



Componente T3 - Sviluppo di strategie di gestione e trattamento dei sedimenti di dragaggio contaminati



**Prodotto T3.3.1 –
Report azione pilota**

Acronimo del Progetto	GRRinPORT
Titolo del Progetto	Gestione sostenibile dei rifiuti e dei reflui nei porti
N. Convenzione	UniCa – Prot. N. 0082843 del 09/05/2018 – [Classif. III/19]
CUP	
Programma	INTERREG ITALIA-FRANCIA MARITTIMO 2014-2020
Asse prioritario	2
Obiettivo Specifico	6C2
Data avvio Progetto	01.04.2018
Durata	36 mesi+ 3 mesi proroga
Prodotto No.	T3.3.1.
Nome del Documento	Report azioni pilota
Revisione/Approvazione del (data)	26/06/2021
Componente	T3 - SVILUPPO DI STRATEGIE DI GESTIONE E TRATTAMENTO DEI SEDIMENTI DI DRAGAGGIO CONTAMINATI
Data sottomissione prodotto da Progetto approvato	30/06/2021
Data sottomissione effettiva	30/06/2021
Autore Principale	Isabella Pecorini
Istituzione	Università di Pisa
E-mail	isabella.pecorini@unipi.it
Abstract	In questo documento si restituiscono i risultati dei test a scala pilota effettuati sui sedimenti trattati tramite soil washing, elettrocinesi e landfarming.
Keywords	soil washing, elettrocinesi, landfarming

Autori

Nome	Istituzione	Contatto
Isabella Pecorini	UNIFI	isabella.pecorini@unifi.it
Renato Iannelli	UNIFI	renato.iannelli@unifi.it
Alessio Ceccarini	UNIFI	alessio.ceccarini@unifi.it
Simona Di Gregorio	UNIFI	simona.digregorio@unifi.it
Fabiano Pilato	ISPRA	fabiano.pilato@isprambiente.it
Simona Macchia	ISPRA	simona.macchia@isprambiente.it

Revisore

Nome	Istituzione	Contatto
Andrea La Camera	ISPRA	andrea.lacamera@isprambiente.it

Indice

Autori	2
Revisore	2
Indice	3
1 Premessa	5
2 Area attrezzata per il trattamento di sedimenti di dragaggio contaminati	6
3 Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze.....	6
4 Descrizione delle prove pilota di elettrocinesi e principali risultanze.....	6
4.1 Metodi analitici.....	6
4.2 Caratterizzazione SIN di Piombino	8
4.3 Speciazione dei metalli nel sedimento	10
4.3.1 Applicazione della procedura BCR.....	10
4.4 Setup esperimento	14
4.4.1 Modalità di acquisizione dati	18
4.5 Impianto pilota EKR.....	19
4.6 Risultati e discussioni	22
4.6.1 Caratterizzazione chimica campione P84	22
4.6.2 Test pilota di EKR	23
4.6.3 Rimozione contaminanti a 70 giorni	28
4.6.4 Contaminanti Inorganici (70 giorni)	29
4.6.5 Rimozione contaminanti a 95 giorni	30
4.6.6 Contaminanti Inorganici (95 giorni)	32
4.7 Conclusioni.....	35
5 Descrizione delle prove di Landfarming e principali risultanze	37
5.1 Introduzione.....	37
5.2 Risultati	37
5.2.1 Cinetica di degradazione degli idrocarburi pesanti ($C > 12$)	38
5.2.2 Monitoraggio del processo di umificazione.....	41
5.2.3 Deplezione contaminanti organici minoritari.....	42

5.3	Analisi della comunità batterica	42
5.3.1	Estrazione del DNA dal suolo per analisi metagenomiche.	42
5.3.2	Metabarcoding e preparazione delle librerie	43
5.3.3	Analisi metagenomiche	43
5.4	Conclusioni	59
6	Biobliografia	61
6.1	Normativa	63
Appendice A - Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze		64
L'impianto pilota		64
Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze		69
Materiali e metodi		69
Discussione dei risultati ottenuti		73
Conclusioni e prospettive		79

1 Premessa

Il presente report contiene la descrizione dei setup sperimentali, delle condizioni operative adottate e la discussione critica dei risultati delle prove a scala pilota grazie alle quali saranno valutate le implicazioni per il trattamento su piena scala.

Il gruppo di lavoro ha studiato tre tipologie di trattamento a scala pilota: soil washing, elettrocinesi e landfarming.

2 Area attrezzata per il trattamento di sedimenti di dragaggio contaminati

L'area attrezzata è stata sviluppata per applicare uno schema di trattamento basato su un processo preliminare di lavaggio e separazione granulometrica seguito dall'applicazione di elettrocinesi e landfarming su frazioni granulometriche specifiche originate dalla prima fase di trattamento. L'area costituirà uno strumento/risorsa di grande utilità per lo studio di schemi di trattamento da applicare, anche secondo combinazioni diverse, a sedimenti prodotti da future attività di dragaggio.

Le aree attrezzate sono fisicamente collocate in due siti distinti:

- l'impianto pilota di *soil washing* di Livorno, gestito da ISPRA
- gli impianti pilota di *elettrocinesi* e *landfarming* di Pisa, gestiti da UNIFI.

3 Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze

Le prove sperimentali circa il soil washing sono state riportate al Prodotto T3.2.2 delle attività T3.2 precedenti oltre che in Appendice A del presente documento.

4 Descrizione delle prove pilota di elettrocinesi e principali risultanze

La parte sperimentale a scala pilota è stata svolta presso il Dipartimento di Ingegneria dell'Energia, dei Sistemi, del Territorio e delle Costruzioni, inserendosi all'interno delle attività già previste dei test di laboratorio sui sedimenti. Le analisi chimiche volte alla determinazione dell'efficacia del trattamento sono state svolte presso il laboratorio esterno "Geochim di Rosi e C. s.a.s. – Gualdo Tadino (PG)". Le analisi chimiche di dettaglio con preparative particolari sono state svolte presso il laboratorio DESTEC e di biologia di UNIFI.

4.1 Metodi analitici

Una volta prelevati, i campioni devono essere analizzati e caratterizzati, seguendo le linee guida del Manuale. All'interno di quest'ultimo sono previsti parametri da analizzare, divisi in base alla loro natura come *fisici*, *chimici* e *microbiologici*, prevedendo inoltre che parallelamente vengano effettuate le analisi ecotossicologiche.

Tabella 1 Parametri analitici per sedimenti di aree portuali fisici, chimici e microbiologici

	Parametro	Specifiche
Analisi Fisiche	Descrizione macroscopica	Colore, odore, presenza di concrezioni, residui di origine naturale o antropica
	Granulometria	Frazioni granulometriche al $1/2\Phi$ dove $\Phi = \log 2$ (diametro in mm/diametro unitario in mm)
	Mineralogia ⁽²⁾	Principali caratteristiche mineralogiche
	Composti organostannici ⁽¹⁾	Sommatoria: Monobutil, Dibutil e Tributilstagno
	Metalli	Al, As, Cd, Cr totale, Pb, Hg, Ni, Cu, V, Zn
	Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)	IPA totali: [Fluorantene, Naftalene, Antracene, Benzo(a)pirene, Benzo(b)fluorantene, Benzo(k)fluorantene, Benzo(g,h,i)perilene, Indopirene, Acenafteene, Fluorene, Fenantrene, Pirene, Benzo(a)antracene, Crisene, Dibenzo(a,h)antracene, Indeno(1,2,3,c-d)pirene]
	Idrocarburi Totali	Possibilmente distinti in C<12 e C>12
	Pesticidi Organoclorurati	Aldrin, Dieldrin, α -esaclorocicloesano, β -esaclorocicloesano, γ -esaclorocicloesano (Lindano, DDD, DDT, DDE (per ogni sostanza: somma degli isomeri 2,4 e 4,4), HCB, eptacloro, eptacloro epossido, ossiclordano, cis-clordano, trans-clordano, trans-nonacloro, cis-nonacloro, eldrin, mirex, metossicloro
	Policlorobifenili	Congeneri: PCB 28, PCB 52, PCB 77, PCB 81, PCB 101, PCB 118, PCB 126, PCB 128, PCB 138, PCB 153, PCB 156, PCB 169, PCB 180 e loro sommatoria)
	Clorobenzeni	Esaclorobenzene
Analisi chimiche	Carbonio organico totale o sostanza organica totale	
	Azoto totale	
	Fosforo totale	
	Coliformi	<i>Escherichia coli</i>
Analisi microbiologiche	Enterococchi	Fecali
	Salmonelle	
	Clostridi	Spore di clostridi solfito-riduttori
	Stafilococchi	
	Miceti ⁽²⁾	

1) Parametro da ricercare su 1/3 dei campioni, scelti in modo tale da avere una distribuzione omogenea rispetto al volume di materiale da caratterizzare.

2) Parametro da ricercare su almeno 3 campioni, scelti in modo tale da avere una distribuzione omogenea rispetto al volume di materiale da caratterizzare, nel caso di sedimenti di cui si chiede l'utilizzo per ripascimenti. Il numero dei campioni da considerare deve essere superiore in casi di elevata eterogeneità geochimica dei materiali.

4.2 Caratterizzazione SIN di Piombino

Nell'ambito del Progetto GRRinPORT è stata effettuata a cura di ISPRA la caratterizzazione delle aree “Darsena Lucchini” e “Darsena dei Pescherecci”, attraverso il prelievo mirato di piccoli quantitativi di sedimento dallo strato superficiale marino (livello 0-50 cm) nell'ordine di 2 o 3 kg in 10 punti differenti. Le operazioni sono state effettuate attraverso mezzo nautico e operatore subacqueo, in data 22 marzo 2019, seguendo lo schema a maglia quadrata indicato in fig. 1.

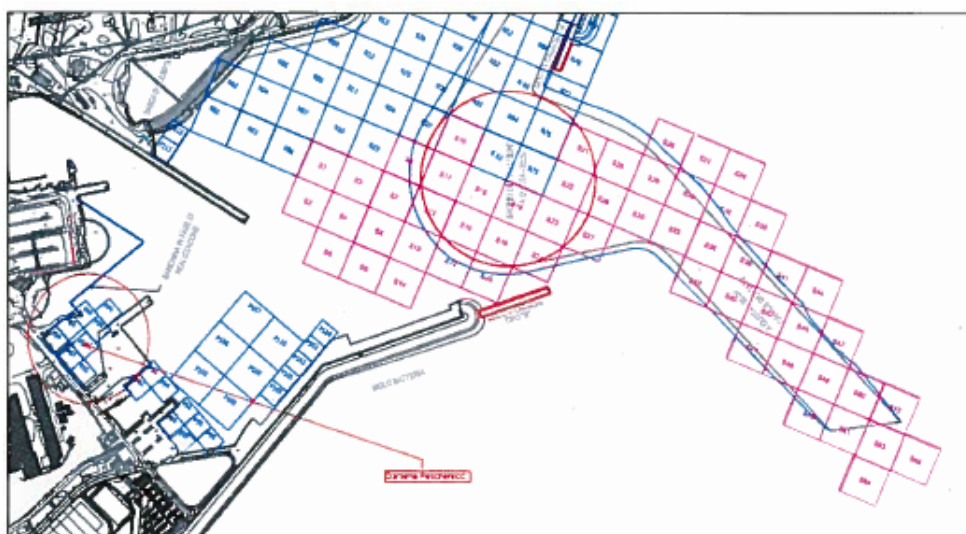


Figura 1 Schema adottato per il campionamento nel porto di Piombino

La caratterizzazione della Darsena Pescherecci è stata effettuata, come previsto, secondo le linee guida del Manuale.

Di seguito sono riportate la caratterizzazione granulometrica della Darsena e la caratterizzazione dei metalli pesanti, target dell'esperimento effettuato e descritto in questa componente.

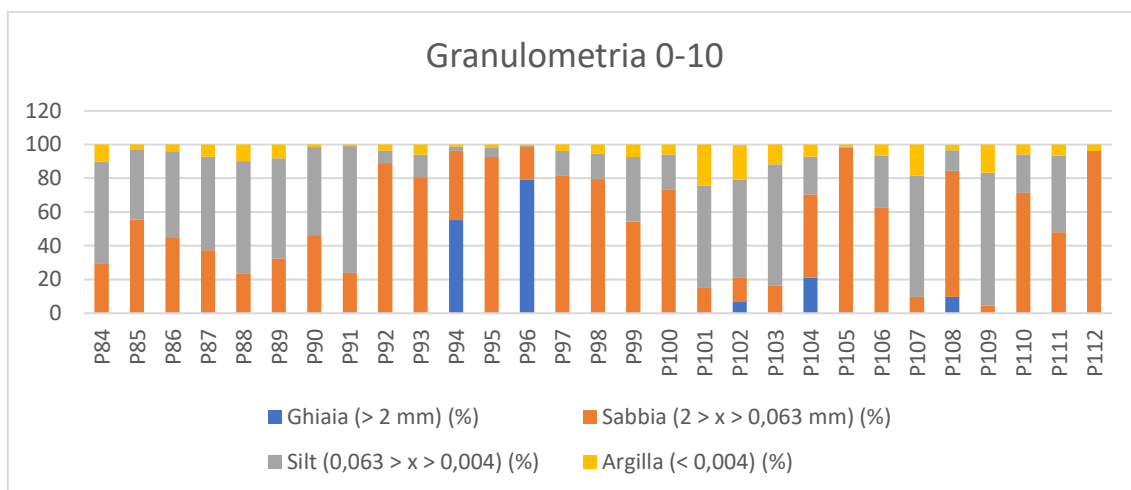


Figura 2 Granulometria superficiale

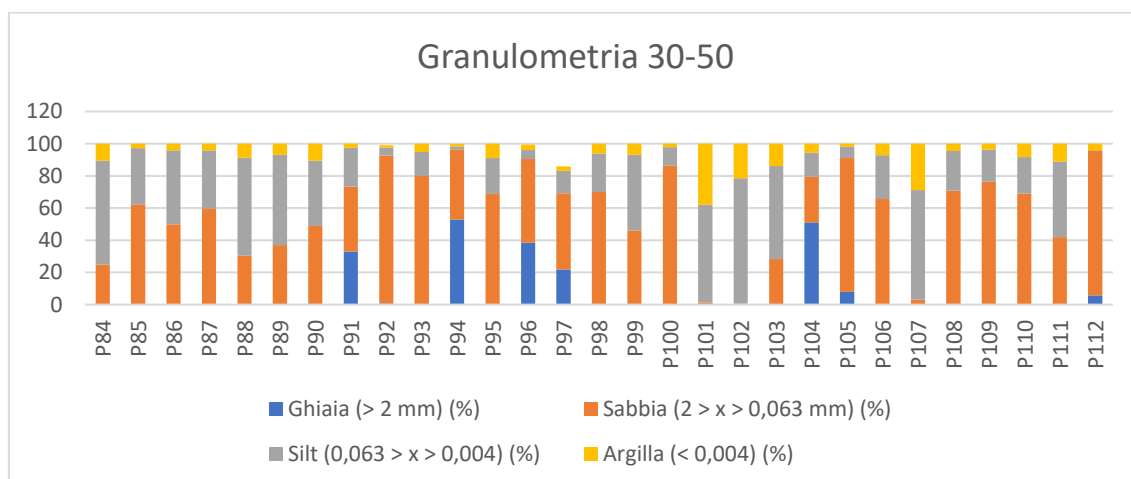


Figura 3 Granulometria profonda

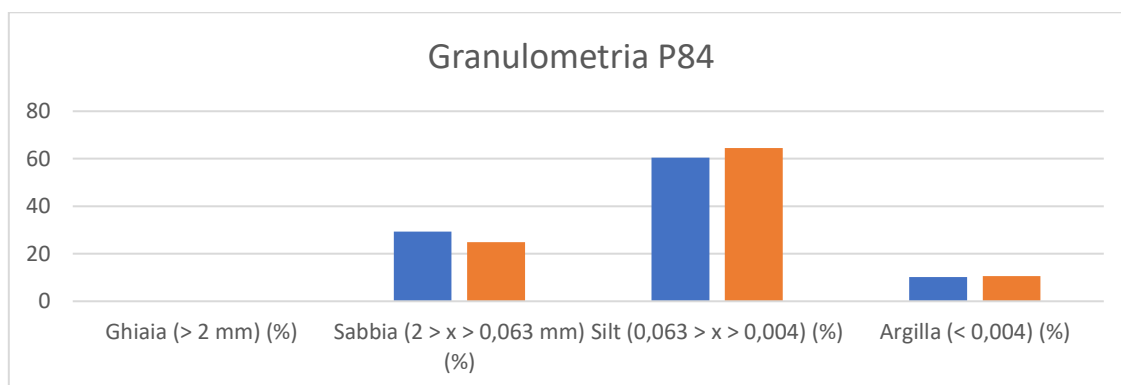


Figura 4 Granulometria campione P84

4.3 Speciazione dei metalli nel sedimento

Le analisi generalmente effettuate sui sedimenti sono limitate alla determinazione della concentrazione totale del metallo; i risultati derivanti da tali analisi non danno però utili informazioni in merito alla biodisponibilità di elementi potenzialmente tossici; quindi, sono state sviluppate numerose procedure di estrazione sequenziale che, basandosi sull'applicazione successiva di estraenti di forza differenti (soluzioni chimiche acide e basiche), permettono di valutare la quantità di metallo presente in varie "frazioni" del campione. L'uso di estraenti applicati in sequenza permette di dissolvere indipendentemente e in maniera selettiva le frazioni di metalli legate alle differenti fasi del solido.

4.3.1 Applicazione della procedura BCR

Per i sedimenti oggetto dello studio, è stata applicata la procedura di speciazione emanata dalla *Community Bureau of Reference (BCR) proposed by the Standard, Measurements and Testing Programme (1987)*. Tale procedura è stata redatta per armonizzare gli schemi di estrazione singoli e sequenziali per i suoli e i sedimenti.

Ad oggi, la procedura BCR è l'unica procedura standardizzata per la quale esiste un materiale di riferimento certificato, che consente di convalidare le prestazioni analitiche. Tale procedura prevede l'individuazione di tre fasi, come mostrato in Tabella 2 (Iannelli et al., 2015).

Tabella 2 Procedura BCR di estrazione sequenziale: estraenti e fasi estratte

Step	Extraction procedure	Fraction
I	40 cm ³ of 0.11 mol dm ⁻³ CH ₃ COOH per 1 g of dry soil sample was shaken overnight on mechanical shaker at temperature of 25°C	Exchangeable, water- and acid-soluble
II	40 cm ³ of 0.1 mol dm ⁻³ NH ₂ OH.HCl (adjusted to pH=2 with HNO ₃) was added to residue and extracted overnight at 25°C	Reducible species (per esempio i complessi formati con gli idrossidi di Fe-Mn))
III	10 cm ³ of 8.8 mol dm ⁻³ H ₂ O ₂ was added to residue and digested firstly for 1 h at 25°C, and then for 1 h at 85°C in a water bath with a second volume of hydrogen peroxide. Next the solution was evaporated to a few cm ³ . After cooling the residue was extracted overnight with 50 cm ³ of 1.0 mol dm ⁻³ CH ₃ COONH ₄ (adjusted to pH=2 with HNO ₃), at a temperature of 25°C.	Oxidisable species (per esempio la materia organica e i solfuri)

La procedura di estrazione utilizzata è stata applicata per valutare la concentrazione dei metalli Pb, Ni, Zn, Cu, Cd e Cr, estratti a ogni stadio e indirettamente anche la loro mobilità e biodisponibilità nei campioni dei sedimenti dal SIN del porto di Piombino.

L'estrazione è stata svolta nei laboratori di Biologia dell'Università di Pisa, nella sede dell'Orto Botanico. Sono stati prodotti 5 campioni a fini statistici, per ogni frazione estratta.

Sono stati confezionati anche dei campioni di soluzioni chimiche utilizzate durante la procedura di estrazione, per potere essere analizzate e confrontate con i campioni nello spettrometro di massa al plasma presente nel dipartimento di ingegneria industriale e di proprietà del DESTEC dell'Università di Pisa (iCAP 7400 Duo; Thermo Fisher Scientific). In particolare, abbiamo analizzato un campione di acido acetico 0.11 M utilizzato per l'estrazione della frazione Exchangeable, un campione di cloridrato di idrossilamina 0.1 M aggiustato a pH 2 con acido nitrico HNO_3 per la frazione riducibile e un campione di acetato d'ammonio 1 M aggiustato anch'esso a pH 2 con acido nitrico per la frazione oxidisable.



Figura 5 Spettrometro ad emissione atomica presente al DESTEC UniPI

La determinazione della concentrazione dei metalli pesanti presenti è stata eseguita in spettrometria ad emissione atomica accoppiata induttivamente al plasma d'argon con rivelatore ottico (ICP-OES) (Fig. 5). Un'aliquota di campione viene inviata, tramite una pompa peristaltica, al nebulizzatore pneumatico concentrico o di Meinhard, da dove l'aerosol formatosi va alla torcia ICP. Qui il campione viene immesso nel plasma dove, ad una temperatura compresa tra 7000 e 10000°K, ogni elemento raggiunge un livello energetico superiore al suo stato fondamentale. Gli elettroni dell'atomo eccitati tornano allo stato fondamentale per via diretta oppure attraverso livelli energetici intermedi; in questi passaggi avviene l'emissione di energia luminosa che genera uno spettro di emissione a diverse lunghezze d'onda (righe o linee). Ciascuna riga dello spettro è originata da una particolare transizione elettronica tra due differenti livelli energetici, e poiché ciascuna specie atomica è caratterizzata da una serie di possibili stati o livelli energetici, gli atomi producono un proprio spettro

di emissione caratteristico. L'intensità di una riga spettrale dipende sia dalla probabilità della transizione che dal numero di atomi che sono in grado di effettuarla. Poiché il numero di atomi eccitati è rapportabile al numero complessivo di atomi presenti. È possibile stabilire una relazione lineare tra l'intensità della radiazione elettromagnetica emessa e la quantità degli atomi presenti nell'analita. Il rivelatore ottico, posto dopo la torcia, permette l'identificazione degli elementi sulla base delle lunghezze d'onda emesse e la quantificazione attraverso la misura dell'intensità del segnale; la determinazione quantitativa degli analiti avviene per confronto delle intensità dei segnali ottenuti sul campione, rispetto a soluzioni di calibrazioni multi-elemento a concentrazione nota.

I risultati dell'estrazione sequenziale dei 3 campioni di terreno (P84) è presentata nelle figure (fig. 7,8, 9) successive. Si può osservare che la frazione scambiabile (Exchangeable) è bassa per tutti i metalli osservati, supera il 10% solo nei casi dello Zn (40%), in tutti i campioni sotto studio, e del Cd (25%) solo nel campione P87. La Frazione legata al Fe-Mn (idr) ossidi, le cosiddette specie chimiche riducibili, è significativa per il Pb (circa il 10%), Zn (circa il 30%) e Cd (35%). La frazione legata alla materia organica e ai solfiti è particolarmente elevata per il Pb (86%), Cu (58%) e nel Cr (64%); è costituita da complessi chimici ossidabili in ambiente acido. La frazione residua è particolarmente elevata per il Ni (80%), Cu (40%) e Cr (33%). Il frazionamento dei metalli mostra che, eccetto per il Nichel, gran parte dei metalli sono presenti nella frazione mobile. A differenza dei campioni prelevati nel porto di Livorno, nel precedente progetto Life+Sekret LIFE12 ENV/IT/00044 (Iannelli et al., 2015), i sedimenti risultano in gran parte rimuovibili: per esempio lo Zn nel porto di Livorno (fig. 6) risulta essere presente nella frazione residua non assoggettabile a decontaminazione, a differenza dello Zn presente nel porto di Piombino, il quale si distribuisce uniformemente nelle varie frazioni.

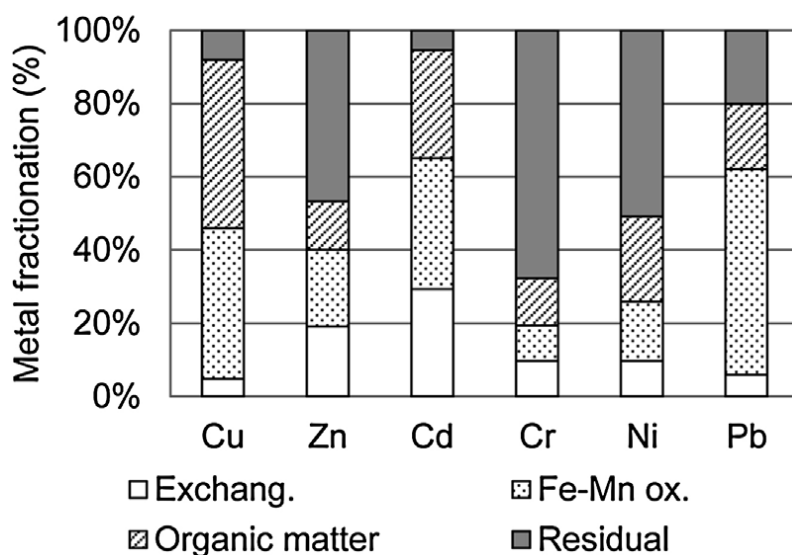


Figura 6 Frazionamento metalli pesanti Masi et al.

