

Università Ca' Foscari Venezia



**Università
Ca' Foscari
Venezia**

Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali, XXIII ciclo

Scuola di Dottorato in Scienze e Tecnologie

A.A. 2009-2010

**FITORISANAMENTO DI SUOLI CONTAMINATI
DA METALLI PESANTI E METALLOIDI**

Settore SSD: BIO 07

Tesi di dottorato di Fabiola Minello

matricola 955523

Direttore della Scuola di dottorato:

Prof. Paolo Ugo

Tutor:

Prof. Emanuele Argese

Coordinatore del dottorato:

Prof. Bruno Pavoni

Sommario

1	INTRODUZIONE GENERALE	1
1.1	LA PROBLEMATICHE DEI SITI CONTAMINATI -----	1
1.1.1	<i>Normativa nazionale in tema di bonifica di siti contaminati</i> -----	4
1.2	TECNOLOGIE DI BONIFICA -----	9
1.2.1	<i>Tecnologie fisiche, chimico-fisiche e termiche</i> -----	11
1.2.2	<i>Tecnologie biologiche</i> -----	14
1.3	METALLI PESANTI E METALLOIDI NEL SUOLO -----	16
1.3.1	<i>Sorgenti di metalli pesanti nei suoli</i> -----	17
1.3.2	<i>Mobilità e biodisponibilità</i> -----	19
1.4	METALLI PESANTI E PIANTE SUPERIORI -----	23
1.4.1	<i>Ruolo biologico dei metalli nelle piante superiori</i> -----	23
1.4.2	<i>Fitotossicità dei metalli pesanti</i> -----	25
1.4.3	<i>Tolleranza ai metalli pesanti nelle piante superiori</i> -----	26
1.4.4	<i>Bioaccumulo di metalli pesanti nelle piante</i> -----	34
1.5	IL FITORIMEDIO -----	37
1.5.1	<i>Fitoestrazione e metalli pesanti</i> -----	42
1.6	ARTICOLAZIONE DELL'ATTIVITÀ DI TESI -----	50
1.7	BIBLIOGRAFIA -----	52
2	MATERIALI E METODI E CONTROLLO QUALITÀ DEL DATO ANALITICO	65
2.1	MATERIALI E METODI -----	65
2.1.1	<i>Reagenti e Materiali</i> -----	65
2.1.2	<i>Strumentazione</i> -----	66
2.1.3	<i>Determinazione di metalli pesanti e metalloidi nel suolo</i> -----	69
2.1.4	<i>Speciazione geochimica</i> -----	69

2.1.5	<i>Determinazione di metalli pesanti e metalloidi in materiale vegetale</i>	74
2.1.6	<i>Determinazione del fosforo totale</i>	74
2.1.7	<i>Determinazione del carbonio totale</i>	75
2.1.8	<i>Determinazione dell'azoto totale</i>	76
2.1.9	<i>Determinazione del grado di reazione (pH)</i>	76
2.1.10	<i>Determinazione della granulometria</i>	76
2.1.11	<i>Determinazione del potenziale redox</i>	77
2.1.12	<i>Determinazione della conduttività elettrica</i>	77
2.1.13	<i>Determinazione della salinità</i>	78
2.1.14	<i>Determinazione della capacità di scambio cationico</i>	78
2.2	CONTROLLO QUALITÀ DEL DATO ANALITICO	79
2.3	BIBLIOGRAFIA	84
3	LA ROTONDA DI SAN GIULIANO E L'ISOLA DI MURANO	87
3.1	INTRODUZIONE GENERALE AI CASI DI STUDI	87
3.2	STATO DELL'ARTE SU <i>PTERIS VITTATA</i>	89
3.2.1	<i>Assorbimento, trasporto e detossificazione dell'arsenico in P. vittata</i>	91
3.3	L'AREA DI STUDIO: LA ROTONDA DI SAN GIULIANO	98
3.3.1	<i>Indagini pregresse esistenti sull'area di studio</i>	99
3.3.2	<i>Caratterizzazione dell'area di studio</i>	105
3.3.3	<i>Esperimento di fitoestrazione con Pteris vittata</i>	114
3.3.4	<i>Conclusioni</i>	127
3.4	L'AREA DI STUDIO: L'ISOLA DI MURANO	130
3.4.1	<i>Indagini pregresse esistenti sull'area di studio</i>	131
3.4.2	<i>Caratterizzazione dell'area di studio</i>	133
3.4.3	<i>Esperimento di fitoestrazione con Pteris vittata</i>	144
3.4.4	<i>Conclusioni</i>	152

3.5	BIBLIOGRAFIA	154
4	L'EX POLIGONO DI TIRO AL VOLO IN LOCALITA' CAMPALTO	161
4.1	INTRODUZIONE GENERALE AL CASO DI STUDIO	161
4.2	LA BARENA DI CAMPALTO	164
4.3	L'AREA DI STUDIO: L'EX POLIGONO DI TIRO AL VOLO	171
4.3.1	<i>Indagini pregresse esistenti sull'area di studio</i>	173
4.3.2	<i>Caratterizzazione dell'area di studio</i>	176
4.4	ANALISI DELLE SPECIE VEGETALI	199
4.4.1	<i>Campagna Estate 2008</i>	201
4.4.2	<i>Campagna Primavera 2009</i>	203
4.5	ESTRAZIONI CON CHELANTI	206
4.6	CONCLUSIONI	210
4.7	BIBLIOGRAFIA	212

1 INTRODUZIONE GENERALE

1.1 La problematica dei siti contaminati

La problematica dei siti contaminati è di grande attualità e assume un'importanza estremamente rilevante nell'ambito del rischio ambientale e della salute pubblica.

Con il termine inquinamento si intende la presenza nell'ambiente di sostanze (ed energia) capaci di causare un rischio per la salute umana, pericolo per gli esseri viventi ed ecosistemi, danni a strutture ed al paesaggio, che comportano una perdita del valore d'uso della risorsa ambientale (es. divieto di pesca o di balneazione). Un inquinante è una sostanza che anche a basse concentrazioni esercita un'azione tossica sugli organismi viventi e l'ecosistema nel suo complesso.

Le aree soggette a inquinamento, e quindi che necessitano di opere di bonifica, sono molto numerose nel territorio italiano e includono, ad esempio, impianti di distribuzione e depositi di carburanti, aree artigianali e industriali, impianti dismessi o in via di dismissione, discariche abusive e zone di deposito di rifiuti. Tali aree sono spesso fonte di inquinamento per l'ambiente circostante a causa dei fenomeni di diffusione degli inquinanti quali la dispersione di polveri e la lisciviazione dei suoli ad opera degli agenti atmosferici. Ciò comporta una notevole complessità della contaminazione che riguarda sia il suolo che le falde acquifere, della quale bisogna tenerne conto in fase di bonifica [Venturi, 2002]. E' stato accertato che i siti contaminati pongono significativi rischi ambientali per l'ecosistema in generale, interferendo profondamente nelle dinamiche ambientali, ad esempio modificando i cicli biogeochimici, o causando la perdita di biodiversità. Essi, infatti, sono importanti fonti di inquinamento e ciò può manifestarsi con effetti ecotossicologici che possono essere acuti e/o cronici: tali effetti si verificano a tutti i livelli dell'organizzazione biologica, quindi ne sono affetti non solo alcuni

organismi, ma anche gli ecosistemi nel complesso della loro funzione e struttura. I contaminanti del suolo, che possono essere composti organici e/o inorganici (metalli pesanti e metalloidi), infatti, possono essere caratterizzati da alti livelli di tossicità, di persistenza nell'ambiente e da una certa mobilità che può portare alla contaminazione delle acque sotterranee e alla catena alimentare. Inoltre, le sostanze contaminanti organiche spesso sono caratterizzate da un'elevata lipofilità che può favorire il bioaccumulo lungo le catene alimentari. E' stato anche dimostrato da numerosi studi ed indagini epidemiologiche eseguite tra gli altri dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), dal Centro Europeo Ambiente e Salute ed in Italia dall'Istituto Superiore di Sanità che, negli ultimi anni, è aumentato il numero di siti industriali nei quali livelli eccessivi di contaminanti nel suolo possono comportare rischi per la salute umana [Fent, 2003; Ahmad *et al.*, 2005; Venturi, 2002].

Nel territorio europeo sono circa due milioni i siti potenzialmente contaminati, ovvero siti in cui non c'è stata stima delle reali dimensioni dell'inquinamento e dei suoi effetti sull'ambiente, ma ve ne sono almeno altri 120.000 per i quali è sicura la necessità di interventi di risanamento [EEA, 2005]; tra questi, la maggior parte sono siti di attività industriali, attivi o dismessi, o di attività militari. Nel territorio italiano sono presenti circa 4400 aree contaminate, di cui solo il 10% sono state bonificate [APAT, 2004]; sono aree industriali attive e dismesse, impianti di distribuzione e depositi carburanti, zone artigianali e zone di deposito rifiuti gestite sia correttamente che in modo abusivo. In particolare, nella categoria dei siti di deposito rifiuti, rientrano tipologie molto eterogenee accomunate dalla modalità di deposito dei rifiuti, realizzato, in passato, spesso in modo incontrollato. Ciò comporta una notevole complessità della contaminazione che riguarda sia il suolo che le falde acquifere, della quale bisogna tenere conto in fase di bonifica [Venturi, 2002].

A queste aree pesantemente inquinate vanno aggiunti i circa 1500 siti minerari abbandonati [APAT, 2004] che portano il programma nazionale di bonifica ad identificare un totale di 154 mila ettari di terreno contaminato da rifiuti, non solo di tipo industriale, che richiedono interventi complessi [Corpo Forestale dello Stato, 2005]. Il programma nazionale delle

bonifiche, approvato nel 2001 dal Ministero dell'Ambiente appare in forte ritardo, non solo per la mancanza degli strumenti economici, ma talvolta anche di vuoti legislativi che permettono il protrarsi della disputa legale fra inquinato (Stato) e inquinatore (industria privata); per la maggior parte dei siti contaminati si è giunti solo alla loro messa in sicurezza d'emergenza. Con il termine sito contaminato ci si riferisce a tutte quelle aree nelle quali, in seguito ad attività umane, pregresse o tutt'ora in corso, è stata accertata un'alterazione delle caratteristiche qualitative dei terreni, delle acque superficiali e sotterranee, le cui concentrazioni superano quelle imposte dalla normativa.

Nel panorama italiano sono presenti inoltre 54 SIN, ovvero siti d'interesse nazionale. Essi sono delle aree del territorio nazionale definite in relazione alle caratteristiche del sito, alle quantità e pericolosità degli inquinanti presenti, all'impatto sull'ambiente circostante in termini di rischio sanitario ed ecologico e ritenute per questo prioritarie nell'elenco dei siti da bonificare. I SIN vengono individuati e perimetrati con Decreto del Ministro dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, d'intesa con le regioni interessate e differiscono dagli altri siti contaminati perché la loro procedura di bonifica è attribuita al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. Nonostante queste aree pesantemente inquinate, dalla relazione annuale sullo stato dell'ambiente italiano, compilata dal Ministero dell'Ambiente sulla base dei dati ISPRA, si nota come in Italia la qualità dell'ambiente sia generalmente migliorata negli ultimi 15 anni; si osserva, ad esempio, un arresto del trend di emissione di gas serra e una lieve riduzione nelle emissioni, anche se probabilmente non in misura tale da rientrare nel protocollo di Kyoto, come sottolineato dall'Agenzia Europea dell'Ambiente (EEA), ma è senz'altro il segno che la direzione da seguire è quella giusta. In aggiunta ai sopra citati SIN, e alle varie aree industriali dimesse e non, è da rilevare come vi sia una zona di inquinamento diffuso dell'aria a livello dei grandi centri urbani e prevalentemente nella parte settentrionale del territorio, in Pianura Padana.

1.1.1 Normativa nazionale in tema di bonifica di siti contaminati

Nel 1996 la Commissione Europea ha fondato CARACAS, un'azione concertata sull'analisi di rischio dei siti contaminati, coordinata dall'Agenzia per l'Ambiente Tedesca, alla quale hanno aderito 16 paesi europei, tra cui l'Italia [Ferguson, 1999].

Da questo progetto comune, a livello nazionale, è stata redatta una normativa che indicava un metodo chiaro e dettagliato a livello tecnico ed operativo. Il Decreto Legislativo 22/97, noto con il nome di "Decreto Ronchi", è il recepimento delle direttive europee:

- 91/156/CEE (in tema di rifiuti);
- 91/689/CEE (in tema di rifiuti pericolosi);
- 94/62/CE (sugli imballaggi e rifiuti degli imballaggi)

e costituisce nel panorama italiano il primo decreto che abbia descritto le condizioni per le quali sia necessario intraprendere un'opera di bonifica e quali siano le persone giuridiche e gli enti pubblici coinvolti direttamente nelle attività correlate a questa. Con tale decreto le autorità competenti avevano il compito di adottare iniziative volte a favorire la prevenzione e la riduzione della produzione e della pericolosità dei rifiuti, ad esempio mediante lo sviluppo di tecnologie che consentissero maggiore risparmio di risorse naturali, azioni di informazione e sensibilizzazione dei consumatori, sviluppo di tecniche appropriate per l'eliminazione di sostanze pericolose contenute nei rifiuti destinati ad essere smaltiti o recuperati, ecc. Il "Decreto Ronchi" prevedeva inoltre che per lo smaltimento dei rifiuti fossero utilizzati i metodi e le tecnologie più idonee a garantire un elevato grado di protezione dell'ambiente e della salute pubblica.

Il Decreto Legislativo 22/97 rimandava all'emanazione di un successivo regolamento attuativo: la definizione dei limiti di accettabilità della contaminazione dei suoli e delle acque, le procedure di riferimento per il prelievo e l'analisi dei campioni, i criteri generali per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati e la redazione dei progetti di bonifica. Il regolamento attuativo del decreto 22/97 è il Decreto Ministeriale n. 471 del 25

ottobre 1999. Il D.M. 471/99 è il “*Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell’art. 17 del Decreto Legislativo 5 febbraio 1997, n. 2, e successive modificazioni e integrazioni*”.

L’allegato 4 del D.M. 471/99 descrive i criteri generali per la redazione del progetto di bonifica, che viene articolato in tre livelli di approfondimento tecnico: il primo livello è il piano di caratterizzazione, il secondo è il progetto preliminare ed il terzo livello è il progetto definitivo.

Il piano di caratterizzazione, in particolare, descrive il sito oggetto di indagine, le attività che si svolgono e che si sono svolte in esso, individua l’area e l’estensione della possibile contaminazione, descrive le componenti ambientali sia del sito che dell’area circostante e le condizioni necessarie alla tutela dell’ambiente e della salute pubblica e presenta un piano delle indagini da attuare per definire dettagliatamente l’inquinamento.

L’articolo 2 del D.M. n. 471/1999 definisce sito inquinato, quindi che necessita di bonifica, il “*sito che presenta livelli di contaminazione o alterazioni chimiche, fisiche o biologiche del suolo o del sottosuolo o delle acque superficiali o delle acque sotterranee, tali da determinare un pericolo per la salute pubblica o per l’ambiente naturale o costruito. Ai fini del presente decreto è inquinato il sito nel quale anche uno solo dei valori di concentrazione delle sostanze inquinanti nel suolo o nel sottosuolo o nelle acque sotterranee o nelle acque superficiali risulta superiore ai valori di concentrazione limite accettabili stabiliti dal presente regolamento*”. E’ inoltre definito sito potenzialmente inquinato quello “*nel quale, a causa di specifiche attività antropiche pregresse o in atto, sussiste la possibilità che nel suolo o nel sottosuolo o nelle acque superficiali o nelle acque sotterranee siano presenti sostanze contaminanti in concentrazioni tali da determinare un pericolo per la salute pubblica o per l’ambiente naturale o costruito*”.

I valori di concentrazione limite accettabili nel suolo e nel sottosuolo e nelle acque sotterranee e superficiali sono indicati nell’Allegato 1 del D.M. n. 471/1999. I valori di concentrazione limite accettabili nel suolo e nel sottosuolo sono distinti a seconda della destinazione d’uso dei siti da bonificare: nella colonna A sono indicati i valori limite per siti ad

uso verde pubblico, privato e residenziale, mentre nella colonna B quelli per siti ad uso commerciale ed industriale.

Tuttavia, già a livello di comunità europea si può notare come bonificare tutti i siti fino “alle concentrazioni di fondo naturale”, con quasi 2 milioni di siti potenzialmente contaminati [EEA, 2005], in maniera molto diversa fra loro, con vari mix di sostanze e concentrazioni e in aree molto differenti, non sia un’operazione sostenibile, né a livello economico né a livello tecnico; per questo si è pensato di operare sui siti contaminati in modo da renderli *idonei per l’uso*.

Oggi la normativa a livello nazionale è rappresentata dal Decreto Legislativo n. 152 del 3 aprile 2006, noto come Codice sull’Ambiente o Testo Unico (TU) che raccoglie, riordina e modifica la normativa ambientale precedente; il decreto è suddiviso in sei parti, che comprendono:

- disposizioni comuni e principi generali;
- VIA (valutazione impatto ambientale), VAS (valutazione ambientale strategica) e IPPC (autorizzazione ambientale integrata);
- difesa del suolo, tutela delle acque e gestione delle risorse idriche;
- gestione rifiuti e bonifica dei siti contaminati;
- tutela dell’aria e riduzioni delle emissioni in atmosfera;
- tutela risarcitoria contro i danni dell’ambiente.

In particolare, nella quarta parte, il D. Lgs. 152/06 disciplina gli interventi di bonifica e di ripristino ambientale dei siti contaminati e definisce le procedure, i criteri e le modalità per lo svolgimento delle operazioni necessarie per l'eliminazione delle sorgenti dell'inquinamento e comunque per la riduzione delle concentrazioni di sostanze inquinanti, in armonia con i principi e le norme comunitarie, con particolare riferimento al principio "chi inquina paga".

Nel D. Lgs. 152/06 viene inoltre modificata la definizione di sito contaminato e si introducono i concetti di *Concentrazione Soglia di Rischio (CSR)* e di *Concentrazione Soglia di Contaminazione (CSC)*. Le *Concentrazioni Soglia di Rischio* sono “*i livelli di contaminazione*

delle matrici ambientali, da determinare caso per caso con l'applicazione della procedura di analisi di rischio sito specifica...e sulla base dei risultati del piano di caratterizzazione". Il superamento delle CSR richiede la messa in sicurezza e la bonifica del sito ed esse costituiscono i livelli di accettabilità per il sito.

Le Concentrazioni Soglia di Contaminazione sono *"i livelli di contaminazione delle matrici ambientali che costituiscono valori al di sopra dei quali è necessaria la caratterizzazione del sito e l'analisi di rischio sito specifica"*.

In base all'articolo 240 del Testo Unico viene definito sito contaminato *"un'area o porzione di territorio, geograficamente definita e determinata, intesa nelle diverse matrici ambientali (suolo, sottosuolo ed acque sotterranee) e comprensiva delle eventuali strutture edilizie ed impiantistiche presenti, nella quale i valori delle concentrazioni soglia di rischio (CSR)...risultano superati"*.

Nel D. Lgs. 152/2006 i valori di CSR non sono tabellari ma dipendono dalla tipologia del sito; nel decreto sono comunque presenti dei limiti tabellari ma solamente per quanto riguarda le Concentrazioni Soglia di Contaminazione (CSC), i cui valori, per quanto riguarda il suolo e il sottosuolo, figurano nell'Allegato 5 del Testo Unico (T.U.) e precisamente nella Tabella 1 che, come già nell'allegato 1 del DM. n. 471/1999, distingue detti valori a seconda che il sito sia ad uso verde pubblico, privato e residenziale o ad uso commerciale ed industriale [Cerruto, 2006]. Il superamento di tali valori, però, non comporta più l'immediata disposizione di attuazione della bonifica. Nel caso in cui in un sito si riscontrino valori di sostanze inquinanti superiori ai valori di concentrazioni soglia di contaminazione, si procede alla caratterizzazione del sito ed alla successiva analisi di rischio sanitario e ambientale sito specifica. Dopo aver eseguito ciò, si determina lo stato di contaminazione secondo le concentrazioni soglia di rischio e in base al superamento o meno di tali valori si procede alla messa in sicurezza e alla bonifica.

Il D. Lgs. n. 152/2006 prevede l'abrogazione del Decreto Ronchi e del D.M. 471/99 (articolo 264, comma 1) con la conseguenza che le disposizioni da seguire in caso di contaminazione di siti sono quelle prescritte dal Testo Unico. Nel caso in cui, però, la contaminazione sia avvenuta

e si sia manifestata precedentemente all'entrata in vigore del D. Lgs. 152/2006 e siano già in atto procedure di bonifica ai sensi della normativa precedente, si procede seguendo tale normativa ed eventualmente si ridefiniscono gli obiettivi di bonifica in base a quanto disposto dall'articolo 265, comma 4 del D. Lgs. 152/2006: *“fatti salvi gli interventi realizzati alla data di entrata in vigore della parte quarta del presente decreto, entro centottanta giorni da tale data, può essere presentata all'autorità competente adeguata relazione tecnica al fine di rimodulare gli obiettivi di bonifica già autorizzati sulla base dei criteri definiti dalla parte quarta del presente decreto. L'autorità competente esamina la documentazione e dispone le varianti al progetto necessarie”*.

Nel caso in cui, invece, un inquinamento si manifesti successivamente all'entrata in vigore del Testo Unico, seppure la causa dell'inquinamento sia precedente, le disposizioni da seguire sono quelle di tale decreto, ridotte nella fase di indagine preliminare, cioè al manifestarsi della potenziale contaminazione, l'interessato ne dà comunicazione agli enti competenti presentando subito il piano della caratterizzazione. L'articolo 242, comma 11 del D. Lgs. 152/2006 prevede infatti che: *“nel caso di eventi avvenuti anteriormente all'entrata in vigore della parte quarta del presente decreto che si manifestano successivamente a tale data in assenza di rischio immediato per l'ambiente e per la salute pubblica, il soggetto interessato comunica alla regione, alla provincia e al comune competenti l'esistenza di una potenziale contaminazione unitamente al piano di caratterizzazione del sito, al fine di determinare l'entità e l'estensione con riferimento ai parametri indicati nelle CSC ed applica le procedure di cui ai commi 4 e seguenti”* [Vanetti, 2006].

1.2 Tecnologie di bonifica

La scelta della tecnologia di risanamento di un suolo contaminato avviene sulla base di fattori economici, delle caratteristiche sito-specifiche e degli obiettivi della bonifica. Un'accurata caratterizzazione del sito e la conoscenza dei fattori che limitano l'applicabilità delle diverse tecniche sono quindi importanti nel definire un programma di risanamento realistico.

Le tecnologie di bonifica agiscono sul contaminante secondo tre principi:

- *trasformazione*: consiste nell'attacco di composti organici che passano da sostanze a struttura complessa ad intermedi più semplici, fino eventualmente alla completa mineralizzazione;
- *rimozione*: è il caso tipico dei metalli pesanti, già in forma elementare, che non possono essere ulteriormente degradati ma solamente separati ed asportati dalla matrice contaminata;
- *immobilizzazione*: le tecniche basate su questo principio si applicano quando non è possibile ricorrere alle altre alternative ed è necessario immobilizzare l'inquinante nel sito contaminato per evitare l'estensione dell'inquinamento.

Le metodologie di bonifica di un sito contaminato vengono suddivise, sulla base del luogo di intervento, in due principali categorie: trattamenti *ex situ* se vi è movimentazione e rimozione del materiale contaminato in appositi impianti, e trattamenti *in situ*, senza movimentazione di materiale. Le tecnologie *ex situ* possono essere *on site* o *off site*. Nel primo caso il terreno viene rimosso per essere trattato in un impianto mobile sul posto; nel secondo caso l'impianto di trattamento è ubicato in un luogo distante dalla zona che necessita di bonifica.

Generalmente gli interventi di risanamento vengono classificati, sulla base del processo applicativo, in Tabella 1.

In passato le tecnologie *ex situ*, sebbene più costose, erano privilegiate poiché, grazie alla migliore controllabilità delle condizioni operative e talvolta alla possibilità di ottimizzare i

parametri, risultavano più rapide. Di recente la necessità di ridurre i costi delle operazioni di bonifica e la calibrazione degli obiettivi di risanamento sulla base dell'effettiva pericolosità dei contaminanti, come indicato dalle recenti normative, ha riportato l'attenzione sulle tecnologie *in situ* che, sebbene più lente, presentano una serie di vantaggi non solo sul piano economico ma anche su altri aspetti: il più delle volte infatti, comportando un ridotto impatto ambientale, risultano più accettabili dall'opinione pubblica e sono meno vincolate alla presenza di infrastrutture (edifici, strade, tubazioni, serbatoi), ed in certi casi consentono di intervenire a profondità difficilmente raggiungibili con l'escavazione [Bonomo e Sezenna, 2005].

Tabella 1. Trattamenti di risanamento

Trattamento	Processo	Tipologia di impianto
Chimico-fisici	Soil Venting	<i>In situ, on site</i>
	Soil Washing	<i>On site, off site</i>
	Estrazione con solventi	<i>On site, off site</i>
	Dealogenazione	<i>On site, in situ</i>
	Decontaminazione elettrocinetica	<i>In situ</i>
	Decontaminazione elettroacustica	<i>In situ</i>
	Adsorbimento passivo su polimero	<i>In situ</i>
	Ossidazione	<i>In situ</i>
	Riduzione	<i>In situ, on site</i>
Termici	Desorbimento	<i>Ex situ, on site</i>
	Termodistruzione	<i>Ex situ, on site, in situ</i>
	Bioventing (suoli insaturi)	<i>In situ</i>
	Biosparging (suoli saturi)	<i>In situ</i>
	Biofiltri (gas interstiziali)	<i>In situ</i>
Biologici	Landfarming	<i>Ex situ, on site</i>
	Compostaggio	<i>Ex situ, on site</i>
	Bioreattori	<i>Ex situ, on site</i>
	Fitorimediazione	<i>In situ</i>

La pratica più diffusa nella conduzione di bonifiche di siti contaminati è il conferimento in discarica, che sebbene costituisca a volte l'unica alternativa praticabile, non risolve il problema ma si limita a spostarlo nello spazio (altrove) e nel tempo (futuro). Tale approccio non solo è

costoso ma comporta anche la perdita del suolo. Più interessanti risultano quindi le tecnologie di risanamento, (distinte in fisiche, chimiche e biologiche) che si propongono di rimuovere l'inquinante consentendo il riutilizzo del suolo.

Non esiste in assoluto la migliore tecnologia di intervento per un determinato contaminante ma è necessario identificare il tipo di intervento/i ottimale/i per la situazione specifica [Zerbi e Marchiol, 2004]. Nella maggioranza dei siti contaminati raramente si riscontra la presenza di un unico elemento o composto ma al contrario è frequentissima la situazione di multi contaminazione. In questi casi nasce l'esigenza di applicare i cosiddetti *treatment trains*, ovvero trattamenti integrati nei quali vengono associate tecniche diverse allo scopo di raggiungere gli obiettivi previsti dal piano di bonifica [Roote, 2003].

1.2.1 Tecnologie fisiche, chimico-fisiche e termiche

1.2.1.1 Metodi chimici

In questo genere di trattamenti i composti tossici sono distrutti, immobilizzati o neutralizzati attraverso una serie di reazioni chimiche. Il principale pregio di un approccio di tipo chimico è che consente la degradazione di sostanze, che a causa della natura recalcitrante o estremamente tossica, sono incompatibili con i sistemi biologici. È probabile, tuttavia, che durante il processo chimico si accumulino composti derivati da una parziale degradazione, rivelandosi talora più tossici di quelli di partenza, oppure che siano gli stessi reagenti introdotti nel terreno a causare danni e inquinamento [Evans and Furlong, 2003]. Nei casi di inquinamento da metalli pesanti i trattamenti chimici hanno lo scopo di ridurre la disponibilità e la mobilità dei metalli attraverso reagenti specifici. Le reazioni comprendono ossidazione, riduzione e neutralizzazione [Evanko and Dzomback, 1997]; esse convertono gli inquinanti in forme meno pericolose, meno mobili, più stabili ed inerti. L'ossidazione, ad esempio, può ridurre la tossicità dell'arsenico (As) trasformando l'As (III) nel meno solubile e meno tossico As (V) (gli agenti ossidanti maggiormente utilizzati sono ozono, perossido di idrogeno, ipoclorito e diossido di cloro)

mentre i trattamenti di riduzione possono trasformare il Cr (VI) in Cr (III), specie meno mobile e meno tossica.

1.2.1.2 *Metodi fisici*

I trattamenti fisici non possono essere considerati dei sistemi di risanamento in senso stretto, perché si basano su procedimenti in grado di separare il contaminante dalla matrice solida o liquida e di ottenerli in forma concentrata, destinandoli, successivamente, al trattamento o allo smaltimento finale. Il fatto che si tratti di interventi puramente fisici, senza cioè l'aggiunta di reagenti chimici, potrebbe essere visto come un vantaggio, in quanto riduce di molto i rischi di contaminazione secondarie. Tuttavia, i contaminanti non sono distrutti e la loro concentrazione richiede necessariamente adeguate misure di contenimento. Inoltre vanno considerati i costi generalmente onerosi per lo smaltimento in discarica, soprattutto per i rifiuti speciali.

Per ovviare agli inconvenienti di queste tecnologie e di quelle chimiche, molto spesso si usano tecniche chimico-fisiche che sono una combinazione delle due metodologie, in grado cioè di sfruttare i pregi di entrambe riducendone i difetti, un esempio applicativo è il *soil washing*. Nella tecnica del soil washing vengono applicati *in primis* trattamenti fisici che prevedono la separazione meccanica delle particelle di suolo pulite; in secondo luogo la matrice contaminata viene trattata con diversi agenti chimici specifici per ottimizzare la rimozione dell'inquinante [Moutsatsou *et al.*, 2006]. Alla matrice inquinata sono addizionati acidi inorganici (solfonico e cloridrico, con $\text{pH} < 2$), acidi organici (acetico o citrico), e agenti chelanti (EDTA, NTA) in varia combinazione fra loro, e il materiale viene trattato in appositi reattori dove avviene un'ulteriore separazione tra il contaminante e le particelle di suolo. Al termine dell'intervento di soil washing il suolo può essere restituito al sito d'origine. Questa tecnica risulta particolarmente efficace se applicata a suoli con tenore di argilla $< 10 - 20\%$ ovvero suoli molto sciolti o sabbiosi [USEPA, 1991].

È una delle tecniche di bonifica più diffuse, anche se a lungo termine, e non si tratta di una soluzione alla contaminazione, in quanto anche i contenimenti migliori possono danneggiarsi

nel tempo. Il contenimento può essere predisposto sul posto, *in situ*, oppure *on site*, escavando il suolo inquinato che viene confinato in discariche appositamente approntate. Il tipo di intervento dipende dal caso specifico: il più comune detto *capping* consiste nell'impiego di cemento, bentonite o membrane polimeriche per la copertura del sito inquinato. Questo tipo di intervento deve garantire una effettiva riduzione della permeabilità del sito per ridurre l'infiltrazione idrica e la possibile mobilizzazione e migrazione degli elementi. Gli standard EPA prevedono che i sistemi di contenimento debbano garantire permeabilità $< 1 \cdot 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ [USEPA, 1994].

Un secondo tipo di interventi, detti interventi di stabilizzazione prevedono l'isolamento del contaminate dall'ambiente circostante. Questi sono basati sul trattamento del suolo con cemento, bitumi o pozzolana silicea. Il cemento e la pozzolana silicea reagiscono con i metalli producendo la formazione di idrossidi, carbonati e silicati di solubilità molto bassa; la solidificazione con il cemento del substrato inquinato riduce il suo contatto con l'aria e l'acqua. Questo trattamento non è efficiente per quei metalli che formano idrossidi solubili (es. Hg) o per anioni [USEPA, 1990].

1.2.1.3 Metodi termici

I trattamenti termici possono indurre la separazione dell'inquinante mediante desorbimento/volatilizzazione, causarne la distruzione per pirolisi o incenerimento o provocarne l'immobilizzazione mediante fusione della matrice solida nella quale si trovano (vetrificazione). In tutti i casi è importante il controllo delle emissioni gassose del processo. Sebbene più di ogni altro procedimento permetta di ottenere la totale degradazione dei contaminanti, i costi energetici unitamente al rischio di generare nuovi residui inquinanti e agli effetti negativi sulla struttura e sulla sostanza organica del terreno ne limitano l'uso [Evans and Furlong, 2003]. Nei siti contaminati da metalli pesanti è possibile applicare la separazione pirometallurgica, che permette, previo trattamento della matrice contaminata ad alte temperature (200–700 °C) in forni rotanti o ad arco, il recupero dei metalli volatilizzati. Questa applicazione è

particolarmente indicata quando il suolo è talmente contaminato (5–20 % in peso) da rendere attraente il recupero del metallo [Mulligan *et al.*, 2001].

1.2.2 Tecnologie biologiche

1.2.2.1 Processi biochimici e microbiologici

I metodi di risanamento biologici sfruttano soprattutto la capacità dei microrganismi di trasformare il materiale inquinante parte in biomassa e parte in anidride carbonica ed acqua, ovvero di mineralizzare il substrato. I trattamenti biologici, infatti, promuovono la mineralizzazione o la trasformazione dei contaminanti in forme meno tossiche, oppure più tossiche ma meno biodisponibili. I principali vantaggi di questi metodi riguardano le possibilità di intervenire su un vasto numero di molecole inquinanti di tipo organico, il loro potenziale effetto benefico sulla struttura e sulla fertilità del terreno, e il fatto di essere assolutamente non invasivi. Per contro, in un intervento di risanamento biologico, di per sé lento e influenzato dalle condizioni ambientali, i tempi di realizzazione risultano difficili da stimare, oltre al fatto che non tutti i contaminati possono essere trattati con mezzi biologici [Evans and Furlong, 2003]. Le tecniche basate sull'utilizzo di microrganismi in genere sono state sviluppate per il trattamento di composti organici. Tuttavia sono state sperimentate tecniche di questo tipo anche per rimuovere metalli pesanti dal suolo, sfruttando lisciviazione biologica (bioleaching) o reazioni ossidoriduttive.

Batteri di *Thiobacillus sp.* in condizioni aerobiche e pH ~ 4 possono produrre acido solforico portando così alla solubilizzazione dei metalli. Alcuni studi preliminari sembrano indicare la fattibilità di questo processo [Tichy *et al.*, 1992; Mulligan *et al.*, 2001], che è stato anche applicato su larga scala [Karavaiko *et al.*, 1988]. La lisciviazione può anche avvenire grazie alla produzione da parte di *Aspergillus niger* di acido citrico e gluconico, che oltre ad agire come acidi sono buoni agenti chelanti [Mulligan *et al.*, 2001].

Un altro modo di utilizzare i microrganismi è sfruttare la loro capacità di mediare reazioni ossidoriduttive. Essi sono per esempio in grado di ossidare Hg e Cd o ridurre As e Fe. Batteri solfato-riduttori e batteri come *Bacillus subtilis* possono formare, in condizioni opportune, solfuri metallici insolubili. Ciò comporta la bioprecipitazione dei metalli, che non migrano lungo il profilo di suolo e quindi non raggiungono l'acquifero. Nel 1999 è stato proposto da parte del "Flemish Institute for Technological Research" un progetto che sfrutta questo principio per la bioprecipitazione di Zn, Cd, As, Pb, Cr, Ni e Cu in barriere biologiche reattive.

Infine i microrganismi possono essere sfruttati in processi di biometilazione, che implicano l'attacco di un gruppo metilico a metalli come As, Hg, Cd o Pb trasformandoli in forme più mobili e talvolta volatili (es. Se) [Mulligan *et al.*, 2001].

Nei siti inquinati da metalli è possibile utilizzare il metabolismo dei batteri indigeni, che sono già adattati alla sopravvivenza nel suolo inquinato, per modificare la valenza dei metalli e causarne il desorbimento dalle particelle del suolo, o al contrario di immobilizzarli nelle medesime particelle. Nonostante l'applicazione delle tecniche di *bioremediation* non possa essere estesa *tout court* a tutti i casi di inquinamento da metalli pesanti sono già stati ottenuti risultati molto interessanti. Ad esempio, scorie minerarie sono state trattate con sospensioni del fungo *Aspergillus niger* che nel suo metabolismo genera acidi organici che possono attaccare e fungere da agenti chelanti per i metalli pesanti che si liberano in ambiente acidificato dalla matrice [Mulligan *et al.*, 2001].

1.2.2.2 Fitorimedio

Oltre ai microrganismi anche le piante possono essere impiegate nella rimozione di contaminanti, tale processo è noto con il nome di *Phytoremediation* (fitorimedio). Il fitorimedio consiste in una serie di tecnologie utilizzate per risanamenti ambientali basate sulla capacità di alcune specie vegetali di assimilare, accumulare e degradare i contaminanti. Questo metodo di risanamento sfrutta la complessa interazione tra apparato radicale delle piante, microrganismi e

suolo, e può rappresentare una soluzione per il recupero ambientale. Tale tecnica verrà ampiamente trattata nel paragrafo 1.5.

1.3 Metalli pesanti e metalloidi nel suolo

I metalli pesanti sono sostanze con cui conviviamo quotidianamente, perché alcuni di essi sono alla base della composizione di molti organismi viventi, ed anche del nostro stesso corpo. Molti metalli, però, sono potenzialmente molto tossici, per cui se penetrano nell'ambiente e quindi nel nostro organismo in dosi superiori a quelle tollerabili comportano gravi conseguenze, spesso letali.

Che cosa s'intende però per metalli tossici? In realtà non esiste un elenco univoco dei metalli tossici poiché essi rientrano nella categoria più generale e meglio definita dei metalli pesanti. Con la definizione metalli "pesanti" vengono identificati quegli elementi chimici che presentano le seguenti caratteristiche comuni:

- hanno una densità superiore a 5.0 g cm^{-3} ;
- si comportano come cationi, ossia come ioni dotati di carica positiva quando entrano in un campo elettromagnetico;
- presentano una bassa solubilità dei loro idrati;
- hanno una tendenza a dare vita a legami chimici complessi;
- hanno una grande affinità con i solfuri, nei quali tendono a concentrarsi (elementi calcofili);
- possono avere diversi stati di ossidazione a seconda delle condizioni di pH ed Eh.

I metalli pesanti si trovano naturalmente nel suolo, in genere a basse concentrazioni, come risultato della degradazione e dei processi pedogenetici che hanno agito sulle rocce dalle quali il suolo si è sviluppato. Spesso sono componenti minoritari delle rocce magmatiche intrusive, nelle quali sono stati incorporati tramite sostituzioni isomorfe degli ioni più abbondanti. Le rocce sedimentarie, più abbondanti delle rocce magmatiche intrusive, possono essere più o

meno arricchite in metalli pesanti a seconda della loro mineralogia, capacità di assorbimento e della concentrazione di metalli nell'acqua dove il sedimento si è depositato. In genere le argille e gli scisti sono tra le rocce sedimentarie a maggior contenuto di questi elementi. La composizione in metalli pesanti della roccia madre può variare considerevolmente, ma il suolo è soggetto anche ad altri input naturali come le deposizioni atmosferiche di polveri provenienti da altri suoli, rocce e ceneri vulcaniche. Inoltre i processi pedogenetici e biochimici possono modificare la concentrazione di questi elementi. I due processi pedogenetici più importanti sono la degradazione dalla roccia madre, con conseguente rilascio dei metalli, e la traslocazione e l'accumulo di alcune componenti del suolo, come l'argilla, gli ossidi ed idrossidi di Fe e Mn e la sostanza organica, che possono a loro volta assorbire i metalli.

Anche se sono pressoché ubiquitari nella roccia madre, in condizioni naturali la maggior parte dei metalli pesanti (escludendo alluminio e ferro) si trova in concentrazioni minori dello 0.1 %, e per tale motivo sono chiamati elementi minori. Concentrazioni maggiori sono quasi sempre dovute a diverse attività antropiche, come l'applicazione di fanghi, fertilizzanti e pesticidi nei quali i metalli si trovano come impurezze, scorie di allevamenti intensivi, industrie di vario tipo, utilizzo di combustibili e molte altre attività [Alloway, 1995].

1.3.1 Sorgenti di metalli pesanti nei suoli

Le possibili origini della contaminazione da metalli pesanti nell'ambiente sono: naturale o antropica. La principale fonte naturale è il substrato geologico, mentre tra le sorgenti d'origine antropica sono da ricordare l'agricoltura (fertilizzanti, pesticidi,..); la metallurgia, la produzione di energie (gasolio, batterie,..); la microelettronica e l'eliminazione dei rifiuti; le emissioni industriali; la gestione impropria di sostanze pericolose (es. errato stoccaggio); la non corretta dismissione di siti industriali, militari, minerari; gli sversamenti accidentali; la dispersione di rifiuti industriali, urbani, militari nell'ambiente; il traffico veicolare [Adriano, 2001].

1.3.1.1 Sorgenti naturali: il substrato roccioso

Nel corso del processo di alterazione delle rocce il reticolo cristallino dei minerali primari è distrutto dai processi pedogenetici, ed i metalli pesanti presenti nei reticoli cristallini primari sono trasferiti nella soluzione circolante del suolo. Una volta raggiunta la soluzione circolante, essi possono essere inviati verso la falda idrica od essere adsorbiti nei reticoli cristallini dei minerali pedogenetici.

Come regola generale, gli elementi aventi un elevato rapporto tra carica e raggio ionico, aventi in altri termini un elevato (3–12) "potenziale ionico", come Fe^{+3} , Al^{+3} , Mn^{+4} , Cr^{+3} precipitano in forma di idrossidi ed ossidi insolubili. I metalli minori a elevato potenziale ionico come cobalto, nichel, rame, zinco, arsenico e selenio, possono sostituire ferro, alluminio e manganese nei relativi minerali. I metalli in traccia aventi basso (<3) potenziale ionico come piombo e cadmio, simili al calcio e al potassio, hanno un raggio ionico troppo elevato per poter essere ospitati nel reticolo cristallino degli ossidi ed idrossidi di ferro, alluminio e manganese, ma possono essere adsorbiti in forma scambiabile negli interstrati di Smectiti, Vermiculiti e Illiti. Tra i processi che trattengono gli elementi in traccia negli orizzonti superficiali del suolo vi è l'assorbimento nella biomassa vegetale, che imprigiona l'elemento negli orizzonti organici del suolo attraverso il ciclo suolo-vegetale-suolo.

Tra i processi che favoriscono la lisciviazione dei metalli pesanti vi è la complessazione con ligandi anionici e la formazione di specie complesse cariche negativamente poco trattenute dal complesso di scambio del suolo. Tra i ligandi che formano i complessi più stabili con i metalli pesanti vi sono il cloro ed i gruppi carbossilici, fosforici e tiolici della sostanza organica.

1.3.1.2 Sorgenti antropiche: attività civili, industriali ed agricole

Una delle sorgenti principali di emissioni gassose di metalli pesanti è rappresentata dai fumi prodotti dal consumo di combustibili per il riscaldamento, circa l'84 % delle ceneri prodotte dalla combustione dei carboni sono volatili ed il loro contenuto in elementi in traccia è piuttosto variabile, dipendendo sia dal tipo di carbone sia dalle condizioni di combustione. Durante il

processo estrattivo dei metalli, e le successive operazioni di fusione e lavorazione, possono disperdersi nell'ambiente rilevanti quantitativi di elementi inquinanti attraverso i fumi e le polveri, immessi dalle ciminiere nell'atmosfera, ed i rifiuti liquidi rappresentati dalle acque utilizzate durante il ciclo produttivo. Durante la combustione dei carburanti e dei lubrificanti necessari ai mezzi di trasporto si libera piombo, mentre l'usura dei pneumatici diffonde zinco: in entrambi i casi vi è associata una liberazione di cadmio. L'applicazione ai suoli di fanghi di depurazione e/o compost con un eccessivo contenuto in cadmio, rame, nichel, piombo e zinco in particolare, riduce la resa delle colture o, comunque, peggiora la qualità dei prodotti; rame, nichel e zinco sono risultati i più fitotossici.

Per quanto riguarda gli apporti dovuti alle pratiche agricole, la maggior parte sono dovuti all'utilizzo dei fertilizzanti sia per il fatto che la concimazione viene ripetuta stagionalmente sia perché vengono ottenuti dalla lavorazione di rocce fosfatiche (le Fosforiti) contenenti quantità variabili di arsenico, cadmio, piombo, bismuto e zinco. Il cobalto, il rame e lo zinco sono contenuti, anche in notevoli quantità, nelle deiezioni degli animali, che, assimilandone soltanto percentuali molto basse (circa il 5%), fanno sì che le loro feci e le loro urine ne risultano molto arricchite. I problemi ambientali legati all'impiego delle deiezioni animali nascono, poiché, soprattutto nelle aziende ad indirizzo zootecnico e cerealicolo-zootecnico, vengono ridistribuiti su aree limitate o limitatissime per lunghi periodi di tempo. Stagionali apporti di rame, mercurio, manganese, piombo, arsenico, stagno e zinco sono causati inoltre dall'uso di antiparassitari di varia natura.

1.3.2 Mobilità e biodisponibilità

I metalli pesanti, in generale, si trovano distribuiti nei sedimenti, nel suolo e nei fanghi secondo forme associative, quali ioni semplici e complessati in soluzione, ioni scambiabili legati alla sostanza organica, ioni precipitati con ossidi a basso ordine cristallino o carbonati, o ancora, come ioni inclusi nei reticoli cristallini dei minerali primari, che si differenziano per

l'intensità e per il tipo di legame metallo-matrice. Ciascuna di queste forme presenta una diversa possibilità di rilascio e di mobilizzazione verso la componente biotica. Per mobilità di una specie chimica si intende la sua capacità di permanere in soluzione nelle acque dopo essere stata da queste disciolta. Essa è controllata fundamentalmente da processi chimici: pH, potenziale ossidoriduttivo, tessitura, qualità e quantità della materia organica, la composizione, la temperatura e il regime idrico a cui il suolo è sottoposto [Plette, 1999] e biochimici, i quali a loro volta sono influenzati dalle caratteristiche chimico-fisiche delle soluzioni e dalle fasi in cui sono ripartiti i metalli. In Figura 1 sono rappresentate le varie fasi in cui possono presentarsi i metalli in un suolo. In generale la mobilità dei metalli decresce come segue: ioni in soluzione, ioni associati con ossidi di Fe–Mn, ioni associati con materia organica, ioni associati a minerali sulfurei, metalli inclusi nella fase cristallina [Salomons, 1995].

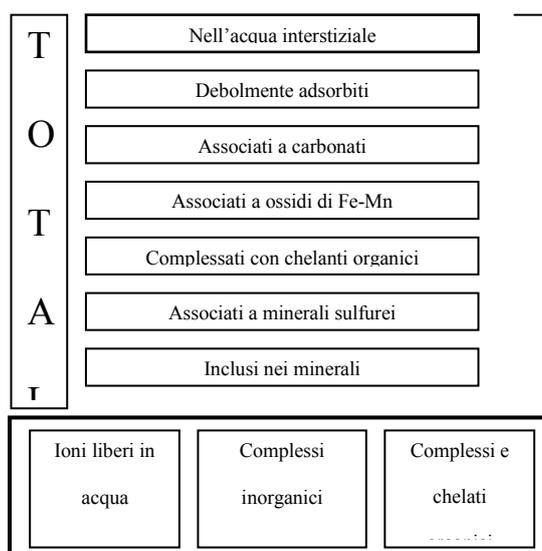


Figura 1. Ripartizione dei metalli pesanti nel suolo [tratto da John and Leventhal, 1995].

La frazione di metalli disciolta nell'acqua comprende: complessi di carbonati, la cui abbondanza cresce con il pH, metalli in soluzione quali i cationi metalli e i complessi anioni e gli ioni idrati le quali solubilità sono fortemente influenzate dal pH, generalmente aumentando il pH la loro solubilità diminuisce. La frazione di metalli associata a ossidi di Fe–Mn ha una

mobilità media, e varia a seconda delle condizioni ossidoriduttive del suolo. La frazione legata alla materia organica ha una mobilità medio–alta dovuta alla decomposizione/ossidazione della materia organica. La frazione associata ai minerali sulfurei ha una mobilità variabile dipendente dalle condizioni ambientali, per esempio la presenza di ossigeno porta ad un rilascio dei metalli. La frazione inclusa nei minerali ha una bassa mobilità, solo in seguito ad eventi importanti si può assistere ad una decomposizione dei minerali e quindi ad un rilascio dei metalli in esso inclusi [John and Leventhal, 1995]. Un aspetto importante di cui tener conto è che tra queste diverse forme esistono equilibri chimici che dipendono dalle condizioni ambientali (temperatura, umidità, potenziale ossidoriduttivo) e dal tempo di contatto poiché il suolo è un sistema aperto in equilibrio dinamico con l’atmosfera, l’idrosfera e la biosfera [Renella, 2000].

Nella Tabella 2 è riportata la biodisponibilità di alcuni metalli in base alla condizioni di pH e stato ossidoriduttivo del suolo.

Tabella 2. Biodisponibilità dei metalli in suoli con proprietà diverse [tratto da Kabata-Pendias, 2004]

Proprietà del suolo		Biodisponibilità	
Redox	pH	Elevata	Moderata
Ossidante	< 3	Cd, Zn, Co, Cu, Ni	Mn, Hg, V
Ossidante	>5	Cd, Zn	Mo, Se, Sr, Te, V
Ossidante Ricco in Fe	>5		Cd, Zn
Riducente	>5	Se, Mo	Cd, Zn, Cu, Mn, Pb, Sr
Riducente Con H ₂ S	>5		Mn, Sr

I minerali degli ossidi di Fe e Mn sono importanti dal punto di vista della mobilità dei metalli pesanti in quanto sono in grado di adsorbirli sulla loro superficie; il processo di adsorbimento è illustrato dai seguenti equilibri:



Dove $Fe-OH$ rappresenta la superficie dell’ossido e L è un ossianione tipo AsO_4^{2-} o CrO_4^{2-} .

La materia organica è in grado di assorbire i metalli, in particolare studi di spettroscopia ad infrarossi hanno dimostrato che i metalli si legano a particolari gruppi funzionali come i gruppi carbossilici, fenolici e tioli. In Figura 2 sono rappresentati degli esempi di meccanismi di complessazione da parte della materia organica [Basta *et al.*, 2005].

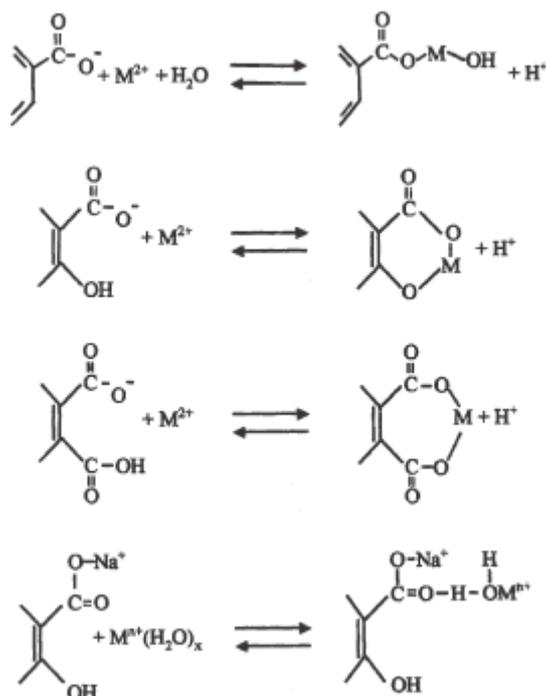


Figura 2. Meccanismi di complessazione di metalli da parte della materia organica [tratto da Basta *et al.*, 2005].

Il concetto di biodisponibilità è di difficile definizione e di ancora più difficile determinazione. Le difficoltà scaturiscono dal fatto che occorre prima definire l'organismo "bersaglio", e poi ricostruire i meccanismi di diffusione ed accumulo delle sostanze. Si definisce una sostanza biodisponibile quando si presenta in una forma che può interagire con un organismo vivente [Renella, 2000]. La concentrazione totale di una specie chimica in un qualsiasi substrato non corrisponde al quantitativo biodisponibile. Infatti, la biodisponibilità di una sostanza viene definita come la frazione di questa, sul totale presente in un substrato, realmente in grado di interagire col biota [John and Leventhal, 1995] e la stima della frazione

biodisponibile è tutt'ora un problema aperto, e riveste considerevole importanza pratica nella comprensione della dinamica dei metalli pesanti nel suolo e quindi della loro mobilità, pericolosità e modalità di rimozione [Feng *et. al.*, 2005; Kirkham, 2006].

1.4 Metalli pesanti e piante superiori

1.4.1 Ruolo biologico dei metalli nelle piante superiori

Secondo una delle definizioni comunemente più accettate un elemento è definito essenziale se una sua carenza previene il completamento del ciclo vitale della pianta [Taiz-Zeiger, 1996] ed è indispensabile nei suoi processi di crescita, sviluppo o riproduzione [Barbafieri, 2005].

Gli elementi essenziali sono in genere classificati come macronutrienti o micronutrienti, a seconda delle loro concentrazioni relative nel tessuto vegetale. In realtà questa suddivisione non è sempre rigorosa poiché molti elementi possono essere presenti in concentrazioni superiori al minimo richiesto dalla pianta ed inoltre nei tessuti vegetali si possono trovare elementi non essenziali a causa della non specificità di molti meccanismi di assorbimento. Nella Tabella 3 sono riportati i principali nutrienti con le relative concentrazioni medie riscontrate nei tessuti vegetali.

Gli elementi essenziali possono essere classificati più precisamente a seconda del loro ruolo biochimico e della loro funzione fisiologica [Taiz-Zeiger, 1996]; tra di essi ci sono anche alcuni metalli che, pur risultando tossici oltre una certa concentrazione, in piccolissime quantità sono utili e necessari [Pietrelli *et al.*, 2004; Barbafieri, 2005]. Nella maggior parte dei casi il ruolo biologico che i metalli esplicano nella pianta è legato ad enzimi che permettono il trasporto di elettroni tramite cambiamenti di valenza oppure agiscono come cofattori [Taiz-Zeiger, 1996; Clemens *et al.*, 2002].

Ad esempio il rame è associato agli enzimi coinvolti nelle reazioni ossidoriduttive, come la fotosintesi [Taiz-Zeiger, 1996; Brock *et al.*, 1995; Clemens *et al.*, 2002]. Una sua carenza si manifesta con la produzione di foglie verde scuro, che possono contenere delle macchie necrotiche. Le foglie possono anche apparire deformi e, in caso di carenza estrema, cadere prematuramente. Lo zinco è spesso usato come cofattore e può essere un importante componente strutturale di proteine che legano il DNA [Clemens *et al.*, 2002]. Una sua carenza si manifesta con la riduzione dell'accrescimento internodale, col risultato che le piante presentano un accrescimento a rosetta. Le foglie possono anche risultare piccole e alterate, con margini fogliari di aspetto raggrinzito.

Tabella 3. Concentrazioni medie di nutrienti riscontrate nei tessuti vegetali [tratto da Taiz-Zeiger, 1996].

Micronutrienti	$\mu\text{mol g}^{-1}$	mg kg^{-1} p.s.
Molibdeno	0.001	0.1
Rame	0.10	6
Zinco	0.30	20
Manganese	1.0	50
Ferro	2.0	100
Boro	2.0	20
Cloro	3.0	100
Macronutrienti	$\mu\text{mol g}^{-1}$	%
Zolfo	30	0.1
Fosforo	60	0.2
Magnesio	80	0.2
Calcio	125	0.5
Potassio	250	1.0
Azoto	1000	1.5
Ossigeno	30000	45
Carbonio	40000	45
Idrogeno	60000	6

1.4.2 Fitotossicità dei metalli pesanti

Così come la carenza di micronutrienti è dannosa, lo è anche il loro eccesso. Nella maggior parte dei casi la relazione tra la crescita della pianta e la concentrazione di nutrienti segue l'andamento descritto in Figura 3.

