

# Argomenti del corso: parte 1

Introduzione alla bioremediation

Il cometabolismo

**Il suolo e batteri**

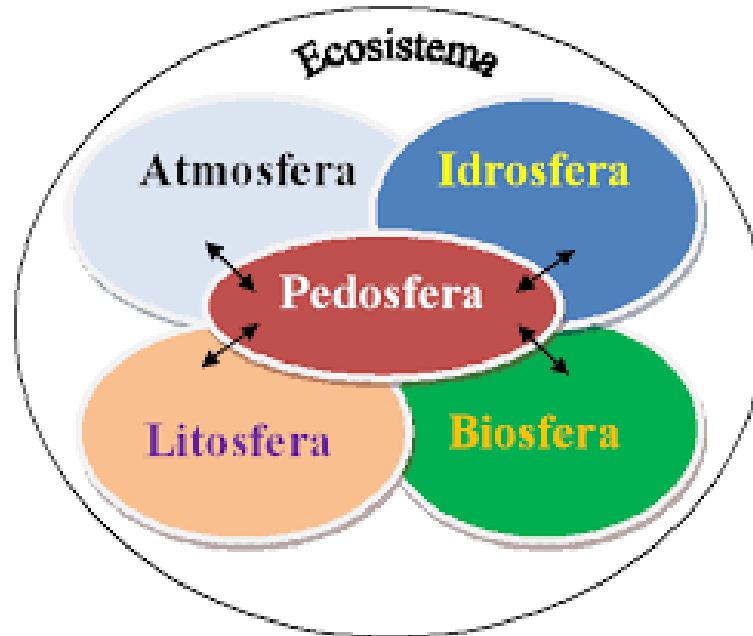
**Bioremediation in situ**

**Phytoremediation**

**Bioremediation ex situ**

# Suolo

**L'ambiente suolo è dinamico e polifasico.**

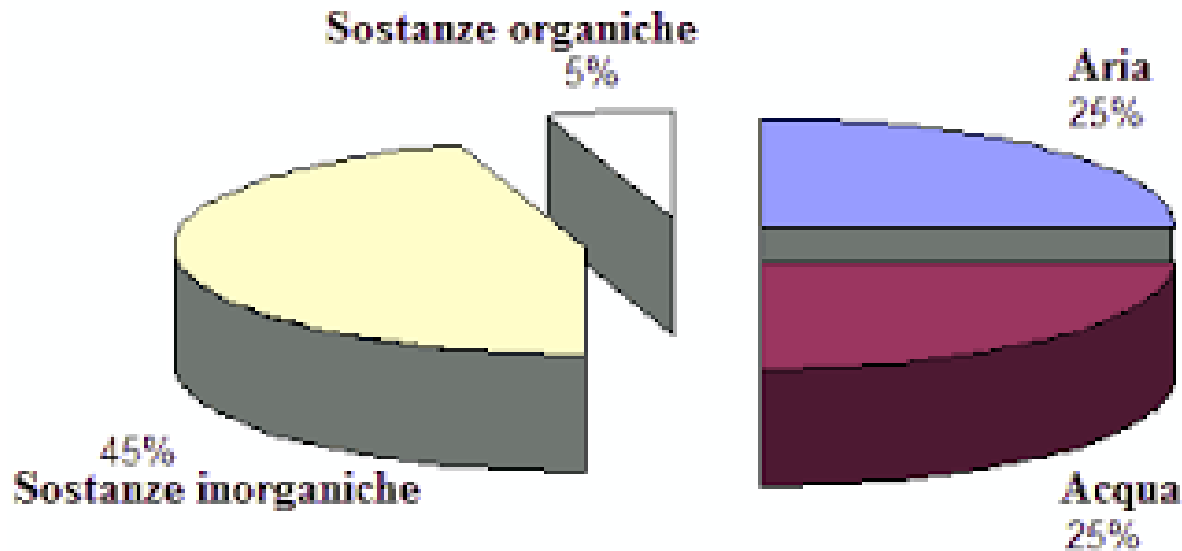


E' indispensabile in ogni processo di biorisanamento del terreno avere una chiara comprensione di queste fasi e come interagiscono.

Il primo approccio quindi riguarda conoscere le proprietà chimiche e fisiche del suolo.

Lo strato superficiale del suolo è costituito da:

- solidi inorganici (particelle non consolidate di argille, limo, sabbia e ghiaia)
- sostanza organica (da decomposizione di specie animali e vegetali, da microrganismi)
- e spazi vuoti o pori



I solidi inorganici sono il risultato delle alterazioni dovute all'azione degli agenti atmosferici nei secoli sui minerali primari.

La sostanza organica può variare da < 1% nelle regioni aride fino al 50% nei depositi di torba.

Gli spazi vuoti o pori contengono aria e acqua.



Possono rappresentare dal 25 al 60% del terreno e la loro presenza è di grande importanza in relazione al movimento dei gas e delle soluzioni e quindi della vita di vegetali e microrganismi.

Parametri importanti per la definizione di un suolo sono:

- la frazione colloidale,
- il pH,
- il potenziale redox,
- la capacità di ritenzione idrica
- la componente biotica



# Frazione colloidale

I quattro principali tipi di colloidi presenti nel terreno sono:

1. *materiali argillosi (silicoalluminati),*
2. *ossidi di Fe e Al,*
3. *allofani e simili amorfi,*
4. *sostanza organica (humus)*

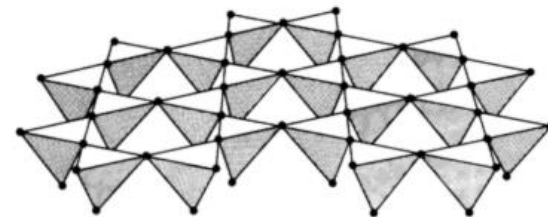
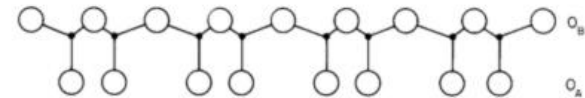
Queste particelle colloidali sono in grado di assorbire nutrienti, elementi contaminanti e altre specie cariche.

