

RELAZIONE CONCLUSIVA SULL'ATTIVITÀ DI SVOLTA RELATIVA AL PROGETTO DI RICERCA :

“Metodologie a basso impatto ambientale per il miglioramento della qualità dei suoli e delle produzioni agricole” oggetto della convenzione approvata con D.R.D. n. 103 del 07/05/07 del settore SESIRCA.

Prof. Gennaro Piccialli

Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali; Università Federico II di Napoli.

1. Premessa

Il progetto ha avuto come obiettivo la sperimentazione e lo sviluppo di saggi agronomici su piante e suoli per l'abbattimento del livello di inquinamento da parte sostanze chimiche clorurate. In particolare si è inteso studiare l'effetto di degradazione e di rimozione di sostanze inquinanti il suolo da parte di specie vegetali messe a coltura in presenza di formulati di consorzi microbiologici (*micorrize*).

Come sostanze inquinanti sono state prese in esame i policlorobifenili (PCB) e le diossine (PCDD, PCDF), monitorando la loro concentrazione in suolo e pianta prima, durante e alla fine della fase vegetativa.

2. Individuazione del suolo e sua analisi.

L'attività di ricerca è partita con l'individuazione di un terreno ad uso agricolo adatto alla coltivazione di mais e che avesse un livello di inquinamento in PCB e diossine monitorabile.

Il Campionamento e l'analisi quantitativa dei PCB e diossine presenti del suolo di tre diversi siti ha consentito di individuare una area agricola (chiamata **Campo 1**) che, pur restando nei limiti consentiti per un suolo agricolo, aveva una concentrazione di octacloro-diossina (octacdd) ad un livello monitorabile ai fini della valutazione dell'effetto degradativo

In particolare sul Campo 1 sono stati individuato due valori medi per le diossine
EptaCDD: 3.3 ng/Kg (di terreno) - OctaCDD: 17.1 ng/Kg (di terreno)

I livelli di DL-PCB (dioxine like PCB) totali sono risultati pari a 0.118 µg/Kg, con un livello di tossicità equivalente (PCBs who-teq < 0.0001 µg/Kg).

Le analisi sono state effettuate mediante strumentazione di Gas-massa ad alta risoluzione.

Nella Tabella 1 allegata sono riportati in dettaglio i dati significativi dell'analisi.

3. Prove di Coltura in Vaso in terreno altamente inquinato.

3.1. Preparazione del terreno e sua caratterizzazione

Una quantità pesata (20 Kg) di Terreno proveniente dal **Campo 1** è stata addizionata con quantità nota di octacdd (2.0 mg) allo scopo di raggiungere una elevata concentrazione della diossina octaclorurata (Octa-CDD, valore teorico atteso 87000 ng/Kg) valutabile anche con strumentazione analitica anche non ad altra risoluzione (Gas-massa).

Per questa sperimentazione, tra le varie specie di diossina, è stata presa in considerazione la octa-cloro-diossina in ragione della relativamente minore tossicità rispetto alle altre specie variamente clorurate ed in ragione della relativamente maggiore presenza nei terreni dei campi presi in esame.

L'addizione ed il mescolamento sono stati effettuate sulla intera quantità di terreno, che è stato poi suddiviso in 4 aliquote poste in vasi di metallo ognuno contenente 5 Kg di terreno.

L'analisi del terreno addizionato artificialmente con octaCDD (**Terr-add-octacdd**) ha confermato l'alto livello di Octa-CDD atteso.

Valore sperimentale trovato: Octa-CDD 90000 ng/Kg

3.2. Coltivazione in vaso e sperimentazione Micorrize/biosurfattante

I quattro vasi sono stati seminati con mais (*Zea mais*) e trattati come di seguito riportato:

Vaso 1: semina (*crecscita mais senza ulteriori trattamenti*)

Vaso 2 semina + biosurfattante

Vaso 3 semina e trattamento con Micorrize (*Micosat F*)*

Vaso 4 semina e trattamento con Micorrize (*Micosat F*) + biosurfattante.