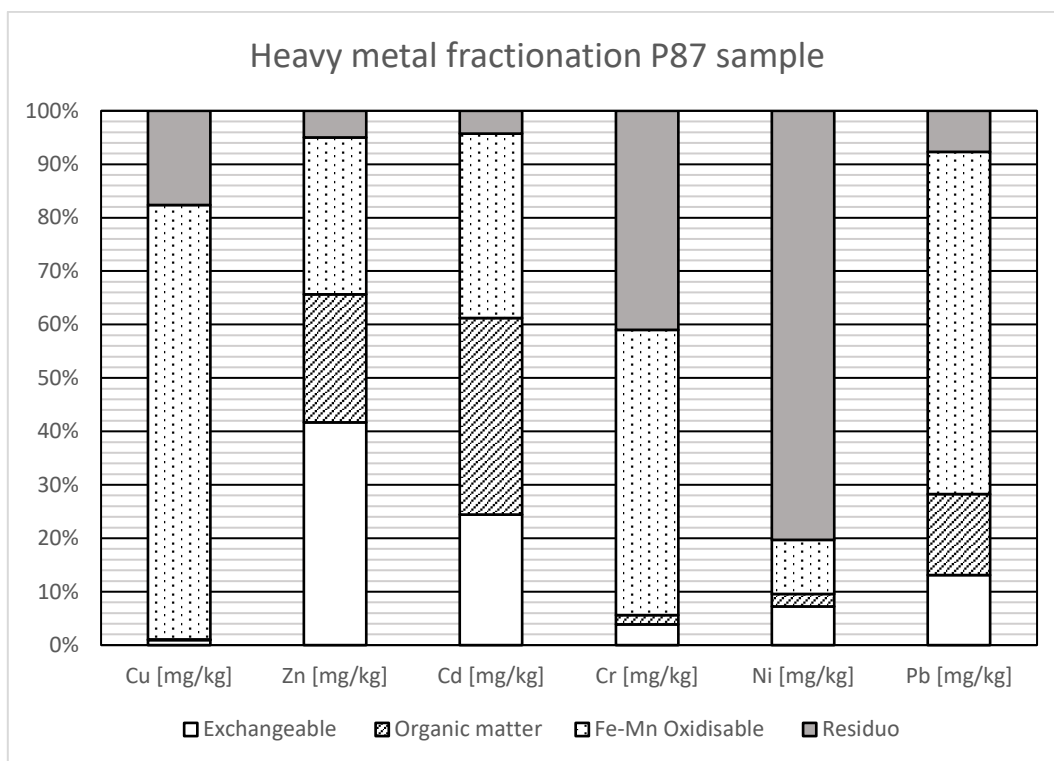


Figura 7 Frazionamento metalli Campione P87

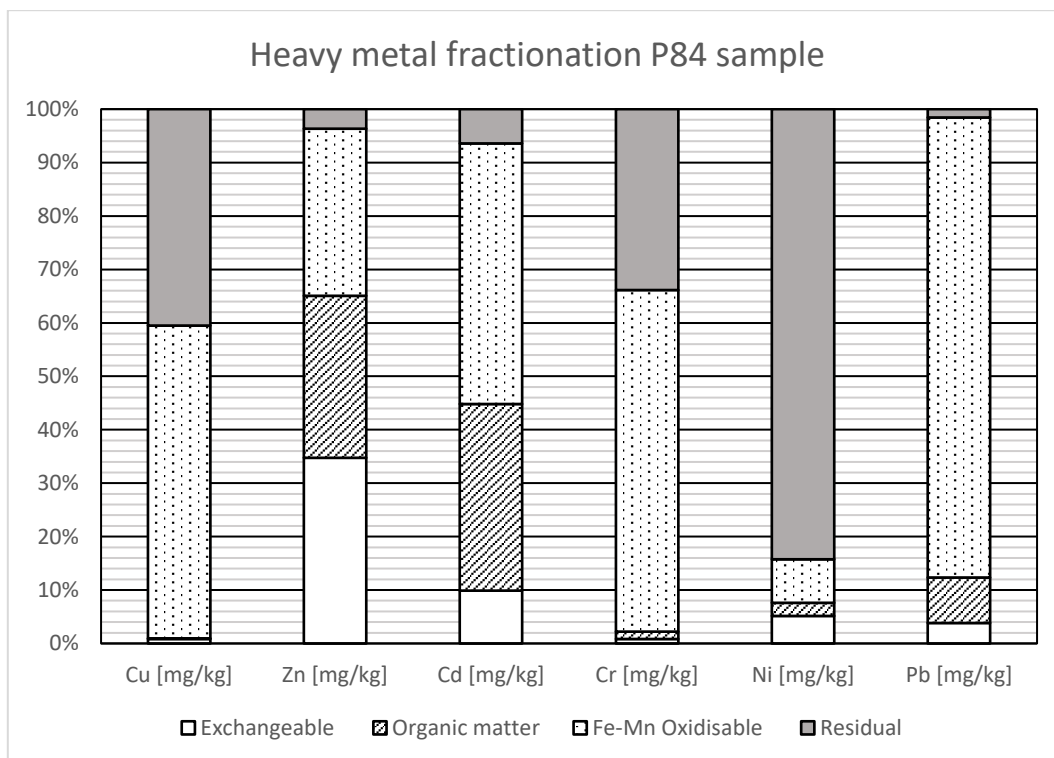


Figura 8 Frazionamento metalli Campione P84

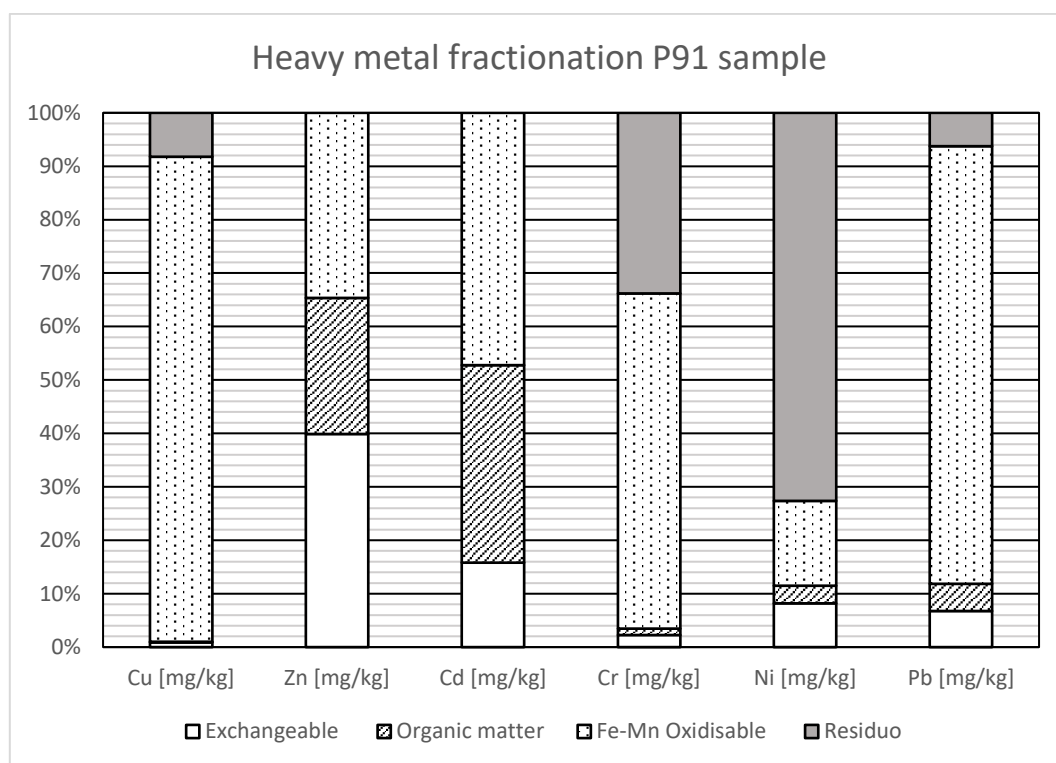


Figura 9 Frazionamento metalli Campione P91

4.4 Setup esperimento

L'impianto oggetto della sperimentazione è stato pensato e progettato per ospitare il trattamento di una matrice solida come i sedimenti marini dal peso totale di circa 60 kg, equivalente ad un cilindro cavo di spessore 100 mm e di altezza 460 mm circa. I livelli della soluzione elettrolitica sono stati impostati a 430 mm dal fondo, circa 30 mm al di sotto del livello del sedimento, per evitare che si verificasse un flusso idraulico dell'elettrolita sulla superficie della matrice solida. Per prevenire il passaggio di materiale e un deflusso repentino delle soluzioni elettrolitiche, la matrice solida è stata isolata dalle celle elettrolitiche tramite una rete di metallo accoppiata con carta filtro; la rete di metallo ha come scopo di sostenere strutturalmente la carta filtro. Il materiale filtrante è stato posto all'interno di una camicia inserita tra il materiale contaminato ed il comparto esterno dell'anolita, e tra la cella elettrolitica interna e i sedimenti. La camicia è provvista di un'asola per permettere il suo corretto e facilitato inserimento intorno all'alloggio cilindrico. Vi sono poi presenti delle forature a maglia quadrata sia sulla camicia che sulle due componenti all'interno del cilindro cavo: in totale la percentuale di foratura è pari al 50%. Inoltre, vi sono quattro rinforzi, anch'essi forati per non intralciare il flusso dell'elettrolita nella cella esterna. Di seguito possiamo vedere un modello 3D del prototipo, (Fig. 10).

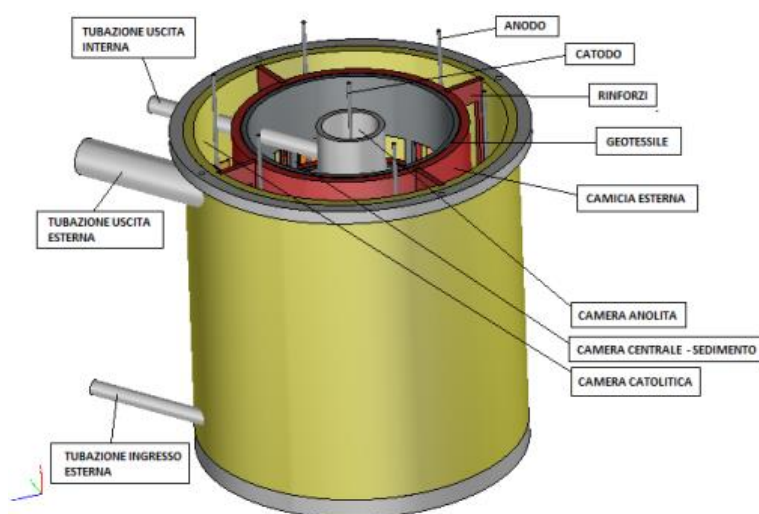


Figura 10 Modello 3D impianto Pilota e singoli componenti

I livelli dell'anolita e del catolita all'interno delle rispettive camere sono a superficie libera ed essi sono mantenuti costanti grazie a n. 2 tubazioni di troppo pieno. Le tubazioni di troppo pieno sono collegate a due serbatoi esterni. Per i primi 22 giorni dell'esperimento sono stati utilizzati serbatoi di capacità pari a 100 lt che però sono risultati essere limitanti per l'applicazione del trattamento e quindi sono stati successivamente sostituiti con serbatoi di capacità pari a 200 lt.

La pompa utilizzata per far riciclare il fluido della camera anolitica esterna è una pompa a trascinamento magnetico centrifuga orizzontale ad aspirazione assiale monoblocco ad uno stadio per fluidi; si è optato per questa tipologia di pompa dato che l'elettrolita aveva un pH fortemente acido, tra 1 e 2.

La tubazione di mandata ha un ingresso tangenziale al prototipo ed ha un diametro di circa 19 mm (3/4"). La direzione del flusso tangenziale al prototipo ha lo scopo di innescare un flusso idraulico elicoidale ascensionale che garantisce un perfetto ricircolo dell'elettrolita.

La tubazione di uscita dell'anolita è posta al limite superiore del prototipo e ha un diametro di 50 mm. La portata in uscita e la velocità del flusso sono i seguenti: 11,6 l/min e 0,68 m/s.

La pompa scelta è fabbricata da "Savino Barbera s.r.l." che produce pompe chimiche realizzate in materiali plastici resistenti agli acidi e senza parti metalliche a contatto con i liquidi, ideali per la movimentazione di liquidi aggressivi e prodotti chimici corrosivi in genere. È stato utilizzato il modello BM04-PVDF del quale si riporta in Allegato (Allegato 1 BM04-PVDF) la scheda tecnica. La pompa è risultata molto performante ed ottima per il pompaggio di liquidi con pH fortemente acido. La manutenzione è stata nulla durante il periodo di trattamento dei sedimenti pari a 95 giorni.

La camera centrale (catolita) è stata riempita inizialmente con acqua di rubinetto (tap water) grazie ad una pompa peristaltica a portata fissa, da 60 lt/ora (1 litro/minuto), al fine di consentire un buon ricambio idrico all'interno del reparto catolitico. La pompa è fabbricata dalla ditta "SEKO" che progetta e produce pompe dosatrici e sistemi di misurazione per i mercati del trattamento delle acque e dei processi industriali. Il modello utilizzato è il PSH con funzionamento On/Off e contropressione

di lavoro massima pari a 0,1 bar. In allegato (Allegato 2 PSH) è riportata la scheda tecnica della pompa.

La tubazione interna di sfioro della camera centrale ha un diametro interno di 20 mm ed uno spessore di 3 mm. Di seguito sono riportate le caratteristiche del flusso elettrolitico: 1 l/min e 0,026 m/s.

La pompa peristaltica ha dato problemi, richiedendo molta manutenzione. Per rimediare a tale problema è stata ordinata un'ulteriore pompa a trascinamento magnetico dello stesso tipo utilizzata per la camera anolitica (BM04-PVDF) che è stata affiancata alla peristaltica.

Gli elettrodi utilizzati sono costituiti da una rete in titanio nobilitato con un metallo misto ossido (MMO – Mixed Metal Oxide) (Fig. 11) piegata a L nel senso longitudinale, sia all'anodo che al catodo, forniti da "Industrie De Nora S.p.a."; il materiale scelto non è attaccabile in ambiente acido e quindi non abbiamo risentito di problemi di corrosione degli elettrodi. All'estremità superiore dell'elettrodo è saldato un tondino di acciaio in modo da permettere la connessione dell'elettrodo ai cavi elettrici dell'alimentatore.

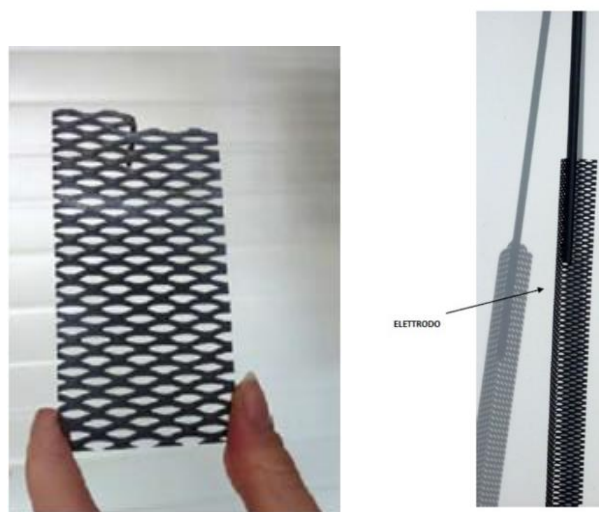


Figura 11 Elettrodo in titanio

Gli elettrodi sono collegati al piatto in plexiglass di copertura del reattore e disposti in configurazione esagonale (Fig. 12). La distanza tra gli elettrodi di carica opposta e di stessa carica è pari a 200 mm. La copertura del reattore è fornita anche di due ingressi per l'alloggiamento dei misuratori di pH e temperatura delle rispettive camere elettrolitiche, l'ingresso per la tubazione proveniente dalla pompa peristaltica per il ricircolo della camera centrale, un foro per l'ingresso del tubo proveniente dalla pompa dosatrice della soluzione di HNO_3 , un ingresso di $\frac{1}{4}$ " filettatura gas, utilizzato per captare e convogliare allo scrubber di NaOH il cloro gassoso formato durante il trattamento di decontaminazione.

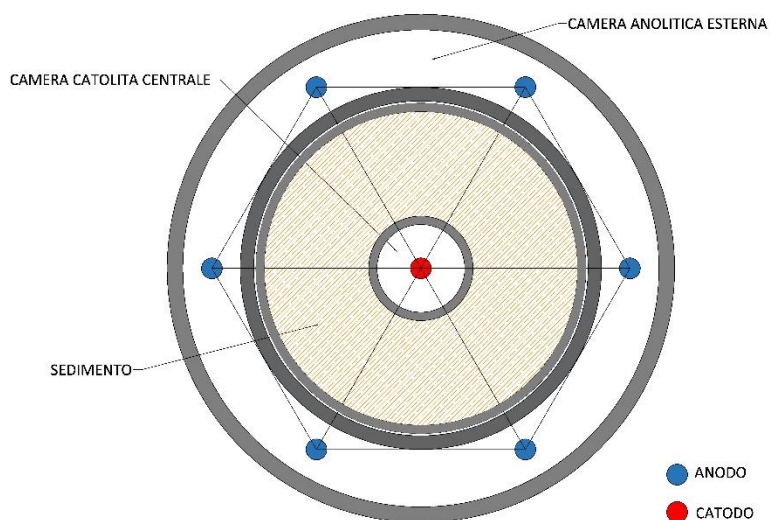


Figura 12 Configurazioni elettrodi impianto pilota

Il dosaggio di acido nitrico all'interno della camera centrale avviene tramite una pompa peristaltica, la quale dosa 1,2 ml/s di soluzione acida, il tempo di attivazione della pompa è di 30 sec per i primi 70 giorni e poi di 45 sec nei successivi 25 giorni con un intervallo tra le misurazioni del pH interno alla camera catolitica pari a 120 sec. Il controllo del pH è fondamentale nella riuscita dell'esperimento, in mancanza del quale si verificano formazioni di precipitati che possono occludere l'impianto di ricircolo dell'elettrolita e diminuire la potenziale capacità di decontaminazione del sistema elettrocinetico.

Di seguito si riporta un'immagine dell'impianto elettrocinetico nella sua interezza (Fig. 13).



Figura 13 Panoramica impianto progetto pilota

Gli elettrodi sono collegati a un alimentatore, il quale è a sua volta collegato tramite cavo ethernet al plc interno della National Instruments. L'alimentatore può lavorare a corrente continua, quindi variando la tensione ma mantenendo l'intensità di corrente costante (ciò può avvenire solamente se la conduttività dei sedimenti lo permette), oppure può lavorare in condizioni variabili nelle quali la tensione e l'intensità di corrente non sono costanti e variano per raggiungere il limite imposto nel plc.

Un problema che abbiamo incontrato con il sistema di decontaminazione elettrocinetico dei sedimenti marini è il rilascio di cloro gassoso nell'ambiente, dovuto all'elettrolisi dell'acqua salata presente nei sedimenti. Il cloro gassoso nell'aria crea un ambiente acido/corrosivo che danneggia la strumentazione elettronica e rende pericolose per gli operatori le normali operazioni di manutenzione. Per ovviare a tali problemi, l'impianto pilota insieme ai serbatoi e alle pompe sono stati messi in una stanza fornita di un aspiratore. La strumentazione elettronica, invece, è stata posta al di fuori di quest'ultima stanza per proteggere le parti elettroniche e per permettere le normali operazioni di manutenzione.

4.4.1 Modalità di acquisizione dati

Le sonde pH/temperatura sono prodotte dall'azienda "Mettler-Toledo S.p.a." che produce sensori che sono utilizzati nelle unità di elettrolisi di importanti impianti, il modello utilizzato è "NRPO426I/SG/225". Sempre dalla medesima azienda è stato prodotto il trasmettitore multi-parametro utilizzato per acquisire i dati, il modello è "M300 PROCESS2-CH, ¼ DIN". I sensori di

misurazione del livello di riempimento dei serbatoi esterni sono stati prodotti da “SICK Italia”, che è uno dei principali produttori di sensori e sistemi per l’automazione, il modello usato è “LFP0500-A4NMB”. Negli allegati si riportano le relative schede tecniche.

Il software di controllo dei parametri dell’impianto e di acquisizione dei dati è in formato Labview, ed è stato fornito e sviluppato dalla “Florence Engineering S.r.l.”, un’azienda specializzata in ingegneria elettronica.

Il software tiene traccia dei livelli in tutti e due i serbatoi, del pH, della temperatura, del Voltaggio e dell’intensità di corrente. Al fine di poter garantire la sicurezza dell’impianto e la salvaguardia dell’apparecchiatura sono stati impostati i livelli massimi e minimi che i serbatoi non devono superare, quando tali livelli sono superati il software arresta preventivamente le pompe. Inoltre, tramite il controllo del pH nella camera centrale viene dosata la soluzione di Acido Nitrico 4,5 M per condizionare l’elettrolita e impedire che il fronte basico si propaghi all’interno del sedimento. L’intensità di corrente da raggiungere viene fissata come parametro dal software, il voltaggio, invece, varia a seconda della variazione della resistività del terreno.

4.5 *Impianto pilota EKR*

Come descritto nel paragrafo precedente, la matrice da decontaminare viene inserita nella camera centrale dell’impianto pilota; i sedimenti devono essere omogeneizzati per un corretto svolgimento del test elettrocinetico. Disposta la matrice nella camera centrale, essa viene sottoposta a compattazione per le prime 70 ore. La pressione di compattazione ideale da raggiungere deve essere di 40 g/cm² come ottenuta nelle sperimentazioni precedenti di Iannelli et al. (2015).

Ad inizio esperimento, durante la fase di collaudo, sono state accese le pompe e riempite le camere elettrolitiche con tap water e sono state regolate le valvole di flusso presenti per impedire il passaggio del liquido al di sopra dei sedimenti. Raggiunto un equilibrio idraulico del sistema si è effettuato un controllo del pH in modo da poter tarare i pH-metri presenti all’interno delle celle elettrolitiche. Una volta tarati, si è potuto iniziare l’esperimento.

L’alimentatore (EA-PSI 9080-60 DT) è stato acceso per creare un campo elettrico, agli elettrodi è stata applicata un’intensità iniziale di corrente di 5 A per i primi 49 giorni mentre nel periodo successivo, fino al 70esimo giorno, si è aumentata l’intensità di corrente a 10 A, ma a causa della mancanza di performance della pompa peristaltica, che ha provocato uno scarso ricircolo, non è stato mai raggiunto il parametro impostato. Nella seconda fase della sperimentazione, a seguito dell’affiancamento della pompa peristaltica con la pompa a trascinamento magnetico centrifuga, è stato possibile raggiungere l’intensità di corrente di 10 A; tale impostazione però ha portato alla fine della sperimentazione a un surriscaldamento dei sedimenti e quindi si è preferito abbassare nuovamente a 5 A l’intensità di corrente, poiché il riscaldamento dei sedimenti avrebbe comportato un abbassamento dell’umidità degli stessi e conseguentemente al peggioramento del processo di trattamento. I serbatoi degli elettroliti sono stati inizialmente riempiti con tap water al fine di compensare le perdite dovute ad elettrolisi ed evaporazione. Durante il periodo di sperimentazione è stato necessario svuotare il serbatoio catolitico e aggiungere acqua di rubinetto nel serbatoio

anolitico a causa del flusso elettrosmotico e di un probabile flusso idraulico. La ragione della presenza di quest'ultimo non è stata ancora chiarita, potrebbe essere dovuta a difetti di realizzazione dell'impianto pilota o al periodo di stop causato dalla pandemia (circa 3 mesi di fermo attività), il quale potrebbe aver compromesso le caratteristiche iniziali della matrice.

Per garantire un pH stabile della soluzione catodica è stato necessario aggiungere in continuo una soluzione di acido nitrico 4.5 M in modo da controllare il pH ad un valore di 3 ($\pm 0,1$). La scelta di HNO_3 come agente condizionante è dovuta al fatto che è l'agente permettente una migliore riduzione del pH (3,5 vicino all'anodo, 6 - 6,5 nelle sezioni centrali) e una completa mobilizzazione dei metalli pesanti come riscontrato da Iannelli et al. nelle precedenti sperimentazioni. Kim et al. (2011) hanno anche raggiunto il più alto effetto di riduzione del pH con HNO_3 ma, a differenza dei risultati ottenuti da Masi et al. (2017), hanno ottenuto una migliore rimozione con HCl. I risultati di questo studio mostrano che, nonostante l'alto pH iniziale e una forte capacità di neutralizzazione degli acidi (ANC), la migliore strategia di rimozione è stata l'uso di acidi forti, e nello specifico HNO_3 , possibilmente in relazione al basso contenuto organico. Il dosaggio del pH è automatizzato, in quanto in assenza di interventi esterni al catolita si avrebbero condizioni di netta alcalinità.

L'apparecchiatura descritta nei precedenti paragrafi è stata utilizzata per la prima volta con questa sperimentazione, il sedimento trattato in questa sperimentazione è il P84 prelevato nella darsena Pescherecci del porto di Piombino, si è scelto tale sedimento poiché presenta una curva granulometrica molto fine e quindi adatta al trattamento elettrocinetico. Di seguito si riassume la strumentazione usata e si riporta uno schema dell'impianto.

Tabella 3 Strumentazione utilizzata durante l'esperimento

Strumento	Marca	Modello
Pompa a trascinamento magnetico	Savino Barbera s.r.l.	BM04 - PVDF
Pompa Peristaltica	Seko	Pompa peristaltica "SE-PSH000HM1000"
Pompa Peristaltica acido	General Valve Corporation	Part. n° 18-75-901 VAC-20PSI0
pH-metro	Mettler-Toledo S.p.A.	Sonda pH/temperatura "NPRO4260I/SG/225"
Livellostati	SICK Italia	Sensore di misura liv. "LFP1000-A4NMB"
Trasmettitore dati	Mettler-Toledo S.p.A	Trasmettitore "M300 PROCESS 2-CH"
Alimentatore	Elektro-Automatik	EA-PSI 9080-60 DT 1500W

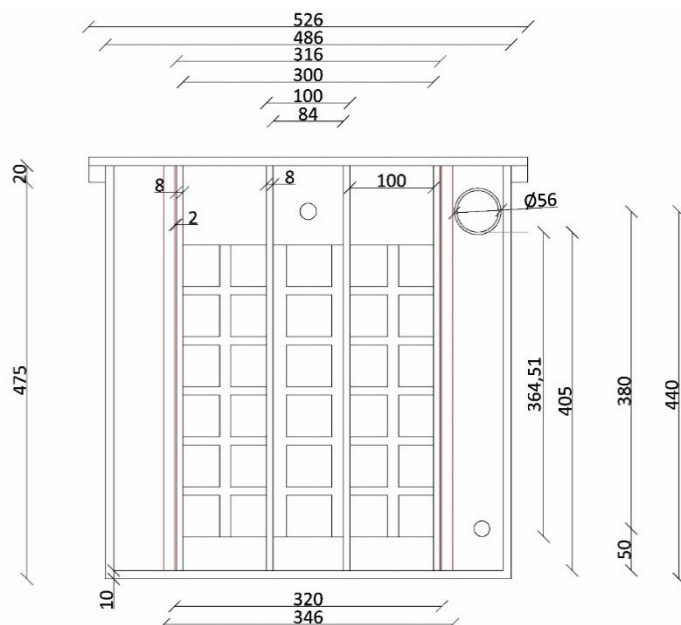


Figura 14 Sezione schema impianto

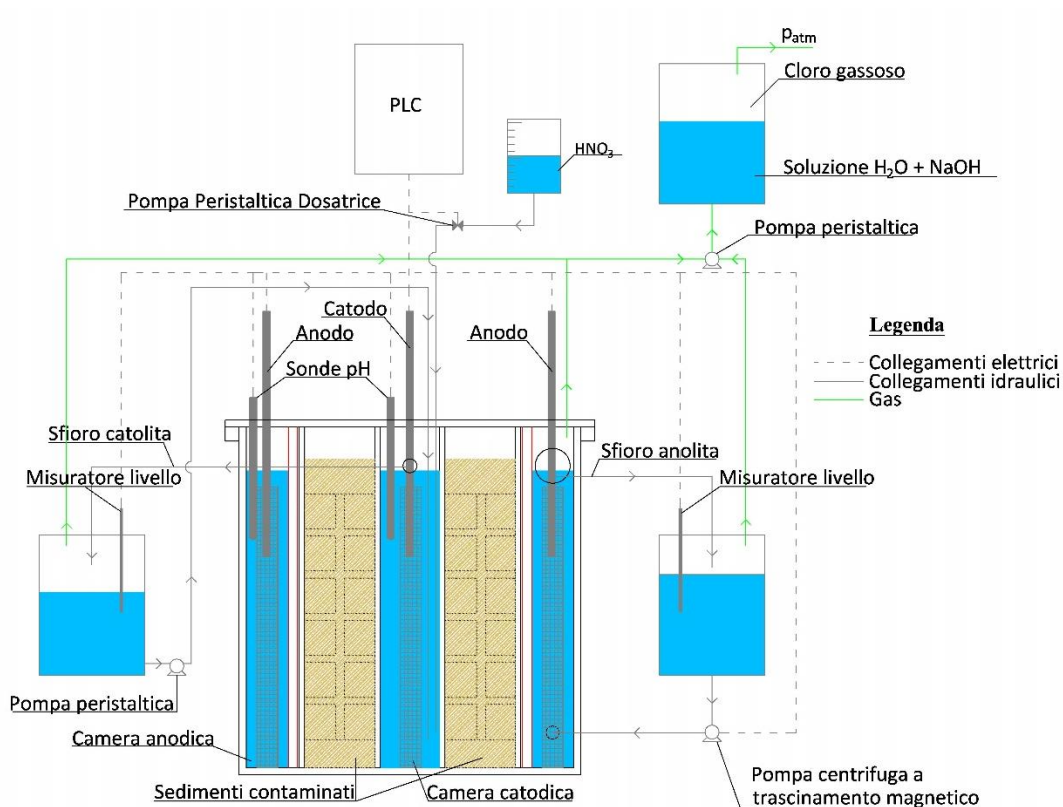


Figura 15 Schema impianto con le relative attrezzature

4.6 Risultati e discussioni

4.6.1 Caratterizzazione chimica campione P84

Dal campione omogeneizzato sono state prelevate alcune aliquote, inviate all'azienda "Geochim s.a.s." al fine di effettuare la caratterizzazione chimica (Tab. 4) del campione utilizzato per il test.

I risultati ottenuti dalla caratterizzazione chimica del sedimento sono stati prima di tutto confrontati con i limiti "Concentrazione Soglia di Contaminazione" presenti nelle Tabelle A e B, Allegato 5 parte V del d.lgs. 152/2006.