Ai fini dell'adsorbimento è importante il parametro superficie.

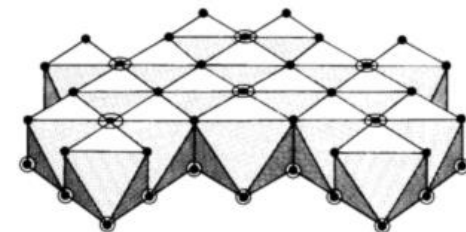
Normalmente la dimensione delle particelle è piccola, quindi i colloidali del terreno possiedono una vasta area superficiale.

**Le argille** sono i principali colloidi inorganici. Ciascuna particella di argilla è composta da una serie di strati. Questi a loro volta derivano dalla sovrapposizione di lamine formate essenzialmente da:

- unità tetraedriche fra loro legate con Si al centro (che definiscono un piano di atomi) e O ai vertici
- unità ottaedriche fra loro legate, in cui Al o un altro catione (che definiscono un piano di atomi) sono esacoordinati da O o OH



Linked  $\text{Si}_4\text{O}_6$  rings in 1:1 and 2:1 layer silicates



- Hydroxyl groups (OH)
- ● Oxygen atoms
- Cations in octahedral co-ordination (Y)

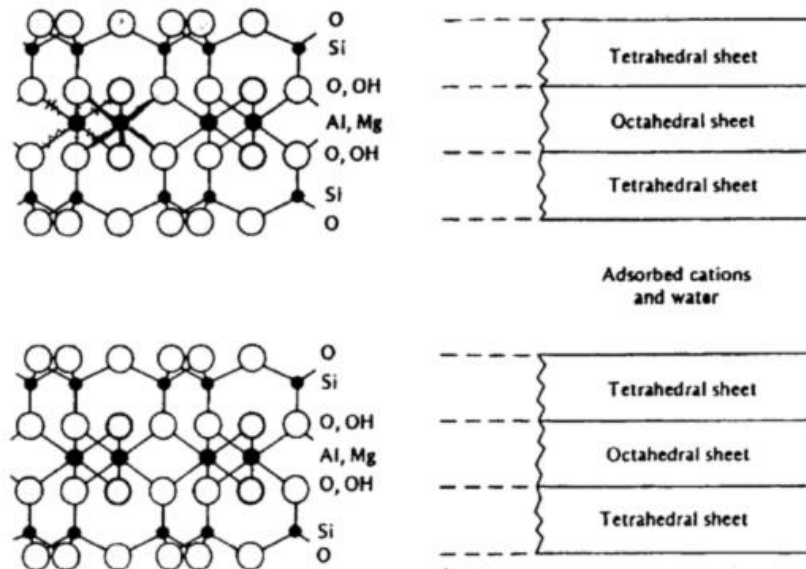
An ideal structure for a dioctahedral sheet in kaolinite

I minerali di tipo 1:1 sono costituiti solo da due lamelle (una di Si e l'altra di Al).

La struttura è rigida, il rigonfiamento per assorbimento di acqua fra gli strati è nullo, gli ioni non possono penetrare fra gli strati.

La superficie disponibile è solo quella esterna.

Nei minerali di tipo 2:1, la lamina formata da strutture ottaedriche si trova a sandwich fra 2 lamine tetraedriche.



*Schematic of 2:1 type clay showing two Si tetrahedral sheets surrounding one Al octahedral sheet*



Fra gli strati si possono trovare componenti diversi.

- Si con altri ioni a minor valenza, per es.  $\text{Al}^{3+}$ , determina una carica superficiale.
- Al con Mg e Fe.

La superficie colloidale, sia interna che esterna, per la presenza di queste cariche elettriche permanenti è chimicamente molto reattiva.

La presenza ed il numero di queste cariche influenzano, infatti, la *capacità di ritenere o scambiare ioni (CSC)*, (adsorbimento o repulsione di contaminanti, specialmente cationi metallici).

Anche le proprietà fisiche sono influenzate.

Alcune argille colloidali possono contrarsi o rigonfiare al variare del grado di umidità mentre altre sono meno sensibili.

*Gli ossidi idrati di Fe e Al*, predominano nei terreni fortemente alterati (tropicali e semitropicali).

I loro minerali possiedono una carica superficiale dipendente dal pH e con il pH varia anche la capacità di scambio in mezzo acquoso.

In terreni fortemente acidi l'ossido idrato tende ad avere carica positiva, perché la superficie è saturata di  $H^+$  e  $Al^{3+}$ .

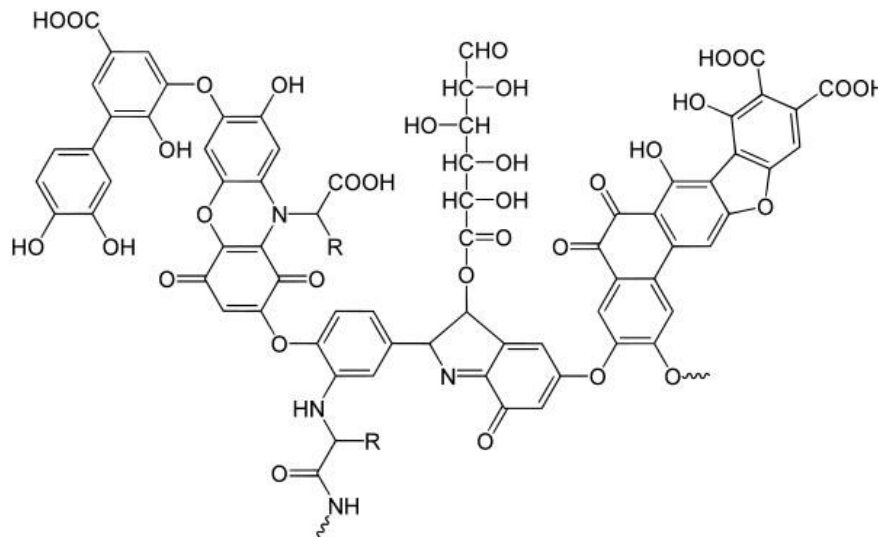
In ambiente alcalino questi ioni ( $H^+$  e  $Al^{3+}$ ) passano in soluzione fornendo una significativa CSC.