*(*Micosat F*): consorzi microbici forniti dalla CCS Aosta

3.3. Analisi del terreno a fine del ciclo vegetativo.

A fine del ciclo vegetativo, da ogni vaso sono stati prelevati circa 500 g di terreno e sottoposti ad analisi quantitativa per determinare i livelli di Diossine e PCB.

Nella Tabella 2 allegata sono riportati in dettaglio i dati significativi dell'analisi.

Come si può notare, entrambi i valori delle diossine prese in esame, diminuiscono sensibilmente nei Vasi 2-4 rispetto ai valori del Vaso 1 oggetto solo della semina (considerato come valore di partenza a cui fare riferimento).

In Particolare si osserva:

Vaso 2 semina e trattamento biosurfattante: **Octa-CDD diminuita del 54%**

Vaso 3 semina e trattamento con Micorrize: **Octa-CDD diminuita del 54%**

Vaso 4 semina e trattamento con Micorrize e biosurfattante: **Octa-CDD diminuita del 63%**

Si può quindi osservare che la maggiore diminuzione della Octa-CDD si osserva nel Vaso 4 che ha avuto inoculi di micorrize e aggiunte di biosurfattante.

Un andamento analogo nella diminuzione della concentrazione si può osservare anche per quanto riguarda la epta-CDD. Va precisato che la epta-CDD non era stata addizionata al terreno del Campo 1 e che il suo valore nel **Terr-add-octacdd** (30 ng/Kg) è nettamente superiore al terreno naturale del Campo 1. L'aumento di questo valore nel **Terr-add-octacdd** può essere attribuito a parziale mono dechlorurazione della octa-CDD addizionata al terreno.

Questi risultati sicuramente incoraggianti rispetto al possibile effetto di detossificazione del terreno da parte di colture trattate con Micorrize (*Micosat F*) e biosurfattante, non possono essere che considerati preliminari. Infatti i dati dovranno essere sia confermati statisticamente, con delle ripetizioni degli esperimenti, sia ampliati per quanto concerne l'effetto della concentrazione e tipologia del biosurfattante e del numero degli inoculi di *Micosat F*.

4. Esperimenti di coltura di mais in Campo.

Il **Campo 1**, precedentemente individuato e caratterizzato nel suo profilo medio di inquinamento per PCB e Diossine, è stato parcellizzato in 20 aree ognuna di circa 100 mq ciascuna. Il campo è stato seminato a mais e ogni Tesi sperimentale è stata ripetuta 4 volte secondo lo schema sotto riportato.

Tesi 1 (T1): Terreno Nudo (campo non seminato)

Tesi 2 (T2): Terreno con semina

Tesi 3 (T3): Terreno con semina + Biosurfattante

Tesi 4 (T4): Terreno con semina + (*Micosat F*)

Tesi 5 (T5): Terreno con semina ++ (*Micosat F*) + Biosurfattante

Suolo senza vegetazione				
I Blocco	II Blocco	III Blocco	IV Blocco	
T4	T2	T3	T5	
T5	T1	T4	T2	
T2	T4	T1	T3	
T1	T3	T5	T4	
T3	T5	T2	T1	
Suolo senza vegetazione				

Il Prospetto in dettaglio è riportato in Allegato. Le Tesi T2, T3, T4 e T5 sono state seminate con mais (*Zea mais*) e trattati come sopra riportato:

Il campo ed il ciclo vegetativo è stato curato secondo le norme di una buona pratica agricola. A fine ciclo vegetativo sono state fatte alcune comparazioni sulle dimensioni delle piante nelle varie parcelle e sulla tipologie ed estensione dell'apparato radicale. Come già riscontrato in altre c in altre sperimentazioni di colture in presenza di consorzi microbici della rizosfera, l'apparato radicale risulta più esteso (10-15 % valore medio). L'altezza del vegetale (trattato con micorrize, risulta più elevato per un valore medio del 5-7 %).

Il Terreno, a fine ciclo vegetativo,) è stato analizzato ed i risultati sono riportati in Tabella 3 (campione medio per tipologia di Tesi).