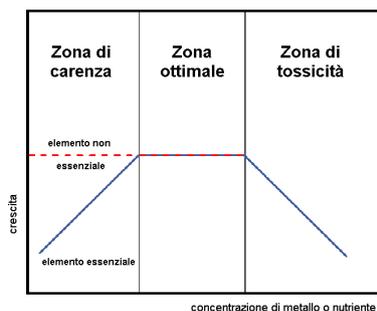


Figura 3. Relazione tra la crescita della pianta e la concentrazione di nutriente nel suolo [modificata da Macnair, 1993].

A concentrazioni molto basse, nella zona di carenza, la crescita della pianta è inibita e si riscontra uno stimolo positivo alla crescita all'aumentare della concentrazione del nutriente. C'è un punto oltre il quale ad un aumento di concentrazione dell'elemento non consegue alcuno stimolo positivo alla crescita: in questa situazione la pianta si trova nelle condizioni ottimali, che comprendono un intervallo di concentrazione dell'elemento all'interno del quale la pianta è in grado di mantenere l'omeostasi. Una volta superato questo intervallo di concentrazioni, la crescita viene nuovamente inibita e ad un incremento di nutriente corrisponde una diminuzione della crescita della pianta. L'estensione e l'altezza dei tre intervalli variano a seconda dell'elemento considerato, della specie vegetale e in certi casi anche del genotipo all'interno di una stessa specie [Macnair, 1993].

Molti metalli pesanti come il piombo ed il cadmio non rientrano nel gruppo dei micronutrienti e non esplicano nessuna funzione biologica [Taiz-Zeiger, 1996; Pietrelli *et al.*, 2004], e la loro azione fitotossica è evidente già in piccole quantità [Liphadzi and Kirkham, 2005].

La tossicità dei metalli si deve alla loro capacità di interagire nei meccanismi biologici a livello cellulare e molecolare [Hall, 2002; Guschina and Harwood, 2002; Bako *et al.*, 2005].

A livello molecolare possono legarsi ai gruppi solfidrici delle proteine ed ai siti attivi degli enzimi che contengono ossigeno, zolfo o azoto in forma di gruppi -OH, -COO⁻, -SH⁻, -NH₂ inibendo la loro attività biologica o modificandone la struttura [Antonovics *et al.*, 1971; Baker and Proctor, 1990; Xiong, 1997] o portare alla formazione di radicali liberi causando stress ossidativo [Van Assche and Clijsters, 1990].

A livello cellulare possono sostituirsi agli elementi essenziali causando sintomi di deficienza.

L'effetto globale di questi meccanismi si manifesta in genere con un'alterazione delle funzioni della pianta come la fotosintesi, la respirazione, l'assorbimento di nutrienti minerali, o con alterazioni nella struttura della membrana e nell'espressione genica [Van Assche and Clijsters, 1990].

1.4.3 Tolleranza ai metalli pesanti nelle piante superiori

Il fenomeno della tolleranza dei metalli pesanti nelle piante ha interessato ecologi, botanici e biologi evolutivi già dalla prima metà del secolo scorso [Baker, 1987] e continua a essere di grande attualità per le possibilità di applicazione nella gestione di siti contaminati. Infatti, gli studi sulla tolleranza ai metalli delle piante non sono di esclusivo interesse scientifico ma vengono anche utilizzati in numerosi ambiti della tutela ambientale, come la rivegetazione di aree minerarie ed il fitorimediazione di siti contaminati da metalli pesanti [Shu *et al.*, 2002].

La flora di ambienti naturalmente ricchi in metalli, come i suoli serpentini [Kruckeberg, 1967; Marrs and Proctor, 1976; Macnair, 1993; Lombini *et al.*, 1998], o contaminati, come le miniere o altri suoli è stata ampiamente studiata da diversi autori [Bunzl *et al.*, 2001; Del Rio *et al.*, 2002; Madejón *et al.*, 2004; Lehman and Rebele, 2004; Cicek and Koparal, 2004; Deng *et al.*, 2004].

Le specie rinvenute in questo tipo di habitat sono molto varie e differiscono a seconda delle condizioni ecologiche locali e dell'area geografica. Sembra, infatti, che la capacità di resistere ai metalli vari molto tra diverse specie e varietà [Shu *et al.*,2002] senza che emerga alcun chiaro criterio tassonomico [Antonovics *et al.*,1971]. In realtà in certi casi alcune famiglie, come quella della *Silene*, sembrano essere più rappresentate [Baker and Proctor, 1990; Lombini *et al.*,1998], ed alcune specie come *Cynodon dactylon* sono state rinvenute da diversi autori in molti suoli contaminati [Shu *et al.*, 2002; Del Rio, 2002; Ye *et al.*, 2002; Madejón *et al.*, 2002].

La presenza di piante in questo tipo di habitat pone il problema di capire se questi organismi appartengano a specie tolleranti ai metalli per qualche caratteristica ereditaria o se invece si tratti di varietà che hanno evoluto una tolleranza speciale, non posseduta dai rimanenti individui della stessa specie [Baker and Proctor, 1990].

Nella maggior parte dei casi le piante che vivono in habitat fitotossici appartengono a specie presenti sia su suoli contaminati che non, in ecotipi o varietà diverse [Macnair, 1993], per cui sembra che il caso più comune sia quello di una tolleranza evoluta a livello di varietà e quindi in tempi relativamente brevi.

Infatti, le modalità con cui i metalli pesanti, unitamente ad altri fattori, agiscono come forze evolutive [Shu *et al.*,2002] varia a seconda del tempo di esposizione: gli effetti a breve termine possono essere un'inibizione della crescita e l'eliminazione di specie sensibili, mentre quelli a lungo termine possono portare allo sviluppo di varietà distinte di una stessa specie ed alla fine ad una vera e propria speciazione [Baker and Proctor, 1990]. Le specie endemiche di habitat fitotossici, infatti, appartengono di solito a suoli naturali esistenti presumibilmente da centinaia di milioni di anni [Macnair, 1993], ed è presumibile che attualmente questo tipo di habitat sia più raro di ambienti contaminati da fonti antropiche.

Comunque alcune specie riescono ad evolvere una tolleranza, mentre altre sembrano incapaci di farlo anche quando sono abbondanti nelle vicinanze di un suolo contaminato [Antonovics *et al.*,1971; Baker and Proctor, 1990]; è ormai accettato che questo fenomeno sia

dovuto ad una predisposizione genetica, che sembra dovuta ad un ristretto numero di geni [Macnair, 1993; Hall, 2002].

Oltre alla capacità di resistere alla tossicità dei metalli pesanti sono implicate anche altre caratteristiche della pianta, come la tolleranza ad un basso livello di nutrienti [Antonovics *et al.*,1971], la specie, la varietà, l'età [Baker and Proctor, 1990]. Ad esempio sembra che in genere le giovani semenze risentano maggiormente della tossicità dell'alluminio rispetto alle piante più vecchie [Foy *et al.*, 1978].

Oltre ai fattori intrinseci della pianta molti fattori ambientali sono implicati nel determinare il numero ed il tipo di piante che crescono su suoli contaminati da metalli pesanti, tali suoli sono spesso sfavorevoli alla crescita delle piante non solo a causa delle alte concentrazioni di metalli, ma anche per altri fattori fisici e nutrizionali [Antonovics *et al.*,1971; Baker and Proctor, 1990]. I principali fattori del suolo sono il pH ed il potenziale redox, lo stato di nutrienti, il contenuto di materia organica e di argilla, la tessitura, l'azione dei microrganismi e le condizioni microclimatiche [Antonovics *et al.*,1971].

Il pH può essere molto importante ed infatti nella maggior parte dei casi specie tolleranti si trovano su suoli calcarei dove piombo, zinco ed alluminio [Foy *et al.*, 1978] sono meno disponibili come risultato degli alti valori di pH [Baker and Proctor, 1990], anche se non mancano esempi di piante tolleranti cresciute su suoli acidi come sono in genere quelli delle miniere. Il rame risente delle condizioni ossidoriduttive e nel suolo è tossico in condizioni aerobiche, quando è maggiormente disponibile [Foy *et al.*, 1978]. Nella Figura 4 è mostrata la relazione tra il pH del suolo e la disponibilità per la pianta di alcuni elementi. L'ampiezza delle zone ombreggiate indica il grado di disponibilità per la radice della pianta dell'elemento nutritivo.

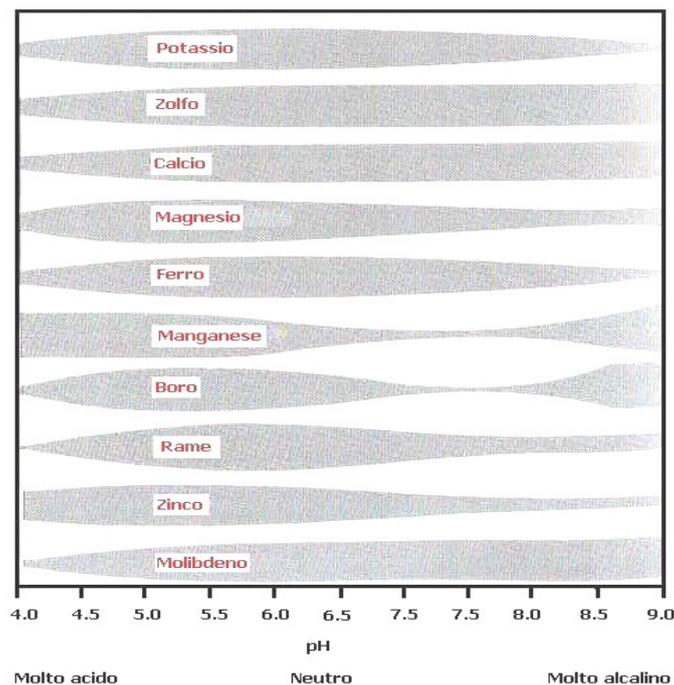


Figura 4. Relazione tra la disponibilità di alcuni nutrienti ed il pH [tratto da Taiz-Zeiger, 1996]

Altri studi evidenziano l'importanza dello stato di nutrienti, dimostrando che alcune piante tolleranti ai metalli possono essere fatte crescere su suoli contaminati con la semplice aggiunta di fertilizzanti [Foy *et al.*, 1978].

Il contenuto di sostanza organica o argilla può avere diverse implicazioni. Il cadmio, ad esempio, è meno adsorbito sul suolo e sulla sostanza organica rispetto ad altri metalli pesanti come il piombo e il rame, e di conseguenza è maggiormente disponibile e più facilmente lisciviato dall'acqua sotterranea [Basta and Sloan, 1999; McLaughlin *et al.*, 2000; Perronnet *et al.*, 2000; Liphadzi and Kirkham, 2005].

Anche il numero di metalli presenti e la loro concentrazione è un fattore di cui tener conto. Molte specie possono evolvere meccanismi di resistenza a più di un metallo, sia in varietà separate che simultaneamente nella stessa varietà; tuttavia i requisiti per un adattamento multiplo a nuove caratteristiche dell'ambiente sono più difficili e perciò la selezione di una tolleranza a due metalli è considerevolmente meno probabile di quella ad un metallo [Antonovics *et al.*, 1971].

La tolleranza a più metalli può risultare da un meccanismo non specifico che conferisce una resistenza a diversi metalli (co-tolleranza) oppure può implicare una serie di meccanismi metallo specifici (tolleranza multipla); la questione è stata ampiamente dibattuta [Macnair 1993], e le prove che esista la co-tolleranza non sono così certe, mentre sembra più probabile che esista un meccanismo specifico per ogni metallo [Schat *et al.*, 2000; Macnair *et al.*, 2000; Hall, 2002] e che quindi la tolleranza ad un metallo non conferisca automaticamente la tolleranza ad un altro [Antonovics *et al.*, 1971].

Le piante possiedono molti potenziali meccanismi implicati, a livello cellulare, nella detossificazione e quindi tolleranza ai metalli pesanti. Si possono distinguere due strategie: esclusione e resistenza. I meccanismi di esclusione funzionano impedendo l'accumulo di concentrazioni tossiche nei siti sensibili all'interno della cellula, e quindi prevenendo gli effetti negativi. I meccanismi di resistenza invece riguardano in genere lo sviluppo di proteine che permettono alla pianta di resistere agli effetti dei metalli pesanti [Baker and Proctor, 1990; Hall, 2002].

1.4.3.1 Meccanismi di esclusione

La simbiosi con funghi micorrizici può essere considerata un meccanismo di esclusione poiché le micorrize, ed in particolare le ectomicorrize, possono alleviare gli effetti tossici dei metalli sulla pianta che le ospita [Jentschke and Godbold, 2000; Hall, 2002; Lasat, 2002]. I funghi micorrizici sono organismi molto diffusi in natura che crescono dentro le radici delle piante e nel terreno circostante facilitando l'assorbimento minerale da parte della pianta grazie alle ife esterne del fungo che possono andare oltre le aree di suolo prive di elementi nutritivi che circondano la radice [Taiz-Zeiger, 1996]. Il meccanismo con cui agiscono nel migliorare la tolleranza ai metalli non è facile da definire e presenta una notevole specificità a seconda del metallo e della specie di fungo coinvolta [Hall, 2002]. Essi sembrano avere un ruolo nel ridurre il movimento dei metalli verso le radici della pianta ospite tramite meccanismi per i quali sono state proposte ed ampiamente studiate numerose ipotesi; alcune sono l'assorbimento da parte

del guscio delle ife e la chelazione da parte di sostanze extracellulari secrete dai funghi come la glomalina [Hall, 2002; Bedini *et al.*, 2004].

Un altro potenziale meccanismo di esclusione può essere individuato a livello della parete cellulare. Anche se il suo ruolo è ancora controverso e non molto studiato, sembra che essa sia in grado di legare i metalli pesanti e limitarne quindi l'assorbimento da parte della pianta. Riguardo a questo meccanismo ci sono delle perplessità; per esempio non è facile spiegare come un meccanismo di questo tipo possa essere metallo-specifico, ed inoltre bisogna tener conto del fatto che l'assorbimento sulla parete cellulare non può che essere limitato ed avere quindi effetti limitati sull'attività dei metalli alla superficie della membrana plasmatica. Tuttavia sembrano esserci delle conferme a questa ipotesi, come alcuni studi nei quali delle piante risultano aver legato dei metalli sulla parete cellulare tramite proteine o come silicati [Ernst *et al.*, 1992; Bringezu *et al.*, 1999; Hall, 2002].

Anche l'apparato radicale, tramite la secrezione di varie sostanze, può essere implicato in meccanismi di esclusione. L'esistenza di sostanze secrete dalle radici è ben nota ed esse hanno diverse funzioni, tra le quali sembra esserci quella di chelanti dei metalli.

Le sostanze secrete dalle radici sono numerose, per cui si può supporre che altre sostanze giochino un ruolo chiave nella tolleranza ai diversi metalli ed è più facile giustificare l'esistenza di un meccanismo metallo-specifico [Hall, 2002].

Anche reazioni delle piante all'eterogeneità ambientale, come lo stabilirsi in aree con basse quantità di metallo disponibile, possono essere considerate come una strategia di esclusione [Baker and Proctor, 1990].

1.4.3.2 Meccanismi di resistenza

Un meccanismo di resistenza può svilupparsi nel proteggere l'integrità della membrana plasmatica, poiché essa è la prima struttura cellulare a risentire degli effetti tossici dei metalli pesanti, soprattutto del rame. L'ipotesi più accreditata per questo meccanismo implica lo sviluppo di membrane più resistenti o l'attivazione di meccanismi di riparazione in cui giocano

un ruolo chiave le fitochelatine e le proteine heat shock (HSPs). Tuttavia la membrana plasmatica ha anche un ruolo diretto nell'omeostasi dei metalli, sia prevenendone o riducendone l'entrata, che espellendoli una volta entrati. Naturalmente, poiché alcuni cationi sono essenziali, una loro completa esclusione non è possibile e sembra più probabile che esista un meccanismo metallo specifico. Nelle piante superiori non sono documentate molte situazioni di questo tipo ed in realtà mancano delle evidenze dirette che dimostrino un ruolo effettivo dei "trasportatori esterni" nella tolleranza ai metalli pesanti. Certamente le piante possiedono diverse classi di trasportatori che partecipano all'assorbimento ed omeostasi dei metalli, e questo può avere un ruolo chiave nei meccanismi di tolleranza [Hall, 2002].

Come accennato all'inizio del paragrafo una classe di proteine che possono essere implicate in meccanismi di tolleranza sono le proteine Heat Shock (HSPs).

Le HSPs sono proteine che in genere si esprimono quando un organismo cresce in un ambiente caratterizzato da una temperatura al di sopra della sua temperatura ottimale di crescita; si trovano in tutti i gruppi di organismi e possono essere classificate in base al loro peso molecolare. Sono legate a diverse situazioni di stress, inclusa l'alta concentrazione di metalli pesanti [Vierling, 1991; Lewis *et al.*, 1999; Hall, 2002]; nonostante non sia la loro unica funzione possono anche proteggere e riparare altre proteine in condizioni di stress. Molti autori hanno studiato il loro ruolo in condizioni di stress da metalli pesanti ed hanno riscontrato un aumento della loro espressione. Sembra che le HSPs possano avere un ruolo nel proteggere la membrana plasmatica e nel ripararla dai danni causati dai metalli pesanti; tuttavia questo fenomeno andrebbe accertato da ulteriori studi [Hall, 2002].

Uno dei meccanismi forse più noti e studiati di tolleranza e detossificazione di metalli pesanti è la chelazione da parte di leganti con un'alta affinità per i metalli, detti fitochelatine (PCs) [Cobbet, 2000; Hall, 2002; Gabbrielli e Galardi, 2004; Liphadzi and Kirkham, 2005]. Un'ipotesi sul meccanismo di detossificazione è che esso consista di due fasi: nella prima si ha l'attivazione della sintesi di fitochelatine come risultato dell'aumento della concentrazione intracellulare di metalli pesanti tramite un enzima che viene attivato dalla presenza di ioni

metallici [Rauser, 1995; Zenk, 1996; Cobbet, 2000; Hall, 2002], nella seconda fase avviene la chelazione dei metalli pesanti ad opera delle fitochelatine [Rauser, 1995; Hall, 2002]. Tuttavia ci sono molte evidenze che tendono sia a confermare che a smentire queste ipotesi. In ogni caso almeno per la detossificazione da cadmio il loro ruolo sembra abbastanza comprovato. Il passaggio finale nella detossificazione da cadmio, sicuramente nel lievito e probabilmente anche nelle piante superiori, implica la compartimentazione del complesso cadmio-fitochelatine nei vacuoli [Hall, 2002].

Le fitochelatine non sono l'unico tipo di peptidi ricchi di cisteina e con un'alta capacità di legare i metalli: altre molecole con capacità simili sono le metallothioneine (MTs). Esse sono dei polipeptidi codificati da geni identificati in diverse piante superiori [Hall, 2002]. Anche se la loro produzione può essere indotta dal trattamento con il rame [Hamer, 1986, Hall, 2002], il loro ruolo nella detossificazione e tolleranza da metalli pesanti non è ancora accertato. È possibile che funzionino come antiossidanti o che abbiano un ruolo nella riparazione della membrana plasmatica [Salt *et al.*, 1998].

Diversi meccanismi di resistenza coinvolgono la compartimentazione dei metalli nei vacuoli oppure la loro esclusione attiva dalla pianta tramite la membrana plasmatica [Punshon and Dickinson, 1997; Hall, 2002]. Entrambe queste strategie servono ad impedire un accumulo di metallo nel citosol. La compartimentazione nei vacuoli tramite diversi tipi di trasportatori è un fenomeno accertato per il cadmio e per lo zinco ed ormai accettato anche per altri metalli [Ernst *et al.*, 1992; Hall, 2002; Gabbrielli e Galardi, 2004; Navari-Izzo *et al.*, 2004]. La Figura 5 illustra sinteticamente i processi di esclusione e resistenza descritti, che avvengono a livello cellulare.

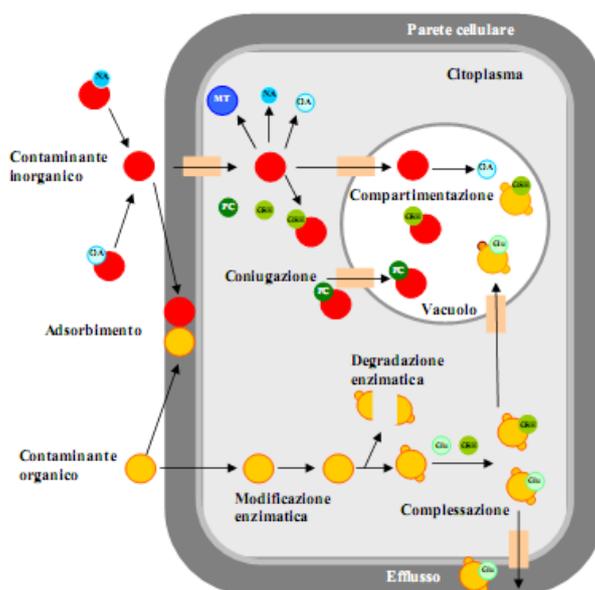


Figura 5. Possibili meccanismi adottati dalle cellule vegetali per tollerare elevate concentrazioni di inquinanti organici e/o inorganici. GSH=glutazione; Glu=glucosio; MT=metallotioneine; NA=nicotinammina; OA=acidi organici; PC=fitochelatine; il trasporto attivo è rappresentato dai rettangoli rosa con la freccia nera [tratto da Pilon-Smits, 2005].

1.4.4 Bioaccumulo di metalli pesanti nelle piante

Come illustrato nei precedenti paragrafi, i meccanismi con cui una pianta può adattarsi a vivere in un habitat contaminato sono diversi, perciò le piante tolleranti cresciute in questo tipo di suoli mostrano risposte diverse alla pressione ambientale.

Le strategie di adattamento messe in atto possono essere diverse a seconda delle specie, per questo motivo le piante che crescono su terreni inquinati da metalli vengono suddivise, in funzione della loro capacità di assorbire e trasferire i metalli alle parti aeree, in tre gruppi [Zerbi e Marchiol, 2004]:

- *piante escluditrici*, in cui la concentrazione dei metalli nelle parti aeree è mantenuta bassa e costante tramite una limitazione del processo di trasporto dalle radici alle foglie. Il sistema prevede l'alterazione della permeabilità della membrana citoplasmatica, adattamenti del complesso dei trasportatori degli ioni metallici della cellula e rilascio di agenti chelanti;

- *piante indicatrici*, in cui l'assorbimento radicale e la traslocazione verso le parti aeree rimane relativamente costante all'interno di un ampio gradiente di concentrazione di elementi in tracce nel suolo. Si nota di conseguenza una relazione lineare fra concentrazione fogliare di metalli e concentrazione nel suolo;
- *piante accumulatrici*, in cui i metalli sono attivamente concentrati nei tessuti della pianta indipendentemente dalle concentrazioni del suolo, implicando quindi un'alta specializzazione fisiologica. L'immagazzinamento avviene grazie alla sintesi di molecole chelanti o al stoccaggio in parti della pianta meno sensibili alla presenza dei metalli.

In questa categoria sono comprese le *piante iperaccumulatrici*. Queste piante sono in grado di accumulare concentrazioni di metallo eccezionalmente elevate, fino a 10000 mg kg^{-1} per lo zinco, 100 mg kg^{-1} per il cadmio e 1000 mg kg^{-1} per il nichel [Madejón *et al.*, 2004; Gabrielli e Galardi, 2004; Barbaferi, 2005]. Le specie iperaccumulatrici costituiscono una risorsa biologica fondamentale e la loro introduzione in aree fortemente contaminate da metalli pesanti può costituire un contributo sostanziale alla rivegetazione e al recupero mediante tecniche di *phytoremediation* [Zerbi e Marchiol, 2004]. La Figura 6 illustra la relazione tra il contenuto di metalli nei tessuti vegetali e nel suolo per una specie indicatrice ed un'iperaccumulatrice.

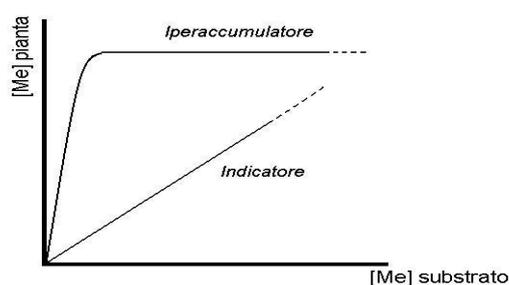


Figura 6: Comportamento di una specie iperaccumulatrice ed un'indicatrice in presenza di metalli pesanti [tratto da Zerbi e Marchiol, 2004].

La capacità di iperaccumulare i metalli pesanti è connessa con i meccanismi di resistenza precedentemente illustrati, in particolare con la sintesi di fitochelatine e di altre molecole

chelanti e con la compartimentazione nei vacuoli [Gabbrielli e Galardi, 2004], oltre che con la capacità di assorbimento e con la quantità di siti di legame intracellulari. Trattandosi di organismi multicellulari la situazione è complicata dalle differenze specifiche di cellule e tessuti e dal trasporto intracellulare [Clemens *et al.*, 2002], quindi sono implicati anche meccanismi che operano a livello dell'intera pianta, come il trasporto dalle radici verso le parti aeree [Hall, 2002].

Il processo di bioaccumulo può essere così schematizzato: mobilitazione ed assorbimento dal suolo, compartimentazione e sequestro nella radice, trasporto da parte dello xilema, distribuzione nelle parti aeree, sequestro e immagazzinamento nelle cellule delle foglie. In ogni fase di questo processo la concentrazione e l'affinità delle molecole chelanti, come pure la presenza e la selettività delle attività di trasporto, influenza la percentuale di bioaccumulo [Clemens *et al.*, 2002]. Il coordinamento tra le funzioni di assorbimento, traslocazione e riserva è indispensabile per mantenere la concentrazione di metalli essenziali nei vari tessuti e compartimenti all'interno dei limiti fisiologici.

Il controllo e la regolazione del bioaccumulo degli elementi essenziali è vitale per l'organismo sia a livello cellulare che globale, e lo stretto controllo sulla disponibilità del metallo nella cellula richiede l'esistenza di uno specifico sistema di distribuzione per gli elementi in tracce.

L'assorbimento e la traslocazione dei metalli pesanti dipende anche dal tipo di metallo coinvolto [Gabbrielli e Galardi, 2004]. In linea generale, tra i metalli maggiormente biodisponibili per le piante ci sono cadmio, nichel, zinco, arsenico, selenio e rame; tra quelli relativamente biodisponibili rientrano cobalto, manganese e ferro, mentre piombo, cromo e uranio sono poco biodisponibili [Barbafieri, 2005]. Metalli con un'alta affinità per i componenti della parete cellulare come cromo e piombo possono accumularsi principalmente nelle radici [Ernst *et al.*, 1992]; anche il rame sembra rimanere confinato nella radice, mentre zinco e cadmio sembrano accumularsi preferenzialmente nei cloroplasti [Van Assche and Clijster, 1990].

Le piante iperaccumulatrici rappresentano un fenomeno singolare, sul cui significato ecologico sono state avanzate alcune ipotesi. La loro capacità di accumulare i metalli pesanti può comportare un vantaggio competitivo verso altre specie poco resistenti, può essere una semplice assimilazione involontaria di elementi affini ad altri nutrienti, e potrebbe anche costituire un sistema di difesa contro erbivori e patogeni [Zerbi e Marchiol, 2004].

1.5 Il fitorimedia

La necessità di decontaminare vaste porzioni di territorio è rallentata dal costo elevatissimo delle tecniche attualmente disponibili, normalmente di tipo chimico-ingegneristico, che, oltre ad essere poco convenienti da un punto di vista economico, risultano essere invasive e origine di profonde alterazioni chimiche, fisiche e biologiche per i substrati oggetto della bonifica. In ogni caso, i costi da sostenere per la realizzazione di questi interventi sono molto elevati, così che un'operazione di disinquinamento può diventare spesso economicamente insostenibile. Le bonifiche che si avvalgono di tecniche chimico-fisiche, infatti, restituiscono spesso un suolo non più adatto alla coltivazione poiché durante il processo di decontaminazione ogni attività biologica compresa quella dei microrganismi utili (funghi, batteri azoto fissatori, micorrize) e della fauna terricola viene drasticamente compromessa [Mancuso *et al.* 2004]. Per ovviare a queste problematiche, la ricerca si è orientata verso lo sviluppo di alternative più economiche e rispettose dell'ambiente. Una tecnologia innovativa, affidabile, ecosostenibile ed applicabile su larga scala è rappresentata dalla *Phytoremediation* o fitorimedia.

Il fitorimedia è una tecnica di bonifica che consiste fondamentalmente nell'utilizzo di piante per il trattamento delle matrici inquinate [Salt *et al.*, 1998; Raskin and Ensley, 2000; Pulford and Watson, 2003; Barbaferri 2005]. Il termine anglosassone *Phytoremediation* deriva dall'associazione del greco *phytos* (pianta) e dalla radice latina *remedium* (curare, risanare). Il fitorimedia, o fitodecontaminazione, ha diverse possibilità di applicazione [Salt *et al.*, 1998]

dalla detossificazione di molecole organiche complesse, come i pesticidi, al trattamento dei reflui di origine civile, industriale o agricola [USEPA, 2000].

La tecnica si basa su alcuni processi naturali che vengono svolti dalle piante, tra i quali:

- assorbimento diretto di metalli e di alcuni composti organici;
- accumulo o trasformazione delle stesse sostanze chimiche attraverso la lignificazione, metabolizzazione, volatilizzazione;
- utilizzo di enzimi rilasciati dalle piante per catalizzare la degradazione dei composti organici inquinanti;
- rilascio di essudati nella rizosfera, che apportano carbonio al suolo, modificano il pH e stimolano l'attività microbica per la degradazione dei contaminanti.

L'utilizzo della *phytoremediation* per bonificare suoli contaminati si sta affermando grazie ai molti vantaggi che offre [Bonomo e Sezenna, 2005]:

- costi inferiori del 40 % rispetto ad altre applicazioni *in situ*; i costi si riducono fino al 90 % per i trattamenti *ex situ*;
- rimozione di bassi livelli di contaminazione in aree anche molto estese;
- applicabile potenzialmente in località remote difficilmente raggiungibili;
- controlla l'erosione del suolo, lo scorrimento delle acque superficiali; le infiltrazioni e le emissioni di polvere;
- applicabile contemporaneamente a più siti da bonificare con contaminati multipli o mescolati;
- ottimo impatto sull'opinione pubblica, riduce il rumore ed è esteticamente piacevole.

Come tutte le tecnologie di bonifica, anche il fitorimedio presenta dei limiti, quali:

- sistema di crescita della vegetazione;
- capacità di penetrazione delle radici delle piante;
- quantità di terreno disponibile alla piantumazione;
- stretta dipendenza dalle condizioni pedo-climatiche.

Sebbene l'uso delle piante per la bonifica di siti inquinati risulti vantaggioso per molti aspetti, esistono alcuni limiti che ne potrebbero ostacolare l'applicabilità su ampia scala.

In molti casi le concentrazioni degli inquinanti nel suolo possono essere elevate a tal punto da risultare fitotossiche o comunque tali da non consentire alle piante di crescere sufficientemente per fornire un'adeguata biomassa. In altri casi può essere la scarsa fertilità del suolo a costituire un fattore di limite rallentando la crescita delle piante. A questo si deve aggiungere il fatto che la popolazione microbica nei suoli contaminati risulta generalmente depressa sia in termini di diversità genetica che di abbondanza numerica, portando ad avere una limitata dotazione di microrganismi utili per attuare un'efficiente azione degradativa sui contaminanti [Pilon-Smits, 2005].

Sulla base dei diversi meccanismi di azione è possibile classificare le varie tecniche di fitorimediazione in: *fitoestrazione*, *fitotrasformazione*, *fitostabilizzazione*, *fitovolatilizzazione* e *rizofiltrazione* [Salt *et al.*, 1998; Cunningham *et al.*, 1995; Miceli, 2001; Pulford and Watson, 2003; Wong, 2003; Zerbi e Marchiol, 2004; Mertens *et al.*, 2004; Rizzi *et al.*, 2004; Kramer, 2005].

- *Fitotrasformazione o Fitodegradazione*. È un meccanismo molto efficace nella decontaminazione del suolo da inquinanti organici moderatamente idrofobici. Consiste nella trasformazione di molecole organiche complesse in molecole semplici e nell'eventuale accumulo di cataboliti non tossici nei tessuti vegetali. Le piante trasformano il contaminante organico attraverso vari processi metabolici interni aiutati da vari enzimi, degradandoli a molecole semplici immagazzinate nei vacuoli o incorporate nei tessuti vegetali.



Figura 7. Rappresentazione schematica del meccanismo di fitodegradazione

- *Fitostabilizzazione*. Consiste nell'utilizzare piante che tollerano elevate concentrazioni di metalli e che li immobilizzano all'interfaccia suolo-radice. Le piante attraverso l'assorbimento radicale, la complessazione, la precipitazione, la riduzione dei metalli, l'umificazione o l'alterazione nella rizosfera delle caratteristiche chimico-fisiche del substrato, modificano la mobilità dei soluti, aumentano la stabilità dei metalli e riducono l'effetto di diffusione derivante dagli agenti atmosferici. Si può avere stabilizzazione:
 - nella zona radicale: le proteine prodotte dalla pianta vengono rilasciate nella rizosfera dalle radici;
 - sulle pareti cellulari: le proteine direttamente associate con le pareti delle cellule radicali possono legare e stabilizzare il contaminante all'esterno della cellula radicale;
 - nelle cellule radicali: le proteine presenti sulle membrane radicali possono facilitare il trasporto del contaminante all'interno della cellula. Qui il contaminante viene sequestrato nel vacuolo.



Figura 8. Rappresentazione schematica del meccanismo di fitostabilizzazione

La fitostabilizzazione è particolarmente indicata nei siti dove è indispensabile mantenere i metalli in forma non mobile, per evitarne la dispersione. Inoltre, quando la concentrazione è molto elevata, i processi di fitoestrazione richiederebbero tempi troppo lunghi per il raggiungimento degli obiettivi di bonifica.

- *Fitovolatilizzazione*. Consiste nella trasformazione di alcuni metalli e di alcune sostanze organiche in forme chimiche volatili, che vengono rilasciate in atmosfera [Burken and Schnoor, 1997; Banuelos *et al.*, 1997]. La specie chimica del contaminante può essere trasformata nella rizosfera prima di essere assorbita, oppure nella pianta dopo l'assorbimento. All'interno della pianta il contaminante o una forma modificata di esso verrà traslocato e poi rilasciato in atmosfera attraverso la traspirazione. La volatilizzazione permette di rimuovere gli inquinanti da un sito senza la necessità di una continua raccolta del materiale vegetale e del suo smaltimento [Pilon and Smits, 2005].



Figura 9. Rappresentazione schematica del meccanismo di fitovolatilizzazione

- *Rizofiltrazione*. Questa tecnologia prevede che i contaminanti presenti in soluzione siano assorbiti e traslocati dalle piante oppure fatti precipitare e immobilizzati a livello delle radici. Questa tecnica è specifica per le acque, ma può includere percolati del terreno, dal momento che necessita che i contaminanti si trovino in soluzione e liberi di entrare in contatto con l'apparato radicale delle piante. Si utilizzano piante iperaccumulatrici di metalli ad apparato radicale particolarmente diffuso, in grado di assorbire e concentrare i metalli nelle radici, nonché di promuovere la precipitazione a seguito di essudazione di fosfati [Dushenkov *et al.*, 1995].



Figura 10. Rappresentazione schematica del meccanismo di rizofiltrazione

- *Fitoestrazione*. Si avvale di piante in grado di accumulare un'elevata quantità di contaminati. La rimozione degli inquinanti dal suolo avviene tramite assimilazione e traslocazione all'interno dei tessuti epigei (foglie e fusto) della pianta stessa [Kumar *et al.*, 1995]. Le piante iperaccumulatrici sono in grado di accumulare quantità di metalli fino a 550 volte maggiori delle quantità presenti nelle piante non accumulatrici [Lasat, 2002], raggiungendo concentrazioni di metalli nelle foglie anche superiori al 5 % del peso secco [McGrath, 1998].

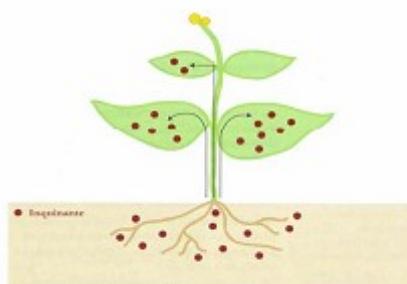


Figura 11. Rappresentazione schematica del meccanismo di fitoestrazione

1.5.1 Fitoestrazione e metalli pesanti

La scelta delle specie vegetali da utilizzare è una fase cruciale nella definizione di una strategia di fitorimedio. Numerose specie vegetali sono state riportate in letteratura per le loro

capacità disinguantanti e la loro scelta avviene in relazione all'ubicazione della zona da trattare e alla loro presenza spontanea in loco, al fine di evitare, con l'introduzione di specie esotiche, un'alterazione dell'equilibrio ecosistemico esistente.

I risultati ottenuti da un processo di fitoestrazione risentono dell'estrema variabilità delle diverse piante anche nell'ambito della stessa specie, senza considerare poi quella collegata alle diverse condizioni di crescita e caratteristiche del terreno [Dushenkov, 1995]. L'efficienza di fitoestrazione di una pianta è determinata da fattori chiave:

- alta produzione di biomassa;
- fattore di traslocazione;
- alto fattore di bioaccumulo per la fitoestrazione [McGrath and Zhao, 2003];
- radici profonde;
- basso tasso di trasferimento dalle radici alle parti aeree per la fitostabilizzazione [Rizzi *et al*, 2004].

Il fattore di bioaccumulo (BAF) (1), è definito come il rapporto fra la concentrazione del metallo nella parte epigea di una pianta e la concentrazione dello stesso riscontrata nel suolo.

$$BAF = \frac{[Me]_p}{[Me]_s} \quad (1)$$

Dove $[Me]_p$ = concentrazione del metallo nella pianta espressa in $mg\ kg^{-1}$

$[Me]_s$ = concentrazione del metallo nel suolo espressa in $mg\ kg^{-1}$

Il fattore di traslocazione (TF) (2), è dato dal rapporto fra la concentrazione del metallo nella parte epigea e quella misurata nelle radici, dà una stima dell'abilità della pianta a traslocare i metalli dalla radice agli organi in superficie, che più facilmente possono essere raccolti e smaltiti.

$$TF = \frac{[Me]_e}{[Me]_r} \quad (2)$$

Dove $[Me]_e$ = concentrazione del metallo nella parte epigea espressa in $mg\ kg^{-1}$

$[Me]_r$ = concentrazione del metallo nelle radici espressa in $mg\ kg^{-1}$

Sebbene esistano rare eccezioni, la maggior parte delle piante ha un fattore di bioconcentrazione o bioaccumulo per i metalli pesanti e per i metalloidi minore di 1. L'impiego di piante con un basso fattore di traslocazione ai fini della fitoestrazione potrebbe non essere conveniente perché, indipendentemente da quanto grande sia la biomassa, è calcolato che per ridurre della metà la concentrazione di un metallo nei primi venti centimetri di terreno, sarebbero necessari oltre 100 raccolti [McGrath and Zhao, 2003]. L'uso di piante in grado di fitoestrarre metalli pesanti in terreni contaminati costituisce una delle strategie di fitorisanamento più promettenti e accolte favorevolmente dall'opinione pubblica in virtù dei bassi costi, della possibilità di intervenire su un ampio spettro di metalli tossici inclusi i radionuclidi, per la minima interferenza sull'ecosistema e per la mancata produzione di nessun tipo di rifiuto secondario. Tuttavia, molte delle piante accumulatrici di metalli pesanti finora identificate, o hanno una crescita molto lenta oppure producono una biomassa esigua. Un elenco delle specie erbacee, arbustive ed arboree utilizzate più frequentemente è riportato nella Tabella 4.

Tabella 4. Elenco di alcune specie erbacee, arbustive ed arboree utilizzate frequentemente per studi di fitorimediazione.

Specie		Nome comune	Metallo accumulato
<i>Brassica juncea</i>	erbacee	Senape indiana	Pb
<i>Pisum sativum</i>		Pisello	Pb
<i>Helianthus annuus</i>		Girasole	Zn, Cu
<i>Zea mays</i>		Granturco	Zn
<i>Sedum alfredii</i>		Borracina	Cd
Felci (varie specie)		Felci	As
<i>Nicotiana tabacum</i>	arbustive	Tabacco	Cd
<i>Nicotiana glauca</i>		Tabacco glauco	Zn, Cu
<i>Mimosa pudica</i>		Mimosa sensitiva	As
<i>Melastoma malabathricum</i>		Melastoma di malabar	As
<i>Populus alba</i>	arboree	Pioppo bianco	vari
<i>Populus spp</i>		Pioppo	vari
<i>Salix spp</i>		Salici	vari

La scelta di quale meccanismo d'azione utilizzare dipende dal tipo e dal grado di inquinamento e dagli obiettivi della bonifica. Obiettivi diversi possono essere il contenimento, la stabilizzazione, l'isolamento, l'assimilazione, la riduzione, la detossificazione, la degradazione degli inquinanti. A seconda di questi obiettivi la definizione della strategia di fitorimedio non può prescindere dalla conoscenza appropriata delle caratteristiche del sito in ogni suo aspetto pedologico, climatico, idrologico nonché da considerazioni economiche, amministrative e sociali [Barbafieri, 2005].

La rimozione dei metalli pesanti dai suoli contaminati si presenta come un problema piuttosto complicato da affrontare. In larga parte i contaminanti organici, anche qualora non attaccati dai vari metodi di bonifica, dopo un tempo più o meno lungo di persistenza nell'ambiente, iniziano a degradarsi naturalmente; i metalli pesanti, invece, non essendo soggetti ad alcun processo di decomposizione, permangono inalterati nel suolo [Wade *et al.*, 1993].

Per la bonifica o messa in sicurezza di suoli contaminati da metalli pesanti vengono utilizzate principalmente due tecnologie: la fitoestrazione e la fitostabilizzazione. La fitostabilizzazione non rimuove i metalli dal terreno, ma ne previene la migrazione nell'ambiente attraverso diversi meccanismi fisici, chimici e biologici mediati dalle piante [Rizzi *et al.*, 2004; McGrath and Zhao, 2003; Wong, 2003]. La fitoestrazione di metalli pesanti consiste nell'assorbimento dei contaminanti attraverso l'apparato radicale e nella successiva traslocazione all'interno della pianta. I contaminanti concentrati nei tessuti vegetali sono quindi rimossi asportando le piante, o parti di esse, dal sito [Nardella, 2003; Lasat, 2002].

L'efficienza della fitoestrazione dipende da vari fattori:

- natura e concentrazione del contaminate;
- caratteristiche chimico-fisiche del suolo o del sedimento;
- caratteristiche morfologiche e fisiologiche della pianta.

Uno dei limiti maggiori nell'utilizzazione delle piante per decontaminare i suoli è la scarsa produzione di biomassa. Per ovviare a tale limite, molte ricerche mirano ad individuare piante, anche non iperaccumulatrici, ma semplicemente metallo-tolleranti, che siano in grado però di produrre una rilevante biomassa epigea e con un rapido tasso di crescita. Dall'altro lato rimane il problema dello smaltimento della biomassa raccolta. Tale materiale può essere incenerito, stoccando le ceneri in siti posti in sicurezza al fine di evitare ulteriori fenomeni di inquinamento, oppure può essere utilizzato in alcune produzioni, come quella delle fibre, in dipendenza delle specie coltivate, della concentrazione di metalli bioaccumulati e del rischio ambientale connesso al loro riutilizzo. Uno degli utilizzi principali della biomassa raccolta è la produzione di energia per combustione [Chaney *et al.*, 1997; Kramer, 2005]. Non è da trascurare anche la possibilità del recupero dei metalli dalla biomassa "arricchita" mediante processi di compattazione ed incenerimento [Miceli, 2001].

Un secondo fattore limitante l'efficacia di fitoestrazione è la biodisponibilità del contaminante nel suolo. La biodisponibilità dipende dalle condizioni chimico-fisiche del suolo, dalla presenza di batteri, funghi e piante che possono influenzare queste condizioni, dalla formazione di complessi organici e dalla precipitazione di complessi inorganici che rendono i metalli indisponibili all'assorbimento. Per i metalli che risultano poco biodisponibili, la mobilizzazione per mezzo di un agente chelante, può rappresentare una strategia per portare il metallo a contatto con le radici della pianta e avere così un'efficiente fitoestrazione [Blaylock *et al.*, 1997; Shen *et al.*, 2002]. Per tale motivo è stata sviluppata la fitoestrazione indotta, assistita da chelanti (EDTA, NTA, DTPA) che rendono più disponibili i metalli e ne inducono un maggior accumulo nei tessuti vegetali [Miceli, 2001].

Nel caso della fitoestrazione indotta, detta anche chelato-assistita, le piante deputate alla rimozione di un particolare metallo pesante vengono coltivate fino al raggiungimento di una biomassa ideale, dopodiché per mezzo dell'aggiunta al terreno di un appropriato agente chelante viene aumentata la biodisponibilità del metallo incrementando l'assorbimento e il bioaccumulo nelle piante. Al termine della fase di accumulo, spesso dopo un periodo di tempo piuttosto breve

(di alcuni giorni o settimane), le piante vengono raccolte, quindi incenerite o smaltite mediante compostaggio [Huang, 1997; Salt *et al.*, 1998].

Tuttavia è stato evidenziato che sussistono dei rischi sull'utilizzo di chelanti sintetici. Una delle criticità del processo di fitoestrazione assistita è l'effetto dell'agente chelante sul suolo studiato: esso, infatti, rendendo il metallo più mobile, lo rende maggiormente disponibile per l'assorbimento da parte delle piante ma anche maggiormente lisciviabile, con il rischio di diventare un contaminante della falda sotterranea [Shen *et al.*, 2002; Wenzel *et al.*, 2003; Madrid *et al.*, 2003]. Inoltre molti agenti chelanti sono sostanze di sintesi che non si trovano naturalmente nel suolo e ne perturbano fortemente l'equilibrio. Per questi motivi spesso si orienta la scelta verso l'uso di agenti chelanti di origine naturale, facilmente biodegradabili e quindi meno persistenti, presenti naturalmente nel suolo in quanto prodotti dalle piante e dai microrganismi. L'esistenza di sostanze secrete dalle radici è ben nota ed esse hanno diverse funzioni, tra le quali sembra esserci quella di chelanti dei metalli [Hall, 2002]. Tra queste può essere utilizzato l'acido citrico, la cui formula di struttura è riportata nella Figura 12. L'acido citrico è un acido carbossilico con quattro siti di legame: tre gruppi –COOH ed un gruppo alcolico. È prodotto naturalmente dal metabolismo di praticamente tutti gli organismi viventi, poiché rappresenta un intermedio nel ciclo dell'acido citrico, è facilmente biodegradabile ed in genere non tossico [Polettini *et al.*, 2006].

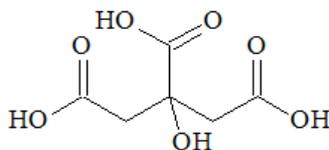


Figura 12. Formula di struttura dell'acido citrico.

L'acido citrico riduce il pH ed aumenta la concentrazione di metallo nella soluzione del suolo [Chen *et al.*, 2003]. A concentrazioni ambientali non influenza significativamente l'assorbimento di metalli pesanti perché viene velocemente degradato dai microrganismi del suolo [Blaylock *et al.*, 1997; Shen *et al.*, 2002; Wu e Luo, 2002]. Chen *et al.* (2003) hanno

riportato che l'aggiunta di acido citrico promuove la traslocazione dei metalli pesanti, specialmente del Pb.

Un approccio alternativo alla tecnica di fitoestrazione indotta, è la fitoestrazione continua. Questa strategia si avvale di determinati processi fisiologici che permettono ad alcune piante di accumulare metalli in modo continuo lungo tutto il ciclo vitale (Figura 13). Una pianta adatta a questo scopo deve essere in grado di crescere su terreni contaminati mantenendo la produzione di elevata biomassa e allo stesso tempo sopportare elevate concentrazioni del metallo nelle cellule [Salt *et al.* 1998].

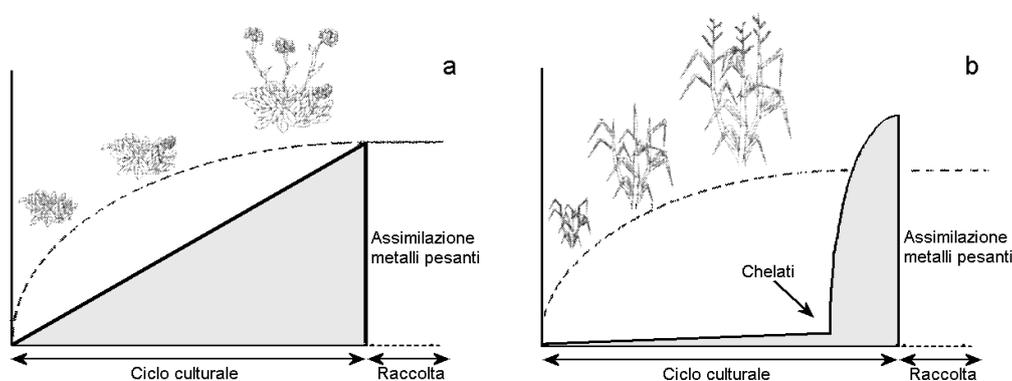


Figura 13. Diagramma della fitoestrazione continua (a destra) e indotta (a sinistra) [Salt *et al.*, 1998]. La linea continua è la concentrazione del metallo nella parte epigea, la linea tratteggiata l'andamento della biomassa.

La *phytoremediation* negli ultimi dieci anni ha progressivamente conquistato il favore delle industrie e delle agenzie governative per la protezione dell'ambiente, in virtù soprattutto dei bassi costi richiesti dagli interventi [Kramer, 2005; Pilom-Smits, 2005]

In Europa vengono spesi circa 25-50 milioni di dollari l'anno per il risanamento ambientale; un processo totalmente biologico come la *phytoremediation*, che può risultare fino a dieci volte più economico dei metodi di tipo ingegneristico, può rivelarsi davvero auspicabile. Se a questo si aggiunge il fatto che si tratta di una tecnologia più rispettosa dell'ambiente delle tecniche convenzionali di risanamento, che fa uso delle piante, si comprende il crescente consenso che sta avendo da parte dell'opinione pubblica [Cunningham *et al.*, 1995; Raskin *et al.*, 1997; Salt *et*

al., 1998]. In Europa, sebbene non ci sia ancora un impiego commerciale significativo della *phytoremediation*, il crescente interesse nell'ambito scientifico e della ricerca in questo settore e la notevole quantità di siti inquinati, indicano che lo sviluppo di questa tecnologia su larga scala potrebbe riguardare un futuro molto vicino [Pilon-Smits, 2005].

1.6 Articolazione dell'attività di tesi

Allo stato attuale la problematica dei siti contaminati è di grande interesse e la necessità di un loro risanamento, che non si limiti al conferimento in discarica, spinge verso la ricerca di nuove tecnologie di risanamento che siano sempre più a basso costo, ecocompatibili e che permettano una riqualificazione funzionale della matrice contaminata.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di individuare ed impiegare specie vegetali capaci di bioaccumulare metalli pesanti e metalloidi da poter essere impiegate in quella che negli ultimi tempi sembra essere una delle tecnologie di bonifica più promettenti: la *phytoremediation*.

Il lavoro svolto si articola su tre progetti, svolti in collaborazione con Enti pubblici e privati, che hanno riguardato la possibilità di impiegare specie vegetali per il risanamento di suoli contaminati da metalli pesanti e metalloidi.

Nel **Capitolo 3**, sono presentati i primi due progetti riguardanti l'applicazione in campo della felce *Pteris vittata* come specie vegetale per il risanamento di suoli contaminati da arsenico mediante fitoestrazione. Da quando è stata scoperta, nel 2001 come pianta iperaccumulatrice di arsenico, numerosi sono stati gli studi condotti in laboratorio su tale specie, ma ancora pochi sono i dati disponibili circa la sua applicazione in campo su larga scala. Con questa ricerca si è voluta indagare la sua capacità di iperaccumulatrice in condizioni reali, su suoli caratterizzati anche da contaminazione multipla, in presenza o meno di micorrizzazione. È stata condotta la caratterizzazione geochimica del suolo, è stato valutato il contenuto di metallo totale e di quello biodisponibile mediante la procedura di speciazione geochimica; è stato quindi seguito il comportamento di *Pteris vittata* nelle condizioni pedoclimatiche in cui veniva a trovarsi ed è stato seguito il bioaccumulo di arsenico e di altri metalli e metalloidi nel corso della sperimentazione.

Nel **Capitolo 4** è, invece, presentato il terzo progetto il cui scopo è stato quello di individuare in una barena una specie vegetale autoctona che potesse essere impiegata per il fitorisanamento di

un'area contaminata da piombo. Il lavoro ha riguardato la caratterizzazione dell'area di barena: caratterizzazione del sedimento dal punto di vista della distribuzione superficiale e verticale della contaminazione, valutazione della mobilità degli elementi (Pb, Cu, As e Sb), nonché l'analisi del contenuto di metalli e metalloidi negli esemplari di piante alofile presenti nell'area di studio per valutare un loro possibile impiego come specie vegetali per il fitorisanamento dell'area.

1.7 Bibliografia

Adriano D.C. **2001**. *Trace Elements in the Terrestrial Environment*. Springer, New York

Ahmad I., Hayat S. and Pichtel J. **2005**. *Heavy Metal Contamination of Soil: Problems and Remedies*. SciencePublishers, Inc. Enfield, NH, USA

Alloway B.J. **1995**. *Heavy metals in soils*. Blackie Academic & Professional, London

Angelone M., Bini C. **1992**. Trace elements concentrations in Soils and Plants of Western Europe. Int. Symp. On environmental contamination in Central and Eastern Europe. Budapest. Proc. pp. 19-60

Antonovics J., Bradshaw A.D. and Turner R.G. **1971**. *Heavy metal tolerance in Plants*, in *Advances in Ecological Research* vol.7, Edited by Cragg J.B., Academic Press London and New York

Argese E., Cogoni G., Pini R., Zaggia L. and Zonta R. **1992**. Study on redox state and grain size of sediments in a mud flat of the Venice Lagoon. *Environ. Geol. Water Sci.* 20: 35–42

Baker A.J.M. **1987**. Metal tolerance. *New Phytologist* 106: 93–111

Baker A.J.M., and Proctor J. **1990**. The influence of cadmium, copper, lead and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Systematics and Evolution* 173: 91–108

Bako M., Funta I.I., Lijachi M. **2005**. Heavy metal content of some savana plant species in relation to air pollution. *Water, Air, and Soils pollution* 161: 125–136

Banuelos G.S., Ajwa H.A., Mackey L.L., Wu, C., Cook S., Akohoue S. **1997**. Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soil selenium. *J. Environ Qual.* 26: 639–646

Barbafieri M. **2005**. Phytoremediation in *Bonifica dei siti contaminati*, McGraw-Hill

Basta N. T., Ryan J.A., Chaney R.L., **2005**. Trace Element Chemistry in Residual–Treated Soil: Key Concepts and Metal Bioavailability *Journal of Environmental Quality* 34: 49–63

Basta N.T., Sloan J.J. **1999**. Bioavailability of heavy metals in strongly acidic soils treated with exceptional quality biosolid. *Journal of Environmental Quality* 28: 633–638

Bedini S., Pellegrino E., Argese E., Giovanetti M. 2004. Miglioramento del suolo e biostabilizzazione di metalli pesanti mediati da glomalina. XIV Congresso della Società Italiana di Ecologia, Siena 4–6 ottobre 2004

Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D. and Raskin I. **1997**. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science & Technology* 31: 860–865

Bonomo L. e Sezenna L. **2005**. Criteri per la selezione delle tecnologie, in *Bonifica di siti contaminati*, McGraw-Hill.

