

PRODOTTI COMMERCIALI PER IL BIORISANAMENTO DI TERRENI CONTAMINATI DA IDROCARBURI: CARATTERISTICHE ED EFFICACIA

Andrea Franzetti^{1*}, Asia Rosatelli¹, Alessandra Suagher¹, Tatiana Stella², Anna Espinoza², Fiora Bagnato³, Federico Villani³, Guido Bonfedi³, Massimiliano Baric⁴, Ilaria Pietrini⁴, Luca Serbolisca⁴

¹Università di Milano Bicocca, Piazza della Scienza, 1, Milano (MI)

²M3R srl, viale Ortles 22/4, Milano (MI)

³Eni Rewind, Piazza Boldrini, 1 - San Donato M.se (MI)

⁴Eni DPELAB/B - Via F. Maritano 26, San Donato M.se (MI)

* Corresponding Author: andrea.franzetti@unimib.it

Sommario. Esistono sul mercato numerosi prodotti commerciali sviluppati per stimolare la biodegradazione dei contaminanti in terreni contaminati da idrocarburi, la cui cinetica di biodegradazione può essere rallentata da tre principali fattori limitanti: i) la scarsità di nutrienti, ii) la scarsa biodisponibilità dei contaminanti e iii) la ridotta presenza di capacità biodegradative nella comunità microbica del terreno. Diverse caratteristiche dei formulati commerciali concorrono a determinarne efficacia, efficienza e compatibilità ambientale, in particolare la composizione elementare (CNP), la struttura delle comunità microbiche, l'interazione con il terreno e i contaminanti (adsorbimento, emulsificazione), le capacità tensioattive (concentrazione critica micellare) e gli aspetti di ecotossicità e biodegradabilità. L'integrazione di queste informazioni con quelle provenienti da prove pilota a scala di laboratorio e di impianto permette una scelta informata del prodotto da impiegare per il trattamento di terreni contaminati da miscele di idrocarburi.

INTRODUZIONE

Biorisanamento: fattori limitanti e prodotti commerciali

Il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi sfrutta processi biologici

Franzetti, Rosatelli, Suagher, Stella, Espinoza, Bagnato, Villani, Bonfedi, Baric, Pietrini, Serbolisca

“Prodotti commerciali per il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi: caratteristiche ed efficacia”

per ridurre o eliminare la presenza di inquinanti, offrendo vantaggi significativi rispetto alle tradizionali metodologie chimico-fisiche o allo smaltimento. Una delle caratteristiche distintive del trattamento biologico è la sua adesione ai principi dell'economia circolare. Mentre le tecnologie chimico-fisiche possono comportare l'uso massiccio di reagenti chimici e la produzione di rifiuti pericolosi, il trattamento biologico sfrutta la capacità dei microrganismi di metabolizzare gli idrocarburi, trasformandoli in composti meno dannosi o addirittura in anidride carbonica e acqua. Questo approccio, allineato alla circolarità, promuove quindi la sostenibilità ambientale. Tuttavia, nonostante i suoi numerosi vantaggi, il trattamento biologico esige la considerazione attenta di diversi fattori che limitano i processi biodegradativi e per affrontare le sfide nella gestione dei terreni contaminati da idrocarburi, è essenziale adottare strategie mirate. Recentemente, sul mercato, è aumentata la disponibilità di prodotti progettati per accelerare i processi di trattamento *ex situ* di terreni. Questi possono essere categorizzati in base ai fattori limitanti che si prefiggono di superare. La prima categoria include sostanze inorganiche e organiche come azoto, fosforo e potassio e altri biostimolanti, utilizzate come nutrienti per promuovere la crescita batterica. La seconda categoria si concentra sulla biodisponibilità degli idrocarburi, con prodotti contenenti tensioattivi per ridurre la tensione interfacciale ed aumentare la biodisponibilità dei contaminanti. La terza categoria comprende inoculi microbici selezionati per le loro capacità di biodegradazione degli idrocarburi. Alcuni prodotti combinano queste categorie per massimizzare l'efficacia del trattamento. La scelta accurata di formulati commerciali è cruciale per ottimizzare il trattamento biologico e ridurre i tempi di bonifica. Vista l'ampia disponibilità sul mercato, l'obiettivo del presente progetto è quello di sviluppare e applicare una metodologia di caratterizzazione e di valutazione delle capacità dei formulati commerciali che guidi la scelta dei prodotti per gli specifici progetti di bonifica. Oltre alla valutazione dell'efficacia e dell'efficienza dell'applicazione dei singoli prodotti è importante considerare caratteristiche chimico-fisiche, biologiche e di compatibilità ambientale. Aspetti quali la composizione elementare (CNP), la struttura delle comunità microbiche, e l'interazione con il terreno e i contaminanti (adsorbimento, emulsificazione) sono fondamentali. Inoltre, le capacità tensioattive, giocano un ruolo cruciale nell'aumentare la biodisponibilità degli idrocarburi. Aspetti come l'ecotossicità e la biodegradabilità rappresentano ulteriori criteri di valutazione.

