Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
125° (2007), Vol. XXXI, P. II, t. I, pp. 259-267

UMBERTO TOMATI * – ANGELO MASSACCI * – EMANUELA GALLI *

Biorimedio di reflui agro-industriali e di contaminanti ambientali

Il biorimedio coinvolge qualsiasi processo che impieghi microrganismi, funghi, piante verdi o gli enzimi da essi estratti per decontaminare suoli o/e materiali in cui siano presenti sostanze xenobiotiche. Il biorimedio, che può essere impiegato per eliminare contaminanti specifici, può essere applicato *in situ* e/o *ex situ*. Il biorimedio *in situ* riguarda tutti i trattamenti applicati direttamente sull'ambiente contaminato; il biorimedio *ex situ* presuppone la rimozione del materiale ed il trasporto in altro luogo prima dell'applicazione dei processi di bioremedio.

Le più importanti tecnologie di biorimedio sono la fitoestrazione e la biodegradazione.

La fitoestrazione viene usata per rimuovere i contaminanti da suoli, sedimenti ed acque, accumulandoli in biomasse successivamente asportabili. Il processo viene utilizzato per l'estrazione di contaminanti organici ed inorganici che vengono concentrati in masse relativamente piccole. Le piante assorbono i contaminanti attraverso il loro sistema radicale e lo concentrano nelle radici o lo traslocano nella parte aerea. Una pianta può assorbire in continuo xenobiotici fino a che non venga asportata.

La biodegradazione è un processo che permette di eliminare contaminanti e di ottenere altri composti che, opportunamente estratti, possono essere impiegati per ulteriori applicazioni. Il termine biodegradazione viene spesso usato per l'ecologia, la gestione dei rifiuti ed il risanamento ambientale ed è il processo mediante il quale i contaminanti organici vengono distrutti da organismi viventi e rielaborati in altre strutture.

* Istituto di Biologia Agro-ambientale e Forestale, CNR. Area della Ricerca di Roma 1 - Via Salaria km 29,300, 00015 Monterotondo Scalo (Roma). E-mail: emanuela.galli@ibaf.cnr.it

La biodegradazione offre quindi la possibilità di eliminare una possibile fonte contaminante per l'ambiente trasformando il refluo in risorsa.

L'Istituto di Biologia Agro-ambientale e Forestale utilizza da molti anni tecnologie per il biorimedio di suoli e di materiali contaminati da xenobiotici, organici ed inorganici. In particolare il recupero dei suoli viene affrontato tramite fitoestrazione, mentre processi di biodegradazione vengono applicati per il disinquinamento e recupero di materiali organici provenienti soprattutto da attività agroindustriali (Fig. 1).

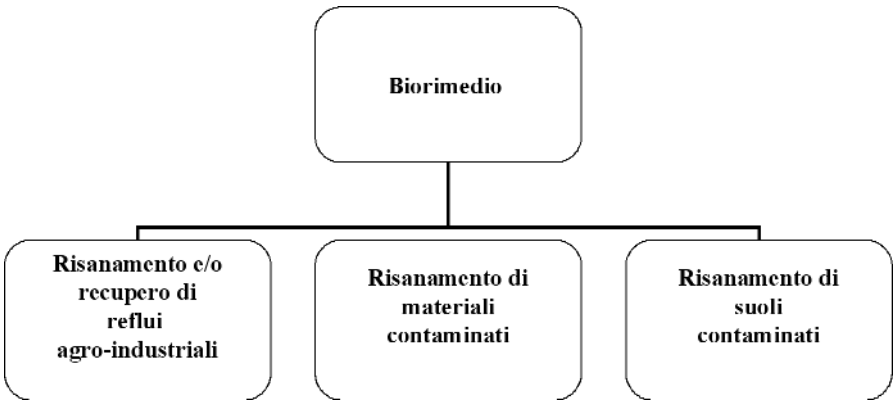


Fig. 1.

Il risanamento e/o il recupero di reflui agro-industriali è stato studiato in vista di:

- Produzione di ammendanti;
- Biotecnologie per l'estrazione di composti ad alto valore aggiunto al fine di eliminare una possibile fonte contaminante per l'ambiente trasformando il refluo in risorsa;
- Risanamento di materiali contaminati.

