

Progetto CHISS - Chimica per lo Sviluppo Sostenibile

CORTE n. 2 - I.T.I.S. B. FOCACCIA – Salerno

Docente Prof.ssa Anna Madaio

INQUINAMENTO DEL SUOLO DA PIOMBO E PRINCIPALI TECNICHE DI BONIFICA



INTRODUZIONE

I mutamenti climatici e le patologie conseguenti all'assunzione di aria e cibi inquinati sono le emergenze ambientali dell'uomo moderno e l'inquinamento ambientale da metalli pesanti tra cui il piombo, oggetto del presente lavoro, è senz'altro da considerarsi una delle emergenze prioritarie.

L'inquinamento del suolo e la sua ricaduta sugli alimenti è una problematica affrontata di recente visto che per decenni il mondo scientifico ha principalmente dedicato attenzione ad altri comparti ambientali, quali l'atmosfera e l'acqua.

In un recente passato l'opinione prevalente è stata quella di seppellire i rifiuti nelle discariche, sottraendoli alla nostra vista, ritenendo che tale pratica fosse un modo semplice ed innocuo per lo smaltimento. Oggi si sta comprendendo quanto il sistema suolo sia stato danneggiato da tali politiche sconsiderate osservando che nei nostri alimenti, veicolati dai cibi di origine vegetale ed animale, ci stanno ritornando gli inquinanti così ben nascosti.

Una politica d'incremento della produttività dei suoli agricoli ha suggerito negli ultimi decenni un ricorso sempre più massiccio all'uso di fertilizzanti industriali. Tali prodotti ottenuti spesso con procedimenti tecnologici che non consentono un'elevata purezza chimica, hanno determinato un intenso e continuo inquinamento dei terreni da parte dei metalli pesanti.

Una crescente industrializzazione e una diffusione massiccia dei veicoli a motore hanno inoltre prodotto nel tempo un consistente incremento della concentrazione di metalli pesanti nell'aria che ricaduti sul suolo, sotto forma di particolato, ne ha determinato la contaminazione.

Nel presente lavoro ci soffermeremo in particolare sull'inquinamento ambientale da piombo, un inquinante molto tossico, poiché tende a bioaccumularsi negli organismi viventi. La traslocazione del piombo dai terreni destinati all'agricoltura ai vegetali ivi coltivati a scopo alimentare, espone consumatori ignari al rischio di assumere dosi del metallo superiori alla norma che, accumulandosi nell'organismo, a lungo termine provoca fenomeni d'intossicazione. Allo scopo di valutare sperimentalmente la presenza di piombo negli alimenti abbiamo eseguito la ricerca e la quantificazione del suddetto metallo in verdure a foglia larga, raccolte in terreni potenzialmente inquinati, e in funghi, raccolti in zone montagnose, mediante spettrofotometria in assorbimento atomico con fornetto di grafite. Il presente lavoro esamina inoltre le caratteristiche e la tossicità dei metalli pesanti in generale e in particolare gli effetti tossici dell'inquinamento da piombo sull'ambiente e sull'uomo. Inoltre viene effettuata un'analisi delle principali tecniche di biorisanamento utilizzate per la bonifica dei siti inquinati da metalli pesanti e da piombo.



METALLI PESANTI

Generalmente sono indicati come metalli pesanti tutti quegli elementi che hanno una densità superiore a $5,0 \text{ g/cm}^3$, esistono come ioni dotati di carica positiva, presentano una bassa solubilità dei loro idrati, hanno una elevata tendenza a formare complessi, una grande attitudine a formare solfuri ed hanno diversi stati di ossidazione a seconda delle condizioni di pH ed E_h . Negli stati d'ossidazione più bassi sono ioni monoatomici, mentre formano con l'ossigeno legami covalenti negli stati d'ossidazione più alti.

Sono normalmente considerati metalli pesanti i seguenti elementi: argento (Ag), bario (Ba), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), manganese (Mn), mercurio (Hg), molibdeno (Mo), nichel (Ni), piombo (Pb), rame (Cu), stagno (Sn), titanio (Ti), tallio (Tl), vanadio (V), zinco (Zn) ed alcuni metalloidi con proprietà simili a quelle dei metalli pesanti, quali arsenico (As), bismuto (Bi), selenio (Se) e antimonio (Sb). Tra questi, gli elementi che determinano più spesso fenomeni d'inquinamento, sono: il cadmio, il cobalto, il cromo, il rame, il manganese, il molibdeno, il nichel, il piombo, lo stagno, lo zinco e il selenio. I metalli pesanti fanno parte prevalentemente dei metalli di

transizione e nella Tavola Periodica si ritrovano nei gruppi VI B, VII B, VIII B, I B, II B, ma anche nei gruppi III A, IV A.