RISULTATI

Nel presente progetto sono stati considerati 20 prodotti commerciali (12 contenenti tensioattivi, sia di origine biologica sia di sintesi chimica, 4 prodotti contenenti nutrienti o biostimolanti, 4 prodotti contenenti ceppi microbici selezionati). Alcuni dei prodotti considerati sono composti cioè contengono molecole ad attività superficiale con l'aggiunta di nutrienti e/o ceppi batterici selezionati.

2 Franzetti, Rosatelli, Suagher, Stella, Espinoza, Bagnato, Villani, Bonfedi, Baric, Pietrini, Serbolisca

Fase 1 – Caratterizzazione chimica, chimico-fisica e biologica

Attività tensioattiva

In figura 1 è riportata la distribuzione di valori relativi all'attività superficiale dei prodotti a base di tensioattivi includendo anche i prodotti composti con una componente di tensioattivi. I dati mostrano che tutti i prodotti mostrano buoni valori di attività tensioattiva, in termini di abbassamento del valore di tensione superficiale rispetto a quello dell'acqua (72 mN/m). Come si evince dai dati di diluizione Critica Micellare, cioè la diluizione del prodotto alla quale si ottiene la minima concentrazione necessaria per la formazione di micelle (CMC), quasi tutti i prodotti presentano concentrazioni di molecole con attività tensioattiva molto superiori alla CMC, indicando quindi che possono mantenere la loro attività anche ad elevate diluizioni. La capacità emulsionante è stata misurata mediante test di emulsificazione a 24 h con miscela idrocarburica di gasolio. I valori ottenuti mostrano che solo alcuni prodotti hanno buone capacità emulsificanti (>50%) alla concentrazione pari a 1 x CMC. I dati di tensione superficiale dopo adsorbimento al terreno mostrano che solo una minoranza di prodotti mantiene bassi valori di tensione superficiale dell'acqua dopo contatto col terreno suggerendo che, per la maggior parte dei prodotti, le molecole ad attività superficiale presenti nel formulato vengano adsorbite dal terreno. Questo aspetto può non essere negativo per applicazioni di stimolazione dell'attività biodegradativa in condizioni insature in quanto il tensioattivo può comunque agire sulla fase adsorbita per aumentare la biodisponibilità del contaminante, ma potrebbe rendere poco adatto il prodotto per applicazioni di *soil washing* o *soil flushing*.

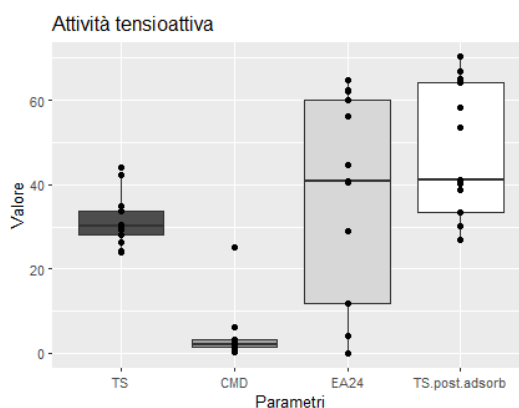


Figura 1. Distribuzione dei valori ottenuti per i parametri di attività superficiale analizzati (TS- tensione superficiale – mN/m; CMD – Diluizione critica micellare (% di prodotto nella soluzione