Nell'ambito della produzione di ammendanti e la messa a punto di biotecnologie per la produzione ed estrazione di composti ad alto valore aggiunto, l'IBAF ha coordinato il

- Programma Nazionale di Ricerca CNR-MURST, Legge 95/95: «Riciclo dei reflui del sistema agricolo-industriale», sottoprogetto: «Reflui oleari» ed il
- Progetto MIUR– Cluster C08-A, N° 3: «Ricerca avanzata per il riciclo dei sottoprodotti dell'industria olearia»
- ed ha partecipato a progetti comunitari, ad azioni coordinate ed a progetti nazionali e regionali.

Per quanto riguarda il risanamento di materiali contaminati ha preso in considerazione materiali lignino cellulosici, il particolare traversine ferroviarie, dismesse

in base alla Direttiva 2001/90/CE per l'alta concentrazione di creosoto presente nei suddetti materiali.

In questo ambito L'IBAF ha partecipato al progetto CNR-RFI: «Studio del processo meccanochimico di trattamento e recupero di traversine ferroviarie trattate con creosoto» e partecipa all'accordo di cooperazione scientifica CNR-AVCR: «Bioremediation of contaminated soil and wood by ligninolytic fungi».

Il risanamento dei suoli contaminati mediante impianti di salicacee è stato affrontato in un progetto portato avanti in collaborazione con ENI Refining & Marketing S.p.A con l'obiettivo di sviluppare un fitosistema in grado di controllare il bilancio idrico ed allo stesso tempo avviare la decontaminazione di un area inquinata da vari metalli pesanti presso l'«Isola dei Petroli» a Porto Marghera. Su questo stesso obiettivo altri accordi di collaborazione sono stati avviati con l'ARPA Umbria, sede di Terni, e riguardano anche in questo caso decontaminazione da cadmio di suoli industriali.

* * *

Vengono di seguito riportati i risultati più importanti conseguiti nei singoli ambiti.

Produzione di ammendanti

- Acquisizione di conoscenze scientifiche sulla chimica del processo di compostaggio e sull'effetto del valore fertilizzante del compost (tab. 1 e 2).
- Acquisizione di conoscenze tecnologiche che hanno permesso la progettazione e costruzione di impianti per la produzione di compost di qualità.

Biotecnologie per l'estrazione di composti ad alto valore aggiunto

Sono state messe a punto biotecnologie per la produzione di biomasse fungine, in particolare *Pleurotus*, da utilizzare quale materia prima per l'estrazione di composti ad alto valore aggiunto impiegabili in diversi settori industriali. Lo studio ha riguardato in particolare di:

– chitina e chitosano, polimeri usati nell'industria cosmetica, alimentare e farmaceutica. Un particolare aspetto è l'impiego del chitosano nell'adsorbimento di metalli pesanti;

– β-glucani, particolarmente importanti per le loro qualità farmacologiche; sembrano infatti avere un ruolo molto importante nel potenziamento del sistema immunitario e in alcuni casi hanno mostrato persino azione antitumorale. I β -1,3-glucani fungini sono stati classificati come Biological Response Modifiers (BRM), la maggior parte dei quali è stata isolata da basidiomiceti;

– esopolisaccaridi, alcuni dei quali sono noti per la loro attività antiossidante. Questa capacità è stata sfruttata per tentare di inibire la produzione di aflatossine, micotossine prodotte da *Aspergillus* negli alimenti e nei mangimi.

Tab. 1 - Evoluzione della sostanza organica durante il processo di compostaggio dei reflui oleari con paglia di grano.

Giorni	TOC % p.s.	TEC % p.s.	C/N	% Lignina degradata	HA % p.s.	FA % p.s.	NH % p.s.	DH %	HR %	HI
0	45,2	–	35,4	0	–	–	–	–	–	–
6	44,6	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	42,8	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23	41,2	–	–	70	–	–	–	–	–	–
35	40,4	13,9	28,2	70	6,6	3,9	3,4	75,5	25,9	0,32
63	35,2	16,9	12,6	–	8,9	4,4	3,6	78,7	37,8	0,27
90	36,2	19,4	–	70	10,0	5,4	4,0	79,4	42,5	0,25
110	36,3	19,0	11,8	–	10,0	5,5	3,5	81,6	42,7	0,22
140	35,3	18,8	11,5	–	10,0	4,7	4,1	78,2	41,6	0,28

HA = Acidi Umici; FA = Acidi Fulvici; NH = Umina; DH = grado di umificazione; HR = tasso di umificazione; HI = indice di umificazione.