Tra i metalli pesanti Fe, Cu, Zn, Cr, Mn, Ni e Co hanno un importante ruolo fisiologico in piccole concentrazioni e sono definiti essenziali per animali e piante, poiché rientrano nella struttura di alcune molecole fondamentali, come per esempio gli enzimi, ma, ad elevate concentrazioni, possono dar luogo a fenomeni di tossicità per gli organismi viventi. Elementi come Hg, Cd e Pb, non presentando alcuna funzione biologica finora conosciuta, vengono definiti non essenziali e possono essere tollerati dall'organismo entro determinate concentrazioni, al disopra delle quali diventano tossici. La loro tossicità è elevata per tutte le specie viventi perché possono causare perdita dell'attività biologica. Essi si depositano nelle cellule mediante interazioni con le biomolecole (proteine, enzimi ed acidi nucleici) modificandone la conformazione attiva, bloccando siti funzionali oppure spostando ioni metallici essenziali, ostacolando in tal modo lo svolgimento di determinate funzioni vitali della cellula, non essendo gli organismi spesso in grado di eliminarli dal loro interno. I metalli pesanti sono pericolosi proprio perché tendono a bioaccumularsi e a dare luogo a fenomeni di biomagnificazione. Per bioaccumulazione s'intende l'aumento della concentrazione di un inquinante in un organismo biologico nel tempo, messa a confronto con la concentrazione del prodotto chimico nell'ambiente; biomagnificazione è la tendenza che un inquinante tossico ha di aumentare la propria concentrazione

negli organismi, progressivamente nel passaggio attraverso i diversi anelli della catena alimentare. L'uomo occupa l'ultimo anello della catena alimentare e per questo è l'essere vivente più esposto all'azione tossica di tali inquinanti.

I metalli pesanti nell'ambiente

I metalli pesanti sono naturalmente presenti nelle rocce, nel suolo, nelle piante e negli animali ma negli ultimi decenni l'inquinamento della biosfera per opera di piombo, mercurio e cadmio, è uno dei maggiori problemi ambientali nei paesi industrializzati ed in via di sviluppo, accanto a quello non di minore importanza dovuto ad oli minerali, idrocarburi clorurati, aromatici e IPA, in quanto responsabili di gravi effetti sulla salute umana e sull'ambiente. Tra i principali contaminanti d'origine industriale e commerciale che si possono riscontrare in siti industriali, oltre ai metalli pesanti, ci sono gli oli minerali, che contribuiscono per circa il 46% del totale.

Principali cause di contaminazione da metalli pesanti sono vari processi industriali, le centrali termoelettriche, lo sfruttamento e la successiva dismissione delle miniere, il traffico motorizzato, l'accumulo di rifiuti urbani e il loro incenerimento, l'utilizzo di fertilizzanti.

I contaminanti atmosferici sono veicolati al suolo e alle acque superficiali dalle precipitazioni, da fenomeni di sedimentazione, d'assorbimento e di solubilizzazione. Le interazioni tra acqua e suolo sono innumerevoli e legate a fenomeni di trasporto

meccanico, di sedimentazione, di solubilizzazione, di adsorbimento. Dall'aria e dai sistemi idrogeologici, l'inquinamento si trasferisce ai diversi livelli dei sistemi biotici, parte rilevante dei quali costituisce il complesso degli alimenti indispensabili all'uomo.

I metalli pesanti, come del resto molti altri elementi chimici, possono esistere allo stato elementare (o metallico) come ioni liberi o come parte di molecole più complesse. Allo stato elementare generalmente i metalli sono poco tossici, ma esistono numerosi processi chimici e biochimici che sono in grado di trasformare un elemento in una specie chimica aventi attività biologiche anche potenzialmente tossiche. Il potere tossico esercitato dai metalli pesanti dipende soprattutto dalle differenti forme chimiche di ciascun elemento, vale a dire dalla sua speciazione chimica, che ne influenza di conseguenza anche la mobilità e la biodisponibilità. Ad esempio esiste una notevole differenza fra la tossicità del piombo metallico, quella dello ione Pb^{+2} e quella del piombo sotto forma di composto covalente. In generale, le forme ossidate dei metalli sono quelle più tossiche. Gli elementi di transizione, quindi, avendo elettroni che occupano gli orbitali *d* e presentandosi in diversi stati d'ossidazione, generano di conseguenza una varietà di forme chimiche aventi attività biologiche anche diversissime.



PIOMBO

Il piombo nell'ambiente

Il piombo (Pb) è un metallo duttile e malleabile di grande interesse ambientale, essendo uno dei metalli pesanti più tossici e maggiormente diffuso sulla Terra. Una piccola quantità di piombo è in ogni modo presente nell'ambiente per cause naturali, ma la maggior parte deriva da fenomeni d'inquinamento, originati dalle innumerevoli attività antropiche. Il punto di fusione di 327 °C, piuttosto basso per un metallo, conferisce al piombo una facile lavorabilità che gli consente di essere modellato in varie forme. In combinazione con lo stagno forma una lega usata per saldature. Il piombo è noto e usato da millenni; sono stati rinvenuti infatti utensili che risalgono addirittura al 3800 a.C.. Esso risulta essere uno dei metalli più utilizzato in diverse attività lavorative quali fabbriche di munizioni ed esplosivi, di batterie e accumulatori per autotrazione, di vernici e smalti, di vetri e ceramiche ecc. Sebbene la concentrazione del piombo sia in crescente aumento in alcune parti del mondo, negli ultimi due decenni, in molti Paesi dell'Occidente, è stato notevolmente limitato qualsiasi impiego del metallo che comporti una dispersione ambientale

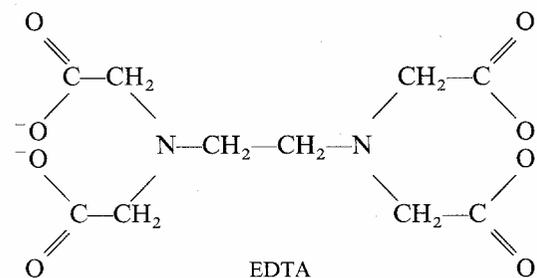
incontrollata. Una percentuale elevata del piombo ambientale proveniva dagli scarichi dei veicoli a motore e consisteva soprattutto di piombo in forma inorganica; il passaggio alla benzina senza piombo ha consentito l'eliminazione del metallo dai gas di scarico ed ha ridotto di conseguenza la frazione di Pb ambientale dovuta alla combustione della benzina tradizionale.