Analogamente, il vegetale (fusto, foglie e granella, campione medio per ogni tipologia di Tesi) è stato analizzato ed i risultati sono riportati in Tabella 4

Analisi del terreno

Per quanto concerne le concentrazioni dei DL-PCB Totali non si riscontrano significative variazioni dei valori nelle varie Tesi in cui è stato suddiviso il campo. Va comunque rilevato che tutti i valori a fine coltura sono inferiori (20-30%) se paragonati ai valori delle rispettive tesi prima della coltivazione.

Per i valori dei PCB Totali si riscontra per la Tesi 1 (terreno non seminato) un valore sostanzialmente analogo a quello del campo prima della sperimentazione. Si riscontra nelle Tesi 3, 4 e 5 (trattate con biosurfattante e micorrize) una diminuzione dei PCB Totali del 15-20%. La tesi 2 (campo seminato) riscontra un aumento dei PCB Totali del 10%. Va comunque precisato che questi valori sono riferiti a campioni medi delle Tesi e che una più accurata e precisa valutazione potrà essere ottenuta analizzando in dettaglio le singole tesi ognuna ripetuta quattro volte nello schema di coltivazione del campo.

Per quanto concerne le concentrazioni delle Diossine rilevabili nel terreno delle singole Tesi (valore medio, Tabella 3) si riscontra un dato di non immediatamente razionalizzabile. Se nelle Tesi 1 (terreno nudo) e tesi 2 (terreno con solo semina) si ritrova un valore pressoché identico (37 e 36 ng/Kg rispettivamente), nelle rimanenti Tesi si ritrovano valori significativamente più alti :

Tesi 3 (semina + bisurfattante): 80,0 ng/ Kg

Tesi 4 (semina +Micosat): 67,0 ng/Kg

Tesi 5 (semina + Micosat +biosurf.) 49,0 ng/Kg

Va comunque rilevato che i valori delle diossine prese in esame (in tutte le tipologie di Tesi) sono circa il doppio rispetto agli analoghi valori medi del campo prima della coltivazione (Tabella 1).

Dalla Tesi 3 si riscontra che la presenza del Biosurfattante fa aumentare notevolmente la concentrazione delle diossine nel terreno. La presenza dei soli consorzi micorrizici (Tesi 4) sembra portare allo stesso fenomeno anche se in proporzione minore rispetto alla Tesi 3. Nella Tesi 5 si riscontra un valore delle diossine "markers" più elevato rispetto al terreno nudo, ma comunque in diminuzione rispetto ai valori delle Tesi 3 e 4.

Se escludiamo che il biosurfattante ed il Micosat possano essere contaminati da varie specie di diossine resta la ragionevole ipotesi che la loro presenza nel terreno possa rendere più visibile alla analisi le specie di diossine presenti.

Va precisato con decisione che una ipotesi del genere deve essere accuratamente vagliata e confermata con un numero elevato di analisi e sperimentazioni prima di poter essere riportata all'attenzione della comunità scientifica. Sono attualmente in corso una serie di esperimenti per spiegare univocamente questi dati.

Analisi del Vegetale

Per quanto concerne le concentrazioni dei DL-PCB Totali (in ng/Kg di vegetale) non si riscontrano valori fuori della norma (Scala I-TEQ) nelle varie Tesi in cui è stato suddiviso il campo (Tabella 4).

Per quanto concerne le diossine “markers” prese in esame da questa sperimentazione va riscontrato che le loro concentrazioni portano a valori di tossicità comunque al di sotto del Limite imposto dalla normativa vigente per la commercializzazione di frutta e verdura (0.40 ng/kg di prodotto). E' necessaria una analisi dettagliata del materiale vegetale nelle sue varie parti (*radici, fusto, foglie e granella*) e per le ripetizioni di Tesi messe a coltura per individuare eventuali zone di accumulo nel vegetale delle diossine analizzate.