Tab. 2 - Analisi del compost dopo 140 giorni dall'inizio del processo di compostaggio dei reflui oleari con paglia di grano.

Umidità (%)	37,3
Massa volumica (kg dm $^{-3}$)	0,345
Ritenzione idrica (%)	195
Conducibilità elettrica (mS cm^{-1})	9,56
Indice di germinazione (75%)	30
Grado di umificazione (%)	78,2
Tasso di umificazione (%)	41,6
Indice di umificazione	0,28
Azoto totale (% dw)	3,1
P_20_5 (% dw)	1,4
K_2O (% dw)	2,1
Ca (% dw)	1,9
Fe (% dw)	0,5
MgO (% dw)	1,3
Mn (% dw)	0,02
Zn (% dw)	0,02
Al (% dw)	0,2
Cu, Cd, Pb, Hg (ppm)	< 1

Risanamento di materiali contaminati

Sono stati individuati numerosi ceppi di basidiomiceti in grado di degradare totalmente i fenoli e, in diversa misura, le diverse classi di idrocarburi presenti nel creosoto.

In particolare è stato impiegato il *Pleurotus ostreatus.* Lo studio è stato effettuato a livello di laboratorio ma i risultati sembrano applicabili su più larga scala.

La Fig. 2 evidenzia la capacità di degradazione della biomassa fungina cresciuta in una miscela al 50% di paglia e legno trattato con creosoto.

Risanamento di suoli contaminati da metalli pesanti tramite fitodepurazione

L'attività di fitorimedio include sia applicazioni in aree contaminate che studi di approfondimento delle conoscenze su alcuni processi fisiologici e metabolici che interagiscono con l'assorbimento radicale di Cd in ambiente idroponico e con la sua tossicità a livello fogliare in vari genotipi di pioppo. Su quest'ultimo aspetto sono in

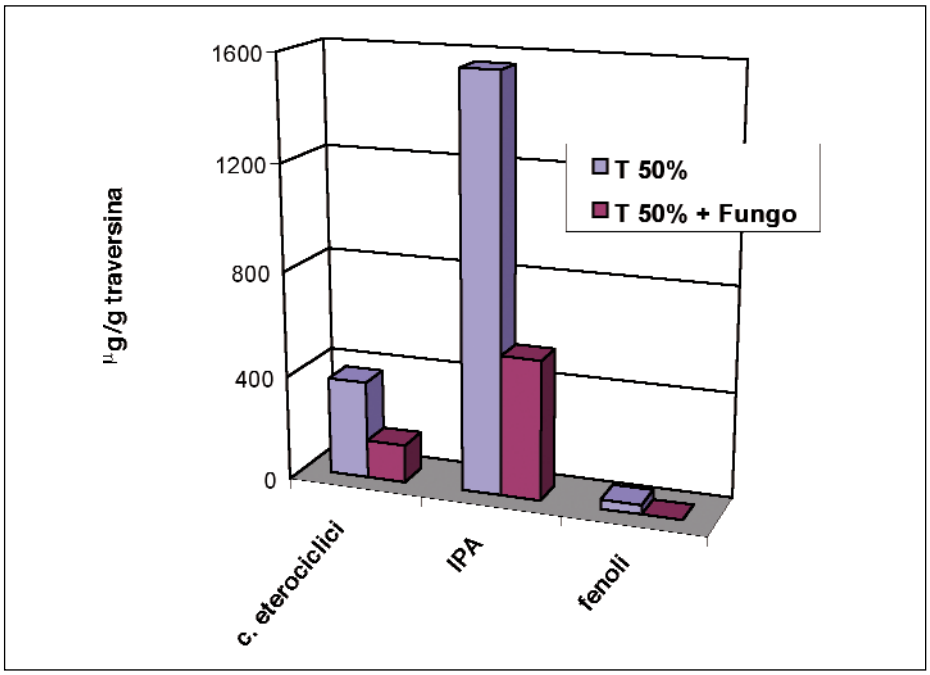


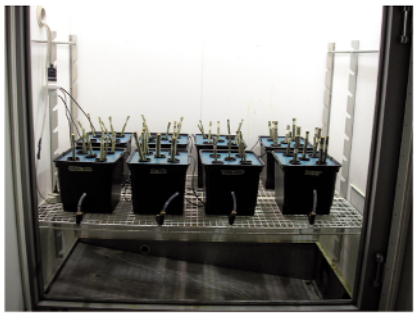
Fig. 2. Variazione dei componenti del creosoto dopo 30 giorni di crescita di P. ostreatus nella miscela al 50% di paglia e legno trattato con creosoto (T 50%).