Bringezu K., Lichtenberger O., Leopold I., Neumann D. **1999**. Heavy metal tolerance of *Silene vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 154: 536–546

Brock T.D., Madigan M.D., Martinko J.M., Parker J. **1995**. *Microbiologia*, 1^a edizione italiana. Cittàstudiedizioni, Milano.

Bunzl K., Trautmannsheimer M., Schramel P., Reifenhäuser W. **2001**. Availability of arsenic, copper, lead, thallium and zinc to various vegetables grown in slag-contaminated soils. *Journal of Environmental Quality* 30: 934–939

Burken J.G. and Schnoor J.L. **1997**. Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environmental Science & Technology* 31: 1399–1406

Cerruto S.R. **2006**. *Note semi-brevi in tema di bonifiche. Analisi delle principali novità portate dal D.Lgs. n. 152/2006* reperibile al sito internet www.ambientediritto.it

Chaney R.L., Malik M., Li Y.M., Brown S.L., Brewew E.P., Angle J.S., Baker A.J.M. **1997**. Phytoremediation of soil metals. *Current opinion in Biotechnology* 8: 279–284

Chen Y.X., Lin Q., Luo Y.M., He Y.F., Zhen S.J., Yu Y.L., Tian G.M., Wong M.H. **2003**. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere* 50: 807–811

Cicek A., Koparal A.S. **2004**. Accumulation of sulphur and heavy metals in soil and tree leaves sampled from the surroundings of Tunçbilek Thermal Power Plant. *Chemosphere* 57: 1031–1036

Clemens S., Palmegren M.G., Krämer U. **2002**. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7: 309–315

Cobbet C.S. **2000**. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy metal detoxification. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 211–216

Corpo forestale dello stato. **2005**. Piccola storia, attualità e problemi della legislazione sul danno ambientale. *Silvae* (anno III) 8: 217–231

Cunningham S.D., Berti W.R., Huang J.W. **1995**. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology* 13: 393–397

Del Rio M., Font R., Almela C., Vélez D., Monitoro R., De Haro Bailón A. **2002**. Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guardiamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology* 98: 125–197

Deng H., Ye Z.H., Wong M.H. **2004**. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132: 29–40

Dushenkov V., Kumar P.B.A.N., Motto H. and Raskin I. **1995**. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science & Technology* 29: 1239–1245

Ernst W.H.O., Verkleij J.A.C., Schat H. **1992**. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica* 41: 229–248

European Environmental Agency. **2005**. *The European Environment – state and out look 2005*.

Evanko C., Dzombak D.A. **1997**. *Remediation of metals-contaminated soils and groundwater*. GWRTAC (Ground Water Remediation Technologies Analysis Center), Pittsburg, PA.

Evans G.M. and Furlong J.C. **2003**. Contaminated land and bioremediation in *Environmental Biotechnology: theory and application*, John Wiley & Sons Ltd. pp. 89–111

Feng M.H., Shan X.Q., Zhang S.Z., Wen B. **2005**. Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat. *Chemosphere* 59: 939–949

Fent K. **2003**. Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. *Toxicology Letters* 140-141: 353–365

Ferguson C.C. **1999**. Assessing Risks from Contaminated Sites: Policy and Practice in 16 European Countries. *Land Contamination & Reclamation* 7: 33–54

Foy C.D., Chaney R.L., White M.C. **1978**. The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Reviews of Plant Physiology* 29: 511–567

Gabbrielli R. and Gallardi F. **2004**. I metalli pesanti negli organismi vegetali in *Fitoestrazione di metalli pesanti*, pp.37–43. Ed universitaria Udinese, Udine

Gambrell R.P., Khalid R.A. and Patrick W.H.Jr. **1980**. Chemical availability of Mercury, Lead and Zinc in Mobile Bay sediment suspensions as affected by pH and oxidation-reduction conditions. *Environ. Sci. Technol.* 14: 431–436

Guscina I.A. and Harwood J.L. **2002**. Lipid metabolism in the moss *Rhyidiadelphus squarrosus* from lead contaminated and non contaminated populations. *Journal of Experiment Botany* 53: 455–463

Hall J.L. **2002**. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany* 53: 1–11

Hamer D.H. **1986**. Metallothionein. *Annual Review of Biochemistry* 55: 913–951

Huang J.W., Chen J.J., Berti W.R. and Cunningham S.D. **1997**. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science & Technology* 31: 800–805

Jentschke G., Godbold D.L. **2000**. Metal toxicity and ectomycorrhizas. *Physiologia Plantarum* 109: 107–116

John D. A. and Leventhal J. S. **1995**. Bioavailability of Metals in *Preliminary compilation of descriptive geoenvironmental mineral deposit models*, U.S. Department Of The Interior, U.S. Geological Survey, Edward A. du Bray Editor.

Kabata A. and Pendias H. **1984**. *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Raton

Kabata-Pendias A. **2004**. Soil-plant transfer of trace elements—an environmental issue. *Geoderma* 122: 143–149

Karavaiko G.I., Rossi G., Agates A.D., Groudev S.N., Avakyan Z.A. **1988**. *Biogeotechnology of Metals: Manual*. Center for International Projects GKNT, Moscow, Soviet Union.

Kirkham M.B. **2006**. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation and amendments. *Geoderma* 137: 19–32

Kramer U. **2005**. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current opinion in Biotechnology* 16, 133–141.

Kruckeberg A.R. **1967**. Ecotypic response to ultramafic soils by some plant species of northwestern United States. *Brittonia* 19: 166–151

Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H. and Raskin I. **1995**. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology* 29: 1232–1238

Lasat M.M. **2002**. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31: 109–20

Lehmann C., Rebele F. **2004**. Evaluation of heavy metal tolerance in *Calamagrostis epigejos* and *Elymus repens* revealed copper tolerance in a copper smelter population of *C. epigejos*. *Environmental and Experimental Botany* 51: 199–213

Lewis S., Handy R.D., Cordi B., Billingham Z., Depledge M.H. **1999**. Stress proteins: methods of detection and their use as an environmental biomarker. *Ecotoxicology* 8: 351 – 368

Liphadzi M.S. and Kinkham M.B. **2005**. Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals: a technology for rehabilitation the environment. *South African Journal of Botany* 71: 24–37

Lombini A., Dinelli E., Ferrari C., Simoni A., **1998**. Plant-soil relationships in the serpentinite screes of Mt. Prinzera (Northern Apennines, Italy). *Journal of Geochemical Exploration* 64: 19–33

Macnair M., **1993**. Tansley review no.49, The genetics of metal tolerance in vascular plants. *New Phytologist* 124: 541–559

Macnair M.R., Tilstone G.H., Smith S.E. **2000**. The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. In: Terry N., Banuelos G., eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC pp. 235–250

Madejón P., Marañón T., Murillo J., Robinson B. **2004**. White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. *Environmental Pollution* 132: 145–155

Madrid F., Liphadzi M.S., Kirkham M.B. **2003**. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *Journal of Hydrology* 272: 107–119

Mancuso S., Pandolfi C., Azzarello E. and Mugnai S. **2004**. *Fitorimediazione, bonificare con le piante*. Quaderno informativo n.1 progetto FITOMED pp. 3–12

Marrs R.H., Proctor J. **1976**. The response of serpentine and non-serpentine *Agrostis solonifera* L. to magnesium and calcium. *Journal of Ecology* 64: 953–964

McGrath S.P. e Loveland P.J. **1992**. *The Soil Geochemical Atlas of England and Wales*, Blackie Academic and Professional, Glasgow.

McGrath S.P. and Zhao F.J. **2003**. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology* 14: 277–28

McLaughlin M.J., Hamon R.E., McLaren R.G., Speir T.W., Rogers S.L. **2000**. Review: a bioavailability-based rationale for controlling metal and metalloid contamination of agricultural land in Australia and New Zealand. *Australian Journal of Soil Research* 38: 1037–1086

Mertens J., Vervaeke P., De Schrijver A., Luysaert S. **2004**. Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation. *Science of the Total Environment* 326: 209–215

Miceli A. **2001**. Fitodecontaminazione e Risanamento dei suoli. *Ambiente Risorse Salute* 77: 21–24

Moutsatsou M.G., Matsas D., Protonotarios V. **2006**. Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by mining-metallurgical activities. *Chemosphere* 63: 1632–1640

Mulligan C.N., Young R.N., Gibbs B.F. **2001**. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engin. Geol.* 60: 193–207

Nardella A. **2003**. La Phytoremediation in *La bonifica biologica di siti inquinati da idrocarburi*.
EniTecnologie & Eni Corporate University (eds.) Ulrico Hoepli Milano pp. 87–96

Navari-Izzo F., Quartucci M.F., Sgherri C. **2004**. Fitoestrazione assistita e meccanismi di
tolleranza ai metalli in *Fitoestrazione di metalli pesanti*, Ed. universitaria Udinese, Udine pp. 37
– 43

Perronnet K., Schwartz C., Gerard E., More J.L. **2000**. Availability of cadmium and zinc
accumulation in the leaves of *Thlaspi caerulescens* incorporated into soil. *Plant and Soil* 227:
257–263

Pietrelli L., Ciferri F., Giancanelli V., Menegoni P., Farneti T., Modestia F., Salluzzo A. **2004**.
Accumulo di metalli pesanti in piante erbacee spontanee. *Acqua&Aria* 9:24–29

Pilon-Smits E. **2005**. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56: 15–39

Plette A.C.C., Nederlof M.M., Temminghoff E.J.M. and van Riemsdijk, W.H. **1999**.
Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic system: a quantitative approach.
Environmental Toxicology and Chemistry 18: 1882–1890

Polettini A., Pomi R., Rolle E., Ceremigna D., De Propis L., Gabellino M., Tornato A. **2006**. A
kinetic study of chelant-assisted remediation of contaminated dredged sediment. *Journal of
Hazardous Materials* 137:1458–1465

Pulford I.D., Watson C. **2003**. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a
review. *Environment International* 29: 529–540

Punshon T., Dickinson N.M. **1997**. Acclimatation of *Salix* to metals stress. *New Phytologist*
137: 303–314

Raskin I., Ensley B.D. **2000**. *Phytoremediation of toxic metals*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Rauser W.E. **1995**. Phytochelatins and related peptides. Structure, biosynthesis and function. *Plant Physiology* 109: 1141–1149

Renella G. **2000**. Caratterizzazione dei suoli contaminati da metalli pesanti, da Fitorimediazione, bonificare con le piante. Quaderno informativo n°1. Dal sito: www.fitomed.org

Rizzi L., Petruzzelli G., Poggio G., Vigna Guidi G. **2004**. Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere* 57: 10039–1046

Roote D.S. **2003**. *Technology Status Report*. TS 03-01, GWRTAC (Ground Water Remediation Technologies Analysis Center), Pittsburg, PA.

Salomons W. **1995**. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention. *Journal of Geochemical Exploration* 52: 5–23

Salt D.E., Smith R.D. and Raskin I. **1998**. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 643–668

Schat H., Llugany M., Brehnard R. **2000**. Metal-specific patterns of tolerance, uptake and transport of heavy metals in hyperaccumulating and non hyperaccumulating metallophytes. In: Terry N., Banuelos G., eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, pp. 171–188

Shen Z.G., Li X.D., Wang C.C., Chen H.M. and Chua H. **2002**. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality* 31: 1893–1900

Shu W.S., Ye Z.H., Lan C.Y., Zhang Z.Q., Wong M.H. **2002**. Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environmental Pollution* 120: 445–453

Taiz L. and Zeiger E. **1992**. *Fisiologia Vegetale*. Traduzione italiana a cura di Massimo Maffei, edizioni Piccin.

Tessier A., Campbell D., Bisson M. **1979**. Sequential extraction procedure for the speciation of the particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51: 844–851

Tichy R., Grotenhuis J.T.C., Rulkens W.H. **1992**. Bioremediation of zinc-contaminated soil with *thiobacilli*. Proc. Int. Conf. Eurosol., Maastricht, The Netherlands.

USEPA (United States Environmental Protection Agency) Report **2000**. *Introduction to Phytoremediation* - EPA 600/R-99/107.

USEPA (United States Environmental Protection Agency).**1990**. *Handbook on in situ treatment of hazardous-waste containing soils* – Risk Reduction Engineering Laboratory, Cincinnati, OH.

USEPA (United States Environmental Protection Agency).**1991**. *Innovative treatment technologies* – Semi-annual status report (third edition), EPA/540/2-91/001, USEPA Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.

USEPA (United States Environmental Protection Agency).**1994**. *Selection of control technologies for remediation of soils contaminated with arsenic, cadmium, chromium, lead or mercury* – Revised Draft Engineering Bulletin.

Van Assche F. and Clijsters H. **1990**. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell and Environment* 13:195–206

Vanetti F. **2006**. “Testo Unico Ambientale: La disciplina transitoria sulla bonifica dei siti contaminati. Approfondimento. Diverse interpretazioni possibili”. Reperibile al sito internet www.giuristiambientali.it

Venturi, **2002**. *La gestione dei siti contaminati*. Reperibile al sito internet www.legambienteferrara.org

Vierling E. **1991**. The roles of heat shock proteins in plants. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 579–620

Wade M.J., Davis B.K., Carlisle J.S., Klein A.K., Valoppi L.M. **1993**. Environmental transformation of toxic metals. *Occup. Med.* 8: 575 – 601

Wenzel W.W., Unterbrunner L.M., Sommer P., Sacco P. **2003**. Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant and soil* 249: 83–96

Wong M.H. **2003**. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50: 775-780

Wu L.H., Luo Y.M. **2002**. Chelate-enhanced phytoremediation of copper polluted soil III. Effects of EDTA and low molecular weight organic acids. *Acta Pedologica Sin.* 39: 679–685

Xiong Z. **1997**. Bioaccumulation and physiology effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus Oleraceus*. *Environmental Pollution* 97: 257–259

Ye Z.H., Shu W.S., Zhang Z.Q., Lan C.Y., Wong M.H. **2002**. Evaluation of major constraints to revegetation of lead/zinc mine tailings using bioassay techniques. *Chemosphere* 47: 1103-1111

Zenk M.H. **1996**. Heavy metal detoxification in higher plants – a review. *Gene* 179: 564-574

Zerbi G. e Marchiol L. **2004**. *Fitoestrazione di metalli pesanti* – Ed. universitaria Udinese, Udine

2 MATERIALI E METODI E CONTROLLO QUALITÀ DEL DATO ANALITICO

2.1 Materiali e Metodi

2.1.1 Reagenti e Materiali

Tutti i reagenti utilizzati per la preparazione delle soluzioni sono di grado analitico. Per il trattamento, la conservazione e lo stoccaggio dei campioni e delle soluzioni sono stati utilizzati contenitori di vetro Pyrex, polietilene e Teflon trattati prima dell'uso secondo la procedura descritta in letteratura [Batley and Gardner, 1977], che prevede l'immersione dei contenitori in una soluzione di HNO_3 0.5 M per 48 ore e successivo abbondante lavaggio con acqua Milli-Q.

Per la preparazione delle soluzioni e per i lavaggi è stata utilizzata acqua deionizzata mediante il sistema Milli-RO/Milli-Q della ditta Millipore.

Per i prelievi di aliquote di soluzioni sono state utilizzate micropipette Eppendorf per volumi da 0.5 a 5000 μL , o normali pipette di vetro per volumi superiori. Per il prelievo dell'acido fluoridrico è stata usata una pipetta in polietilene.

Le varie filtrazioni sono state eseguite con filtri di microfibra vetrosa di tipo GF/F della ditta Whatman.

Le misure di pH sono state eseguite con pHmetro digitale della Crison, modello Basic 20.

2.1.2 Strumentazione

Digestore a microonde.

Per accelerare l'estrazione dei metalli, alcune fasi sono state eseguite utilizzando un digestore a microonde MDS-2000 della ditta CEM. L'utilizzo del digestore a microonde comporta alcuni vantaggi, principalmente:

- la riduzione dei tempi di digestione;
- il raggiungimento di temperature e pressioni più elevate, evitando nel contempo perdite per evaporazione e riducendo la probabilità di contaminazioni dall'esterno in quanto si utilizzano contenitori chiusi;
- il controllo più preciso dei parametri di reazione, quali temperatura e pressione, che possono essere monitorati in continuo durante lo svolgimento della reazione; ciò migliora sensibilmente la ripetibilità delle procedure;
- il raggiungimento dei parametri prefissati in tempi minori rispetto ai metodi classici;
- il trattamento fino a 12 campioni contemporaneamente;
- il trattamento dei campioni in maggior sicurezza poiché si utilizzano contenitori ermeticamente chiusi.

Il riscaldamento a microonde avviene per assorbimento diretto dell'energia da parte del campione e, contrariamente a quello per conduzione, interessa simultaneamente tutta la soluzione, ma non il contenitore che viene costruito in materiale trasparente alle microonde.

Il tipo di digestore utilizzato è munito di sistemi di controllo e monitoraggio continuo di temperatura e pressione (programmabili fino a un massimo di 200°C per la temperatura e 200 psi per la pressione) e consente la regolazione della potenza erogata secondo valori percentuali (fino ad una potenza massima di 630 W) e l'esecuzione dei programmi impostati in più step, fino ad un massimo di cinque.

Le digestioni vengono eseguite ponendo il campione in speciali contenitori (Figura 14a) in teflon PFA[®] (1), posti in una camicia esterna che garantisce una maggiore resistenza meccanica

(2); ogni contenitore è munito di un coperchio (3) in cui viene inserita una membrana di sicurezza (4); tale membrana si rompe nel caso in cui vengano raggiunte pressioni troppo elevate all'interno del contenitore, permettendo la fuoriuscita di gas o schiume attraverso un apposito tubo (5), verso un contenitore esterno di recupero travasi.

Il sistema contenitore/coperchio viene tenuto chiuso ermeticamente per mezzo di un tappo a vite (6). Il contenitore di controllo (Figura 14b) è munito di un particolare tappo a tre vie che ne consente la connessione ai sistemi di controllo di pressione (7) e temperatura (8).

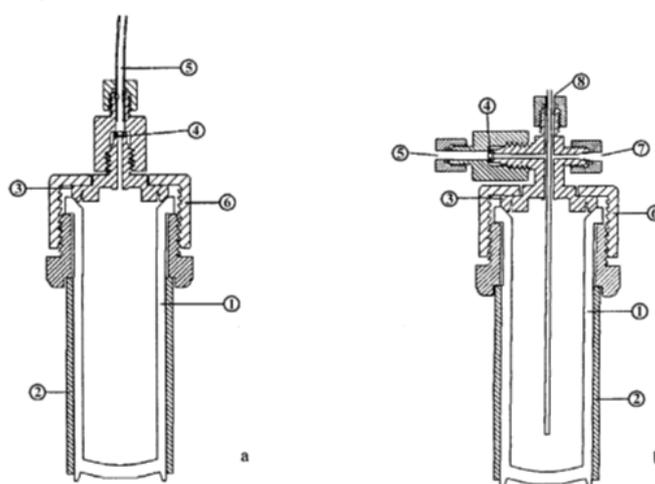


Figura 14. Contenitore per digestore a microonde. a) contenitore normale b) contenitore di controllo. 1- contenitore; 2-coperchio; 3-tappo a vite; 4-camicia esterna; 5-membrana di rottura; 6-tubo per l'uscita dei gas; 7-collegamento al sistema di misura di pressione; 8-collegamento al sistema di misura di temperatura.

Spettroscopia di emissione atomica con sorgente al plasma di Argon accoppiato induttivamente (ICP-AES).

Le analisi sono state eseguite con lo strumento Optima 5300DV della Perkin-Elmer.

Per le analisi sono stati utilizzati un flusso di 15 L min^{-1} per il gas plasmageno, 0.5 L min^{-1} per il gas ausiliario e 0.53 L min^{-1} al nebulizzatore, una potenza di 1300 Watts per il generatore di radiofrequenza ed un flusso di 1.5 mL min^{-1} per l'introduzione del campione.

I parametri sono stati ottimizzati sulla base del sistema di nebulizzazione utilizzato e della risposta dello strumento. La risposta dello strumento viene valutata quotidianamente tramite un test che misura il rapporto tra l'intensità di una soluzione di 10 mg L⁻¹ di Mn ed il segnale di fondo.

Lo strumento fornisce risposte direttamente in concentrazione, grazie all'utilizzo di curve di calibrazione ottenute con standard multielementari. I dati acquisiti dallo strumento sono analizzati tramite software sia per poter ottimizzare la lettura alle varie lunghezze d'onda, modificando la linea di base del picco e centrando il massimo di intensità ove necessario, sia per migliorare la risposta dello strumento stesso nella calibrazione e nell'analisi dei campioni.

Spettrometria di massa con sorgente al plasma di Argon accoppiato induttivamente (ICP-MS).

Le analisi sono state eseguite con lo strumento Elan 6100 della Perkin-Elmer.

Per le analisi sono stati utilizzati un flusso al nebulizzatore di 0.94 L min⁻¹, un voltaggio di 5.75V per la lente di focalizzazione elettrostatica ed una potenza di 1200 Watts per il generatore di radiofrequenza; tutti questi parametri sono stati ottimizzati tramite applicazioni del software di gestione dello strumento utili a ridurre ioni a doppia carica ed ossidi al di sotto del 3%, mentre i flussi di gas plasmageno sono fissi.

Spettroscopia di assorbimento atomico.

Le analisi sono state eseguite con lo strumento Spectra 250 Plus Varian. Può essere utilizzato nella configurazione con bruciatore ad aria/acetilene, per la determinazione degli elementi a concentrazione maggiore, oppure nella configurazione con fornetto di grafite (modello GTA-96 della Varian), per gli elementi a concentrazione più bassa.

2.1.3 Determinazione di metalli pesanti e metalloidi nel suolo

Per la determinazione della concentrazione totale dei metalli nel suolo è stata messa a punto una procedura di estrazione che prevede un attacco del campione liofilizzato e ridotto in polvere fine con HF e *acqua regia* in digestore a microonde, in contenitori chiusi.

Ad aliquote di circa 0.1 g di campione vengono aggiunti 5 mL di H₂O milliQ, 3 mL di *acqua regia*, 1.5 mL di HF concentrato; si attende fino all'esaurimento dell'effervescenza, quindi i campioni vengono sottoposti al seguente programma di digestione:

60 min a $T_{\max} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P_{\max} = 140\text{ psi}$, potenza digestore = 100 %

Al termine di questa digestione vengono aggiunti 7 mL di una soluzione satura di H₃BO₃, allo scopo di neutralizzare l'acido fluoridrico non reagito. Viene, quindi, eseguito un altro ciclo di 1 h, alle stesse condizioni del precedente. Infine la soluzione ottenuta viene portata direttamente a volume, essendo generalmente il campione completamente solubilizzato, e conservati in frigorifero in contenitori di polietilene fino al momento delle analisi.

Le analisi vengono effettuate mediante le tecniche ICP-MS, ICP-AES e AAS.

2.1.4 Speciazione geochimica

Al fine di valutare la ripartizione dei metalli tra le sue diverse forme associative, si è scelto di effettuare estrazioni sequenziali dei metalli. Ciò significa suddividere il metallo presente nel suolo in frazioni specifiche estraendo, selettivamente ed in successione, le frazioni associate alle diverse fasi geochimiche mediante l'uso di opportuni reagenti. Questa procedura è definita *speciazione geochimica* ed è basata sul fatto che ogni reagente attacchi un componente ben definito del suolo lasciando inalterati gli altri e che non ci sia riadsorbimento dei metalli disciolti sulle fasi solide rimanenti. Vari studi dimostrano che non sempre queste condizioni sono rispettate [Rendell *et al.*, 1980; Tessier *et al.*, 1979; Tessier and Campbell, 1987]. Si preferisce perciò definire operativamente le diverse frazioni di metallo estratte, riferendosi alla

procedura di estrazione utilizzata piuttosto che alla fase che con essa si intendeva solubilizzare [Rapin *et al.*, 1986; Tessier *et al.*, 1979; Campbell *et al.*, 1987].

Le varie estrazioni sequenziali, inoltre, si effettuano in modo da simulare il più possibile le diverse condizioni ambientali (pH, condizioni redox, salinità) che in particolar modo influenzano i processi di solubilizzazione dei metalli pesanti presenti nel suolo.

Tali procedure di estrazione sono complesse, costose e lunghe in quanto richiedono un attento controllo delle condizioni di estrazione in assenza del quale non si può ottenere una buona riproducibilità, selettività ed efficienza nella solubilizzazione delle diverse fasi geochimiche. Oltre a ciò c'è da aggiungere che la significatività dei dati può essere molto influenzata dalle fasi di prelievo e di trattamento del campione e dalle condizioni operative usate nelle estrazioni sequenziali.

Nonostante le complesse problematiche legate alla *speciazione geochimica*, tale procedura risulta la più idonea a fornire informazioni riguardanti la mobilità dei metalli, la valutazione della loro biodisponibilità e, di conseguenza, del rischio che essi comportano per l'ambiente e la salute umana. Infatti, maggiore è la loro mobilità, maggiore è la possibilità di una loro diffusione nel suolo, nel sottosuolo e nelle acque sotterranee e superficiali.

Le procedure illustrate sono state messe a punto ed ottimizzate dal gruppo di ricerca mediante l'utilizzo del materiale di riferimento (sedimento marino) certificato NRCC-PACS-2 (National Research Council of Canada). La procedura di estrazioni sequenziali utilizzata per la speciazione geochimica è costituita da cinque fasi (sette step di estrazione) ed è illustrata nello schema sotto riportato (Figura 15).

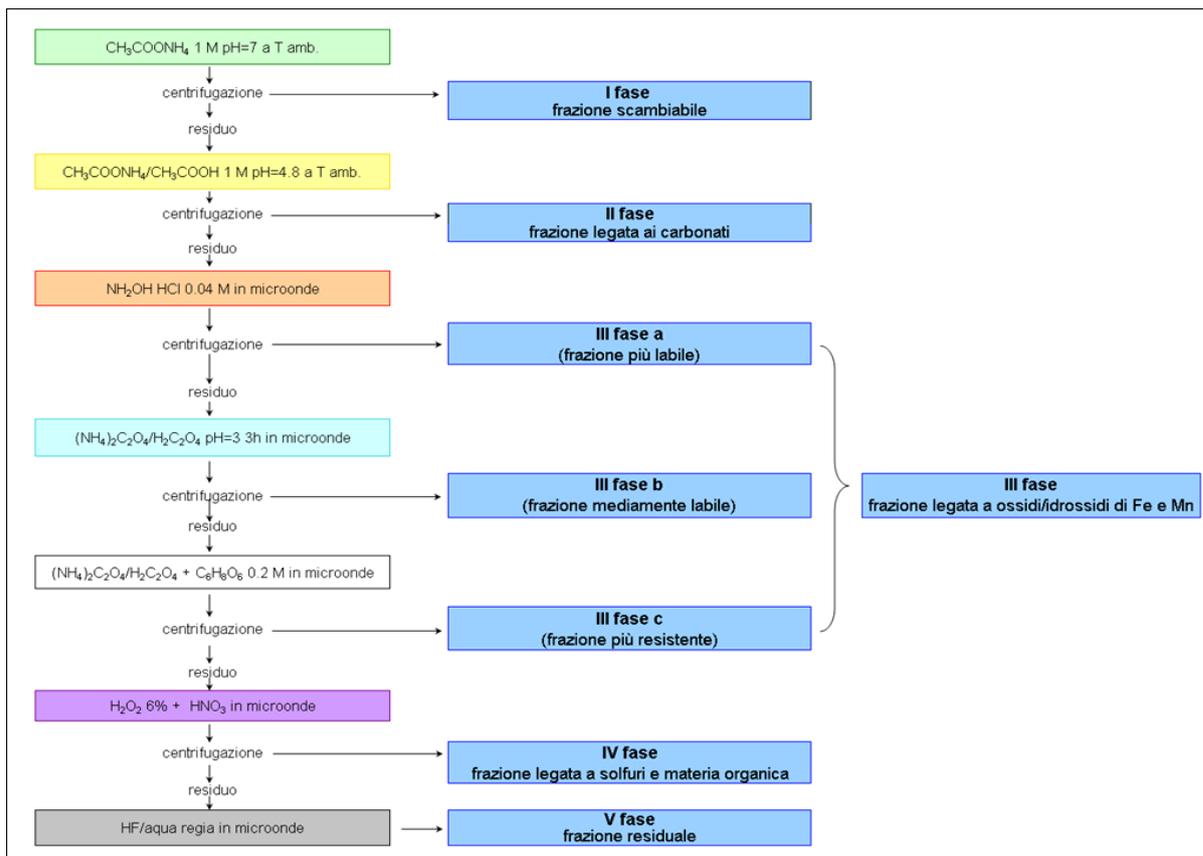


Figura 15. Schema della speciazione utilizzata

La procedura è basata su quella proposta da Tessier nel 1979, modificata e ottimizzata al fine di renderla più completa, ripetibile ed esaustiva.

La prima estrazione viene eseguita su un'aliquota di circa 1.4 g di suolo seccato, setacciato ed omogeneizzato in polvere fine. Ciascuna estrazione successiva viene eseguita sul residuo della precedente. Al termine di ogni estrazione, il surnatante viene separato mediante centrifugazione e filtrazione. Il residuo viene lavato prima con la stessa soluzione estraente, quindi con acqua deionizzata Milli-Q, e separato dal surnatante dopo ogni lavaggio. I surnatanti vengono riuniti in un'unica soluzione, acidificati quando necessario e portati a volume. Le soluzioni così ottenute vengono conservate a 4°C in contenitori di polietilene fino al momento dell'analisi.

Le analisi vengono effettuate mediante la tecnica AAS.

1° Fase – Frazione scambiabile. Questa frazione comprende i metalli adsorbiti sul suolo fisicamente o mediante processi di scambio cationico. La soluzione estraente utilizzata è $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1 M a pH 7. Il campione viene trattato con 20 mL di tale soluzione, agitato per 2 h a temperatura ambiente e quindi trattato come sopra descritto.

2° Fase – Frazione associata ai carbonati. Questa frazione comprende i metalli associati ai carbonati più labili nel suolo, e la sua stabilità è funzione del pH. La soluzione estraente è $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1 M a pH ~ 4.8. Il residuo proveniente dalla prima estrazione viene trattato con 30 mL di soluzione, agitato per 6 h a temperatura ambiente e trattato come sopra descritto.

3° Fase – Frazione associata agli ossidi ed idrossidi di ferro e manganese. L'estrazione di questa frazione è stata suddivisa in tre step, utilizzando soluzioni estraenti con potere riducente crescente.

a. Frazione più labile

La soluzione estraente è $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0.04 M in CH_3COOH al 25 % e consente di solubilizzare principalmente gli ossidi di manganese, più facilmente riducibili.

Il residuo proveniente dall'estrazione della seconda fase viene trattato con 30 mL di questa soluzione in digestore a microonde per 30 min a $T_{\text{max}} = 100$ °C, $P_{\text{max}} = 50$ psi e potenza del digestore pari al 100 %. L'estratto è poi trattato come descritto in precedenza.

b. Frazione mediamente labile

Il residuo viene trattato con 50 mL di una soluzione di acido ossalico 0.2 M a pH 3, in grado di solubilizzare gli ossidi di ferro amorfi. L'estrazione viene condotta in digestore a microonde per 3 h a $T_{\text{max}} = 100$ °C, $P_{\text{max}} = 50$ psi e potenza del digestore pari al 100 %, quindi il campione viene trattato come descritto sopra.

c. Frazione più resistente

L'ultima estrazione prevede l'utilizzo di una soluzione di acido ossalico ed acido ascorbico, entrambi alla concentrazione 0.2 M, a $T_{\text{max}} = 100$ °C per 30 minuti in digestore a microonde.

L'acido ascorbico è un riducente più forte che consente di estrarre gli ossidi di ferro a maggior ordine cristallino. Al termine dell'estrazione il campione viene trattato come descritto in precedenza.

4° Fase – Frazione associata alla materia organica ed ai solfuri. Anche la stabilità di questa fase è legata alle condizioni ossidoriduttive: in condizioni ossidanti infatti la materia organica può essere degradata ed i solfuri ossidati, rilasciando così i metalli. La soluzione estraente è costituita da H₂O₂ al 6% a pH=8. Il residuo proveniente dall'estrazione nella terza fase è trattato con 15 mL di soluzione in digestore a microonde secondo un programma in tre step:

- 10 min a T_{max} = 40 °C, P_{max} = 30 psi, potenza 40 %
- 10 min a T_{max} = 60 °C, P_{max} = 30 psi, potenza 40 %
- 60 min a T_{max} = 80 °C, P_{max} = 50 psi, potenza 40 %

Al termine vengono aggiunti 15 mL di H₂O₂ al 6 % a pH 2 e viene effettuata una seconda digestione secondo il seguente programma:

- 10 min a T_{max} = 40 °C, P_{max} = 30 psi, potenza 40 %
- 10 min a T_{max} = 60 °C, P_{max} = 30 psi, potenza 40 %
- 30 min a T_{max} = 80 °C, P_{max} = 50 psi, potenza 40 %

Al termine della digestione vengono aggiunti 10 mL di CH₃COONH₄ 3.2 M in HNO₃ al 69 % diluito 1:5, si pone in agitazione per 15 min, e quindi si tratta come descritto in precedenza.

5° Fase – Frazione residuale. Tale frazione comprende i metalli inclusi nella struttura reticolare dei minerali presenti nel suolo, che non vengono rilasciati in condizioni normali. La soluzione estraente è composta da *acqua regia* (HCl e HNO₃ 3:1) e HF. Il residuo proveniente dalla quarta estrazione viene seccato; l'estrazione è condotta su un'aliquota di 0.1 g, che viene trattata con 5 mL di acqua milliQ, 3 mL di *acqua regia* e 1.5 mL di acido fluoridrico in digestore a microonde per 1h a T_{max} = 170 °C, P_{max} = 140 psi e potenza pari al 100 %. Al termine di questa

digestione vengono aggiunti 7 mL di una soluzione satura di H_3BO_3 , allo scopo di neutralizzare l'acido fluoridrico non reagito. Viene quindi eseguito un altro ciclo di 1 h, alle stesse condizioni del precedente. Infine la soluzione ottenuta viene portata direttamente a volume, essendo generalmente il campione completamente solubilizzato.

2.1.5 Determinazione di metalli pesanti e metalloidi in materiale vegetale

Per la determinazione delle concentrazioni totali di metalli nel materiale vegetale è stata messa a punto una procedura di estrazione che prevede un attacco del campione liofilizzato e ridotto in polvere fine con acido nitrico ed acqua ossigenata in digestore a microonde, in contenitori chiusi.

Ad aliquote di circa 0.15 g di campione vengono aggiunti 4 mL di H_2O milliQ, 4 mL di HNO_3 69 % e 4 mL di H_2O_2 al 30 %; si attende fino all'esaurimento dell'effervescenza, quindi i campioni vengono sottoposti al seguente programma di digestione:

5 min a $T_{max} = 100$ °C, $P_{max} = 100$ psi, potenza digestore = 50 %

5 min a $T_{max} = 120$ °C, $P_{max} = 120$ psi, potenza digestore = 100 %

45 min a $T_{max} = 170$ °C, $P_{max} = 145$ psi, potenza digestore = 100 %

Al termine di tale trattamento i campioni, totalmente solubilizzati, sono portati a volume con acqua deionizzata e conservati in frigorifero in contenitori di polietilene fino al momento delle analisi. Le analisi vengono effettuate mediante le tecniche ICP-MS, ICP-AES e AAS.

2.1.6 Determinazione del fosforo totale

Il fosforo totale è stato determinato presso un laboratorio esterno con procedura riportata nei "Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo", G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali: Metodo XV.1. – "Determinazione del fosforo totale".

Trasferire 0.5 g del campione di terra fine, setacciata a 0.2 mm, in un bicchiere di Teflon da 100 mL. Aggiungere 5 mL di acido solforico al 96 % e agitare lentamente per portare in sospensione le particelle di suolo aderenti al fondo del bicchiere. Operando sotto cappa, aggiungere, in quantità successive di 0.5 mL, 3 mL di idrogeno perossido. Agitare bene dopo ogni aggiunta di H₂O₂ per facilitare la reazione di ossidazione. Evitare la fuoriuscita di schiuma, possibile, in particolare, nel caso di campioni di suolo caratterizzati da elevato contenuto di sostanza organica. Dopo qualche tempo, utilizzando una pipetta di polipropilene, aggiungere, in quantità successive da 0.5 mL, 1 mL di acido fluoridrico. Mescolare e, per eliminare l'eccesso di H₂O₂, tenere il bicchiere su piastra preriscaldata a 150 °C per 10–12 minuti. Dopo raffreddamento, trasferire quantitativamente il contenuto del bicchiere in un matraccio tarato da 50 mL. Portare a volume con H₂O, omogeneizzare e filtrare su carta Whatman ® n° 42. Preparare la prova in bianco seguendo le stesse modalità operative, omettendo il campione di suolo. Il contenuto di fosforo totale nel suolo, espresso in mg kg⁻¹, è determinato per spettrofotometria con il metodo all'acido ascorbico.

Il limite di rivelabilità della procedura è 10 mg kg⁻¹.

2.1.7 Determinazione del carbonio totale

Le concentrazioni di carbonio totale e carbonio organico sono ottenuti usando l'autoanalizzatore Carlo Erba CNS, mod. NA 1500. Il carbonio totale è stato analizzato direttamente dopo sedimentazione forzata mentre il carbonio inorganico è stato determinato in campioni che sono stati combusti per due ore a 440 °C al fine di eliminare ogni materiale organico. Il carbonio organico è determinato per differenza. Tutte le analisi sono condotte in repliche di 2-3 e la precisione è superiore al 95%.

2.1.8 Determinazione dell'azoto totale

La concentrazione di azoto totale è stata determinata su campioni liofilizzati finemente polverizzati usando l'autoanalizzatore Carlo Erba CNS, mod. NA 1500.

2.1.9 Determinazione del grado di reazione (pH)

Il pH è stato determinato presso un laboratorio esterno con procedura riportata nei "Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo", G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali: Metodo III.1. – "Determinazione del grado di reazione".

Si sono trasferiti 10 g di campione liofilizzato e setacciato a 1 mm in una beuta da 50 mL. Si sono aggiunti 25 mL di KCl 1 M. Si è agitata la sospensione per 150 min a 150 rpm, si è quindi centrifugato. Il surnatante prelevato è stato filtrato con filtro di acetato di cellulosa 0.45 μm . Si è quindi introdotto il sistema elettrodico nel surnatante e rilevato il valore di pH.

2.1.10 Determinazione della granulometria

La granulometria è stata determinata presso un laboratorio esterno con procedura riportata in "ICRAM Scheda 3 – Sedimenti (triennio 2001–2003)".

Trattare il campione con una soluzione di perossido di idrogeno ed acqua distillata (2:8) per 48 ore a temperatura ambiente per facilitare la separazione dei granuli. In seguito, separare il sedimento su maglia da 63 μm in umido con acqua distillata; le due frazioni ottenute vanno essiccate in stufa a 60 °C e successivamente pesate. Vagliare la frazione > 63 μm (sabbia e ghiaia) con pile di setacci da -1 a 4 phi con un intervallo di 0.5 phi (phi = $-\log_2$ del valore in mm) della serie ASTM; pesare il sedimento corrispondente a ciascun intervallo ed al termine delle operazioni calcolare il peso dell'intera frazione. Le unità in possesso di strumentazione

idonea alla determinazione della frazione fine o pelitica ($< 63 \mu\text{m}$) devono operare così che la frazione:

- sia quartata per ottenere la massima distribuzione casuale dei granuli;
- sia mantenuta in sospensione per 24 ore in una soluzione di acqua distillata ed esametafosfato di sodio $[(\text{NaPO}_3)_6]$ (0.05%) in ragione di 2.5 g di campione per 100 mL di soluzione;
- infine, sia trattata con ultrasuoni ed analizzata mediante sedigrafo a raggi X o granulometro laser.

I risultati analitici sono espressi in percentuale come rapporto tra il peso della frazione granulometrica ed il peso del campione totale.

2.1.11 Determinazione del potenziale redox

Il potenziale redox è stato determinato presso un laboratorio esterno con procedura UNI 10370 1994.

2.1.12 Determinazione della conduttività elettrica

La conducibilità è stata determinata presso un laboratorio esterno con procedura riportata nei “Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo”, G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali: Metodo IV.1. – “Determinazione della conduttività elettrica”.

Trasferire, in un matraccio conico di Erlenmeyer da 250 mL, 30 g del campione di terra fine. Aggiungere 150 mL di H_2O . Agitare meccanicamente per due ore e lasciare a riposo per altre due ore (se si ritiene che nel suolo possa essere presente calcio solfato, lasciare a riposo per una notte). Successivamente, filtrare su filtro di carta Whatman ® n° 42. Se il filtrato è torbido ripassarlo sullo stesso filtro. Aggiungere 1 goccia di soluzione (0.1 %) di sodio esametafosfato

$[(\text{NaPO}_3)_6]$ a ogni 25 mL di estratto. Per l'analisi si utilizza una apparecchiatura che fornisce direttamente i valori di conducibilità riportati a 25 °C.

2.1.13 Determinazione della salinità

La salinità è stata determinata presso un laboratorio esterno con procedura DGRV n° 2241 del 9 Agosto 2005 Appendice.

Pesare 10,00 g \pm 0,05 g di campione umido nel contenitore di plastica. Aggiungere 50 mL di acqua demineralizzata, tappare ed agitare con agitatore rotativo per 15 minuti. Lasciare a riposo 30 minuti e filtrare la soluzione con filtri veloci a pieghe. Immergere l'elettrodo agitando la soluzione e accertarsi che non vi siano bolle nella cella dello stesso. Effettuare la lettura strumentale fino a stabilizzazione del segnale e comunque non oltre 1 minuto dall'immersione.

Il limite di rivelabilità della procedura è 0.1 meq / 100 g.

2.1.14 Determinazione della capacità di scambio cationico

La capacità di scambio cationico (CSC) è stata determinata presso un laboratorio esterno con procedura riportata nei "Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo", G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali: Metodo XIII.2. – "Determinazione della CSC con Bario Cloruro e Trietanolammina".

Un'aliquota di 2 g di suolo liofilizzato e setacciato viene trattato con 25 mL di una soluzione 0.5 M di BaCl_2 e $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$ per 1h. Dopo centrifugazione il surnatante è stato separato e sono stati ripetuti per altre due volte i lavaggi con la suddetta soluzione. È seguito un lavaggio con 25 mL di acqua milliQ e, dopo rimozione del surnatante, i campioni sono stati pesati ed è stato eseguito un ultimo lavaggio con soluzione 0.05 M di MgSO_4 per 2 h. Dopo centrifugazione, 10 mL di surnatante sono stati aggiunti in beuta a 100 mL di acqua milliQ, 10 mL di soluzione tampone ed una punta di spatola di una miscela sodica di Nero Eriocromo T

(indicatore). Si è proceduto a titolare con una soluzione di EDTA. La prova è stata effettuata anche con un bianco, dove i 10 mL di surnatante sono stati sostituiti dalla stessa quantità di una soluzione di solfato di magnesio.

Il limite di rivelabilità della procedura è 1 meq / 100 g.

2.2 Controllo Qualità del Dato Analitico

L'accuratezza e la precisione delle procedure utilizzate per la determinazione del metallo totale (HF/acqua regia) nel suolo sono state stimate sottoponendo ad analisi il materiale di riferimento certificato, NRCC-PACS-2 (National Research Council of Canada) e confrontando i valori di concentrazioni ottenuti con quelli certificati. In Tabella 5 è riportato il confronto tra i valori certificati ed i valori misurati mediante ICP-MS, ICP-AES ed AAS. Si osserva il buon accordo tra valori certificati e misurati.

Tabella 5. Analisi di materiale certificato (PACS-2): valori certificati e concentrazioni misurate tramite tecniche ICP-MS, ICP-AES e AAS. I valori sono espressi in mg kg⁻¹ di p.s. n.d. = concentrazione non determinata

Metallo	Conc. certificata	ICP-MS	ICP-OES	AAS
Ferro	40900 ± 600	42600 ± 500	40800 ± 500	39500 ± 600
Manganese	440 ± 19	357 ± 4	426 ± 7	459 ± 8
Zinco	364 ± 23	417 ± 47	332 ± 24	399 ± 18
Piombo	183 ± 8	176 ± 7	188 ± 8	175 ± 7
Rame	310 ± 12	263 ± 4	282 ± 6	314 ± 7
Cromo	90.7 ± 4.6	83.1 ± 1.6	84.6 ± 0.9	97.2 ± 2.9
Nichel	39.5 ± 2.3	36.6 ± 2.2	41.1 ± 0.98	43.5 ± 1.5
Antimonio	11.3 ± 2.6	12.7 ± 1.3	n.d.	n.d.
Arsenico	26.2 ± 1.5	n.d.	24.7 ± 4.7	27.3 ± 5.1
Selenio	0.92±0.22		n.d.	
Cadmio	2.11±0.15		n.d.	

Per determinare l'efficacia del metodo di digestione del materiale vegetale e l'affidabilità delle analisi dei metalli sono stati preventivamente analizzati dei campioni di materiale certificato IRMM-BCR-062 (foglie di olivo liofilizzate).

Nella Tabella 6 sono riportati i risultati ottenuti e quelli attesi con le rispettive deviazioni standard.

Tabella 6. Risultati dell'analisi del materiale certificato IRMM-BCR-062 tramite tecnica ICP-MS. Le concentrazioni sono espresse in mg kg^{-1} .

Elemento	Conc. attesa	SD	Conc. misurata	SD
Rame	47	2	46	1
Piombo	25	2	25	2
Cadmio	0.10	0.02	0.09	0.01
Arsenico	0.2		0.21	0.01

Come si può notare i risultati ottenuti sono in ottimo accordo con i valori certificati.

La complessità della procedura di speciazione geochimica e della matrice stessa dei campioni, il numero elevato di soluzioni estraenti a diversa composizione chimica e la contemporanea presenza di numerosi analiti in concentrazioni differenti hanno richiesto un continuo e puntuale controllo della performance della procedura di estrazione e delle analisi strumentali. Tale controllo è stato effettuato replicando le estrazioni e le analisi strumentali, anche utilizzando, quando necessario, metodologie analitiche diverse (ICP-MS, ICP-OES, AAS), effettuando contemporaneamente le analisi sui bianchi di controllo, utilizzando dove necessario il metodo delle aggiunte standard per le determinazioni analitiche.

Non essendo disponibile un idoneo materiale di riferimento certificato per la speciazione geochimica, la qualità dei risultati analitici ottenuti dalle estrazioni sequenziali dei metalli pesanti è stata valutata stimando l'accuratezza attraverso il confronto della somma delle

concentrazioni riscontrate per ciascun metallo nelle diverse fasi geochimiche, con la quantità di metallo ottenuta mediante digestione totale dei campioni di suolo. La precisione delle singole estrazioni sequenziali è stata valutata replicando l'intero protocollo di speciazione geochimica su 5 subfrazioni dello stesso campione di sedimento (Tabella 7). La precisione e/o l'accuratezza ottenute per i campioni di sedimento erano entro i limiti più che buoni per tutti gli elementi e per tutte le digestioni/estrazioni.

Tabella 7. Repliche di speciazione geochimica: medie ($n = 3$), SD e SD %. I valori sono espressi in mg kg⁻¹ p.s.

Fasi di				III ^a	III ^a	III ^a	IV ^a	V ^a	Somma	Totale	%
speciazione		I ^a	II ^a	a	b	c					di
geochimica											recupero
Piombo	Media*	1.34	61	58	69	6.4	29	67			
	SD	0.06	2	6	4	0.5	2	3	292	306	95
	SD %	5	3	10	5	7	6	5			
Rame	Media*	1.54	0.91	12	1.5	5.1	27	19			
	SD	0.09	0.05	2	0.1	0.5	2	2	67	54	124
	SD %	6	6	14	7	10	9	9			

* valori medi calcolati su 5 subfrazioni dello stesso campione di sedimento

Per ogni strumento utilizzato per le analisi, sono stati determinati i limiti di rivelabilità e di quantificazione per i metalli di interesse e per le diverse procedure di estrazione.

Tabella 8. Limite di rivelabilità dell'AAS (fornetto di grafite) per alcuni metalli per le diverse procedure di estrazione impiegate. Le concentrazioni sono espresse in $\mu\text{g L}^{-1}$.

AAS	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HF/ <i>acqua</i>		1.8		0.5	0.023	1.6	0.009			
<i>regia</i>										
HNO₃/H₂O₂				0.3	0.05	0.09	0.006			
I FASE		1.2		0.4	0.06	1.6	0.05			
II FASE		2.01		0.4	0.07	0.5	0.07			
III FASE a		2.1		0.4	0.02	0.6	0.2			
III FASE b		1.7		0.3	0.03	0.6	0.08			
III FASE c		1.6		0.5	0.3	0.7	0.1			
IV FASE		2.6		0.3	0.6	0.7	0.1			

Tabella 9. Limite di rivelabilità dell'AAS (fiamma) per alcuni metalli per le diverse procedure di estrazione impiegate. Le concentrazioni sono espresse in mg L^{-1} .

AAS	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HF/ <i>acqua</i>			0.063	0.009	0.006	0.21	0.02		0.06	0.02
<i>regia</i>										
HNO₃/H₂O₂			0.073	0.06	0.01	0.19	0.02		0.005	0.06
I FASE	0.21		0.044	0.003	n.d.	0.23	0.02		0.004	0.03
II FASE	0.16		0.078	0.003	0.00	0.27	0.03		0.006	0.07
III FASE a	0.18		0.058	n.d.	0.006	0.14	0.018		0.003	0.53
III FASE b	0.28		0.031	0.011	0.006	0.18	0.03		0.004	0.08
III FASE c	0.16		0.060	0.006	0.006	0.12	0.02		0.006	0.03
IV FASE	0.22		0.067	0.009	0.006	0.25	0.02		0.006	0.07

Tabella 10. Limite di rivelabilità dell'ICP-OES per alcuni metalli per le diverse procedure di estrazione impiegate. Le concentrazioni sono espresse in $\mu\text{g L}^{-1}$.

	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HF/ acqua regia	9	6	9	12	1.8	2.1	2.4	18	0.9	0.3
HNO₃/H₂O₂	9	12	6	9	3	6	3	15	2.4	0.6

Tabella 11. Limite di quantificazione dell'ICP-OES per alcuni metalli per le diverse procedure di estrazione impiegate. Le concentrazioni sono espressi in mg kg^{-1} .

	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HF/ acqua regia	30	20	30	40	6	7	8	60	3	1
HNO₃/H₂O₂	21	24	11	23	10	10	9	36	15	1

Tabella 12. Limite di rivelabilità dell'ICP-MS per alcuni metalli per le diverse procedure di estrazione impiegate. Le concentrazioni sono espresse in $\mu\text{g L}^{-1}$.

ICP-MS	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HNO₃/H₂O₂	0.1		0.01	0.1	0.01	0.1	0.1			

Tabella 13. Limite di quantificazione dell'ICP-MS per alcuni metalli per la procedura di estrazione impiegata. Le concentrazioni sono espressi in mg kg^{-1} .

ICP-MS	As	Sb	Pb	Cu	Cd	Ni	Cr	Se	Zn	Mn
HNO₃/H₂O₂	0.07		0.01	0.07	0.01	0.07	0.07			

2.3 Bibliografia

Aston S.R., Bruty D., Chester R. **1976**. The trace-element partition geochemistry in an ancient deep-sea sediment core from the Bermuda Rise. *Marine Geology* 21: 271–288

Batley G. and Gardner D. **1977**. Sampling and storage of natural waters for trace metal analysis. *Water Research* 11: 745–756

Campbell F.A., Krouse H.R., Spencer R.J., Ueda A. **1987**. $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Variations in trace sulphide and sulphate in carbonate rocks of a Devonian reef, Alberta, Canada, and the Precambrian Siyeh formation, Montana, U.S.A. *Chemical Geology: Isotope Geoscience section* 65: 383–390

Forstner U. and Wittman G.T. **1983**. *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Gambrell P.R., Patrick W. H. Jr., Khalid R. A. **1978**. Effect of dissolved oxygen on chemical transformations of heavy metals, phosphorus, and nitrogen in an estuarine sediment. *Estuarine and Coastal Marine Science* 6: 21–35

Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo”, G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali.

Morse J. W., Millero F. J., Cornwell J. C., Rickard D. **1987**. The chemistry of the hydrogen sulphide and ironsulphide systems in natural waters. *Earth Science Reviews* 24: 1–42

Rapin F., Carignan R., Tessier A. **1986**. Sediment porewater sampling for metal analysis: A comparison of techniques. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 49: 2493–2497

Rendell P.S., Batley G.E. and Cameron A.J. **1980**. Adsorption as a control of metal concentrations in sediment extracts. *Environ. Sci. Technol.* 14: 314–318

Tessier A., Campbell D., Bisson M. **1979**. Sequential extraction procedure for the speciation of the particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51: 844–851

Tessier A., Campbell P.G.C. **1987**. Partitioning of trace metals in sediments: relationship with bioavailability. *Hydrobiologia* 149: 43–52

Zonta R., Zaggia L., Argese E. **1994**. Heavy metal and grain size distribution in estuarine shallow water sediments of the cona marsh (Venice lagoon). *Science of Total Environment* 151: 19–28

3 LA ROTONDA DI SAN GIULIANO E L'ISOLA DI MURANO

3.1 Introduzione generale ai casi di studi

I due casi di studio che verranno di seguito illustrati rientrano all'interno del Progetto PRIN 2007 – “Meccanismi di risposta ad arsenico e cadmio in piante modello: dal molecolare alla sperimentazione in campo”. Lo scopo del progetto PRIN è stato quello di migliorare la conoscenza dei meccanismi di tolleranza di arsenico e cadmio in due piante scelte come sistemi modello, *Pteris vittata*, una felce che iperaccumula arsenico nelle fronde ma sensibile al Cd, e il tabacco (*Nicotina tabacum*), che accumula cadmio nelle radici. Un ulteriore scopo del progetto ha riguardato lo studio delle interazioni che intercorrono tra le piante modello e i funghi micorrizici arbuscolari (AM), con particolare attenzione al loro possibile ruolo nel migliorare le capacità di tolleranza e accumulo di cadmio o arsenico. Fino ad ora i processi di accumulo, tolleranza e citotossicità di *Pteris vittata* ad As e Cd sono stati studiati prevalentemente su piante allevate in condizioni controllate, esistono solo alcuni dati di sperimentazione in campo con *P. vittata* per la bonifica da As, ma senza l'uso dei funghi AM, ed in Florida, in condizioni micro- e macroclimatiche diverse dalle nostre. Non ci sono dati relativi alla bonifica di suoli italiani contaminati da As con l'uso di questa felce. Tuttavia, lo studio in campo e su materiale proveniente dal campo è un passaggio obbligato per verificare la capacità delle piante di tollerare e/o accumulare Cd e As nei diversi organi e tessuti e per valutare le alterazioni citomorfologiche causate da questi elementi. Inoltre, l'utilizzo di terreni contaminati permette di valutare l'effetto della micorrizzazione sull'assorbimento dei metalli e metalloidi. All'interno di tale progetto, il gruppo di ricerca presso il quale è stato svolto questo lavoro di tesi si occupa

della sperimentazione in campo della tecnica di fitorisanamento da arsenico mediante la felce *Pteris vittata*. Il passaggio da una sperimentazione in laboratorio a quella in campo risulta di fondamentale importanza per la comprensione e la verifica della capacità delle piante di tollerare e/o accumulare questo elemento nei diversi organi e tessuti nelle reali condizioni di campo (frazione dell’elemento effettivamente biodisponibile, co-presenza di più elementi contaminanti, caratteristiche pedoclimatiche variabili durante il ciclo di vita, ecc.).

