrazione di sostanze inquinanti presenti nel suolo compatibili con l'uso residenziale o pubblico dello stesso

- coinvolgimento degli istituti scolastici di primo e secondo grado in attività didattiche e di formazione inerenti le attività scientifiche condotte nel sito trattato

- sensibilizzazione dei cittadini e delle istituzioni circa i vantaggi del metodo biologico di biorisanamento e la rilevanza degli aspetti inerenti la biodisponibilità e i parametri ecotossicologici nella valutazione del rischio e nella decontaminazione dei suoli.



I partner del progetto

Le attività proposte dal progetto Life Biorest sono condotte da un consorzio di ricerca internazionale composto da gruppi italiani, francesi e spagnoli.

Il Consorzio Italbiotec (www.italbiotec.it) è un ente pubblico privato no-profit composto da dieci delle principali università italiane, dal Consiglio nazionale delle ricerche e da 30 società operanti nel settore delle biotecnologie industriali, è responsabile del coordinamento e delle attività di comunicazione di Life Biorest per la consolidata esperienza nella gestione di progetti nazionali e internazionali.

Il partner industriale Actygea srl (www.actygea.com) è responsabile dello sviluppo di protocolli per l'ottimizzazione delle condizioni di crescita dei microorganismi e per la produzione di biosurfattanti e consorzi microbici nei volumi necessari per bonificare le aree dimostrative del progetto.

Le analisi chimiche sono condotte dall'Agenzia regionale per la prevenzione, l'ambiente e l'energia dell'Emilia-Romagna, Arpae (www.arpae.it), responsabile della determinazione delle concentrazioni totali di contaminanti, e dall'Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Csic (www.csic.es), responsabile della quantificazione della frazione biodisponibile degli inquinanti, quella cioè in grado di interagire direttamente con i differenti organismi.

Queste analisi, unitamente ai saggi ecotossicologici eseguiti dagli altri partner, saranno in grado di fornire una valutazione del rischio del sito prima, durante e dopo la bonifica, permettendo quindi di verificare se alla scomparsa degli inquinanti corrisponde un abbattimento della tossicità dell'ambiente.

L'attività svolta dall'Istituto di Microbiologia dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza (www.unicatt.it) è concentrata sull'isolamento e lo screening di ceppi batterici con abilità degradanti e sulla rivegetazione del suolo con il supporto del partner Satt Grand Est - Welience (www.welience.com), responsabile della valutazione della qualità microbiologica del suolo mediante analisi molecolari.

Il Dipartimento di Scienze della vita e biologia dei sistemi dell'Università degli studi di Torino (www.unito.it) attraverso l'attività della Mycotheca Universitatis Taurinensis (www.mut.unito.it) si occupa invece dell'isolamento, della selezione e dell'utilizzo di funghi per degradare composti organici recalcitranti, aspetto generalmente trascurato nei progetti di biorisanamento abitualmente basati solo sull'utilizzo di batteri.

Il Comune di Fidenza, pur non qualificandosi formalmente come partner di progetto, ne sostiene l'attuazione mettendo a disposizione le risorse necessarie allo scavo dell'area, alla creazione della biopila, alla manutenzione e alla preparazione dell'area con la vegetazione con terreno rivegetato e ricoprendo un ruolo importante nell'attività di disseminazione dei risultati.