*Gli allofani*, presenti in molti terreni, sono colloidali amorfi di silicati di alluminio idrato, che possono assorbire sia cationi che anioni.

# sostanza organica

La sostanza organica è generalmente composta per il:

- 25-35% da polisaccaridi e composti azotati simili alle proteine, che sono facilmente decomposti da microrganismi e quindi hanno vita breve nel terreno.
- 65-75% da prodotti umici, una miscela di composti, a diverso peso molecolare e diverse caratteristiche chimiche, risultanti dalle molteplici trasformazioni biochimiche subite dai prodotti organici nel terreno.



Le sostanze umiche sono amorfe e resistenti alla degradazione. L'analisi elementare indica quali elementi costitutivi C, H e O.

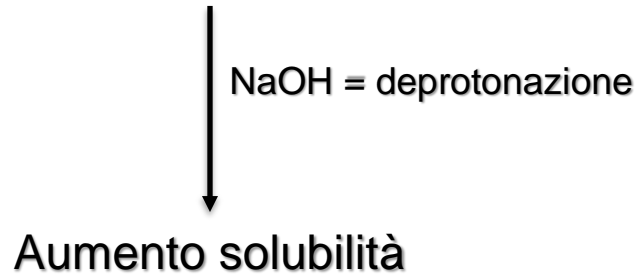
I materiali umici sono suddivisi in acidi umici e fulvici sulla base delle differenze di solubilità in acido e base.

Le sostanze umiche non estratte dalla base sono chiamate umine.

Entrambi gli acidi umici e fulvici possono essere estratti dal suolo usando NaOH, e la successiva acidificazione dell'estratto porta alla precipitazione dell'acido umico



Acido fulvico = piccole dimensioni = basso contenuto di gruppi carbossilici e di idrossili fenolici



La molecola di humus colloidale è rappresentata come una micella organica ad elevata densità di carica negativa circondata da uno sciame di cationi.

A conferire la carica negativa sono  $\text{OH}^-$ ,  $\text{COOH}$  e gruppi fenolici (acidi deboli). Questi gruppi sono presenti in anelli benzenici condensati o in catene di atomi di carbonio di diversa complessità e dimensione.

Come nel caso degli ossidi di Fe e Al, la carica negativa sull'humus è dipendente dal pH del terreno.

pH acido = la densità di carica negativa è bassa.

A valori di pH da neutro ad alcalino la CSC per unità di peso supera quella delle argille.

Terreni ad alto contenuto di sostanza organica sono in grado di adsorbire notevoli quantità di contaminanti organici.

Tale assorbimento rallenterà il movimento dei contaminanti e in parecchi casi si potrà avere l'inglobamento.

Un aumento della sostanza organica nel terreno favorisce:

- l'attività microbiologica, grazie all'aumentato apporto di nutrienti (N, P e S),
- la fertilità (coltivazione)
- la CSC (capacità di scambio cationico)
- la capacità di ritenzione idrica
- la disponibilità di C.

# pH

Influenza:

- disponibilità dei nutrienti
- possibilità di immobilizzazione dei metalli.

Il valore del pH è direttamente associato con la crescita e l'attività delle piante e dei microrganismi.

I terreni possono diventare acidi in regioni dove la piovosità è sufficiente a lisciviare dal profilo i cationi che sono scambiabili ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ), sostituendoli con  $\text{H}^+$ .

- Il pH di un terreno può essere abbassato per aggiunta di acidi minerali (nitrico, solforico, cloridrico, solfato ferroso e di alluminio, o zolfo elementare).
- Il pH può essere aumentato per aggiunta di  $\text{CaCO}_3$  o  $\text{CaO}$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{MgCO}_3$ .

Il terreno possiede una certa capacità tamponante.



# Potenziale redox

Il valore del potenziale redox ( $E^0$ ) è direttamente legato alla concentrazione di  $O_2$  (gas e liquido).

La concentrazione dell' $O_2$  dipende da:

- velocità di scambio del gas con l'atmosfera,
- velocità di respirazione.

La respirazione consuma  $O_2$  abbassando così il valore di  $E^0$  e creando condizioni anaerobiche (riducenti).

Queste condizioni rendono possibili solamente le reazioni anaerobiche limitando quelle aerobiche.

La riduzione di cationi metallici polivalenti aumenta la solubilità e la mobilità delle loro forme ossidate.

# Capacità di ritenzione idrica

Terreni secchi tendono ad adsorbire più fortemente i contaminanti (acqua e contaminanti sono in competizione).

L'acqua influenza il movimento dei composti:

- terreno non saturo d'acqua  $\longrightarrow$  i composti si muovono in maniera indipendente
- terreno bagnato  $\longrightarrow$  soluti influenzati dalla forza di gravità.

# Componente biotica

- **Batteri** → Componente preponderante  
Organismi decompositori
- **Attinomiceti** → Considerati un gruppo intermedio fra batteri e funghi  
Presenti prevalentemente nello stato superficiale
- **Funghi** → Organismi mono o pluri cellulari, non fotosintetici  
Degradano la sostanza organica
- **Alghe**
- **Protozoi**

# Riepilogo - Suolo

- Solidi inorganici
- Sostanza organica
- Acqua
- Aria

- **Frazione colloidale:** materiali argillosi, ossidi di Fe e Al, allofano, sostanza organica.
- **pH**
- **Potenziale redox**
- **Capacità di ritenzione idrica**
- **Componente abiotica**

Parametri importanti per la definizione di un suolo sono:

- la frazione colloidale,
- il pH,
- il potenziale redox,
- la capacità di ritenzione idrica
- la componente biotica



# Componente biotica

**La componente biotica del terreno è rappresentata da 5 gruppi principali di microrganismi:**

- **Batteri**
- **Attinomiceti**
- **Funghi**
- **Alghe**
- **Protozoi**

I primi tre gruppi comprendono i microrganismi responsabili della trasformazione della sostanza organica.