corso studi di selezione di cloni per la capacità di estrarre cadmio utilizzando approcci sia fisiologici che genetico-molecolari. Questa attività è svolta in collaborazione con l'Università della Tuscia che ha contribuito a costituire un'ampia raccolta di germoplasma presso il campo sperimentale dell'IBAF a Montelibretti. La capacità di estrazione del cadmio è stata correlata con l'attività fotosintetica e traspirativa e questo ha permesso di stabilire che è possibile monitorare l'andamento del processo di fitorimedio con pioppo o salice attraverso misure di fotosintesi.

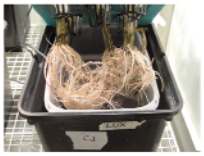
Riguardo l'applicazione di fitostabilizzazione e fitoestrazione di metalli pesanti in un'area sperimentale situata all'interno dell'«Isola dei Petroli» nella Raffineria di Venezia di ENI S.p.A., i principali risultati hanno consentito di quantificare le componenti fondamentali del bilancio idrologico ed il ruolo che l'impianto sperimentale di pioppi e salici ha nella sua regolazione. È stata inoltre sperimentata la capacità di *Pteris vittata* di estrarre As. I risultati hanno confermato che tale specie è in grado di bioconcentrare tale metallo pesante molto al di sopra della concentrazione presente nel suolo.

Selezione dei cloni più idonei

L'uso di talee in coltura idroponica costituisce uno dei metodi più utilizzati per valutare la capacità delle diverse specie, o cloni della stessa specie, di assorbire, tollerare e sopravvivere in presenza di metalli pesanti. Tale sistema permette di rimuovere le limitazioni derivanti dalla ridotta bio-disponibilità del metallo nei suoli.



Condizioni di crescita: 3 settimane
Temperatura 25°/22°C,
PAR 300 µmol m^{-2} s^{-1},
Umidità relativa 60-70%,
Fotoperiodo 14 ore di luce.
Soluzione Hoagland



Trattamento: 3 settimane
0 (controllo),
50 µM di $CdSO_4$ (trattamento),
ripristino livello ogni 3 giorni.

Particolari del sistema di coltura idroponica in ambiente controllato

Fig. 3. Selezione in ambiente controllato di cloni di pioppo per la capacità di estrazione di cadmio da acque contaminate.

PRINCIPALI PUBBLICAZIONI SULL'ARGOMENTO

Tomati U., E. Galli, L. Pasetti, E. Volterra, 1995. Bioremediation of olive-mill wastewaters by composting. Waste Management & Research, 13, 509-518.

Tomati U., E. Galli, F. Fiorelli, L. Pasetti, 1996. Fertilizers from composting of olive-mill wastewaters. Int. Biodeterioration & Biodegradation, 38 (3-4), 155-162.

Galli E., L. Pasetti, F. Fiorelli, U. Tomati, 1997. Olive-mill wastewater composting: microbiological aspects. Waste Management & Research, 38, 164-170.

Madejon E., E. Galli, U. Tomati, 1998. Composting of wastes produced by low water consuming olive mill technology. Agrochimica XLII (3), 49-60.

Tomati U., E. Madejon, E. Galli, 2000. Evolution of humic acid molecular weight as an index of compost stability. Compost Science & Utilization, 8 (2), 108-115.

De Simone C., U. Tomati, E. Galli, M. Owczarek, A. De Marco, C. D'Ambrosio, F. Alianiello, L. Cortellini, 2000. Evaluation of toxic and genotoxic activity of some composts from different origin. Fresenius Environmental Bulletin, 9 (9-10), 683-690.