La presenza del piombo negli ecosistemi varia a seconda dell'area geografica e le zone rurali risentono meno della sua presenza in riferimento alle aree urbane, soggette alle emissioni da parte delle industrie. L'esposizione a questo inquinante può avvenire attraverso l'acqua potabile, il cibo, l'aria, il terreno e le polveri.

Lo ione stabile del piombo è del tipo 2^+ di conseguenza questo metallo forma il solfuro ionico PbS ($Pb^{2+}S^{2-}$) componente del minerale altamente insolubile (galena) che rappresenta la principale fonte di estrazione del piombo. Mentre i composti del piombo 2^+ risultano ionici (inorganici), la maggior parte dei composti tetravalenti del piombo sono molecole covalenti (organiche). I composti covalenti del piombo che hanno avuto importanza dal punto di vista commerciale e ambientale sono il piombo tetrametile $Pb(CH_3)_4$ e il piombo tetraetile $Pb(C_2H_5)_4$.

Questi ultimi hanno trovato ampio impiego come additivi della benzina, con funzione antidetonante. I composti tetraalchilici del piombo agivano scomponendosi, alle temperature del motore, in radicali alchilici liberi e piombo atomico che, reagendo con piccole quantità di dibromoetano e dicloroetano presenti nelle

benzine, si disperdeva nell'atmosfera in forma gassosa, come miscela di dihalogenuri $PbBrCl$, $PbBr_2$ e $PbCl_2$ i quali, a contatto con la luce solare formavano PbO .



Il sale di calcio dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA) è un agente chelante che estrae e

solubilizza molti ioni metallici, tra cui il piombo; gli ioni metallici si complessano ai due atomi di azoto e agli atomi di ossigeno carichi negativamente.

Tossicità del piombo

Sotto il profilo biochimico, il meccanismo dell'attività tossica del Pb e degli altri metalli pesanti, deriva dalla forte affinità del catione metallico per lo zolfo. I gruppi sulfidrilici (-SH) dell'amminoacido cisteina, normalmente presente negli enzimi che controllano la velocità delle reazioni metaboliche nella cellula, si legano facilmente ai cationi dei metalli pesanti o alle molecole che li contengono, formando un complesso metallo-zolfo che compromette la funzionalità dell'enzima.

Il piombo che è assorbito dalle piante, compromette alcune reazioni biochimiche fondamentali per il metabolismo vegetale e gli erbivori sono tra gli animali maggiormente esposti, poiché, assumendo vegetali contaminati, accumulano Pb in vari organi.

Il piombo può essere assorbito dall'organismo attraverso le vie inalatorie, orali e cutanee.

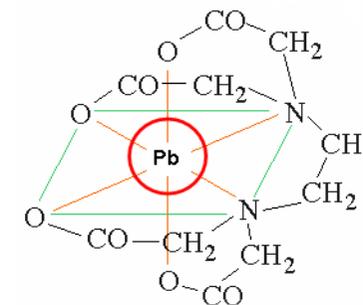
La maggior parte del piombo assunto dall'uomo è inizialmente presente nel sangue e successivamente viene immagazzinato nelle ossa e nei tessuti molli, compresi gli organi e, in modo particolare, il cervello. In ultimo, il piombo si deposita nelle ossa dove sostituisce il calcio, dato che gli ioni Pb^{2+} e Ca^{2+} hanno dimensioni simili.

Il Pb permane a lungo nell'ambiente e alti livelli d'esposizione possono provocare effetti biochimici tossici negli esseri umani che comprendono problemi nella sintesi d'emoglobina, sui reni, sul tratto gastrointestinale, sui giunti e sul sistema riproduttivo, oltre che danneggiamento acuto o cronico del sistema nervoso. L'intossicazione proveniente da un'elevata esposizione al piombo è chiamata saturnismo (dal nome dato al piombo dagli alchimisti medioevali) e si manifesta con anemia, ipertensione, neuropatia, coliche addominali, impotenza maschile e sterilità.

Gli effetti dell'intossicazione da piombo erano già conosciuti dagli antichi Greci in quanto vittime di patologie derivanti dall'assunzione di bevande acide contenute in recipienti rivestiti da sostanze a base di piombo. I Romani adulteravano deliberatamente il vino troppo acido con sali di piombo, di sapore

dolciastro, allo scopo di migliorarne il gusto, intossicandosi. (La quantità di piombo riscontrata nelle ossa degli antichi Romani risulta quasi 100 volte superiore rispetto a quella oggi osservabile). Alcuni storici hanno addirittura ipotizzato che l'avvelenamento cronico da piombo, causato dal vino, dalle tubature dell'acqua e dalle decorazioni delle stoviglie, manifestatosi presso i Romani appartenenti ai ceti superiori, abbia contribuito alla definitiva caduta dell'Impero Romano decimando la classe dominante. Nel Medio Evo la distillazione dell'alcol in tubicini di piombo causava la contaminazione delle bevande generando episodi di coliche addominali (colica saturnina) e di gotta da avvelenamento da piombo. Inoltre è noto che alcuni celebri personaggi quali Beethoven, Goya e Van Gogh sono morti a causa del saturnismo e s'ipotizza che l'intossicazione da Pb in Goya sia dovuta al continuo contatto con i colori, poiché il noto pittore intingeva i pennelli con la bocca.