Sono essenziali ai cicli di sostentamento dell'ecosistema.

I microrganismi decompongono i tessuti vegetali ed animali convertendoli in biomassa cellulare, materiali secondari (humus), CO<sub>2</sub> e altri gas, mediante reazioni di mineralizzazione, immobilizzazione e umificazione.

Suolo: > 3000 Kg/ha di biomassa vivente in un suolo agricolo.

Pochi grammi di terreno contengono: miliardi di batteri, centinaia di chilometri di ife fungine, decine di migliaia di protozoi, ....



# Ciclo della sostanza organica



Residui organici



Elementi nutritivi

CO<sub>2</sub>

*Mineralizzazione diretta (veloce)*

**Microrganismi**

*Mineralizzazione indiretta (lenta)*

*Umificazione*

**Sostanze umiche (humus)**

Velocità di decomposizione:

- Componenti solubili
- Proteine
- Cellulosa
- Emicellulosa
- Acidi grassi, resine
- Lignina



# BATTERI

**/ *batteri* decompongono i tessuti vegetali ed animali, convertendoli mediante reazioni di mineralizzazione, immobilizzazione e umificazione.**

**Altri tipi di microrganismi operano trasformazioni simili a quelle dei batteri, però questi ultimi predominano grazie alle loro proprietà di crescere rapidamente e di decomporre vigorosamente un'ampia gamma di substrati.**

**I batteri rappresentano il gruppo più abbondante della popolazione microbiologica nel terreno.**

**In un terreno sano (non contaminato e fertile) la quantità di biomassa batterica può essere notevole: 1 grammo di terreno può contenere parecchie centinaia di milioni di cellule.**

**Il numero di specie individuali e di cellule sono funzione delle caratteristiche di terreno e delle condizioni ambientali, quali contenuto di umidità del terreno, pH, temperatura.**





## Così possiamo trovare:

- **bacilli** (rod-shaped - cilindrici, bastoncelli), sono i più numerosi
- **cocchi** (batteri spherical-shaped),
- **spirilli** (spiral-shaped) e vibrioni.

I batteri in genere non sono liberi nell'acqua del terreno, ma aderiscono a particelle di argilla, a materiale organico del terreno e ad altre superfici colloidali.

I fattori ambientali che influenzano numero ed attività dei batteri nel suolo includono:

- contenuto di sostanza organica,
- temperatura,
- pH,
- disponibilità di nutrienti e di aria
- altre variabili, quali coltivazione, stagione e profondità.



La dimensione della comunità batterica nel terreno minerale è in parte funzione del contenuto di sostanza organica.

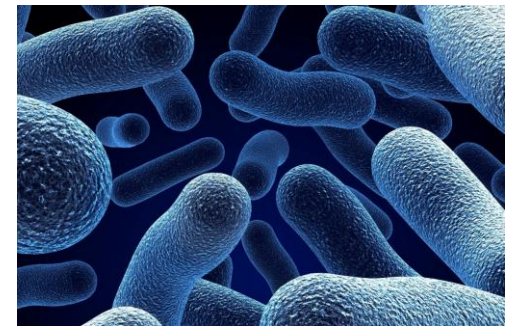
Luoghi ricchi di humus hanno un gran numero di batteri, grazie alla maggior disponibilità di sostanza organica derivante dalla decomposizione delle radici e dei detriti vegetali.

La crescita batterica è fortemente influenzata dalla temperatura.

I **termofili** si moltiplicano facilmente a temperature da 45° a 65°C.

Molti microrganismi sono **mesofili** con crescita ottimale nel range da 25° a 35°C e capacità di crescere da 15° a 45°C.

La maggior parte dei batteri presenti nel terreno sono mesofili.



Temperatura

Denominazione	Intervallo di crescita	Temperatura ottimale
Psicrofili	Da -5°C a +30°C	+20°C
Mesofili	Da +10 °C a +45°C	+30°C
Termofili	Da +45°C a +80°C	+55°C



**Le condizioni di pH ottimale per molte specie batteriche sono vicino alla neutralità.**

**Condizioni fortemente acide o fortemente alcaline inibiscono l'attività di molti comuni batteri.**

**Nutrienti inorganici sono richiesti per una moltiplicazione batterica ottimale; quindi la flora è spesso influenzata dall'applicazione di fertilizzanti inorganici.**

Le pratiche colturali esercitano pure un effetto biologico diretto ed indiretto.

Aratura e coltivazione usualmente producono marcate fluttuazioni della popolazione batterica.

Gli effetti derivano da un miglioramento della struttura e della porosità del suolo, dalla diversa disponibilità di O<sub>2</sub>, dall'alterazione delle condizioni di umidità e dalla esposizione di nutrienti legati a materiali organici all'azione batterica.



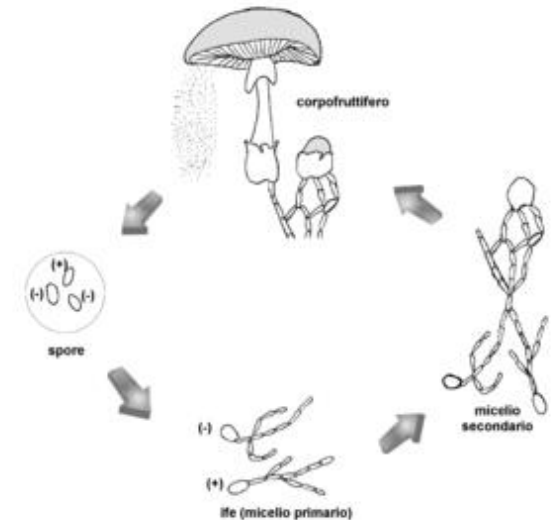
# FUNGHI

**I *funghi*** sono organismi mono- o pluricellulari.

**Possiedono pareti cellulari (chitina), non sono mobili e sfruttano il materiale organico sia come fonte di energia che come fonte di carbonio.**