Massacci A., M. Antonielli, S. Pasqualini, L. Ederli, P. Batini and F. Loreto, 2000. Phragmites australis in the Trasimeno lake (Central Italy): importance of morpho-physiological characteristics of plants for ecosystem preservation. In: *Phytoremediation State of the art in Europe. Creta April* pp. 29-31.

Tomati U., E. Madejon, E. Galli, D. Capitani, A.L. Segre, 2001. Structural changes of humic acids during olive mill pomace composting. Compost Science & Utilization, 9 (2), 134-142.

Massacci A., M.A. Iannelli, F. Pietrini, 2001. La Phytoremediation: organismi vegetali come potenziali agenti disinquinanti. Boll. Soc. It. Scienza del Suolo 50 (3), 581-588.

Massacci A., F. Pietrini, M.A. Iannelli, 2001. Remediation of wetlands by Phragmites australis. Minerva Biotechnologica, 13, 135-140.

Rossi G., A. Figliolia, P. Menesatti, A. Massacci, S. Socciarelli, B. Felici, 2001. Phytoextraction of Cadmium and Zinc by *Brassica napus* L. at three relevant growth stages. A pot experience. Intern Symp. on Environmental pollution and its impact on life in the Mediterranean Region 6-10 October, Cyprus 2001.

Iannelli M.A., F. Pietrini, L. Fiore, L. Petrilli, A. Massacci, 2002. Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* [Cav. (trin) ex Steud)] plants. *Plant Physiol Biochem* 40, 977-982.

Antonielli M., S. Pasqualini, P. Batini, L. Ederli, A. Massacci, F. Loreto, 2002. Physiological and anatomical characterisation of *Phragmites australis* leaves. Aquatic Botany, 72, 55-66.

Tomati U., E. Galli, 2002. Recycling of organic matter from wastes to restore soil fertility: a critical review. In: *Bioresource & Environment* (G. Tripathi and Y.C. Tripathi, eds), Campus Book International, New Delhi, pp. 150-181.

Pietrini F., M.A. Iannelli, S. Pasqualini, A. Massacci, 2003. Interaction of Cadmium with Glutathione and Photosynthesis. In: *Developing Leaves and Chloroplasts of Phragmites australis* Trin. ex Steudel. *Plant Physiol* 133 (2), 829-837.

S. Marconi, R. Angelucci, M. Errichetti, E. Galli, M. Rossi, S. Selvi, U. Tomati, C. De Simone, 2004. Humic acids from compost in antimutagenesis processes in soil. Fresenius Environmental Bullettin, 13 (12A) 1395-1397.

Pietrini F., M.A. Iannelli, A. Massacci, 2005. Heavy metal interaction with photosynthesis in Lemna minor. Advances in Plant Physiology vol. 8, Treatise series in: *Physiology and Molecular Biology of Plants* (A. Hemantaranjan, ed.).

Di Mario F., E. Galli, P. Rapanà, U. Tomati, 2006. Fungal biomass as an alternative source of chitin and chitosan. Proceedings of 10th International Conference on Citin and Chitosan, Montpellier, France 6-9 Sept.

Galli E., P. Rapanà, U. Tomati, C.M. Polcaro, E. Brancaleoni, M. Frattoni, 2006. Degradation of creosote by *Pleurotus ostreatus* mycelium in creosote-treated wood. Fresenius Environmental Bulletin, 15 (8a), 720-723.

Di Mario F., P. Rapanà, U. Tomati, E. Galli, 2007. Chitin and chitosan from basidiomycetes. International Journal of Biological Macromolecules. In press as doi:10.1016/j.ijbiomac.2007.10.005

Polcaro C.M., E. Galli, E. Donati, P. Rapanà, E. Brancaleoni, M. Frattoni, 2007. Funghi lignino-litici per il biorimedio di legno impregnato con creosoto. Atti delle Giornate dell'Elettrochimica Italiane - Elettrochimica per il recupero ambientale. Cagliari 15-20 Luglio 2007, H7.

Galli E., F. Di Mario, P. Rapanà, 2007. Ligninolytic enzymes during bioremediation of creosote-treated wood by *Pleurotus ostreatus*. 3rd International Conference: Enzymes in the environment: ecology, activity, applications. Viterbo (Italy), 15-19 July 2007, n. 915, p. 102.