Di seguito sono presentati i due casi della sperimentazione in campo della tecnologia di fitorimediazione con *Pteris vittata* in siti contaminati da arsenico ma anche da altri metalli pesanti e metalloidi. Tali casi di studio rientrano all’interno di due progetti realizzati in collaborazioni con Enti pubblici e aziende private che operano nel campo della bonifica. Il primo caso di studio rientra all’interno del progetto “Rotonda San Giuliano (Studio di tecniche di fitorimediazione su suolo contaminato)”, realizzato con la collaborazione di Venezia Opportunità, della Federazione Provinciale Coldiretti Venezia, del Comune di Venezia, dell’Istituzione “Il Parco” e di VESTA S.p.A. Unità Bonifiche e Siti Inquinati. Il secondo caso di studio è inserito nel progetto “Campo sperimentale di fitorisanamento di suolo contaminato da arsenico mediante *Pteris vittata*” presso l’isola di Murano, condotto in collaborazione con la STA s.r.l (Servizi Tecnologici Ambientali), ditta che si occupa di bonifiche ambientali.

3.2 Stato dell'arte su *Pteris vittata*

Recentemente, sono state scoperte molte piante iperaccumulatrici di arsenico, e interessante è che la maggioranza di queste appartenga alla famiglia delle felci e in particolare alla specie dell'ordine delle *Pteridales* tra cui molte appartenenti al genere *Pteris* spp. (

Tabella 14 Tabella 14) [Xie *et al.*, 2009]. Il genere *Pteris* comprende un vasto numero di specie prevalentemente di origine tropicale, anche se in alcuni casi si è avuto un adattamento anche a zone a clima temperato; in Italia, ad esempio, è diffusa in diverse zone della costa tirrenica [Minganti *et al.*, 2004; Trotta *et al.*, 2006]. Si tratta di felci terrestri in grado di colonizzare habitat tra loro diversi, dagli ambienti riparati del sottobosco (*P. umbrosa*) agli spazi aperti (*P. vittata*); alcune specie riescono ad occupare ambienti marginali antropizzati (*P. tremula*, *P. orientalis*), mentre altre si ritrovano in prossimità degli estuari dei grandi fiumi delle regioni tropicali (*P. ensiformis*). Mentre la maggior parte delle specie prediligono terreni sub-acidi estremamente umidi (*P. comans*), altre si sono adattate a terreni talvolta calcarei e soggetti ad un'alternanza di stagioni secche ed umide (*P. vittata*, *P. cretica*) [Mignolli, 2006].

Tra tutte le specie individuate, quella che è stata più ampiamente studiata è la *Pteris vittata*, appartenente alla Classe *Pterophyta*, Ordine *Filicales*, Famiglia *Pteridaceae*, Genere *Pteris*.

I numerosi studi sino ad ora condotti per valutare le capacità fitoestrattive di *P. vittata*, hanno mostrato che le capacità di iperaccumulo in un terreno contaminato possono superare i 6000 mg kg-1 p.s. nelle fronde dopo sole otto settimane dal trapianto e con livelli di accumulo nelle radici oltre 20 volte più bassi [Ma *et al.*, 2001; Tu *et al.*, 2002]. Alcuni studi condotti da Ma *et al.* riportano anche che alcune concentrazioni di arsenico (100 ppm) sono in grado di stimolare la crescita della biomassa [Ma *et al.*, 2001; Srivastava *et al.*, 2009]. Oltre ciò, la felce *P. vittata* presenta diverse caratteristiche che la rendono ideale per il fitorisanamento di suoli inquinati: è una pianta perenne, ha un'elevata velocità di crescita, un apparato radicale esteso e una notevole biomassa aerea; un efficiente assorbimento alle radici, un efficiente fattore di traslocazione dalle radici alle fronde, e una più che alta tolleranza dell'arsenico all'interno delle cellule [Wang *et*

al., 2002]. Studi condotti da Poynton *et al.* (2004) sulla traslocazione dell'arsenico in piante iperaccumulatrici della specie *Pteris* e non (*Nephrolepis exaltata* (L.)) hanno evidenziato che una più elevata concentrazione di arsenico accumulato può essere estratta dalle radici delle iperaccumulatrici rispetto a quelle della noniperaccumulatrice. Ciò suggerisce che è presente nelle radici della specie *Pteris* una maggior quantità di As mobile, disponibile per la traslocazione alle fronde; in *N. exaltata*, invece, la porzione più ampia di arsenico potrebbe essere sequestrata nei vacuoli. Sembrerebbe che anche la specie *Pteris* stocchi una piccola quantità di arsenico nei vacuoli delle cellule delle radici, ma che sia in grado in un successivo momento di ri-mobilizzarlo, meccanismo non presente nelle piante non iperaccumulatrici [Poynton *et al.*, 2004].

Queste osservazioni hanno portato a molteplici domande: come può questa pianta accumulare concentrazioni così elevate di arsenico? Se l'assimilazione segue la via del fosfato, come interagiscono P e As durante l'assorbimento e la traslocazione? Come può la pianta mantenere una sufficiente quantità di fosforo anche ad elevate concentrazioni di arsenico? Che funzione svolge l'arsenico durante la crescita e lo sviluppo della pianta? Qual è la specie dell'arsenico (As (III) o As (V)) presente nelle fronde?

Tutte queste domande richiedono una risposta al fine di poter utilizzare *Pteris vittata*, ma anche tutte le altre felci fino ad ora individuate come iperaccumulatrici, nel fitorisanamento di suoli contaminati da arsenico [Poynton *et al.*, 2004].

Tabella 14. Piante accumulatrici di arsenico nel mondo [tratto da Xie *et al.*, 2009].

Iperaccumulatrici di As	Luogo	References
<i>Pteris vittata</i>	America	Ma <i>et al.</i>
	Cina	Chen <i>et al.</i>
<i>Cretan Brake</i>	Cina	Wei <i>et al.</i>
<i>Pityrogramma calomelanos</i>	Tailandia del sud	Francesconi <i>et al.</i> Visoottiviseth <i>et al.</i>
<i>Pteris cretica</i>		
<i>Pteris longifolia</i>		
<i>Pteris umbrosa</i>	Rothamsted	Zhao <i>et al.</i>
<i>Pteris multifida Poir</i>	Cina	Du <i>et al.</i>
<i>Pteris cretica chilsii</i>		
<i>Pteris cretica crista</i>		
<i>Pteris cretica rowerii</i>		
<i>Pteris cretica mayii</i>		
<i>Pteris cretica parkerii</i>	Aberdeen	Meharg
<i>Pteris biaurita</i>		
<i>Pteris quadriaurita</i>		
<i>Pteris ryukyuensis</i>	America	Srivastava <i>et al.</i>
<i>Pteris multifida</i>		
<i>Pteris oshimensis</i>	Cina	Wang <i>et al.</i>
<i>Pteris aspericaulis</i>		
<i>Pteris cretica var. Nervosa</i>		
<i>Pteris fauriei</i>		
<i>Pteris multifida</i>		
<i>Pteris multifida f. Serrulata</i>		
<i>Pteris oshimensis</i>	Cina	Wang <i>et al.</i>
<i>Pteris umbrosa R. Br</i>	Australia	Koller <i>et al.</i>

3.2.1 Assorbimento, trasporto e detossificazione dell'arsenico in *P. vittata*

Lavori condotti sull'iperaccumulo di metalli pesanti su piante accumulatrici hanno mostrato che sono fondamentali per l'iperaccumulo i meccanismi di assorbimento e trasporto che avvengono nelle radici.

Studi condotti su piante non iperaccumulatrici hanno evidenziato che la via tramite cui l'arseniato (As (V)) è assimilato dalle radici delle piante è la medesima impiegata dal fosfato. Risulta, quindi che l'aspetto chiave per comprendere il meccanismo dell'assorbimento e dell'accumulo di arsenico da parte di piante iperaccumulatrici possa essere l'interazione con il fosforo, dal momento che questi due elementi, appartenendo entrambi al V Gruppo, presentano una configurazione elettronica molto simile e condividano molte caratteristiche chimiche.

Per le piante superiori diverse da *P. vittata* l'effetto dell'aumento delle concentrazioni di P in soluzione sull'assorbimento di As è ben definito e si spiega con la competizione di arseniato e fosfato per gli stessi trasportatori di membrana [Meharg and Hartley-Whitaker, 2002].

L'applicazione di fosfato al suolo produce a volte risultati contraddittori a prima vista; tuttavia il sistema suolo è molto complesso con discordi processi che hanno effetti opposti sulla biodisponibilità dell'arsenico in seguito all'applicazione di fosfato:

- aumento della concentrazione di P in soluzione;
- aumento della concentrazione di As in soluzione dato che P e As competono per gli stessi siti di legame: l'aggiunta di fosfato induce la sostituzione dell'arseniato attraverso uno scambio anionico, aumentando l'arsenico libero in soluzione e quindi la disponibilità all'assorbimento;
- spostamento nel rapporto arsenico-fosfato.

Questi diversi comportamenti sono dovuti al fatto che in un suolo intervengono diversi parametri (pH, Eh) a influenzare la mobilità o solubilità dell'arsenico [Cao *et al.*, 2003]. Inoltre, dal momento che l'arsenico si sostituisce al fosfato nelle piante (ATP sostituito dall'arsenico), ma non è in grado di svolgere il ruolo di P nel trasferimento energetico, la pianta reagisce come se ci fosse un deficit di fosfato: incrementa l'assimilazione di fosfato mediante la sintesi di molecole trasportatrici addizionali [Singh and Ma, 2006]. La diminuzione di assorbimento dell'arsenico, in condizioni di somministrazione del fosfato, è maggiormente visibile sulla concentrazione di As nelle radici rispetto a quella nelle fronde. Incrementando, invece, la

somministrazione di arseniato, diminuisce quella di P nelle radici, ma non nelle fronde [Wang *et al.*, 2002; Poynton *et al.*, 2004].

Con *P. vittata* solo pochi studi hanno affrontato in modo esplicito l'effetto dell'aumento della somministrazione di P sull'uptake dell'arsenico [Cao *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2007; Poynton *et al.*, 2004; Tu and Ma, 2003 a e b; Wang *et al.*, 2002].

L'As (III) e As (V) sono le più comuni forme dell'arsenico nell'ambiente. L'arseniato e l'arsenito sono interconvertibili a seconda dello stato redox dell'ambiente, e l'arseniato è la forma predominante dell'arsenico nei suoli aerobici. Il meccanismo di assorbimento di queste due specie sono differenti.

L'arseniato entra nelle cellule attraverso i trasportatori del fosfato e viene ridotto ad arsenito dall'arseniato riduttasi. A sua volta l'assorbimento di arsenito è mediato dalla presenza di canali per il trasporto di acqua e glicerolo (acquagliceroporine); questi canali rendono possibile l'attraversamento della membrana cellulare da parte dell'acqua e di altre molecole a basso peso molecolare ed elettricamente neutre come il glicerolo, l'urea, l'acido borico e composti dell'arsenico trivalente come $\text{As}(\text{OH})_3$ [Rosen and Liu, 2009].

Una volta all'interno delle cellule l'arsenito, che si lega facilmente ai gruppi sulfidrilici, viene complessato con tioli, in particolare fitochelatine e sequestrato nei vacuoli [Xie *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2002].

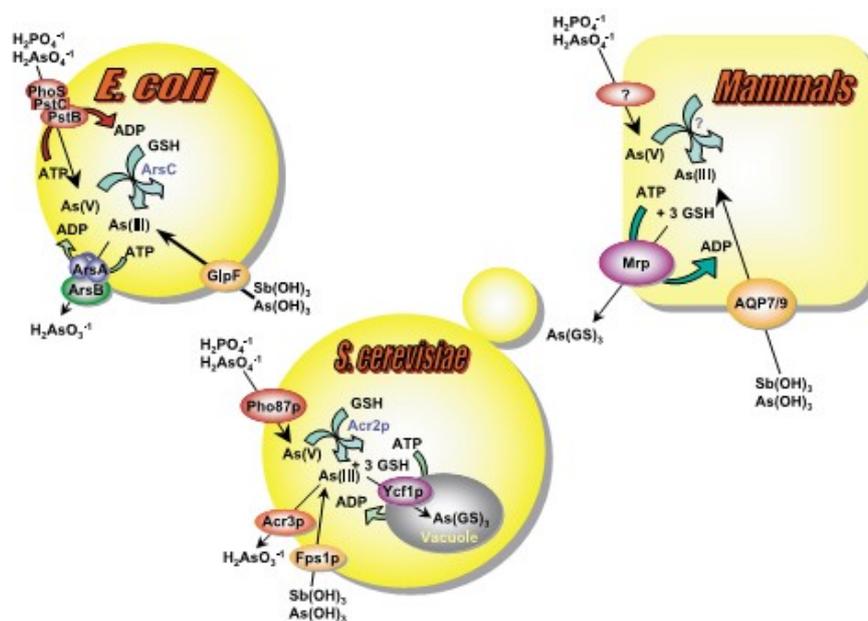


Figura 16. Detossificazione dell'arsenico nei procarioti e negli eucarioti. L'arseniato (As(V)) è assorbito dai trasportatori del fosfato, e l'As(III) dalle acquaglicoproteine (GlpF in *E. coli*, Fps1 nei lieviti e Aqp7 e Aqp9 nei mammiferi). Sia in *E. coli* che in *S. cerevisiae*, l'arseniato è ridotto ad arsenito dagli enzimi ArsC nei batteri o Acr2p nei lieviti. In entrambi gli organismi, il glutatione e la glutaredoxina servono come fonte di potenziale riducente. Le proteine responsabili dell'assimilazione e riduzione dell'arseniato nei mammiferi non sono ancora state identificate. In *E. coli*, l'arsenito è introdotto nelle cellule da ArsB da solo o da ArsAB ATPasi. Nei lieviti Acr3p è un trasportatore di membrana di efflusso dell'arsenito e Yeflp, che fa parte della famiglia MRP della superfamiglia ABC delle pompe resistenti ai farmaci, trasporta As(GS) nei vacuoli. Nei mammiferi gli isoformi della Mrp pompa l' As(GS)_3 fuori dalle cellule. Per esempio, Mrp2 estrude As(III) nella bile [tratto da Rosen, 2002].

Piante come *Pteris vittata* in grado di accumulare arsenico preferenzialmente nella porzione epigea piuttosto che nelle radici, hanno evoluto un sistema molto efficiente di traslocazione attraverso la via xilematica.

I risultati di numerose ricerche hanno mostrato che l'arseniato è la forma maggiormente assorbita dalle radici (60-70 % dell'arsenico totale presente nelle radici), mentre l'arsenito è la forma dominante nelle fronde (70-90 % dell'arsenico totale della pianta) [Xie *et al.*, 2009].

Rispetto a questo argomento, sorgono delle controversie sul “luogo” dove avvenga la conversione dell'As (V) in As (III). Kertulis *et al.* (2005) e Pickering *et al.* (2006) riportano che l'arseniato venga trasportato dalle radici alle fronde e che qui avvenga la riduzione ad arsenito. Esistono tuttavia numerosi studi che riportano evidenze contro questa ipotesi. L'attività dell'arseniato glutatione-dipendente riduttasi, che è responsabile della riduzione dell'arseniato ad arsenito, è stata identificata solo nelle radici di *Pteris vittata* suggerendo quindi che la riduzione avviene principalmente nelle radici [Duan *et al.*, 2005]. Altri studi condotti inibendo la biosintesi di glutatione, hanno mostrato che viene inibita anche la riduzione dell'arseniato nelle radici della *Pteris*. Vetterlein *et al.* (2009) riportano di aver trovato nelle radici il 45 % di arsenico come As (III) che è un valore più alto di quello riportato in studi precedenti e ciò supporta la considerazione che la riduzione dell'arsenico avvenga nelle radici.

Questi studi sono a dimostrazione del fatto che l'arseniato è ridotto ad arsenito nelle radici e questo ultimo è poi traslocato alle fronde. La traslocazione dell'arsenito avviene attraverso la linfa xilematica dalle radici alle fronde. Questo meccanismo in piante iperaccumulatrici come *Pteris vittata* è estremamente efficiente, tuttavia non è ancora chiaro come ciò possa avvenire. Sulla base dei risultati presenti in letteratura, tre possono essere i contributi a questa efficiente traslocazione dell'arsenico:

- l'efficiente assorbimento dell'arsenico dalle radici alle fronde. Questo è considerato lo step chiave per il fitorimedio dell'arsenico in *P. vittata*;
- il basso grado di complessazione dell'arsenico con composti tiolici, che giocano un ruolo chiave nei processi di detossificazione da As in piante non iperaccumulatrici;
- la mancanza di un forte flusso dell'arsenito verso l'esterno delle cellule, fenomeno ampiamente osservato, invece, in piante non iperaccumulatrici.

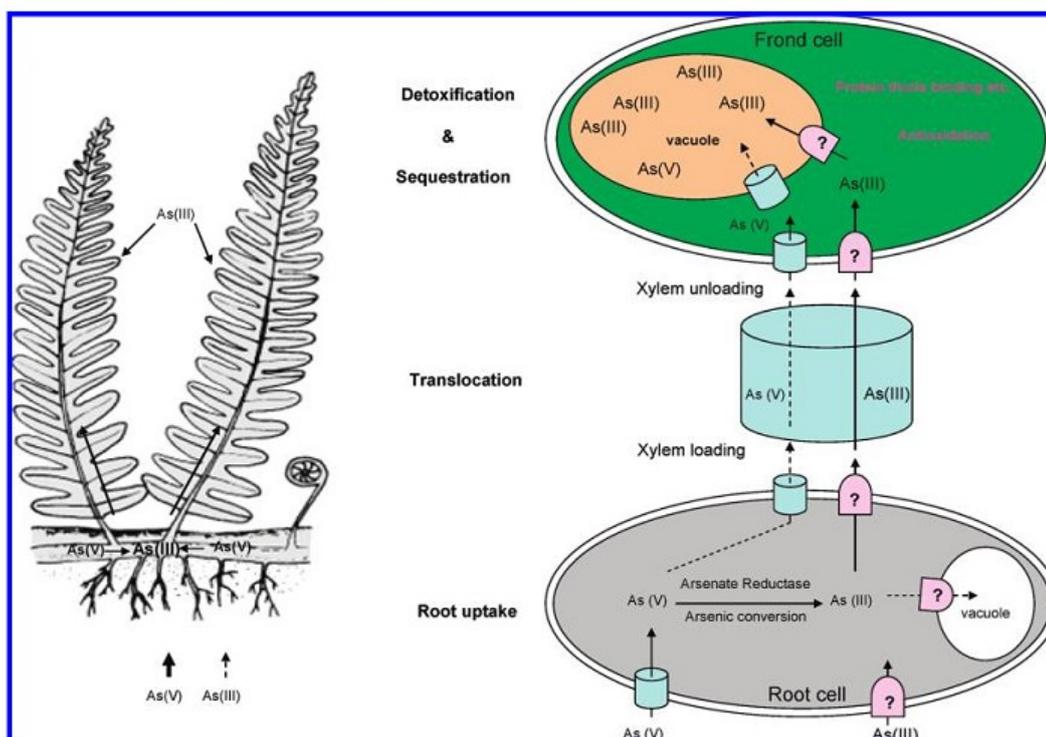


Figura 17. Diagramma schematico dell'assorbimento, traslocazione, detossificazione e sequestro dell'arsenico in *Pteris vittata*. Il 30-40 % dell'arsenico assorbito dalle radici è ridotto rapidamente ad arsenito; se a *P.vittata* è somministrato arseniato, l'arsenito è la specie predominante nella linfa xilematica (circa il 93-98 % dell'arsenico totale e l'80 % dell'arsenico nelle fronde); l'arsenito è sequestrato nei vacuoli delle fronde e nei tricomi [tratto da Xie *et al.*, 2009].

La sintesi di ligandi, la chelazione dell'arsenico e il sequestro di questi complessi in distretti lontani dai siti del metabolismo della cellula come il vacuolo, sembrano essere i meccanismi più probabili coinvolti nella detossificazione e nell'iperaccumulo di arsenico adottati da *Pteris vittata* [Cai *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2002].

Per le piante superiori è ben noto che la sintesi delle fitochelatine sia indotta dall'aumento della disponibilità dell'arsenico [Hartley-Whitaker *et al.*, 2001; Raab *et al.*, 2004, 2005, 2007; Schmoeger *et al.*, 2000; Schulz *et al.*, 2008; Sneller *et al.*, 1999]. Per le piante non iperaccumulatrici il rapporto PC2:As è 3:1 coerente con il modello strutturale che prevede che

ogni atomo di As trivalente si coordini con tre gruppi tiolici dei residui di cisteina [Schmoger *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2002; Raab *et al.*, 2004]

Per *P. vittata* e altre specie di felci iperaccumulatrici, solo pochi dati sull'analisi delle fitochelatine sono disponibili [Raab *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2003]. Vetterlein *et al.* (2009) hanno riscontrato l'aumento di PC2/3GS-AsIII, PC2-GS-AsIII e(PC2)2-AsIII in seguito alla somministrazione di As.

Sulla base di questi risultati è stato esclusa da molti autori l'idea che le fitochelatine possano svolgere un ruolo importante nell'immagazzinamento di As nella cellula di *P. vittata*. Tuttavia, come è stato suggerito da Zhao *et al.* (2002), le fitochelatine possono agire come shuttle nel trasporto dell'arsenico dal citoplasma al vacuolo in cui l'As si troverebbe in forma libera non complessata. In tempi più recenti è emerso che un ruolo attivo nel processo di iperaccumulo e di tolleranza all'arsenico in *P. vittata* lo svolga piuttosto un composto tiolico a basso peso molecolare non ancora identificato, per il quale esisterebbe una forte correlazione positiva fra l'assorbimento di As e la sua biosintesi nella fronda [Cai *et al.*, 2004].

3.3 L’area di studio: la Rotonda di San Giuliano

L’area in esame è una piccola porzione della rotonda di San Giuliano, all’incrocio tra via Orlanda, viale Vespucci, viale S. Marco e via Forte Marghera (Figura 18). Essa è compresa nel sito di interesse Nazionale di Venezia-Porto Marghera, ed, in seguito a prescrizione ministeriale, è stata indicata per la realizzazione di un intervento di tipo sperimentale (Figura 19).

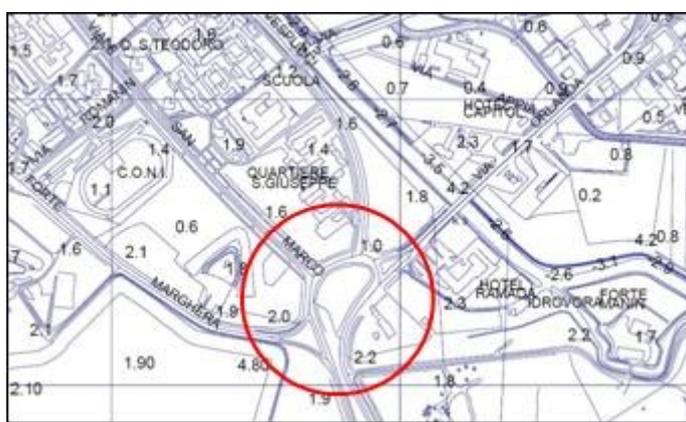


Figura 18. Particolare della CTR, foglio 0607. L’area dove si trova la rotonda di S.Giuliano è cerchiata in rosso.

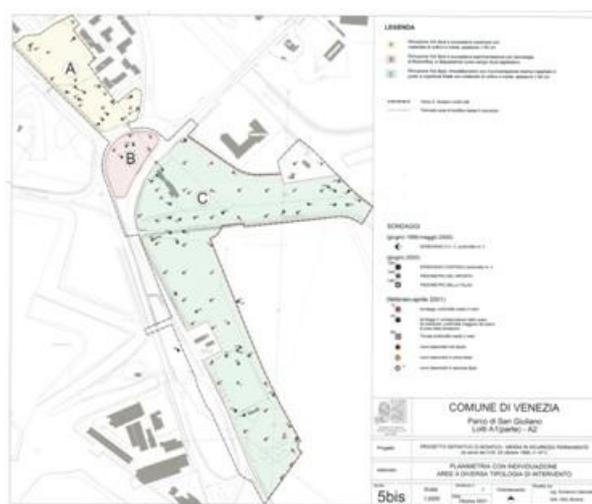


Figura 19. Copia ridotta della Tavola 5 bis del Progetto Definitivo di Bonifica (E. Calcinati e A. Sbrana, Piano Definitivo di Bonifica, Parco San Giuliano Lotti A1(parte) – A2, Settembre 2001). La rotonda è l’area contrassegnata con B.

Rispetto alle aree circostanti, la rotonda di San Giuliano presenta, infatti, alcune peculiarità che la rendono particolarmente adatta come area di studio:

- non è usufruibile dalla cittadinanza;
- presenta un inquinamento moderato e diffuso;
- è soggetta a inquinamento multiplo (alcuni metalli pesanti e alcuni inquinanti organici);
- può essere rappresentativa dei suoli limitrofi;
- consente lunghi tempi di osservazione.

La rotonda è in un’area che originariamente si trovava al confine con una zona ricca di canali e ghebi e che con il tempo ha subito notevoli cambiamenti. Si pensa che la maggior parte dei materiali d’imbonimento siano di provenienza arenicola, ma anche di origine varia e non controllata (scorie di demolizioni, scarti civili e industriali).

3.3.1 Indagini pregresse esistenti sull’area di studio

Tutta l’area è stata oggetto di caratterizzazione e bonifica; in particolare sulla rotonda di S.Giuliano sono stati eseguiti 8 sondaggi, con finalità diverse, la cui ubicazione è riportata nella planimetria in Figura 20.

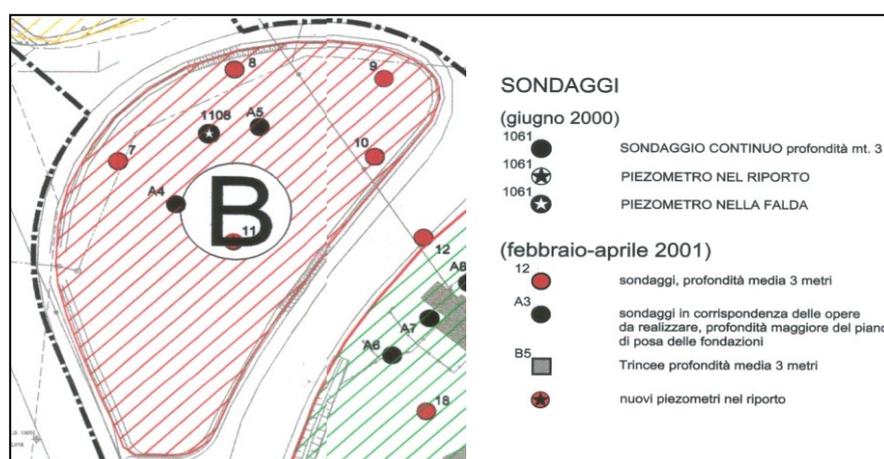


Figura 20. Particolare della Tavola 5 bis del Progetto Definitivo di Bonifica [tratto da Calcinati e Sbrana, 2001b]

I sondaggi A4 e A5 sono stati effettuati in corrispondenza dei punti su cui è stato installato il ponte ciclo-pedonale che collega il Villaggio S. Marco ad uno degli ingressi del Parco S. Giuliano. Il sondaggio 11 è stato attrezzato a piezometro nel riporto, il sondaggio 1108 è stato attrezzato a piezometro nella falda, mentre gli altri sondaggi (7, 8, 9 e 10) sono sondaggi con profondità media di 3 metri. Le analisi condotte hanno permesso di determinare la tipologia di suolo, la presenza di falde acquifere, la presenza e la concentrazione dei composti organici ed inorganici situati nel sito.

3.3.1.1 Stratigrafia del sito

Dal punto di vista stratigrafico, esaminando le sezioni litostratigrafiche tratte dal Progetto Definitivo di Bonifica [Calcinati e Sbrana, 2001b] e le stratigrafie riguardanti i singoli sondaggi effettuati nell'area della rotonda, si deduce che il sito presenta la successione stratigrafica tipica di tutta la zona in cui è inserita:

- strato di terreno di coltivo;
- strato di riporto (riporto vero e proprio e terreno naturale mescolato a materiale di riporto);
- strato di terreno naturale, generalmente *caranto* (strato argilloso o limo argilloso con sfumature ocra, caratterizzato da un bassissimo coefficiente di permeabilità);
- sabbie (dove è ubicata la prima falda).

Osservando le stratigrafie si nota che il suolo è caratterizzato da uno strato superficiale, corrispondente sostanzialmente ai primi 20 cm, di terreno vegetale; in successione viene a trovarsi uno strato di riporto il cui spessore è superiore ai due metri. A una profondità di circa 2.50 m si colloca il caranto e a partire dai 3–3.10 m inizia il livello corrispondente alla sabbia naturale in posto, medio fine e limosa. Lo strato di riporto è caratterizzato da un elevato grado di eterogeneità e da un evidente disturbo antropico. Esso è costituito da strati limo-argillosi e sabbia frammisti a ghiaia, pezzi di cotto e frammenti di vetro. E' stato inoltre rilevato un blocco di calcestruzzo nel sondaggio SGR2 a una profondità compresa tra 0.90 e 1.30 m e uno di spessore inferiore compreso tra 0.60 e 0.65 m nel sondaggio SGR1.

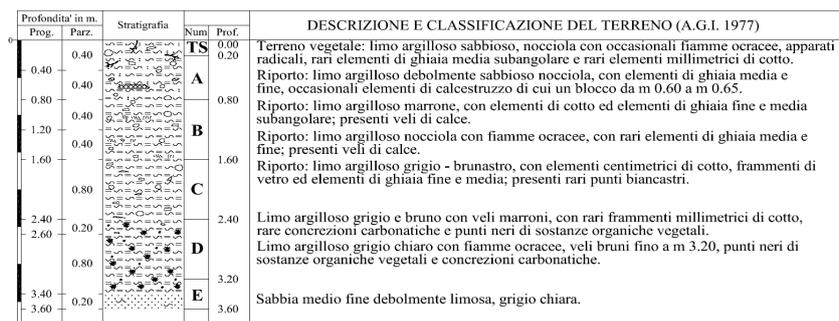


Figura 21.a Stratigrafia relativa al primo sondaggio, SGR1. Scala profondità 1:50.

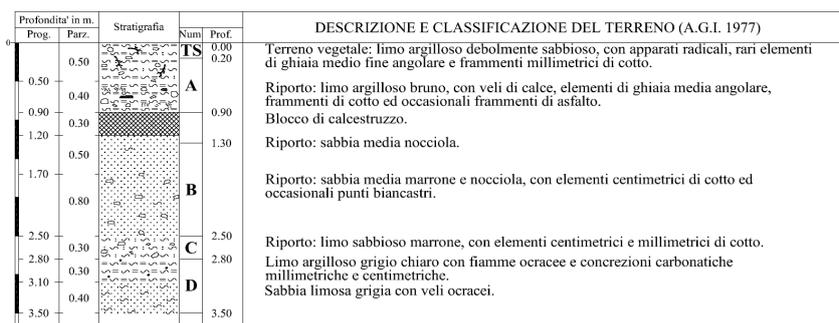


Figura 22.b Stratigrafia relativa al secondo sondaggio, SGR2. Scala profondità 1:50.

3.3.1.2 Situazione idrogeologica del sito

Per quanto riguarda la situazione idrogeologica, le prime due formazioni riscontrate nelle stratigrafie, il riporto e il primo strato di terreni naturali mescolati a materiale di riporto, sono la sede di una falda che circola liberamente alimentata dalle piogge; il livello di separazione impermeabile è rappresentato generalmente dal *caranto* sotto il quale si estende il livello delle sabbie che sono abbastanza pulite e sono la sede del primo vero acquifero. A circa - 6.0 / - 8.0 m s.l.m. si trova invece un tetto di formazione argillosa grigia molto plastica continua e potente che separa la prima dalla seconda falda.

La carta delle isopieze mostra che la direzione della prima falda nell’area interessata dal presente piano va da sud-ovest a nord-est con un gradiente idraulico di circa 0.2 %.

Dalle indagini svolte per la realizzazione del Piano suddetto, tale falda risulta di produttività limitata, sia a causa della presenza di materiali fini nell’acquifero sia a causa della mancanza, a volte, di un livello decisamente permeabile e dotato di sufficiente potenza.

3.3.1.3 Indagine chimica

I risultati delle indagini chimiche effettuate sulle carote prelevate nell’area della rotonda di S. Giuliano, riguardanti i principali analiti sono riportati nella

Tabella 15. Esaminando tali dati (tratti da Calcinati e Sbrana, 2001a), unitamente a quelli delle zone adiacenti, sia per quanto riguarda i dati puntuali, sia considerando le curve di isoconcentrazione estrapolate dal suddetto piano, si può affermare che i risultati evidenziano la presenza di una contaminazione diffusa con superamenti dei limiti previsti dal D.M. 471/99 in particolare per metalli pesanti, IPA e PCB. Tali superamenti riguardano soprattutto la colonna A del decreto cioè quelli previsti per i suoli ad uso residenziale [Calcinati e Sbrana, 2001a].

Tabella 15. Concentrazioni di inquinanti sui campioni di terreno dai sondaggi effettuati sulla rotonda di S. Giuliano.

S	C	prof. inizio	prof. fine	pH	Metalli mg/kg	As	Cd	Pb	Cu	Zn	Organici mg/kg	Benzo (a) Antrace ne	Benzo (b) Pirene	Benzo (b) fluoran tene	Benzo (g, h, i) Perilene	Indeno (1,2,3, c,d) Pirene	Dibenz o (a) Pirene	PCB
7	1	0,4	1,1			18	27	243	1183	327		0,09	0,08	0,1	0,09	0,11	<0,05	0,009
7	2	1,1	2			13,7	<0,5	3,6	30	94		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
8	1	0,3	1,45			28,5	<0,5	4,8	41	100		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,008
8	2	1,45	3			20	<0,5	2,6	20	66		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
9	1	0,3	1,5			23,5	<0,5	5,8	115	157		0,31	0,17	0,25	0,11	0,13	<0,05	<0,001
9	2	1,5	3			17,4	<0,5	2,5	24	84		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
9	3	2,3	3			7,5	<0,5	2,8	18	40		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
1108	1	0	0,3	7,8		27	5,3	99	930	1300		0,12	0,13	0,16	0,11	0,18	*	0,017
1108	2	0,4	1,5	7,7		41	1,4	85	540	410		0,85	0,53	0,55	0,33	0,47	*	0,012
1108	3	1,8	1,8	7,85		49	*	22	17	110		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
A4	1	0,3	1,3			30	1,3	248	524	287		0,19	0,13	0,19	0,19	0,8	0,45	0,03
A4	2	2	3,8			10	<0,5	20	15,9	4,8		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
A4	3	5,4	6			3,7	<0,5	20	11	30		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
A5	1	0,2	1,3			8,2	<0,5	105	378	299		<0,05	<0,05	0,08	0,1	0,24	<0,05	0,014
A5	2	1,3	2,5			11,1	<0,5	23	25	6,8		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
A5	3	4,8	6			3,1	<0,5	21	7,8	2,1		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
10	1	0,5	2,1			30	2,7	185	178	324		0,09	0,07	0,1	0,08	0,09	<0,05	0,011
10	2	2,1	3			19,7	<0,5	3,4	34	110		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
10	3	2,7	3			6	<0,5	2,6	21	65		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
11	1	0,2	1,3			9,1	<0,5	24	18,3	45		0,31	0,23	0,27	0,25	0,17	0,78	0,024
11	2	2,7	3,8			14,8	<0,5	9,8	43	107		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001

CONCENTRAZIONI LIMITE IMPOSTE DAL D.M. 471/99	Limiti colonna A	20	2	100	120	150
	Limiti colonna B	50	15	1000	800	1500
	valori che superano i limiti della colonna A					
	valori che superano i limiti della colonna B					

0,5	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,28
10	10	10	10	5	10	5
Limite aggiornato dalla nuova normativa, il D.Lgs. 152 del 3-04-2008						

Andando ad esaminare i diversi inquinanti nel suolo in tutta la zona caratterizzata (lotti A1(parte) e A2) si nota che As supera quasi sempre i limiti della colonna A del D.M. 471/99 e si osserva inoltre, dai dati presentati in Tabella

Tabella 15 15, che tali superamenti non sono strettamente dipendenti dalla profondità di campionamento.

Cd e Cu superano i limiti della colonna A in molte zone delle tre aree (A, B e C). In particolare, nell'area della rotonda, questi metalli superano i limiti della colonna B (suoli ad uso industriale o commerciale) del suddetto decreto intorno al sondaggio 7 e, per quanto concerne Cu, anche intorno al sondaggio 1108. Tali punti sono stati quindi considerati degli *hot spots* soggetti in fase di bonifica alla rimozione del terreno contaminato. Pb e Zn superano i limiti della colonna A in molte aree compresa quella della rotonda. Lo stesso valeva per i PCB i cui limiti per la colonna A, tuttavia, sono stati rivisti ed alzati di 60 volte dall'entrata in vigore del D.Lgs. 152 del 3 Aprile 2006. A causa di ciò solo in pochi casi si ha il superamento della colonna A, nessuno dei quali nella rotonda.

Per quanto riguarda la sommatoria degli IPA, si hanno alcuni superamenti dei limiti di legge nei lotti esaminati, ma non nell'area della rotonda e nelle zone immediatamente adiacenti ad essa, anche se, dalla Tabella 15, si vede che alcuni IPA, considerati singolarmente, superano i limiti della colonna A negli strati del riporto.

Nei sondaggi esaminati, ad eccezione di As, tutti gli altri inquinanti considerati superano i limiti di legge generalmente nello strato corrispondente al riporto, stando ad indicare la natura antropica dell'apporto di tali elementi. Oltre a questo motivo, c'è da considerare anche il fatto che il terreno naturale impermeabile ha probabilmente attenuato il fenomeno di diffusione verticale dei contaminanti salvaguardando in gran parte la qualità degli strati sottostanti.

Ciò non è vero, però, per i PCB la cui presenza è stata rilevata a diverse profondità e che, anche se alla luce della nuova normativa superano raramente i limiti di legge, rimangono comunque composti ubiquitari di esclusiva origine antropica.

Per quanto riguarda le acque di falda, in Tabella 16 sono riportati i risultati analitici tratti dall'Allegato 3 della Valutazione del Piano di Caratterizzazione – Progetto Preliminare di Bonifica – Messa in Sicurezza, relativi ai parametri che superano i limiti di legge, per tutte e tre le aree esaminate (A, B, C) [Calcinati e Sbrana, 2001a].

Da un quadro più generale riguardante le tre aree esaminate nel Progetto Definitivo di Bonifica si è visto che le acque nel riporto presentano superamenti per il tetracloroetilene ed il toluene ed in un caso anche per il nichel.

Le acque di prima falda, a parte un caso per As ed uno per Ni, presentano concentrazioni di metalli abbondantemente al di sotto dei limiti di legge. Per le sostanze organiche si riscontra in un caso il superamento dei limiti per il tetracloroetilene e livelli significativi per il toluene.

Per quanto concerne le acque di seconda falda, analizzate in tre piezometri, si sono riscontrati superamenti dei limiti di legge per As, toluene, tetracloroetilene e benzene.

Dal confronto dei dati ottenuti per le acque di falda con quelli dei suoli negli stessi punti di campionamento emerge che i parametri che presentano valori superiori ai limiti di legge sono raramente gli stessi.

E' interessante notare come nelle acque si sia riscontrata la presenza di composti organici, ed in particolare il tetracloroetilene, assenti quasi del tutto nei campioni di suolo. I dati disponibili sono abbastanza scarsi, complessivamente, tuttavia, sembra che i materiali inquinanti rilevabili nel riporto non forniscano un contributo significativo alla contaminazione rilevata negli acquiferi sottostanti.

Tabella 16. Dati sulle acque di falda; concentrazioni di inquinanti nelle acque relative ai piezometri realizzati in tutta l'area dei lotti A1 (parte) e A2, costituita dalle porzioni A, B e C. Sono evidenziati i valori che superano i limiti di legge. Le concentrazioni sono espresse in $\mu\text{g L}^{-1}$

Sondaggio	Falda	As	Ni	Benzene	Toluene	Tetracloroetilene
11	riporto	4	2	< 0.5	< 0.5	< 0.1
15	riporto	1	4	< 0.5	< 0.5	< 0.1
33bis	riporto	7	19	< 0.5	< 0.5	< 0.1
54	riporto	5	6	< 0.5	14.6	3
19	prima	10	8	< 0.5	< 0.5	< 0.1
23	prima	4	6	< 0.5	< 0.5	< 0.1
38	prima	8	11	< 0.5	< 0.5	< 0.1
51	prima	4	20	< 0.5	11.8	46.3
Alfa	seconda	117	10	< 0.5	< 0.5	< 0.1
Beta	seconda	56	1	14.4	1.0	32.1
Gamma	seconda	25	3	< 0.5	17.4	39.9
Limiti di legge (D.M. 471/99)		10	20	1	15	1.1

3.3.2 Caratterizzazione dell'area di studio

L'attenzione dello studio nell'ambito del dottorato è stata incentrata in un'area campione di 500 m² all'interno della rotonda e focalizzata sull'arsenico, presentando tale elemento una contaminazione diffusa nel sito oggetto di studio e nell'area circostante. L'arsenico si trova, infatti, in concentrazioni maggiori rispetto ai 20 mg kg⁻¹ previsti dal D.Lgs. 471/99 per i suoli ad uso residenziale in diverse aree dell'entroterra veneziano, probabilmente per cause imputabili a fattori sia naturali che antropici [APAT 2006; Scazzola, 2002]; nel sito studiato As presenta generalmente valori compresi tra 20 e 50 mg kg⁻¹.

Le attività svolte hanno riguardato la caratterizzazione geochimica del suolo e la valutazione della mobilità dei metalli e l'attuazione di uno studio di trattabilità per la bonifica dell'area in esame mediante fitorisanamento, impiegando la specie vegetale *Pteris vittata*. È stato condotto

lo studio della ripartizione dei metalli e dell’arsenico tra i diversi componenti del suolo mediante procedure di speciazione geochimica, con particolare attenzione alla frazione legata agli ossidi-idrossidi di ferro e manganese e determinazione delle caratteristiche pedologiche a fini agronomici. Lo studio di trattabilità è stato condotto con un esperimento di fitoestrazione in campo mediante l’utilizzo di *Pteris vittata*, pianta iperaccumulatrice di As: è stato valutato il bioaccumulo dell’arsenico ed è stata fatta una stima preliminare dell’efficienza di fitoestrazione e dell’applicabilità di tale tecnica ai fini del risanamento dell’area oggetto di studio.

3.3.2.1 Caratterizzazione geochimica del suolo

L’approfondimento della caratterizzazione del suolo ha riguardato lo strato superficiale direttamente interessato dalle radici delle piante. Per gli aspetti pedologici sono stati determinati alcuni parametri: granulometria, pH, Capacità di Scambio Cationica, potenziale redox e nutrienti. Tali parametri sono, infatti, importanti nel determinare la qualità agronomica del suolo, proprietà che può compromettere l’efficienza di strategie di fitorimedio in quanto possono influenzare la mobilità dei metalli/metalloidi e avere effetti positivi o negativi sulla crescita delle specie vegetali.

Analisi granulometrica. Il suolo del sito di studio si presenta principalmente (circa il 60 %) di natura limosa. Sabbia e argilla sono presenti circa con la stessa percentuale, intorno al 20 %.

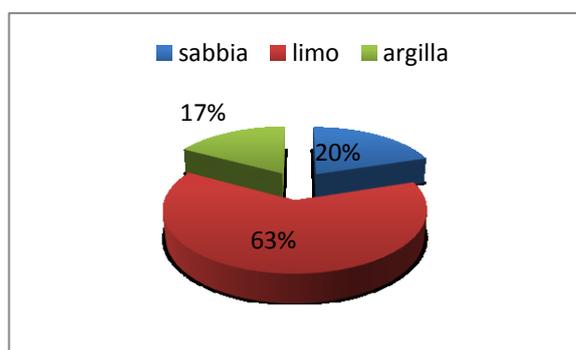


Figura 23. Percentuale cumulativa delle frazioni granulometriche: sabbia, limo e argilla, rispetto alla frazione totale inferiore ai 2 mm.

Le analisi granulometriche hanno evidenziato un suolo a prevalente natura limo-argillosa. L'elevata percentuale di argilla permette il mantenimento di una discreta fertilità chimica, anche se la sostanza organica è insufficiente, ma pone seri problemi di fertilità fisica, dovuti alla scarsa permeabilità all'acqua con tendenza al ristagno e all'instaurarsi di condizioni anossiche. La presenza di elevati tenori di limo pone problemi sia di fertilità fisica e soprattutto meccanica, ma anche di fertilità chimica.

Determinazione del grado di reazione (pH), potenziale redox, conduttività elettrica, Capacità di Scambio Cationica e salinità. Sia il pH che la capacità di scambio cationico del suolo hanno un'influenza sulla mobilità dei metalli pesanti. Il Decreto Legislativo n. 99 del 27 gennaio 1992 stabilisce la quantità di fanghi di depurazione (che possono contenere metalli pesanti) applicabili ad un suolo in funzione del pH e della capacità di scambio cationico, sostenendo espressamente che in caso di $\text{pH} < 6$ e $\text{CSC} < 15 \text{ meq}/100 \text{ g}$ i metalli pesanti sono più mobili e più facilmente assorbibili dalle colture. Tale legge prevede che sul terreno vengano eseguite le analisi di pH, CSC, ed alcuni metalli totali (Cd, Hg, Ni, Pb, Cu, Zn). Il suolo in esame si trova in una situazione intermedia tra la seconda e la terza classe, che corrisponde ad una mobilità medio-bassa dei metalli presenti nel suolo.

Altri [Carta dei Suoli della Regione Emilia Romagna] distinguono due classi di capacità di scambio cationico: $< 10 \text{ meq}/100 \text{ g}$ e $> 10 \text{ meq}/100 \text{ g}$. Secondo tale fonte la capacità depurativa del suolo, cioè la capacità di degradare rapidamente la sostanza organica apportata con i liquami, liberando gli elementi nutritivi in forma assimilabile dalle colture e di adsorbire alcuni composti a potenziale azione inquinante (Cu, Zn, ecc.) può essere stimata da:

- contenuto in scheletro entro 1 m di profondità;
- profondità utile per le radici;
- capacità di scambio cationico;
- pH.

Le condizioni del suolo studiato sono compatibili con le classi di capacità depurativa da “moderata” a “bassa”, indicando una certa persistenza dei contaminanti.

Tabella 17. Concentrazione media ($n = 3$) e relativa deviazione standard (SD) per potenziale redox, conduttività elettrica, pH, salinità e CSC.

	Unità di misura	Media	SD
Potenziale redox	mV	200	3
Conduttività elettrica	$\mu\text{S/cm}$	660	2
pH		7.77	0.01
Salinità	meq/100 g	4.12	0.02
Capacità di Scambio Cationico	meq/100 g	13.9	0.9

Analisi dei nutrienti.

Tabella 18. Concentrazione media ($n = 3$) e relativa deviazione standard (SD) per fosforo totale, carbonio organico e azoto totale.

	P totale	C organico	N totale
	mg kg ⁻¹ P p.s.	% C p.s.	% N p.s.
Media	473	0.9	0.08
SD	54	0.1	0.01

Il contenuto di carbonio organico nel suolo è in stretta relazione con quello della sostanza organica, anche se la composizione di quest'ultima presenta un elevato grado di variabilità [Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo, 2000]. Secondo la guida alla concimazione della Regione Campania il contenuto di carbonio organico è molto basso e quello di azoto totale basso, il che corrisponde ad una bassa valutazione agronomica del suolo. Il rapporto in peso tra la quantità di carbonio organico e la quantità di azoto totale fornisce una stima del tipo e livello di umificazione della sostanza organica. In questo suolo tale rapporto è pari a circa 11; un rapporto C/N compreso tra 8 e 12 indica un buon grado di umificazione della sostanza organica e condizioni che in genere comportano un'alta velocità di mineralizzazione delle sostanze

apportate al suolo. Essendo però la quantità di carbonio organico decisamente scarsa, lo è anche il contenuto di materiale umificato.

3.3.2.2 Speciazione geochimica e mobilità dei metalli

La procedura di speciazione geochimica è stata eseguita su due campioni superficiali. I risultati analitici ottenuti dalla procedura di frazionamento sequenziale sono sintetizzati nella Tabella 19 e negli istogrammi cumulativi riportati in Figura 24.

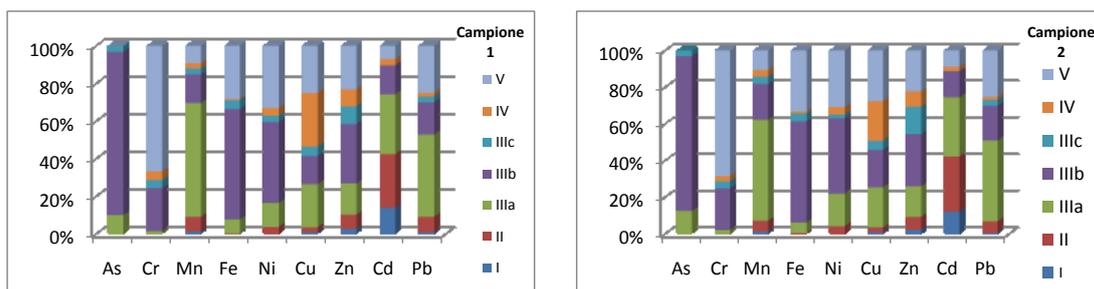


Figura 24. Istogrammi cumulativi rappresentanti la distribuzione percentuale dei metalli/metalloidi nelle varie fasi geochimiche nei campioni 1 e 2.

Tabella 19. Concentrazione media ($n = 3$) e relativa deviazione standard di alcuni metalli /metalloidi nelle diverse fasi della speciazione geochimica. I valori sono espressi in mg kg^{-1} p.s.

Fasi	Campione	As	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	
I ^a	1	media	< d.l.	< d.l.	7.7	36	< d.l.	0.23	5.6	0.083	0.28
		SD			0.9	2		0.07	0.1	0.002	0.06
	2	media	< d.l.	< d.l.	6.1	35	< d.l.	0.26	6.0	0.076	0.17
		SD			0.1	4		0.04	0.1	0.004	0.02
II ^a	1	media	< d.l.	< d.l.	44.7	69	0.78	0.76	16	0.17	2.6
		SD			0.6	1	0.04	0.09	2	0.01	0.2
	2	media	< d.l.	< d.l.	27	100	1.01	0.71	17	0.19	2.0
		SD			1	6	0.09	0.02	2	0.02	0.1
III ^a a	1	media	4.6	0.7	350	2500	2.68	6.4	35	0.19	14
		SD	0.6	0.1	30	300	0.09	0.9	3	0.01	1
	2	media	5.6	1.1	251	1900	4.2	6.1	41	0.202	14
		SD	0.8	0.3	4	200	0.6	0.5	5	0.007	1

3 – La Rotonda di San Giuliano e l'Isola di Murano

Fasi	Campione		As	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
III ^a b	1	media	40	11.4	88	20000	9.1	4.2	67	0.092	5.5
		SD	2	0.9	9	900	0.6	0.3	7	0.005	0.2
	2	media	38	12	90	18200	9.7	5.7	70	0.09	6
		SD	1	2	10	800	0.2	0.4	10	0.02	2
III ^a c	1	media	1.5	1.99	18	1600	0.7	1.4	20	< d.l.	1.005
		SD	0.2	0.08	2	100	0.2	0.2	3		0.004
	2	media	1.32	2.0	18	1400	0.50	1.4	37.2	< d.l.	1.0
		SD	0.01	0.1	2	100	0.08	0.1	0.1		0.1
IV ^a	1	media	< d.l.	2.3	16	260	0.88	8	19	0.020	0.62
		SD		0.3	2	20	0.06	1	1	0.004	0.09
	2	media	< d.l.	1.48	16.5	340	0.93	6	20.2	0.015	0.57
		SD		0.01	0.6	50	0.05	2	0.9	0.002	0.09
V ^a	1	media	< d.l.	33	54	9600	7.0	7	49	0.042	8.0
		SD		4	9	200	0.2	2	4	0.004	0.9
	2	media	< d.l.	36	48.5	11000	7.3	7.7	55	0.0560	8
		SD		5	0.2	1000	0.2	0.2	6	0.0004	1
Somma	1		46	49	580	34000	21	28	210	0.60	32
	2		45	53	460	33000	24	28	240	0.63	32
Totale	1	media	49	55	670	37600	26.0	35	230	0.65	32
		SD	6	4	30	1300	0.9	3	10	0.05	2
	2	media	42	60	543	36800	25	35	220	0.70	29
		SD	5	5	15	1300	1	2	10	0.05	3

Le analisi sono state condotte all'AAS. < d.l. = inferiore al limite di rivelabilità

Discussione sulla mobilità dei metalli in funzione della loro ripartizione tra le diverse fasi geochimiche

- *1^a Fase. Metallo scambiabile.* Nella prima fase, caratterizzata dalla frazione di metallo direttamente disponibile, le quantità di metalli misurate sono estremamente basse. Rispetto al totale, i metalli che presentano le percentuali più alte in questa frazione sono rispettivamente Cd con valori intorno al 12-14 % nei due campioni, e Zn con circa il 3 %. Si osserva, tuttavia, che le concentrazioni totali di cadmio sono piuttosto basse, di conseguenza la concentrazione di metallo scambiabile è molto piccola (intorno a 0.08 mg kg⁻¹). As, Cr e Ni in tale fase presentano valori di concentrazione al di sotto dei limiti di rilevabilità della

metodologia analitica. Entrambi i siti presentano praticamente le stesse quantità di metallo scambiabile.

- *2^a Fase. Metallo legato ai carbonati.* La seconda fase è caratterizzata dalla frazione di metallo legata ai carbonati i quali sono un'importante forma associativa per i metalli data anche la loro abbondanza in natura. Tale frazione di metallo si solubilizza in condizioni leggermente acide (pH intorno a 4.8), in particolare la calcite. Le quantità di metalli misurate in questa fase aumentano rispetto alla fase precedente. Rispetto alla quantità totale di metallo presente, il metallo che presenta la frazione scambiabile maggiore è il Cd (~30 %) seguito da Pb, Mn e Zn con circa il 7 %, Ni con circa il 4 %, Cu con circa il 3 %. In termini di concentrazioni assolute, tuttavia, si osserva che Pb, Ni, Cu e Cd presentano valori bassi (in media circa 2.3, 0.9, 0.7 e 0.18 mg kg⁻¹, rispettivamente). Le concentrazioni di As e Cr sono al di sotto del limite di rilevabilità.

- *3^a Fase. Metallo legato agli ossidi e idrossidi di ferro e manganese.* Rispetto alle fasi precedenti la terza fase presenta generalmente quantità elevate per tutti i metalli considerati.