**Il corpo dei funghi pluricellulari o micelio è costituito da un intreccio di ife che producono enzimi.**

**Gli enzimi prodotti dai funghi parassiti *digeriscono* i tessuti dell'ospite, quelli prodotti dai funghi saprofiti *digeriscono* i materiali organici in decomposizione.**



**I funghi filamentosi sono, per la quasi totalità, strettamente aerobici.**

**In campioni di terreno fresco sono stati ritrovati ca. 600 mg di biomassa organica/1kg di terreno, in rappresentanza di ca. 130 specie fungine.**



**La crescita dei funghi è influenzata primariamente dalle seguenti condizioni ambientali:**

- **tipo e quantità di materiale organico - i funghi sono eterotrofi**
- **pH,**
- **quantità di umidità e di aerazione,**
- **temperatura e composizione della vegetazione nativa.**

**Le specie fungine crescono in un ampio intervallo di pH, benché tendano a predominare in condizioni acide.**

**In ambienti a basso pH i funghi rappresentano la comunità microbiologica dominante, essendo batteri e attinomiceti intolleranti a tali ambienti.**



**L'abbondanza dei funghi filamentosi è modificata dall'applicazione di fertilizzanti inorganici al terreno.**

**Ciò è il risultato dell'aggiunta di nutrienti e dell'acidificazione.**

**Se si tratta il terreno con fertilizzanti a base di sali di ammonio la popolazione di funghi aumenta, perché l'ossidazione microbiologica dell'azoto porta alla formazione di acido nitrico, che favorisce i funghi e scoraggia batteri e attinomiceti.**

**Molti funghi sono mesofili e in condizioni normali nel terreno si ritrovano solo poche famiglie termofile.**

**Organismi che crescono velocemente a ca. 37°C sono localizzati nello strato di terreno superficiale, dove il riscaldamento è massimo nei mesi estivi.**



**L'insieme dei processi metabolici dei funghi è meno variegato rispetto a quello dei batteri ma esistono funghi in grado di decomporre la lignina.**

**La reazione coinvolta è relativamente non-specifica e rappresenta, infatti, anche lo stadio iniziale della degradazione di diversi composti clorurati cosiddetti difficili, quali pentaclorofenolo e dibenzodiossine clorurate.**





# ATTINOMICETI

*Gli attinomiceti* sono spesso considerati un gruppo intermedio fra batteri e funghi.

In analogia con questi ultimi, molti generi di attinomiceti producono filamenti sottili ramificati che si sviluppano in un micelio.

Sono ampiamente distribuiti nei terreni, nelle masse di compost, nei sedimenti fluviali e di altri ambienti.

Sono presenti prevalentemente nello strato superficiale, ma anche nell'orizzonte inferiore a grande profondità.

In termini di abbondanza sono secondi ai batteri.





**Le influenze ambientali primarie per lo sviluppo degli attinomiceti includono:**

- **contenuto di sostanza organica,**
- **pH,**
- **grado di umidità e temperatura.**

**Gli attinomiceti sono esclusivamente eterotrofi.**

**Sono fortemente influenzati dalla presenza di C ossidabile ed il loro numero è alto in terreno ricco di organico.**

**Aggiunta al terreno di materiali organici, quali residui di colture o deiezioni animali, aumenta la loro abbondanza.**

**La popolazione, dopo incorporazione di residui colturali e specialmente in ambienti con alte temperature, può talvolta arrivare a  $10^8$ /g di terreno.**

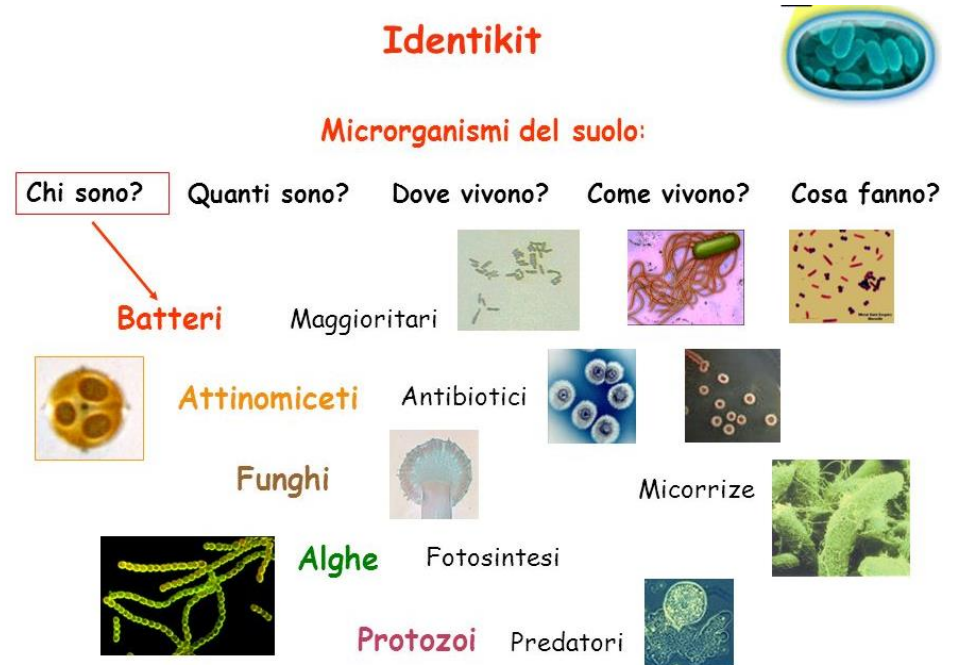


Inizialmente, dopo l'aggiunta di materiale organico, prolifera la flora batterica e fungina, mentre gli attinomiceti restano inattivi fino al raggiungimento di un certo stadio di degradazione della sostanza organica.