Un trattamento farmacologico comunemente impiegato nei casi di avvelenamento acuto da Pb e da metalli pesanti consiste nella somministrazione di EDTA che forma col metallo un complesso



più stabile di quello formato con i gruppi -SH degli enzimi, ripristinandone la funzionalità. Il complesso metallo-EDTA viene poi escreto dall'organismo

BONIFICA DEI SITI INQUINATI DA METALLI PESANTI

La contaminazione dei suoli da metalli pesanti, derivante dalle diverse attività antropiche, sta continuamente aumentando e l'accumulo dei suddetti contaminanti nei terreni comporta, come precedentemente riportato, conseguenze dannose sulla salute. Tutto ciò ha comportato la necessità di un intervento di risanamento ambientale volto alla bonifica dei siti inquinati.

Gli interventi di bonifica si distinguono in:

- interventi *in-situ* (prevedono il trattamento del materiale contaminato sul posto). Sono in genere più vantaggiosi da un punto di vista economico, ma prevedono tempi di trattamento molto lunghi.
- interventi *ex-situ* (prevedono la rimozione fisica del materiale contaminato, per poi sottoporlo ai trattamenti di bonifica).

A loro volta gli interventi *ex situ* sono suddivisi in:

- interventi *on-site*, nel momento in cui il trattamento dei materiali estratti avvenga nell'area del sito stesso;

- interventi *off-site*, nel caso in cui i materiali vengano inviati in impianti di trattamento o in discariche esterne al sito stesso.

La necessità di risanare siti contaminati ha portato sempre più allo sviluppo di nuove tecnologie volte all'eliminazione dei composti inquinanti che comprendono trattamenti chimico-fisici e trattamenti microbiologici (biorisanamento).

Trattamenti chimico-fisici

I metodi chimico-fisici per il risanamento di siti inquinati da metalli sono diversi e vengono scelti in base alle caratteristiche specifiche del sito considerato. Tra questi riportiamo: metodi di ossidazione/riduzione chimica (aggiunta di agenti riducenti, ossidanti o neutralizzanti in grado di trasformare il metallo nelle sue forme meno tossiche e meno solubili), precipitazione/sedimentazione (i metalli possono essere precipitati come idrossidi, solfuri o carbonati e poi separati per sedimentazione) e complessazione mediante ligandi (tra cui l'EDTA) con conseguente solubilizzazione dei metalli nella matrice del suolo.

Un processo di bonifica prevede l'utilizzo di argille per la demetallizzazione di soluzioni contenenti specie metalliche rimosse dal terreno inquinato mediante ligandi in grado di complessare i cationi metallici. L'efficienza di rimozione dipende dal pH e dalla costante di complessazione dei ligandi con i diversi metalli. Le soluzioni estraenti devono essere in grado di

rimuovere dal suolo i metalli potenzialmente tossici mediante contatto prolungato, lisciviazione e successiva decantazione e raccolta. Il lisciviato così ottenuto viene demetallizzato mediante fissaggio su argille le quali possono assorbire i metalli pesanti, compreso il piombo, attraverso meccanismi di scambio cationico e di formazione di complessi a sfera interna con i gruppi Si-O^- e Al-O^- presenti sulle argille.

In letteratura sono riportati studi sperimentali sull'utilizzo di vermiculite e montmorillonite come argille e acido ossalico, acido citrico, acido tartarico e acido malonico come complessanti in processi di demetallizzazione di suoli inquinati.

I trattamenti chimico-fisici, oltre ad essere economicamente dispendiosi, presentano numerosi svantaggi, tra cui una rimozione incompleta dei metalli, bassa selettività, alti consumi energetici e di reagenti, produzione di fanghi tossici ed altri prodotti di rifiuto difficili da smaltire, con conseguenti problemi d'inquinamento secondario.

Trattamenti microbiologici: Biorisanamento

Il biorisanamento o bioremediation utilizza il potenziale metabolico dei microrganismi e/o piante per la riduzione dell'inquinamento dell'aria, delle acque o dei suoli e necessita di un approccio multidisciplinare che coinvolge microbiologia, ingegneria, fitologia, ecologia, geologia e chimica. Fin dall'inizio della vita sulla Terra, i microrganismi sono venuti a contatto con metalli tossici presenti sul pianeta per cui hanno sviluppato

meccanismi di resistenza molto conservati nel tempo e tra le diverse specie. La resistenza microbica ai metalli pesanti può essere quindi sfruttata allo scopo di immobilizzare i metalli nel suolo, riducendone la biodisponibilità. Esiste una vasta gamma di microrganismi in grado di vivere in presenza di elevate concentrazioni di ioni metallici e diversi possono essere i meccanismi biochimici che regolano questo comportamento microbico.

I microrganismi possono alterare la speciazione chimica dei metalli con la variazione dello stato di ossidazione, trasformandoli in forme meno tossiche e spesso con minor solubilità; possono concentrare i metalli all'interno della cellula, mediante specifici canali di trasporto, e all'esterno della cellula, grazie alla formazione di legami con siti carichi negativamente situati sulle membrane cellulari (es. gruppi fosfato dei fosfolipidi di membrana). A livello intracellulare sono presenti le metallotioneine, proteine a basso peso molecolare e ad elevato contenuto di residui

-SH dell'amminoacido cisteina, in grado di formare biocomplessi con i metalli pesanti. Il ruolo biologico delle metallotioneine negli organismi è quindi quello di sequestrare metalli dal citoplasma per prevenire la loro interazione con i componenti cellulari.