Alla terza fase corrisponde la frazione di metalli legata agli ossidi e idrossidi di ferro e manganese i quali, in condizioni anossiche, passano da forme ossidate a forme ridotte, cioè il loro stato di ossidazione passa da Fe³⁺ e Mn⁴⁺, insolubili, a Fe²⁺ e Mn²⁺, solubili. Ciò comporta la solubilizzazione dei metalli associati a tali ossidi/idrossidi che diventano così disponibili. C'è da considerare che la possibilità di rilascio dei metalli dipende anche dal grado di cristallinità dei relativi componenti mineralogici: infatti Fe e Mn degli ossidi amorfi si riducono molto più facilmente e rapidamente di quelli a struttura cristallina, in condizioni riducenti. Entrando in dettaglio, il primo step della terza fase estrae quasi completamente la frazione legata agli ossidi/idrossidi di manganese oltre agli ossidi di ferro amorfi più labili. In corrispondenza di questo primo step le concentrazioni di metallo più elevate sono state

riscontrate per Fe, Mn, Zn e Pb (in media circa 2200, 300, 38 e 14 mg kg⁻¹, rispettivamente), mentre le concentrazioni più basse riguardano Cu, As, Ni, Cd e Cr (in media circa 6, 5, 3.4, 0.2 e 0.9 mg kg⁻¹, rispettivamente). Rispetto alla quantità totale di metallo, Mn presenta una percentuale intorno al 57-60 % nei due campioni, Pb del 44 % circa, Cd del 30 %, Cu del 20 %, Zn del 17 %, Ni del 15 %, e Fe del 6 % circa. L'arsenico, non rilevabile nelle due fasi precedenti, in questo primo step della terza fase presenta una percentuale dell'11 % circa e il cromo anch'esso non rilevabile in precedenza presenta una percentuale, seppur bassa, del 2 %.

Il secondo step della terza fase estrae la frazione metallica legata agli ossidi di ferro amorfi e/o a basso grado di cristallinità. Le concentrazioni di metallo più elevate in questo step sono state riscontrate per Fe, Mn, Zn, As (in media circa 19000, 90, 68, 39 mg kg⁻¹, rispettivamente). Rispetto alla quantità totale di metallo, la percentuale di As corrispondente a questo step è addirittura dell'ordine dell'85 %. Anche gli altri metalli presentano valori generalmente alti, in particolare Fe ha di media una percentuale del 60 %, Ni del 40 %, Zn del 30 %, Pb del 18 %, Cu del 18 %, Mn del 17 % e Cd del 15 %.

Nel terzo step della terza fase si riescono a ridurre anche gli ossidi/idrossidi di ferro cristallini più resistenti. Le concentrazioni di metallo più elevate in questo step sono state riscontrate per Fe, Zn e Mn (in media circa 1500, 29 e 18 mg kg⁻¹, rispettivamente), mentre le concentrazioni più basse riguardano Cr, As, Cu, Pb e Ni (in media circa 2, 1.4, 1.4, 1 e 0.6 mg kg⁻¹, rispettivamente). La concentrazione di Cd invece è al di sotto del limite di rilevabilità. Rispetto al totale, si estrae in media, in questo step, il 12.5 % di Zn, mentre intorno il 3–4 % per gli altri metalli. Entrambi i siti, per i vari step della terza fase, presentano quantità di metallo molto simili.

La terza fase, dunque, può essere considerata la fase associativa preferenziale per quanto riguarda i metalli/metalloidi potenzialmente scambiabili, ad eccezione del cadmio che presenta percentuali elevate anche nelle prime due fasi. Questo metallo, infatti, è uno dei

metalli maggiormente mobile e quindi più disponibile. E' evidente, inoltre, che le concentrazioni dei vari metalli in questa fase sono molto elevate; in particolare le maggiori concentrazioni si riscontrano nei primi due step in quanto gli ossidi e idrossidi di Fe e Mn amorfi catturano molto di più i metalli rispetto agli ossidi e idrossidi più cristallini, data la loro più alta superficie di assorbimento. I risultati evidenziano in particolare la forte affinità dell'As per la terza fase che, risultando associato per la stragrande maggioranza ad essa, è quasi completamente mobilizzabile in condizioni anossiche, rendendosi quindi fitodisponibile.

- *4^a Fase. Metallo legato alla materia organica e ai solfuri.* Con la quarta fase si estrae la frazione metallica associata alla materia organica e ai solfuri. In condizioni ossidanti, la materia organica può essere degradata ed i solfuri ossidati a solfati, così da permettere il rilascio dei metalli. Le concentrazioni di metallo più elevate in questa fase sono state riscontrate per Fe, Zn, Mn, Cu e Cr (in media circa 300, 20, 16, 7 e 2 mg kg⁻¹, rispettivamente), mentre le concentrazioni più basse riguardano Ni, Pb e Cd (in media circa 0.9, 0.6 e 0.02 mg kg⁻¹, rispettivamente). As è al di sotto del limite di rilevabilità strumentale. Rispetto al totale, il metallo maggiormente estratto è il rame con percentuali intorno al 25 %. Le percentuali degli altri metalli sono relativamente basse.

La materia organica è costituita da sostanze umiche che dovrebbero chelare i metalli. La percentuale relativamente alta di rame, dunque, è da ricondursi al fatto che questo metallo ha un'elevata capacità di formare complessi chelati stabili con gli acidi umici [Kerndorff and Schnitzer, 1980]. Tuttavia il rame presenta solitamente percentuali relative a questa fase fino al 60–70 % [Argese and Bettiol, 2000]. Il valore molto basso trovato nei campioni analizzati è probabilmente da imputarsi al fatto che la quantità di sostanza organica presente nel suolo dei siti in esame è piuttosto bassa.

- *5^a Fase. Metallo residuale.* La fase residuale contiene la frazione di metalli legati come impurezze all'interno della struttura reticolare dei minerali detritici e sali e ossidi più ralcitranti, non solubilizzati nelle fasi precedenti. Le concentrazioni di metallo più elevate in questa fase sono state riscontrate per Fe, Mn, Zn e Cr (in media circa 10000, 52, 52 e 34 mg kg⁻¹, rispettivamente), mentre le concentrazioni minori riguardano Pb, Ni, Cu e Cd (in media circa 8, 7, 7 e 0,05 mg kg⁻¹, rispettivamente). As non è rilevabile. Rispetto al totale, Cr è l'unico metallo estratto per la maggior parte in quest'ultima fase con percentuali intorno al 70 % nei campioni analizzati, come riscontrato anche in altri lavori [Argese and Bettiol, 2000]. Fe presenta nella frazione residuale una percentuale di circa il 30 %, Cu del 26 %, Ni del 30 %, Pb del 24 %, Zn del 23 %, Mn il 10 % e Cd l'8 %. In condizioni ambientali normali tali metalli non sono rilasciati e di conseguenza non sono disponibili. Ciò induce a pensare che maggiore è la quantità di metallo presente in tale fase, minore è il rischio ecologico-sanitario legato alla sua presenza nell'ambiente.

3.3.3 Esperimento di fitoestrazione con *Pteris vittata*

Lo studio di fattibilità è stato condotto nel periodo 2007–2008 ed ha riguardato l'impiego della felce *Pteris vittata* come specie vegetale per il fitorisanamento da As del sito di interesse.

Pur non essendo una specie autoctona, le peculiarità illustrate nel paragrafo “Stato dell'arte su *Pteris vittata*” hanno contribuito a determinare la scelta di *P. vittata*, anche sulla base delle particolari caratteristiche ambientali dell'area della rotonda di S. Giuliano.

Data la specificità delle condizioni pedoclimatiche del sito, lo studio è stato condotto direttamente in campo al fine di valutare, oltre alla capacità della pianta di iperaccumulare l'arsenico, anche la sua capacità di crescita e sopravvivenza nel sito oggetto dello studio.

Il successo del processo di fitoestrazione è, infatti, fortemente dipendente dallo stato sanitario della pianta e dal suo tasso di accrescimento. A questo riguardo ogni situazione è un

caso a sé e come tale va studiata nel suo contesto in quanto le estrapolazioni da studi in soluzione idroponica, in vaso o in serra risultano quasi sempre arbitrarie e insufficienti.

Lo studio si è basato su due esperimenti: il primo svoltosi tra l'estate e l'autunno del 2007, e il secondo tra la primavera e l'inverno del 2008.

3.3.3.1 Primo esperimento

Prima della piantumazione di *P. vittata*, la porzione di terreno interessata dallo studio è stata trattata con Glifosate al 38 % per eliminare la vegetazione presente.

Nell'area di sperimentazione sono state poi piantumate circa quindici piante.

Le piante sono state innaffiate secondo necessità con acqua di rete e con una soluzione nutriente (soluzione di Hoagland), al fine di favorirne l'attecchimento e la crescita. In Tabella 20 è riportata la composizione della soluzione di Hoagland.

Tabella 20. Composizione della soluzione di Hoagland (al 100 %)

Macronutrienti	Concentrazione (mM)	Micronutrienti	Concentrazione (μ M)
KNO₃	6	Na ₂ MoO ₄	0.01
KH₂PO₄	5	H ₃ BO ₃	4.6
Ca(NO₃)₂	4	MnCl ₂	0.9
MgCl₂	2		

L'accumulo di arsenico da parte di *P. vittata* è stato valutato prelevando da ciascuna pianta campioni di fronde in tempi diversi, nell'arco del periodo di sperimentazione. Su tali campioni sono state quindi determinate le concentrazioni di arsenico.

A fronte di concentrazioni iniziali pari a circa 4 mg kg⁻¹, dopo 60 giorni di crescita i livelli di arsenico nelle fronde sono aumentati fino a due ordini di grandezza, con una media intorno ai 150 mg kg⁻¹. Nel secondo campionamento, eseguito dopo ulteriori 45 giorni (105 giorni dalla piantumazione), le concentrazioni misurate nelle fronde sono risultate comprese tra 200 e 900 mg kg⁻¹, mostrando quindi un aumento della capacità di bioaccumulo nel tempo (Figura 25).

Tali concentrazioni sono paragonabili con quelle riportate in letteratura, sebbene in questa sperimentazione in campo le piante siano state esposte a condizioni notevolmente diverse; infatti, la maggior parte degli studi vengono condotti in condizioni controllate e costanti su vasi in serra. I livelli di arsenico, in particolare, sono dello stesso ordine di grandezza di quelli relativi a piante cresciute in campo o in serra su suoli con contaminazione moderata [Caille *et al.*, 2004; Wei and Chen, 2006].

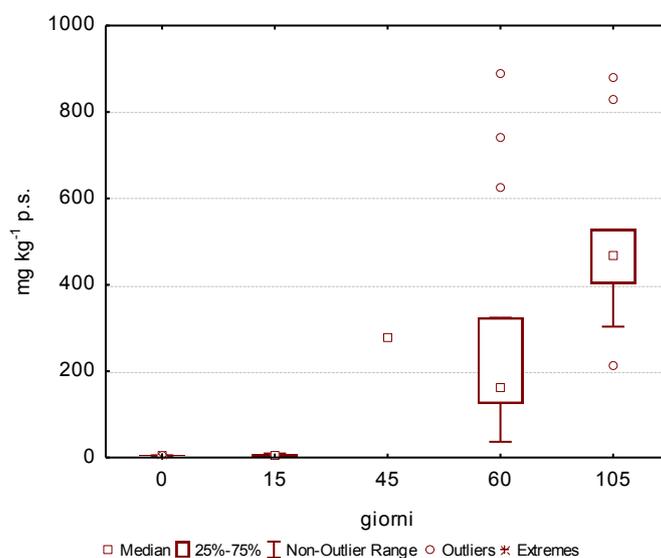


Figura 25. Concentrazione di As nelle fronde di *P. vittata* in relazione al tempo di esposizione.

Considerando che il suolo della rotonda presentava una concentrazione media pari a circa 45 mg kg⁻¹, il fattore di bioaccumulo (rapporto tra concentrazione di arsenico nelle piante, in questo specifico caso nelle fronde, e concentrazione di arsenico nel suolo) è risultato compreso tra 0.8 e 16 per i campioni relativi a 60 giorni di esposizione e tra 4.8 e 20 per i campioni relativi a 105 giorni. Questi valori risultano confrontabili con i dati di letteratura [Caille *et al.*, 2004; Wei and Chen 2006, Wei *et al.*, 2006, Zhang *et al.*, 2002], tenendo conto anche dell'alta variabilità dei fattori di bioaccumulo riportati per *P. vittata*, dovuta alla varietà di condizioni sperimentali (tempi e modi di esposizione, caratteristiche dei suoli, età delle piante, ecc.). L'oscillazione dei valori dei fattori di bioaccumulo trovati può essere attribuita a diversi motivi. Valori bassi si

possono attribuire a condizioni di stress in cui la pianta versa a causa sia delle condizioni pedologiche sia dello stress da inquinamento, che condizionano negativamente l'assimilazione dell'arsenico. È, inoltre, da tenere in considerazione anche l'età della fronda campionata; infatti, le felci generano nel loro ciclo vitale continuamente nuovi germogli. Le diverse fronde sono quindi soggette a tempi di esposizione diversi che danno luogo a bioaccumuli di arsenico diversi.

A causa delle sue peculiari condizioni pedoclimatiche, il sito in studio si è dimostrato, in generale, particolarmente critico e ostile per applicazioni fitotecnologiche. Nell'arco del periodo di sperimentazione, infatti, le piante sono state sottoposte a notevoli variazioni delle condizioni climatiche: si è passati da temperature molto elevate nel periodo estivo, con lunghi periodi di forte insolazione e siccità, a situazioni di piovosità molto intensa nel periodo autunnale, con temperature anche piuttosto basse in alcuni giorni. Nel periodo caldo e secco si è osservato che il suolo, a causa dell'elevato contenuto di limo, formava superficialmente una crosta impermeabile percorsa da crepe, per cui l'acqua di annaffiatura non poteva venire assorbita in modo omogeneo nello strato superficiale in cui si trovavano le radici delle piante, ma scorreva verso gli strati più profondi del terreno. Nel periodo piovoso autunnale si osservava, invece, un eccessivo ristagno d'acqua e la compattazione del suolo; tali condizioni possono determinare una limitazione degli scambi gassosi tra l'atmosfera e la soluzione circolante, e causare una carenza di ossigeno per le radici delle piante.



Figura 26. Crepe formatesi nel suolo limo–argilloso della rotonda di S. Giuliano; essiccamento delle foglie di *Pteris vittata* durante la stagione calda conseguente alla scarsa umificazione e ritenzione idrica degli strati superficiali del suolo.

Pur procedendo con periodiche aggiunte di nutrienti e con le annaffiature richieste, le piante hanno mostrato una scarsa capacità di crescita; si è, infatti, osservata una crescita ridotta della biomassa aerea e un limitato sviluppo della biomassa radicale.

Poiché le concentrazioni di arsenico e di altri inquinanti nel suolo non sono tali da causare effetti tossici rilevanti nei confronti di queste piante, le difficoltà di crescita sono state attribuite alle proprietà del suolo. Per dimostrare che le limitazioni alla crescita di *P. vittata* erano dovute prevalentemente alle caratteristiche del suolo presente nelle rotonda, è stato condotto un esperimento di crescita in laboratorio con esemplari *P. vittata* cresciuti sia su terreno prelevato dalla rotonda che su tipico terreno agricolo: i risultati riportati in Figura 27 evidenziano le forti limitazioni nella biomassa aerea delle piante cresciute sul suolo della rotonda.



Figura 27: Confronto tra *Pteris vittata* cresciute su tipico terreno agricolo (a sinistra) e su suolo della rotonda (a destra).

Sulla base dell'analisi dei dati pregressi, dei dati di concentrazione superficiale di arsenico e dei dati agrochimici, la difficoltà di crescita delle piante è attribuibile alla carenza di carbonio, e quindi di sostanza organica umificata, e all'elevato tenore di argilla e limo presenti nel suolo della rotonda.

Nonostante le forti limitazioni nella crescita e nello stato di salute delle piante, la felce *P. vittata* si è dimostrata un efficiente iperaccumulatore. Infatti, le concentrazioni di As nelle fronde hanno raggiunto livelli fino a 900 mg kg^{-1} malgrado la media della concentrazione di As nel suolo non superasse i 45 mg kg^{-1} , mostrando un efficiente fattore di bioaccumulo e di

traslocazione, analogamente a quanto riportato in altri studi; ciò è attribuibile sia alle caratteristiche iperaccumulatrici della pianta sia alla quasi totale fitodisponibilità dell'arsenico presente nel suolo della rotonda come dimostrato dai risultati ottenuti con la speciazione geochimica. A questo riguardo le caratteristiche pedologiche, in particolare lo scarso drenaggio e il conseguente instaurarsi di condizioni riducenti che, aumentando la fitodisponibilità dell'As, ne facilitano l'assorbimento da parte della pianta.

3.3.3.2 *Secondo esperimento*

Al fine di ottimizzare l'applicazione fitotecnologica di *Pteris vittata* per risanare il suolo della rotonda di San Giuliano, si è ritenuto necessario aumentare il livello di sostanza organica presente mediante aggiunta di letame, al fine di migliorarne la resistenza agli effetti deleteri del rigonfiamento e della contrazione provocati dagli sbalzi idrici, stabilizzando gli aggregati limo-argillosi con la sostanza organica ed evitando così gli effetti negativi sulla crescita delle piante.

Chimicamente l'humus è una sostanza organica complessa derivata dalla decomposizione di residui vegetali e animali e dall'attività di sintesi dei microrganismi. A livello molecolare, i suoi principali costituenti, gli acidi umici e fulvici, non sono in realtà molecole rigide e statiche, ma sono associazioni di molecole più piccole tenute insieme da legami idrogeno. La struttura dinamica degli acidi umici e fulvici comporta una continua aggregazione e dispersione degli elementi costitutivi che permettono il loro adattamento a diverse condizioni di pH e di umidità. Grazie a questa versatilità l'humus mantiene la capacità di dissolvere, assorbire, trasportare e mettere a disposizione delle radici delle piante, in un'ampia gamma di situazioni pedoclimatiche, i minerali, i metalli e le sostanze organiche, non escluse quelle tossiche apportate dall'uomo.

Il miglioramento che l'humus esplica sulla fertilità si svolge a tre livelli: fisico, chimico e biologico. La fertilità di un terreno non dipende solo, infatti, dal contenuto relativo di sostanze minerali quali azoto, fosforo e potassio, ma da un insieme armonico di fattori, primo fra tutti lo stato fisico, cioè la sua struttura intesa come disposizione spaziale delle particelle che lo

costituiscono. Infatti, quando esse, sia che si tratti di sabbia che di argilla, non sono aggregate tra loro in grumi da cementi organici, ad esempio a causa di carenza di humus, si ha quello che si dice uno stato astrutturato che nei terreni sabbiosi impedisce qualsiasi trattenimento dell'acqua, mentre in quelli argillosi provoca compattamento, cioè assenza di pori e insufficiente scambio gassoso con l'atmosfera e quindi impossibilità di movimento degli elementi minerali presenti nella fase liquida. La formazione e la stabilizzazione di questi grumi cementati dalla sostanza organica sono fondamentali per ottenere una buona struttura, per garantire cioè che le fasi solida, liquida e gassosa abbiano un rapporto reciproco adatto alla vita delle piante.

È stato inoltre valutato l'eventuale impiego di piante micorrizzate con funghi arbuscolari.

È opinione comune che la maggior parte delle piante che cresce in condizioni naturali sia micorrizzata [Smith e Reed, 1997], vale a dire che viva in associazione simbiotica con organismi fungini. La presenza delle micorrize è stata rilevata anche in piante cresciute su suoli contaminati [Shetty *et al.*, 1995] indicando che questi funghi hanno sviluppato tolleranza ai metalli pesanti. Tra questi vi sono i funghi micorrizici arbuscolari (funghi AM) le cui ife si sviluppano all'interno della radice della pianta ospite formando una caratteristica struttura ad alberello, da cui il nome di funghi "arbuscolari". I funghi micorrizici arbuscolari (AMF) influiscono sulla nutrizione delle piante ospiti determinando un incremento nell'acquisizione di fosforo. La via di assorbimento include:

- acquisizione di P attraverso ife extraradicali estese e molto ramificate;
- traslocazione attraverso le ife verso le radici delle piante;
- rilascio del P alle cellule radicali.

Inoltre, nel caso di inquinamento, i funghi simbiotici micorrizici agiscono come filtri tra pianta e suolo, interferendo nell'assorbimento delle sostanze tossiche, e migliorano fortemente le caratteristiche strutturali del terreno stesso, aumentandone la fertilità [Bedini *et al.*, 2004].

Le informazioni sull'interazione AMF-As sono veramente limitate e sarebbe necessario condurre più ricerche, in particolare per rivelare i meccanismi di protezione dei funghi arbuscolari sulla pianta ospite in ambienti contaminati dal metalloide [Chen *et al.*, 2007].

Questo secondo esperimento è stato condotto su due parcelle: ad una parcella è stato aggiunto del letame (PC), mentre l'altra è rimasta inalterata rispetto all'esperimento precedente (PNC). In ogni parcella sono poi state piantumate tre piante di *P. vittata* non micorrizzate (PW) e tre micorrizzate (PM).

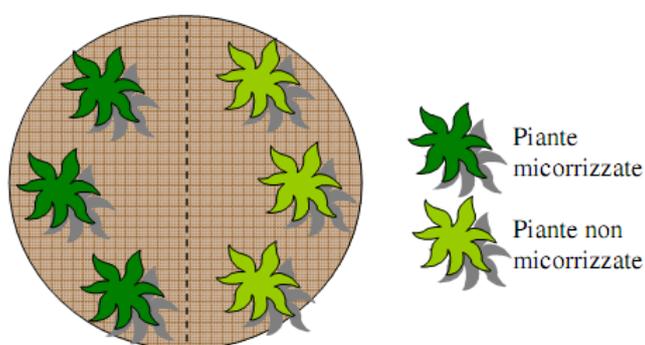


Figura 28. Disposizione delle piante nelle parcelle sperimentali.

Caratterizzazione geochimica del suolo. Prima di condurre la nuova sperimentazione, è stato analizzato il suolo dell'area concimata per valutare gli eventuali cambiamenti apportati dall'aggiunta del letame alle proprietà pedologiche del suolo.

- *Analisi granulometrica.* La distribuzione cumulativa delle frazioni granulometriche del suolo dell'area di studio con il suolo concimato da letame non ha subito un cambiamento rispetto alla situazione precedente.

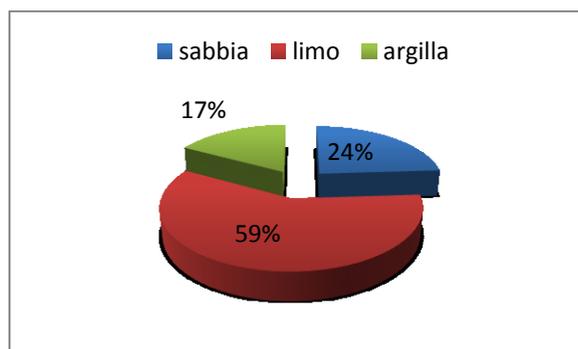


Figura 29: Percentuale cumulativa delle frazioni granulometriche: sabbia, limo e argilla, rispetto alla frazione totale inferiore ai 2 mm.

- *Determinazione del grado di reazione (pH), potenziale redox, conduttività elettrica, Capacità di Scambio Cationica e salinità.* Rispetto al suolo non ammendato, questo suolo presenta valori di potenziale redox, conducibilità e salinità più alti; mentre pH e CSC sono rimasti invariati.

Tabella 21. Valore medio ($n = 3$) e relativa deviazione standard (SD) per il potenziale redox, la conducibilità, il pH, la salinità e la CSC

	Unità di misura	Media	SD
Potenziale redox	mV	211	1
Conduttività elettrica	$\mu\text{S/cm}$	1193	6
pH		7.57	0.01
Salinità	meq/100 g	7.44	0.05
Capacità di Scambio Cationico	meq/100 g	12.8	0.5

- *Analisi dei nutrienti.* I valori del carbonio organico, dell'azoto totale e del fosforo totale, grazie all'apporto del letame sono aumentati.

Speciazione geochimica e mobilità dei metalli. In seguito all'aggiunta di letame, è stata eseguita nuovamente la speciazione geochimica per valutare se la presenza di un agente ammendante

avesse modificato la ripartizione dell'arsenico nelle diverse fasi geochimiche. In Tabella 22 si riportano i risultati ottenuti.

Tabella 22. Concentrazioni medie ($n = 3$) e relative deviazioni standard della speciazione geochimica dell'arsenico su due campioni dell'area. I valori sono espressi in mg kg^{-1} p.s

Fasi di				III ^a	III ^a	III ^a	IV ^a	V ^a	Somma	Totale
speciazione		I ^a	II ^a	a	b	c				
geochimica										
Campione 1	Media	<d.l.	<d.l.	3.6	20	1.41	<d.l.	<d.l.	25	32
	SD			0.8	1	0.01				3
Campione 2	Media	<d.l.	<d.l.	4.0	29	1.9	<d.l.	<d.l.	35	37
	SD			0.6	2	0.2				2

Le analisi sono state condotte all'AAS. d.l. = limite di rilevabilità.

Rispetto al primo esperimento, la concentrazione media di arsenico è leggermente diminuita, da 45 a 35 mg kg^{-1} , probabilmente per un effetto di diluizione dovuto all'aggiunta di letame. La speciazione geochimica è tuttavia rimasta la medesima. La concentrazione più elevata la ritroviamo nella terza fase, secondo step, ossia l'arsenico è rimasto principalmente legato agli ossidi/idrossidi di Fe e Mn a basso grado di cristallinità.

Risultati sul bioaccumulo di arsenico e discussione. Per questo secondo esperimento sono state istituite due parcelle, una concimata e l'altra no. Su ciascuna parcella sono state piantumate tre felci non micorrizzate e tre micorrizzate.

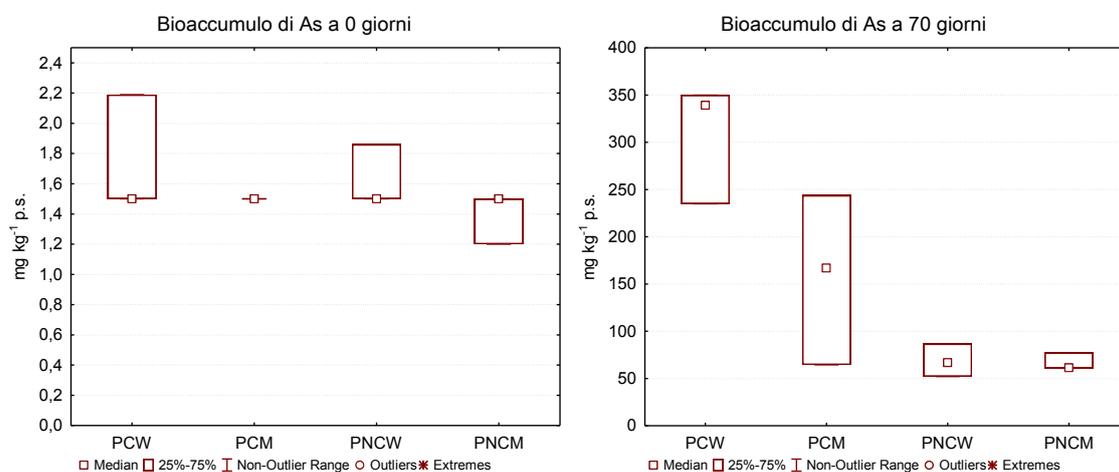
È stato seguito il bioaccumulo di As da parte di *P. vittata*, campionando a intervalli regolari di tempo le fronde delle piante.

La piantumazione è avvenuta a fine maggio–inizi di giugno 2008 e l'ultimo campionamento è stato effettuato a fine gennaio 2009. È stato quindi possibile seguire il comportamento della

felce dopo la rivegetazione, che avviene generalmente dopo i primi caldi di aprile, fino a oltre la fase di quiescenza, ossia la fase in cui si ha la sospensione reversibile dei processi vitali fondamentali della pianta.

I grafici box plot sotto riportati (Figura 30) mostrano gli andamenti medi del bioaccumulo di arsenico da parte delle piante non micorrizzate (PW) e di quelle micorrizzate (PM) all'interno della parcella non concimata (PNC) e di quella concimata (PC).

Analizzando in primo luogo il possibile effetto della concimazione sull'accumulo di arsenico da parte di *P. vittata*, quello che si può evidenziare è che le felci della PC hanno bioaccumulato di più rispetto a quelle di PNC, probabilmente proprio grazie alla presenza del concime che ne ha favorito la crescita. Questo è possibile dedurlo anche dal fatto che a 200 giorni dalla piantumazione, nella parcella non concimata non è stato possibile campionare tutte le piante a causa della morte di alcune di esse e della crescita minima delle fronde con presenza anche di necrosi.



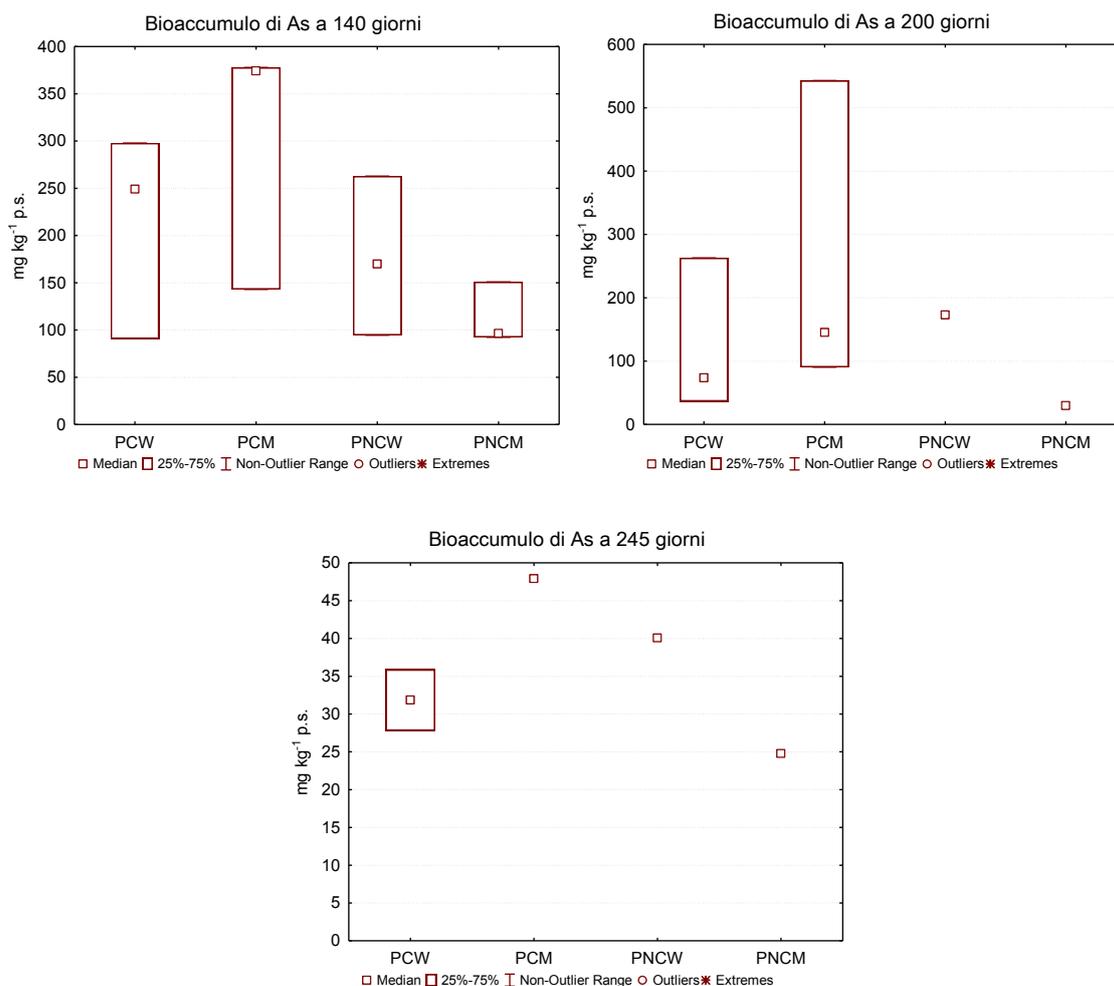


Figura 30: Concentrazione media di arsenico nelle fronde di *P. vittata* in relazione al tempo di esposizione. PCW = piante non micorrizzate nella parcella concimata; PCM = piante micorrizzate nella parcella concimata; PNCW = piante non micorrizzate nella parcella non concimata; PNCM = piante micorrizzate nella parcella non concimata.

Per quanto riguarda l’influenza della micorrizzazione sull’assimilazione di arsenico da parte di *P. vittata*, quello che si evince dai grafici è che nella parcella ammendata le piante micorrizzate, in media, hanno accumulato più arsenico rispetto a quelle nella parcella non concimata.

All’interno di una stessa parcella, invece, i comportamenti sono diversi. Nella parcella concimata, ad eccezione dei campioni a 70 giorni, le piante micorrizzate hanno accumulato in

media di più, con un'ampia varietà di intervalli di concentrazione. Nell'altra parcella, invece, le piante micorrizzate presentano un accumulo inferiore rispetto alle non micorrizzate.

Come è possibile vedere dall'ultimo box plot, che riporta il bioaccumulo di As a 245 giorni dalla piantumazione, le concentrazioni sono molto basse. Questo tempo di assorbimento, corrispondente circa 8 mesi di esposizione, si riferisce al mese di Gennaio; le piante in quel periodo dell'anno si trovavano già in uno stato di quiescenza, ossia nello stato di sospensione reversibile dei processi vitali fondamentali. Questo stato è caratterizzato dalla drastica riduzione dell'attività delle cellule e della loro produzione di energia. Esso è un meccanismo difensivo e di adattamento all'ambiente, che permette a quegli organismi di superare particolari stress ambientali, come condizioni estreme di temperatura, carenza estrema di ossigeno, lesioni fisiche, ecc. Si attiva in risposta alla condizione ambientale di stress, e si disattiva al ritorno della condizione normale.

Quello che ora è di fondamentale importanza valutare è il fattore di bioaccumulo (BAF), ossia quanto arsenico è stato accumulato nelle fronde rispetto a quello presente nel suolo. Considerando una concentrazione media di 35 mg kg^{-1} p.s. di arsenico nel suolo, i BAF sono più alti per le piante della parcella concimata, con valori compresi tra 4 e 9, mentre nella parcella non ammendata i valori sono compresi tra 2 e 5. Questi valori indicano che la *Pteris vittata* è una buona iperaccumulatrice di arsenico, anche in condizioni avverse (carenza di sostanza organica).

Tabella 23: Fattore di Bioaccumulo per le PCW, PCM, PNCW e PNCM.

Tempo di esposizione (giorni)	PCW medio	SD	PCM medio	SD	PNCW medio	SD	PNCM medio	SD
0	0.05	0.01	0.03	0.02	0.046	0.006	0.040	0.005
70	9	2	5	3	2.0	0.5	1.9	0.3
140	6	3	9	4	5	2	3.2	0.9
200	4	3	7	7	5		0.8	
245	0.9	0.2	1		1		0.7	

PCW = piante non micorrizzate nella parcella concimata; PCM = piante micorrizzate nella parcella concimata; PNCW = piante non micorrizzate nella parcella non concimata; PNCM = piante micorrizzate nella parcella non concimata.

3.3.4 Conclusioni

Lo studio condotto sul sito della rotonda di San Giuliano ha riguardato la fattibilità dell’impiego della specie *Pteris vittata* come specie vegetale per applicazioni fitotecnologiche.

Il sito in studio si è dimostrato particolarmente critico per l’applicazione fitotecnologica con la *P. vittata* a causa delle sue peculiari condizioni pedoclimatiche (caratteristiche pedologiche critiche probabilmente esaltate dal clima eccessivamente caldo e secco d’estate e piovoso e freddo in autunno, dall’esposizione diretta all’irraggiamento, all’inquinamento e alla turbolenza delle masse d’aria provocate dall’intenso e continuo traffico veicolare intorno alla rotonda).

Nell’arco del periodo di sperimentazione, infatti, le piante di *P. vittata* hanno mostrato evidenti limitazioni nella crescita e nella sopravvivenza: si è osservata, in particolare, in tutte le parcelle una crescita ridotta della biomassa aerea e un limitato sviluppo della biomassa radicale. Inoltre, c’erano evidenti segni di clorosi e necrosi nelle fronde. Per dimostrare che le limitazioni alla crescita di *P. vittata* erano dovute prevalentemente alle caratteristiche del suolo presente nelle rotonda, è stato condotto un esperimento di crescita in laboratorio con esemplari *P. vittata* cresciuti sia su terreno prelevato dalla rotonda che su tipico terreno agricolo.

Sulla base dei risultati ottenuti dalle carote di suolo, dei dati pregressi e dell'analisi dei campioni superficiali, la difficoltà di crescita delle piante è attribuibile alla carenza di carbonio, e quindi di sostanza organica umificata, e all'elevato tenore di argilla e limo presenti nel suolo della rotonda.

A causa della carenza di humus, il terreno in studio, di prevalente natura limo-argillosa, si è dimostrato soggetto a perdita dello strato aggregato poroso e a formazione di crepe e croste superficiali in seguito all'azione alternata di pioggia e siccità, che causano asfissia e compattamento. I terreni che si rigonfiano e si contraggono presentano limitazioni alla crescita della pianta. Infatti, gli inevitabili fenomeni di ristagno idrico e di crepacciatura sono nefasti per l'integrità dell'apparato radicale e per la respirazione vegetale a causa di un insufficiente scambio gassoso con l'atmosfera e uno scarso movimento degli elementi minerali.

Malgrado le forti limitazioni nella crescita e nello stato di salute delle piante, la felce *P. vittata* si è dimostrata un'efficiente iperaccumulatrice. Infatti, le concentrazioni di As nelle fronde hanno raggiunto livelli fino a 900 mg kg^{-1} malgrado la media della concentrazione di As nel suolo non superasse i 45 mg kg^{-1} , mostrando un'efficiente fattore di bioaccumulo e di traslocazione, analogamente a quanto riportato in altri studi; ciò è attribuibile sia alle caratteristiche iperaccumulatrici della pianta sia alla quasi totale fitodisponibilità dell'arsenico presente nel suolo della rotonda come dimostrato dai risultati ottenuti con la speciazione geochemica. A questo riguardo, le caratteristiche pedologiche, in particolare lo scarso drenaggio e il conseguente instaurarsi di condizioni riducenti, facilitano l'assorbimento dell'arsenico da parte della pianta.

Al fine di ottimizzare l'applicazione fitotecnologica di *Pteris vittata* per risanare il suolo della rotonda di San Giuliano, si è ritenuto necessario aumentare il livello di sostanza organica presente mediante aggiunta di letame, per migliorarne la resistenza agli effetti deleteri del rigonfiamento e della contrazione provocati dagli sbalzi idrici, stabilizzando gli aggregati limo-argillosi con la sostanza organica ed evitando così gli effetti negativi sulla crescita delle piante.

Sono state inoltre impiegate piante micorrizzate con funghi arbuscolari per valutare l'effetto di questi funghi sulla crescita delle piante e sull'assimilazione dell'arsenico.

L'aggiunta del letame ha incrementato la sostanza organica presente nel suolo dell'area di studio e ha favorito la crescita delle piante in esso piantumate rispetto a quelle della parcella non concimata in cui si è avuta anche la morte di alcuni esemplari. Una migliore crescita delle piante si rispecchia in una migliore assimilazione dell'arsenico da parte della felce. Infatti, le piante della parcella concimata hanno accumulato più arsenico di quelle della parcella non concimata, sia per le piante micorrizzate sia per quelle non. La micorrizzazione con funghi arbuscolari, oltre ad avere una influenza positiva sullo sviluppo delle piante, nella parcella concimata ha avuto anche una certa importanza sull'assimilazione dell'arsenico, probabilmente incrementandone la tolleranza.

Lo studio condotto sul sito della rotonda di San Giuliano ha evidenziato, come già riportato in letteratura sulla base di studi condotti in condizioni controllate, che *Pteris vittata* è un'ottima iperaccumulatrice di arsenico, anche in condizioni pedoclimatiche avverse, dimostrandosi una pianta particolarmente idonea per applicazioni fitotecnologiche finalizzate al risanamento di suoli contaminati da arsenico.

3.4 L'area di studio: l'isola di Murano

Murano è composta da piccole isole separate da canali per una superficie totale di circa 2 km² nella Laguna di Venezia. All'inizio del XIII secolo, Venezia era diventata il principale centro per la lavorazione del vetro in Europa. Nel 1291, per evitare il pericolo di incendi, tutti i lavoratori del vetro si spostarono a Murano e la lavorazione del vetro è tuttora la principale attività dell'isola.

L'area oggetto del campo sperimentale è proprio l'area scoperta di una vetreria, situata nella parte Sud-Est dell'isola di Murano, lungo Fondamenta Manin. Il sito ha una superficie catastale totale di 7342 m². L'area è inserita in un ambiente di edifici artigianali con un cortile interno. In particolare, all'interno del sito si possono individuare la fornace situata al piano superiore in cui si operava la fusione del composto formato da silice e altri minerali, un magazzino per l'imballaggio e lo stoccaggio delle suppellettili di vetro, un'officina meccanica, una mensa, un'area per la preparazione della miscela dei componenti necessari per la produzione del vetro ed infine un pontile per l'approdo delle merci via mare.

Si riporta di seguito una foto aerea (Figura 31) attraverso la quale è possibile individuare la collocazione dell'area oggetto di studio.



Figura 31. Ortofoto della laguna veneta con al centro Venezia, a Nord Murano, a Sud l'isola della Giudecca ed a Sud-Est il Lido.

Queste aree, tutte in buono stato, sono state utilizzate a tempo pieno fino all'inizio del 2010, momento in cui l'attività è stata spostata altrove per permettere la riqualificazione dell'area.

Il sito è composto anche da una zona interna a cielo aperto e da un settore quasi totalmente crollato o, comunque, in pericolo di crollo.

L'area è identificata con Unità B, come parte di un Piano di Recupero PR2, identificato dall'Amministrazione Comunale nell'ambito di una variante al PRG, e interessato da una iniziativa privata, il quale è stato protocollato presso la Amministrazione del Comune di Venezia il 22 Dicembre 2008, e autorizzato dalla Soprintendenza per i Beni Architettonici e Paesaggistici di Venezia e Laguna in data 7 Dicembre 2008, e conforme alle normative vigenti in materia urbanistica.

L'attuazione delle linee guida del PR2, nell'ambito dell'Unità B ha principalmente due obiettivi: da un lato di riorganizzare l'area in modo adeguato all'importanza del sito, eliminando le superfetazioni e valorizzando al meglio gli immobili di pregio architettonico, dall'altro lato di riconvertire le aree in oggetto, ed in particolare le aree produttive, in attività ricettiva di alto livello.

L'attuazione delle linee guida del PR2 sopra indicate, attraverso appunto la trasformazione della attività produttive della vetreria in attività ricettiva consiste in interventi diversificati a seconda dell'importanza del manufatto. Sono, infatti, previsti interventi di conservazione e recupero volumetrico, di ristrutturazione, demolizione con e senza ricostruzione. L'intervento consentirà in questo modo di liberare l'area e di ricreare uno spazio a verde interno la cui atmosfera possa ricordare la tranquillità del chiostro di Santa Chiara e i giardini un tempo limitrofi al Casino Mocenigo.

3.4.1 Indagini pregresse esistenti sull'area di studio

Tra Novembre 2008 e Giugno 2009 è stata condotta dalla ditta STA S.r.l. la caratterizzazione del sito ai sensi della normativa vigente (D.Lgs. 152/06 Parte IV, Titolo V). Tale

caratterizzazione ha previsto la realizzazione di 8 sondaggi di cui 4 attrezzati successivamente a piezometri.

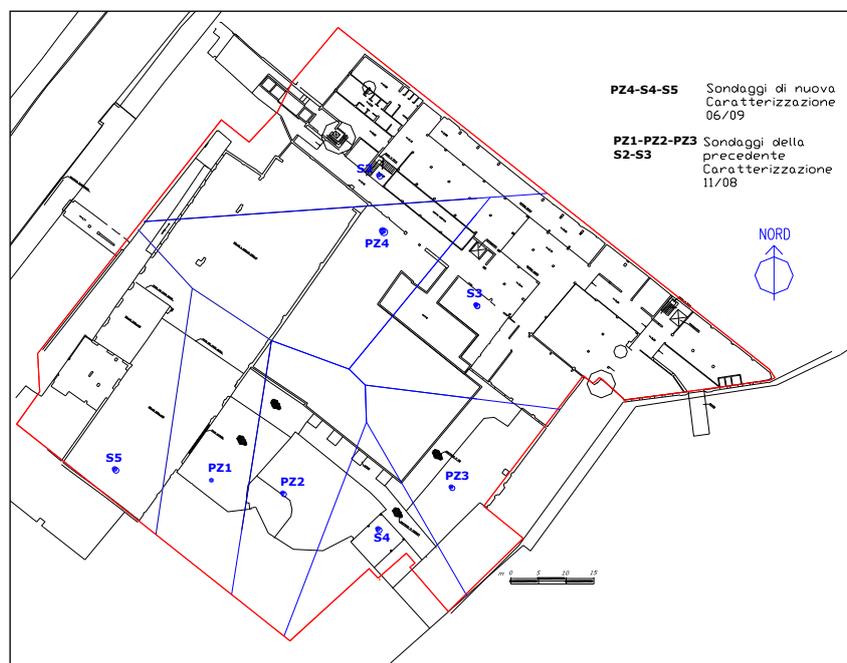


Figura 32. Sondaggi realizzati nella caratterizzazione dell'area.

Le analisi condotte hanno evidenziato dei superamenti dei limiti di legge per i punti di campionamento indicati in Tabella 24.

Tabella 24. Sintesi della contaminazione nei terreni. Le concentrazioni sono espresse in mg kg^{-1} p.s.

Campione	Profondità [m]	As	Cd	Hg
PZ02 C01	(0.00–1.20)	92.9	86	< 0.5
PZ02 C02	(1.20–2.00)	153	5.1	< 0.5
PZ03 C01	(0.00–1.00)	90.2	< 0.2	< 0.5
S2 C02	(0.80–1.80)	116	< 0.2	< 0.5
S3 C01	(0.10–0.90)	50.6	0.3	7.5
S3 C02	(0.90–2.00)	53.5	0.3	< 0.5
Limite di legge (D.Lgs. 152/06)		50	15	5

3.4.2 Caratterizzazione dell'area di studio

L'area di studio ha una superficie di circa 100 m² ed è stata scelta in quanto aveva presentato la concentrazione più elevata di arsenico, corrispondente al sondaggio PZ02 (Figura 33). Il progetto prevedeva, infatti, una prima fase di caratterizzazione del sito con determinazione della distribuzione superficiale della contaminazione da metalli e metalloidi e la preparazione di parcelle per la piantumazione della specie *P. vittata*; una seconda fase di monitoraggio del tasso di bioaccumulo dell'arsenico, ottimizzazione delle pratiche agronomiche e della produzione della biomassa. Sulla base dei risultati ottenuti da questa fase, era prevista l'eventuale estensione dell'applicazione fitotecnologica all'intera area contaminata.

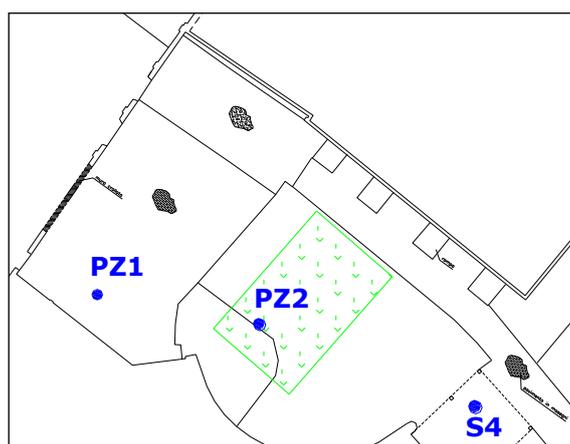


Figura 33. Sito di sperimentazione del fitorimediazione (area in verde).

Caratterizzazione geochimica del suolo

- *Analisi granulometrica.* Dall'osservazione visiva del suolo presente nell'area di studio si nota come esso sia caratterizzato da una matrice composta di frazioni di varia granulometria, anche delle dimensioni di qualche centimetro, misti a scorie di vario tipo, come ad esempio pezzi di vetro. La distribuzione granulometrica risulta abbastanza uniforme per i due campioni analizzati e il suolo si presenta principalmente di natura sabbioso-limosa.

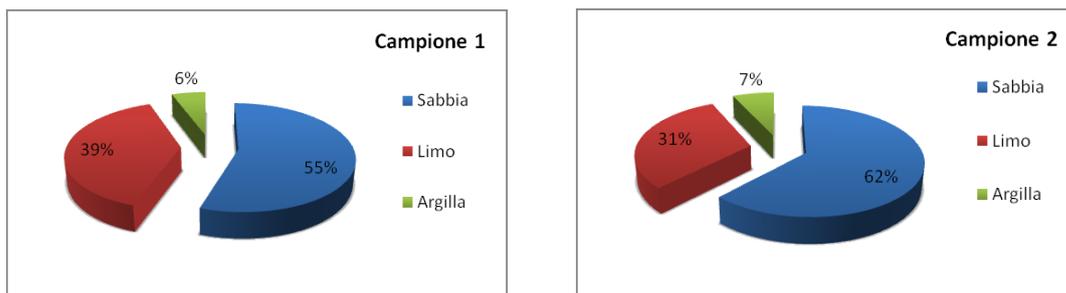


Figura 34: Percentuale cumulativa delle frazioni granulometriche: sabbia, limo e argilla, rispetto alla frazione totale inferiore ai 2 mm

- *Determinazione del grado di reazione (pH), potenziale redox, Capacità di Scambio Cationica, conduttività elettrica e salinità*

Tabella 25. Valori medi ($n = 3$) e relativa deviazione standard per pH, potenziale redox, conducibilità, salinità e CSC in due campioni dell'area di studio

	Unità di misura	Campione 1		Campione 2	
		Media	SD	Media	SD
pH		7.18	0.02	7.18	0.01
Potenziale redox	mV	197	1	201.7	0.6
Conduttività elettrica	$\mu\text{S/cm}$	216	3	167	1
Salinità	meq/100 g	1.35	0.02	1.04	0.01
Capacità di Scambio Cationico	meq/100 g	23.8	0.3	12	1

- *Analisi dei nutrienti.*

Tabella 26. Concentrazione media ($n = 3$) e relativa deviazione standard (SD) dei principali macronutrienti, C tot, N tot, P tot in due campioni dell'area di studio

	Unità di misura	Campione 1		Campione 2	
		media	SD	media	SD
Fosforo totale	$\text{mg kg}^{-1} \text{ P}$	316	25	359	21
Carbonio totale	% C	11.3	0	2.11	0
Azoto totale	% N	n.d.		n.d.	

Analisi del metallo totale

Al fine di determinare in maniera più accurata la distribuzione dei contaminanti nel suolo superficiale dell'area adibita alla sperimentazione di fitorimediazione, è stato condotto un campionamento più puntuale sui primi 15-20 cm di suolo. L'indagine più estesa e approfondita del suolo ha messo in luce che il sito, oltre che da arsenico, era inquinato anche da altri metalli, ad eccezione del Co, quali Pb, Cd, Zn, Se, Cr, Cu, Ni e Sb (

Tabella 27 e Figura 35). I valori medi, calcolati su 10 campioni, evidenziano dei superamenti dei limiti di legge della Colonna B del D.Lgs. 152/06, per Zn, Cd, Se, As e Sb. Anche per altri metalli i valori massimi mettono in luce dei superamenti. Tali risultati si discostano da quanto emerso dalle analisi pregresse che avevano messo in evidenza, nell'unico punto analizzato, il superamento dei soli parametri arsenico ($92.9 \text{ mg kg}^{-1} \text{ p.s.}$) e cadmio ($85.6 \text{ mg kg}^{-1} \text{ p.s.}$), tra i composti inorganici.

Tabella 27: Valore medio (V_{medio}) e relativa deviazione standard (SD), minimo (V_{min}) e massimo (V_{max}) di concentrazione e confronto con i limiti di legge. Le concentrazioni sono espresse in $\text{mg kg}^{-1} \text{ p.s.}$

	V_{medio}^*	SD	V_{min}	V_{max}	Limite di legge (D.Lgs. 152/06) Colonna B
Zn	1624	1056	808	3922	1500
Cd	1452	1555	135	4933	15
Pb	749	519	65	1913	1000
Se	341	684	29	2274	15
As	429	219	90	609	50
Cr	178	58	129	285	800
Cu	101	63	39	210	600
Ni	83	47	43	167	500
Sb	74	51	21	154	30
Co	16	8	7	29	250

* valore calcolato su 10 campioni.

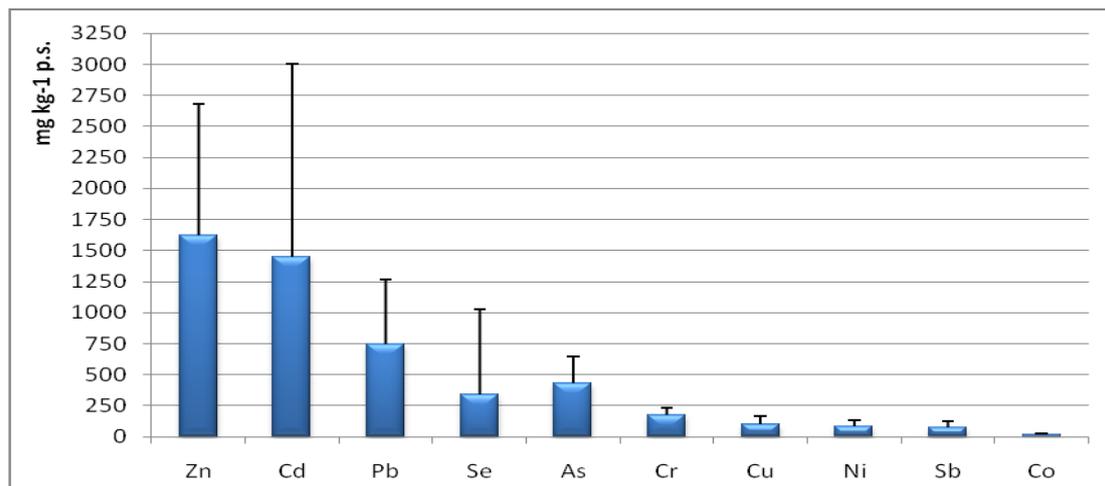


Figura 35. Concentrazioni totali di alcuni metalli in campioni di suolo (media su 10 campioni + SD)

L'area di studio è stata quindi suddivisa in quattro subaree e in ogni subarea sono stati fatti circa 10 fori per la piantumazione delle felci. Per ognuno di questi fori è stato prelevato un campione di suolo al fine di determinare l'effettiva concentrazione dei metalli e metalloidi nell'intorno delle radici delle piante.

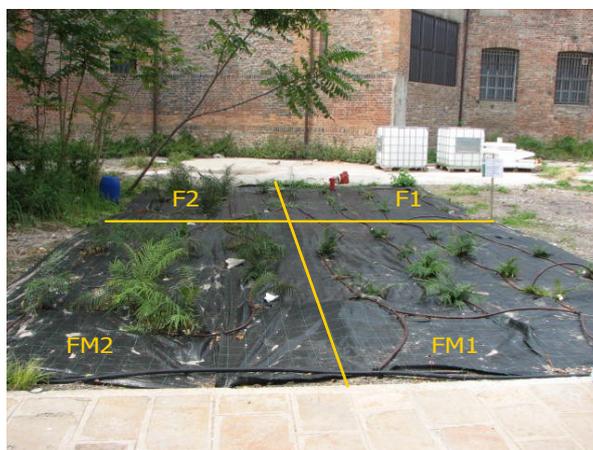


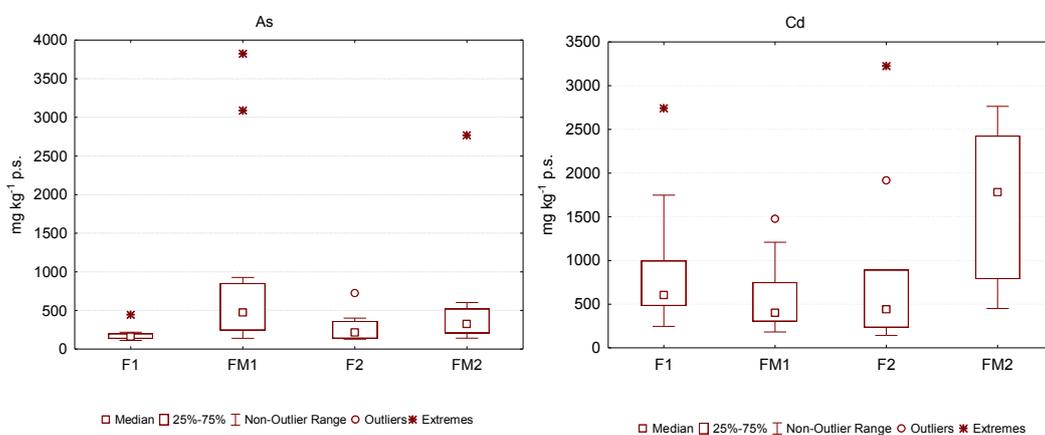
Figura 36. Suddivisione del campo sperimentale in quattro subaree.