Tabella 4 Concentrazione dei contaminanti nella matrice pretrattamento, confrontata con le CSC

Parametro	Unità di misura	Misura	Incertezza ¹	LDQ	CSC (Tab. A) ²	CSC (Tab. B) ²
Antimonio	mg/kg s.s.	7,5	0,7	1	10	30
Arsenico	mg/kg s.s.	68,6	6,9	1	20	50
Berillio	mg/kg s.s.	0,74	0,09	0,5	2	10
Cadmio	mg/kg s.s.	4,4	0,7	0,5	2	15
Cobalto	mg/kg s.s.	N.R.	-	1	20	250
Cromo totale	mg/kg s.s.	169	36	0,2	150	800
Mercurio	mg/kg s.s.	N.R.	-	0,1	1	5
Nichel	mg/kg s.s.	91,7	10,8	1	120	500
Piombo	mg/kg s.s.	478	60	2	100	1000
Rame	mg/kg s.s.	180	23	2	120	600
Selenio	mg/kg s.s.	N.R.	-	1	3	15
Stagno	mg/kg s.s.	230	23	1	1	350
Tallio	mg/kg s.s.	N.R.	-	2	1	10
Vanadio	mg/kg s.s.	50,7	56,2	2	90	250
Zinco	mg/kg s.s.	2006	244	1	150	1500
Benzo (a) antracene	mg/kg s.s.	7,1	1,1	0,01	0,5	10
Benzo (a) pirene	mg/kg s.s.	6	1,0	0,01	0,1	10
Benzo (b) fluorantene -s	mg/kg s.s.	9,1	1,5	0,01	0,5	10
Benzo (k) fluorantene -s	mg/kg s.s.	2,7	0,4	0,01	0,5	10
Benzo (g,h,i) perilene -s	mg/kg s.s.	3,4	0,5	0,01	0,1	10

Parametro	Unità di misura	Misura	Incertezza ¹	LDQ	CSC (Tab. A) ²	CSC (Tab. B) ²
Crisene	mg/kg s.s.	0,05	0,01	0,01	5	50
Dibenzo (a,e) pirene	mg/kg s.s.	0,02	0,00	0,01	0,1	10
Dibenzo (a,l) pirene	mg/kg s.s.	< 0,01	-	0,01	0,1	10
Dibenzo (a,i) pirene	mg/kg s.s.	0,04	0,1	0,01	0,1	10
Dibenzo (a,h) pirene	mg/kg s.s.	< 0,01	-	0,01	0,1	10
Dibenzo (a,h) antracene	mg/kg s.s.	0,9	0,1	0,01	0,1	10
Indeno(1,2,3)pirene	mg/kg s.s.	1,4	0,2	0,01	0,1	5
Pirene	mg/kg s.s.	11,8	1,9	0,01	5	50
PCB totali	mg/kg s.s.	0,84	0,15	0,001	0,06	5
Idrocarburi C < 12	mg/kg s.s.	< 0,5	-	0,5	10	250
Idrocarburi C ≥ 12	mg/kg s.s.	3882	621	3	50	750
Sostanza organica totale (C x 1,724)	% m/m s.s.	8,6	1,4	0,15	-	-

1) Se espressa, l'incertezza estesa è calcolata moltiplicando l'incertezza composta per il fattore di copertura $k = 2$ che per una distribuzione normale corrisponde ad un livello di fiducia del 95%, la stessa è utilizzata per individuare i limiti di confidenza inferiore e superiore.

2) D.lgs. 152/2006: concentrazione soglia di contaminazione nel suolo e nel sottosuolo riferiti alla specifica destinazione d'uso dei siti da bonificare. Evidenziato in giallo se la concentrazione di contaminanti misurata è maggiore della soglia prevista dal decreto.

Un elevato numero di contaminanti impedisce, a causa della concentrazione oltre i limiti, l'utilizzo della matrice per "Siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale", mentre per "Siti ad uso Commerciale e Industriale" i soli arsenico, zinco e idrocarburi C>12 ne impediscono l'utilizzo.

4.6.2 Test pilota di EKR

Di seguito sono riportati i risultati del test pilota di decontaminazione elettrocinetica.

Le risultanze sono divise in funzione delle tempistiche di campionamento avvenute a 70 e a 95 giorni di durata del test.

La tensione e l'intensità di corrente sono valori medi giornalieri dei dati acquisiti dal plc, sono stati selezionati i dati con intensità maggiore di 2,5 Ampere, in questo modo il valore medio in tutto l'arco di tempo in cui era in funzione l'esperimento è pari a 5 Ampere. I valori di intensità inferiori a 2,5 Ampere sono stati ritenuti influenti al fine della sperimentazione, poiché i dati inferiori a tale valore erano stati registrati durante il periodo di collaudo o di brevi manutenzioni dell'impianto pilota.

La resistività locale non è possibile stimarla direttamente senza l'applicazione di elettrodi di monitoraggio posti all'interno della matrice. Si è potuto stimare la resistività media della massa, trascurando l'errore determinato dalla caduta di tensione degli elettrodi, tramite la risoluzione dell'integrale di resistenza in coordinate cilindriche:

$$R = \int_{r_1}^{r_2} \frac{\rho}{2\pi r h} dr = \frac{\rho}{2\pi h} \ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right) [\Omega]$$

$$\rho = \frac{2\pi h}{\ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right)} * \frac{\Delta V}{I} [\Omega m]$$

Dove r_2 è il raggio della camera anodica, r_1 è il raggio della camera catodica, h l'altezza dei sedimenti, ΔV [V] la differenza di potenziale tra i due elettrodi e I [A] l'intensità di corrente.

Durante lo svolgimento del test è stato misurato il volume di soluzione elettrolitica immagazzinato all'interno dei due contenitori (Fig.16), il quale ha permesso di stabilire l'andamento del flusso netto tra i due serbatoi con costruzione della relativa curva (Fig. 17). La formula con cui è stato ricavato il flusso netto è la seguente:

$$EOF = \frac{\Delta CAT - \Delta AN + V_{base} - V_{acid}}{2}$$

Dove ΔCAT e ΔAN sono le differenze giornaliere tra i livelli rilevati rispettivamente nel serbatoio catolitico e anolitico, V_{base} è il volume base dei serbatoi a inizio sperimentazione, V_{acid} è il volume della soluzione acida condizionante dosata giornalmente per impedire il superamento del livello di pH=3 nella camera catodica.

Al termine del 70esimo giorno di sperimentazione è stata affiancata alla pompa peristaltica della camera centrale, una pompa centrifuga a trascinamento magnetico. La nuova pompa è stata tarata con una valvola a farfalla all'uscita per far sì che il flusso della camera centrale non trascinasse sopra i sedimenti. La potenza erogata dall'alimentatore era fissata a 50 W; tale impostazione non ha permesso di raggiungere i 10 Ampere fino a quando non si è provveduto al superamento di questa limitazione. Successivamente l'intensità di corrente è stata ridotta a 5 Ampere, poiché come detto precedentemente, i sedimenti tendevano a surriscaldarsi e tale effetto andava impedito per garantire il funzionamento del processo. Si presentano i grafici finali di elaborazione dati per il periodo di 95 giorni.

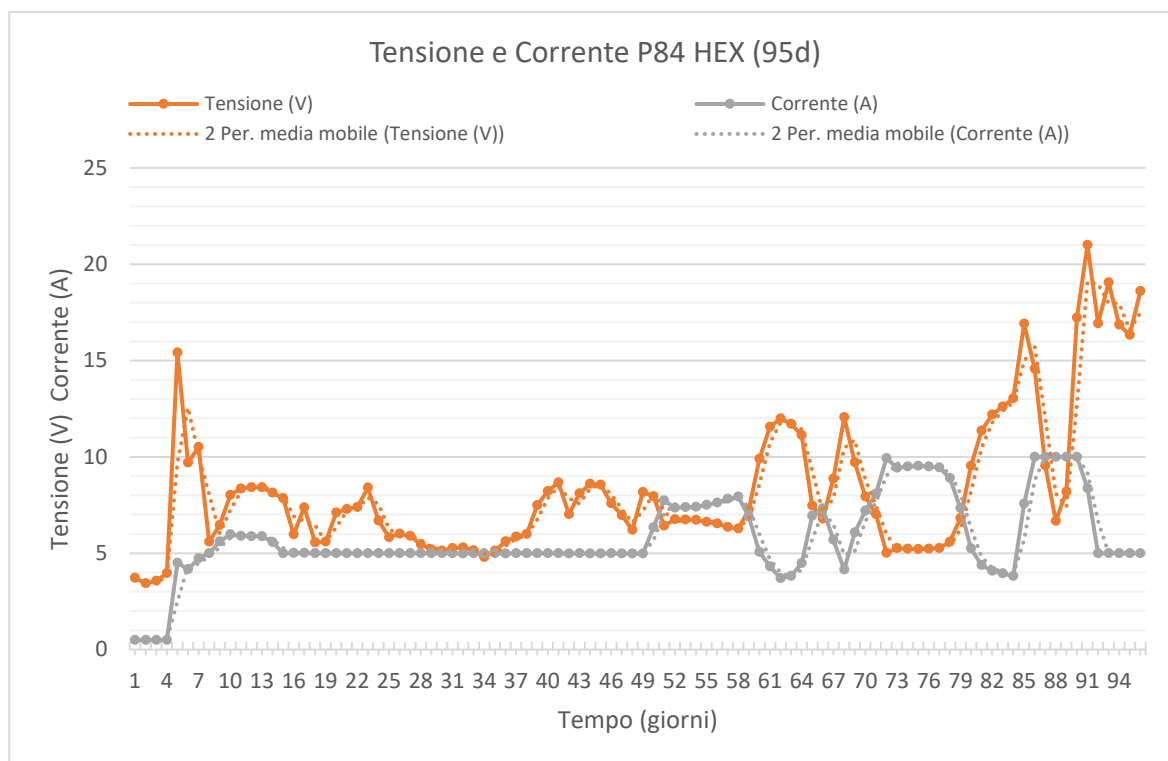


Figura 16 Andamento nel tempo della tensione e della corrente applicata alla matrice P84 HEX (95d)

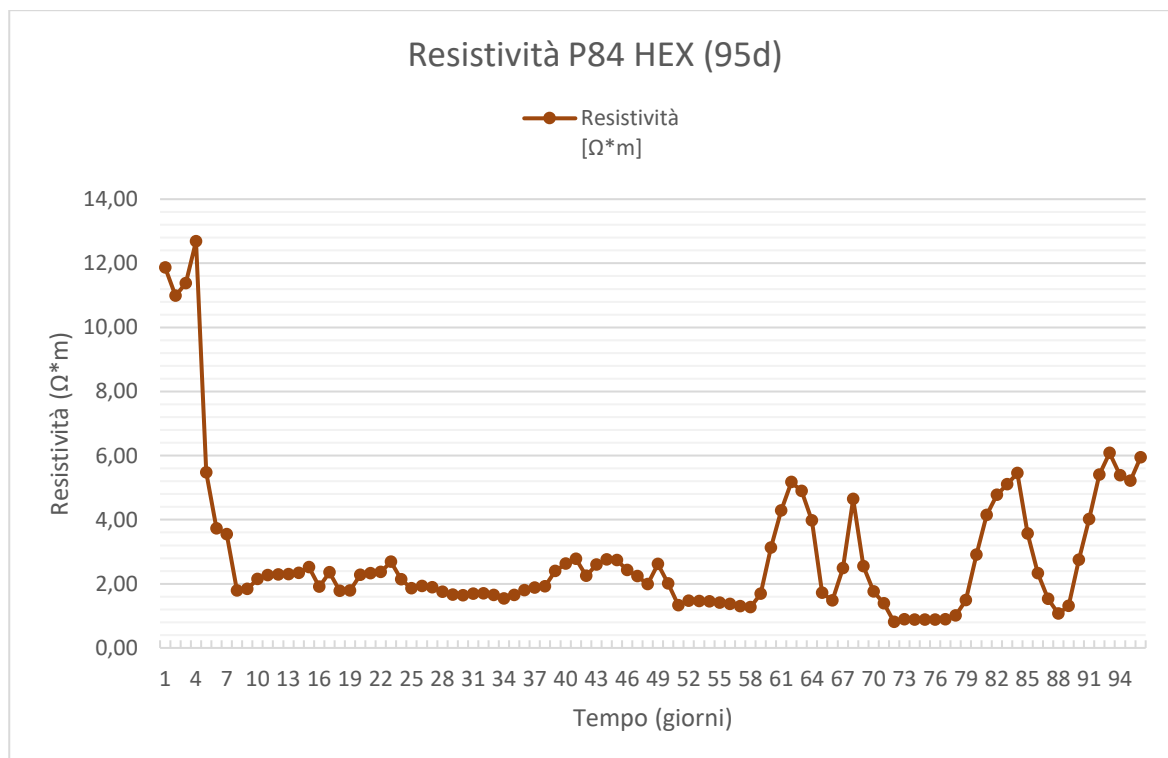


Figura 17 Andamento nel tempo della resistività della matrice P84 HEX (95d)

L'intensità di corrente di 10 A è stata raggiunta in un intervallo temporale breve, fra il giorno 85 e il giorno 90, quando il limite di potenza erogata dall'alimentatore è stato aumentato. Questo fatto ha portato a un andamento decrescente della tensione fino al giorno 88 e poi a un aumento repentino della tensione, quando è stata ridotta l'intensità di corrente a 5 Ampere per impedire il surriscaldamento della matrice.

Il flusso netto tra i due serbatoi risulta tra il giorno 70 e il giorno 95 molto variabile. In questo non è possibile distinguere il flusso idraulico dal flusso elettrosmotico. Si riportano i grafici dei livelli di elettrolita misurati e del flusso elettrosmotico.

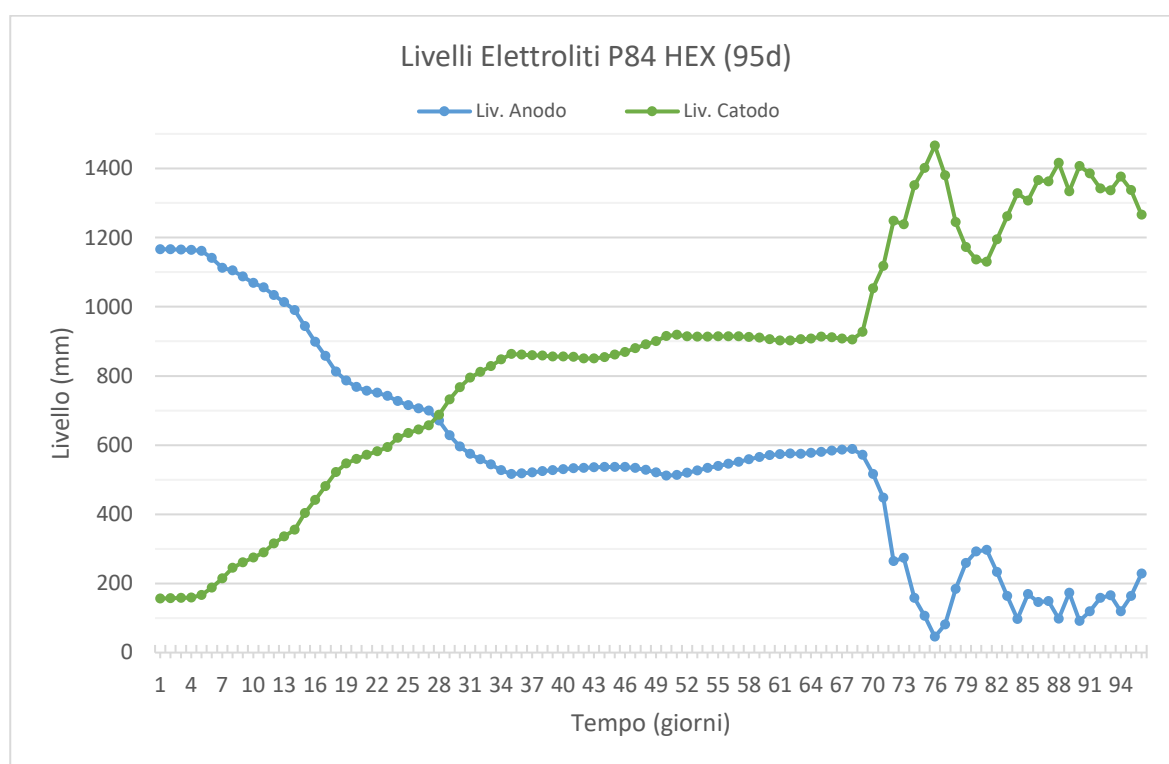


Figura 18 Variazione temporale dei livelli di catolita e anolita accumulato P84 HEX (95d)

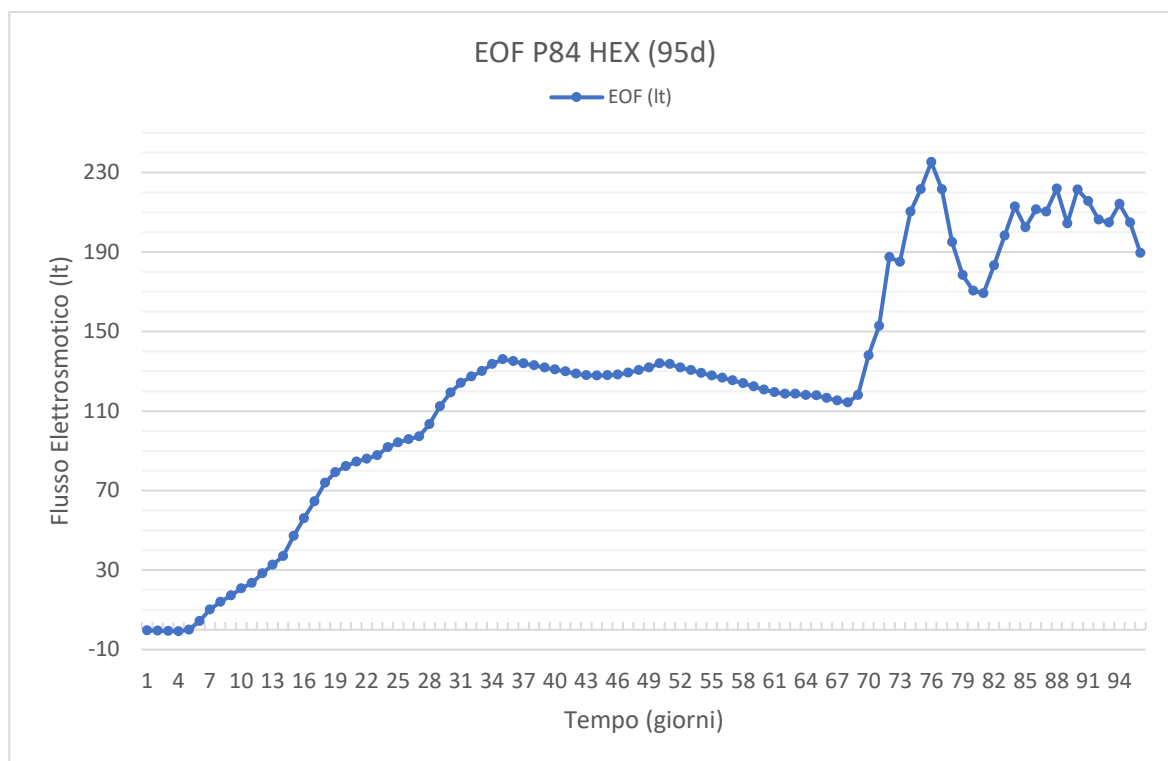


Figura 19 Andamento nel tempo del flusso elettrosmotico P84 HEX (95d)

Il consumo di acido negli ultimi 25 giorni si è ridotto notevolmente e questo può essere osservato nella successiva figura 20, dove dal 70esimo giorno vi è una flessione dell'andamento. Questa riduzione è dovuta al fatto che l'acidificazione della matrice è avvenuta con successo, infatti, nel successivo paragrafo si mostrerà il pH a 95 giorni e si potrà vedere una riduzione notevole del pH, intorno a 2. Il consumo totale di soluzione acida è pari a 76,24 litri di HNO_3 4,5M, minore della previsione svolta nel paragrafo precedente di 86,59 litri.

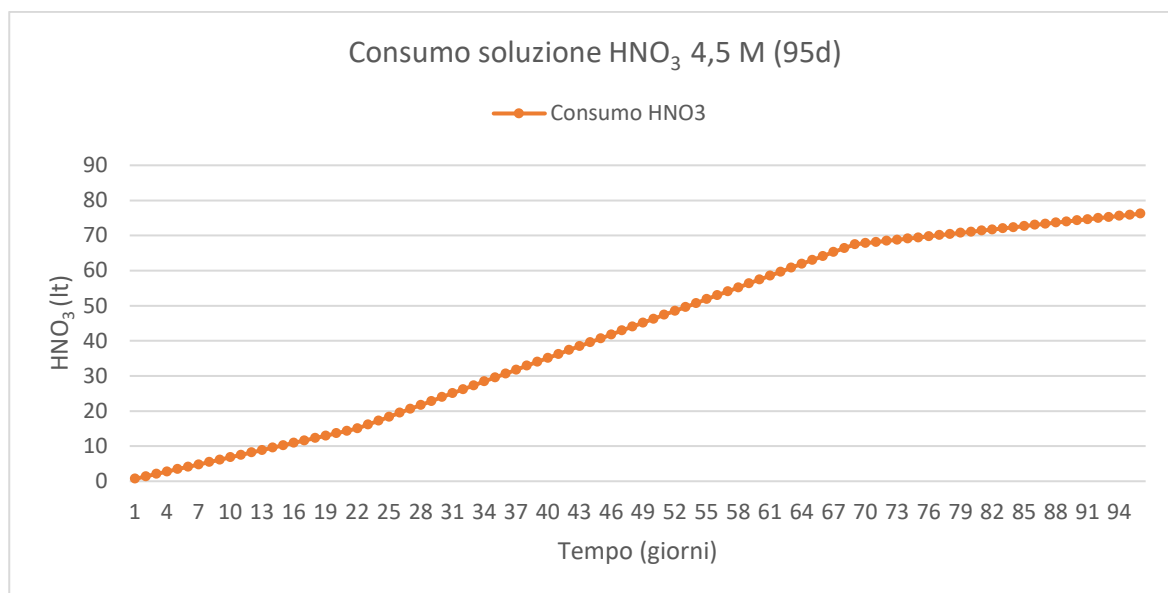


Figure 20 Consumo di soluzione di acido nitrico durante lo svolgimento dell'esperimento 95d

4.6.3 Rimozione contaminanti a 70 giorni

Dopo 70 giorni, la matrice è stata sezionata lungo il raggio del cilindro e in 3 parti quanto più possibili uguali in volume, a sua volta le 3 parti sono state sezionate in due parti, alta e bassa. Esse sono state inserite all'interno di campionatori, i quali sono stati poi sigillati ed inviati al laboratorio esterno per effettuare la caratterizzazione chimica. Di seguito vi è lo schema di campionamento effettuato (Fig.21). Si è composto anche un campione nominato OUT MIX, ottenuto da un MIX delle varie aliquote di tutti i campionamenti con il fine di ottenere le caratteristiche medie della matrice trattata.

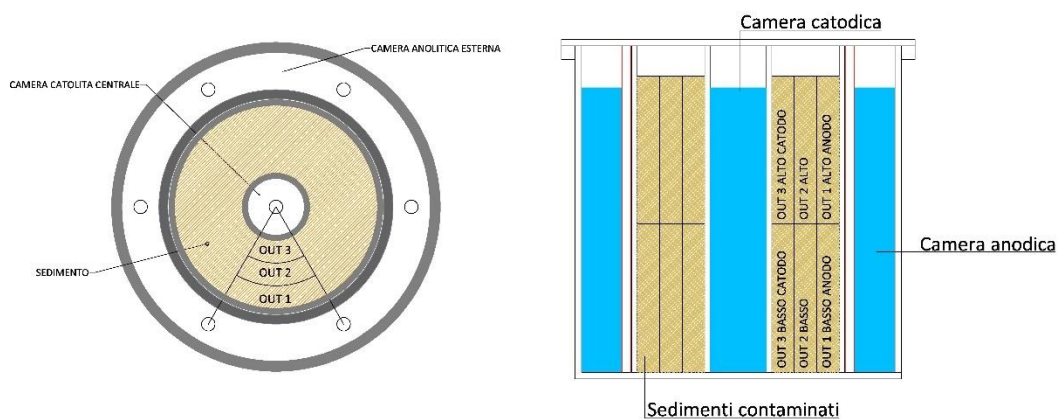


Figura 21 Schema campionamento matrice sottoposta a decontaminazione

La prima operazione effettuata dal laboratorio è la determinazione del contenuto d'acqua per la perdita di peso ottenuto a seguito del riscaldamento in forno a 105°C per 8 ore, i cui risultati sono riportati di seguito (Fig.22).

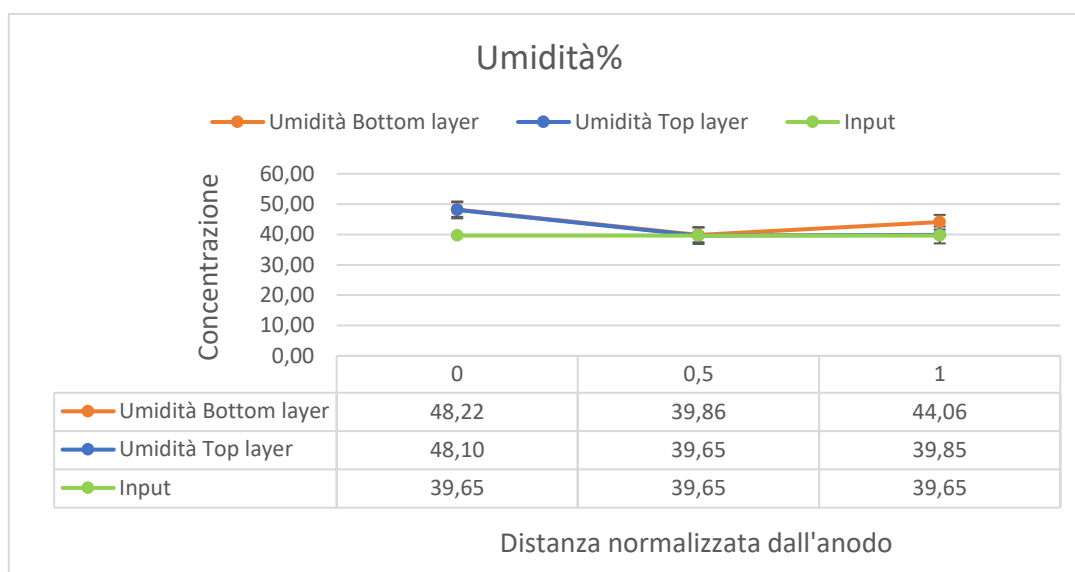


Figura 22 Contenuto d'acqua presente nelle sezioni analizzate, confrontate con l'umidità presente nella matrice prima del trattamento 70d

I risultati della caratterizzazione chimica dei campioni mostrano una riduzione dei contaminanti in seguito al trattamento, i quali però risultano ancora non coerenti agli utilizzi per cui è necessario rispettare le CSC, soprattutto i sedimenti campionati nella sezione della matrice più vicina al Catodo. Per la sezione OUT 1 ALTO ANODO e OUT 1 BASSO ANODO, due parametri (As e Idrocarburi C_{≥12}) risultano oltre i valori previsti dalla colonna B. È chiaro che il processo di decontaminazione non si è concluso del tutto, appare agli inizi. Per capire meglio tale processo i risultati fornitici dal laboratorio esterno sono stati analizzati ed elaborati al fine di ottenere i valori di rimozione percentuale per i vari contaminanti $\left(\frac{C_0 - C_f}{C_0} \cdot 100\right)$ e il rapporto C/C₀ per ogni sezione, dove: C rappresenta la concentrazione di output della sezione analizzata e C₀ è la concentrazione di input del campione vergine.

Di seguito sono riportati i grafici relativi alle rimozioni percentuali degli inquinanti principali sottoposti a indagine. Gli inquinanti organici sono stati rilevati solo in parte, dato che l'obiettivo principale di questa sperimentazione sono i metalli pesanti, i quali sono il target della decontaminazione elettrocinetica.

Preliminarmente è da notare l'alta deviazione standard di numerose misure effettuate, questo è dovuto alla disomogeneità del campione iniziale.