5. Considerazioni conclusive sulla ricerca effettuata

I preliminari risultati ottenuti dagli esperimenti in **Vaso** e in **Campo** sono da considerarsi sicuramente incoraggianti. Infatti ci sono buone indicazioni su un possibile effetto di detossificazione del suolo da parte di consorzi microbiologici (micorrize) associati a biosurfattanti. Inoltre i dati in campo confermano in maniera certa che il trattamento con micorrize e/o micorrize + biosurfattante induce una migliore crescita della pianta e del suo apparato radicale.

Ai fini di una completa analisi di questo sistema suolo/vegetale sarebbe opportuno analizzare la specie vegetale in tutte le sue parti: radici, fusto/foglie, granella e per tutte le ripetizioni messe a coltura, compreso i vasi a coltura in serra. Questi dati, validati statisticamente, darebbero informazioni certe sulla quantità di composti aromatici clorurati degradati e/o assorbiti dalla pianta e sulle parti della pianta che vedono un loro eventuale accumulo. I dati provenienti dalle colture in serra oltre a validare i dati in campo (*stesso terreno di coltura*) consentirebbero di valutare l'apporto di inquinanti provenienti da ricadute atmosferiche (*assenti in serra*).

Tutti i campioni di radici, fusto/foglie e granella (in campo e serra) sono stati prelevati e conservati in maniera opportuna in attesa di una analisi completa.

Si precisa che per poter completare il lavoro di analisi in maniera esaustiva, come su esplicitato, si necessita di un ulteriore finanziamento alla ricerca per una cifra di 70.000 Euro (più oneri di legge per le strutture universitarie). Questo ulteriore finanziamento consentirebbe di completare e validare la ricerca in oggetto, i cui primi risultati la indicano sicuramente promettente sia per quanto riguarda la possibilità di detossificare terreni inquinati sia per chiarire i meccanismi di veicolazione, assorbimento, accumulo e degradazione di composti policiclici aromatici in campi destinati all'agricoltura e in specie vegetali.

Prof. Gennaro Piccialli

TABELLA 1

DATI INQUINAMENTO TERRENO del Campo 1
(I dati sono riferiti al terreno prima della messa a coltura del Mais)

DL-PCB (DIOXINE LIKE PCB)

	Campione 1 (µg/kg)	Campione 2 (µg/kg)
DL-PCB (Tot)	0,137	0,118
I-TEQ	< 0.0001	< 0.0001
PCB (Tot).	1,45	1,56

DL-PCB : Dioxine like Poli-Cloro-Bifenili
DECA-CB: Deca-Cloro-Bifenili

DIOSSINE

	Campione 1 ng/kg	Campione 2 ng/kg
EPTA-CDD	3,4	3,2
OCTA-CDD	15,5	18,7
EPTA-CDF	1,4	2,2
OCTA-CDF	3,0	2,7
I-TEQ	< 0,1	0,225

I Valori delle altre tipologie di Diossine (non riportate nell'elenco) sono minori di 0.1 ng/kg di terreno secco

EPTA-CDD: Epta-Cloro-Dibenzodiossina
OCTA-CDD: Octa-Cloro-Dibenzodiossina
EPTA-CDF: Epta-Cloro-Dibenzodiossina-Furano
OCTA-CDF: Octa-Cloro-Dibenzodiossina-Furano
I-TEQ: Tossicità Totate del terreno (Espressa in Tossicità equivalenti, scala Internazionale).

TABELLA 2

DATI terreno (dal Campo 1) ed addizionato artificialmente con octaCDD ed usato per coltura in vasi con Mais

DL-PCB (DIOXINE LIKE PCB)

		VASO 1	VASO 2	VASO 3	VASO 4
	SENZA SEMINA (TERRENO NUDO) µg/kg	SEMINA µg/kg	SEMINA + BIOSURFATT. µg/kg	SEMINA + MICOSAT. µg/kg	SEMINA + BIOSURFATT. + MICOSAT µg/kg
DL-PCB (Tot)	1,02	0,299	0,479	0,366	0,275
DECA-CB	0,4	0,152	0,186	0,155	0,21
I-TEQ	0,00055	< 0,0001	0,00017	< 0,0001	< 0,0001
PCB TOT.	17,0	3,80	5,30	3,93	5,00