Per ognuno di questi fori è stato prelevato un campione di suolo sul quale è stata condotta l'analisi del metallo totale. I risultati sono riportati in Tabella 28, suddivisi per subarea.

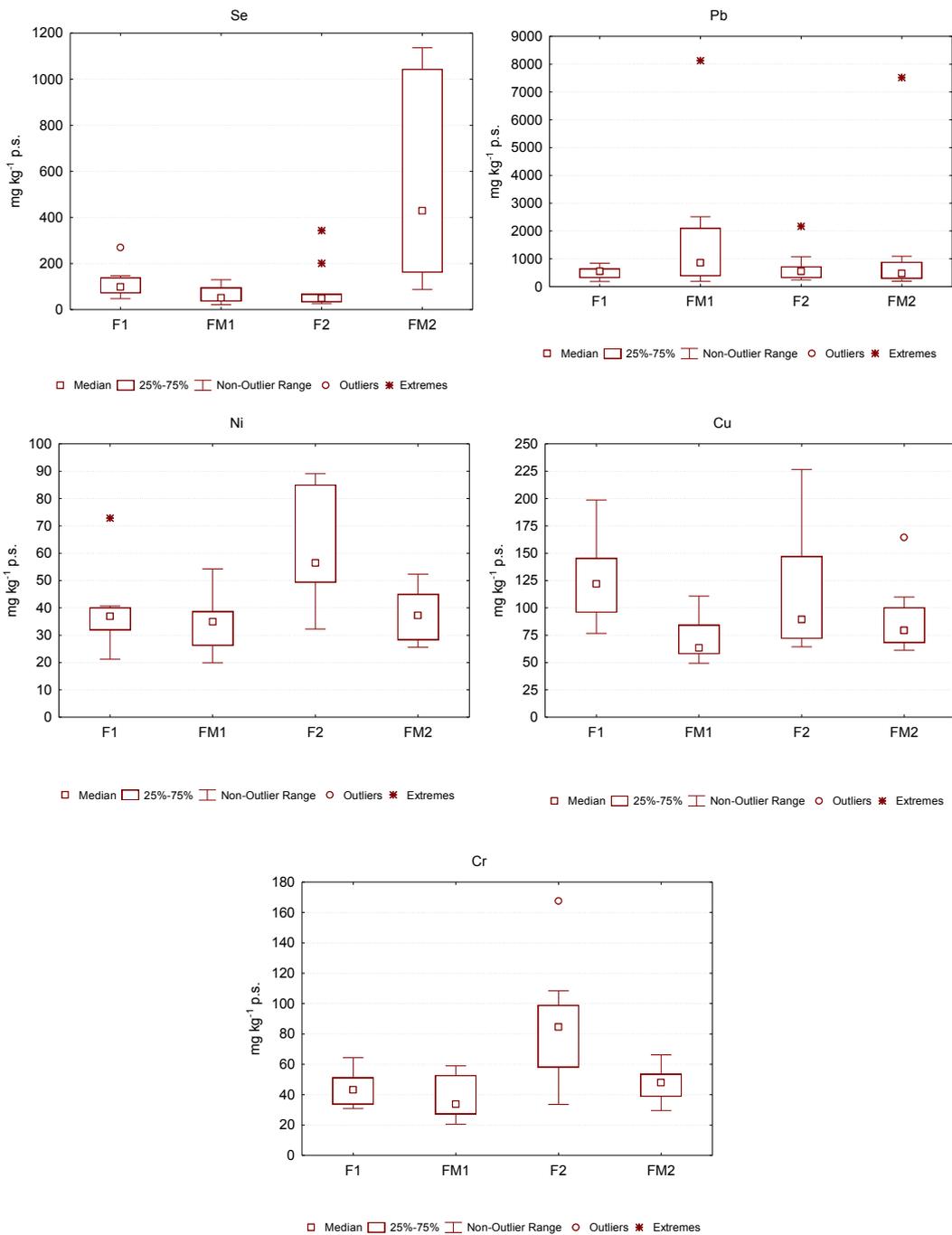
Tabella 28. Valore medio (V_{medio}) e relativa deviazione standard (SD), minimo (V_{min}) e massimo (V_{max}) di concentrazione e confronto con i limiti di legge per ognuna delle quattro subaree. Le concentrazioni sono espresse in mg kg^{-1} p.s.

		As	Cd	Se	Pb	Zn	Mn	Cr	Cu	Ni
F1	V_{medio}^*	189	929	113	495	1902	650	44	126	38
	SD	96	762	65	211	1507	184	11	37	14
	V_{min}	113	247	48	185	479	384	31	77	21
	V_{max}	446	2741	269	844	5050	1001	64	199	73
FM1	V_{medio}^*	875	558	67	1142	1562	1121	38	73	34
	SD	1089	377	35	867	1141	679	13	21	9
	V_{min}	140	183	22	186	458	455	21	54	54
	V_{max}	3822	1479	130	2416	4356	2872	59	111	20
F2	V_{medio}^*	270	814	88	678	1259	773	84	109	61
	SD	176	940	97	554	580	471	36	50	20
	V_{min}	128	143	27	243	482	399	34	64	87
	V_{max}	725	3223	343	2173	2559	2134	168	227	32
FM2	V_{medio}^*	627	627	562	503	1541	1054	47	90	37
	SD	877	877	459	307	1366	545	11	34	10
	V_{min}	142	451	87	197	437	362	30	61	26
	V_{max}	2766	2763	1136	1093	4662	1658	66	165	52
Limite di legge										
(D.Lgs. 152/06		50	15	15	1000	1500		800	600	500
Colonna B)										

*F1 media su 10 campioni; FM1 media su 15 campioni; F2 media su 11 campioni; FM2 media su 8 campioni.



3 – La Rotonda di San Giuliano e l'Isola di Murano



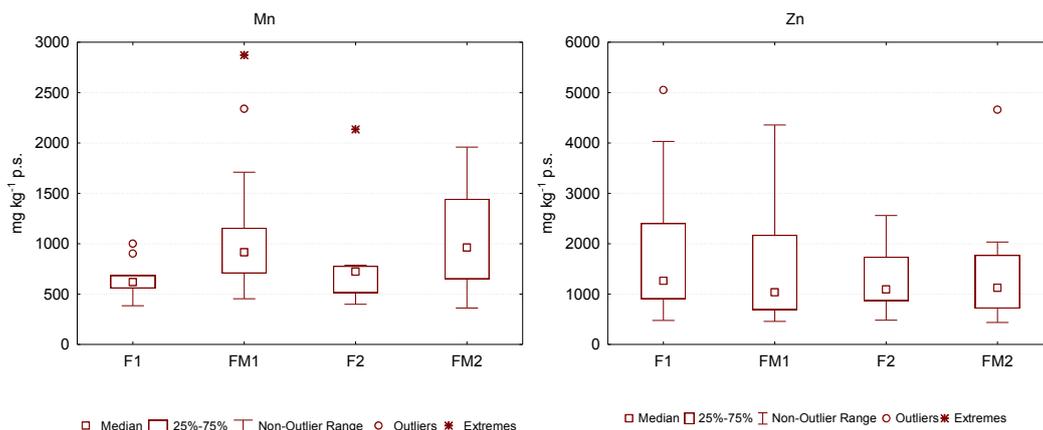


Figura 37. Box plot della distribuzione di alcuni metalli e metalloidi nelle quattro subaree in cui è stata suddivisa l'intera area di studio.

Come è possibile osservare dai box plot riportati in Figura 37, all'interno dell'area di studio è presente una situazione di estrema disomogeneità nella distribuzione della contaminazione. Il campo sperimentale si trova, all'interno del sito di studio, nell'area che era probabilmente adibita alla miscelazione dei componenti per la produzione del vetro. Infatti, i composti utilizzati per la produzione del vetro sono, oltre alla silice e a sali e ossidi di Na o K (fondenti per ridurre la temperatura di fusione della silice) e ossidi di Ca, Ba, Mg e allumina (impediscono la devettrificazione), anche ossidi di piombo, per ottenere vetri ad alto indice di rifrazione, densità e brillantezza; ossido di zinco, per aumentare il coefficiente di dilatazione e migliorare la stabilità chimica del vetro; anidride arseniosa, ossido di antimonio, nitrato di sodio, nitrato di potassio, come affinantanti del vetro. Inoltre, diversi metalli vengono aggiunti alla miscela vetrificabile per conferire la colorazione al vetro (Tabella 29).

È quindi probabile che durante le operazioni di miscelazione ci siano stati sversamenti accidentali che hanno contaminato fortemente il suolo e in modo disomogeneo, visti anche i valori trovati con le nostre indagini rispetto ai dati pregressi ottenuti dalla ditta STA sulla restante area, che aveva riguardato un'area molto più ampia con un numero minore di punti di campionamento.

Tabella 29. Metalli impiegati nella colorazione del vetro

Metallo	Colorazione
Cobalto	blu scuro, rosa, verde
Rame	blu pallido
Nichel	giallo o blu
Ferro	blu, verde o giallo
Cromo	verde o giallo
Manganese	viola
Selenio	ambra
Cadmio	giallo-verde
Titanio	viola o marrone
Oro	rubino

Speciazione geochimica e mobilità dei metalli

Dai dati riportati nella Tabella 30, e illustrati nella Figura 38, si può vedere che complessivamente la frazione potenzialmente biodisponibile di arsenico nei campioni di suolo analizzati varia in generale tra il 70 e il 90 % del contenuto totale, mentre in due soli campioni è pari circa al 50 %. Per quanto riguarda invece il cadmio (Tabella 31, Figura 39), questa frazione è significativamente più elevata, essendo mediamente pari al 90 % del totale. Per questi due elementi la distribuzione tra le diverse frazioni è abbastanza simile nei diversi campioni. Al contrario la distribuzione percentuale del selenio nei diversi campioni varia di molto; il selenio risulta infatti potenzialmente biodisponibile per un 25 % nei campioni B, C ed I, fino al 70 % del campione F (Tabella 32, Figura 40). Per gli altri metalli, si riporta solamente in figura la distribuzione percentuale nelle varie fasi geochimiche (Figura 41).

Tabella 30. Speciazione geochimica dell'arsenico. Le concentrazioni sono espresse in mg kg⁻¹p.s.

Fase	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L
I ^a	41.6	43.4	18.3	56.3	16.2	82.0	15.6	58.9	45.6	34.6
II ^a	50.6	51.9	21.6	35.9	12.5	76.4	15.4	59.9	20.5	86.4
III ^a a	44.7	77.0	57.4	56.1	22.4	167	35.3	59.4	47.3	43.1
III ^a b	139	190	164	80.4	47.9	173	68.2	99.6	119	121
III ^a c	74.6	105	5.50	2.10	6.31	5.05	13.0	20.03	10.23	91.1
IV ^a	1.10	0.90	1.10	0.80	0.53	1.54	0.45	0.78	1.37	0.46
V ^a	88.3	82.2	95.7	228	26.7	140	14.4	256	88.2	62.7
Somma	441	551	364	460	132	645	162	555	332	440
Totale	495	516	359	482	105	751	130	613	383	358

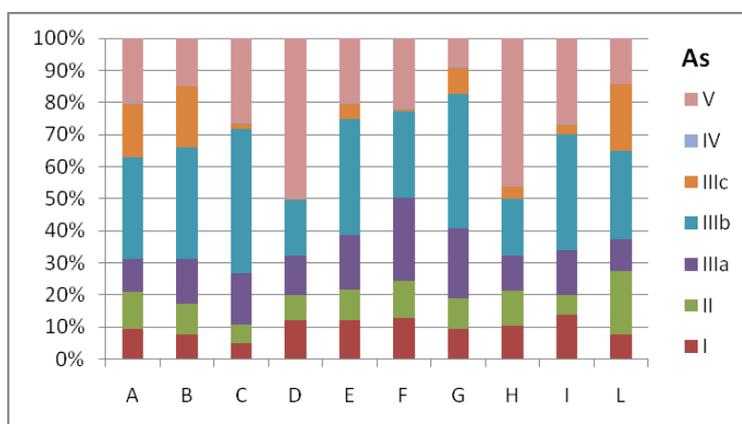


Figura 38. Distribuzione percentuale dell'arsenico nelle varie fasi geochimiche.

Tabella 31. Speciazione geochimica del cadmio. Le concentrazioni sono espresse in mg kg⁻¹p.s.

Fase	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L
I ^a	751	882	257	397	102	1772	61.9	1014	103	163
II ^a	1700	2544	197	367	137	1802	73.7	2861	81.4	140
III ^a a	96.2	183	31.4	44.0	9.21	166	10.7	246	12.0	26.6
III ^a b	14.7	14.0	3.79	7.07	1.64	30.9	1.64	25.0	3.21	4.71
III ^a c	3.71	4.57	1.29	1.36	0.86	3.00	0.50	4.50	1.14	1.64
IV ^a	26.5	37.2	10.9	20.9	5.29	81.8	5.71	93.2	5.57	9.14
V ^a	8.61	42.4	11.0	7.62	5.10	36.1	4.92	73.6	3.25	6.42
Somma	2602	3708	513	846	262	3893	159	4319	210	352
Totale	1529	2567	540	849	484	4933	135	2847	283	350

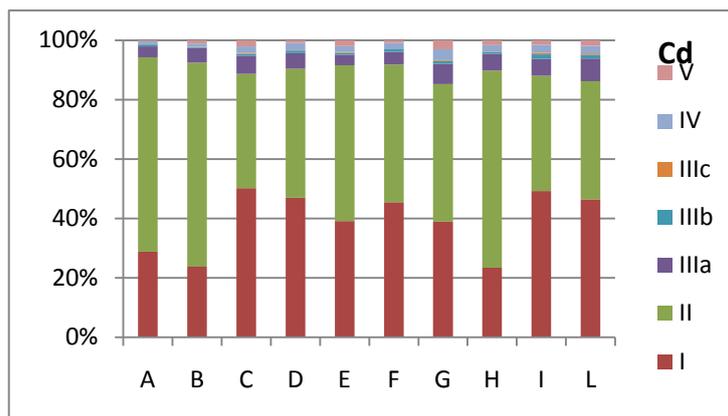


Figura 39. Distribuzione percentuale del cadmio nelle varie fasi geochimiche

Tabella 32. Speciazione geochimica del selenio. Le concentrazioni sono espresse in mg kg⁻¹p.s.

Fase	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L
I^a	94.7	31.0	19.2	104	10.0	1496	10.3	114	10.9	99.3
II^a	26.1	14.4	4.50	14.6	2.53	268	1.46	40.4	0.91	8.71
III^a a	3.71	8.14	5.93	11.5	2.07	139	2.50	18,3	0.71	6.57
III^a b	9.36	17.4	11.6	9.21	2.07	61.6	2.71	22.6	2.21	8.36
III^a c	1.86	2.43	1.64	1.21	1.00	1,86	1.07	1,50	1.00	1.50
IV^a	87.2	132	64.1	102	16.6	669	23.6	272	25.3	94.8
V^a	12.4	62.1	33.4	28.2	18.0	106	9.14	60.0	15.2	13.6
Somma	235	267	140	271	52	2741	51	529	56	233
Totale	150	466	157	276	81	4548	59	511	111	308

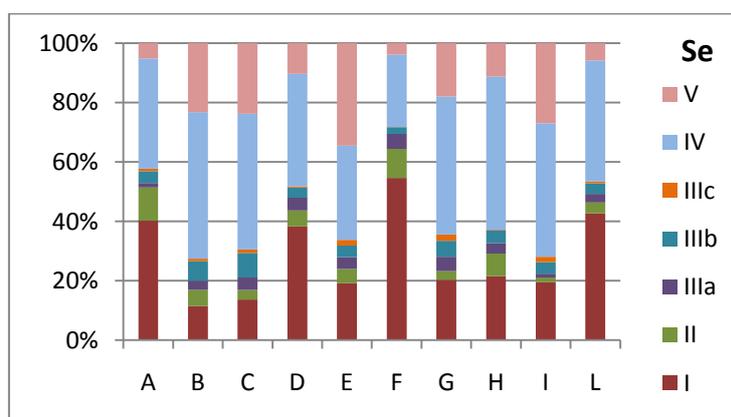


Figura 40. Distribuzione percentuale del selenio nelle varie fasi geochimiche



Figura 41. Distribuzione percentuale di altri metalli nelle varie fasi geochimiche.

3.4.3 Esperimento di fitoestrazione con *Pteris vittata*

Il terreno presente nell’area, essendo terreno di riporto, si è rivelato poco adatto alla piantumazione di specie vegetali. È stato quindi necessario attuare adeguate pratiche agronomiche che hanno comportato dissodamento, eliminazione dei residui vetrosi di grosse dimensioni e aggiunta di fertilizzanti per permettere alle piante di attecchire meglio al nuovo ambiente.



Figura 42. Attività di preparazione dell’area.



Figura 43. Stesura del geotessuto.

È stato quindi steso un geotessuto (Figura 43) per evitare la proliferazione di altre specie vegetali infestanti che a lungo andare avrebbero potuto compromettere la crescita e lo sviluppo delle felci.

Per la piantumazione delle piante è stato necessario utilizzare una trivella elettrica poiché il terreno risultava troppo compatto per l’utilizzo di strumenti manuali (Figura 44).



Figura 44. Realizzazione dei fori per la piantumazione.

L'area di studio è stata suddivisa in quattro subaree, al fine di verificare il comportamento delle diverse piante della felce *Pteris vittata* piantumate. L'esperimento è, infatti, stato condotto impiegando piante di felce di due diverse età: 1 (F1) e 2 (F2) anni e in presenza (FM) o meno (F) del fungo micorrizico arbuscolar della specie *Glomus* spp. (Figura 45).

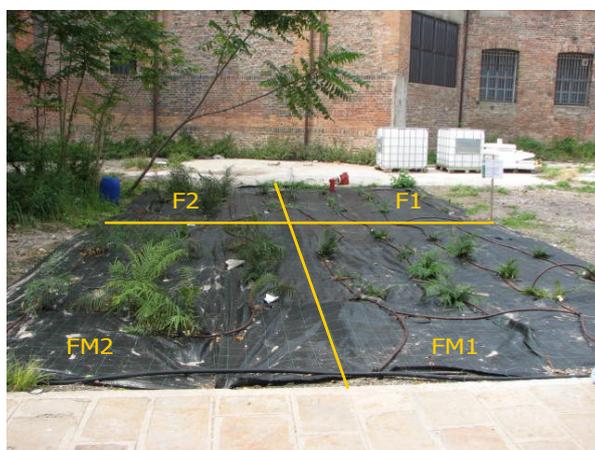


Figura 45. Campo sperimentale al momento della piantumazione

Fin dai primi campionamenti, si è potuto osservare che le piante micorrizzate presentavano una biomassa molto più abbondante e florida rispetto alle altre piante (Figura 46 e Figura 47).

Questo perché la presenza del fungo, che vive in simbiosi con le radici della pianta, ha probabilmente contribuito a migliorare la tolleranza delle piante ai metalli pesanti, e quindi la salute stessa delle piante, e incrementare l'uptake di arsenico.



Figura 46. Piante di *P. vittata* a 30 giorni dalla piantumazione in assenza (sx) e in presenza di micorrizze (dx).



Figura 47. Piante di *P. vittata* a 75 giorni dalla piantumazione in assenza (sx) e in presenza di micorrizze (dx).

Le fronde delle felci sono state campionate a 30, 75, 115 e 145 giorni dalla piantumazione per valutare il bioaccumulo di As, Cd e Se da parte di *Pteris vittata*.

Le figure sotto riportate mostrano le concentrazioni di As (Figura 48), Cd (Figura 49) e Se (Figura 50) accumulate dalle diverse piante divise per età e micorrizzazione in funzione del tempo di esposizione.

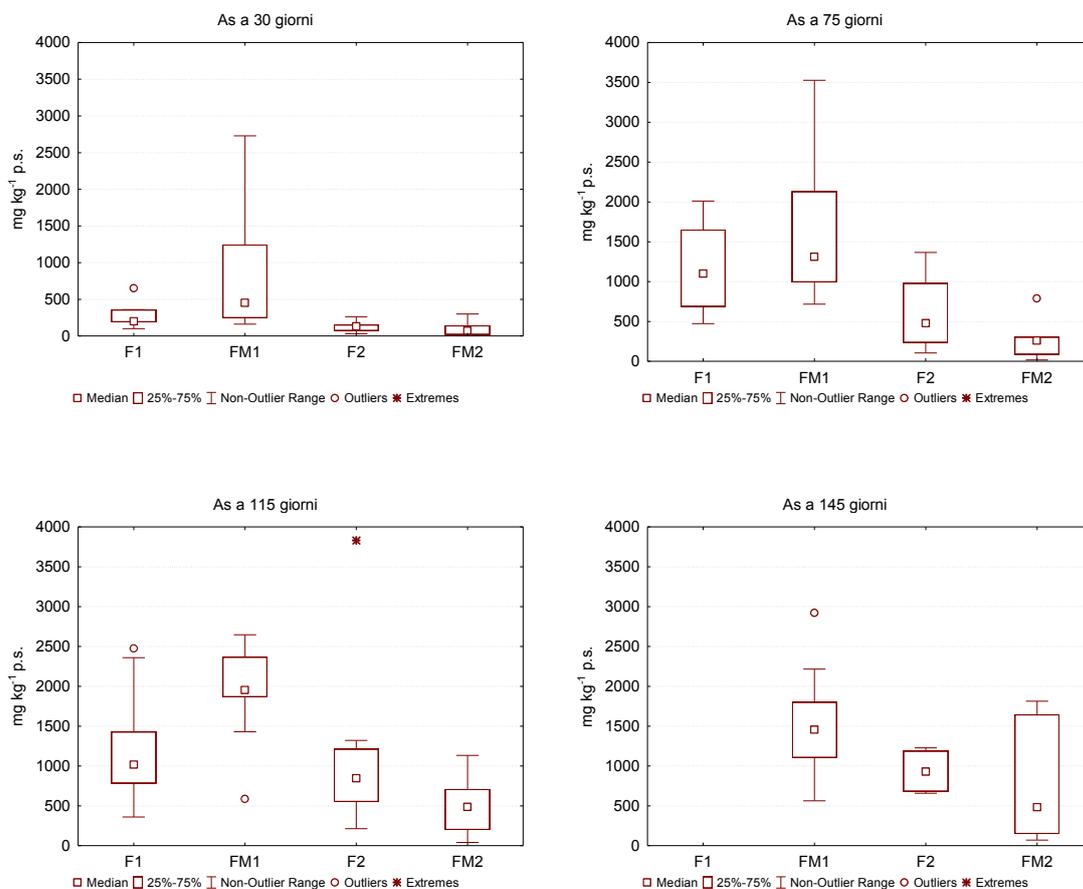
Arsenico

Figura 48. Concentrazioni di As misurate nelle fronde di *P. vittata* a 30, 70 ,115 e 145 giorni dalla piantumazione. F1 = piante di 1 anno; FM1 = piante di 1 anno micorrizzate; F2 = piante di 2 anni; FM2 = piante di 2 anni micorrizzate.

Come si può vedere dai box plot in Figura 48, già dopo 30 giorni le piante hanno mostrato un accumulo di As considerevole. Dopo 75 giorni l'accumulo è molto più evidente e si incrementa ulteriormente a 115 giorni; a 145 giorni di esposizione, andando a considerare la mediana, si può vedere che c'è stato un calo di assorbimento per quanto riguarda le piante del gruppo FM1, mentre sono rimaste stabili i valori delle piante di due anni (FM2).

Si può inoltre notare la maggior capacità di accumulo delle piante più giovani (1 anno) rispetto a quelle di 2 anni. Di difficile interpretazione, invece, è l'effetto della presenza delle micorrize

nella capacità di accumulo per le piante: infatti, in quelle più giovani si nota una accresciuta capacità di accumulo per le piante micorrizzate, mentre le piante di 2 anni sembrano non aver sfruttato al meglio la simbiosi.

Tabella 33. Fattore di bioaccumulo per l'arsenico

		30 giorni	70 giorni	115 giorni	145 giorni
F1	media	1.9	10.5	7.8	
	SD	1.4	3.5	5.8	
FM1	media	1.9	4.8	4.7	4.1
	SD	2.6	4.0	3.4	3.8
F2	media	0.60	2.69	5.58	5.28
	SD	0.52	2.90	8.10	3.39
FM2	media	0.34	1.08	1.84	2.67
	SD	0.40	1.73	1.69	3.86

Cadmio

Il cadmio viene assorbito dalla pianta mediante la via dei metalli essenziali quali Ca, Fe, Mn e in modo particolare lo zinco. Il cadmio, come l'arsenico, è un metallo tossico per le piante perché causa stress ossidativo, in quanto deregolarizza l'omeostasi del Ca e del Fe o causa il loro spostamento dalle proteine, e può portare all'esaurimento del glutathione ridotto attraverso la formazione di complessi Cd(II)-GS₂ e indurre la sintesi delle fitochelatine [Verbuggen *et al.*, 2009].

Vista l'elevata concentrazione di cadmio riscontrata nel suolo dell'area di studio e l'interesse nel migliorare la tolleranza al cadmio di *Pteris* in quanto pianta sensibile a questo elemento che spesso si trova in associazione con l'arsenico [Progetto PRIN 2007], miglioramento che si può condurre con l'impiego di funghi micorrizici arbuscolari [Repetto *et al.*, 2003], si è indagata la capacità bioaccumulatrice di *P. vittata* nei confronti di questo metallo sia in piante micorrizzate sia in piante non micorrizzate.

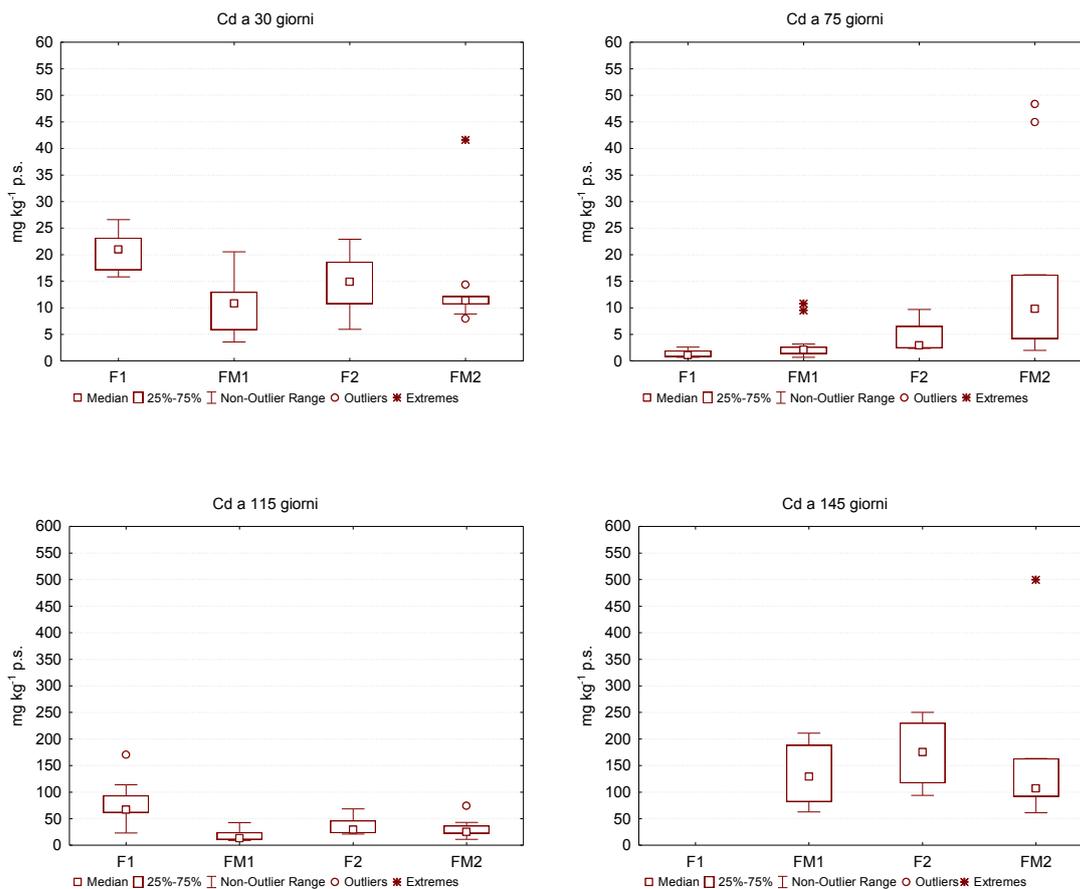


Figura 49. Concentrazioni di Cd misurate nelle fronde di *P. vittata* a 30, 70, 115 e 145 giorni dalla piantumazione. F1 = piante di 1 anno; FM1 = piante di 1 anno micorrizzate; F2 = piante di 2 anni; FM2 = piante di 2 anni micorrizzate.

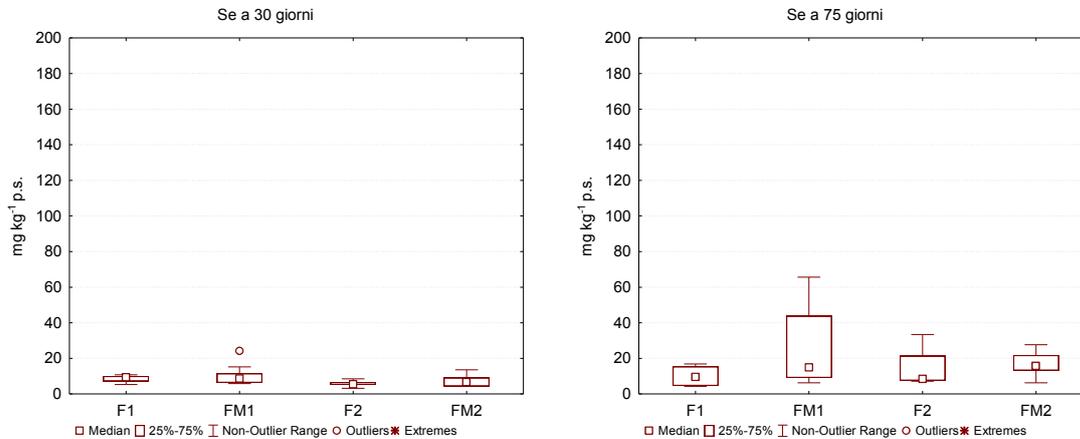
Per quanto riguarda il cadmio, l'andamento evidenziato dalla Figura 49 è di più difficile interpretazione. Questo elemento viene inizialmente accumulato nel primo periodo di crescita della pianta; successivamente, l'accumulo sembra ridursi drasticamente (con la sola eccezione delle piante di due anni micorrizzate), per poi aumentare nuovamente dopo 115 e ancor più dopo 145 giorni di crescita nel sito.

Tabella 34. Fattore di bioaccumulo per il cadmio

		30 giorni	70 giorni	115 giorni	145 giorni
F1	media	0.02	0.001	0.13	
	SD	0.02	0.001	0.13	
FM1	media	0.02	0.005	0.05	0.29
	SD	0.02	0.005	0.05	0.31
F2	media	0.04	0.01	0.10	0.26
	SD	0.03	0.01	0.12	0.55
FM2	media	0.01	0.01	0.03	0.09
	SD	0.01	0.01	0.02	0.09

Selenio

Interessante è stato anche studiare il bioaccumulo di selenio in quanto alcuni lavori presenti in letteratura riportano che *Pteris vittata*, oltre ad essere una iperaccumulatrice di arsenico, è anche una pianta accumulatrice di selenio [Srivastava *et al.*, 2005].



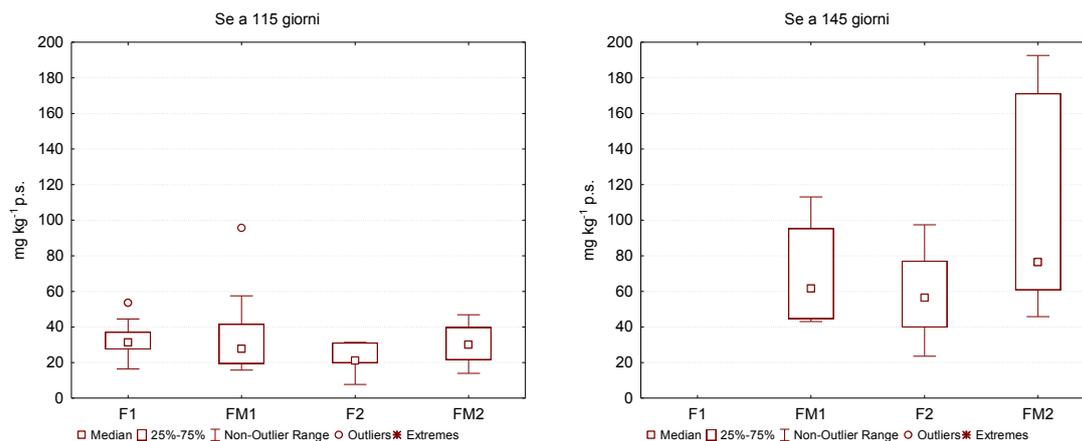


Figura 50. Concentrazioni di Se misurate nelle fronde di *P. vittata* a 30, 70, 115 e 145 giorni dalla piantumazione. F1 = piante di 1 anno; FM1 = piante di 1 anno micorrizzate; F2 = piante di 2 anni; FM2 = piante di 2 anni micorrizzate.

Dai box plot riportati in Figura 50 si evidenzia un andamento di accumulo crescente da parte di *P. vittata* nell'arco dei 145 giorni di osservazione. Un'ulteriore considerazione che può essere fatta, è che sembrerebbe esserci un maggior accumulo da parte delle piante micorrizzate rispetto a quello non micorrizzate.

Il selenio, a basse concentrazioni, sembra svolgere un'azione positiva nei confronti dello stress prodotto dalla presenza di metalli pesanti e metalloidi nel suolo di crescita delle piante.

È stato, infatti, visto che il selenio agisce come antiossidante diminuendo la perossidazione lipidica e incrementando l'attività dell'enzima GSH-Px. Questo ha un riscontro positivo anche sulla crescita della biomassa delle piante. Ad alte concentrazioni, invece, produce stress ossidativo e danni alle piante in modo simile all'arsenico [Srivastava *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2009; Rosen and Liu, 2009].

Tabella 35. Fattore di bioaccumulo per il selenio

		30 giorni	70 giorni	115 giorni	145 giorni
F1	media	0.09	0.17	0.41	
	SD	0.06	0.12	0.24	
FM1	media	0.16	0.37	0.55	1.21
	SD	0.06	0.15	0.21	0.45
F2	media	0.11	0.31	0.48	1.51
	SD	0.07	0.36	0.38	1.58
FM2	media	0.02	0.05	0.11	0.28
	SD	0.02	0.04	0.09	0.29

3.4.4 Conclusioni

La felce *Pteris vittata* ha dimostrato nel caso specifico di avere un'ottima efficienza di accumulo per l'arsenico e un'ottima capacità di resistenza e sopravvivenza anche in presenza di elevate concentrazioni di inquinanti come Cd, Se, Zn e Pb. Infatti, si sono evidenziati chiari segni di sofferenza nella crescita e drastiche riduzioni nell'accumulo di As solo alla concentrazione più alta di Cd (4933 mg kg⁻¹ p.s.). Certamente, come dimostrano i risultati, la presenza dei funghi micorrizici arbuscolari impiegati nella sperimentazione ha avuto effetti benefici sia sulla crescita delle felci sia sulla loro tolleranza agli altri contaminanti presenti in alta concentrazione.

Le concentrazioni di Cd misurate nelle fronde, pur essendo relativamente elevate, sono in ogni caso di molto inferiori rispetto alla concentrazione presente nel suolo come dimostrato dai fattori di bioaccumulo (Tabella 34). Questi risultati escludono, quindi, l'impiego della *P. vittata* per il fitorisanamento di suoli fortemente contaminati da Cd. Le concentrazioni elevate di cadmio nella parte epigea della felce sembrerebbero indicare che i funghi micorrizici arbuscolari possano incrementare la tolleranza di *Pteris vittata* a questo metallo [PRIN 2007, Repetto *et al.*, 2003].

La buona capacità di accumulo di selenio da parte di *P. vittata* la rende una possibile candidata per il fitorisanamento di suoli caratterizzati da una contaminazione medio-bassa di questo metalloide.

L'efficienza di assorbimento sembra dipendere dall'età della pianta: le piante giovani sembrano accumulare di più di quelle più vecchie.

La produzione di biomassa aumenta notevolmente in presenza delle micorrize, indicando quindi i benefici effetti dei funghi micorrizici arbuscolari sull'assimilazione dei nutrienti da parte della felce.

Nonostante tutti i risultati positivi sul comportamento di *Pteris vittata* in condizioni di contaminazione multipla ottenuti dalla sperimentazione, date le elevate concentrazioni trovate per i metalli/metalloidi analizzati l'utilizzo della felce *P. vittata* per il risanamento dell'area risulta inadeguato per riportare i valori di concentrazione di tutti i metalli/metalloidi entro i limiti di legge. La felce potrebbe essere impiegata se il sito fosse contaminato solamente da arsenico.

Per concludere, visto l'inquinamento multielementare e la presenza di *hot spots*, l'unica strategia di risanamento per il sito di studio alternativa allo smaltimento in discarica, potrebbe essere la tecnica del *soil washing* con chelanti (vedi par. 4.5) per abbassare il livello di contaminazione negli *hot spots*, seguita da fitoestrazione con *P. vittata*. Data l'urgenza di rendere disponibile l'area per la sua nuova destinazione, si è deciso di asportare lo strato contaminato e trasportarlo in discarica.

3.5 Bibliografia

Apat. **2006**. *Criteri metodologici per l'applicazione dell'analisi assoluta di rischio ai siti contaminati*.

Argese E. and Bettiol C. **2000**. Heavy metal partitioning in sediments from the Lagoon of Venice (Italy). *Toxicological and Environmental Chemistry* 79:157–170

Bedini S., Pellegrino E., Argese E., Giovanetti M., **2004**. Miglioramento del suolo e biostabilizzazione di metalli pesanti mediati da glomalina. XIV Congresso della Società Italiana di Ecologia, Siena 4-6 ottobre 2004.

Cai Y., Su J., Ma L. Q. **2004**. Low molecular weight tiols in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* upon exposure to arsenic and other trace elements. *Environmental Pollution* 129: 69–78

Caille N., Swanwick S., Zhao F.J., McGrath S.P. **2004**. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilisation. *Environmental Pollution* 132: 113–120

Calcinati E. e Sbrana A. **2001a**. Valutazione del Piano di Caratterizzazione – Progetto Preliminare di Bonifica – Messa in Sicurezza, Parco San Giuliano Lotti A1 (parte) – A2.

Calcinati E. e Sbrana A. **2001b**. Piano Definitivo di Bonifica, Parco San Giuliano Lotti A1(parte) – A2.

Cao X., Ma L. Q., Shiralipour A. **2003**. Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soil and arsenic uptake by hyperaccumulator, *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution* 126: 157–167

Chen B., Xiao X., Zhu Y.G., Smith F.A., Xie Z.M., Smith S.E. **2007**. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* gives contradictory effects on phosphorus and arsenic acquisition by *Medicago sativa* L. *Sci. of the Tot. Environ.* 379: 226–234

Duan G., Zhu Y.G., Tong Y.P., Cai C., Kneer R. **2005**. Characterization of arsenate reductase in the extract of roots and fronds of Chinese brake fern, an arsenic hyperaccumulator. *Plant Physiology* 138: 461-469

Feng R., Wei C., Tu S., Sun X. **2009**. Interactive effects of selenium and arsenic on their uptake by *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. *Environmental and Experimental Botany* 65: 363–368

Fitz W.J., Wenzel W.W. **2002**. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology* 99: 259–278

Gonzalez-Chavez C., Harris P.J., Dodd J., Meharg A.A. **2002**. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. *New Phytol.* 155: 163–171

Hartley-Whitaker, J., Ainsworth, G.A., Vooijs, R., Ten Bookum, W., Schat, H., Meharg, A.A. **2001**. Phytochelatins are involved in differential arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. *Plant Physiology* 126: 299–306

Huang, Z., An, Z.-Z., Chen, T., Lei, M., Xiao, X., Liao, X.-Y. **2007**. Arsenic uptake and transport of *Pteris vittata* L. as influenced by phosphate and inorganic arsenic species under sand culture. *Journal of Environmental Sciences* 19: 714–718

Kerndoff H. and Schnitzer M. **1980**. Sorption of metals on humic acid. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44: 1701–1708

Kertulis G.M., Ma L.Q., MacDONald G.E., Chen R., Winefordner J.D., Cai. Y. **2005**. Arsenic speciation and transport in *Pteris vittata* L. and the effects on phosphorus in the xylem sap. *Environmental and Experimental Botany* 54: 239–247

Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W.H., Cai Y., Kennelley E.D. **2001**. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* 409: 579–579

Meharg A. A. and Hartley-Whitaker J. **2002**. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154: 29–43

Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo”, G.U. suppl. ord. del 21.10.1999, D.M. del 13 settembre 1999, Ministero delle politiche agricole e forestali.

Mignolli F. **2006**. Studio dell'efficienza di fitoestrazione da parte della felce *Pteris vittata* L. in un terreno contaminato da arsenico. Tesi di laurea specialistica in Biotecnologie Vegetali e Microbiche. Facoltà di Agraria dell'Università di Pisa.

Minganti V., Cornara L., Piana M., Corallo A. e Mariotti M.G. **2004**. Arsenic biomonitoring using a hyperaccumulator fern (*Pteris vittata*). *J. Environ. Monit.* 6: 23-25

Pickering I. J., Gumaelius L., Harris H.H., Prince R.C., Hirsch G., Banks J.A., Salt D.E. and George G.N. **2006**. Localizing the Biochemical Transformations of Arsenate in a Hyperaccumulating Fern. *Environ. Sci. Technol.* 40: 5010–5014

Poynton C., Huang J. W., Blaylock M. J., Kochian L. V., Elless M. P. **2004**. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris* species: root As influx and translocation. *Planta* 219: 1080–1088

Raab A., Feldmann J. and McGrath S. P. **2004**. The Nature of Arsenic-Phytochelation Complexes in *Holcus lanatus* and *Pteris cretica*. *Plant Physiology* 134: 1113–1122

Raab, A., Schat, H., Meharg, A.A., Feldmann, J. **2005**. Uptake, translocation and transformation of arsenate and arsenite in sunflower (*Helianthus annuus*): formation of arsenic–phytochelatin complexes during exposure to high arsenic concentrations. *New Phytologist* 168: 551–558

Raab, A., Ferreira, K., Meharg, A.A., Feldmann, J. **2007**. Can arsenic–phytochelatin complex formation be used as an indicator for toxicity in *Helianthus annuus*? *Journal of Experimental Botany* 58: 1333–1338

Repetto O., Bestel-Corre G., Dumas-Gaudot E., Berta G., Gianinazzi-Pearson V. and Gianinazzi S. **2003**. Target proteomics to identify cadmium–induced protein modifications in glomus mosseae-inoculated pea roots. *New Phytologist* 157: 555–567

Rosen B.P. **1999**. Families of arsenic transporters. *Trends in Microbiology*. 7: 201-212

Rosen B.P. **2002**. Biochemistry of arsenic detoxification. *FEBS Letters* 529:86–92

Rosen B.P., Liu Z. **2009**. Transport pathways for arsenic and selenium: A minireview. *Environment International* 35: 512–515

Scazzola R. **2002**. Determinazione del livello di fondo di metalli pesanti nei suoli dell'entroterra veneziano. Dipartimento ARPAV Provinciale di Venezia, Centro Agroambientale ARPAV di Castelfranco Veneto, Settore Politiche Ambientali della Provincia di Venezia e Settore Sicurezza del Territorio del Comune di Venezia.

Schmöger M.E.V., Oven M., Grill E. **2000**. Detoxification of arsenic by phytochelatin in plants. *Plant Physiology* 122: 793–801

Schulz H., Hartling S., Tanneberg H. **2008**. The identification and quantification of arsenic–induced phytochelatin – comparison between plants with varying As sensitivities. *Plant and Soil* 303: 275–287

Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. **2000a**. Mechanism of arsenate resistance in the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ercae*. *Plant Physiol.* 124: 1327–1334

Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. **2000b**. Symbiotic solution to arsenic contamination. *Nature* 404: 951–952

Shetty K.G., Banks M.K., Hetrik B.A., Schwab A.P. **1995**. Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution* 88: 307–314

Singh N., Ma L.Q. **2006**. Arsenic speciation, and arsenic and phosphate distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and non-hyperaccumulator *Pteris ensiformis* L. *Environmental pollution* 141: 238–246

Smith K.G., Reed D.J. **1997**. In: Mycorrhizal Symbiosis, second ed. Academic Press, London, p.586

Sneller, E.F.C., Van Heerwaarden, L.M., Kraaijeveld-Smit, F.J.L., Ten Bookum, W., Koevoets, P.L.M., Schat, H., Verkleij, J.A.C. **1999**. Toxicity of arsenate in *Silene vulgaris*, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins. *New Phytologist* 144: 223–232

Srivastava M., Ma L. Q., Cotruvo J. A. **2005**. Uptake and distribution of selenium indifferent fern species. *International Journal of Phytoremediation* 7:33–42

Srivastava M., Ma L. Q., Rathinasabapathi B., Srivastava P. **2009**. Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Bioresource Technology* 100: 1115–1121

- Trotta A., Falaschi P., Cornara L., Minganti V., Fusconi A., Drava G., Berta G. **2006**. Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L. *Chemosphere* 65:74–81
- Tu C., Ma L.Q. **2002**. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator Ladder Brake. *J. Environ. Qual.* 31: 641–647
- Tu C., Ma L.Q., Bondada, B. **2003**. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *J. Environ. Qual.* 31: 1671–1675
- Tu, C., Ma, L.Q. **2003a**. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Plant and Soil* 249: 373–382
- Tu, S., Ma, L.Q. **2003b**. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. *Environmental and Experimental Botany* 50: 243–251
- Verbruggen N., Hermans C. and Schat H. **2009**. Mechanism to cope with arsenic or cadmium excess in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 364–372
- Vetterlein D., Wesenberg D., Nathan P., Brautigam A., Schierhorn A., Mattusch J., Jahn R. **2009**. *Pteris vittata* – Revisited: Uptake of As and its speciation, impact of P, role of phytochelatins and S. *Environmental Pollution* 157: 3016–3024
- Wang J., Zhao F. J., Meharg A. A., Raab A., Feldmann J. and McGrath S. P. **2002**. Mechanisms of Arsenic Hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake Kinetics, Interactions with Phosphate, and arsenic Speciation. *Plant Physiology* 130: 1552–1561
- Wei C. and Chen T. **2006**. Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation. *Chemosphere* 63: 1048–1053

Wei C.Y., Sun X., Wang C. and Wang W.Y. **2006**. Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: A comparative field study at two sites. *Environmental Pollution* 141: 488–493

Xie Q.E., Yan X.L., Liao X.Y. and Li X. **2009**. The Arsenic Hyperaccumulator Fern *Pteris vittata* L. *Environmental Science and Technology* 43: 8488–8495

Zhang W., Cai Y., Tu C. and Ma L.Q. **2002**. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *The Science of The Total Environment* 300: 167–177

Zhang, W., Cai, Y., Downum, K.R., Ma, L.Q. **2004**. Thiol synthesis and arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata* (Chinese brake fern). *Environmental Pollution* 131: 337–345

Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. **2002**. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist* 156: 27–31

Zhao, F.-J., Wang, J.R., Barker, J.H.A., Schat, H., Bleeker, P.M., McGrath, S.P. **2003**. The role of phytochelatins in arsenic tolerance in the hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytologist* 159: 403–410

Zhao F.J., Ma J.F., Meharg A.A., McGrath S.P. **2009**. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* 181: 777–794

4 L'EX POLIGONO DI TIRO AL VOLO IN LOCALITA' CAMPALTO

4.1 Introduzione generale al caso di studio

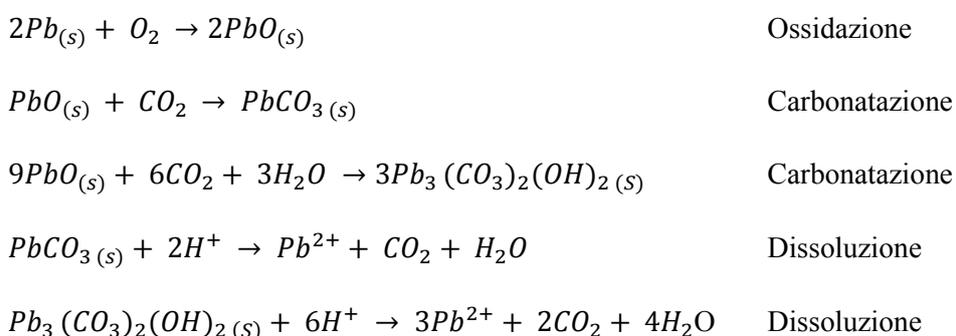
Il presente caso di studio si è inserito all'interno di un progetto, nato dalla collaborazione con il Consorzio Venezia Nuova, che ha avuto come scopo la caratterizzazione della contaminazione da metalli e metalloidi presente in un'area della barena di Passo Campalto che per anni è stata sede dell'attività di tiro al piattello gestita dall'ASTAV (Associazione Sportiva Tiro al Volo) Marco Polo. Tale progetto era inserito in un più ampio progetto di riqualificazione ambientale dell'area finanziato dal Consorzio Venezia Nuova su incarico del Magistrato alle Acque di Venezia.

Le aree utilizzate per le attività di tiro a volo sono giunte negli ultimi tempi all'attenzione scientifica internazionale [Cao *et al.*, 2003; Spuller *et al.*, 2007] in quanto presentano una contaminazione diffusa fortemente correlata con la traiettoria di volo dei pallini [Migliorini *et al.*, 2004]. La contaminazione è dovuta alla ricaduta al suolo dei pallini utilizzati per il tiro e alla conseguente diffusione dei metalli inquinanti in essi contenuti, soprattutto piombo, in dipendenza delle condizioni ambientali. Numerosi studi hanno dimostrato che i poligoni di tiro, utilizzati sia per l'addestramento militare sia per le pratiche sportive, costituiscono importanti fonti di contaminazione da metalli pesanti e metalloidi negli ecosistemi terrestri [Jorgensen and Willems, 1987; Lin *et al.*, 1995; Stansley *et al.* 1997; Rooney *et al.*, 1998; Sorvari *et al.*, 2006]. In particolare, l'impatto dei pallini con i piattelli e con il suolo ne determina l'abrasione con conseguente produzione di polvere di piombo e altri elementi quali antimonio, arsenico e rame.

Tali polveri, a causa dei fenomeni di trasporto atmosferico e dell'azione liscivante dell'acqua meteorica possono causare la contaminazione anche delle aree adiacenti.

Anche se le superfici interessate da attività di tiro a volo, o esercitazioni militari, sono relativamente ridotte, le grandi quantità di metalli pesanti accumulati nei loro terreni costituiscono un potenziale rischio per la salute umana e per tutte le altre forme di vita [Rooney *et al.*, 1998]. I pallini contenuti nelle munizioni sono composti da vari elementi, il principale è il piombo 95–97 %, seguito da antimonio (Sb) 0.4–2.0 %, arsenico (As) 0.2–0.8 % e rame (Cu). Il rischio ambientale è dovuto sia alla tossicità degli elementi in sé, sia alla grande quantità con cui risultano presenti nell'area di ricaduta. Si consideri che un proiettile può contenere dai 20 ai 40 grammi di piombo, e l'area di ricaduta dei pallini è normalmente situata fra i 60 e i 210 metri lungo la direzione di tiro, con una distribuzione massima fra 115 e 180 metri. Inoltre, la direzione degli spari spazza solitamente un settore angolare di 120°: in un terreno pianeggiante significa che l'area interessata dalla ricaduta è di almeno 3 ettari, mentre se si spara dall'alto di un rilievo diventa notevolmente maggiore [www.ambientesport.com]. Ogni sportivo o cacciatore spara almeno 100 cartucce all'anno, ma il 50% dichiara di spararne almeno 250. Ora se consideriamo che l'Italia è il paese con la più alta densità di cacciatori (6 per chilometro quadrato, contro 1.3 della Germania e una media Europea di 2) dove ogni anno vengono sparati almeno un milione e mezzo di colpi, si nota come, con un contenuto medio di 30 grammi di piombo per cartuccia, ogni anno siano immessi nell'ambiente quasi 50 tonnellate di piombo; delle quali oltre 7 quintali sono polveri di piombo dovute all'abrasione. Infatti, è stato dimostrato che in un proiettile circa l'1.5 % della massa viene fisicamente rimossa dall'abrasione derivante dall'impatto con il piattello e/o con il suolo [Hardison *et al.*, 2004]. Si parla di quantità enormi di elementi tossici immessi nell'ambiente, senza alcun controllo in quanto, fino al 2005, non esisteva una normativa specifica che disciplinasse la pratica del tiro al piattello dal punto di vista dei suoi impatti ambientali. L'unico impatto che veniva considerato era quello dell'inquinamento acustico, in quanto era la forma maggiormente percepita dalla

popolazione nelle vicinanze dei tiri al piattello. Inoltre si riteneva che i pallini di piombo, a causa dell'ossidazione superficiale del metallo e la formazione di sottili film insolubili, rendessero il metallo inerte e assolutamente non biodisponibile. Tuttavia, i pallini di piombo possono subire reazioni chimiche e fisiche, come la trasformazione del piombo metallico in specie ioniche del piombo che sono meglio trasferibili nelle frazioni del suolo inferiori a 2 mm. Yin *et al.* (2010) propongono le seguenti reazioni per la corrosione chimica del piombo metallico a piombo ionico nei suoli dei poligoni di tiro:



Successivi studi hanno dimostrato che, specialmente nelle zone umide, gli animali ingeriscono casualmente i pallini di piombo, confondendoli con particelle di cibo oppure li ingeriscono deliberatamente per formare il grit (insieme di sassolini ingeriti e trattenuti nello stomaco muscolare o ventriglio per facilitare la triturazione del cibo e la sua digestione). Nel ventriglio i pallini di piombo a causa dell'acidità gastrica subiscono un rapido processo di erosione e vengono assorbiti dalla mucosa gastroenterica. Il piombo può così esercitare la sua azione tossica in quegli animali, quali cigni, oche, anatre, che si alimentano setacciando il sedimento sul fondo degli specchi d'acqua o dei pantani [www.unep-aewa.org].

4.2 La Barena di Campalto

La Barena di Campalto è un'area molto importante dal punto di vista naturalistico e con tante potenzialità. È un'area che presenta una superficie di 22 ettari e si affaccia sul bacino della laguna nord di Venezia. È compresa tra il canale Osellino, a nord, il canale Scolmatore a est, e la laguna a sud est.