Nelle piante tali proteine prendono il nome di fitochelatine.

Il biorisanamento offre molti vantaggi rispetto alle tecnologie chimico-fisiche le quali, sebbene presentino maggiore semplicità di processo e tempi di bonifica relativamente brevi, sono più

costose e tendono ad alterare l'attività biologica e le proprietà del suolo, modificandone le caratteristiche intrinseche. Per ottenere una maggiore efficacia nella decontaminazione e per consentire il rispetto degli equilibri ecologici, l'intervento di biorisanamento dovrebbe essere realizzato utilizzando microrganismi autoctoni, selezionati nelle stesse zone da bonificare e quindi già abituati a vivere in condizioni estreme. Quando questi ultimi non sono adatti a biodegradare gli inquinanti in questione, si può ricorrere ai microrganismi estranei, provenienti da altre zone o prodotti tramite colture in laboratorio e/o geneticamente modificati.

Il trattamento *in situ* è uno dei vantaggi più efficaci di questa tecnologia in quanto non prevede il trasporto di contaminanti ed ha un impatto ambientale minimo, intervenendo selettivamente sugli inquinanti che sono presenti anche a concentrazioni basse, ma rilevanti dal punto di vista ambientale. Le tecniche di biorisanamento che vengono utilizzate nella bonifica di suoli inquinati da metalli pesanti si suddividono in: Bioleaching o biolisciviazione, Biosorption o bioadsorbimento, Phytoremediation o fitodepurazione.

Bioleaching o biolisciviazione

Questa tecnica consiste nell'utilizzo di microrganismi che, attraverso un processo di lisciviazione biologica del terreno contaminato, permettono il passaggio in soluzione di specie metalliche, le quali verranno successivamente estratte dal lisciviato mediante metodi chimico-fisici o biologici. (Ad

esempio alcuni batteri, grazie al loro metabolismo capace di ottenere energia dall'ossidazione dei solfuri a solfati solubili, contribuiscono al passaggio in soluzione, come solfati, dei metalli dai substrati contaminati).

Biosorption o bioadsorbimento

Il principale metodo biologico di rimozione di metalli tossici dalle acque contaminate è la tecnica di bioadsorbimento, processo nel quale i metalli vengono adsorbiti e/o complessati sulla superficie della biomassa che, precipitando come fango attivo, trasforma i metalli solubili in composti insolubili. (Ad esempio i batteri solfato-riduttori generando ioni solfuri in situ determinano la precipitazione di metalli dalle acque contaminate).

I processi che contribuiscono alla captazione e alla detossificazione di metalli tossici da parte dei microrganismi possono avere localizzazione diversa a livello cellulare. Il termine bioadsorbimento viene in genere usato per comprendere due noti meccanismi chimico-fisici che regolano l'eliminazione di metalli pesanti da parte di biomasse: l'adsorbimento e lo scambio ionico. Nel bioadsorbimento le biomasse hanno la capacità adsorbire, sulla superficie esterna delle cellule microbiche, ioni metallici mediante interazione con vari tipi di ligandi o gruppi funzionali localizzati sulle membrane cellulari.

Tra le specie batteriche coinvolte in questi processi riportiamo: *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*;

Leptospirillum ferrooxidans; *Acidianus brierleyi*; *Sulfolobus brierleyi*; *Acidianus infernus*; *Metallosphaera sedula*; *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*; *Sulfobacillus disulfidooxidans*. Anche i funghi filamentosi del terreno *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii*, *Rhizopus arrhizus* e *Trichoderma viridae* sono stati utilizzati con successo per la rimozione di elementi potenzialmente tossici. Inoltre, sono stati sviluppati per tali scopi diversi prodotti commerciali, quali varie specie di lieviti, alghe e batteri. Per ragioni economiche, biomasse di provenienza industriale, come ad esempio il lievito *Saccaromyces cerevisiae* e *Rhizopus arrhizus*, utilizzati per la produzione di acido citrico, si rivelano particolarmente interessanti come alternativa a basso impatto economico.

Le biomasse vengono immobilizzate su diversi tipi di matrici, le più comuni delle quali sono alginato, poliacrilammina, polisulfone, gel di silice e glutaraldeide.

In letteratura viene riportato lo studio di un nuovo e interessante processo chimico-microbiologico per il trattamento di siti inquinati da metalli pesanti. Il terreno contaminato viene dapprima lisciviato con acido citrico, un efficace agente legante per metalli che, rispetto all'EDTA, è meno costoso e non modifica molto la matrice del suolo. Il lisciviato, ricco in ferro-citrato (per la presenza di ferro nel suolo) e addizionato di nutrienti quali ioni fosfato e ioni ammonio, diventa un buon terreno di coltura, in cui il citrato è l'unica fonte di carbonio, per un ceppo batterico di *Klebsiella oxytoca*, isolato da siti minerari

della Toscana, capace di crescere in presenza di alte concentrazioni di metalli e di precipitarli in una fase colloidale. In questo modo i metalli vengono bioprecipitati dal lisciviato e concentrati in un ferro-gel di origine batterica. Con questa tecnica di lisciviazione quasi il 100% di piombo, rame e arsenico presenti come inquinanti precipitano nel ferro-gel.