È quindi possibile che i microrganismi lavorino in successione:

batteri e funghi iniziano la reazione di decomposizione, in seguito al loro maggior accrescimento ed alla diversa fisiologia,

successivamente, gli attinomiceti compaiono quando i composti prontamente disponibili sono stati trasformati e la competizione per il substrato è diminuita



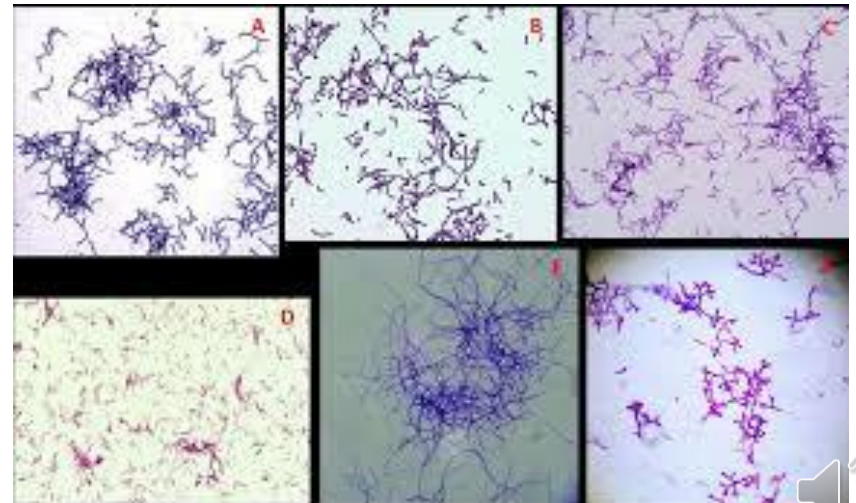
**Gli attinomiceti si sviluppano in ambiente a pH neutro e crescono male in condizioni acide.**

**In ambiente a pH elevato, nella comunità microbica totale gli attinomiceti possono prevalere.**

**La crescita degli attinomiceti, che sono strettamente aerobici, è fortemente limitata in condizioni di saturazione d'acqua, per es. con 85-100% della capacità di ritenzione idrica.**

**A differenza dei batteri non sono influenzati da condizioni di siccità e spesso lo sviluppo vegetativo e la moltiplicazione sono favoriti da bassi livelli di umidità.**

**Conseguenza: quando il suolo si secca il numero degli attinomiceti resta grande, mentre quello dei batteri decresce a causa della loro intolleranza a condizioni aride.**



## Protozoi

**I Protozoi sono animali formati da una singola cellula che si nutrono di batteri, altri protozoi, materia organica solubile e funghi.**

**Sono molte volte più grandi dei batteri: diametro 5 - 500  $\mu\text{m}$  (batteri: 0,2 – 80  $\mu\text{m}$ )**

## Alghe

**Sono organismi autotrofi in grado di fissare l'azoto atmosferico.**

**Alcune di esse però possono comportarsi anche da organismi eterotrofi.**

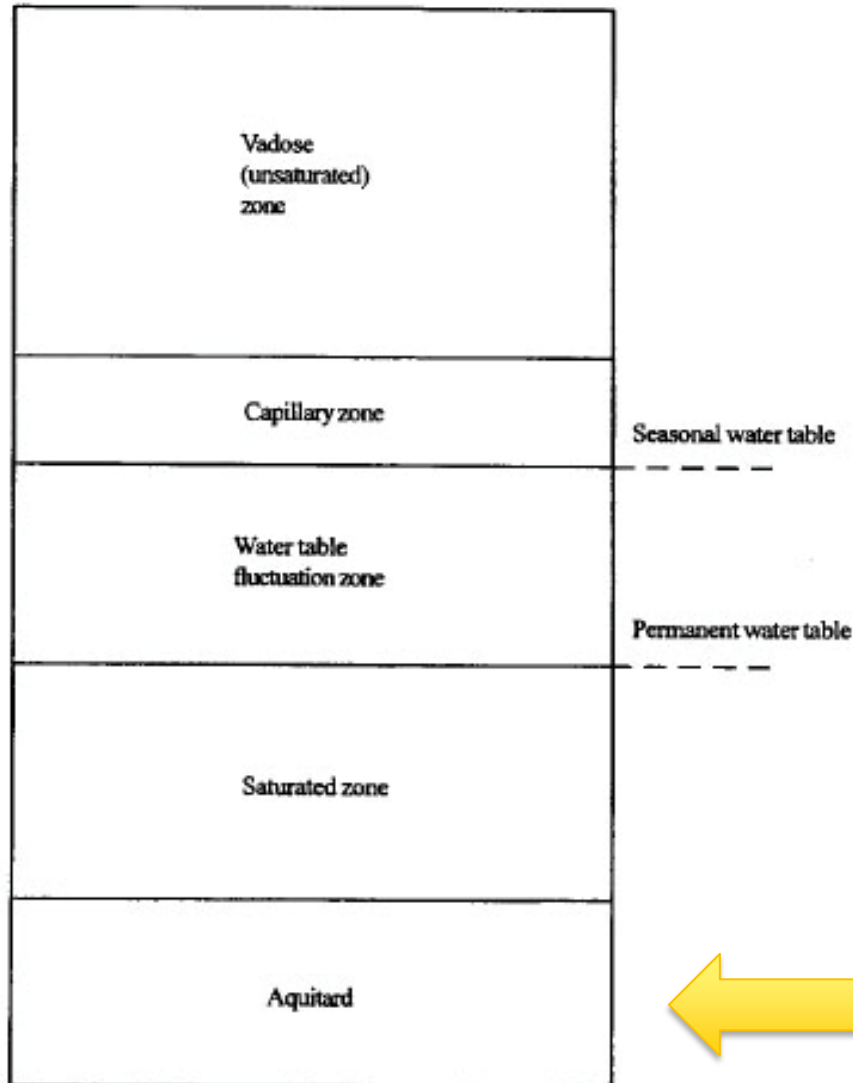
**Le alghe sono presenti negli strati più superficiali del terreno, in quanto posseggono un metabolismo aerobico in grado di utilizzare l'ossigeno e consumare la materia organica.**