4.6.4 Contaminanti Inorganici (70 giorni)

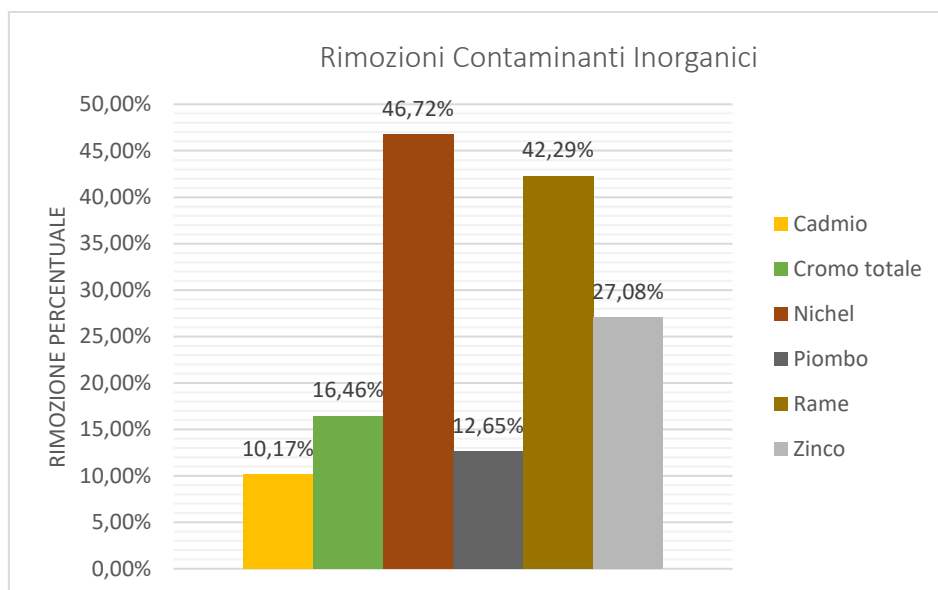


Figura 23 Rimozioni percentuali dei contaminanti inorganici (70d)

È osservabile dai risultati delle analisi che le concentrazioni di metalli pesanti presenti all'interno del sedimento risultano ridotte, tranne che per alcuni elementi come Sb, As, Be, V; invece Ni, Cu e Zn presentano riduzioni percentuali molto elevate, segno di come il trattamento elettrocinetico abbia avuto effetto su determinati contaminanti.

4.6.5 Rimozione contaminanti a 95 giorni

La seconda fase di sperimentazione con l'aggiunta della nuova pompa a trascinamento magnetico si è conclusa dopo 25 giorni, per un totale di 95 giorni di trattamento elettrocinetico.

Si riportano i grafici di andamento dell'umidità e pH della matrice.

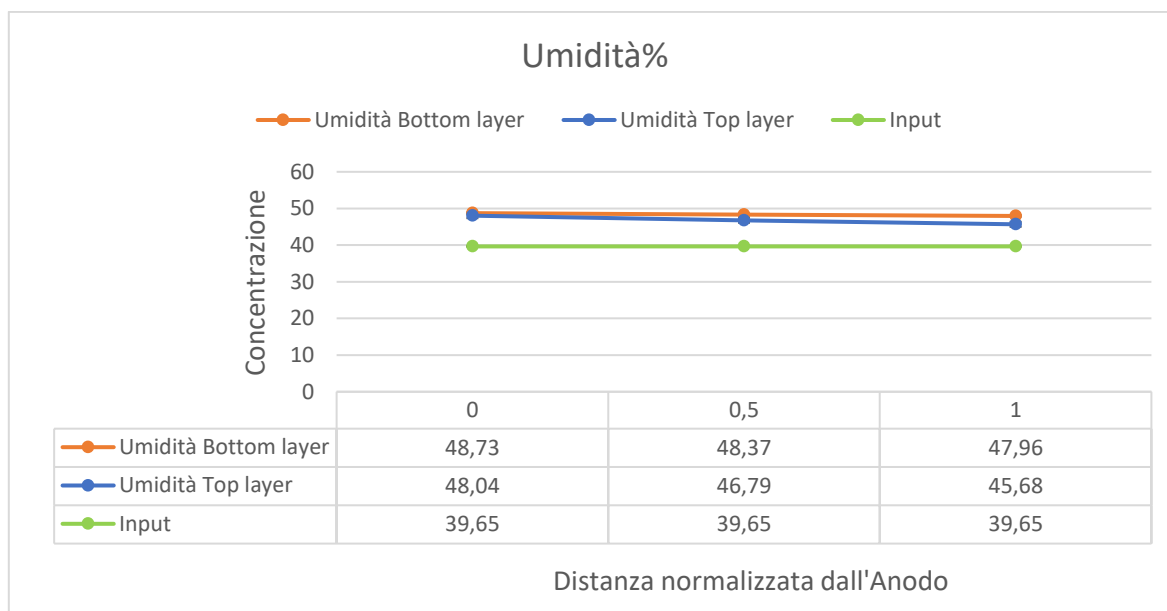


Figura 24 Contenuto d'acqua presente nelle sezioni analizzate, confrontate con l'umidità presente nella matrice prima del trattamento (95d)

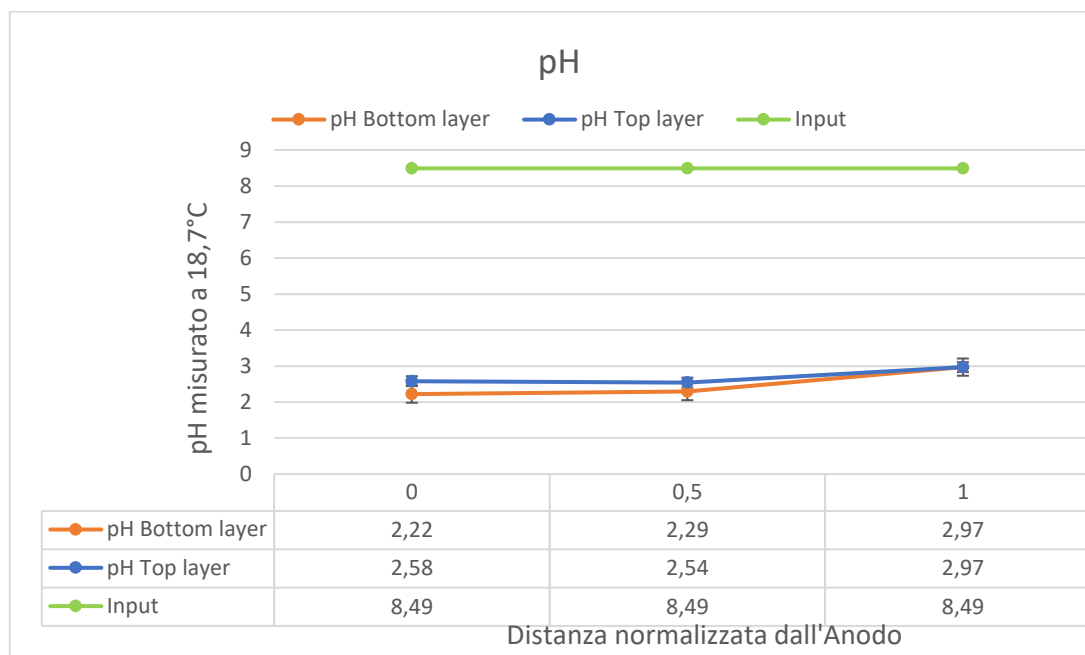


Figura 25 Andamento del pH misurato a 18,7°C dopo 95d

Dal grafico 22 sull'andamento dell'umidità a 95 giorni notiamo un aumento del 10% nelle sezioni centrali rispetto all'umidità a 70 giorni. Tale aumento di umidità si rispecchia con l'abbassamento di pH nelle sezioni centrali (fig.22), ciò vuol dire che il fronte acido ha attraversato la matrice e non si è arrestato poco prima della camera catodica.

La completa acidificazione della matrice può essere dovuta alla minore capacità di neutralizzazione acidi (ANC) del sedimento e alla geometria esagonale degli elettrodi.

I risultati delle analisi chimiche dei campioni dopo il trattamento di 95 giorni mostrano una ulteriore riduzione dei contaminanti.

Il processo di decontaminazione, negli ultimi 25 giorni di sperimentazione, ha portato a rimozioni dei contaminanti molto elevate. Per capire meglio tale processo i risultati forniti dal laboratorio esterno sono stati analizzati ed elaborati al fine di ottenere i valori di rimozione percentuale per i vari contaminanti $\left(\frac{C_0 - C_f}{C_0} \cdot 100\right)$ e il rapporto C/C_0 per ogni sezione, dove C rappresenta la concentrazione di output della sezione analizzata e C_0 è la concentrazione di input del campione vergine.

Di seguito sono riportati i grafici relativi alle rimozioni percentuali degli inquinanti principali sottoposti a indagine. Gli inquinanti organici sono stati rilevati solo in parte, dato che l'obiettivo principale di questa sperimentazione sono i metalli pesanti, i quali sono il target della decontaminazione elettrocinetica.

4.6.6 Contaminanti Inorganici (95 giorni)

Si riportano di seguito le percentuali di rimozione.

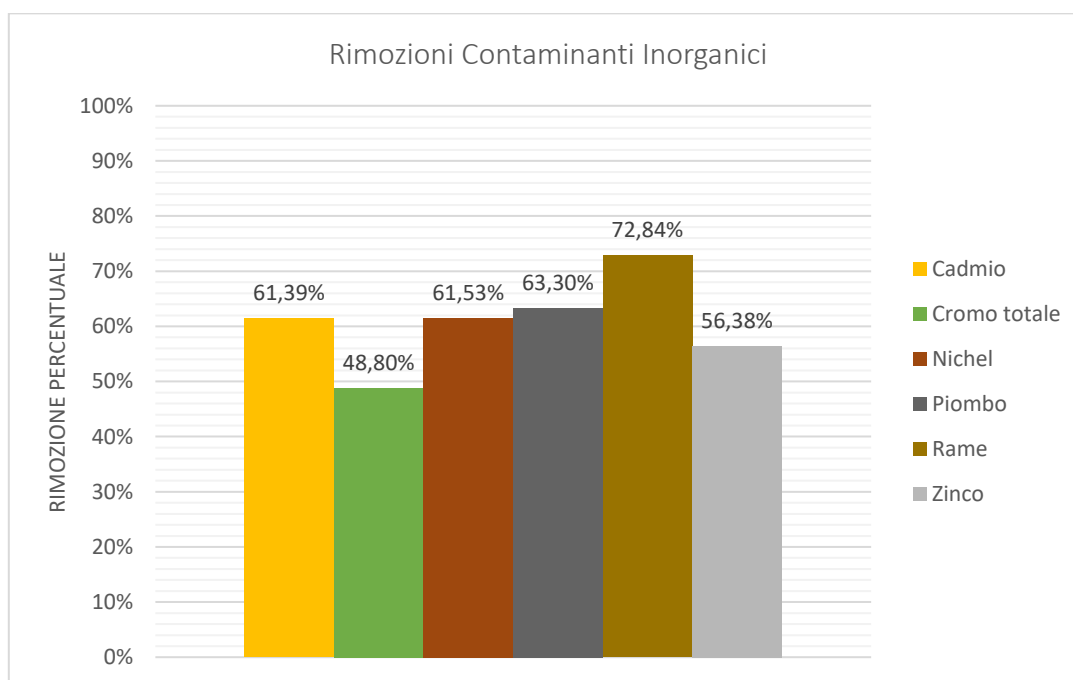


Figura 26 Rimozioni percentuali dei contaminanti inorganici (95d)

Come si osserva nel grafico di fig. 23 le percentuali di rimozione sono maggiori rispetto a quelle determinate al 70esimo giorno di sperimentazione, con una media del 60% di rimozione dei contaminanti inorganici.

Si riportano di seguito gli andamenti per i principali elementi oggetto del trattamento: l'immagine 53 mostra la tendenza di decontaminazione nello strato inferiore e in quello superiore della matrice.

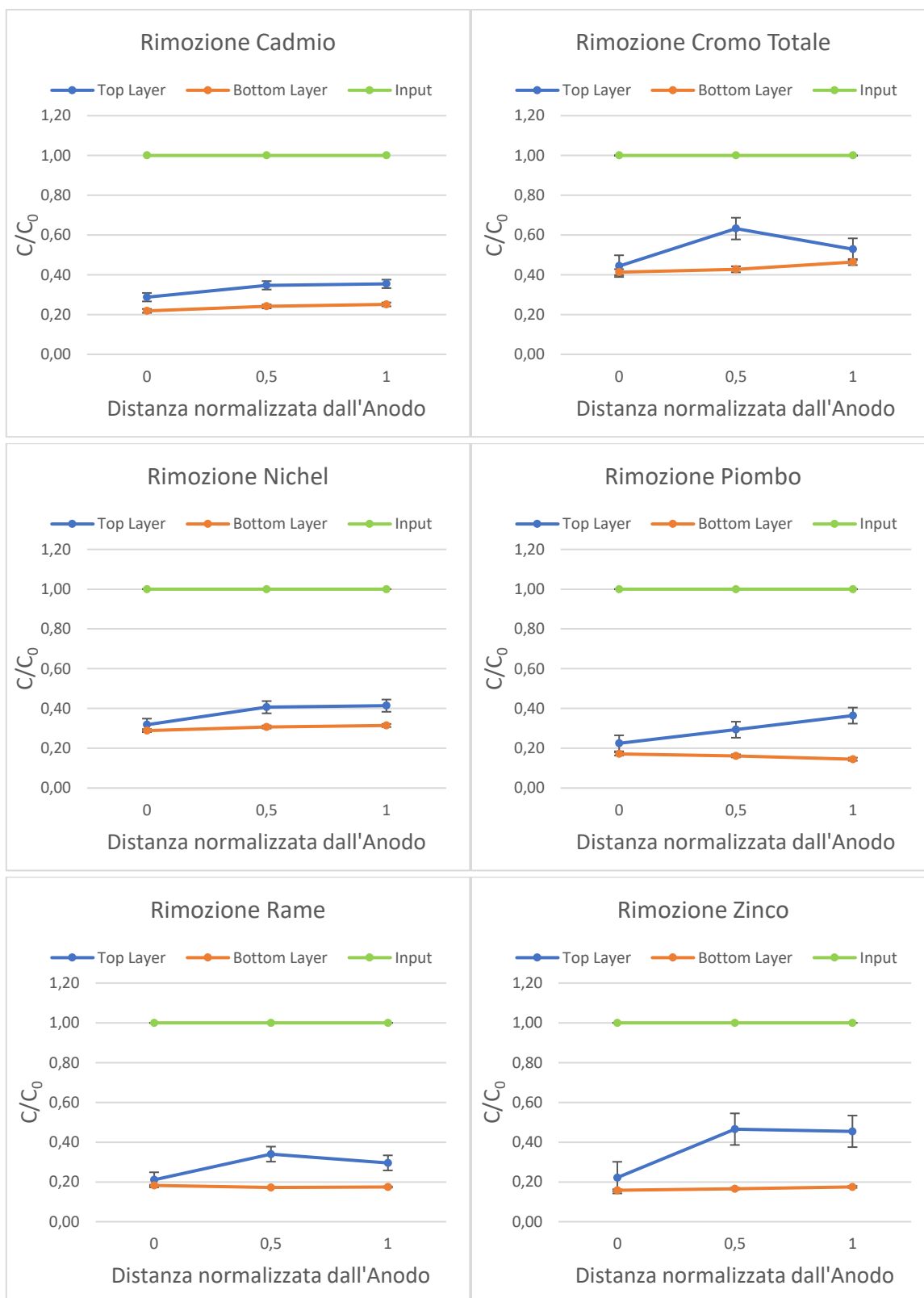


Figura 27 Andamento rimozione Cd, Cr, Ni, Pb, Cu e Zn nelle tre sezioni (Alto e Basso) (95d)

I grafici di C/C0 mostrano riduzioni in tutte e tre le sezioni della matrice ed è interessante notare come lo Zinco nella sezione vicina al catodo sia passato da valori intorno a 8 dopo 70 giorni a valori al di sotto di 1 dopo 95 giorni. Quest'ultimo riscontro ci permette di dire che lo zinco, accumulato vicino al catodo, è stato trasportato nella camera catolitica dal fronte acido ossidante. Inoltre, un ulteriore dato che permette di rafforzare questa affermazione è fornito dalle analisi del precipitato formatosi nella camera centrale.



Figure 28 Precipitato al catodo

Si riporta di seguito l'analisi del precipitato.

Tabella 5 Analisi chimiche del precipitato estratto dalla camera catolitica

<u>PARAMETRO</u>	<u>PRECIPITATO AL CATODO</u>		
	<u>Unità di Misura</u>	<u>Misura</u>	<u>Incertezza</u>
Antimonio	mg/kg s.s	23,86	± 4,1
Arsenico	mg/kg s.s	78,98	± 14
Berillio	mg/kg s.s	2,21	± 0,26
Cadmio	mg/kg s.s	14,42	± 1,7
Cobalto	mg/kg s.s	38,92	± 6,7
Cromo Totale	mg/kg s.s	1476	± 172
Mercurio	mg/kg s.s	N.R.	-
Nichel	mg/kg s.s	649	± 75
Piombo	mg/kg s.s	6730,8	± 780
Rame	mg/kg s.s	671,2	± 78
Selenio	mg/kg s.s	N.R.	-
Stagno	mg/kg s.s	31,53	± 5
Tallio	mg/kg s.s	N.R.	-
Vanadio	mg/kg s.s	103,28	± 12
Zinco	mg/kg s.s	10865,4	± 1312
Benzo (a) antracene	mg/kg s.s	N.R.	-
Benzo (a) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Benzo (b) fluorantene-s	mg/kg s.s	N.R.	-
Benzo (k) fluorantene-s	mg/kg s.s	N.R.	-

<u>PARAMETRO</u>		PRECIPITATO AL CATODO	
Benzo (g-h-i) perilene-s	mg/kg s.s	N.R.	-
Crisene	mg/kg s.s	N.R.	-
Dibenzo (a-e) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Dibenzo (a-l) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Dibenzo (a-i) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Dibenzo (a-h) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Dibenzo (a-h) antracene	mg/kg s.s	N.R.	-
Indeno (1,2,3) pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
Pirene	mg/kg s.s	N.R.	-
PCB Totali	mg/kg s.s	0,07	± 0,13
Idrocarburi C<12	mg/kg s.s	N.R.	-
Idrocarburi C>=12	mg/kg s.s	66,30	± 11

Il precipitato presenta concentrazioni elevate di Zinco, Rame, Piombo, Nichel e Cromo, tutti elementi che presentano riduzioni percentuali molto alte.

La formazione del precipitato nella camera catolitica deve essere oggetto di ulteriori approfondimenti, dato che l'ambiente risultava essere in condizioni acide ed è risaputo da letteratura scientifica che le condizioni acide sfavoriscono la precipitazione dei metalli.

4.7 Conclusioni

I risultati dei test elettrocinetici forniscono una base per le future sperimentazioni con l'utilizzo di una configurazione bi-dimensionale degli elettrodi. La novità presentata in questa attività circa la tecnica di decontaminazione è la disposizione esagonale degli elettrodi e la loro immersione in una camera in cui circola liberamente il flusso elettrolitico. Questa configurazione ha permesso la rimozione dei contaminanti in 95 giorni con notevole successo. Le percentuali di rimozione, infatti, sono le seguenti: Cd = 61,39 %, Cr_{tot} = 48,80%, Ni = 61,53%, Pb = 63,30%, Cu = 72,84 %, Zn = 56,38%.

Nonostante i problemi legati alla manutenzione dei dispositivi nella prima fase della sperimentazione, il processo elettrocinetico ha portato alla totale acidificazione della matrice e ciò si è tradotto in un aumento di performance negli ultimi 25 giorni di trattamento. Probabilmente se non ci fossero stati problemi tecnici di pompaggio nella prima fase di sperimentazione, il trattamento sarebbe stato più rapido e con la stessa efficienza di rimozione.

Il confronto dei risultati di rimozione con esperienze pregresse ha permesso di constatare come una densità di corrente media minore (30 A/m²) ma con l'applicazione di un campo elettrico radiale permetta una riduzione dei tempi di trattamento necessari, un aumento di efficienza di rimozione e un minor consumo di energia elettrica. L'aumento di densità di corrente potrebbe probabilmente diminuire i tempi di decontaminazione e migliorare l'efficienza di rimozione, ma è opportuno tenere in considerazione l'incremento della temperatura interna della matrice trattata e del flusso

elettrolitico, che porterebbe a problemi di evaporazione. Il fronte acido-ossidante, mostrato dall'andamento del pH nella matrice campionata, ha attraversato completamente i sedimenti e ha permesso il desorbimento dei metalli pesanti. Questo risultato non era stato raggiunto nelle precedenti sperimentazioni e tale successo può essere imputabile al minor valore di ANC del sedimento P84, alla configurazione esagonale degli elettrodi, alla conformazione del campo elettrico e alla larghezza del sedimento stesso.

5 Descrizione delle prove di Landfarming e principali risultanze

Come precedentemente descritto il landfarming consiste nel favorire i processi biodegradativi a carico dell'ecologia microbica del sedimento stesso, con particolare interesse ai processi ossidativi.

5.1 Introduzione

La presente relazione espone i risultati ottenuti durante i test di biostimolazione e di bioaugmentation con il fungo autoctono *Fusarium* sp. che erano stati iniziati durante la stesura del precedente report, e che sono descritti al paragrafo 5.1 del Prodotto T3.2.2

L'isolato fungino è stato isolato dai sedimenti trattati (autoctono) nelle modalità descritte al medesimo paragrafo

Come promemoria che faciliti la comprensione del setup sperimentale, si riporta brevemente le operazioni di allestimento dei suddetti test:

preparazione dei sedimenti:

- Drenaggio dell'acqua in eccesso su Leca
- Modifica della tessitura mediante aggiunta di sabbia (10%) e cippato (10%)
- Ammendamento di fosforo e azoto (rapporto finale C:N:P 100:10:1)
- Separazione del sedimento preparato in triplicati di 1000 gr, tra mesocosmi bio-stimolati, ed inoculati con *Fusarium* sp. al 5.5% in peso fresco.

Sono stati dunque testati i sedimenti del porto di Piombino p87 e p91. Per condizione di controllo si intende la condizione di sola biostimolazione, per inoculato i sedimenti in cui il fungo autoctono è stato ammendato.

I metodi di analisi dei contaminanti organici sono descritti nella sez. 5.1 del Prodotto T3.2.2: gli idrocarburi policiclici aromatici sono quantificati con lo stesso metodo descritto per il pirene.

La quantificazione del carbonio organico totale è stata effettuata mediante il metodo descritto nel D.M. 185 del 13/09/1999, al punto XIV, mentre la quantificazione di acidi umici e fulvici è stata effettuata secondo il metodo IPLA-TO A28 1984 per la caratterizzazione di fertilizzanti, compost e fanghi di impianti di depurazione.

La tecnica di estrazione, preparazione delle librerie, e di elaborazione dei dati derivanti dal sequenziamento del DNA metagenomico è la medesima descritta al punto 5.1 del Prodotto T3.2.2.

5.2 Risultati

Il principale obiettivo di indagine era quello di monitorare il processo di degradazione biologica dei contaminanti costituiti dalla frazione pesante degli idrocarburi derivanti da prodotti di natura petrolifera, i quali risultano essere il contaminante maggioritario dei sedimenti in oggetto del presente

studio: i sedimenti in esame hanno comunque evidenziato la presenza di altri contaminanti organici in concentrazione superiore a quelle di soglia di contaminazione nel suolo e nel sottosuolo, riportate nel D.Lgs 152/2006.

Partiremo dunque nel descrivere e modellare la cinetica del processo di degradazione degli idrocarburi pesanti, e analizzeremo secondariamente l'effetto sugli inquinanti organici minoritari. Individueremo i candidati microbici e fungini che concorrono alla degradazione/trasformazione dei suddetti inquinanti, e l'innescio di processi propedeutici alla trasformazione dei sedimenti in "suolo tecnico", ovvero all'avvio dei processi di umificazione che sono alla base della costituzione di un pabulum adatto alla proliferazione dei microorganismi del suolo implicati nei cicli degli elementi quali carbonio azoto e fosforo.

5.2.1 Cinetica di degradazione degli idrocarburi pesanti ($C > 12$)

Di seguito si riportano i dati di quantificazione degli idrocarburi pesanti, corredati di deviazione standard, nei processi di bio riediazione testati in scala laboratorio

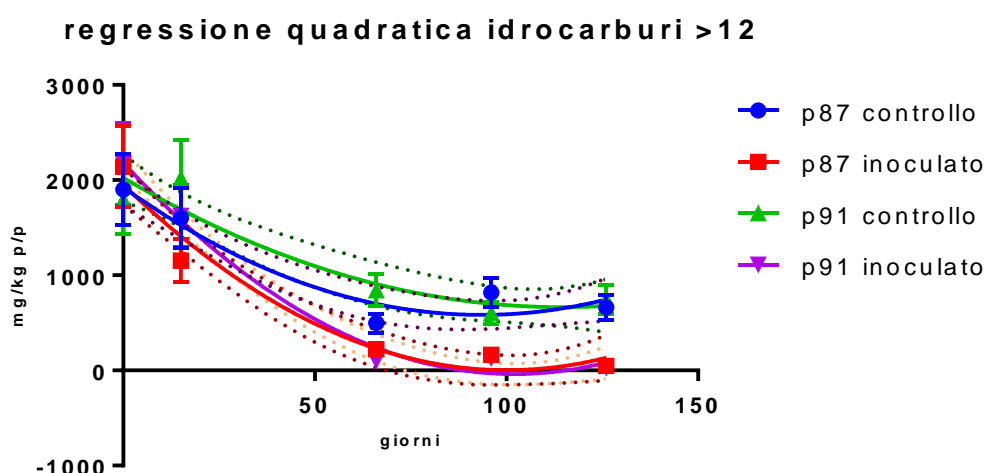


Figura 29 cinetica di abbattimento della contaminazione da idrocarburi pesanti. Le linee verticali rappresentano le deviazioni standard, mentre le linee tratteggiate rappresentano l'intervallo di confidenza (95%) dell'interpolazione effettuata.

La cinetica di degradazione (linee intere nella Figura 26) degli idrocarburi pesanti è non lineare: un modello polinomiale di secondo grado si presta bene all'interpolazione dei punti sperimentali, come si può ben vedere dall'indice di correlazione di Pearson riportato in tabella 6.

Tabella 6: parametri del polinomio di secondo grado che interpola i punti sperimentali, corredati di incertezza e bontà del fitting (R^2)

polinomiale di secondo grado	p87 controllo	p87 inoculato	p91 controllo	p91 inoculato
parametri di interpolazione				
B0	1925	1951	2026	2183
B1	-28,68	-38,89	-23,78	-43,51
B2	0,1533	0,1942	0,1039	0,2131
errore standard sui parametri di interpolazione				
B0	90,12	96,57	112,1	68,67
B1	3,914	4,194	4,866	2,982
B2	0,03103	0,03325	0,03859	0,02365
R^2 corretto	0,9701	0,9835	0,9588	0,9934

Dalla Figura 26 risulta evidente che in entrambi i tipi di trattamento si ha un effetto di abbattimento della concentrazione degli idrocarburi pesanti, la quale risulta significativamente più marcata per i sedimenti inoculati col fungo *Fusarium* sp. Dall'interpolazione dei dati sperimentali è possibile stimare i tempi di dimezzamento per i trattamenti sia bio-stimolati che con inoculo fungino: tali tempi corrispondono 47,8 e 29,4 giorni per p87 rispettivamente bio-stimolato ed inoculato, e 56,6 e 29,2 per p91 rispettivamente bio-stimolato ed inoculato con il fungo.

Si nota che l'inoculo fungino, oltre ad accelerare il processo di deplezione, ha omogenato il medesimo nei due diversi sedimenti, portando a tempi di dimezzamento paragonabili nelle due matrici.