“Prodotti commerciali per il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi: caratteristiche ed efficacia”

diluita); EA24 – Test di emulsificazione (%); TS post adsorb – Tensione superficiale dopo adsorbimento al terreno (mN/m)

Biodegradabilità e fitotossicità

In figura 2 sono riportati i valori di biodegradabilità dei prodotti contenenti sostanza organica e di fitotossicità di tutti i prodotti analizzati. La biodegradabilità è stata stimata tramite il rapporto tra BOD₅ e COD, mentre la fitotossicità è stata misurata tramite test dell'indice di germinazione di *L. sativum* a seguito dell'applicazione dei prodotti alla diluizione di utilizzo. Per entrambi i parametri si osserva un comportamento molto differente tra i prodotti indagati. Questi aspetti vanno considerati congiuntamente in quanto il perdurare di effetti fitotossici dovuti al prodotto dipende anche dalla persistenza del prodotto stesso nel terreno. È anche da considerare il fatto che questi valori sono stati determinati sul prodotto diluito alla dose di utilizzo, ma non a contatto con il terreno, condizione nella quale gli effetti fitotossici possono ridursi.

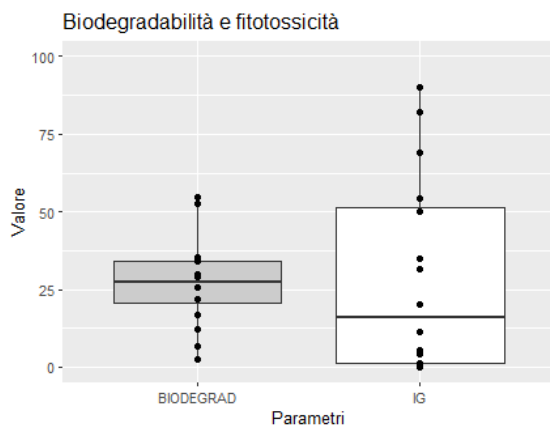


Figura 2. Distribuzione dei valori ottenuti per i parametri di biodegradabilità e fototossicità (BIODEGRAD – Rapporto BOD₅/COD (%); IG – Indice di germinazione (%))

Prodotti contenenti inoculi

In figura 3 sono riportati i dati relativi alla quantificazione tramite PCR quantitativa (qPCR) dei biomarkers per la stima dell'abbondanza batterica totale (gene 16S rRNA) e dei batteri idrocarburoclasti (gene *alkB*) nei prodotti

4 Franzetti, Rosatelli, Suagher, Stella, Espinoza, Bagnato, Villani, Bonfedi, Baric, Pietrini, Serbolisca

“Prodotti commerciali per il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi: caratteristiche ed efficacia”

contenenti un inoculo biologico. Tale tecnica (qPCR) consente di quantificare specifici gruppi e/o metabolismi microbici. I dati mostrano come i prodotti commercializzati contengano elevate cariche batteriche e che la quantità di batteri con specifiche capacità biodegradative possano variare di due ordini di grandezza.

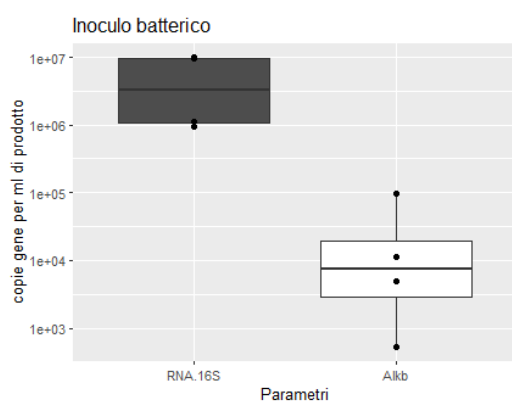


Figura 3. Analisi microbiologiche-molecolari (qPCR) degli inoculi microbici

Fase 2 – Esperimenti di biodegradazione in mesocosmo

Su alcuni dei prodotti caratterizzati sono state condotte delle prove a scala di laboratorio per verificare la capacità di accelerare il processo di biodegradazione degli idrocarburi in terreni contaminati. In tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche del terreno utilizzato per la sperimentazione.