Il sito oggetto di studio è un'area della Barena di Campalto, situata sulle barene di Tessera lungo la linea di gronda lagunare ed è accessibile transitando lungo l'argine del canale Osellino (lato laguna), da Passo Campalto in direzione di Tessera, che per circa 30 anni è stata la sede di un'attività di tiro al piattello che ha determinato il deposito, nell'arenile dell'area, di notevoli quantità di frammenti dei piattelli, dei bossoli di cartucce e dei piombini contenuti nelle cartucce.



Figura 51. L'area dell'ex poligono di Tiro al Volo di Passo Campalto inserita nella laguna di Venezia (Fonte: Google maps).

Si tratta di una barena di margine lagunare, che si localizza cioè nella fascia di transizione dalla laguna alla terraferma; è soggetta all'erosione continua dell'acqua legata alle escursioni di marea, e ciò riveste una notevole importanza nei fenomeni di trasporto e di diffusione degli inquinanti. La barena costituisce un ecosistema dinamico e complesso, caratterizzato da forti variazioni spaziali e temporali nelle proprietà chimico-fisiche. I metalli e metalloidi introdotti in

questo ambiente dall'attività di tiro al volo restano prevalentemente nel sedimento, dove possono partecipare a svariate reazioni di adsorbimento e desorbimento, coprecipitazione, carbonatazione, ecc. Si tratta di processi in continua evoluzione, la cui dinamica è in stretta relazione con le condizioni chimico-fisiche del sedimento quali pH, potenziale redox, salinità, concentrazione di sostanza organica, ecc [Kabata and Pendias, 2004]. La forma chimica dell'elemento unitamente alle condizioni chimico-fisiche della matrice, che partecipano a loro volta nel determinare la speciazione del metallo, ne determinano la solubilità. La presenza dell'elemento in forma solubile costituisce il primo requisito necessario alla sua mobilizzazione, che può comportare la redistribuzione a maggior profondità nel sedimento o l'accumulo nella flora e fauna dell'ecosistema, ed è perciò un'informazione molto importante per valutare il rischio sanitario ed ecologico posto dalla contaminazione. Tale caratteristica subisce continue variazioni come risposta al variare delle condizioni ambientali: le piante stesse emettono e consumano ossigeno all'interno del sedimento, con conseguenze a carico del potenziale redox, ed essudano acidi organici in grado di complessare e mobilizzare i metalli adsorbiti sulle fasi solide o colloidali del sedimento. A rendere più complicata la predizione del comportamento e destino delle diverse specie di un elemento è anche il fatto che alcune cinetiche di ossidazione e riduzione sono lente rispetto al variare delle condizioni della matrice. In questo contesto le particelle fini di Pb, formatesi per abrasione durante l'impatto con il piattello e/o con il suolo, subiscono facilmente fenomeni degradativi che portano alla rapida trasformazione in composti più reattivi del piombo e degli altri metalli/metalloidi contenuti nei proiettili (Sb, As, Cu). Il rapido incremento nella velocità di degradazione è molto probabilmente dovuto alla diminuzione delle dimensioni del materiale. Quando il pallino di Pb si degrada, esso viene ricoperto da una crosta del minerale risultante, formando un film protettivo che inibisce l'ulteriore degradazione del Pb metallico sottostante. Al contrario, la polvere di Pb è costituita da particelle di dimensioni così piccole da non poter formare un film di rivestimento ed è completamente e rapidamente convertita in minerali di Pb. Il fenomeno più importante sembra essere l'ossidazione del piombo metallico ad ossido, che successivamente può essere

trasformato in carbonato ed idrossi-carbonato, solfato, fosfato ed idrossi-fosfato di piombo. La mobilità degli elementi nel suolo è quindi influenzata dal potenziale redox, dalla disponibilità di ioni (carbonato, fosfato e solfato), dal pH e dalla capacità di scambio cationico (CSC); in particolare, condizioni aerobiche ed acide del suolo ne favoriscono la mobilizzazione e quindi la biodisponibilità [Cao *et al.*, 2003; Hardison *et al.*, 2004; Robinson *et al.*, 2007; Spuller *et al.*, 2007].

Le barene sono formazioni tubolari che, generalmente, si configurano come delle aree con un margine lievemente rialzato, depresse al loro interno e attraversate da canaletti di origine erosiva (ghebi). Solitamente, sono caratterizzate da sedimenti fortemente salati e compatti, privi di porosità, condizione che impedisce il passaggio di aria nelle parti profonde. Si tratta quindi di un ambiente fortemente anaerobico, spesso con elevata presenza di solfuri, che ospita una vegetazione con apparati radicali superficiali; per questo motivo le piante non raggiungono mai altezze rilevanti. A seconda della diversa zonazione altitudinale e geografica, e perciò a seconda del gradiente salino dell'ambiente, sono colonizzate da associazioni vegetazionali diverse. Salinità, temperatura, torbidità dell'acqua e concentrazione di ossigeno disciolto possono subire rapide fluttuazioni sia nello spazio che nel tempo. Inoltre, rispetto al mare costiero, le acque lagunari presentano di norma una maggiore escursione termica nel corso dell'anno.

In quanto elementi formatesi tra terra e mare, le barene risentono dei processi di entrambi gli ambienti, ma in più sono sede di eventi specifici ed esclusivi che danno luogo ad aree ecologicamente ed economicamente molto importanti. Le barene sono, infatti, siti di riproduzione e rifugio per molte specie di uccelli [Scarton *et al.*, 1995] ma anche per pesci e molluschi d'interesse commerciale, essendo aree ad elevata produttività in grado di fornire sostanza organica e nutrienti agli habitat adiacenti [Boorman *et al.*, 1977].

A determinare la formazione, la morfologia ed i processi ecologici di questi ambienti concorrono fattori climatici, idrologici, fisici e biologici. In particolare, secondo diversi autori un ruolo fondamentale è svolto dalla vegetazione alofila [Mitsch and Gosselink, 2000; Christiansen *et al.*, 2000], usata anche come elemento per distinguere la barena da velme ed

isole. Le alofite devono il proprio nome alla capacità di compiere l'intero ciclo vitale in suoli ad elevato contenuto salino, ma in realtà presentano ulteriori caratteristiche adattative, che conferiscono resistenza anche a diversi fattori di stress tipici di un ambiente a marea, come la carenza di ossigeno in condizioni di saturazione e la presenza di ioni fitotossici nel suolo [Otte, 2001].

La presenza della vegetazione promuove la formazione delle barene in diversi modi. Foglie e arbusti interagiscono con il campo di moto idrodinamico favorendo la sedimentazione. Leonard e Reed [2002] hanno rilevato tra la vegetazione (*Spartina alterniflora* e *Scirpus sp.*) velocità medie di flusso da 2.5 a 3 volte inferiori di quelle misurate in zone non vegetate. I sali espulsi dai tessuti di alcune specie, aumentando la salinità, favoriscono la flocculazione dei sedimenti più fini e la massa delle radici aumenta la stabilità del materiale già depositato. Inoltre la presenza di microalghe ed in particolare di diatomee, con le loro secrezioni mucose, stabilizza le superfici fangose [Underwood and Chapman, 1997]. Le piante svolgono anche un'azione coprente della superficie che impedisce il disseccamento e protegge il suolo dal dilavamento in occasione delle sommersioni, ed il materiale organico prodotto nella loro crescita incrementa attivamente la quota della barena.

La zona dove il tasso di crescita è maggiore è quella al di sotto del livello medio dell'alta marea, generalmente colonizzata da specie annuali di *Salicornia sp.*, *Suaeda sp.* o da piante perenni resistenti a frequenti inondazioni come le diverse specie di *Spartina* [Dijkema, 1984]. In genere il tasso di crescita mostra una diminuzione esponenziale con la quota. Le barene quindi, in presenza di apporto continuo di sedimenti, dovrebbero essere in grado di mantenersi in equilibrio con il livello medio del mare. Un aumento nella frequenza delle inondazioni dovrebbe corrispondere ad una maggior crescita della quota barenale.

Le barene presentano un suolo pesante, asfittico, scarsamente permeabile, di composizione limo-argillosa, definito "suolo salso" per l'elevata concentrazione di cloruri.

I livelli maggiori di salinità si ritrovano alle quote intermedie e più alte della barena perché nelle zone più basse, frequentemente sommerse, i valori di salinità sono relativamente costanti e

raramente superano quelli dell'acqua di sommersione mentre, alle quote più alte, l'azione delle maree interagisce con il clima [Adam, 1990].

I suoli di barena sono caratterizzati in generale da uno strato superiore mediamente ricco in sostanza organica che conferisce loro un colore grigio nerastro [Pignatti, 1966]. Di conseguenza, elevato è anche il tenore in carbonio organico, compreso generalmente tra il 5 e il 10% [Consorzio Venezia Nuova, 1996]. I maggiori apporti di materiale organico derivano dalla vegetazione *in situ*, sebbene una parte possa essere trasportata dalla marea ed in particolare, durante eventi di tempesta.

I valori più elevati di sostanza organica si osservano in corrispondenza delle aree più depresse della barena con terreni imbibiti d'acqua che presentano basse percentuali di sabbia (ad esempio le zone occupate dalla *Spartina*). Essi decrescono procedendo verso le zone più elevate e più asciutte e caratterizzate da un maggior contenuto in sabbia [Consorzio Venezia Nuova, 1991].

I valori di pH sono caratteristici di terreni a reazione neutra o subalcalina-alcaina e questo a causa dell'elevato contenuto in sali e in carbonati di Ca e Mg. Pignatti [1996] indica valori di pH compresi tra 7.15 e 7.68. In una barena, a causa delle periodiche sommersioni da parte dell'acqua, il substrato subisce variazioni di temperatura che possono essere anche molto rapide ed ampie. In inverno, l'acqua che ricopre la barena è usualmente più calda rispetto alla superficie del suolo, mentre, in estate, si verifica la situazione opposta. Inoltre, al ciclo delle stagioni se ne sovrappone uno giornaliero dovuto all'avvicinarsi del giorno e della notte. La temperatura non varia in modo uniforme su tutta la superficie della barena.

I suoli che costituiscono le barene sono caratterizzati dalla presenza di acque circolanti, e poiché l'elevata pressione osmotica rende l'acqua di difficile assunzione, essi risultano fisiologicamente aridi. Inoltre, il cloruro di sodio è presente in concentrazioni superiori all'1%, valore tossico per la maggior parte delle piante superiori, che in genere tollerano concentrazioni di NaCl più basse di 0.5–0.1%.

Nelle barene la salinità generalmente aumenta con la quota, a causa dell'accumulo di sali conseguente alla risalita per capillarità, arrivando a valori del 3-3.5% nelle "gengive" (fasce rialzate rispetto all'interno della barena dove il bordo assume una conformazione scoscesa). D'altra parte, le zone più elevate hanno suoli meno compatti e più porosi rispetto alle zone basse dove l'ambiente è fortemente anossico.

La comunità vegetale delle barene è costituita da poche specie che non si distribuiscono omogeneamente sulla superficie, ma si organizzano in macchie distinte (patch) generalmente dominate da una sola specie. Il passaggio tra zone dominate da specie differenti spesso è nettamente definito. A condizionare il dominio di una specie sull'altra nell'ambito spaziale di qualche decina di centimetri sono la stretta relazione delle alofite con l'altezza e con la vicinanza a ghebi e canali. Infatti, con la frequenza delle inondazioni variano i fattori abiotici, in grado di selezionare le specie capaci di sopravvivere. Tra i fattori che concorrono alla zonazione non vanno trascurate le interazioni tra le specie, che possono manifestare una parziale sovrapposizione di tolleranze e quindi competere per le nicchie meno esposte ai fattori di stress. In particolare, le relazioni intra e interspecifiche assumono un ruolo importante nel determinare l'abbondanza e la ricchezza di specie presenti alle quote maggiori, mentre nelle zone più basse prevale la selezione effettuata dal rapido gradiente di stress fisico [Otte, 2001].

Nella laguna di Venezia le specie vegetali che si trovano con maggior frequenza sono *Spartina maritima*, *Salicornia veneta*, *Puccinellia palustris*, *Limonium narbonense*, *Sarcocornia fruticosa*, *Juncus maritimus*, *Sueda maritima*, *Aster tripolium*, *Inula crithmoides*, *Arthrocnemum macrostachyum* e *Halimione portulacoides*. Queste specie non colonizzano casualmente la superficie della barena, ma vivono e prediligono zone ben definite (fenomeno della zonazione). Silvestri [2000] indica l'esistenza di intervalli di quota caratteristici per ogni specie: ai margini della barena cresce la vegetazione alofita stagionale, prevalentemente *Salicornia veneta* e *Sueda maritima*; lungo i bordi dei ghebi e dei canali vivono *Inula crithmoides* e *Puccinellia palustris*; lungo i margini delle barene dove il suolo è più degradato verso la velma o il bassofondo e nelle zone interne in vicinanza di chiari, si trova la specie più

resistente a periodi prolungati di sommersione, *Spartina*; le gengive sono colonizzate per lo più da *Sarcocornia fruticosa*, mentre la fascia più interna, adiacente alla gengiva e meno elevata rispetto ad essa, ospita *Limonium*. Le zone di depressione centrale corrispondono alle aree in cui il terreno aumenta la sua salinità e si fa di consistenza più limosa. Le specie vegetali presenti in queste aree formano un'associazione chiamata "limoneto". Le piante che appartengono all'associazione del limoneto sono diffuse su un suolo generalmente umido e a volte anche asfittico che, tuttavia, durante l'estate si essicca completamente e raggiunge elevate concentrazioni saline. Quest'associazione di piante prende nome dal più caratteristico e vistoso dei suoi elementi: *Limonium vulgare* Miller che si affianca a piante come *Aster tripolium* L., *Puccinellia palustris* H., e salicornie appartenenti al genere *Arthrocnemum*.

Tra le altre specie presenti nelle zone di depressione centrale ricordiamo il Salin (*Inula crithmoides* L.), e l'Obione (*Halimione portulacoides* L.), che hanno sviluppato entrambi foglie carnose per adattarsi all'ambiente salmastro. E ancora: *Suaeda maritima* L., nei terreni dove c'è un maggior accumulo di sostanza organica e *Salsola soda* L., quando invece il terreno è ricco di sostanze azotate ma meno salato. Presso gli argini che delimitano la barena, dove l'influenza dell'acqua salmastra è scarsissima, crescono invece *Asparagus maritimus*, simile a quello coltivato, e *Atriplex* sp. L'argine presenta molte specie tipiche di vegetazioni ruderali, dei prati asciutti e umidi di pianura e altre che sono presenti un po' ovunque. Spiccano per la loro altezza e per la robustezza del fusto le piante di *Rumex* spp. così chiamato per la forma delle foglie che ricorda una lancia (*rumex* in latino significa appunto lancia). Si può trovare anche la canna di palude, detta anche canèta o càna (*Phragmites australis* Cav.) utilizzata localmente per produrre "grisioe", cannicciate erette con funzione di frangivento a difesa degli orti, o anche stuoie o ancora per fabbricare scope etc. Questa è una pianta molto importante per queste aree perché l'intreccio dei suoi stoloni (fusti striscianti) e delle sue radici consolida le rive e accumula materiale di deposito.

4.3 L'area di studio: l'ex poligono di tiro al volo

L'attività di Tiro al Volo dell'ASTAV è iniziata nel 1968, previa presentazione l'anno precedente della richiesta di autorizzazione necessaria per l'avvio dell'attività in un'area demaniale, ricadente in zona di barena. Il Magistrato alle Acque accordò all'ASTAV la concessione dell'area per la durata di cinque anni, concessione che alla scadenza non fu più rinnovata; tuttavia l'attività di tiro al volo continuò in area privata.

Nel 1988 fu presentata dal Comitato per la salvaguardia dell'ambiente una nota informativa in cui si denunciava la formazione, all'interno della conterminazione lagunare a Passo Campalto, di una "discarica" di piattelli e di pallini di piombo per l'attività di tiro al piattello e il conseguente danno arrecato al sistema lagunare delle barene.

Nella primavera 1993 fu accertato dal Magistrato alle Acque di Venezia che nell'area vi era un continuo accumulo di materiali provenienti dall'attività di tiro al piattello, che l'area non era opportunamente delimitata con sistemi di sicurezza, che era stato costruito abusivamente un arginello per impedire l'inondazione in occasione di maree medio-alte e che l'argine di conterminazione lagunare (di proprietà pubblica) era stato manomesso.

Successivamente vennero eseguiti ulteriori accertamenti in merito alla demanialità dell'area, e risultò che anche quell'area era di proprietà pubblica e che, quindi, l'attività dell'ASTAV si svolgeva in un'area demaniale senza averne tuttavia il diritto.

Alla fine del 1993 dalle indagini effettuate dall'ULSS 36 Terraferma Veneziana – Settore Igiene Pubblica – Unità operativa III – emergeva che l'area di barena antistante l'area di tiro era ricoperta da frammenti di piattelli e pallini di piombo per una superficie di 6–8.000 m² per una profondità variabile dai 2–3 ai 10–12 cm, mentre all'interno i frammenti erano raccolti e conferiti all'A.M.I.U., insieme ai bossoli vuoti e cartucce sparate.

Tra il 1994 e 1995 venne ribadita nuovamente la natura demaniale dell'area e si ingiungeva all'ASTAV la sospensione dell'attività di tiro, lo sgombero dell'area e il ripristino delle

condizioni ambientali antecedenti l'avvio dell'attività del tiro al volo nell'area demaniale, ripulendola dai materiali depositatesi durante l'attività.

Nel 1999 l'ASTAV assegnò ad una ditta convenzionata con la Federazione Italiana Tiro al Volo, la Luanfarma di Napoli, i lavori di pulizia e recupero del piombo dall'area interessata.

Tuttavia qualche tempo dopo l'avvio del programma di bonifica, Arpav e Comune, che monitoravano il procedimento di bonifica, rilevarono come in realtà l'inquinamento nell'area era aumentato dopo l'intervento di Luanfarma. I risultati delle analisi effettuate dell'Arpav evidenziavano una forte concentrazione di piombo e arsenico, a livelli significativamente superiori ai limiti di legge.

Questo si è verificato per una errata gestione dell'attività di bonifica da parte di Luanfarma, che setacciando il terreno "ricco di piombo" per rimuovere i pallini, i pezzi di piattello e i bossoli, lasciava poi colare il fango inquinato in laguna.

Negli 8 ettari di barena di Passo Campalto è stata rilevata, in seguito agli accertamenti eseguiti nel febbraio 2000 dal reparto operativo della polizia municipale di Venezia e dall'ARPAV, un elevato grado di contaminazione da piombo ed arsenico nel terreno con livelli significativamente superiori ai limiti di legge. Accertato quindi l'inquinamento dell'area e la necessità di intervenire alla sua messa in sicurezza per contenere l'inquinamento, nel marzo 2000 l'ASTAV sospese l'attività di tiro.

Il Comune di Venezia ha emanato nel marzo 2000 l'apposita ordinanza per l'esecuzione degli opportuni interventi di messa in sicurezza dell'area nei confronti dell'Associazione Sportiva "Marco Polo"; tuttavia data l'inadempienza dei destinatari della citata ordinanza, il Comune di Venezia ha richiesto l'intervento sostitutivo del Magistrato alle Acque. Il Magistrato alle Acque nell'aprile 2000 ha presentato il progetto per la messa in sicurezza dell'area, ottenendone l'approvazione da parte del Comune di Venezia, previo parere favorevole della CTPA (Commissione Tecnica Provinciale per l'Ambiente). Nell'agosto 2000 il Magistrato alle Acque ha presentato una variante al progetto che prevede l'utilizzo di paratie metalliche per il

contenimento della contaminazione nell'area, in luogo di quelle precedentemente previste in calcestruzzo armato (Provincia di Venezia, stato dell'ambiente 2000).

La messa in sicurezza dell'area è stata conclusa nel dicembre 2000 e consiste nella delimitazione dell'area maggiormente contaminata mediante una barriera perimetrale in paratie metalliche leggere infisse nel terreno arenoso fino ad una profondità media di circa 1.2 metri e sporgenti dal piano campagna per circa 80 cm. Tale barriera ha la funzione di ostacolare il flusso e riflusso delle maree da e verso l'area contaminata limitando la diffusione dell'inquinamento.

In base al D.M. 471/99, all'intervento di messa in sicurezza d'emergenza deve seguire la predisposizione di un progetto di bonifica. Il Comune di Venezia ha commissionato la bonifica al Magistrato alle Acque, che a sua volta ha affidato il compito al Consorzio Venezia Nuova.

4.3.1 Indagini pregresse esistenti sull'area di studio

Sull'area dell'ex poligono di tiro al piattello sono state svolte dal Consorzio Venezia Nuova una serie di indagini volte a meglio comprendere la situazione in cui si trovava l'area al momento cui il CVN è divenuto affidatario del Progetto esecutivo per la sua bonifica.

Le indagini conoscitive hanno permesso di individuare le metodologie e le tecnologie che meglio si adattavano alle caratteristiche della zona per l'intervento di disinquinamento.

Le indagini condotte sono state la litostratigrafia del sottosuolo, analisi geotecniche e chimiche di campioni di sedimento e di acqua di falda.

Sulla base dei dati disponibili in letteratura e di quelli forniti da queste indagini, si possono fare le seguenti considerazioni di carattere generale.

4.3.1.1 Analisi chimiche su campioni di sedimento

Da un confronto tra i risultati ottenuti dalle analisi e i limiti di legge di colonna A del D.M. 471/99 si può affermare che:

- in tutti i campioni di sedimento rappresentativi dei primi 15–20 cm di profondità prelevati, ad esclusione di alcuni punti, la presenza di piombo (Pb) supera la concentrazione massima prevista dal D.M. 471/99;
- il campione maggiormente contaminato da piombo è risultato avere una concentrazione di 302.218 mg kg⁻¹p.s.;
- in alcuni punti si è riscontrata una concentrazione di piombo superiore alla concentrazione massima prevista dal D.M. 471/99 sino alla profondità di 60 cm;
- alcuni campioni superficiali hanno presentato una concentrazione di antimonio (Sb) superiore alla concentrazione massima prevista dal D.M. 471/99,
- quasi tutti i terreni contaminati da piombo sono inquinati anche da antimonio.

Per quanto riguarda l'arsenico, la questione è più complessa. Con riferimento allo studio fatto dalla Provincia di Venezia – Settore Politiche Ambientali, avente per titolo “*Determinazione del livello di fondo dei metalli pesanti nei suoli dell'entroterra veneziano*”, dal quale risulta che l'area del veneziano è caratterizzata, sia per i suoli che per le acque sotterranee, da elevate presenze di arsenico, in concentrazione media pari a 40 mg kg⁻¹ p.s., molto superiori a quanto previsto dai limiti di legge, è impossibile definire per l'area di studio un grado minimo di concentrazioni accettabile per questo elemento. I valori di concentrazione di arsenico riscontrati variano fortemente e si presentano a spot. Tuttavia, in alcuni punti la concentrazione raggiunge livelli estremamente elevati, ai quali ha contribuito notevolmente l'attività svolta.

La densità di pallini di piombo stimata nell'area di massima ricaduta è di 2.62 kg per metro quadrato di superficie.

In senso orizzontale, la contaminazione da piombo e antimonio è diffusa anche in aree in apparenza non direttamente interessate dalla ricaduta di pallini.

4.3.1.2 Caratteristiche geologiche e idrogeologiche

Le falde confinate profonde hanno poche probabilità di essere state coinvolte dai fenomeni di contaminazione individuati nell'area dell'ex tiro al piattello.

I fenomeni di contaminazione non interessano falde con caratteristiche di idropotabilità.

L'area è caratterizzata da elevate presenze di arsenico in concentrazioni normalmente superiori ai limiti previsti dal D.M. 471/99 – Allegato 1, attribuibili a cause naturali.

I terreni sono in prevalenza limoso argillosi sottoconsolidati o normalconsolidati, saturi e non sono state rinvenute torbe.

Il terreno indagato è caratterizzato, per i primi 15–30 cm, da terreno vegetale costituito principalmente da limo–argilla con abbondanti apparati radicali; solamente in una zona vi è la presenza di terreni in matrice sabbiosa e/o sabbioso–limosa contenenti sempre abbondanti apparati radicali. In questi primi centimetri è possibile rilevare visivamente e al tatto, la presenza di pallini di piombo. Nei pressi della pedana di tiro sono presenti, anche a cumuli, bossoli e frammenti di piattelli.

La maggior parte dei terreni indagati ha un coefficiente di permeabilità (k) compreso fra 10^{-7} e 10^{-9} cm sec⁻¹, in alcuni terreni sabbioso-limosi raggiunge valori fino a 10^{-3} cm sec⁻¹.

I primi 20 cm di profondità del terreno hanno valori di coefficiente di permeabilità bassissimi (10^{-8} – 10^{-9} cm sec⁻¹), il che costituisce senz'altro un ostacolo alla diffusione della contaminazione verso il basso.

Il campione di fondo naturale delle acque di falda è risultato non contaminato.

Tutti i campioni di acque di falda prelevati all'interno del sito sono risultati contaminati da ferro e manganese.

Il superamento dei limiti di legge in alcuni campioni di acqua di falda per piombo e antimonio porta alla considerazione di un avvenuto rilascio di tali elementi abbondantemente presenti nel terreno.

4.3.2 Caratterizzazione dell'area di studio

4.3.2.1 Metodologia e articolazione dell'attività di campionamento

La caratterizzazione dell'inquinamento presente nel sito è stata condotta per gradi, in step successivi, partendo da uno screening di tutta l'area per l'individuazione delle zone eventualmente più contaminate ed andando via via definendo in dettaglio la distribuzione e la natura dell'inquinamento.

Al fine di pianificare la strategia di campionamento, e di individuare le metodologie più adatte per il pretrattamento dei campioni di sedimento, sono state condotte diverse indagini preliminari.

L'area di studio ha una superficie di circa 8000 m² (Figura 52) e i diversi sopralluoghi condotti hanno evidenziato una notevole eterogeneità, sia dal punto di vista morfologico, che per quanto riguarda la copertura vegetale (Figura 53). Nell'area vi sono, infatti, differenze di quota e sono presenti diversi ghebi e chiari, con conseguente distribuzione a macchie delle diverse specie vegetali.

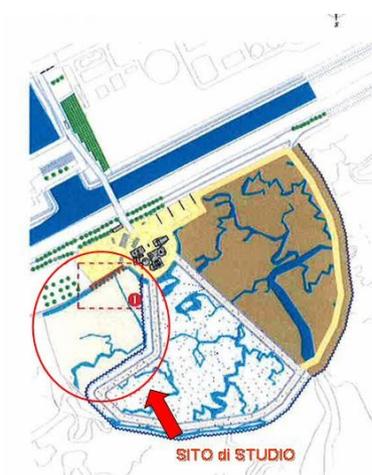


Figura 52. Area dell'ex poligono di tiro al volo. Cerchiato in rosso l'area di studio.



Figura 53: Immagini dell'area di studio.

L'area è stata suddivisa in un certo numero di parcelle di superficie pari a circa 400 m², di cui la maggior parte di forma quadrata (20 x 20 m), ed alcune più esterne di forma irregolare (Figura 54).

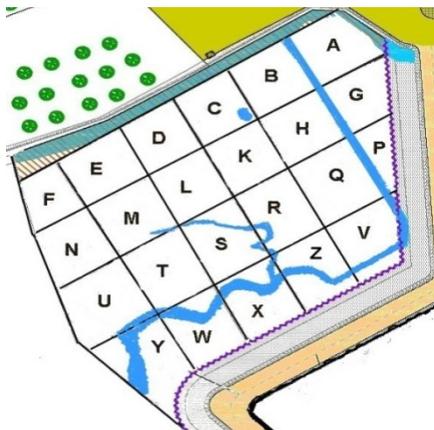


Figura 54: Area dell'ex tiro al piattello sottoposta alla caratterizzazione.

Al fine di ottenere campioni rappresentativi della contaminazione nell'area, è stata compiuta un'indagine per valutare se vi fosse un'eventuale associazione preferenziale della contaminazione da piombo con una particolare frazione granulometrica. Inoltre sono state analizzate le concentrazioni di piombo in una serie di campioni raccolti a distanza ravvicinata, lungo una linea della griglia di campionamento, al fine di valutare la variabilità della

distribuzione spaziale della contaminazione. Sono quindi state stabilite le modalità di raccolta e pretrattamento dei campioni. I risultati preliminari delle analisi hanno evidenziato una distribuzione spaziale della contaminazione da Pb estremamente eterogenea e, quindi, è stato necessario intensificare in modo considerevole i siti di campionamento, rispetto a quanto previsto inizialmente al fine di una corretta valutazione del tipo e del grado di inquinamento presente nell'intera area.

E' stata in seguito condotta una raccolta sistematica dei campioni di suolo nell'intera area, che sono stati poi sottoposti ad analisi per la determinazione delle concentrazioni totali di Pb, Cu, As e Sb; sono stati inoltre prelevati e analizzati anche alcuni campioni di sedimento di chiari e ghebi.

Successivamente, la ripartizione di Pb, Cu, As e Sb tra i diversi componenti del suolo è stata valutata mediante speciazione geochimica, eseguita su un numero ristretto di campioni (data la complessità della procedura), scelti in modo da essere rappresentativi degli intervalli di concentrazione totale di metalli e metalloidi rilevati nell'area di studio. Sempre su un numero ridotto di campioni di suolo sono state eseguite alcune analisi di carattere pedologico (pH, potenziale redox, salinità, conducibilità, fosforo totale, carbonio organico, inorganico, azoto totale, granulometria).

Per quanto riguarda, invece, le componenti biotiche, è stata svolta un'indagine sulle specie vegetali autoctone presenti in maggiore abbondanza nell'area. Sono state condotte due campagne di campionamento, una nell'estate 2008 l'altra nella primavera 2009, per la raccolta dei campioni di piante che, dopo opportuno trattamento, sono stati analizzati per determinare le concentrazioni di Pb, Cu, As e Sb nei tessuti. Specificatamente, queste sono state misurate separatamente nella parte aerea e nella parte radicale delle piante, al fine di poter stimare l'efficienza di bioaccumulo e di traslocazione di metalli e metalloidi da parte delle diverse specie vegetali; inoltre, le concentrazioni nei tessuti vegetali sono state messe in relazione con quelle presenti nel suolo circostante la rizosfera.

4.3.2.2 *Analisi preliminari*

L'area di studio ha una superficie di circa 8000 m² ed è stata suddivisa approssimativamente in parcelle di 400 m² ciascuna (Figura 54).

Al fine di stabilire una strategia di campionamento, sono state condotte alcune analisi preliminari della distribuzione della contaminazione da piombo su campioni di sedimento prelevati nei punti riportati in Figura 55.

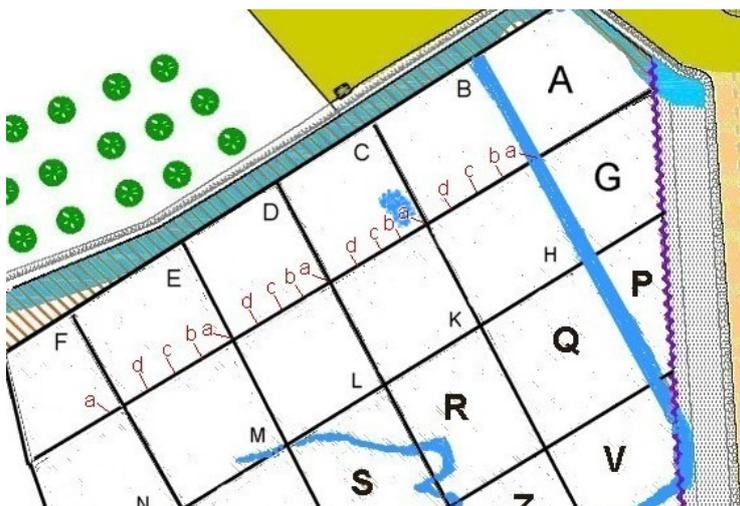


Figura 55: Punti di campionamento per le analisi preliminari (indicati con le lettere in rosso).

Distribuzione longitudinale della contaminazione da piombo nelle diverse frazioni granulometriche.

L'analisi della determinazione del piombo in diverse frazioni granulometriche è stata condotta per stabilire su quale frazione fosse più opportuno condurre le analisi.

Sui campioni B-b, C-b, D-b ed E-b è stata valutata la distribuzione granulometrica della contaminazione rispetto alle frazioni: >2 mm, 2–1 mm, 1–0.5 mm, 0.5–0.25 mm e < 0.25 mm (Tabella 36).

Tabella 36: Concentrazioni di piombo e frazioni granulometriche. La concentrazione è espressa in mg kg^{-1} p.s.

Frazione granulometrica [mm]	B	C	D	E
> 2	376	48.9	198	520
da 2 a 1	452	48.0	180	485
da 1 a 0.5	450	26.4	144	431
da 0.5 a 0.25	432	34.9	144	409
< 0.25	523	45.7	110	355

Come si può vedere del grafico in Figura 56 e dai dati riportati in Tabella 36, per tutti e quattro i campioni analizzati, il piombo non risulta associato ad una frazione granulometrica in particolare; tuttavia per i nostri scopi abbiamo preso in considerazione la frazione < 1 mm, vista la necessità di minimizzare la presenza di materiale grossolano restante dalla frantumazione di bossoli e piattelli e di materiale vegetale nei campioni di sedimento, che era presente in abbondanza e che avrebbe potuto condizionare i risultati dell'analisi.

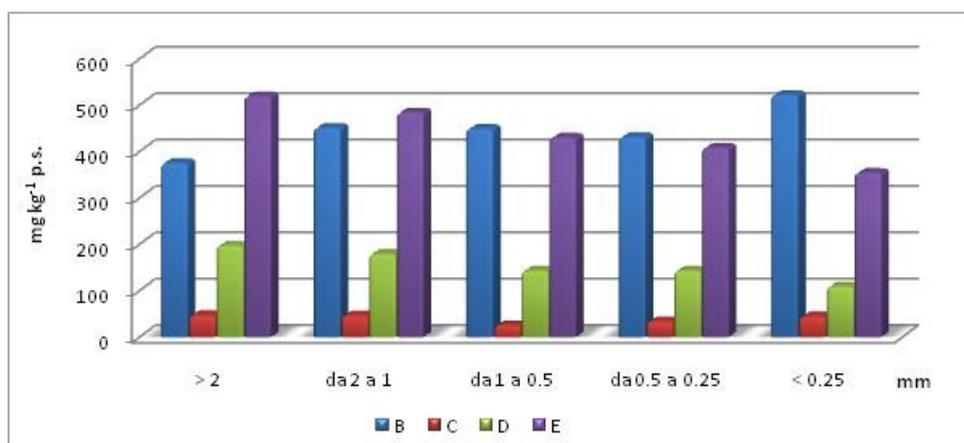


Figura 56: Distribuzione del piombo nelle diverse frazioni granulometriche.

Distribuzione spaziale della contaminazione (metallo totale): variabilità della distribuzione superficiale.

E' stata determinata la distribuzione superficiale della contaminazione da piombo lungo la linea B-F della griglia di campionamento (Figura 55); sono stati prelevati una serie di campioni ad una distanza di circa 5 m l'uno dall'altro, ed è stata determinata la concentrazione totale di piombo (Figura 57).

La linea di campionamento B-F va dalla zona più vicina all'area di ricaduta diretta dei pallini alla zona più distante. Quello che si attendeva era che spostandosi lungo questa linea, da B verso F, la concentrazione di Pb diminuisse.

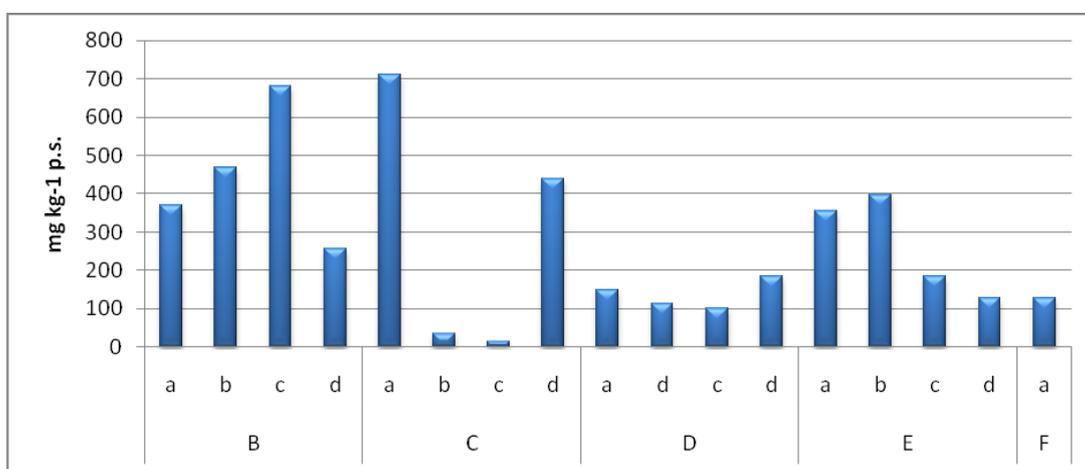


Figura 57: Concentrazione totale di piombo nei sedimenti prelevati lungo la linea B-F.

I dati ottenuti, tuttavia, non dimostrano questo; evidenziano, invece, la forte distribuzione eterogenea dell'inquinamento da piombo nell'area. Tale distribuzione delle concentrazioni può essere dovuta alla conformazione dell'area in esame. Le concentrazioni più basse (campioni C-b e C-c) sono in corrispondenza di una pozza d'acqua, per cui si può pensare ci sia stato un dilavamento del Pb in questi punti.

Caratterizzazione geochimica del sedimento

Data l'eterogeneità della distribuzione della contaminazione all'interno dell'area di studio, sono stati presi due campioni casuali di sedimento e su questi è stata condotta la caratterizzazione geochimica. Le misure sono state condotte in triplicato.

- *Analisi granulometrica.* Il suolo in esame si presenta principalmente di natura limosa, con percentuali variabili di sabbia e argilla (Figura 58). La presenza di una percentuale così elevata di limo rende il suolo poco permeabile; quindi gli inquinanti presenti nella matrice hanno scarsa possibilità di scendere in profondità.

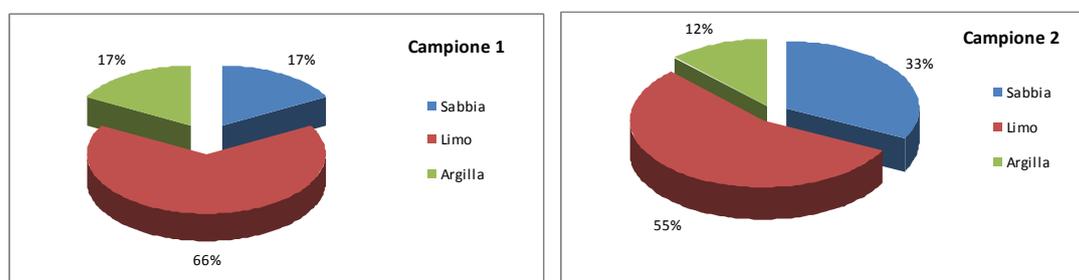


Figura 58: Percentuale cumulativa delle frazioni granulometriche: sabbia, limo e argilla, rispetto alla frazione totale inferiore ai 2 mm.

- *Determinazione del grado di reazione (pH), potenziale redox, Capacità di Scambio Cationica, conduttività elettrica e salinità.* I valori di pH ritrovati nel sito di studio sono caratteristici di terreni ad alcalinità moderata. Pignatti [1966] indica valori medi di pH nel suolo delle barene della Laguna di Venezia compresi tra 7.15 e 7.68, tali valori sono dovuti all'elevato contenuto in sali e carbonati di Ca e Mg.

La conduttività elettrica rappresenta la misura indiretta della concentrazione totale di sali disciolti nella "soluzione del suolo". La misura della conducibilità permette, inoltre, di valutare la salinità del terreno. Dato che si tratta di un suolo barenoso, la conducibilità non può che confermarci che si tratta di un suolo salino.

La capacità di scambio cationico (CSC) è la quantità di cationi scambiabili che un materiale dotato di proprietà di adsorbimento può trattenere per scambio ionico. Il suolo in questione ha una CSC alta, tipica di terreni argillosi dotati di colloidi ad alta capacità di scambio e ad alto tenore in sostanza organica.

Il potenziale redox è una misura semiquantitativa della tendenza di un sistema a ossidare o ridurre determinate sostanze. I valori molto bassi riscontrati sono caratteristici di un ambiente riducente.

Tabella 37. Valore medio ($n = 3$) e relativa deviazione standard (SD) per il potenziale redox, la conducibilità, il pH, la salinità e la CSC

	Unità di misura	Campione 1		Campione 2	
		Media	SD	Media	SD
pH		7.51	0.01	7.903	0.006
Potenziale Redox	mV	230	3	231	0
Conducibilità elettrica	$\mu\text{S}/\text{cm}$	8057	40	7397	38
Salinità	meq/100 g	50.4	0.4	46.3	0.3
Capacità di Scambio Cationico	meq/100 g	27.9	0.7	29.3	0.8

- *Analisi dei nutrienti.* Generalmente i suoli della barena presentano uno strato superiore ricco in sostanza organica dovuto alla presenza di una ricca vegetazione; di conseguenza anche il tenore di carbonio organico è elevato, compreso tra il 5-10%.

Tabella 38: Concentrazione media ($n=5$) di fosforo totale, carbonio organico e azoto totale e relativa deviazione standard (SD)

	P	C	N
	Totale	Organico	Totale
	mg kg ⁻¹ P p.s.	% C p.s.	% N p.s.
Media	1060	4.2	0.97
SD	90	1.1	0.20

4.3.2.3 *Campionamento ed analisi*

Le analisi preliminari condotte hanno messo in luce una notevole disomogeneità della contaminazione da piombo e ci hanno portati ad intensificare, rispetto a quanto previsto nel progetto iniziale, il numero di campioni sui quali condurre la caratterizzazione dell'area oggetto di studio.

Distribuzione spaziale della contaminazione (metallo totale): variabilità della distribuzione superficiale

Sono stati prelevati 5 campioni di sedimento in ogni quadrante, uno al centro e gli altri quattro agli angoli; per i quadranti più esterni (A; G; P; W; X e Z), che presentano forme irregolari e presenza di ghebi e canali, è stato prelevato un campione composito, ottenuto dall'omogeneizzazione di 5 aliquote di sedimento prelevate nella parcella. I campioni sono stati prelevati fino ad una profondità di 5 cm.

Per le parcelle F, N, U e Y non è stato preso alcun campione in quanto parte di esse è occupata da un camminamento in cemento e dalle paratie di contenimento.

Su tali campioni è stata determinata la concentrazione totale di piombo, rame, arsenico e antimonio. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 39.

Tabella 39: Concentrazione totale di piombo, rame e antimONIO nei sedimenti. La concentrazione è espressa in mg kg⁻¹ p.s. Ac, Gc, Pc, Zc, Xc e Wc sono i campioni compositi dei relativi quadranti.

Quadro	Cu	Pb	As	Sb	R5	52.1	161	24.6	4.50	
Ac	675	901	28.0	12.8	S1	57.5	1680	37.2	19.6	
D1	57.2	125	35.8	1.45	S2	56.9	297	29.8	2.10	
D2	46.2	224	28.1	2.50	S	S3	48.3	279	108	4.55
D3	26.2	212	21.5	3.00	S4	44.9	162	27.0	0.10	
D4	21.5	224	20.0	1.40	S5		220	25.3	6.30	
D5	50.2	246	18.6	4.25	T1	61.2	114	25.4	0.70	
E1	47.7	463	26.4	5.85	T2	62.6	166	32.4	1.75	
E2	575	155	19.4	1.00	T	T3	60.0	67	30.0	< d.l.
E3	69.9	210	110	2.35	T4	57.9	176	29.2	4.60	
E4	38.3	184	29.0	1.85	T5	52.3	138	23.8	0.25	
E5	40.6	128	27.4	2.40	Zc	56.2	1020	30.5	14.6	
Gc	70.6	901	35.0	0.4	Xc	58.3	694	39.6	10.1	
H1	50.8	684	41.7	9.20	Wc	52.5	141	35.6	3.75	
H2	52.0	974	114	11.9						
H3	46.3	718	33.0	7.70						
H4	40.6	3890	43.0	43.2						
K1	63.4	263	39.3	3.25						
K2	48.2	199	27.1	2.25						
K3	66.9	642	38.0	9.10						
K5	58.9	177	32.7	1.60						
M1	51.7	227	31.4	2.50						
M2	51.6	146	26.8	1.65						
M3	55.8	178	146	1.80						
M4	56.3	284	37.7	7.10						
M5	72.6	293	57.3	4.00						
Pc	61.3	922	39.6	11.3						
Q1	66.0	434	29.5	5.20						
Q2	59.3	2390	48.3	33.4						
Q3	58.4	6700	72.8	137						
Q4	70.8	1070	63.0	13.5						
R1	53.2	638	24.6	10.9						
R2	65.0	828	35.2	10.4						
R3	54.9	374	28.4	8.85						
R4	53.5	306	25.7	5.00						

Tabella 40: Limiti di legge secondo il D.Lgs. 152/06. La concentrazione è espressa in mg kg⁻¹ p.s.

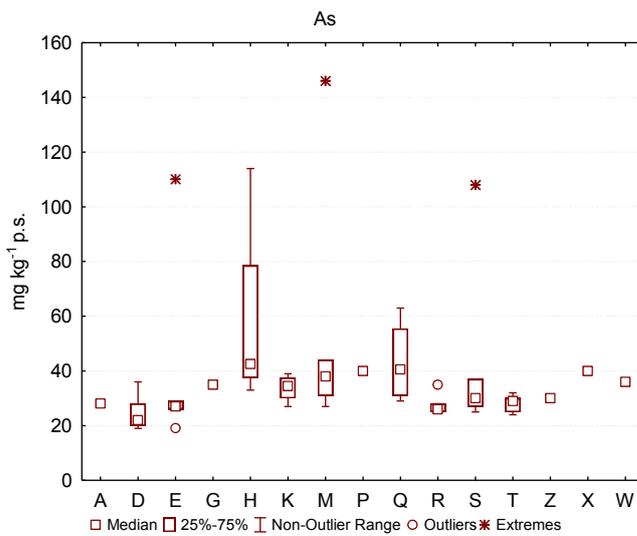
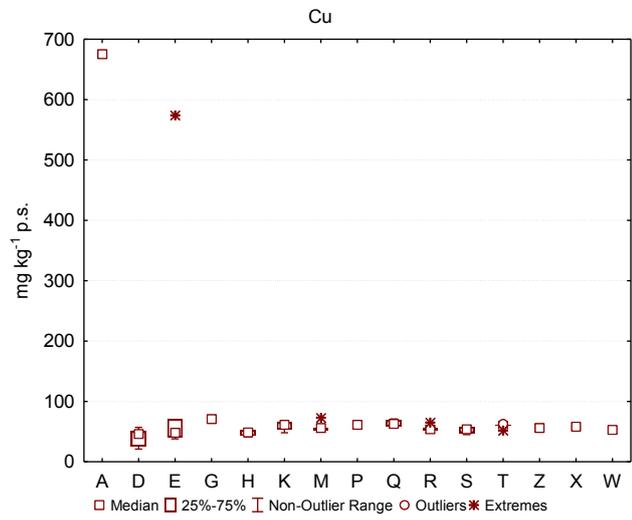
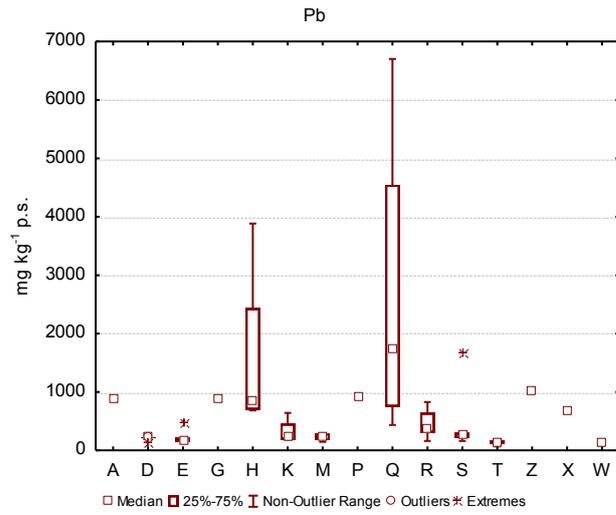
Limite di legge (D.Lgs. 152/06 Parte IV Allegato 5)		
Metallo/Metalloide	Colonna A	Colonna B
Pb	100	1000
Cu	120	600
As	20	50
Sb	10	30

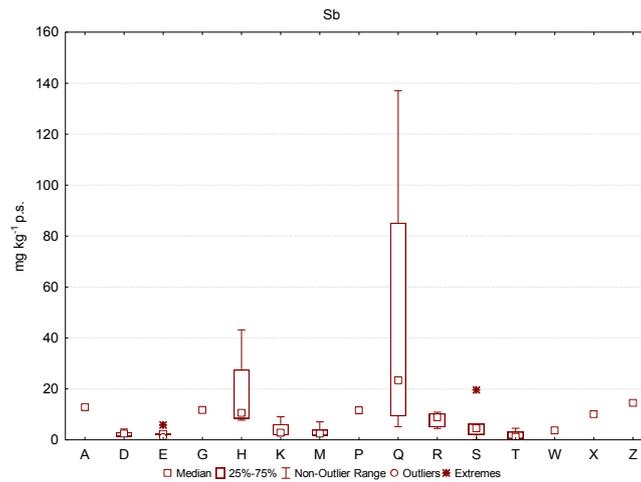
Per quanto riguarda la distribuzione superficiale della concentrazione di rame nell'area oggetto di studio, quello che evidenziano i dati in Tabella 39 è un'omogeneità nei valori riscontrati, con un valore medio intorno ai 60 mg kg⁻¹, valore molto al di sotto della concentrazione limite (120 mg kg⁻¹) considerata accettabile per i suoli destinati ad uso verde pubblico, privato e residenziale. S'individuano, tuttavia, due *hot spots* Ac ed E2, con concentrazioni di un ordine di grandezza superiore al valore medio della restante area.

L'analisi dei risultati riguardanti la distribuzione superficiale della contaminazione da antimonio evidenzia che, eccetto nei campioni H4, Q2, Q3, Q4 e S1 la concentrazione di Sb è inferiore o al massimo uguale a 10 mg kg⁻¹, valore limite accettabile per i suoli destinati ad uso verde pubblico, privato, e residenziale.

I risultati dimostrano, invece, una distribuzione superficiale della concentrazione di piombo estremamente eterogenea; i valori di concentrazione sono compresi in un intervallo che va da 100 a 6700 mg kg⁻¹, anche se è evidente, man mano che ci si allontana dall'area direttamente interessata dall'attività di tiro al volo e dalla ricaduta dei frammenti di piattello e pallottole, la tendenza della concentrazione di piombo a diminuire rapidamente. La presenza di piccoli cumuli di frammenti di piattello in alcuni punti dell'area di studio, generalmente quelli più vicini al poligono di tiro, potrebbe indicare che ci sia stato occasionalmente un trasferimento di sedimento dall'area del poligono di tiro a quella confinante: questo potrebbe spiegare la presenza degli *hot spots* rilevati nei quadranti A, G, P, S, Z ed in particolare H e Q.

4 – L'Ex Poligono di Tiro al Volo in Località Campalto





Distribuzione spaziale della contaminazione (metallo totale): variabilità della distribuzione verticale (carotaggi)

Ai fini della riqualificazione di un'area mediante tecniche di fitorisanamento, risulta di fondamentale importanza la determinazione della profondità alla quale si è diffusa la contaminazione dal momento che il primo punto di contatto tra il contaminante e la pianta avviene nell'area dell'apparato radicale. Conoscere la distribuzione verticale dell'inquinamento serve per l'identificazione della specie vegetale da impiegare che deve possedere un apparato radicale sufficientemente sviluppato per entrare in contatto con il contaminante.

Tabella 41: Concentrazione totale di piombo, rame arsenico e antimonio in cinque carote di sedimento. La concentrazione è espressa in mg kg^{-1} p.s.

	Profondità [cm]	Pb	Cu	As	Sb
Q3	0-5	5974	56.5	45.0	106
	5-10	6741	54.3	79.2	121
	10-15	42.5	34.9	33.1	3.89
	15-25	54.4	34.3	36.4	4.58
	25-35	317	20.8	28.5	1.95
	35-45	26.7	16.1	37.7	1.94
H3	0-5	1394	63.8	33.9	23.9
	5-10	232	25.8	52.5	9.06
	10-15	116	15.2	16.3	1.44
	15-25	34.0	17.1	17.1	0.95
	25-35	21.8	17.0	19.2	1.10
	35-45	20.8	21.9	32.8	1.49
M5	0-5	72.5	57.5	51.9	4.10
	5-10	234	59.9	51.4	5.78
	10-15	69.1	62.6	39.6	3.59
	15-25	51.3	46.3	90.1	2.30
	25-35	49.6	14.1	22.7	1.15
	35-45	36.3	23.3	27.8	1.40
S1	0-5	198	62.2	40.2	7.09
	5-10	206	74.0	51.7	6.14
	10-15	299	69.3	32.5	4.14
	15-25	182	42.6	35.3	2.14
	25-35	36.8	17.9	26.7	1.09
	35-45	24.4	12.8	25.7	1.30
	45-55	22.4	21.1	33.7	2.10
Pozza C	0-5	222	76.4	20.3	5.72
	5-10	174	74.7	20.9	4.94
	10-15	86.8	32.0	13.1	1.64
	15-25	24.8	18.6	17.9	0.94
	25-35	20.6	17.2	22.5	0.85

I dati riportati in tabella (Tabella 41) e i successivi grafici (Figura 59, Figura 60) della distribuzione verticale degli inquinanti mostrano che le concentrazioni più elevate si hanno nei primi 20 cm di sedimento. La natura principalmente limosa della matrice può aver contribuito ad impedire agli inquinanti di lisciviare verso il basso molto velocemente e averli mantenuti concentrati nei primi centimetri.

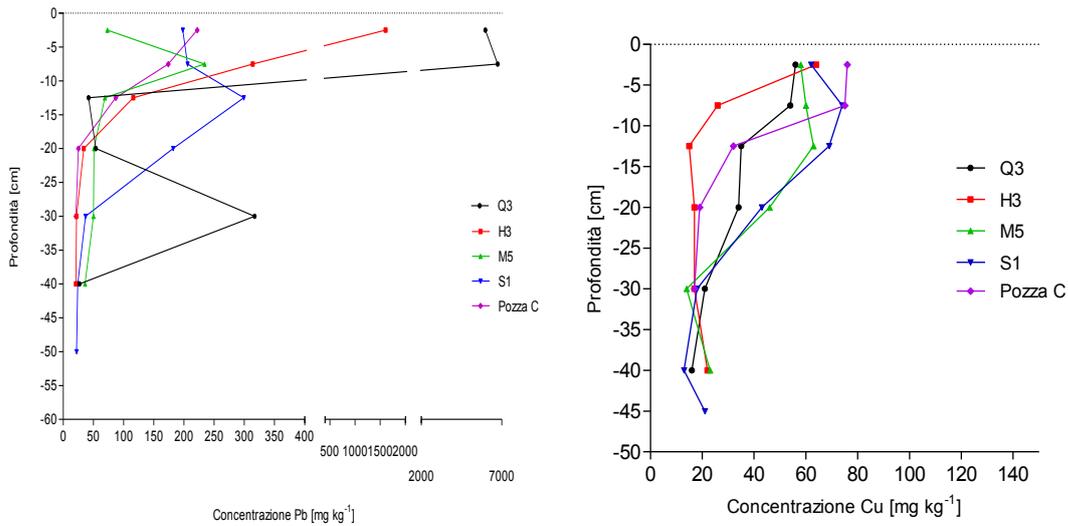


Figura 59: Distribuzione verticale della concentrazione da piombo e rame.