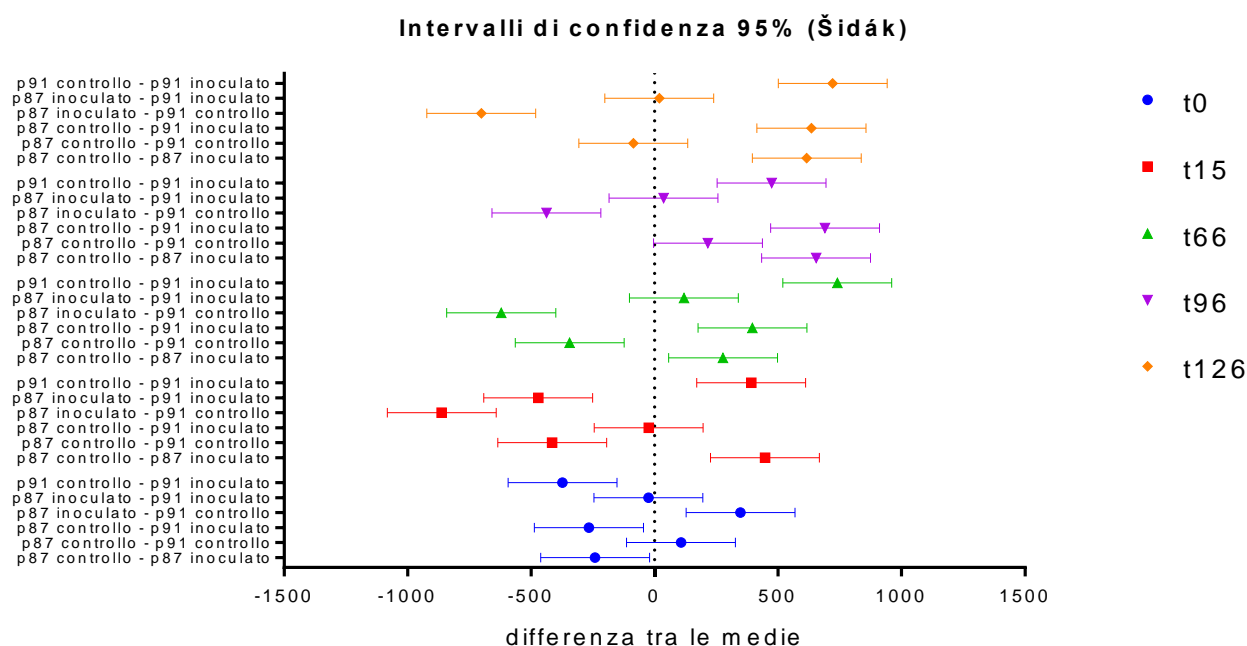


Figura 30 intervalli di confidenza della differenza tra le medie delle concentrazioni di idrocarburi C>12, corretti per l'effetto di confronti multipli. In ordinata si riportano i gruppi confrontati, in ascissa il valore numerico della differenza delle medie. La linea orizzontale a cavallo dei punti rappresenta l'intervallo di confidenza al 95% della differenza riportata: quando l'intervallo è a cavallo dello 0, la differenza non è significativa.

Nella Figura 27 risulta evidente che vi sia una significativa differenza di abbattimento tra i sedimenti non trattati e quei inoculati col fungo *Fusarium* sp. in entrambi i sedimenti testati: tale abbattimento si attesta sul 97,8 % contro il 65,1 % per il sedimento p87 e del 98,7% conto il 58,2 % per il sedimento p91.

Si può notare come, partendo da equivalenti concentrazioni nei due controlli ed inoculati, si abbia un abbattimento più rapido (15 giorni) in p87 inoculato, rispetto ai corrispettivi p91.

A 66 giorni la differenza di abbattimento tra i due sedimenti inoculati diventa non significativa, rimanendo tale fino alla fine della sperimentazione, ed evidenziando che il trattamento fungino ha equivalenti risultati sui due diversi tipi di sedimento testati.

Per quanto riguarda i non inoculati, la comunità microbica autoctona e bio-stimolata del sedimento p87 risulta essere più efficiente di quella del sedimento p91, anche se a 126 giorni la differenza di abbattimento di idrocarburi pesanti nei due sedimenti diviene non significativa.

5.2.2 Monitoraggio del processo di umificazione

L'abbattimento degli idrocarburi pesanti si accompagna ad una modifica fisica e chimica della matrice dei sedimenti, la quale diventa progressivamente più simile a quella di un terreno: è possibile vedere come la formazione di acidi umici e fulvici sia significativa dopo 66 giorni di trattamento, e decisamente più marcata in concomitanza con l'inoculo fungino (Figura 28). E' di interesse anche il generale aumento del contenuto di carbonio organico è ad opera dell'umificazione del materiale ligno-cellulosico impiegato come agente strutturante, il quale progressivamente si disgrega, e passa nel sotto-vaglio analizzato.

L'utilizzo di un agente strutturante organico complesso quale il materiale lignocellulosico, oltre a garantire un'idonea tessitura per i processi aerobici implicati nella deplezione degli inquinanti organici, fa da attivatore dei processi di umificazione, e da building block per la produzione degli acidi umici e fulvici. Seppure il contenuto in carbonio organico sia considerevole già all'inizio della sperimentazione, si consideri che questo parametro non distingue tra composti organici inquinanti e quelli che si formano durante l'umificazione: è necessario quindi analizzare specificamente gli acidi umici e fulvici per esprimersi in termini di attivazione di processi biologici volti all'umificazione.

Da notare che l'inoculo fungino favorisce la produzione di acidi umici, i quali, essendo a più elevato peso molecolare e sostanzialmente meno idrofili, si prestano meglio a fungere da riserva di carbonio disponibile per la crescita dei microorganismi, oltre ad avere le note capacità dei componenti dell'humus, le quali rendono un suolo più fertile, ovvero:

- tamponi per il pH del suolo
- elevato scambio cationico
- effetto complessante per metalli essenziali e micronutrienti

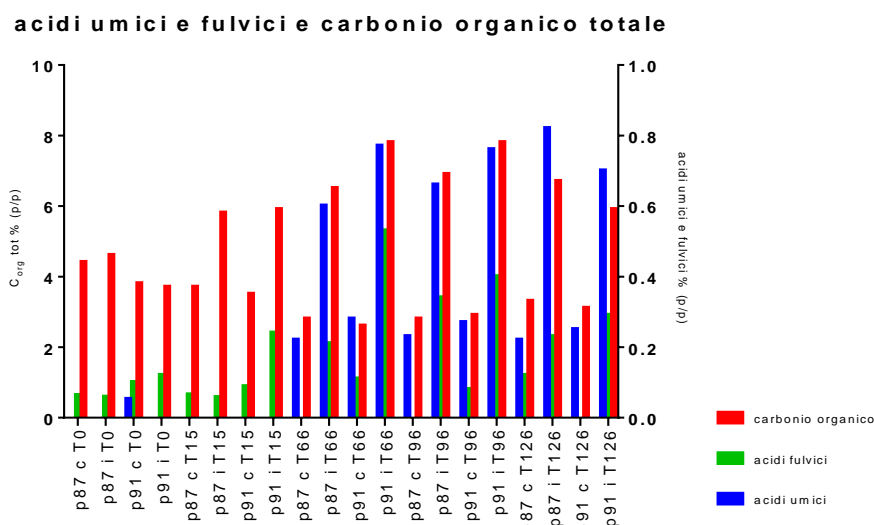


Figura 31 valori medi di concentrazione di acidi umici e fulvici e carbonio organico totale per ciascun triplicato

5.2.3 Deplezione contaminanti organici minoritari

Si riscontrano ulteriori effetti su altri tipi di inquinanti organici: in Figura 29 è evidenziato come l'effetto di degradazione sia marcato anche per i composti aromatici in presenza di fungo inoculato: l'effetto per i mesocosmi non inoculati, consiste invece nel diminuire la complessità dei contaminanti presenti.

L'effetto dell'inoculo fungino dopo 126 giorni consiste in una rimozione degli inquinanti organici aromatici (IPA e PCB) al di sotto dei limiti di quantificazione dei metodi impiegati, in entrambi i sedimenti trattati

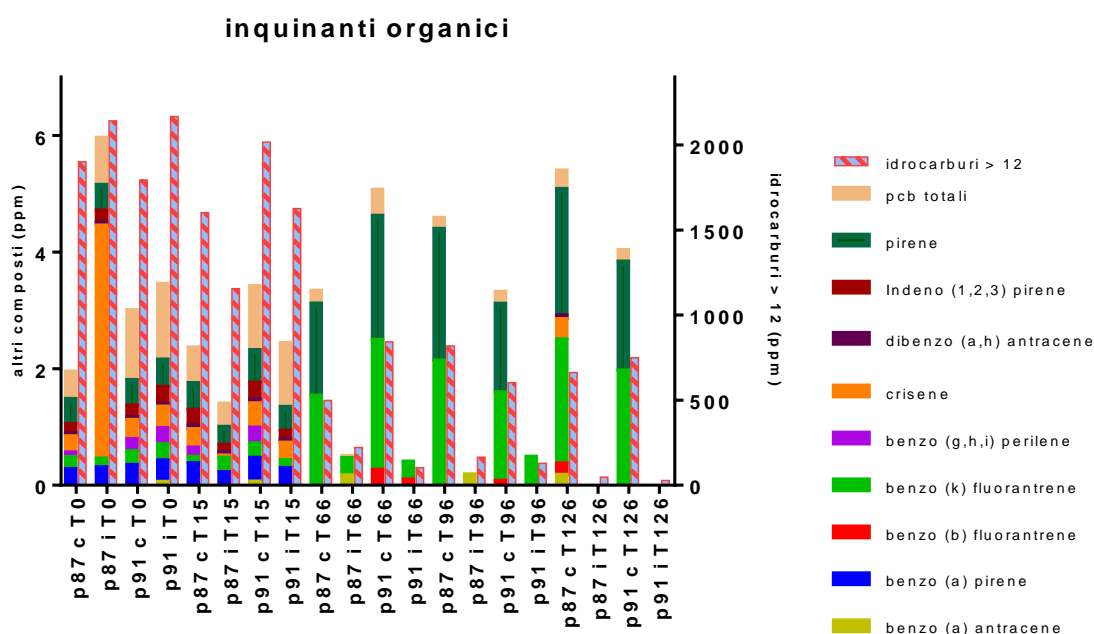


Figura 32 inquinanti organici come media di 3 replicati biologici. Gli idrocarburi >12 sono riportati sull'asse delle ordinate di destra, mentre IPA e PCB sono riportati come cumulati sull'asse delle ordinate di sinistra

Si può notare che nei giorni successivi al quindicesimo, nei controlli bio-stimolati, il contenuto totale di contaminanti policiclici aumenta, e la complessità si riduce. Una possibile spiegazione per questo effetto è, in parallelo alla parziale rottura degli anelli aromatici dei composti policiclici, la riduzione del peso molecolare di eventuali composti asfaltenici, per effetto principalmente della comunità batterica: i prodotti di degradazione di tali composti risulterebbero essere composti più leggeri, pur sempre costituiti da un considerevole numero di cicli condensati.

5.3 Analisi della comunità batterica

5.3.1 Estrazione del DNA dal suolo per analisi metagenomiche.

L'estrazione del DNA totale dai campioni di sedimento della sperimentazione in mesocosmo è stata effettuata mediante l'utilizzo del FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals) e il Fast Prep

Instrument (MP Biomedical). Questo kit usa biglie in silice per frantumare il campione di suolo e omogeneizzarlo con l'azione meccanica del Fast-Prep, secondo il protocollo suggerito dal fornitore.

È stata verificata la quantità di DNA attraverso il Qubit® 3.0 (Invitrogen, Thermo Fisher Life Technologies) secondo le specifiche del produttore. La qualità del DNA è stata valutata mediante misurazione spettrofotometrica dei rapporti delle assorbanze 260/280 e 260/230.

5.3.2 Metabarcoding e preparazione delle librerie

I batteri sono stati identificati con l'amplificazione e sequenziamento delle porzioni ipervariabili del rDNA 16S, V4 e V5, usando il forward primer 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') e il reverse primer 907R (5'-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3'). I funghi sono stati identificati con l'amplificazione e sequenziamento delle regioni Internal Spacer del rDNA 18S, usando il forward primer ITS1-5F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e il reverse primer ITS2-2043R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3').

Le librerie per il sequenziamento con tecnologia Illumina sono state preparate da Novogene (Level 54, Hopewell Centre, 183 Queen's Road East, Hong Kong) usando NEBNext Ultra DNA Library Pre® Kit seguendo le raccomandazioni di fabbrica e aggiungendo i codici di indice per effettuare il pool dei genomici provenienti da ciascun campione da sequenziare. Le qualità delle librerie sono state valutate al Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) e al Agilent Bioanalyzer 2100. Infine, le librerie sono state sequenziate con Illumina Miseq con reads paired-end da 250bp.

5.3.3 Analisi metagenomiche

Le reads pair-end sono state assegnate ai campioni in base al barcode univoco che poi è stato rimosso dalle sequenze secondo Trimmomatic v. 0.36 e FastQC v. 0.11.9. Successivamente le reads forward e reverse sono state assemblate, filtrate per qualità della lettura, ripulite dalle sequenze chimeriche e assegnate ai cluster rappresentati da ciascuna ASV (Amplicon Sequence Variant) mediante il plugin DADA2 v. 1.18 di Qiime2.

Per le sequenze batteriche della regione ipervariabile V4-V5 è stato usato il database di sequenze rappresentative, 16S Greengenes v 13_8, raggruppate con un'omologia di sequenza al 99%, mentre per le sequenze fungine ITS, è stato usato UNITE v 8.0 con sequenze rappresentative raggruppate con un'omologia di sequenza al 99%. L'abbondanza delle ASV è stata normalizzata per rarefazione impiegando un numero di estrazioni pari al numero di sequenze del campione meno sequenziato. Si è proceduto alla valutazione dell' α -diversity con diversi parametri: Chao1, indice di Shannon, indice di Simpson e le curve di rarefazione delle specie osservate. Per stimare la β -diversity sono state eseguite: la Principal Coordinate Analysis (PCoA) basata sulle distanze UniFrac ponderata, e la Canonical Correspondence Analysis (CCA) per stimare quanto la varianza dei campioni sia spiegata dalla varianza delle variabili ambientali. Questo è stato eseguito con il programma statistico RStudio v. 1.1.383 con i pacchetti Phyloseq (versione 1.30.0), Vegan (versione 2.5-6) e Pheatmap (versione 1.0.12).

Di seguito si riportano i dati riguardanti l' α diversity della comunità batterica, ovvero la variazione del numero di specie tra i vari campioni (ricchezza) e la loro equidistribuzione. Nel caso si assista

ad una selezione di microorganismi competenti per la degradazione dei contaminanti, sia il numero di specie batteriche che la loro equidistribuzione diminuiranno. In generale il primo effetto è dovuto alle variazioni delle condizioni a contorno (aerazione, temperatura, biostimolazione ecc...) che favoriscono solo alcune delle specie presenti nel microbioma. Il secondo effetto è dovuto all'arricchimento numerico delle specie che si adattano alle variazioni ambientali citate. Tuttavia questo secondo effetto è riconducibile anche all'istaurarsi di popolazioni dominanti perché metabolicamente attive nei confronti della contaminazione ovvero capaci di utilizzare quest'ultima come unica fonte di carbonio.

Dai dati riportati in Figura 30 si nota che nei mesocosmi bio-stimolati non si ha una riduzione del numero di specie presenti (pannello A), ma si ha un chiaro arricchimento di ceppi specifici (pannello B e C), mentre per i mesocosmi inoculati col fungo, si ha un aumento delle specie presenti (più marcato per il sedimento p87) ed un aumento dell'equidistribuzione delle specie batteriche: questo processo evidenzia che la selezione in questo caso influisce molto meno sulla comunità microbica.

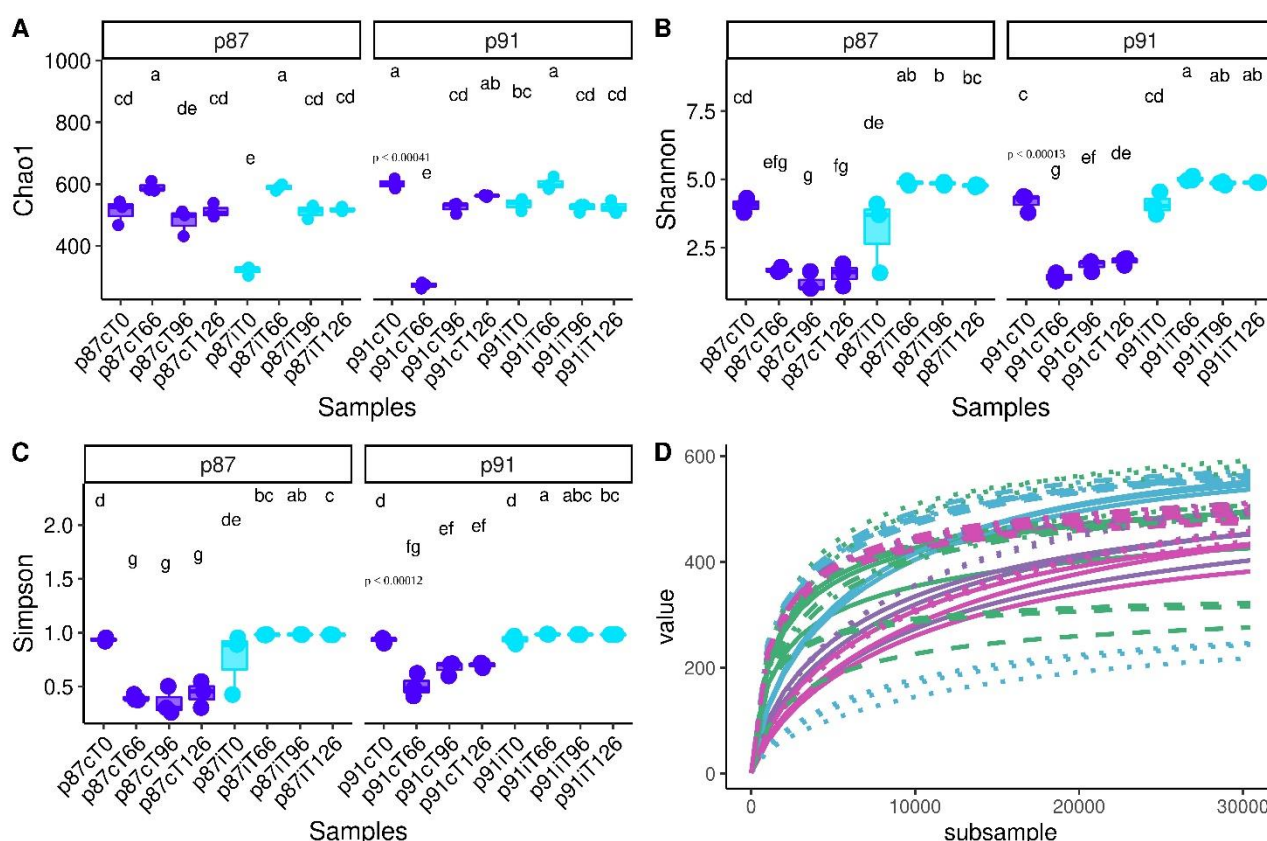


Figura 33 analisi dell'alpha diversity della comunità batterica. Sono riportati un indice di ricchezza (Chao1) e due indici di diversità (Shannon e Simpson). In blu scuro si riportano i campioni bio-simolati, in azzurro si riportano i campioni inoculati col fungo *Fusarium sp.* Nel pannello D sono riportate le curve di rarefazione per ciascun campione, al fine di dimostrare che i campioni sono stati sequenziati a sufficienza per le successive analisi statistiche. Il p-value rappresentato è risultante da un test omnibus di Kruskal-Wallis (95% di confidenza), mentre le lettere rappresentano gruppi statisticamente identici secondo il test post-hoc LSD di Fisher, corretto per confronti multipli tramite il metodo di Benjamini-Hochberg

La stessa valutazione è stata effettuata per la comunità fungina. Notare che le specie fungine sono in numero estremamente più ridotto rispetto alle batteriche. In questo caso si nota che il fungo ha perturbato in misura minore la comunità del sedimento p87, mentre nel sedimento p91 la perturbazione è simile sia nei bio-stimolati che negli inoculati, suggerendo che sia stato l'effetto dei nutrienti a causare il processo di selezione di ceppi fungini autoctoni (riduzione della ricchezza e dell'equidistribuzione).

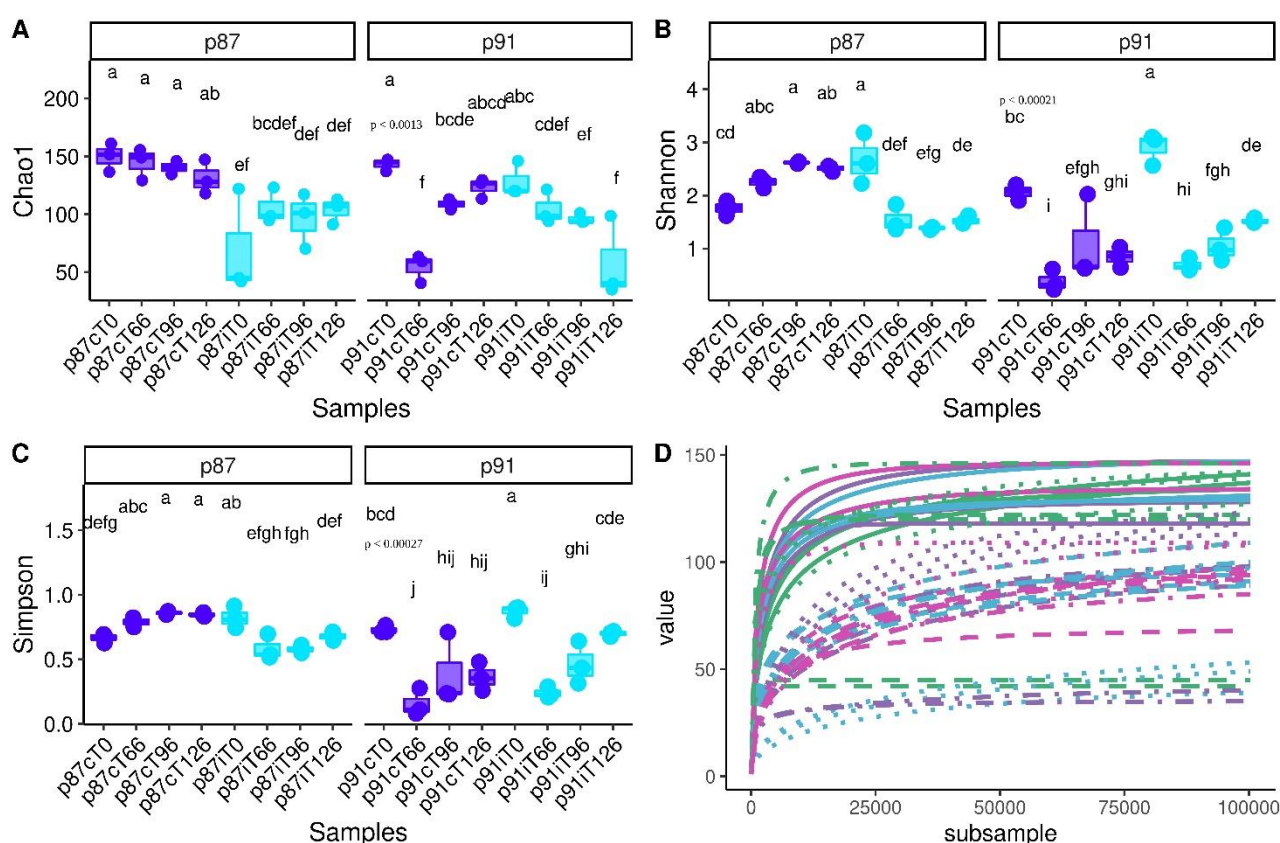


Figura 34 alpha diversity della comunità fungina. La descrizione della figura è analoga a quella riportata per la Figura 5

La beta diversity batterica, (Figura 32), che mostra se e come varia l'ecologia batterica durante il processo, indica che, osservando fino all'87% della varianza sui due assi riportati, le popolazioni batteriche sono ben distinte e diverse tra il tempo dell'allestimento della sperimentazione e i successivi tempi di incubazione. Inoltre i mesocosmi inoculati mostrano una ecologia batterica ben distinta da quella dei mesocosmi non inoculati. I primi sono del resto associati ad una significativa deplezione dei contaminanti organici. L'andamento è evidente per entrambi i sedimenti, ed evidenzia una ragionevole partecipazione della comunità batterica al processo degradativo.

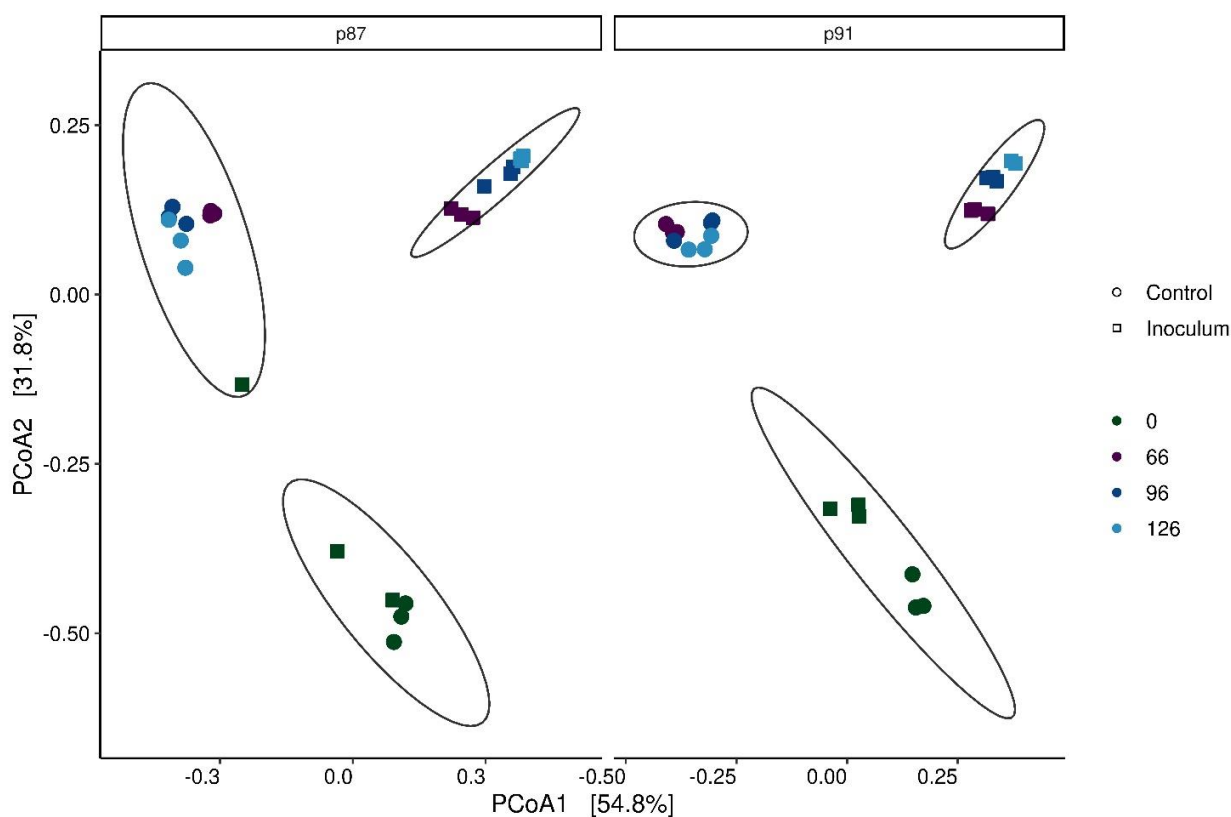


Figura 35 Principal Component Analysis (PcoA) della comunità batterica, basata sulla distanza tassonomica UniFrac pesata. Le ellissi descrivono un intervallo di confidenza del 95% in termini di similarità dei punti sperimentali, calcolato tra i punti sperimentali più simili secondo l'ordinamento gerarchico UPGMA.

In relazione alla comunità fungina (Figura 33), dove si analizza l'87% della varianza, le popolazioni fungine di riferimento mostrano differenze molto meno nette rispetto a quelle batteriche sia in relazione alle condizioni sperimentali che ai tempi di incubazione ed il dato è più evidente per p97 che per p81.