Phytoremediation o fitodepurazione

Dagli anni '90 la fitodepurazione risulta essere una tecnica molto interessante che non richiede consumo energetico e che consiste nella crescita di piante su terreni contaminati, in modo che i composti inquinanti possano percolare attraverso il sistema radicale e accumularsi in vari organi della pianta come le radici, i fusti, le foglie etc. Le specie vegetali quindi, in particolare macro e microfite, fungono da filtri biologici per risanare suoli contaminati sia da metalli pesanti sia da pesticidi, solventi ed idrocarburi policiclici aromatici. Molte piante infatti hanno la capacità di accumulare metalli pesanti essenziali per il loro sviluppo, quali Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo e Ni, assorbendoli dal suolo o dall'acqua, mentre altre accumulano metalli pesanti di cui non si conosce il ruolo biologico, come Cd, Cr, Pb, Ag, As e Hg, ma che sono importanti inquinanti ambientali. Le piante, quindi, operano come delle pompe che assorbono dal terreno notevoli quantità di metallo per poi immagazzinarli o degradarli nella parte aerea. La biodisponibilità di un metallo può essere incrementata attraverso la somministrazione di agenti chelanti

(EDTA), che facilitano l'assorbimento del metallo da parte delle piante. Tali agenti devono essere: non tossici, biodegradabili, economici, facilmente reperibili e soprattutto assorbibili dalle specie accumulatrici. I principali meccanismi utilizzati dalle specie vegetali per i metalli possono essere ricondotti alla fitostabilizzazione e alla fitoestrazione.

- Fitostabilizzazione: sfrutta la capacità di alcune piante di produrre composti chimici nelle radici in grado di immobilizzare i metalli, mediante legami chimici, all'interfaccia radici-suolo. In questo modo si riduce la biodisponibilità degli agenti contaminanti e si evitano fenomeni di migrazione verticale verso le falde acquifere con conseguente contaminazione.
- Fitoestrazione: sfrutta la capacità di alcune piante, dette metalloaccumulatrici, di estrarre i metalli dal terreno attraverso l'apparato radicale e di concentrarli nella porzione aerea. Le piante usate per la fitoestrazione devono quindi essere in grado di accumulare metalli pesanti in germogli e foglie, devono essere a crescita rapida e non possono essere destinate ad uso alimentare per animali.

Al termine del trattamento la biomassa vegetale deve essere raccolta e smaltita (le piante vengono essiccate ed incenerite a temperature inferiori a 600°C per non disperdere il metallo nell'ambiente).

Riportiamo alcune specie vegetali accumulatrici di metalli pesanti, tra cui il piombo, presenti in letteratura:

Specie vegetali	Metalli accumulabili
<i>Artemisia princeps</i>	Cd, Zn, Cu, Pb
<i>Beta maritima</i>	Pb, Cu, Zn
<i>Brassica campestris</i>	Pb
<i>Brassica nigra</i>	Pb
<i>Brassica juncea</i>	Cd, Ni, Pb, Se
<i>Poa annua</i>	Cd, Cu, Ni, Cd, Zn, Pb
<i>Brassica hirta</i>	Hg, Pb

Come si evince dalla tabella vengono utilizzate soprattutto piante della famiglia delle Brassicaceae. È stato dimostrato che la *Brassica juncea* può rapidamente concentrare all'interno dei suoi tessuti radicali, cadmio, nichel, piombo e selenio, abbassandone il livello nel suolo circostante del 55% il primo anno e di un ulteriore 16% il secondo.

Tuttavia la phytoremediation sembra risultare piuttosto difficoltosa per quanto riguarda il piombo, sia perchè saldamente trattenuto dai materiali presenti nel suolo, sia perchè poche piante sono in grado di iperaccumulare piombo senza subire danni irreparabili alle proprie cellule. E' stato dimostrato che i cationi metallici inibiscono l'attività mitotica e di conseguenza la divisione cellulare. Il piombo, alterando le strutture mitocondriali, può disaccoppiare la fosforilazione ossidativa e interferire con la sintesi proteica delle cellule vegetali.

Le piante in grado di vivere su terreni contaminati da metalli pesanti, ma che presentano sintomi di danni evidenti a bassissime concentrazioni di inquinanti, possono essere utilizzati come bioindicatori (biomarkers).

E' noto dalla letteratura che i funghi, come altri alimenti di origine vegetale, hanno la capacità di assorbire e/o di accumulare elevate quantità di contaminanti, nonostante i bassi livelli presenti nel terreno e sono in grado di trattenere per lunghi periodi elevate concentrazioni di inquinanti. Per questo motivo la ricerca biologica in campo ambientale ritiene che i microrganismi siano molto utili soprattutto nell'identificazione di bassi livelli di inquinamento, difficilmente evidenziabili con la semplice analisi dell'acqua o del terreno. Le ife fungine, diramandosi per decine di metri nel substrato di crescita, permettono l'assorbimento di tutti gli elementi che possono essere assimilati o accumulati, in particolare i metalli pesanti. Tale capacità potrebbe essere dovuta a molecole proteiche analoghe alle metallothioneine presenti nei tessuti animali.

Il fitorisanamento rispetto ai trattamenti chimici migliora e lascia inalterata l'attività biologica ed ecologica del suolo e delle piante. Si applica ad una vasta gamma di metalli pesanti per i quali diventa anche possibile un eventuale recupero. Un limite della tecnica è rappresentato dal fatto che la contaminazione del suolo non deve essere eccessiva e non deve superare la profondità di crescita delle radici delle piante. Talvolta si rende necessario effettuare più cicli di coltivazione e raccolta, per il

recupero totale del sito. Altro fattore importante è che la vegetazione, una volta contaminata, deve essere conferita in modo appropriato.