(I dati sono riferiti all'analisi del terreno a fine coltura del Mais in vaso)

DIOSSINE

		VASO 1	VASO 2	VASO3	VASO 4
	SENZA SEMINA (TERRENO NUDO) ng/kg	SEMINA ng/kg	SEMINA + BIOSURFATT. ng/kg	SEMINA + MICOSAT. ng/kg	SEMINA + BIOSURFATT. + MICOSAT ng/kg
EPTA-CDD	30,0	31,0	14,2	19,9	15,0
OCTA-CDD	90060	79730	36180	36090	29145
EPTA-CDF	2,8	6,1	< 01	3,0	13,4
OCTA-CDF	35,0	35,0	17	9,4	104,0
I-TEQ	90,70	80,35	36,34	36,38	29,53

TABELLA 3

DATI INQUINAMENTO TERRENO - Campo 1 Coltivato a MAIS -
(I dati sono riferiti all'analisi del terreno a fine coltura del Mais in vaso)

DL-PCB (DIOXINE LIKE PCB)

	1 SENZA SEMINA (TERRENO NUDO) µg/kg	2 SEMINA µg/kg	3 SEMINA + BIOSURFATT. µg/kg	4 SEMINA + MICOSAT. µg/kg	5 SEMINA + BIOSURFATT. + MICOSAT µg/kg
DL- PCB (Tot)	0,075	0,091	0,086	0,081	0,069
DECA- CB	0,375	0,36	0,11	0,18	0,27
I-TEQ	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0,00021	< 0.0001
PCB TOT.	1,66	1,84	1,39	1,34	1,38

DL-PCB : Dioxine like Poli-Cloro-Bifenili
DECA-CB: deca-Cloro-Bifenili

DIOSSINE

	1 SENZA SEMINA (TERRENO NUDO) ng/kg	2 SEMINA ng/kg	3 SEMINA + BIOSURFATT. ng/kg	4 SEMINA + MICOSAT. ng/kg	5 SEMINA + BIOSURF AT. + MICOSA T ng/kg
EPTA- CDD	< 0,1	4,5	15,8	7,2	2,4
OCTA- CDD	37,0	36,0	80,0	67,0	49,0
EPTA- CDF	2,8	2,7	15,4	6,1	3,4
OCTA- CDF	7,0	4,8	60,0	29,2	28,2
I-TEQ	< 0,1	0,193	7,97	0,658	0,175

I Valori delle altre tipologie di Diossine (non riportate nell'elenco) sono minori di 0.1 ng/kg di terreno secco

EPTA-CDD: Epta-Cloro-Dibenzodiossina
OCTA-CDD: Octa-Cloro-Dibenzodiossina
EPTA-CDF: Epta-Cloro-Dibenzodiossina-Furano
OCTA-CDF: Octa-Cloro-Dibenzodiossina-Furano
I-TEQ: Tossicità Totale del terreno (*Espressa in Tossicità equivalenti*).

TABELLA 4

DATI Inquinamento del Vegetale (*Mais*) messo a coltura nel campo 1

I dati sono riferiti a campione medio di vegetale (*fusto foglie e granella*),

DL-PCB (DIOXINE LIKE PCB)

	2 SEMINA ng/kg	3 SEMINA + BIOSURFATT. ng/kg	4 SEMINA + MICOSAT. ng/kg	5 SEMINA + BIOSURFATT. + MICOSAT ng/kg
DL-PCB (Tot)	21,1	26,3	18,8	19,1
I-TEQ	0,014	0,024	0,013	0,013

DIOSSINE

	2 SEMINA ng/kg	3 SEMINA + BIOSURFATT. ng/kg	4 SEMINA + MICOSAT. ng/kg	5 SEMINA + BIOSURFATT. + MICOSAT ng/kg
EPTA-CDD	< 0,05	< 0,05	0,16	< 0.05
OCTA-CDD	0,38	0,47	0,61	0.55
EPTA-CDF	< 0,05	0,12	0,15	0,18
OCTA-CDF	< 0,05	0,31	0,19	0.21
I-TEQ	0,169	0,17	0,255	0,175