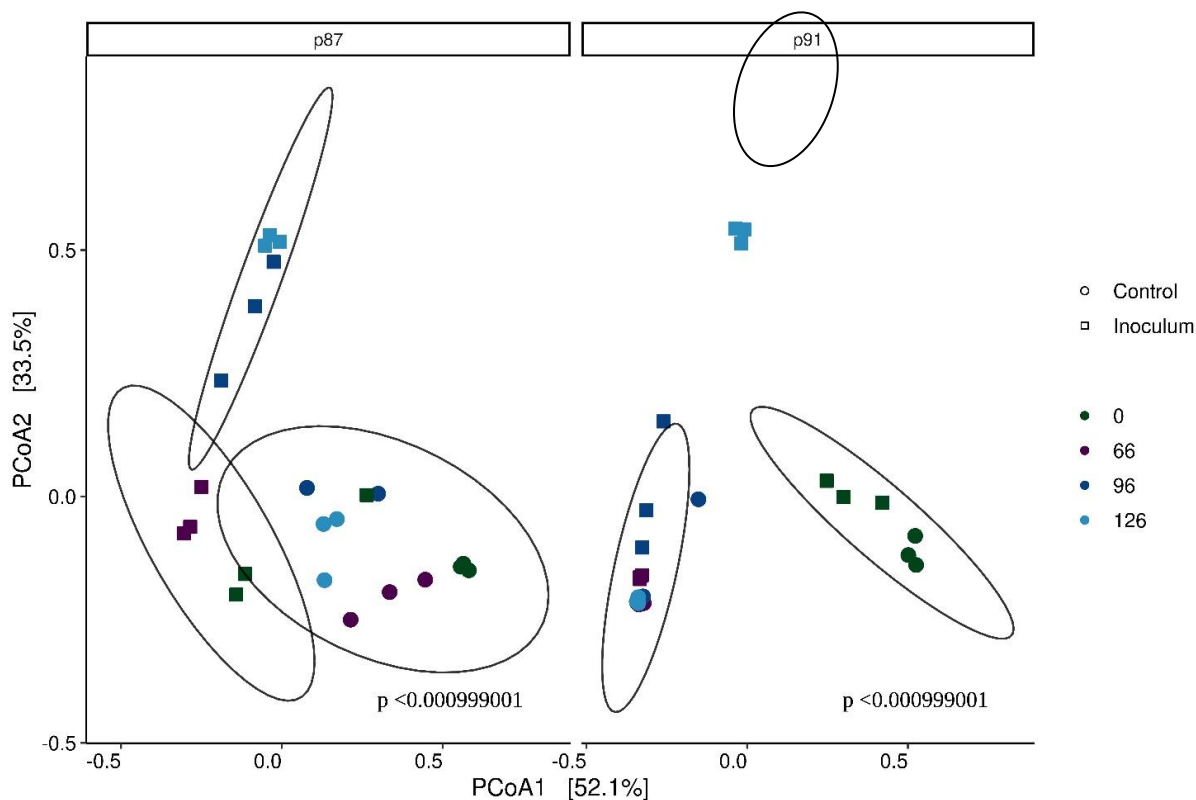


Figura 36 PCoA della comunità fungina. La descrizione della figura è analoga a quella riportata per la figura 64

In Figura 34 e 35 sono riportate le abbondanze relative dei diversi taxon batterici in p87 analizzati a livello di famiglia e genere rispettivamente. Si osserva il raggruppamento per profili in base al tempo di incubazione ed al tipo di trattamento. In altre parole le famiglie batteriche con valore di zeta score positivo rispetto al corrispondente valore medio che caratterizzano il tempo dell'allestimento della sperimentazione sono diverse da quelle che caratterizzano i tempi successivi di incubazione, ma in assenza di inoculo fungino. In questo caso si osserva una dominanza delle famiglie delle *Halothiobacillaceae* e delle *Bacillaceae* con una netta dominanza delle prime. Allo stesso tempo si osserva invece una evoluzione continua ai tempi successivi di analisi nel caso di bio-inoculo fungino che è caratterizzata da una progressiva dominanza delle *Streptomyetaceae* (Figura 33).

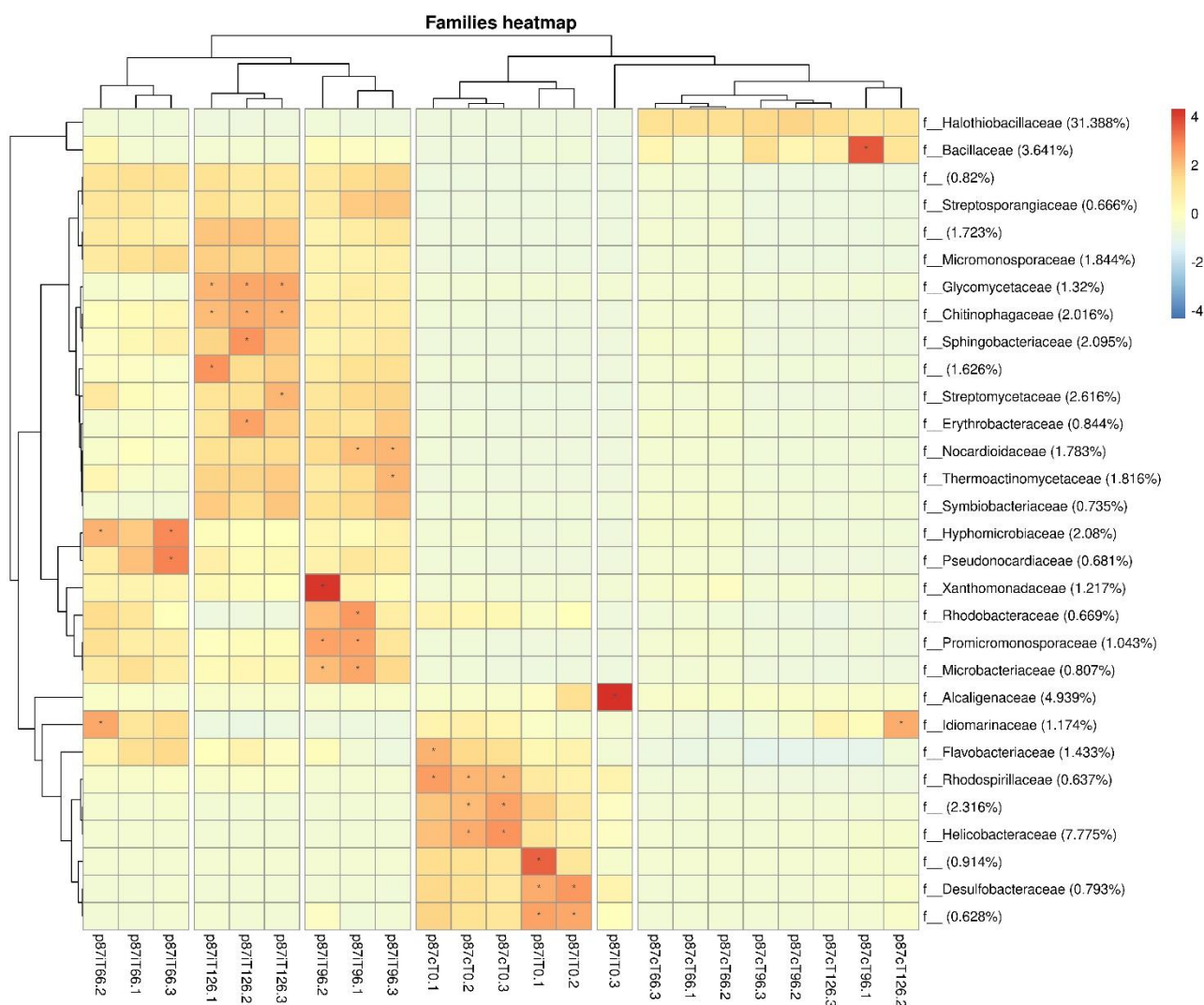


Figura 37 Heatmap delle maggiori 30 abbondanze relative, aggregate a livello di famiglia, per la comunità batterica del sedimento p87. Sia sulle righe che sulle colonne sono riportati gli alberi derivanti da un clustering gerarchico basato sulla correlazione di Pearson delle distanze euclidee. Lo schema di colori freddo-caldo rappresenta lo z-score di ciascun taxon, calcolato rispetto alla sua presenza in ciascun campione. Le percentuali riportate accanto ai nomi dei taxon rappresentano le abbondanze relative per campione rispetto al totale (un valore Z pari a zero rappresenta la percentuale riportata). Gli asterischi rappresentano uno z-score maggiore di 2 o minore di -2.

A livello di genere (Figura 35) ovviamente l'andamento si ripresenta evidenziando che in presenza di inoculo fungino si instaura una progressiva evoluzione della comunità batterica non evidente a carico dell'ecologia microbica del sedimento dove è avvenuta la sola bio-stimolazione.

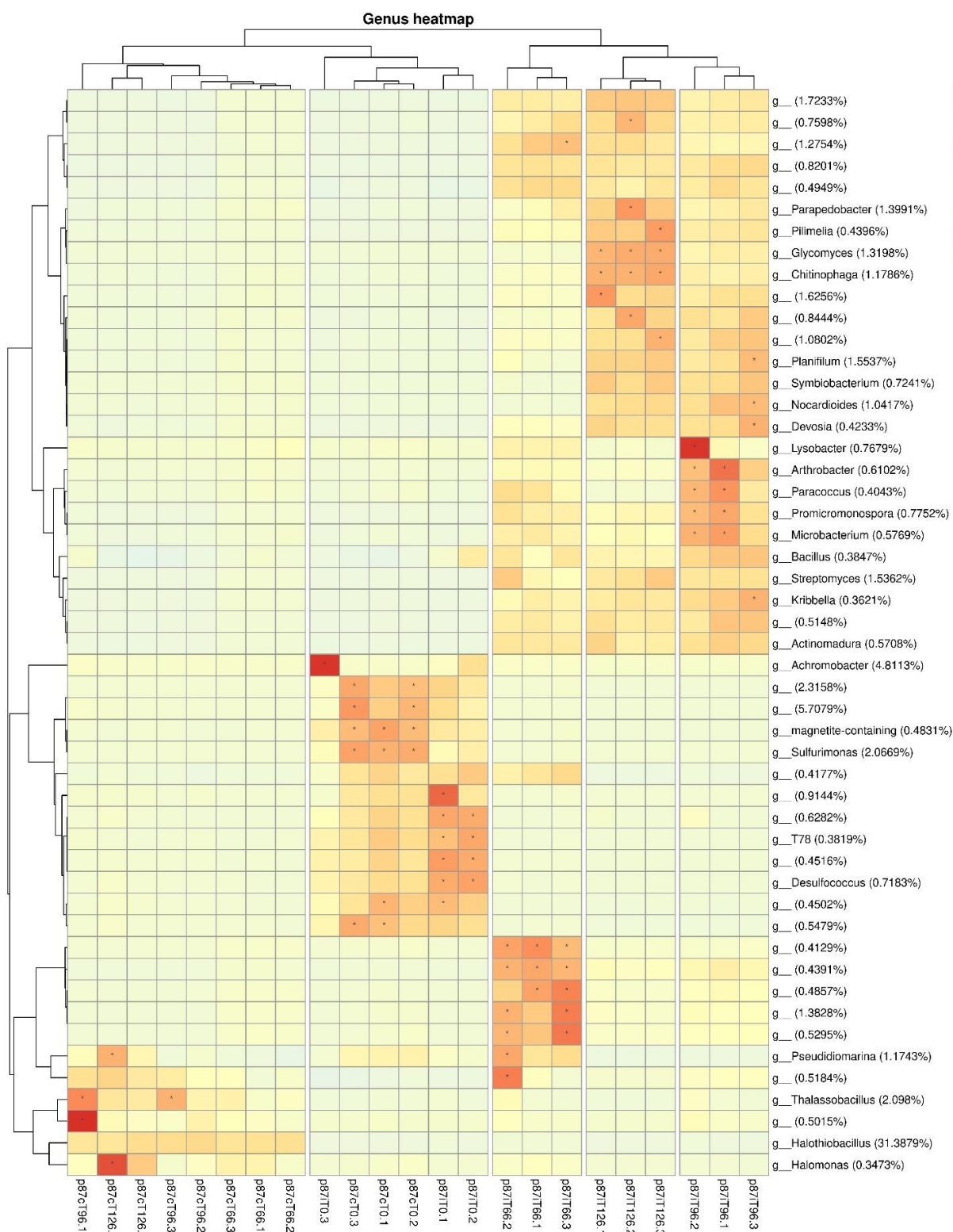


Figura 38 Heatmap delle maggiori 50 abbondanze relative, aggregate a livello di genere, per la comunità batterica del sedimento p87. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 34.

Quanto osservato nel sedimento p87 è stato osservato anche nel sedimento p91 sia a livello di famiglia (Figura 36) che di genere (Figura 37).

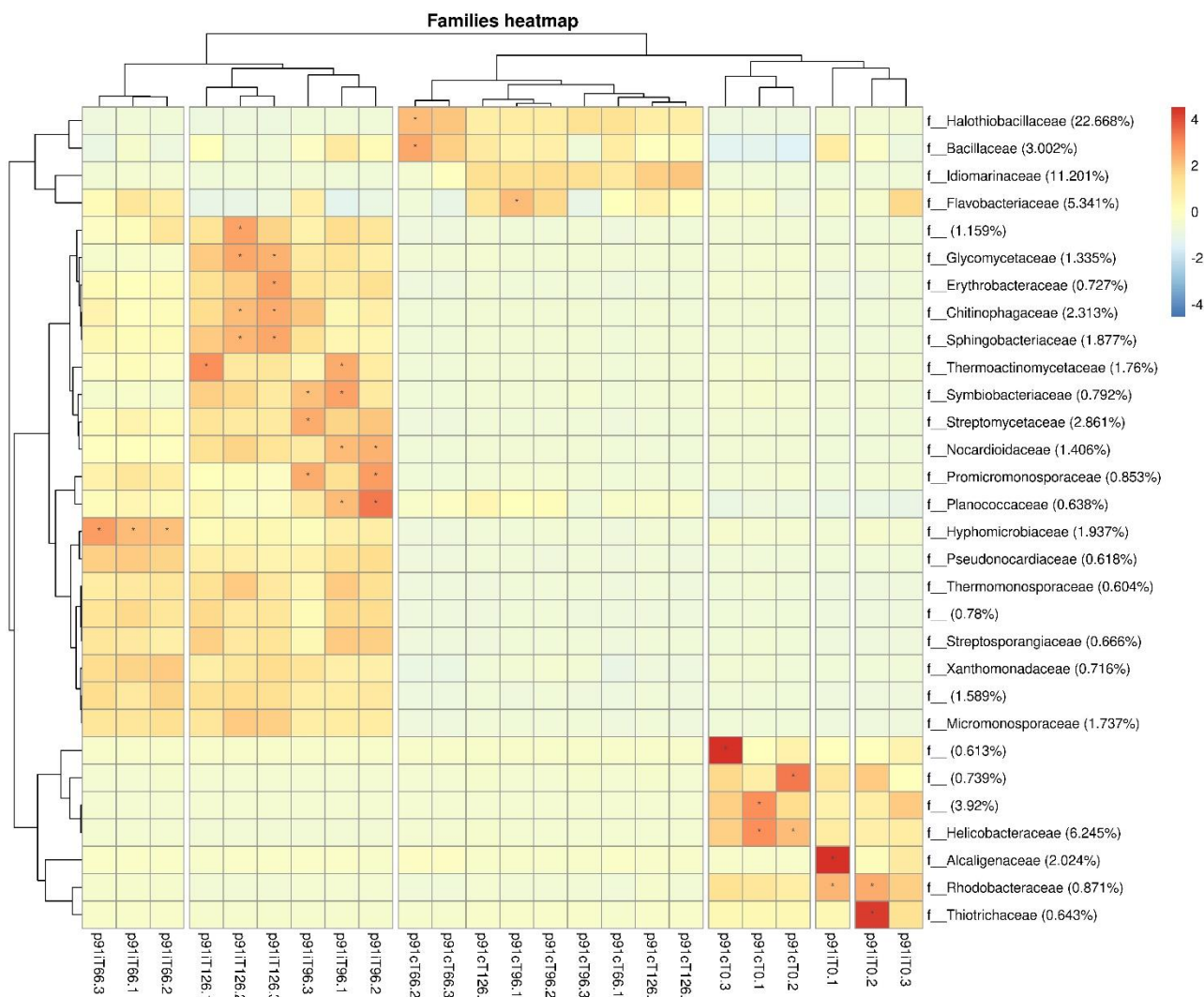


Figura 39 Heatmap delle maggiori 30 abbondanze relative, aggregate a livello di famiglia, per la comunità batterica del sedimento p91. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 34.

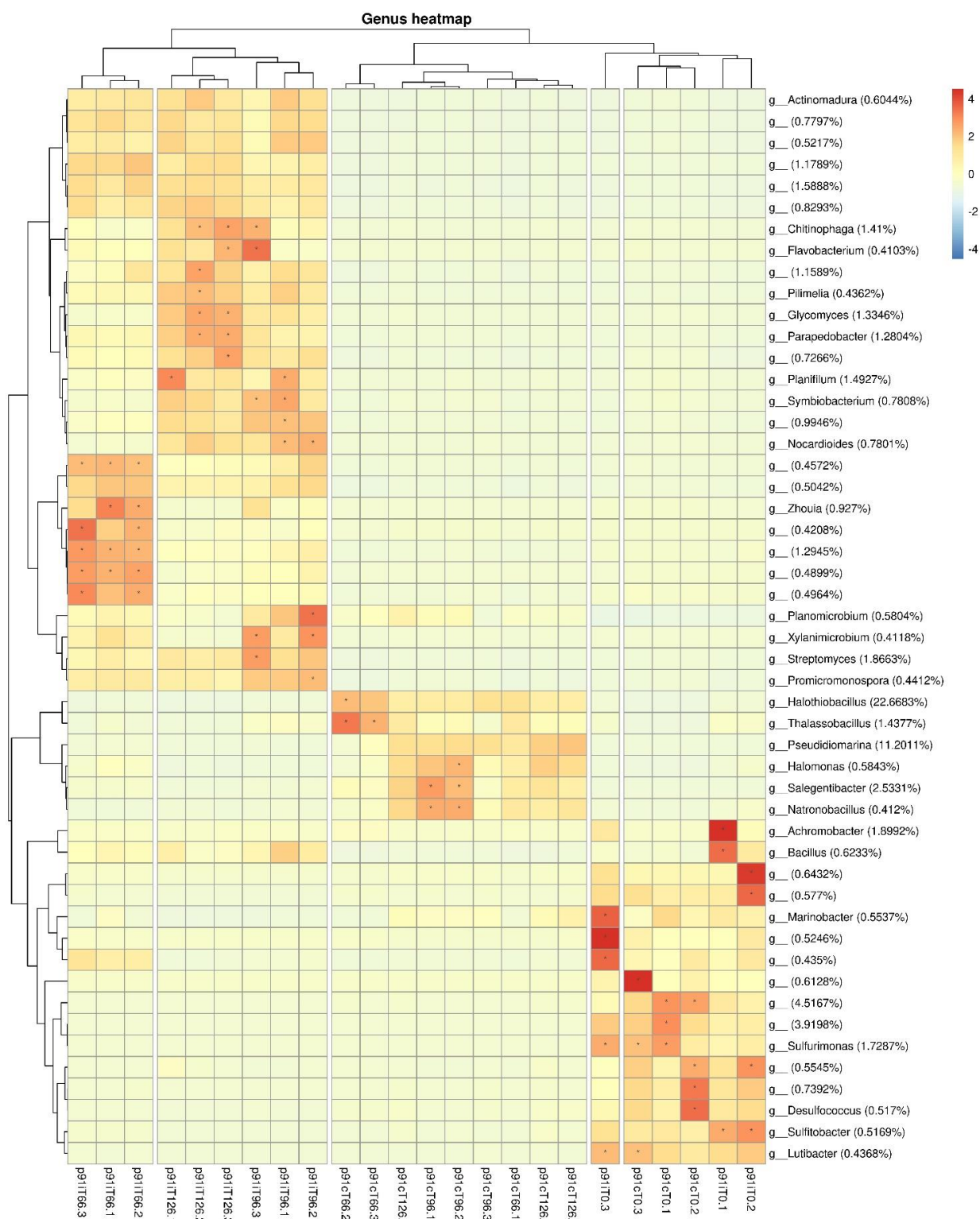


Figura 40 Heatmap delle maggiori 50 abbondanze relative, aggregate a livello di genere, per la comunità batterica del sedimento p91. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 34.

In relazione ai risultati di meta-genomica predittiva ottenuti (Figura 38) si osserva che il contributo dei generi batterici potenzialmente coinvolto nella degradazione degli xenobiotici è significativamente maggiore nei mesocosmi inoculati rispetto ai mesocosmi non inoculati, con un maggior contributo della comunità batterica del sedimento p87 rispetto al sedimento p91, confermando quanto si osserva a livello di analisi chimiche, ovvero che le cinetiche di deplezione della contaminazione sono più rapide, almeno nei primi 66 giorni di incubazione, nel sedimento p87 rispetto al p91.

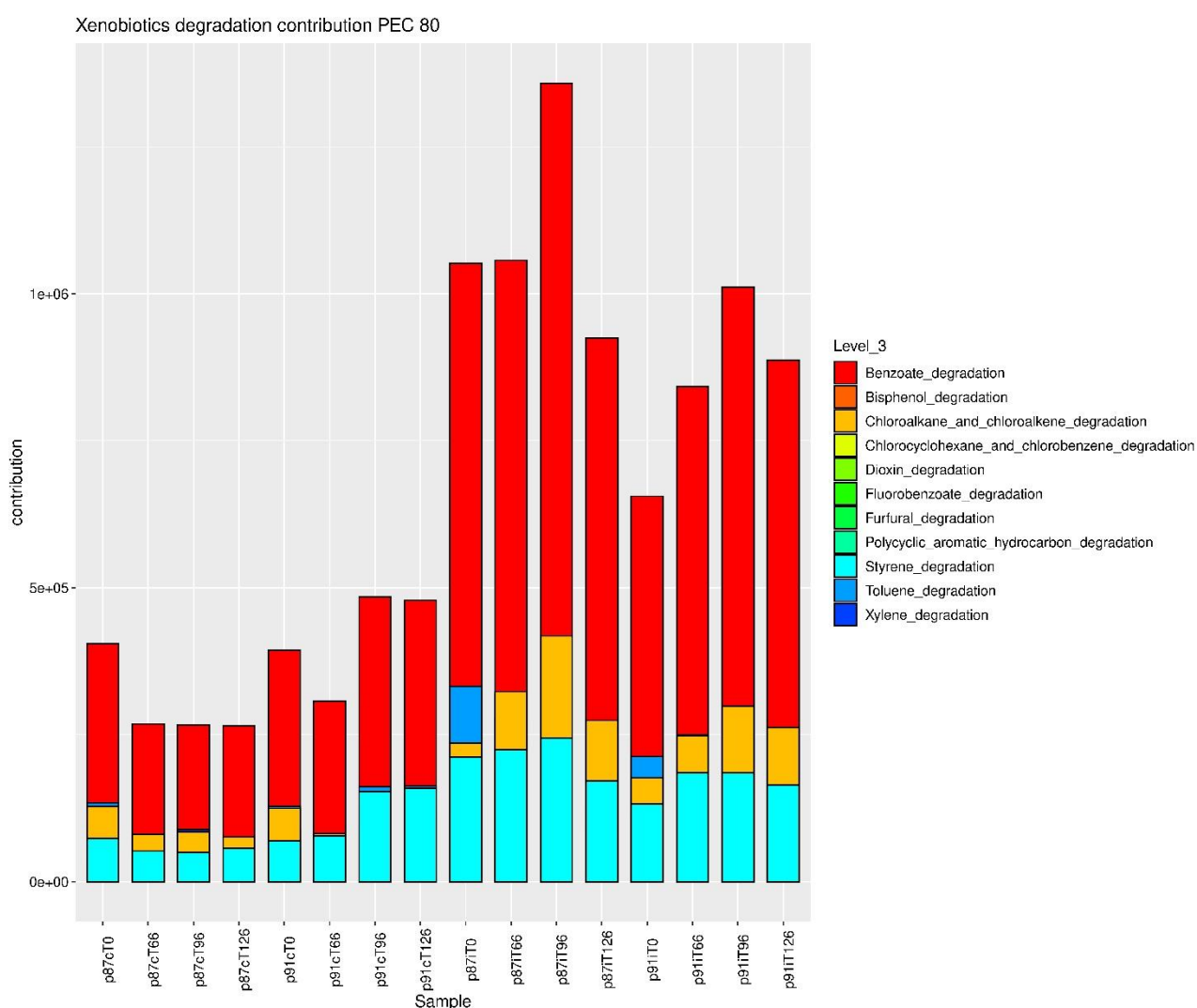


Figura 41 conteggio dei contributi funzionali in ciascun metagenoma, calcolato tramite PICRUSt2, e distribuito per categoria degradativa secondo BRITE database.

Nel contesto della degradazione dei policiclici aromatici, comunque presenti nei due sedimenti in studio si osserva, per il sedimento p81 (Figura 39), il maggior contributo di generi batterici quali *Glycomyces*, *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Promicromonospora*, *Pseudonocardia* e *Arthrobacter* sps è riconducibile alla famiglia degli Attinobacteri, il cui contributo non è dominabte nei mesocosmi non inoculati

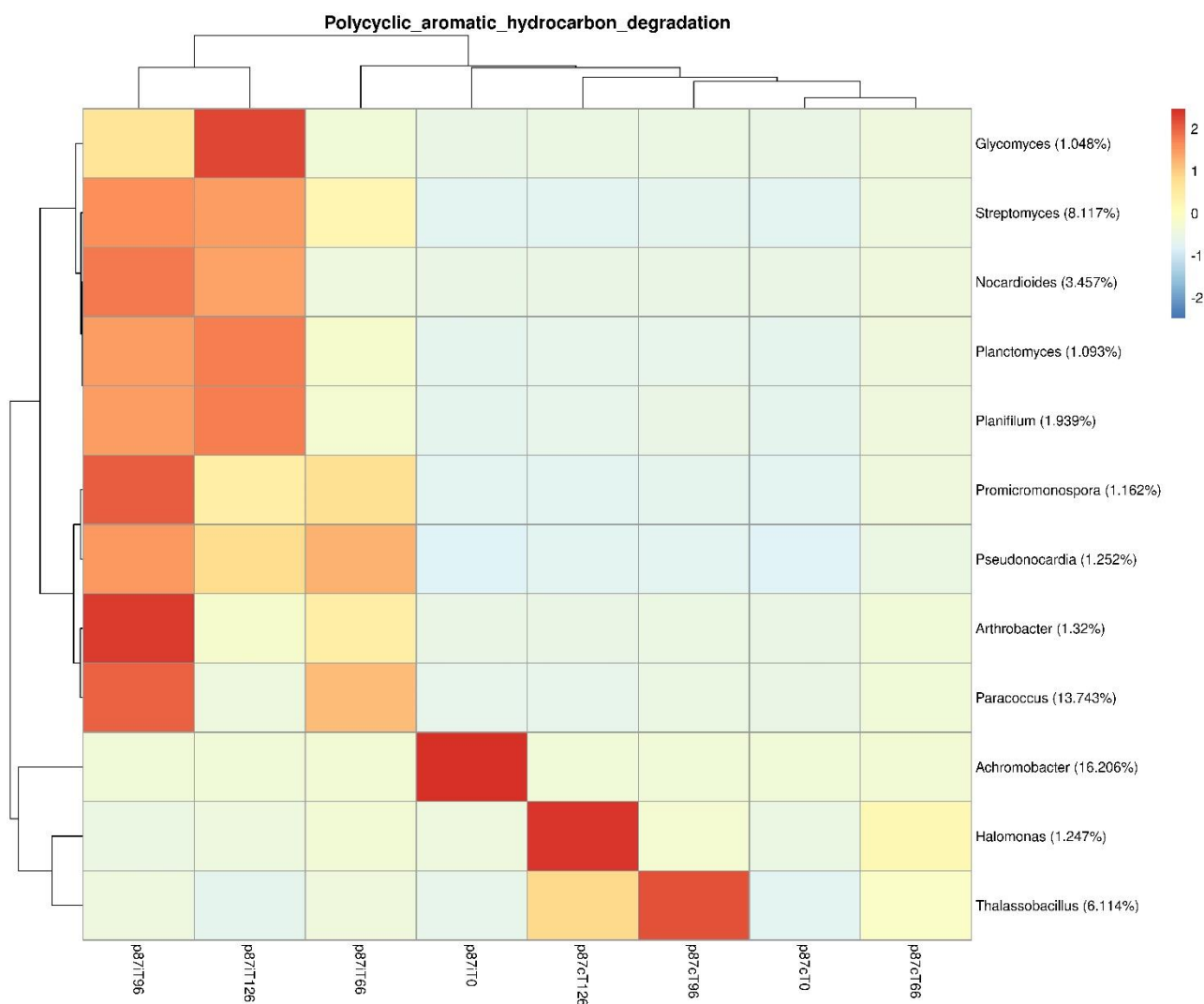


Figura 42 Heatmap che mostra i contributi al pathway della degradazione dei composti policiclici aromatici da parte della comunità batterica nel sedimento p87. Tali contributi sono stati calcolati escludendo i microorganismi che contengono meno dell'80% dei geni che contribuiscono al suddetto pathway. La risoluzione tassonomica è riportata a livello di genere. Sia sulle righe che sulle colonne sono riportati gli alberi derivanti da un clustering gerarchico basato sulla correlazione di Pearson delle distanze euclidee. Lo schema di colori freddo-caldo rappresenta lo z-score di ciascun taxon, calcolato rispetto alla sua presenza in ciascun campione. Le percentuali riportate accanto ai nomi dei taxon rappresentano le abbondanze relative per campione rispetto al totale (un valore Z pari a zero rappresenta la percentuale riportata).