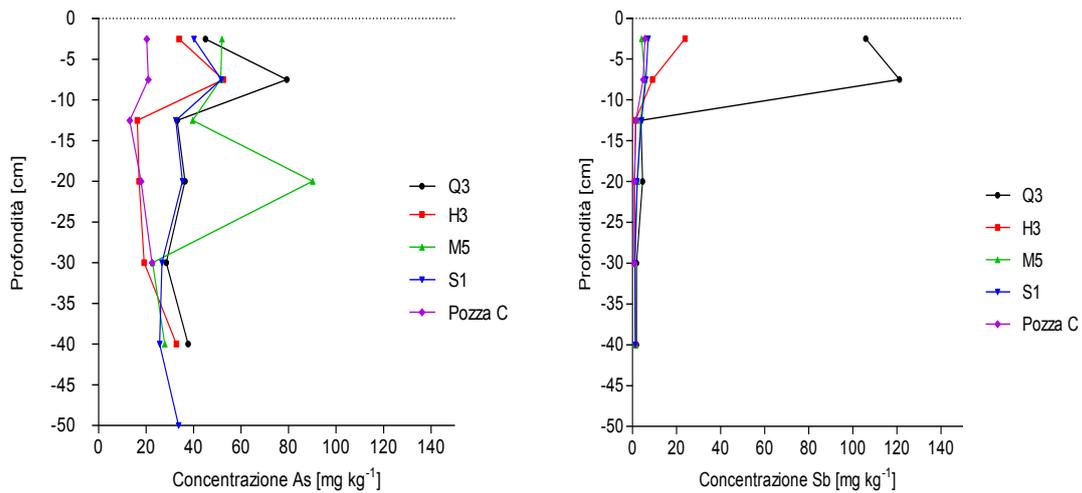


Figura 60: Distribuzione verticale della concentrazione da arsenico e antimonio

Analisi del metallo totale nel sedimento di chiari e ghebi

Sono stati analizzati campioni di sedimento prelevati lungo il bordo e al centro di chiari e ghebi (Figura 61).

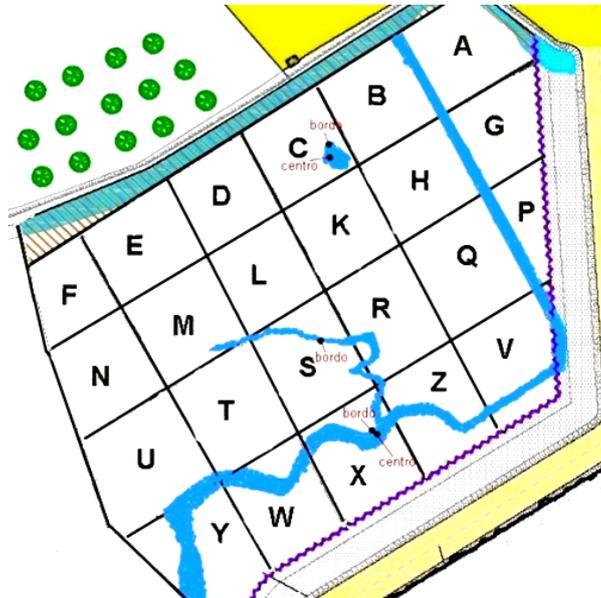


Figura 61: Punti di campionamento di ghebi e chiari

I risultati dell'analisi del metallo totale, riportati in Tabella 42, mostrano che non solo il sedimento sul bordo dei canali e della pozza d'acqua è contaminato, ma che gli elementi inquinanti sono stati trasportati anche sui sedimenti nel fondo.

Tabella 42: Concentrazione totale di piombo, rame, arsenico e antimonio nei sedimenti di chiari e ghebi.

La concentrazione è espressa in mg kg^{-1} p.s.

	Quadro	Pb	Cu	As	Sb
C	bordo	356	81.5	16.9	5.85
	centro	401	92.0	20.5	2.55
X	bordo	471	30.5	90.5	2.05
	centro	372	65.5	25.4	4.10
S	bordo	159	68.4	27.8	3.30

Riassumendo quanto finora osservato, possiamo dire che:

- i risultati delle indagini svolte sulla distribuzione superficiale delle concentrazioni di Pb, As, Cu e Sb hanno evidenziato un inquinamento diffuso di lieve entità per quanto riguarda Cu, As e Sb, nonostante tali elementi siano presenti nella lega dei pallini in percentuali che variano dal 2 al 3%. Infatti, ad eccezione di alcuni *hot spots* presenti nell'area oggetto dello studio, questi elementi presentano una distribuzione di concentrazione abbastanza omogenea, con valori medi che si mantengono al di sotto dei limiti considerati accettabili per i suoli destinati a verde pubblico, privato, e residenziali per il rame e l'antimonio e di poco superiori per l'arsenico;
- diversa è invece la situazione per quanto riguarda la contaminazione da piombo. Tale elemento risulta presente nell'area con una distribuzione di concentrazione estremamente eterogenea, con valori di concentrazione che superano anche di molto il limite di legge di 100 mg kg⁻¹, raggiungendo negli *hot spots* livelli estremamente elevati (fino a 6700 mg kg⁻¹). Campioni di sedimento prelevati in punti dell'area distanti fra loro qualche metro possono differire nelle concentrazioni anche di un ordine di grandezza. È come se la complessità e dinamicità dell'ecosistema in studio, caratterizzato da forti variazioni spaziali e temporali delle proprietà chimiche, fisiche e strutturali (differenza dei livelli di salinità, escursioni mareali, presenza di ghebi e chiari ecc.) avessero creato delle zone di deposito preferenziali dei frammenti e della polvere di piombo che hanno raggiunto l'area durante l'attività di tiro al piattello. La scarsa solubilità e mobilità dei composti del piombo (principalmente carbonati e solfati) potrebbero aver contribuito a consolidare la distribuzione eterogenea di tale elemento nell'area, che fra l'altro sembra essere stata accentuata da occasionali eventi di disturbo antropico. Infatti, nelle zone a più alte concentrazioni di contaminanti, la contemporanea presenza di visibili frammenti di piattelli fa presupporre che in qualche momento vi sia stato un travaso di suolo dall'area soggetta alla ricaduta diretta delle pallottole e dei frammenti di piattello all'area adiacente oggetto di questo studio.

Speciazione geochimica e mobilità dei metalli

La speciazione geochimica è stata condotta su cinque campioni appartenenti a range di concentrazioni di piombo diverse. I risultati sono riportati in Tabella 43.

Tabella 43: Risultati della speciazione geochimica. I valori sono espressi in mg kg⁻¹ p.s.

Fasi	Campioni	Pb	Cu	As	Sb
I^a	K3	13.9	0.82	0.34	0.25
	Gc	34.0	1.35	0.63	0.56
	M5	2.70	0.84	0.14	0.30
	Q3	328	0.36	1.09	7.28
	S1	50.0	0.48	0.29	0.78
II^a	K3	108	0.49	2.27	0.81
	Gc	342	1.26	1.72	1.51
	M5	58.6	1.27	0.88	0.75
	Q3	2250	0.24	3.63	8.38
	S1	415	0.33	1.88	1.73
III^a a	K3	79.0	0.80	9.33	1.93
	Gc	187	1.33	11.0	< d.l.
	M5	52.0	1.82	10.6	< d.l.
	Q3	1510	0.72	27.3	20.0
	S1	352	0.75	16.3	3.87
III^a b	K3	254	3.98	16.6	1.81
	Gc	173	4.49	11.1	3.21
	M5	86.0	1.67	19.0	1.26
	Q3	1180	1.81	16.0	24.9
	S1	417	3.68	12.4	3.64
III^a c	K3	30	3.06	1.44	0.59
	Gc	20	0.64	0.76	0.66
	M5	7	3.09	0.63	< d.l.
	Q3	126	0.73	1.11	11.7
	S1	47	0.37	0.43	0.29
IV^a	K3	24.1	23.1	0.18	0.49
	Gc	29.0	24.2	0.84	3.66
	M5	31.2	38.6	0.86	1.41
	Q3	63.3	23.1	1.93	13.5
	S1	36.5	21.5	0.42	2.22

4 – L'Ex Poligono di Tiro al Volo in Località Campalto

Fasi	Campioni	Pb	Cu	As	Sb
V ^a	K3	67.9	39.3	1.59	4.15
	Gc	116	37.3	0.38	< d.l.
	M5	18.9	21.4	3.31	< d.l.
	Q3	1380	29.1	11.9	50.0
	S1	262	30.1	6.70	8.64
Somma	K3	577	71.5	28.2	10.0
	Gc	902	70.6	27.3	9.61
	M5	257	68.7	34.6	3.72
	Q3	6850	56.0	55.6	136
	S1	1580	57.2	35.1	20.9
Totale	K3	642	66.9	29.6	9.10
	Gc	901	72.1	28.5	11.7
	M5	293	72.6	35.0	4.00
	Q3	6700	58.4	58.4	137
	S1	1680	57.5	37.9	19.6

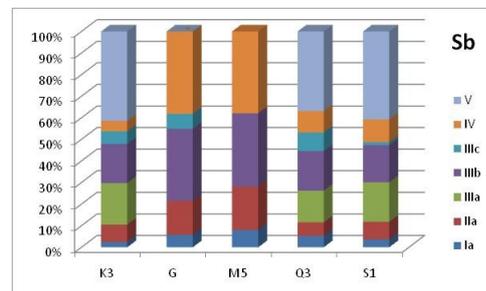
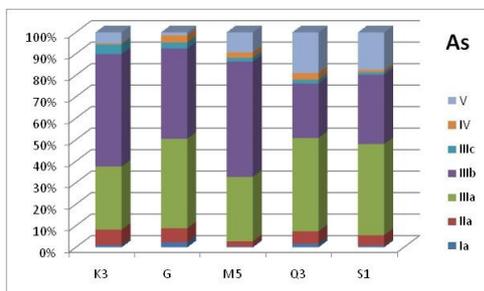
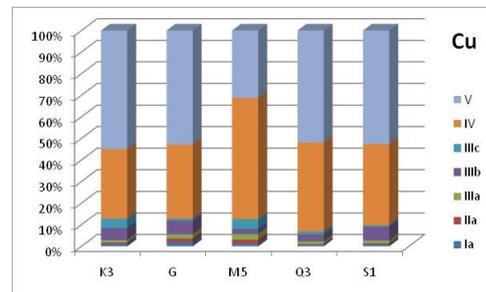
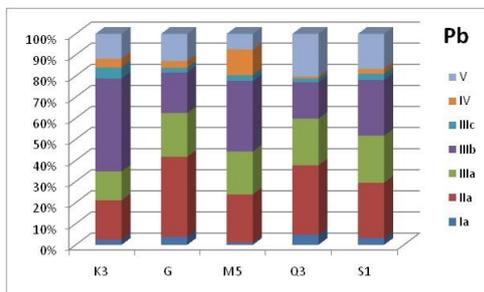


Figura 62: Distribuzione percentuale del piombo, del rame, dell'arsenico e dell'antimonio nelle varie fasi della speciazione geochemica.

- *1^a Fase. Metallo scambiabile.* Nella prima fase, caratterizzata dalla frazione di elemento direttamente scambiabile, e quindi fitodisponibile, le quantità di elementi misurate arrivano fino al 5-9 % del totale per il piombo e l'antimonio, mentre presentano percentuali inferiori l'arsenico e il rame (1-2 % del totale).

- *2^a Fase. Metallo legato ai carbonati.* La seconda fase è caratterizzata dalla frazione di metallo legata ai carbonati, i quali sono un'importante forma associativa per i metalli data anche la loro abbondanza in natura. Tale frazione di metallo si solubilizza in condizioni leggermente acide (pH intorno a 4.8). Le quantità di metalli misurate in questa fase aumentano rispetto alla fase precedente, tranne che per il rame. Rispetto alla quantità totale di metallo presente, il metallo che presenta la frazione scambiabile maggiore è il Pb (25-35 %) seguito da Sb con circa il 10 %, e As con circa il 5 %.

- *3^a Fase. Metallo legato agli ossidi e idrossidi di ferro e manganese.* Rispetto alle fasi precedenti la terza fase presenta quantità elevate per arsenico, piombo e antimonio, mentre per il rame le quantità misurate sono molto basse. Alla terza fase corrisponde la frazione di metalli legata agli ossidi e idrossidi di ferro e manganese i quali, in condizioni anaerobiche, passano da forme ossidate a forme ridotte, cioè il loro stato di ossidazione passa da Fe^{3+} e Mn^{4+} , insolubili, a Fe^{2+} e Mn^{2+} , solubili. Ciò comporta la solubilizzazione dei metalli/metalloidi associati a tali ossidi/idrossidi che possono diventare così disponibili. C'è da considerare che la possibilità di rilascio dei metalli e metalloidi dipenda anche dal grado di cristallinità dei relativi componenti mineralogici: infatti il Fe e il Mn degli ossidi amorfi si riducono molto più facilmente e rapidamente di quelli a struttura cristallina, in condizioni riducenti. Entrando in dettaglio, il primo step della terza fase estrae quasi completamente la frazione legata agli ossidi/idrossidi di manganese, oltre agli ossidi di ferro amorfi più labili. In corrispondenza di questo primo step le

percentuali di metallo estratto più elevate sono state riscontrate per As, seguito da Pb e Sb mentre quelle più basse riguardano il Cu. Infatti, rispetto alla quantità totale di metallo, l'As presenta una percentuale intorno al 30 %, il Pb del 20 % circa, Sb del 15-20 %. Il secondo step della terza fase estrae la frazione metallica legata agli ossidi di ferro amorfi e/o a basso grado di cristallinità. Le percentuali di metallo estratto più elevate sono state riscontrate per As, Pb e Sb. Rispetto alla quantità totale di metallo, la percentuale di As è dal 40 al 50 %, mentre per il Pb varia dal 20 al 40 %. Anche l'antimonio presenta valori alti, in particolare ha di media una percentuale del 25 %; mentre il rame presenta una percentuale inferiore al 5 %. Nel terzo step della terza fase si riescono a ridurre anche gli ossidi/idrossidi di ferro cristallini più resistenti, e per tutti i metalli le percentuali di estrazione risultano basse. La terza fase, dunque, può essere considerata la fase associativa preferenziale per quanto riguarda i metalli/metalloidi potenzialmente scambiabili, ad eccezione del rame che è presente principalmente nelle frazioni successive. Data la facilità con cui la barena passa da condizioni aerobiche ad anaerobiche, questa è la frazione più pericolosa per la salute degli organismi

– *4^a Fase. Metallo legato alla materia organica e ai solfuri.* Con la quarta fase si estrae la frazione di metalli/metalloidi associata alla materia organica e ai solfuri. In condizioni ossidanti, la materia organica può essere degradata ed i solfuri ossidati a solfati, permettendo così il rilascio dei metalli. Le percentuali di metallo estratto più elevate in questa fase sono state riscontrate per il rame e in due campioni (M5 e G_c) per l'antimonio, mentre per gli altri elementi le concentrazioni risultano basse. Rispetto al totale, il metallo maggiormente estratto è il rame con percentuali intorno al 20-30 %. La materia organica è costituita da sostanze umiche che dovrebbero chelare i metalli. La percentuale relativamente alta del rame, dunque, è da ricondursi al fatto che questo metallo ha un'elevata capacità di formare complessi chelati stabili con gli acidi umici [Kerndorff and Schnitzer, 1980].

– *5^a Fase. Metallo residuale.* La fase residuale contiene la frazione di metalli legati come impurezze all'interno della struttura reticolare dei minerali detritici e/o sali e ossidi particolarmente resistenti e insolubili. Le percentuali di metallo estratto più elevate in questa fase sono state riscontrate per rame e tre campioni dell'antimonio (K3, S1 e Q3), mentre valori minori riguardano Pb e As. Rispetto al totale Cu e Sb sono estratti con percentuali anche superiori al 50 %; mentre per l'As e il Pb sono inferiori al 20 %. In condizioni ambientali normali tali metalli non sono rilasciati e di conseguenza non sono disponibili: maggiore è la quantità di metallo presente in tale fase, minore è il rischio ecologico-sanitario legato alla sua presenza nell'ambiente.

I risultati ottenuti dallo studio di speciazione geochimica permettono di trarre importanti conclusioni sulla mobilità e biodisponibilità degli elementi considerati ed in particolare del piombo che è l'elemento più abbondante e presente in quantità pericolose per gli organismi dell'ecosistema. Il piombo risulta associato per circa il 55 % agli ossidi/idrossidi di ferro e manganese, prevalentemente a quelli amorfi, e per il 22 % ai carbonati, mentre il restante 15 % alla frazione organica e ai solfuri. Quindi circa il 92 % del piombo presente nel sedimento può essere potenzialmente mobilizzato e reso, in tempi più o meno lunghi, fitodisponibile in condizioni di anaerobiosi, di abbassamento del pH e di degradazioni ossidative che possono verificarsi frequentemente nell'ecosistema in studio.

Rilevanti sono i dati ottenuti sulla frazione di piombo associata alla prima fase, cioè sulla frazione di metallo direttamente fitodisponibile. I risultati dimostrano che tale frazione aumenta in maniera quasi esponenziale all'aumentare della concentrazione totale del metallo nel sedimento, raggiungendo livelli tali da costituire un serio rischio per l'ecosistema e per gli organismi in esso presenti.

Per quanto riguarda Cu, As e Sb i risultati ottenuti dallo studio di speciazione geochimica confermano quanto rilevato in studi analoghi, e cioè che il rame risulta preferenzialmente associato alla sostanza organica e alla frazione residuale, che l'arsenico risulta quasi

completamente associato agli ossidi/idrossidi amorfi di ferro e manganese, e l'antimonio risulta ripartito principalmente fra la terza fase (ossidi/idrossidi amorfi di Fe e Mn) e la frazione residuale. Data la lieve entità dell'inquinamento, tali elementi non sembrano costituire un serio rischio per l'ecosistema.

4.4 Analisi delle specie vegetali

Il Progetto esecutivo generale per la bonifica dell'area "ex tiro al piattello" in località Campalto (VE) proposto dal Consorzio Venezia Nuova, ente con la collaborazione del quale è stata sviluppata questa ricerca, prevedeva, nelle zone a minor concentrazione di inquinanti, confinanti con l'area soggetta alla diretta ricaduta dei pallini, un intervento di fitoestrazione, come previsto dalla normativa vigente che predilige interventi di bonifica *in situ*.

Data l'estrema rarità e particolarità dell'ecosistema naturale oggetto dello studio e il delicato equilibrio che lo caratterizza, il progetto prevedeva di impiegare, nell'eventuale applicazione di una tecnologia di fitorimediazione, esclusivamente specie alofile autoctone, già presenti nella laguna veneta.

In primo luogo si sono, quindi, indagate le specie vegetali predominanti nell'area e riconosciute come *Spartina maritima* (Curtis) Fernald, *Salicornia glauca* (Grapèie), *Puccinellia palustris* (Seen.) Hayek, *Limonium serotinum* (Rechb.) Pignatelli (Figura 63).

Queste specie non colonizzano casualmente la superficie della barena, ma prediligono e vivono in zone ben definite (fenomeno della zonazione). Ai margini della barena cresce la vegetazione alofita stagionale, prevalentemente la *Salicornia sp.*; lungo i bordi dei ghebi e dei canali cresce la *Puccinellia palustris*; lungo i margini delle barene dove il suolo è più degradato verso la velma o il bassofondo e nelle zone interne in vicinanza di chiari, si trova la specie più resistente a periodi prolungati di sommersione, la *Spartina*; mentre la fascia più interna, adiacente alla gengiva e meno elevata rispetto ad essa, ospita il *Limonium* [Silvestri, 2000].



Figura 63. Puccinellia palustris, Spartina maritima, Limonium serotinum e Salicornia glauca

Sono state condotte due campagne di campionamento una nell'estate 2008 e l'altra nella primavera 2009 e le analisi condotte hanno riguardato la determinazione di Pb, Cu, As e Sb:

- nella rizosfera (sedimento nell'intorno delle radici);
- nella parte radicale;
- nella parte epigea.

Le analisi sono state condotte al fine di valutare la capacità di queste specie vegetali di bioaccumulare gli elementi di interesse e la loro capacità di traslocarli dalla parte radicale alla parte aerea della pianta.

Per fare ciò ci si è avvalsi di due parametri utilizzati in letteratura per considerare la potenzialità delle specie studiate ai fini della fitoestrazione o della fitostabilizzazione; tali parametri esprimono la capacità di bioaccumulo e la capacità di traslocazione dei metalli/metalloidi verso le porzioni aeree della pianta.

La capacità di bioaccumulo dei metalli/metalloidi considerati è stata valutata tramite il calcolo del fattore di bioaccumulo (BAF), definito come *concentrazione di metallo nella pianta ($mg\ kg^{-1}$) su concentrazione di metallo nel substrato ($mg\ kg^{-1}$)* [Youn-Joo An, 2003].

La capacità di traslocare i metalli verso le porzioni aeree è stata valutata mediante il calcolo del fattore di traslocazione, TF, definito come *concentrazione di metallo nella parte aerea ($mg\ kg^{-1}$) su concentrazione di metallo nelle radici ($mg\ kg^{-1}$)* [Rizzi *et al.*, 2004].

4.4.1 Campagna Estate 2008

Nella Tabella 44 e nella

Tabella 45 sono riportate le concentrazioni di Pb, Cu, As e Sb determinate nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte aerea delle specie di *Salicornia glauca*, *Spartina maritima*, *Limonium serotinum* e *Puccinellia palustris* campionate nell'estate 2008.

Tabella 44: Concentrazioni di piombo e rame nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte epigea. La concentrazione è espressa in $mg\ kg^{-1}$ p.s.

Specie vegetale	Quadro	Pb			Cu		
		Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea	Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea
<i>Salicornia glauca</i>	B	139	207	1.09	16.7	12.6	4.41
	C	145	203	0.60	75.1	12.1	3.60
	L	211	129	0.26	53.2	9.65	2.76
	U	193	24.8	0.26	77.2	14.2	3.65
<i>Spartina maritima</i>	B	486	143	1.60	109	24.7	9.41
	C	561	538	1.43	93.0	68.1	8.46
	L	301	126	0.98	95.6	29.4	5.56
<i>Limonium serotinum</i>	B	249	411	1.94	21.2	20.3	5.88
	L	211	145	0.56	53.2	13.3	4.00
<i>Puccinellia palustris</i>	L	200	138	0.48	63.8	23.3	2.05
	U	126	58.9	0.55	74.5	40.7	5.06

Tabella 45: Concentrazioni di arsenico e antimonio nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte epigea. La concentrazione è espressa in mg kg⁻¹ p.s.

Specie vegetale	Quadro	As			Sb		
		Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea	Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea
<i>Salicornia glauca</i>	B	72.5	3.47	0.47	4.00	2.05	0.13
	C	31.3	19.7	0.36	18.5	1.59	0.07
	L	29.2	29.2	0.36	4.23	1.07	0.07
	U	27.4	18.4	0.38	2.40	1.12	0.07
<i>Spartina maritima</i>	B	34.9	3.12	0.02	8.03	2.87	0.07
	C	28.2	92.7	0.26	6.08	3.11	0.06
	L	34.8	24.4	0.16	5.78	1.39	0.09
<i>Limonium serotinum</i>	B	20.0	5.33	0.27	6.74	5.38	0.10
	L	n.d.	21.9	0.24	n.d.	1.83	0.07
<i>Puccinellia palustris</i>	L	37.9	27.3	< d.l.	8.18	1.38	0.06
	U	29.6	15.2	0.07	1.49	0.87	0.06

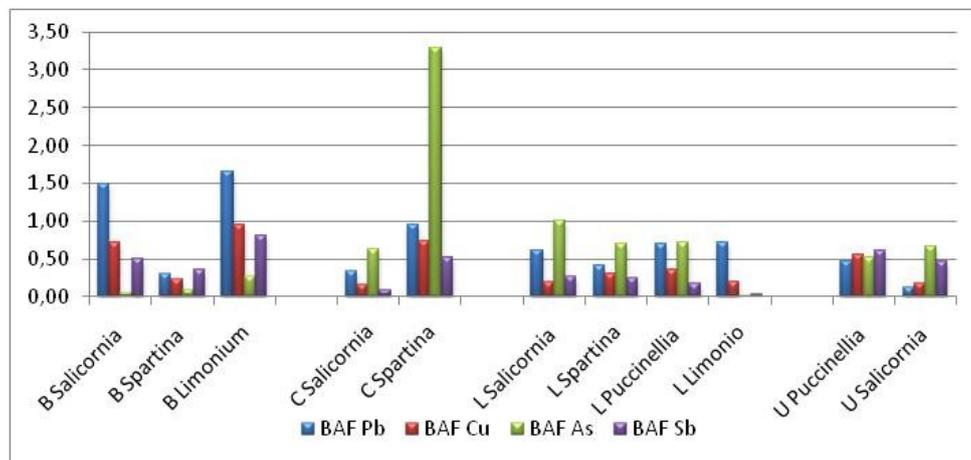


Figura 64: Fattore di bioaccumulo nelle radici.

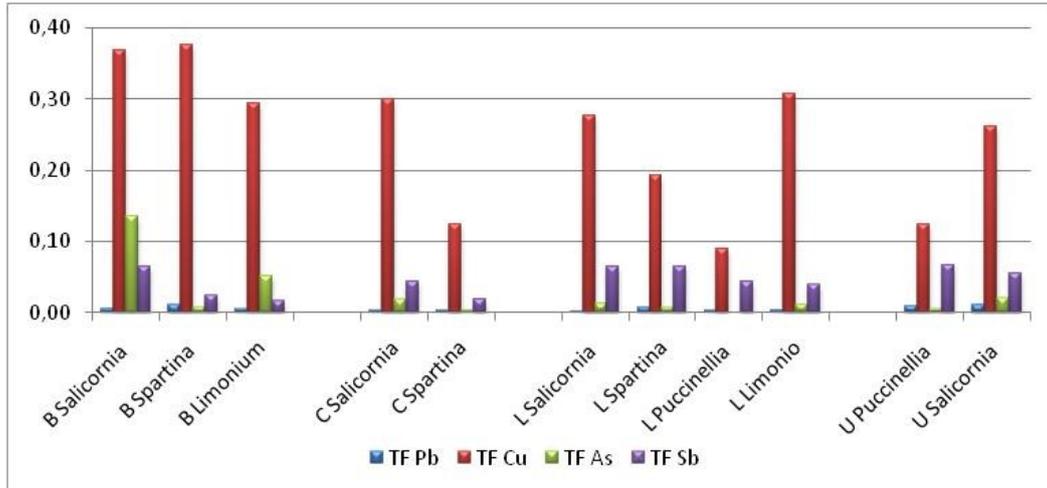


Figura 65: Fattore di traslocazione.

4.4.2 Campagna Primavera 2009

Nella Tabella 46 e nella Tabella 47 sono riportate le concentrazioni di Pb, Cu, As e Sb determinate nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte aerea delle specie di *Salicornia glauca* e *Limonium serotinum* campionate nella primavera 2009.

Tabella 46: Concentrazioni di piombo e rame nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte epigea. La concentrazione è espressa in mg kg^{-1} p.s.

Specie vegetale	Quadro	Pb			Cu		
		Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea	Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea
<i>Salicornia glauca</i>	Q	609	255	20.7	27.9	10.9	12.5
	S	46.4	60.2	3.98	30.1	14.7	8.02
	H	215	375	8.89	29.4	20.9	7.36
<i>Limonium serotinum</i>	Q	420	42.9	3.96	30.1	15.8	5.94
	S	161	63.9	1.98	32.0	13.2	5.08
	H	367	45.9	2.78	32.9	43.6	6.48

Tabella 47: Concentrazioni di arsenico e antimonio nella rizosfera, nella parte radicale e nella parte epigea. La concentrazione è espressa in mg kg^{-1} p.s.

Specie vegetale	Quadro	As			Sb		
		Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea	Rizosfera	Parte radicale	Parte epigea
<i>Salicornia glauca</i>	Q	26.1	8.47	3.04	18.3	1.71	0.33
	S	25.9	11.2	1.01	3.94	0.86	0.10
	H	26.4	12.2	1.36	7.26	2.39	0.08
<i>Limonium serotinum</i>	Q	25.3	1.77	0.70	14.2	0.33	0.08
	S	22.8	16.6	0.52	7.60	1.56	0.08
	H	52.2	3.00	0.63	12.5	0.53	0.15

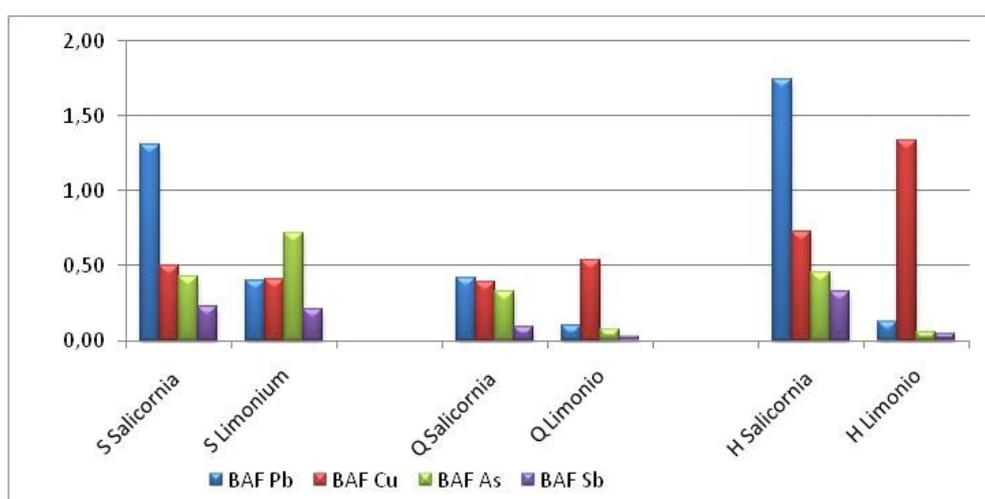


Figura 66: Fattore di bioaccumulo nelle radici.

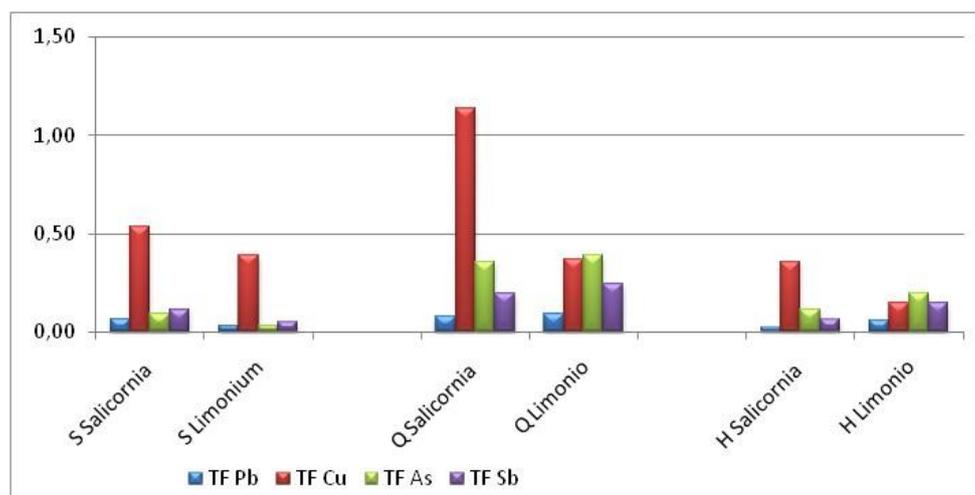


Figura 67: Fattore di traslocazione.

In linea generale, secondo anche quanto già riportato in letteratura, una specie si può considerare traslocatrice quando ha un $TF > 1$ e quindi essere impiegata per la fitoestrazione; mentre più basso è il fattore di traslocazione, più la specie può essere considerata una candidata per le tecniche di fitostabilizzazione.

I valori del fattore di traslocazione calcolati per le alofite di nostro interesse sono inferiori a 1 per tutti i metalli ed i più alti valori si osservano per il rame, che risulta presente nella parte aerea in concentrazione maggiore rispetto agli altri metalli/metalloidi in quanto tale elemento è un costituente fisiologico dei tessuti vegetali. I valori del fattore di bioaccumulo sono altrettanto bassi, il valore massimo raggiunto si aggira attorno a 2. Risulta quindi che le specie autoctone presenti nell'area non possono essere impiegate per il fitorisamento da Pb dell'area stessa.

Lo studio condotto sulle concentrazioni di piombo, rame, arsenico e antimonio nelle quattro principali specie vegetali presenti nell'area oggetto dello studio ha dimostrato che esse si comportano come piante escluditrici, cioè piante che mantengono tutte le concentrazioni degli elementi nelle parti aeree costanti e basse rispetto a quelle presenti nelle radici. Si può supporre che i metalli, una volta assorbiti dalle radici, vengano complessati da sostanze chelanti, tipo metallotioneine e fitochelatine, e sequestrati come tali dentro i vacuoli delle cellule radicali. In questo modo le piante limitano o addirittura bloccano il trasporto dell'elemento tossico dalle radici alle parti aeree, prevenendo l'instaurarsi di danni irreversibili che potrebbero portare alla morte della pianta stessa: si tratterebbe quindi di un vero e proprio meccanismo di detossificazione intracellulare.

Diventa quindi interessante verificare, mediante sperimentazioni di laboratorio in vaso in condizioni controllate e sperimentazioni direttamente in campo, se sia possibile bypassare il meccanismo di detossificazione che probabilmente opera in queste specie vegetali, ad esempio mediante l'aggiunta di agenti chelanti naturali (acido citrico) e/o sintetici facilmente biodegradabili (NTA). In questo modo si potrebbe aumentare l'assorbimento del piombo dal sedimento e favorire la sua traslocazione verso le parti aeree delle piante, rendendo così

interessante l'utilizzo di queste piante per il risanamento dell'area mediante la tecnica di *phytoremediation*.

4.5 Estrazioni con chelanti

Nel suolo i metalli pesanti sono presenti in varie forme chimiche che generalmente mostrano comportamenti differenti in termini di interazioni chimiche, mobilità, biodisponibilità e potenziale tossicità [Lešta *et al.*, 2008]. Sono principalmente associati alla frazione organica, agli ossidi e alla frazione residuale del suolo presentando così una scarsa mobilità, una bassa degradabilità e una persistenza nel suolo per decenni o anche per secoli [Neugschwandtner *et al.*, 2008].

L'escavazione e lo smaltimento in discarica del suolo contaminato non può essere considerata una soluzione permanente. Alcune tecnologie come il *soil washing*, che impiega l'acqua per separare i componenti fini del suolo (argilla e limo) dai componenti grossolani (ghiaia e sabbia) in un processo meccanico [Arwidsson *et al.*, 2010] e l'estrazione chimica con soluzioni acquose di surfattanti e acidi, sono già in uso su scala industriale, mentre la ricerca di nuove tecniche di trattamento del suolo a basso costo, efficienti e ambientalmente sostenibili è in forte sviluppo. Le tecnologie attualmente in fase di studio sono il *soil washing* chelanti-assistito e la fitoestrazione indotta [Lešta *et al.*, 2008].

I chelanti sono in grado di desorbire i metalli dalla fase solida del suolo formando complessi fortemente solubili in acqua, che possono essere rimossi dal suolo dalle piante mediante fitoestrazione indotta o usando le tecniche di *soil washing*. Molteplici sono gli agenti chelanti che possono essere impiegati: EDTA, DTPA, NTA, EDDS, acido citrico, acido maleico; l'efficienza di estrazione, in termini di cinetica ed efficienza di rimozione, dipende da un numero di fattori che includono il tipo, la concentrazione, la forma chimica del metallo nel materiale solido e la tenacia del legame con esso, la selettività dell'agente chelante impiegato

verso il metallo target, nonché le condizioni della soluzione di lavaggio (pH, Eh, concentrazione del chelante, forza ionica, presenza di specie competitive). Un agente chelante ideale dovrebbe dimostrare un'elevata efficienza di estrazione, un'elevata selettività verso i contaminanti target, un'alta solubilità e stabilità termodinamica dei complessi metallici formati, nonché una bassa tendenza all'adsorbimento delle forme complessate e non complessate sulle componenti solide della matrice suolo [Polettini et al., 2007].

L'applicazione di tecniche che impiegano agenti chelanti in campo richiede un'ottimizzazione della procedura (irrigazione, modi e tempi di applicazione del chelante) perché questi composti hanno un impatto sulle proprietà chimico-fisiche e microbiologiche dei suoli, e quindi sulla loro fertilità e sulle acque di falda (rischio di lisciviazione dei metalli complessati e dell'eccesso di chelante) [Sacchi *et al.*, 2001]. L'EDTA è considerato il chelante più efficiente nell'estrarre i metalli da suoli contaminati, ma la sua bassa biodegradabilità e buona mobilità nel suolo non lo rendono la scelta più idonea per le applicazioni in campo. Negli ultimi anni la ricerca si è orientata verso agenti chelanti più facilmente biodegradabili come l'NTA (nitriloacetato), l'[S,S]-EDDS (acido S,S-etilen diamminodisuccinico), l'MGDA (acido metilglicendiacetico) e altri [Lešta *et al.*, 2008; Arwidsson *et al.*, 2010].

Studi riportati in letteratura dimostrano come l'EDDS, nonostante mostri una minore efficienza dell'EDTA nel favorire la solubilizzazione del piombo del suolo (EDTA ha una forte affinità per Pb), formi dei complessi forti con i metalli di transizione e i radionuclidi, provochi un minor leaching del Pb e sia meno tossico per i microrganismi del suolo [Elpe *et al.*, 2008].

Sulla base delle considerazioni fatte sull'uso di agenti chelanti nel risanamento di suoli contaminati da metalli e sulla base dei risultati ottenuti dalla caratterizzazione dell'area di studio (elevata disomogeneità della contaminazione con presenza di *hot spots*, contaminazione limitata ai primi 15 cm di suolo e buon accumulo dei metalli nelle radici di alcune piante autoctone), si è pensato di effettuare alcune prove esplorative di estrazione assistita con chelanti su un campione di sedimento dell'area di studio per valutare la possibilità di applicare, in combinazione, la

tecnica di *soil washing* nei punti a più elevata concentrazione di inquinanti, e la fitoestrazione assistita dove le concentrazioni di inquinanti sono medio-basse.

In una prima prova preliminare come agenti chelanti sono stati impiegati l'acido citrico, l'EDTA, il DTPA e l'NTA. I dati riportati in Tabella 48 evidenziano che l'EDTA, il DTPA e l'NTA hanno la stessa efficacia di chelazione, ossia sono in grado di portare in soluzione la stessa quantità di metallo pesante.

Tabella 48. Concentrazioni e relative percentuali di Pb, Cu, As e Sb estratte con i diversi chelanti. Le concentrazioni sono espresse in mg kg^{-1} p.s.

Estraente	Pb	% Pb estratto	Cu	% Cu estratto	As	% As estratto	Sb	% Sb estratto
H₂O	4.20	0.2	1.00	1.7	0.75	2.0	0.43	2.2
Ac. citrico	25.7	1.5	2.00	3.5	2.14	5.7	0.83	4.1
EDTA	957	57	20.0	35	1.41	3.7	1.37	7.1
DTPA	958	57	22.0	39	1.69	4.5	1.19	6.1
NTA	922	55	15.0	26	1.53	4.0	1.01	5.1

La concentrazione di metallo totale nel campione di partenza era di 1684 mg kg^{-1} p.s. per Pb, 57 mg kg^{-1} p.s. per Cu, 37 mg kg^{-1} p.s. per As e 20 mg kg^{-1} p.s. per Sb. Condizioni operative: agente chelante 200 mmol kg^{-1} a pH 7; rapporto soluzione/suolo: 20/1; tempo di agitazione: 120 min a 150 rpm; centrifugazione: 15 min a 6000 rpm.

Sulla base dei risultati ottenuti da questa prima prova preliminare, sono state condotte ulteriori prove di estrazione del solo piombo con EDTA, DTPA e EDDS variando il tempo di estrazione (1, 2 e 7 giorni) e le concentrazioni dei chelanti (5, 10, 100 e 200 mmol kg^{-1}).

Quello che chiaramente si vede dal confronto tra i grafici in Figura 68 e quelli in Figura 69, è che concentrazioni di chelante più elevate riescono ad estrarre la totalità del piombo (537 mg kg^{-1} p.s.) presente nel campione di sedimento contaminato.

Confrontando, invece, per una stessa concentrazione di chelante, i due diversi tempi di trattamento, sembra esserci una leggera diminuzione nella quantità di metallo estratto, più

evidente per la concentrazione di 10 mmol kg⁻¹ rispetto a quella 5 mmol kg⁻¹ e visibile in entrambe per i trattamenti a 100 e 200 mmol kg⁻¹, forse per il più lungo tempo di trattamento (7 giorni). Questo può essere spiegato, come riportato in letteratura, con il fatto che già dopo 24 ore di trattamento si raggiunge un equilibrio termodinamico [Manouchehri *et al.*, 2006].

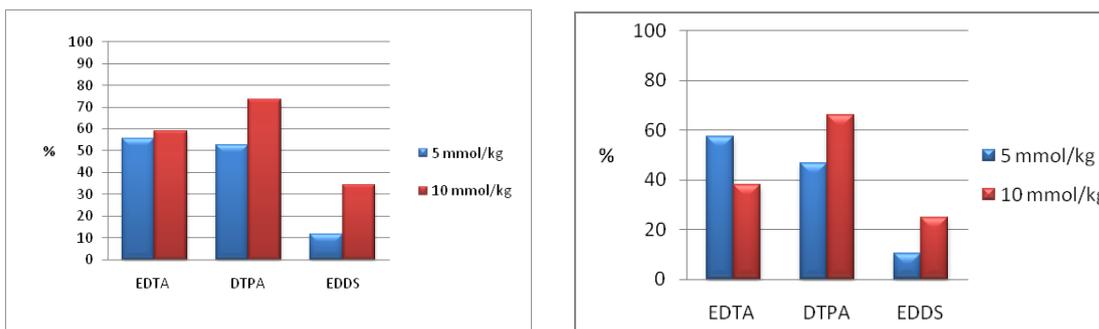


Figura 68. Percentuale di estrazione del piombo dopo 1 e 2 giorni di trattamento.

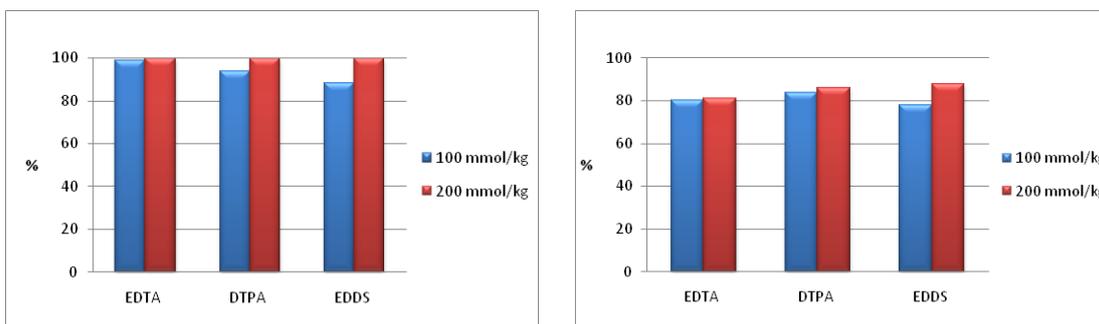


Figura 69. Percentuale di estrazione del piombo dopo 1 e 7 giorni di trattamento.

Per quanto riguarda il diverso comportamento dei tre chelanti in esame nei confronti dell'estrazione del piombo, l'ordine di efficacia è, a basse concentrazioni EDTA > DTPA > EDDS; a concentrazioni più elevate, diventa DTPA > EDTA > EDDS. La minor efficienza di estrazione dell'EDDS, può essere attribuita alla sua elevata degradabilità; alcuni lavori riportano tempi di semi-vita di 24 ore [Epelde *et al.*, 2008].

4.6 Conclusioni

I risultati dello studio indicano chiaramente l'impossibilità di realizzare il fitorisanamento dell'area con le specie vegetali autoctone presenti nella barena.

Le considerazioni che portano a questa conclusione sono varie:

- le specie vegetali presenti hanno dimostrato di possedere per il Pb fattori di traslocazione molto inferiori a 1;
- i fattori di bioaccumulo nelle radici nelle situazioni più favorevoli si aggirano intorno ad uno, generalmente sono inferiori a 1;
- le diverse specie vegetali presentano una limitata biomassa vegetale;
- la zonazione delle diverse alofite presenti nella barena richiederebbe l'utilizzo contemporaneo di più specie vegetali per la fitoestrazione, ammesso di riuscire ad incrementare la fitodisponibilità del Pb ed i fattori di bioaccumulo e traslocazione (ad esempio con la fitoestrazione assistita mediante l'uso di chelanti) in modo tale da riuscire a riportare, in tempi e con costi ragionevoli, i livelli di Pb, se non al di sotto, almeno vicino ai valori presenti nelle barene non contaminate.

Un globale ed approfondito esame dei risultati ottenuti suggerisce che l'obiettivo di risanamento dell'area potrebbe essere raggiunto solo attraverso una strategia di intervento articolata sulla tipologia di inquinamento presente (eterogeneità di distribuzione, presenza di *hot spots*), sulle caratteristiche chimico-fisiche del metallo, sulla selezione di specie vegetali autoctone fisiologicamente idonee alla fitoestrazione assistita, sulle caratteristiche morfologiche, chimico-fisiche ed ecologiche della matrice.

Malgrado i pallini contengano, oltre al Pb, anche As, Cu e Sb in percentuali che variano dal 2 al 3 %, l'elemento che risulta essere presente in concentrazioni tali da comportare rischio ambientale è solo il Pb, As, Cu e Sb, infatti, presentano valori medi che si mantengono sotto i

limiti considerati accettabili per i suoli destinati a verde pubblico, privato, e residenziali per il rame e l'antimonio e di poco superiori per l'arsenico. Evidentemente, data la maggiore mobilità dei tre elementi rispetto al Pb, il dilavamento continuo cui è stata soggetta l'area ad opera della marea, una volta cessata l'attività di tiro al volo, ha contribuito ad attenuare notevolmente la contaminazione di As, Sb e Cu, disperdendo tali elementi nella massa d'acqua adiacente l'area. Al contrario, la maggior abbondanza e la scarsa solubilità dei minerali di Pb (principalmente carbonati e solfati), hanno attenuato il processo di dilavamento per il Pb, che ha mantenuto nel tempo alti livelli.

Tuttavia, i risultati ottenuti dalle analisi di speciazione geochemica dimostrano che in media il 90 % del Pb, in opportune condizioni di pH e redox, può essere mobilizzato e reso fitodisponibile, rendendo così possibile il potenziale utilizzo della fitoestrazione assistita per il risanamento dell'area da Pb. Questo naturalmente una volta individuate le specie vegetali idonee, l'agente chelante più opportuno e dopo aver messo a punto la strategia di fitoestrazione assistita più adeguata per l'area di studio.

Tenendo conto che dallo studio di *soil washing* con chelanti è risultato che oltre il 90 % di Pb potrebbe essere mobilizzato e reso fitodisponibile, l'applicazione di tale tecnologia nei siti fortemente contaminati (*hot spots*) al fine di abbassare opportunamente i livelli di contaminazione metallica, seguita dalla fitoestrazione assistita potrebbe costituire una strategia idonea per riportare i livelli di contaminanti entro o vicino ai limiti di legge.

In alternativa, l'unica soluzione possibile rimane l'asportazione dei primi 15–20 cm di sedimento ed il suo conferimento in discarica come rifiuto altamente inquinato.

4.7 Bibliografia

AA.VV. **2002**. Led poison in waterbirds. Newsletter of the African-Eurasian Waterbirds Agreement. September, Bonn, Germany reperibile al sito internet www.unep-aewa.org

Adam P. **1990**. *Saltmarsh ecology*, Cambridge University Press.

An Y. J. **2003**. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. *Environmental Pollution* 127: 21–26

Barriere antipiombo-aspetti ambientali degli impianti di tiro a volo e loro gestione. Reperibile al sito internet www.ambientesport.com

Boorman L.A., Waters R., Wvya D.W. **1977**. Studies on the distribution of *Zostera* in the outer Thames Estuary. *Aquaculture* 12: 215–227

Burken J.G. and Schnoor J.L. **1997**. Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environmental Science & Technology* 31: 1399–1406

Cao X., Ma L.Q., Chen M., Donald W., Hardison Jr., Harris W.G. **2003**. Lead transformation and distribution in the soils of shooting ranges in Florida, USA. *The Science of The Total Environment* 307: 179–189

Christiansen T., Wiberg P. L., Milligan T. G. **2000**. Flow and sediment Transport on a Tidal Salt Marsh Surface. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 315–331

Consorzio Venezia Nuova, **1991**. Nuovi interventi per la salvaguardia di Venezia, Studio A.3.16: Rapporto finale.

Dijkema K.S. Salt Marshes in Europe. Council of Europe 1984.

Epelde L., Hernandez-Allica J., Becerril J.M., Blanco F., Garbisu C. **2008**. Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Science of total environment* 401: 21–28

Hardison D.W., Ma L.Q., Luongo T., Harris W.G. **2004**. Lead contamination in shooting range from abrasion of lead bullets and subsequent weathering. *Science of The Total Environment* 328: 175–183

Jorgensen S.S. and Willems M. **1987**. The fate of lead in soils: the transformation of lead pellets in shooting range soils. *Ambio* 16: 11–15

Kabata-Pendias A. **2004**. Soil-plant transfer of trace elements—an environmental issue. *Geoderma* 122: 143–149

Kerndoff H. and Schnitzer M. **1980**. Sorption of metals on humic acid. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44: 1701–1708

Leonard L. A. and Reed D.J. **2002**. Hydrodynamics and Sediment Transport Through Tidal Marsh Canopies. *Journal of Coastal Research* Special Issue 36: 459–469 (ICS 2002 Proceedings)

Leštan D., Luo C., Li X. **2008**. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review. *Environmental pollution* 153: 3–13

Lin Z., Comet B., Qvarfort U., Herbert R. **1995**. The chemical and mineralogic behavior of Pb in shooting range soils from central Sweden. *Environmental Pollution* 89: 303–309

Magistrato alle Acque, Maggio 2006. Progetto Esecutivo 1° Stralcio per la bonifica dell'area "Ex Tiro al Piattello" in località Campalto – Venezia; Piano di caratterizzazione dell'area (sintesi)"

Manouchehri N., Besancon S., Bermond A. **2006**. Major end trace metal extraction from soil by EDTA: Equilibrium and kinetic studies. *Analytica Chimica Acta* 559: 105–112

Migliorini M., Pigino G., Bianchi N., Bernini F., Leonzio C. **2004**. The effects of heavy metal contamination on the soil arthropod community of a shooting range. *Environmental Pollution* 129: 331–340

Mitsch W.J. and Gosselink J.G. **2000**. The value of Wetlands: importance of scales and landscapes setting. *Ecological Economics* 35: 25–33

Neugschwandtner R.W., Tlustoš P., Komarek M., Szakova J. **2008**. Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: Laboratory versus field scale measures of efficiency. *Geoderma* 144: 446–454

Otte L.M. **2001**. What is stress to a wetland plant? *Environmental and Experimental Botany* 46: 195–202

Pignatti S. **1966**. La vegetazione alofita della laguna di Venezia. *Ist. Ven. Sc. Lett. Arti. Memorie* 33: 3 – 174

Pilon–Smits E. **2005**. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56: 15–39

Polettini A., Pomi R., Rolle E. **2007**. The effect of operating variables on chelant-assisted remediation of contaminated dredged sediment. *Chemosphere* 66: 866–877

Rizzi L., Petruzzelli G., Poggio G., Vigna Guidi G. **2004**. Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere* 57: 1039–1046

Robinson G.R., Silbrell P.L., Boughton C.J., Yang L.H. **2007**. Influence of soil chemistry on metal and bioessential element concentration in Nymphal and adult periodical cicadas (*Magicicada spp.*). *Science of The Total Environment* 374: 367–378

Rooney D.J., Brown K.W. and Thomas J.C. **1998**. The effectiveness of capillary barriers to hydraulically isolated salt contaminated soils. *Water, air and soil pollution* 104: 403–411

Scarton F., Valle R., Borella S. **1995**. Il Fraticello (*Sterna albifrons*) nidificante in laguna di Venezia: anni 1989-1993 (Vertebrata, Aves). *Lavori Soc. Ven. Sc. Nat.* 20: 81–87

Silvestri S. La vegetazione alofila quale indicatore morfologico degli ambienti a marea. Tesi di Dottorato in Scienze Ambientali 2000, Università Ca' Foscari di Venezia.

Sorvari J., Antikainen R., Pyy O. **2006**. Environment contamination at Finish Shooting ranger. The scope of the problem and management options. *Science of The Total Environment* 366: 21–31

Sorvari J.; Antikainen R.; Pyy O. **2006**. Environment contamination at Finish Shooting ranger. The scope of the problem and management options. *Science of The Total Environment* 366: 21–31

Spuller C., Weigand H., Marb C. **2007**. Trace metal stabilization in shooting range soil: Mobility and phytotoxicity. *Journal of Hazardous Materials* 141: 378–387

Stansley W., Kosenak A.M., Huffman J.E., Roscoe D.E. **1997**. Effect of lead contaminated surface water from a trap and skeet range on frog hatching and development. *Environmental Pollution* 96: 69–74

Underwood A.J. and Chapman M.G. Environmental studies of benthic assemblages in wetland habitats in Careel Bay. Report to Pittwater Council, April 1997

Yin X., Sahab U.K., Ma L.Q. **2010**. Effectiveness of best management practices in reducing Pb-bulletweathering in a shooting range in Florida. *Journal of Hazardous Materials* 179: 895–900

Estratto per riassunto della tesi di dottorato

Studente: FABIOLA MINELLO

matricola: 955523

Dottorato: SCIENZE AMBIENTALI

Ciclo: XXIII

Titolo della tesi: FITORISANAMENTO DI SUOLI CONTAMINATI DA METALLI PESANTI E METALLOIDI

Abstract:

L'obiettivo dello studio è stato quello di individuare e impiegare specie vegetali bioaccumulatrici di metalli/metalloidi per la *phytoremediation*. Due progetti hanno riguardato l'applicazione in campo della felce *Pteris vittata*. E' stata indagata la sua capacità di iperaccumulatrice su suoli con contaminazione multipla, in presenza o meno di micorrizzazione. *P. vittata* ha dimostrato ottima efficienza di accumulo per As e capacità di resistenza anche con elevate concentrazioni di co inquinanti. I funghi micorrizici hanno favorito la crescita delle felci e la loro tolleranza ad altri contaminanti. Il terzo progetto ha avuto come obiettivo l'individuazione di una specie vegetale alofila che potesse essere impiegata per il fitorisanamento da Pb di un'area di barena. I risultati ottenuti indicano che non è possibile risanare l'area con le specie vegetali autoctone. Il risanamento si potrebbe realizzare mediante: *soil washing* e fitoestrazione con chelanti o conferimento in discarica.

The aim of this study was to identify plant species capable of bio-accumulation of metals/metalloids for phytoremediation. Two projects involved the application of the fern *Pteris vittata* in the field. It has been investigated its hyperaccumulator ability on soils with multiple contaminant, in presence or absence of mycorrhization. *P. vittata* showed optimum efficiency to accumulate As and strong capacity to survive in presence of high concentrations of co-contaminants. Mycorrhizal fungi have favoured the growth of ferns and their tolerance to other contaminants.

The third project was aimed at the identification of an halophyte species that could be used for the Pb phytoremediation of a saltmarsh. The results showed that the area can not be clean up by native plant

species. The remediation could be alternatively achieved through: soil washing and phytoextraction with chelating or landfilling.

Firma dello studente