# IDROGEOLOGIA DEL SUOLO



# IDROGEOLOGIA DEL SUOLO

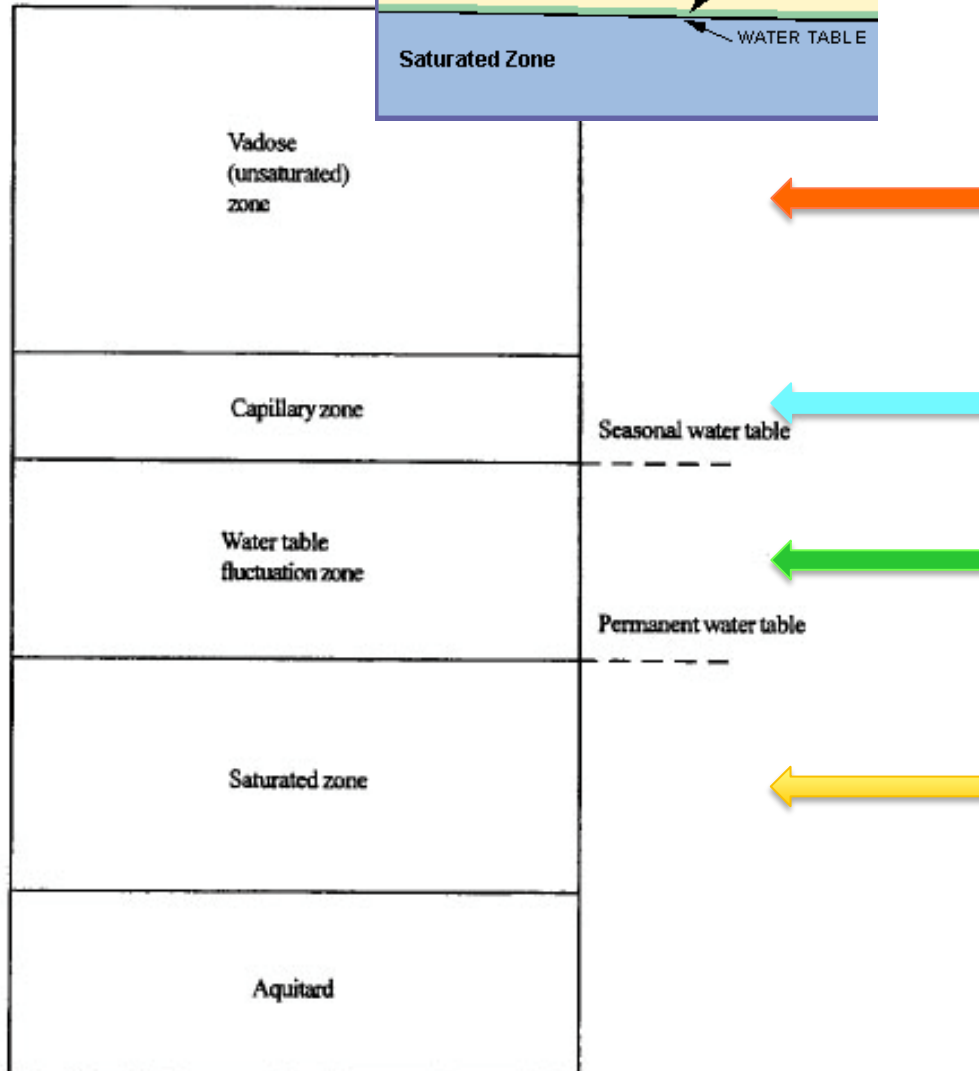
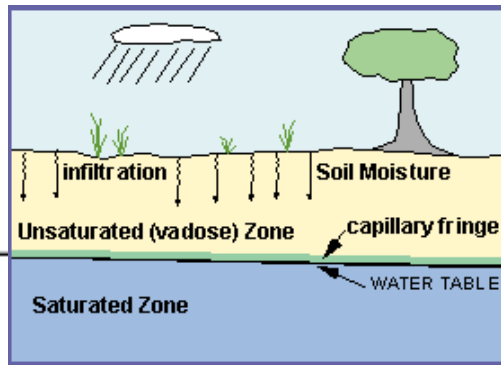


Terreno ed acqua sono le principali vie di trasporto di contaminanti acquosi e non acquosi

L'acqua (irrigazione, pioggia, allagamento ecc) si infiltra nel suolo. Una parte sarà trattenuta dall'orizzonte superiore, un'altra parte percolerà per effetto della gravità fino a raggiungere uno strato impermeabile dove si accumulerà (confinamento) (*Aquitard*).







La zona superiore non satura è detta ***vadose (superficiale)***

Sopra la *water table* l'acqua è trattenuta per adesione (**zona capillare**).

La parte superiore di questa zona, detta ***water table (falda freatica)***, non è confinata.

Sopra l'Aquitard c'è una **zona satura di acqua** il cui spessore aumenta con la percolazione.



La **falda acquifera (artesianiana o freatica)** è un deposito sotterraneo di acqua formatosi per la presenza di uno strato geologico impermeabile.

Per **falda acquifera artesianiana** si intende un corpo idrico costituito dall'acqua che occupa un certo quantitativo di rocce e/o sedimenti sfruttandone le fessure o i pori tra le particelle, circondato anche superiormente da materiali impermeabili (ad esempio argilla).