Nel sedimento p91 si osserva un andamento simile anche se caratterizzato da una dominanza relativa minore di Attinobatteri associati alle cinetiche di deplezione della contaminazione, limitata a *Glycomyces*, *Streptomyces*, *Nocardioide*s, *Pseudonocardia* e *Arthrobacter* sps. In entrambe i sedimenti un contributo importante è ascrivibile al *Paracoccus* sp.

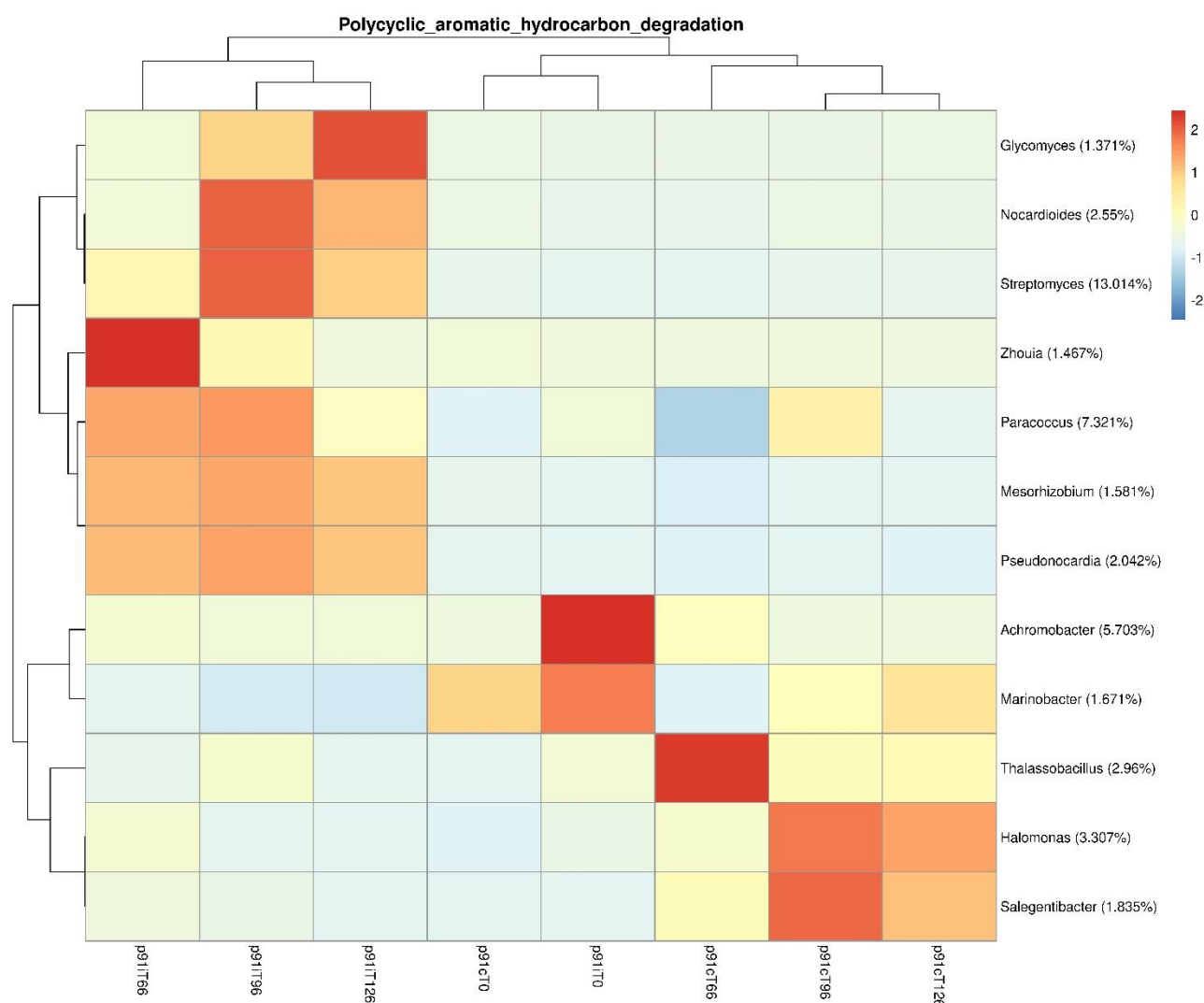
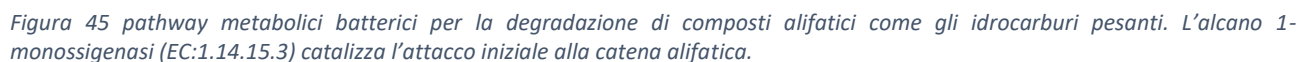
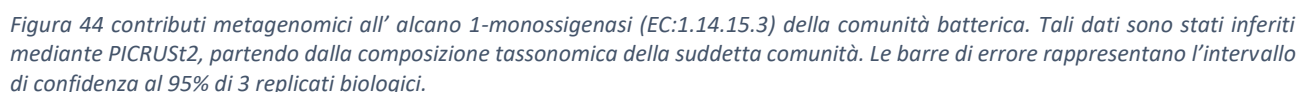


Figura 43 Heatmap che mostra i contributi al pathway della degradazione dei composti policiclici aromatici da parte della comunità batterica nel sedimento p91. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 9.

In Figura 41 si riporta il contributo della comunità batterica al metagenoma per un enzima chiave nella degradazione aerobica degli idrocarburi pesanti: l'alcane 1-monoossigenasi (EC:1.14.15.3). L'alcane 1-monoossigenasi risulta essere responsabile dell'attacco iniziale alla catena alifatica degli idrocarburi pesanti, ossia del primo degli step ossidativi che portano alla frammentazione dei contaminanti alifatici in molecole più leggere e più semplici da metabolizzare (Figura 42).



In figura in Figura 42 si può notare come il conteggio dell'enzima EC:1.14.15.3 risulti significativamente maggiore nei campioni inoculati col fungo, suggerendo che il metabolismo fungino coadiuva la comunità batterica degradativa.

E' d'altra parte evidente che la comunità batterica autoctona è potenzialmente caratterizzata da corredi genetici responsabili della degradazione degli idrocarburi pesanti e degli IPA che rispondono con un incremento del contributo relativo nei mesocosmi inoculati con il candidato fungino, suggerendo un sinergismo del metabolismo degradativo che coinvolge sia la componente batterica che fungina. Il suddetto sinergismo è ragionevolmente responsabile dell'accelerazione dei processi di degradazione della contaminazione nei mesocosmi inoculati rispetto ai non inoculati.

Interessante risulta anche la capacità della comunità batterica di sintetizzare ramnolipidi associata alla presenza della dTDP-4 deidriramnosio 3,5-epimerasi (EC:5.1.3.13) (Figura 75), che partecipa alla produzione dei ramnolipidi eventualmente prodotti per la solubilizzazione di composti idrofobici che nel caso della presente sperimentazione sono ragionevolmente associati alla contaminazione.

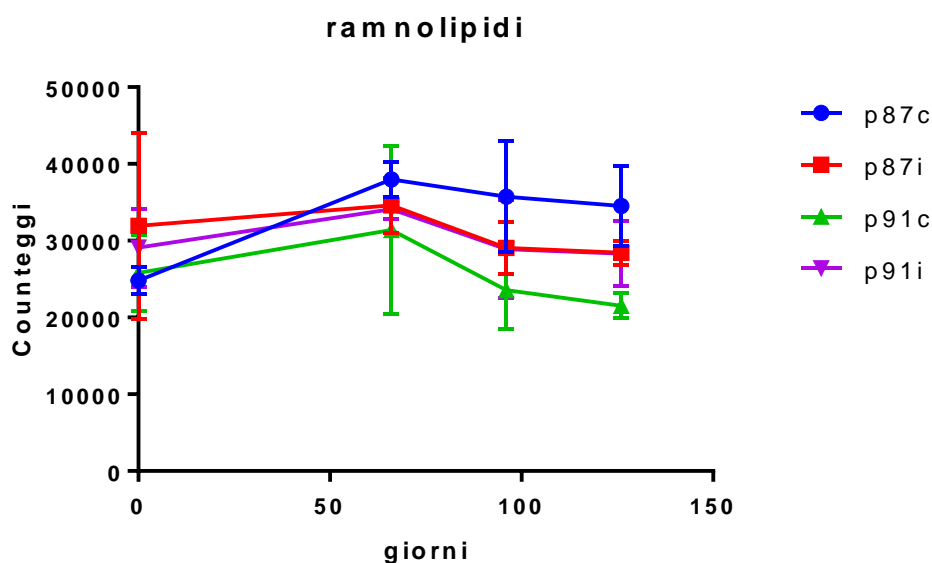


Figura 46 dTDP-4 deidriramnosio 3,5-epimerasi (EC:5.1.3.13) inclusa anche nella produzione dei tensioattivi ramnolipidici

In relazione all'ecologia fungina (Figura 44) del sedimento p87 si osserva che il genere fungino inoculato è il più rappresentato nel sedimento bio-inoculato e perdura come tale lungo tutto il trattamento. Inoltre, l'ecologia fungina dei sedimenti inoculati risulta distinta da quella dei sedimenti non inoculati almeno in termini di specie dominanti.

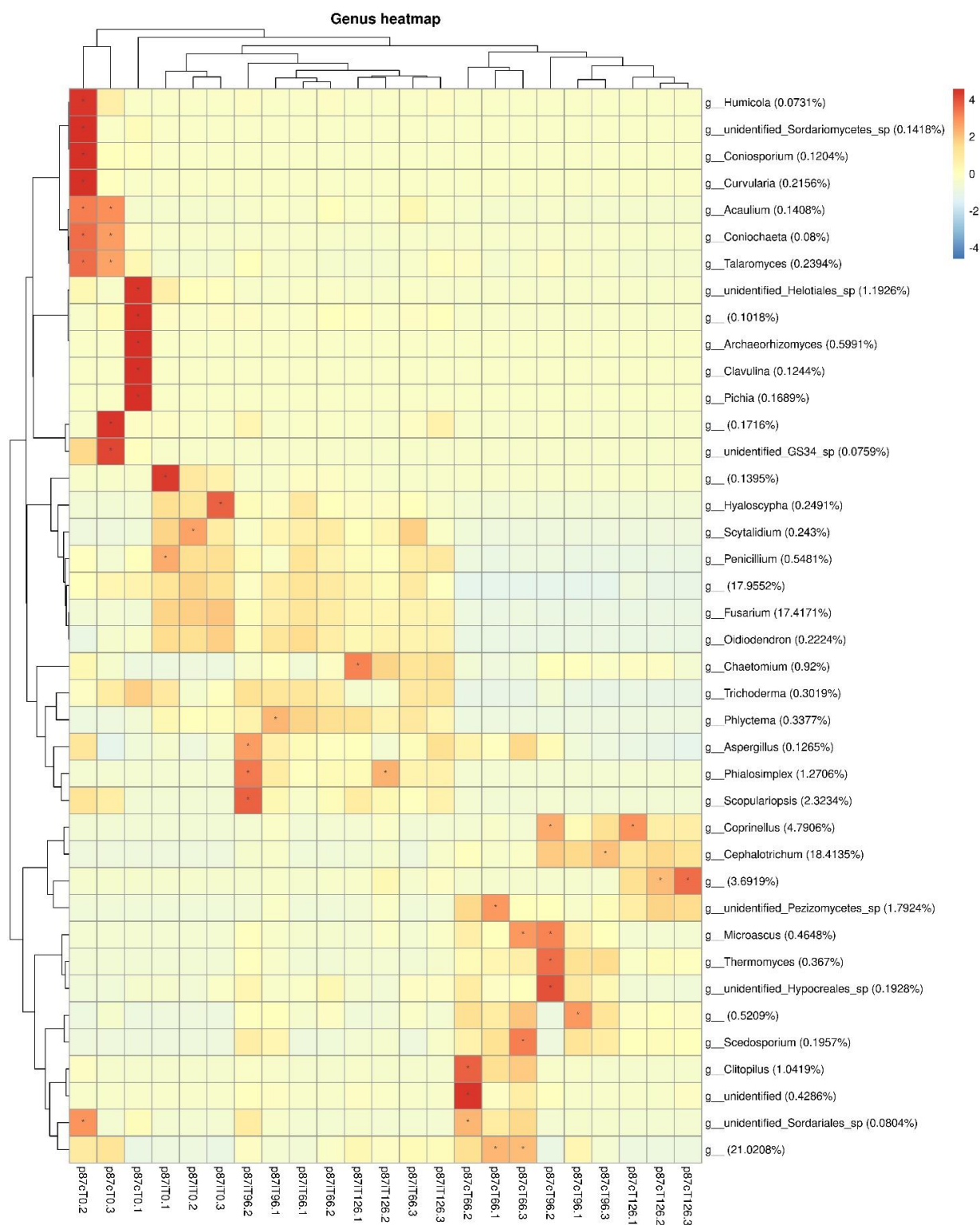


Figura 47 Heatmap delle maggiori 40 abbondanze relative, aggregate a livello di genere, per la comunità fungina del sedimento p87. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 34.

In relazione al sedimento p91 (Figura 45), si osserva che il genere fungino inoculato è comunque il dominante nei sedimenti inoculati ma solo nella prima fase della sperimentazione, ovvero fino ai 66 giorni di trattamento. Anche in questo caso l'ecologia fungina dei sedimenti inoculati è significativamente diversa dall'ecologia microbica dei sedimenti non inoculati.

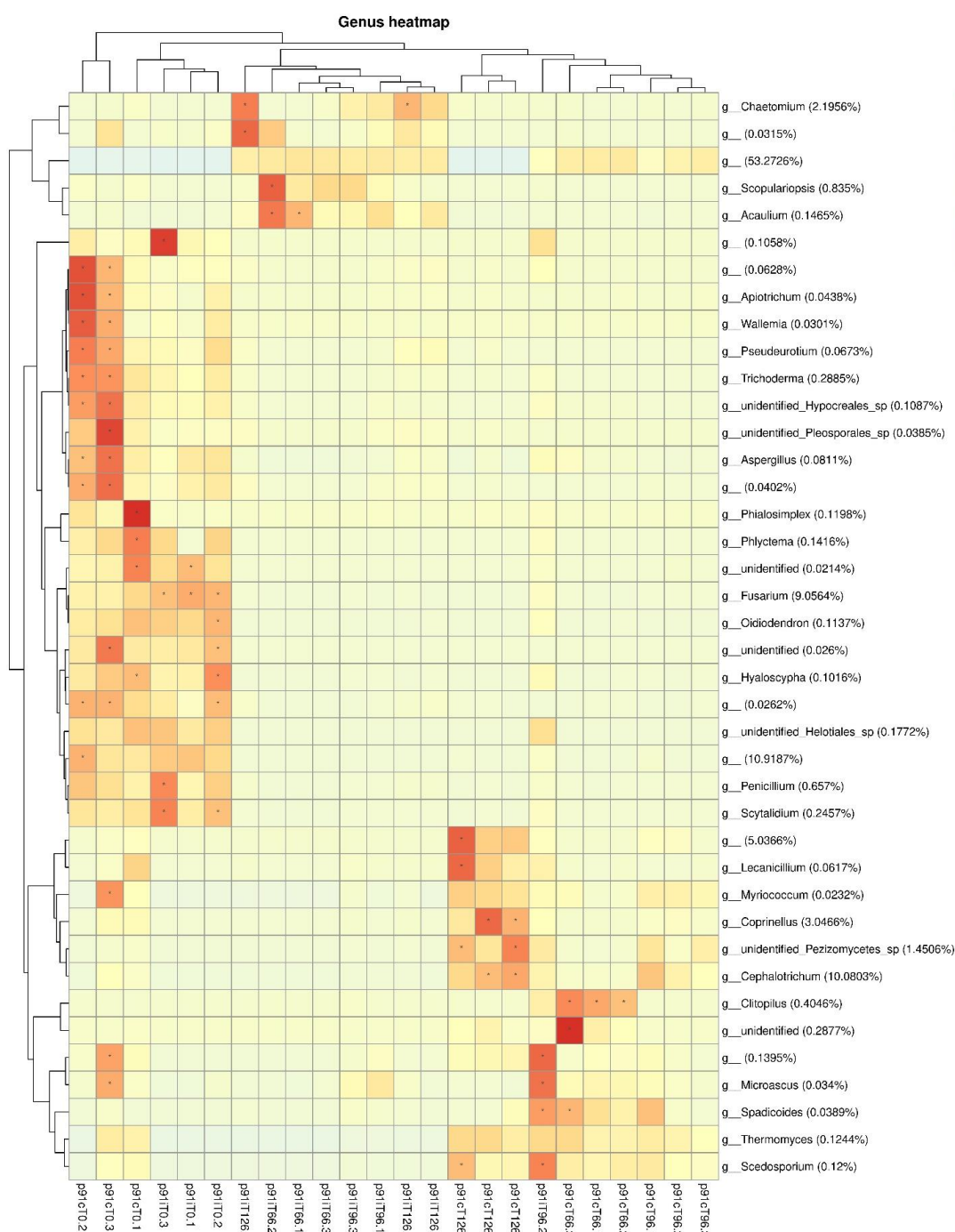


Figura 48 Heatmap delle maggiori 40 abbondanze relative, aggregate a livello di genere, per la comunità fungina del sedimento p87. La descrizione della figura è analoga a quella della figura 34.

L'ecologia fungina osservata che vede una dominanza del genere fungino inoculato nei sedimenti corrispondenti correla con le cinetiche di deplezione della contaminazione osservate. La cinetica migliore corrispondente al sedimento p87 correla con una prolungata dominanza del genere fungino fino ai 126 giorni, non osservata nel sedimento p91.

In relazione ai generi batterici, gli Actinobacteria sono descritti nelle degradazioni di recalcitranti ambientali non solo come degradatori mediante meccanismi intracellulari, ma anche eventualmente responsabili di processi di umificazione della sostanza organica che sono ragionevolmente coinvolti nel favorire l'attività metabolica di eventuali microrganismi capaci di utilizzare la contaminazione come unica fonte di carbonio (Becarelli et al. 2021). In relazione ai batteri, il genere *Glycomyces* è stato isolato da sedimenti marini con l'isolamento ed identificazione di nuove specie (Mohammadipanah et al. 2018). Il coinvolgimento in processi di degradazione di contaminanti organici è descritto per la prima volta in questo contesto. Il genere *Glycomyces* è descritto soprattutto come genere terricolo eventualmente presente anche in ambienti estremi (Guan et al. 2017). Analogamente il genere *Streptomyces* è stato isolato da ambienti ipersalini (Fathepure et al. 2014) ed ha trovato impiego in processi di deplezione di contaminazione da idrocarburi pesanti (Baoune et al. 2019). Il genere *Nocardioides* è già descritto come coinvolto nella degradazione di idrocarburi pesanti (Schipper et al. 2005). Il genere *Promicromonospora* è descritto come dominante in matrici contaminate da idrocarburi pesanti (Liu et al. 2020), così come osservato per *Pseudonocardia* (Wang et al. 2016)) e *Arthrobacter* (Xu et al. 2018).

5.4 Conclusioni

Di fatto l'approccio di mycoremediation risulta essere importante per accelerare le cinetiche di degradazione della contaminazione in entrambe i sedimenti analizzati. Il processo di decontaminazione è accompagnato anche da processi di umificazione della sostanza organica che giustificano un recupero in resilienza della matrice, positivamente correlato all'aumento della biodiversità batterica osservato durante il processo di mycoaugmentation distinguendo le matrici finali in modo significativo. Si osserva infatti un incremento degli indici di biodiversità nei sedimenti inoculati. Lo stesso andamento non è evidente nei sedimenti non inoculati anche se risulta misurabile un inizio di processo di biodegradazione della contaminazione presente.

6 Descrizione delle prove di Landfarming con bioincremento batterico

Il trattamento delle frazioni del sedimento contenenti inquinanti organici e modeste quantità di inorganici da trattate a scala pilota ha previsto l'esecuzione di prove su scala di laboratorio mediante *enhanced landfarming* (EL) con addizione di un ceppo batterico opportunamente selezionato.

La selezione è stata operata tra i numerosi ceppi degradatori di idrocarburi in collezione ad UNICA, isolati da sedimenti portuali nell'ambito del Progetto MAPMED ENPI CBC MED e precedentemente saggiati in scala di laboratorio in modalità *slurry* in combinazione ad ammendanti inorganici.

La caratterizzazione è stata ampliata in GRRinPPRT a caratteristiche fisiologiche importanti per definire le proprietà ecologiche dei ceppi e gli esiti comparati con i dati bibliografici disponibili in letteratura; va infatti precisato che l'efficacia di microrganismi per la rimozione *in situ* di sostanze chimiche dall'ambiente dipende dalla loro sopravvivenza e dalle loro prestazioni negli ecosistemi naturali. È utile pertanto condurre caratterizzazioni fisiologiche per valutare i fattori che possono migliorare o inibire le loro prestazioni. Sebbene un microrganismo possa dare buoni risultati in coltura pura in laboratorio in condizioni ottimali, le sue prestazioni possono infatti differire quando il microrganismo è sottoposto alle condizioni chimiche e fisiche della matrice naturale da trattare e posto in competizione con le popolazioni microbiche autoctone.

Sulla base delle proprietà fisiologiche, delle capacità cataboliche ed anaboliche è stato selezionato il ceppo C285B. Il ceppo è stato attribuito al genere *Mycobacterium* (recentemente proposto come nuovo genere *Mycolicibacterium*) sulla base della sequenza del gene 16S rRNA, che mostra un'identità del 100% con quella del ceppo tipo della specie *Mycobacterium austroafricanum*. Il ceppo pertanto non è da ritenere patogeno ed è collocabile nel livello di rischio biologico 1 secondo la DSMZ. Sono numerosi gli studi di letteratura che dimostrano l'efficienza di ceppi appartenenti al genere *Mycobacterium/Mycolicibacterium* nello stimolare su scala di laboratorio la degradazione di idrocarburi, inclusi IPA ad alto peso molecolare, sia in suoli che in sedimenti marini e dolci (Kim et al., 2010).

Il ceppo si caratterizza non solo per la capacità di degradare efficientemente idrocarburi petroliferi (n-C10, n-C12, n-C16, gasolio) ed in particolare IPA ad alto peso molecolare (pirene, fenantrene) ma produce anche composti superficie attivi in grado di abbassare la tensione al di sotto di 25 mN/m. Tali metaboliti sono di fondamentale importanza nel favorire l'accesso agli idrocarburi da parte delle cellule produttrici ma trovano anche largo impiego (sia come prodotti purificati che come ceppi produttori) come ammendati per la stimolazione della degradazione microbica nel biorisanamento (Franzetti et al., 2010). Infine, C285B si caratterizza per un ampio spettro di tolleranza alle variazioni di salinità e temperatura, essendo in grado di crescere efficientemente tra 0 e 30 g/l di NaCl e tra 20 e 35 °C; tale tolleranza alle variazioni nei parametri ambientali rappresenta una proprietà importante in prospettiva ad un suo uso come *inoculum* per trattamenti in condizioni reali (Mandaresu, 2020).

7 Biibliografia

APAT 2007, *Manuale per la movimentazione di sedimenti marini* – Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare, APAT e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 2007

Baoune H, Aparicio JD, Acuña A, El Hadj-Khelil AO, Sanchez L, Polti MA, Alvarez A. Effectiveness of the *Zea mays*-*Streptomyces* association for the phytoremediation of petroleum hydrocarbons impacted soils. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019 Nov 30;184:109591. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109591. Epub 2019 Sep 9. PMID: 31514081.

Becarelli, S., I. Chicca, G. Siracusa, S. La China, A. Gentini, R. Lorenzi, Gi. Munz, G. Petroni, D.B. Levin and S. Di Gregorio (2019). "Hydrocarbonoclastic Ascomycetes to enhance co-composting of total petroleum hydrocarbon (TPH) contaminated dredged sediments and lignocellulosic matrices". In: *New biotechnology* 50, pp. 27-36. DOI: 10.1016/j.nbt.2019.01.006

Chaudhary, D. K., and J. Kim (2018). "*Flavobacterium naphthae* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil". In: *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(1), pp. 305-309. DOI: 10.1099/ijsem.0.002504

Chaudhary, D. K., D. U. Kim, D. Kim, and J. Kim (2019). "*Flavobacterium petrolei* sp. nov., a novel psychrophilic, diesel-degrading bacterium isolated from oil-contaminated Arctic soil". In: *Scientific reports*, 9(1), pp. 1-9. DOI: 10.1038/s41598-019-40667-7

Fathepure BZ. Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments. *Front Microbiol.* 2014 Apr 23;5:173. doi: 10.3389/fmicb.2014.00173. PMID: 24795705; PMCID: PMC4005966.

Franzetti, A., Tamburini, E., & Banat, M. I. (2010). Applications of biological surface active compounds in remediation technologies. *Biosurfactants*, 1–14.

Guan TW, Xiang HP, Wang PH, Tian L, Tang SK, Zhao SX, Zhang XC. *Glycomyces xinjiangensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a hypersaline habitat. *Arch Microbiol.* 2017 Nov;199(9):1231-1235. doi: 10.1007/s00203-017-1392-z. Epub 2017 Jun 1. PMID: 28573482

Iannelli, R., M. Masi, A. Ceccarini, M. Ostuni, R. Lageman, A. Muntoni, D. Spiga, A. Poletti, A. Marini, and R. Pomi (2015). "Electrokinetic remediation of metal-polluted marine sediments: experimental investigation for plant design". In: *Electrochimica Acta* 181, pp. 146–159. DOI: 10.1016/j.electacta.2015.04.093.

Iannelli, R., M. Masi, and A. Ceccarini (2016). "Gestione e trattamento degli elettroliti nella bonifica elettrocinetica di matrici contaminate da metalli pesanti". In: *Ingegneria dell'Ambiente* 3.2, pp. 140–152. DOI: 10.14672/ida.v3i2.466.

ICRAM (2006). Progetto preliminare di bonifica dell'area marina inclusa nella perimetrazione del sito di bonifica di interesse nazionale di Livorno. Tech. rep., p. 134.