RICERCA E QUANTIFICAZIONE DEL PIOMBO NEGLI ALIMENTI D'ORIGINE VEGETALE

Per valutare quanto il piombo, presente nell'ambiente, si accumula negli alimenti, abbiamo svolto una ricerca finalizzata alla determinazione del Pb in verdure a foglia larga, raccolte in terreni adiacenti zone potenzialmente inquinate, e in funghi raccolti in zone montagnose.

Metodica

La preparazione del campione si esegue sul prodotto fresco (non lavato) previa triturazione ed estrazione con una soluzione estraente efficace per il piombo¹. Per alcuni campioni si è proceduto anche alla determinazione del contenuto d'umidità tramite apposita bilancia termica.

Il campione, pesato e tagliuzzato, è estratto con un adeguato volume di soluzione estraente in un vortex per 20 minuti, fino a completa omogeneizzazione.

¹ La soluzione estraente è formata da: Acetato di ammonio 2 M - EDTANa₂ 5 g/ - Correzione del pH con CH₃COOH fino a pH 4,65

L'omogenato così ottenuto è centrifugato ed il surnatante è prelevato, versato in matraccio e portato a volume con la medesima soluzione estraente.

La soluzione così ottenuta è analizzata tal quale o previa diluizione in AA con fornetto di grafite (modello GBC Avanta), contro bianco costituito dalla medesima soluzione estraente. Un adatto volume dell'estratto (20-30 μ l) è immesso con micropipetta nel fornetto di grafite.

Lo strumento è ottimizzato e calibrato per il metallo da determinare, utilizzando come sorgente una lampada a catodo cavo monoelemento al Piombo.

Si adotta la tecnica dello standard esterno preparando una serie di standard di lavoro a varie concentrazioni, le cui misure d'assorbanza, eseguite con la stessa procedura adottata per il campione, ci consentono di ottenere una retta di regressione lineare con R^2 circa 1 che ha confermato la linearità delle misure. Applicando l'equazione della retta di regressione ottenuta alle misure d'assorbanza dei campioni esaminati, sono stati calcolati i valori di concentrazione di Pb, in seguito corretti tenendo conto dei fattori di diluizione. I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente:

I valori sperimentali ottenuti sono stati confrontati con i valori limite consentiti nei prodotti alimentari riportati nella tabella seguente:

CAMPIONE	PESO UMIDO	PESO SECCO	VOLUME (SOL. ESTR.)	PPM
Campione insalata n.1	70 g	2.82 g	150 ml	0.26
Campione insalata n.2	70 g	2.00 g	200 ml	0.32
Campione insalata n.3	16.6 g	2.30 g	125 ml	11.6
Campione n. 4	44.397 g	n.d.	125 ml	0.23

Nota: Campione insalata n. 1: Prodotto acquistato in un supermercato in busta chiusa; Campione insalata n. 2: Prodotto raccolto in località Pellezzano (Salerno) area a vocazione prevalentemente agricola; Campione insalata n. 3: Prodotto raccolto in località Fuorni (Salerno) area a vocazione industriale; Campione n. 4: Fungo porcino raccolto in località Montoro (Avellino) area montana con varie attività artigianali.

CONCLUSIONI

La parte sperimentale svolta ci ha consentito di confermare che in tutti i prodotti esaminati sono presenti quantità significative di Piombo. Nel campione insalata n. 3, raccolto in località Fuorni, dove ha sede il nostro Istituto, tale concentrazione è circa quaranta volte superiore ai limiti consentiti dalla Normativa vigente pari a 0,3 ppm. Tale valore è stato sostenuto da una serie ripetuta di misure sul campione raccolto, che ha tuttavia confermato il dato misurato. Il campionamento non è stato eseguito in modo rappresentativo, in quanto è stato prelevato solo un cespo d'insalata dall'orto preso in esame, ma, considerato l'elevato valore, si evince che quell'area è certamente interessata da un significativo inquinamento da Pb. Abbiamo sospettato che in quell'orto sia stata interrata una vecchia batteria al piombo, un metodo di smaltimento in passato spesso adottato.

Inoltre, la significativa presenza di Piombo nel campione n. 4 (fungo), prelevato in un'area prevalentemente agricola con un apparente basso grado d'inquinamento, ci conferma l'attitudine di questa specie vegetale ad accumulare metalli pesanti nella sua struttura cellulare.

Dai risultati della nostra analisi perveniamo quindi alla conclusione che la contaminazione alimentare da piombo è una realtà, infatti nessuno dei prodotti alimentari da noi analizzati ha presentato valori trascurabili in piombo. Questo conferma che le

PIOMBO – limiti massimi negli alimenti (CE 466/2001 e modifiche successive).		
	ALIMENTI	Pb mg//Kg peso fresco
A N I M A L I	Latte di mucca	0,02
	Carni di bovini, ovini, suini, pollame	0,1
	Frattaglie commestibili di bovini, ovini, suini, pollame	0,5
	Muscolo di pesce	0,2
	Muscolo di sogliola, anguilla, palamita, spigola macchiata, sgombro, cefalo, sarago fasciato, grugnolo, sardina, tonno	0,4
	Crostacei ad eccezione delle carni scure di granchio	0,5
	Molluschi bivalvi	1,5
	Cefalopodi	1,0
	Cereali, legumi e leguminose	0,2
V E G E T A L I	Ortaggi, fatta eccezione per cavoli, ortaggi a foglia larga, erbe aromatiche, e tutti i tipi di funghi.	0,1
	Cavoli, ortaggi a foglia coltivati	0,3
	Frutta, esclusa bacche e frutta di piccole dimensioni	0,1
	Bacche e frutta di piccole dimensioni	0,2
	Succhi di frutta e nettare di frutta	0,05
	Oli e grassi, ivi compreso grasso di latte	0,1
	Vini	0,2

popolazioni sono esposte inconsapevolmente ad un rischio non trascurabile che può diventare significativo per quegli individui che per età o per stato di salute sono più vulnerabili di altri.