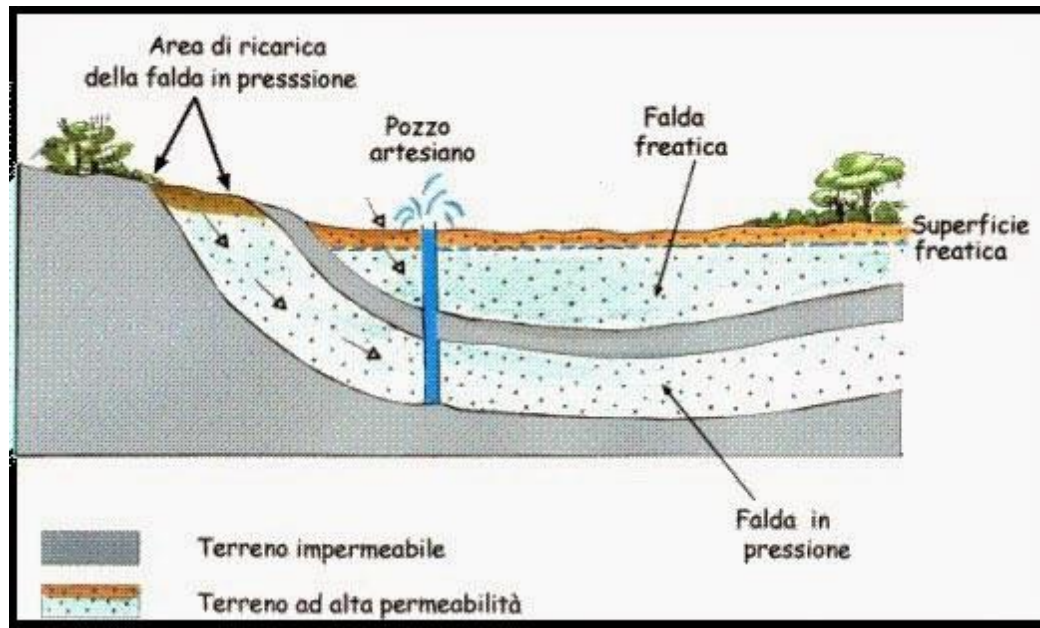
**Questo tipo di falda acquifera, dunque, è caratterizzato dal fatto che è confinata da tutte le parti da materiali che non permettono il passaggio dell'acqua.**

Questa situazione, da un punto di vista idraulico, è paragonabile ad una condotta in pressione, dal momento che esiste una pressione dell'acqua all'interno della falda maggiore di quella atmosferica.

Per questo motivo, al momento della creazione di un pozzo che perfora lo strato impermeabile superiore della falda, l'acqua tenderà a sgorgare verso l'alto.







La **falda freatica, o falda libera**, è un tipo di falda acquifera naturale.

Le acque meteoriche che cadono sulla superficie terrestre in parte ritornano all'atmosfera per effetto dell'evaporazione, in parte alimentano le acque superficiali e in parte, attraverso le fratture/porosità delle formazioni rocciose permeabili superficiali, riescono a percolare in profondità, fino a quando non incontrano una formazione impermeabile (es. formazione argillosa o rocciosa compatta) che ne arresta il movimento di percolazione.



## ***Porosità e permeabilità***

La **porosità** è definita come la percentuale di volume vuoto.

Possiamo avere strutture **microporose** (terreni argillosi) o **macroporose** (terreni sabbiosi).

Gli spazi vuoti possono essere occupati da acqua e gas o vapori diversi.

Il rapporto fra macropori e micropori influenza il movimento di acqua e gas.

Il rapporto è molto importante anche per la possibilità di bonifica.

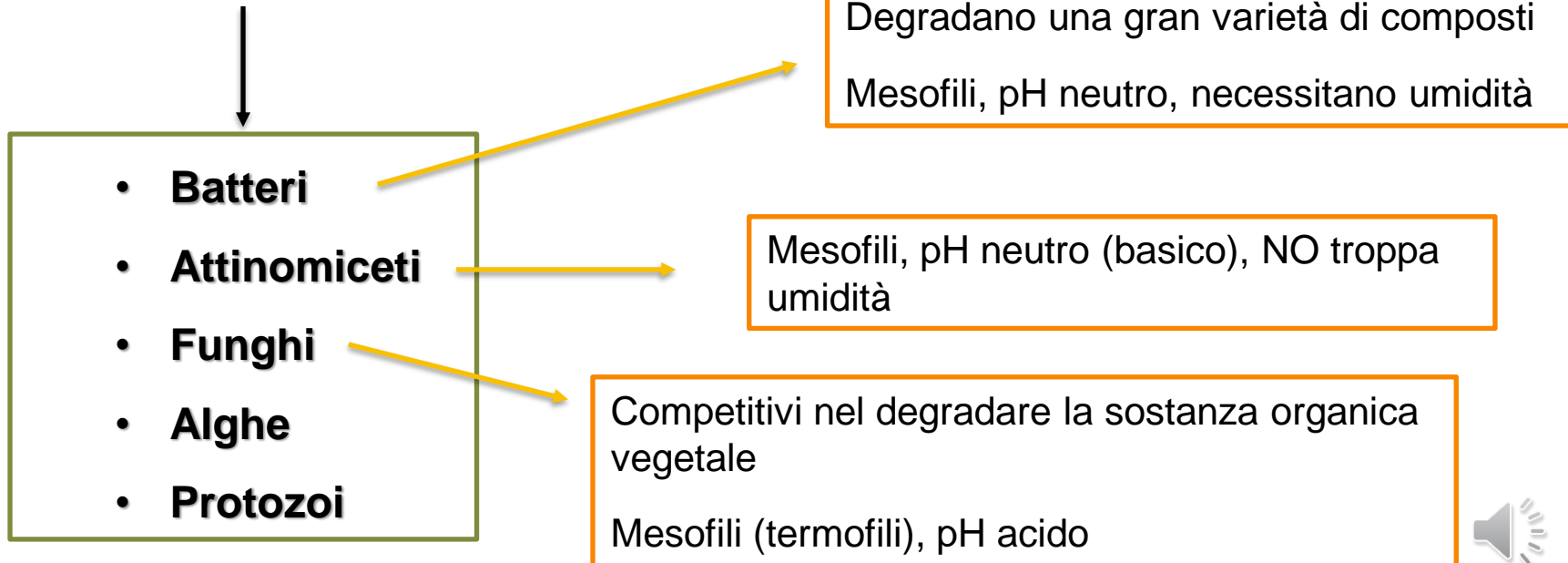
La permeabilità generalmente è correlata alla porosità.



# Riepilogo – Componente biotica

Parametri importanti per la definizione di un suolo sono:

- la frazione colloidale,
- il pH,
- il potenziale redox,
- la capacità di ritenzione idrica
- la componente biotica



# Riepilogo – Idrogeologia