Tabella 1. Caratteristiche del terreno utilizzato per i test di biodegradazione

Idrocarburi C>12 (mg/Kg)	5540	P assimilabile (mg/Kg)	4.9
pH	6.4	Tessitura (Sabbia/Limo/Argilla)	80/11,3/8,7
C organico (g/Kg)	12.05	Classe tess. USDA	SF
N totale (g/Kg)	0.25	Batteri totali (copie gene 16S rRNA/g)	10 ⁹
C/N	48.2	Batteri idrocarburo-degradanti (copie gene <i>alkB</i>/g)	10 ⁷

Il terreno utilizzato per la sperimentazione non presenta limitazioni nutrizionali così come testimoniato dalle concentrazioni di N e P rispetto al C degli idrocarburi, ben superiori al valore guida di 100:10:1 (C:N:P). Il terreno presenta inoltre una elevata carica batterica caratterizzata da una significativa presenza di

“Prodotti commerciali per il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi: caratteristiche ed efficacia”

batteri idrocarburo-degradanti. Le prove di biodegradazione condotte con l'utilizzo di prodotti a base di nutrienti ed inoculi batterici non hanno mostrato velocità biodegradative significativamente più alte del controllo. L'aggiunta di queste tipologie di prodotti in terreni che non presentano particolari limitazioni per ciò che riguarda la scarsità di N e P e di popolazioni batteriche selezionate non si è dimostrata quindi efficace. Vengono quindi qui riportati nel dettaglio i risultati relativi agli esperimenti di biodegradazione in mesocosmo condotti con formulati contenenti tensioattivi. In figura 4 sono riportati i dati relativi alle costanti cinetiche di pseudo-primo ordine relative alla biodegradazione degli idrocarburi nel microcosmo trattato con il prodotto alla dose consigliata dal produttore in confronto con la costante ottenuta nell'esperimento di controllo. Vengono inoltre riportati i dati ottenuti dal test di fitotossicità del terreno al termine del trattamento.

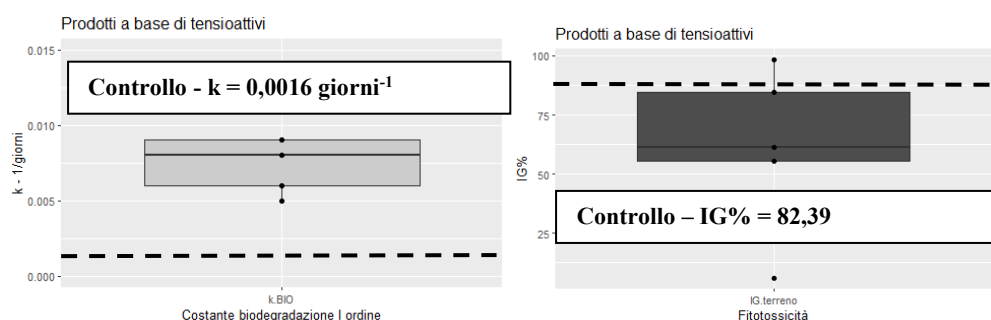


Figura 4. Costanti cinetiche di biodegradazione e fitotossicità

Dai dati emerge come i prodotti contenenti tensioattivi portino ad una significativa accelerazione dei processi biodegradativi nelle condizioni sperimentate. I prodotti hanno differenti effetti sulla fitotossicità del terreno. In un caso la tossicità riscontrata è stata inferiore a quella del trattamento di controllo, probabilmente a seguito della riduzione delle concentrazioni di idrocarburi, mentre per gli altri prodotti si osserva un peggioramento delle condizioni di tossicità rispetto al controllo. I dati ottenuti in questo progetto mostrano una significativa eterogeneità delle caratteristiche dei prodotti per il biorisanamento attualmente in commercio che differiscono per le loro proprietà chimico-fisiche e di compatibilità ambientale. Questo implica la necessità di una dettagliata caratterizzazione dei prodotti per definire il prodotto più indicato per ogni specifico trattamento. I formulati commerciali contenenti tensioattivi si sono dimostrati in grado di incrementare le velocità biodegradative anche in terreni senza particolari limitazioni nutritive o di capacità metaboliche dei microrganismi autoctoni.