Il lavoro di ricerca svolto sulle fonti di contaminazione ambientale, ci ha portato in estrema sintesi ad individuare i seguenti fattori d'inquinamento:

- l'uso di letame e/o di reflui zootecnici contaminati da sostanze chimiche inquinanti, che cedute al terreno possono poi essere assorbite direttamente dai vegetali;
- l'uso di fitofarmaci contaminati dagli elementi incriminati che trasferiti al terreno sono poi assorbiti dalle piante (rame, stagno, piombo, ecc.);
- la deposizione aeriforme di sostanze chimiche provenienti da zone urbane o industriali, che causa contaminazioni importanti anche in zone apparentemente lontane dalle fonti dell'inquinamento;
- l'uso di biomasse di origine urbana o industriale, contaminate da sostanze chimiche tossiche che in questo modo vengono cedute al terreno e da questo assorbite direttamente dai vegetali;
- l'uso di acque irrigue contaminate da sostanze chimiche di origine urbana o industriale.

Da quanto riportato ne consegue che l'inquinamento ambientale diventa ancor più allarmante per la salute pubblica perché magnificato dalla capacità dell'apparato radicale delle piante di trasferire e concentrare gli inquinanti, tra cui i metalli, nei frutti,

semi, verdure, foraggi ecc. che verranno poi destinati all'alimentazione umana e animale,.

La strategia utilizzata per combattere l'inquinamento da sottoprodotti tossici delle lavorazioni industriali è stata inizialmente quella di impedire la loro diffusione attraverso impianti di depurazione, che essenzialmente consistono nella separazione fisica dell'inquinante dal prodotto realizzato. Questa metodologia ha come punto debole il fatto che lo smaltimento di queste scorie è sempre problematico con frequenti cause d'inquinamento ambientale.

Oggi si va affermando la chimica verde che ha come scopo la riformulazione dei processi industriali in modo che essi siano sostenibili dall'ambiente. In altre parole tale strategia mira a spostare l'intervento all'inizio della catena, prima della fase in cui gli inquinanti vengono generati. Esempi di questa strategia sono la sostituzione dei metalli pesanti nella catalisi industriale con sostanze non dannose ed infine la progettazione di prodotti chimici tali da poter essere riciclati o eliminabili senza rischi per l'ambiente.

Lo scopo finale di questo impegno della ricerca è di pervenire in un prossimo futuro ad una situazione di «immissione zero» nell'ambiente di tutte le sostanze tossiche persistenti, perché non più utilizzate nei cicli di lavorazione.



Bibliografia

1. Dottorato di Ricerca in Ingegneria Industriale (XVIII ciclo, S.S.d. ING-IND/24) Università degli Studi di Cagliari 2006 *Bioremediation di suoli inquinati da idrocarburi*; P. Caredda
2. Progetto Sisifo: Risultati I^o anno di attività 2001-2002
 - *Studio di un nuovo processo chimico-microbiologico per sanare suoli inquinati da metalli pesanti microbiologico* - F. Baldi, F. Zecchini, M. Pepi; pag.15-21
 - *Metalli pesanti nel terreno dell'A.C.N.A. di Cengio. Mobilità, caratterizzazione e recupero*; E. Mentasti, O. Abollino, S. Buoso, C. La Gioia, M. Malandrino, M. Aceto; pag. 97-103
3. ACQUA&ARIA - <http://www.apenet.it> L. Martella, A. Paganetto, F. Gritti, P. Magistrelli, M. Bregante, F. Gambale, N. Talocchi, L. Nelli, - *Classificazione di vegetali provenienti da sistemi di "fitodecontaminazione" di suoli inquinati da piombo*; pag. 79-84
4. *Tecniche di biorisanamento in situ ed ex situ, con particolare riferimento alla biodegradazione in siti contaminati da idrocarburi* - A. Sofo
5. *Impiego combinato di ammendanti e fitoestrazione per la riduzione del rischio ambientale in un sito contaminato da metalli pesanti*; Tesi di Francesca Scolari
6. XV Congresso della Società Italiana di Ecologia – Torino 2005 *Studio sul bioaccumulo di metalli pesanti in specie vegetali di un sito contaminato*; E. Argese, C. Rigo, U. Camper, S. Bedini, M. Simion, L. Gobbo, G. Sburliano.
7. *Ricerca e sviluppo di tecnologie di bonifica di siti contaminati: Valutazione chimica e biologica dell'idoneità di alcuni ammendanti nel ridurre la tossicità dei metalli pesanti in suoli contaminati*; Tesi di Margherita Solveti
8. *Valutazione dell'inquinamento da metalli pesanti nell'area antistante l'ex complesso industriale di Bagnoli*; Tesi di Flora Carannante