- Kim, S. J., Kweon, O., & Cerniglia, C. E. (2010). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by Mycobacterium strains. In Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.
- Lageman, R and WPool (2009). "Experiences with field applications of electrokinetic remediation". In: Electrochemical Remediation Technologies for Polluted Soils, Sediments and Groundwater, C. Cameselle and K. R. Reddy. John Wiley & Sons, Inc., pp. 697–717. DOI: 10.1002/9780470523650.ch7.
- Lageman, R, W Pool, and G. A. Seffinga (1989). "In-Situ Bodensanierung durch elektrokinetischen Schadstofftransport". In: Sanierung kontaminierter Standorte. Ed. by E. S. Verlag. Vol. 33. Abfallwirtschaft in Forschung und Praxis. Berlin, Germany, pp. 255–282.
- Liu H, Gao H, Wu M, Ma C, Wu J, Ye X. Distribution Characteristics of Bacterial Communities and Hydrocarbon Degradation Dynamics During the Remediation of Petroleum-Contaminated Soil by Enhancing Moisture Content. Microb Ecol. 2020 Jul;80(1):202-211. doi: 10.1007/s00248-019-01476-7. Epub 2020 Jan 18. PMID: 31955225.
- Linee Guida SNPA 18/2018. Analisi granulometriche dei sedimenti marini. Romano E., Ausili A., Bergamin L., Celia Magno M., Pierfranceschi G., Venti F., 2018.
- Kyung-Jo Kim, D-H Kim, J-C Yoo, K. Baek (2011). *Electrokinetic extraction of heavy metals from dredged marine sediment* – In: Separation and Purification Technology 79, pp. 164-169. DOI: 10.1016/j.seppur.2011.02.010
- Masi, M. and R. Iannelli (2015). "Trattamento elettrocinetico di sedimenti di dragaggio portuale contaminati da metalli pesanti: il progetto life+ "SEKRET"". In: Ingegneria dell'Ambiente 2.2, pp. 45–58. DOI: 10.14672 /ida.v2i2.334.
- Mandaresu, M. (2020). Characterization of novel bacterial strains for the bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Thesis of Univeristy of Cagliari. Unpublished results.
- Mohammadipanah F, Atasayar E, Heidarian S, Wink J. Glycomyces sediminimaris sp. nov., a new species of actinobacteria isolated from marine sediment. Int J Syst Evol Microbiol. 2018 Jul;68(7):2357-2363. doi: 10.1099/ijsem.0.002847. Epub 2018 Jun 5. PMID: 29869980.
- Quaderno ICRAM "Aspetti tecnico-scientifici per la salvaguardia ambientale nelle attività di movimentazione dei fondali marini: dragaggi portuali". Gennaio 2002
- Siracusa, G., S. Becarelli, R. Lorenzi, A. Gentini, and S. Di Gregorio (2017). "PCB in the environment: bio-based processes for soil decontamination and management of waste from the industrial production of Pleurotus ostreatus". In: New biotechnology 39, pp. 232-239. DOI: 10.1016/j.nbt.2017.08.011
- Schippers A, Schumann P, Spröer C. Nocardioides oleivorans sp. nov., a novel crude-oil-degrading bacterium. Int J Syst Evol Microbiol. 2005 Jul;55(Pt 4):1501-1504. doi: 10.1099/ijs.0.63500-0. PMID: 16014472.

Wang H, Wang B, Dong W, Hu X. Co-acclimation of bacterial communities under stresses of hydrocarbons with different structures. *Sci Rep.* 2016 Oct 4;6:34588. doi: 10.1038/srep34588. PMID: 27698451; PMCID: PMC5048299.

Xu X, Liu W, Tian S, Wang W, Qi Q, Jiang P, Gao X, Li F, Li H, Yu H. Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. *Front Microbiol.* 2018 Dec 3;9:2885. doi: 10.3389/fmicb.2018.02885. PMID: 30559725; PMCID: PMC6287552.

7.1 *Normativa*

DIRETTIVA 2000/60/CE Ottobre 2000

DIRETTIVA 2008/56/CE Giugno 2008

Regolamento (CE) n.1013/2006 14 giugno 2006

Regolamento (CE) n.660/2014 15 maggio 2014

Decreto legislativo n. 152/2006

Decreto ministeriale n.172/2016

Decreto ministeriale n.173/2016

Appendice A - Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze

L'impianto pilota

L'impianto di lavaggio e separazione granulometrica a carattere sperimentale di proprietà di ISPRA è sito all'interno dell'area portuale di Livorno. L'impianto è stato autorizzato ai sensi dell'art.211 del D.lgs. 152/2006 dalla Regione Toscana con Decreto Dirigenziale N.8493 del 30/05/2018.

Il primo nucleo di tale impianto, utilizzato per il progetto LIFE *Coast-Best* ("*Sediment treatment and beneficial reuse in small harbours networks*") è stato installato all'interno del Porto di Livorno tra dicembre 2012 e gennaio 2013; recentemente (ottobre - novembre 2018) all'impianto è stata aggiunta un'ulteriore sezione di vagliatura, costituita da un Rotovaglio, e sono state revisionate le altre sezioni già presenti per adattarlo alle esigenze del progetto.

Le caratteristiche granulometriche dei sedimenti selezionati (frazione sabbiosa preponderante rispetto alle altre componenti granulometriche) sono tali da renderli idonei al trattamento di lavaggio e separazione granulometrica effettuato con l'impianto pilota, trattamento volto al recupero delle varie frazioni sabbiose/pelitiche presenti nei sedimenti oggetto degli interventi di dragaggio.



Figura 49 impianto di lavaggio e separazione granulometrica



Figura 50 Localizzazione impianto di lavaggio e separazione granulometrica

L'obiettivo principale del processo operato dall'impianto è quello di separare quantitativi sperimentali di sedimento marino nelle diverse frazioni granulometriche che lo costituiscono, in modo da recuperare sia la componente sabbiosa, cioè la parte di sedimento considerata meno contaminata e più riutilizzabile, sia la parte fine (frazioni pelitica), considerata più contaminata e di più difficile riutilizzo.

La separazione della sabbia avviene tramite una classificazione per via umida del sedimento, basata sulla velocità limite di spostamento dei grani in un campo di forze gravitazionali (*classificatori a sedimentazione*) e/o in un campo di forze centrifughe (*idrocloni*). La frazione fine del sedimento viene da ultimo avviata alla fase di *dewatering*, mentre le acque di processo sono raccolte in appositi contenitori ed idoneamente smaltite.

L'impianto sperimentale è costituito dalle seguenti sezioni/moduli:

- a) **tramoggia di carico** da 1 mc, per l'alimentazione del sedimento tal quale (2,40x1,30 m). La tramoggia di carico serve ad alimentare il letto vagliante permettendo la regolarizzazione della portata del materiale in ingresso all'impianto;
- b) **modulo by-passabile per la rimozione della posidonia/frazioni di plastica** disperse nel sedimento da trattare. Qualora il sedimento in ingresso presenti elevate percentuali di materiali vegetali quali fibre e/o frammenti di alghe e piante acquatiche, quali ad esempio *Posidonia oceanica*, e di frammenti di plastica, sarà sottoposto ad una specifica fase di vagliatura, mediante un rotovaglio, finalizzata alla rimozione degli stessi. Tale modulo è posto tra le sezioni di omogeneizzazione (cassone scarrabile) ed il vibrovaglio. Il modulo è costituito da un tamburo ruotante perforato con fori di diametro differenziato che permette il lavaggio e la separazione dal sedimento dei materiali più grossolani;



Figure 51 Rotovaglio

- c) **Vibrovaglio** con tela vagliante di diametro 2 mm (dimensioni: 2,40x1,60 m). Il vibrovaglio separa il materiale grossolano da quello più fine. La separazione avviene attraverso il passaggio del materiale più fine su una griglia vibrante. Il moto di vibrazione della griglia è assicurato da due motori, fissati alla struttura del vaglio, ai quali sono collegate masse eccentriche in rotazione. Il sedimento viene contemporaneamente irrorato con 4 getti d'acqua ad alta pressione per facilitare la separazione tessiturale e consentire la movimentazione di quest'ultimo attraverso le successive sezioni dell'impianto;



Figura 52 Vibrovaglio e pompa di omogeneizzazione

- d) n. 2 **celle di attrizione**, (dimensioni: 1,20x0,70 m - vol. 0,125 mc cad.). La torbida (acqua più sedimento) in uscita dal classificatore a spirale, viene convogliata, in condizioni di elevata turbolenza, all'interno di due celle di attrizione del volume di 125 litri che determinano la disaggregazione di eventuali agglomerati fangosi ancora presenti;



Figura 53 Celle di attrizione

- e) **unità di idrociclonatura** (dimensioni: 3,50x1,3 m). E' costituita da 2 distinti idrocicloni (di cui uno by-passabile). L'idrociclone opera la separazione tra sabbia fine e frazione limoso-argillosa attraverso l'azione della forza centrifuga. È costituito da un cilindro a fondo conico, dotato di un augello laterale per l'alimentazione della miscela sedimento/acqua, di una sezione di uscita delle particelle fini trascinate dal fluido, nonché di una sezione di uscita dei materiali a granulometria maggiore posta nel vertice del cono;

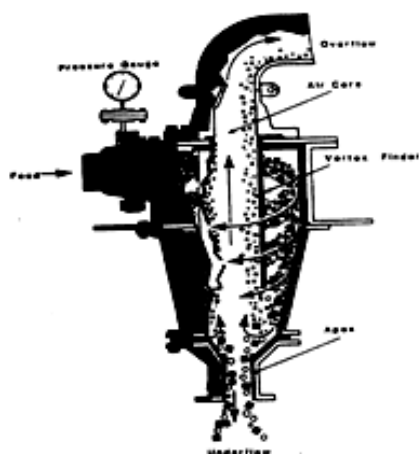


Figura 54 idrociclone

- f) **classificatore a spirale** (dimensioni: 2,90x1,00 m - diam. 300 mm). Il classificatore a spirale è impiegato come unità di classificazione. Il principio di funzionamento dipende dalla differente velocità di deposito delle particelle solide per differenza di densità.



Figura 55 Classificatore a spirale

Descrizione delle prove di soil washing e principali risultanze

Materiali e metodi

Si riporta di seguito uno schema semplificato delle sezioni dell'impianto (Figura 53) e la documentazione fotografica (Figure 54 e 55) relativa ad alcune attività condotte con l'impianto pilota di lavaggio e separazione granulometrica.

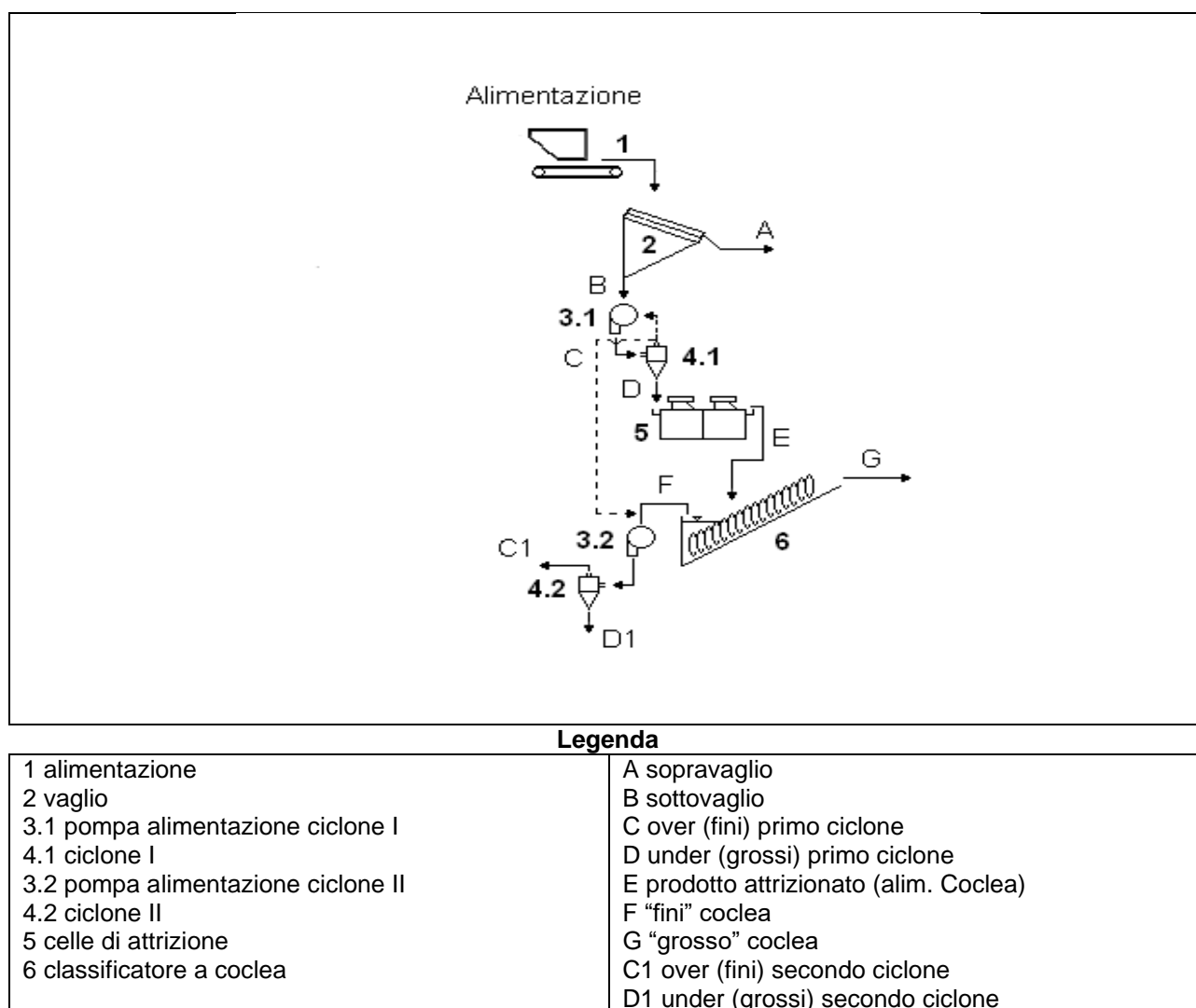


Figura 56 Layout semplificato dell'impianto di separazione granulometrica

Il processo di *soil washing* può essere così descritto e schematizzato:

- a) Il sedimento dragato *in situ* con moto pala, conferito all'impianto tramite cassone scarrabile, è stato sottoposto a un trattamento preliminare di omogeneizzazione all'interno del medesimo cassone, mediante minipala, effettuando contestualmente una macrovagliatura avente la finalità di rimuovere i trovanti e le frazioni lapidee più grossolane;

- b) il sedimento proveniente dal cassone di omogeneizzazione, denominato SEDIMENTO TAL QUALE (TQ), viene caricato nella tramoggia di carico per l'alimentazione dell'impianto (1);
- c) le frazioni grossolane (A) (sopravaglio), generalmente costituite da conchiglie e da residui di origine organica e antropica, vengono separate dalla frazione solida sabbiosa, comprendente ancora anche la frazione argillosa e pelitica;
- d) il sottovaglio (B) mediante pompa ad asse verticale con cassa integrata (3.1) costituisce l'alimentazione del ciclone I (4.1), che ha il compito di classificare il materiale inviando all'overflow le frazioni più fini (C) e nel contempo di addensare all'underflow la torbida contenente il materiale più grossolano (D), che costituisce l'alimentazione alle celle di attrizione (5). Modificando i flussi di torbida e la sequenza di alcune componenti è possibile adeguare l'impianto alle caratteristiche dei materiali da trattare e agli obiettivi da raggiungere;
- e) il materiale (D) alimenta il classificatore a coclea (6) che separa e disidrata il materiale con pezzatura 200µm - 2 mm (G), denominato in seguito "SABBIE GROSSOLANE" (SG), dalla torbida contenente ancora solidi con pezzatura < 200 µm (F);
- f) la cella di attrizione ha la funzione di disgregare il materiale e di separare il materiale fine e il contaminante adeso alla sabbia; questa operazione risulta più efficiente se viene effettuata su una torbida viscosa con alta concentrazione di solidi, pertanto è determinante l'operazione di addensamento svolta dal ciclone;
- g) all'uscita dell'overflow del Ciclone I si trova una valvola che consente di inviare il flusso alla cassa della pompa (3.2) che alimenta il ciclone II (4.2) e/o di riciclarlo parzialmente alla pompa (3.1) in funzione delle necessità della prova;
- h) il materiale (F) viene inviato alla pompa ad asse verticale con cassa integrata (3.2) e, assieme all'overflow proveniente dal ciclone (4.1), costituisce l'alimentazione del ciclone (4.2) che ha il compito di recuperare in uscita dall'underflow (D1) la frazione sabbiosa residuale fine (materiale con pezzatura >63 µm) denominato in seguito "SABBIE FINI" (SF) e di eliminare attraverso l'overflow le argille e i limi (C1), cioè materiale con pezzatura inferiore a 63 µm, denominato in seguito "PELITI" (PE);
- i) la frazione solida trattata viene quindi totalmente separata dall'acqua di processo mediante filtri a sacchetto ed avviata ad un serbatoio di accumulo;
- j) le frazioni uscenti dall'impianto (solide e liquide) vengono campionate miscelando più aliquote raccolte durante il funzionamento dell'impianto ed avviate ad attività analitica, attribuendo ai campioni le seguenti sigle:

TQ = SEDIMENTO TAL QUALE

SG = SABBIE GROSSOLANE

SF = SABBIE FINI

PE = PELITI

Tutti i materiali residui, solidi e liquidi, vengono infine avviati ad opportuno smaltimento secondo la normativa vigente in materia.

Nonostante la potenzialità massima della sola unità di idrociclonatura sia superiore ai quantitativi necessari alla sperimentazione proposta, l'allestimento contestuale alle altre unità dell'apparato impiantistico, ha ridotto la potenzialità complessiva di trattamento a quantitativi di sedimento dell'ordine di poche unità di metri cubi (2 - 3 mc) per un'ora di funzionamento.

Oltre ai limiti tecnico-impiantistici, dovuti, della tramoggia di carico e dell'unità di disidratazione, l'attività sperimentale è stata finalizzata all'ottimizzazione della gestione del sedimento trattato e pertanto prevede, comunque, l'utilizzo di piccoli quantitativi di sedimento da cadenzare in un tempo di lavorazione piuttosto lungo (indicativamente 60 - 90 minuti per ciascuna prova sperimentale).

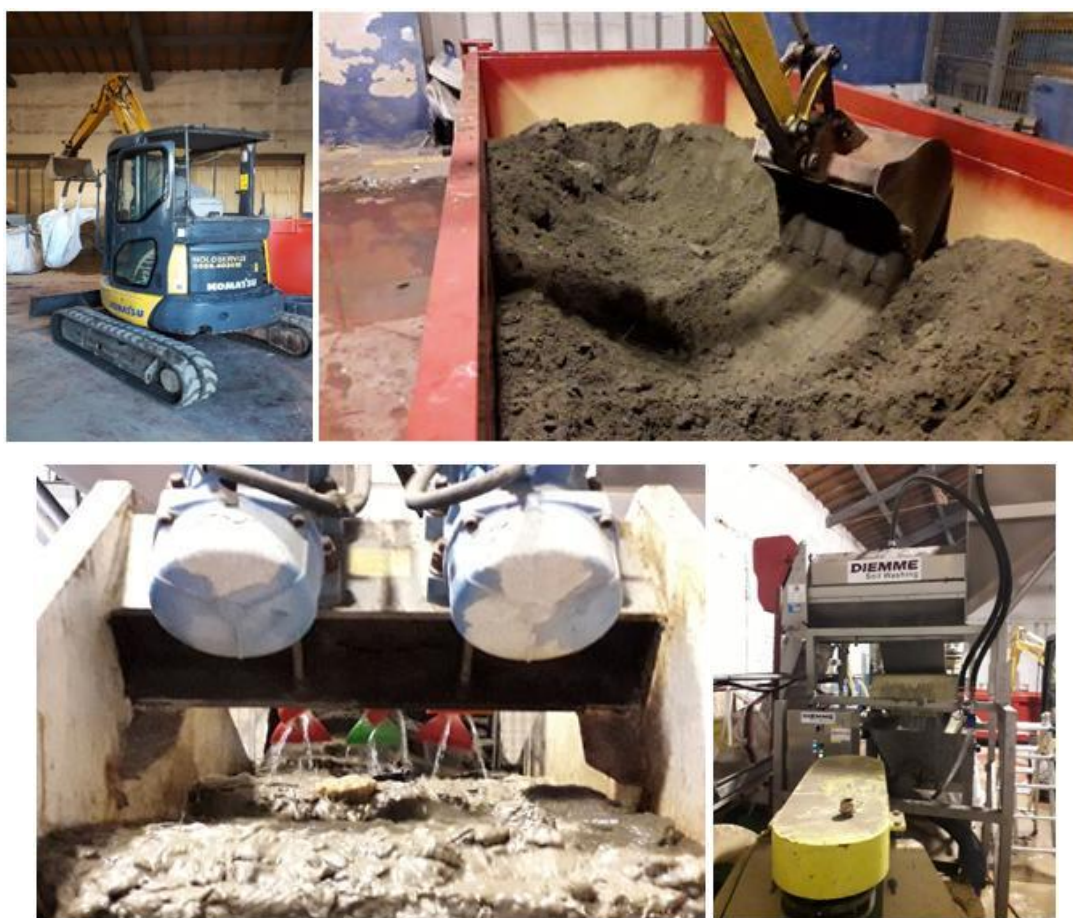




Figura 57 Fasi di lavorazione sedimenti con impianto di lavaggio e separazione granulometrica.



Figura 58 Campioni delle Fasi di lavorazione sedimenti con impianto di lavaggio

Successivamente al trattamento di lavaggio e separazione granulometrica (LSG) i campioni provenienti dalla Vasca di Colmata del Porto di Livorno sono stati trasportati dal personale ISPRA fino al laboratorio del DESTEC UNIPI, dove sono stati ulteriormente omogeneizzati, campionati ed inviati ad un laboratorio esterno (Geochim di Rosi e C. s.a.s. – Gualdo Tadino (PG)) per essere caratterizzati dal punto di vista chimico.

I campioni giunti al Laboratorio per il trattamento sperimentale dei sedimenti di ISPRA risultano così composti:

- **tal quale:** risultato dell'omogeneizzazione dei vari campioni provenienti dai 3 punti di prelievo e non trattato fisicamente tramite LSG;
- **sabbioso post-trattamento:** fine e grossolano;
- **pelitico post-trattamento:** in fase acquosa per evitare l'essiccamento.

Di seguito si riportano l'immagine (figura 56) relative alle diverse tipologie di campioni sopraelencati e i risultati delle analisi chimiche dei campioni, confrontate con i valori limite espressi nel D.lgs. 152/2006 relativamente al riutilizzo per "A-Siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale" e per "B-Siti ad uso commerciale e industriale".



Figura 59 Campione tal quale – sabbia grossa – sabbia fine – pelite in fase acquosa

Discussione dei risultati ottenuti

Nel presente capitolo si riportano alcune elaborazioni e considerazioni relative agli elementi chimico-fisici che sono risultati maggiormente "difformi" dagli intervalli di concentrazione propri dei sedimenti marini appartenenti ad analoghe aree marino-costiere con scarso/assente impatto antropico (*Quaderno ISPRA: Aspetti tecnico-scientifici per la salvaguardia ambientale nelle attività di movimentazione dei fondali marini: dragaggi portuali*; Pellegrini et al 2002). La valutazione dei

risultati ottenuti ha tenuto inoltre conto dei valori “L1” e “L2” così come definiti nel D.M. 173/2016, relativi alla gestione dei sedimenti in ambito marino-costiero.

Il sedimento tal quale su cui è stata eseguita la prova di *soil washing* è quello prelevato dal sito di deposizione portuale del porto di Livorno.

La composizione granulometrica del sedimento trattato mostra un prevalente contenuto di sabbie grossolane, con una frazione pelitica inferiore al 20% del totale, come si evidenzia nel grafico di seguito riportato (Fig. 57)

Nel processo di separazione meccanica del sedimento tal quale (TQ) tramite impianto pilota, si nota che una residua frazione di sabbie fini (SF) si ritrova comunque all'interno della frazione di sabbie grossolane (SG). Ciò è dovuto al differente taglio granulometrico applicato al sedimento tal quale (TQ) nel processo di trattamento su scala pilota (idroclonatura con taglio pari 200 µm tra sabbie grossolane e sabbie fini) rispetto a quello previsto dalla metodica utilizzata nell'esecuzione delle analisi granulometriche in laboratorio con setacciatura e conseguente separazione a 250 µm. Di conseguenza, la frazione di sabbie fini comprese tra 200 e 250 µm viene conteggiata come sabbia grossolana. Dalle risultanze del laboratorio è evidente, invece, che la frazione pelitica risulta separata in modo ottimale, infatti nelle frazioni sabbiose ne ritroviamo delle percentuali bassissime.

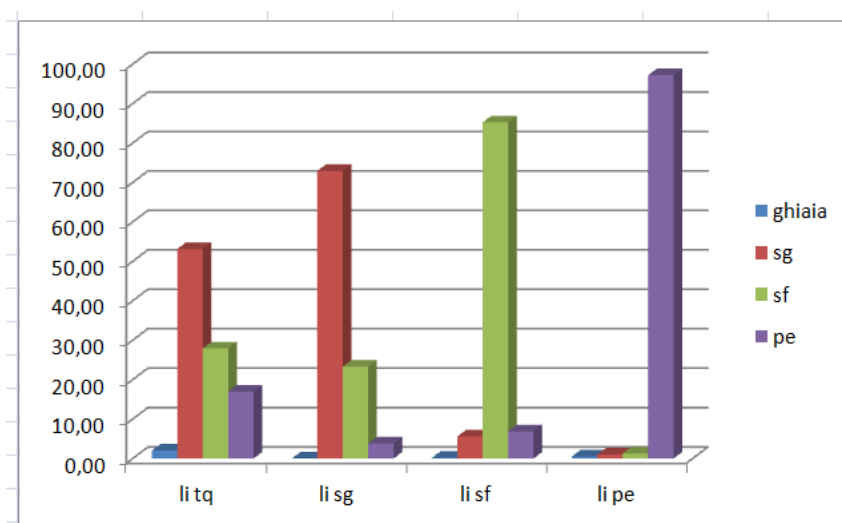


Figura 60 Composizione granulometrica percentuale del sedimento di Livorno tal quale e delle frazioni ottenute dal trattamento di separazione.

Rispetto ai valori chimici di aree limitrofe con bassa contaminazione, assimilabili ad ambiti marino costieri incontaminati che ben esprimono i valori di fondo ambientali, e con frazione pelitica paragonabile, lo zinco nel sedimento tal quale (TQ) è l'unico elemento che evidenzia una concentrazione media calcolata su 3 differenti campioni (linea celeste in Fig. 58) con valori relativamente alti, ma comunque inferiore al valore “L1” (linea rossa in Fig. 58) così come definito nel D.M.173/2016.

Lo zinco contenuto in TQ lo ritroviamo, dopo il processo di separazione, maggiormente presente nella frazione pelitica (PE), dove supera ampiamente il valore “L2” (linea verde in Fig 58) del D.M.173/2016.

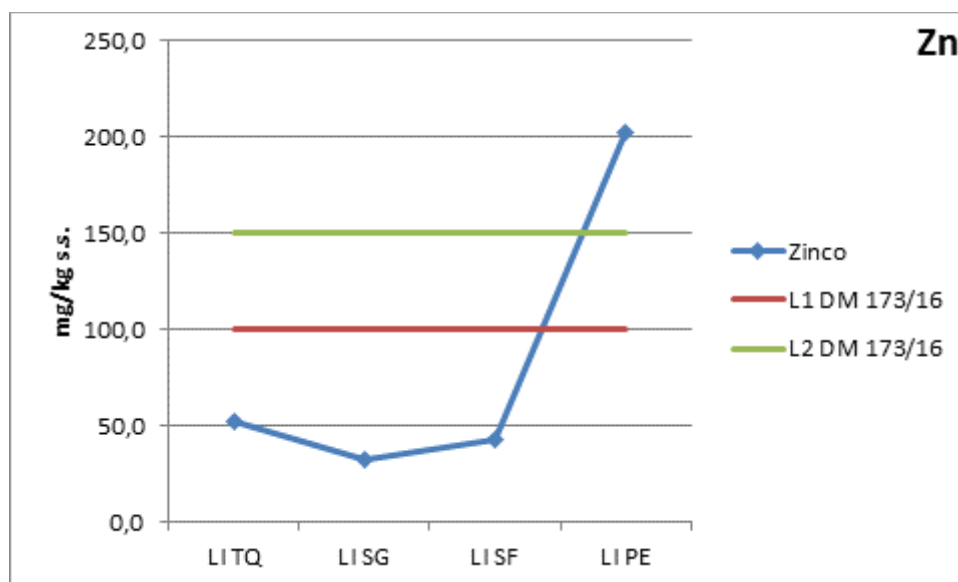


Figura 61 Andamento della concentrazione dello zinco (sedimenti Livorno).

Le concentrazioni di zinco anomale non si riscontrano tuttavia nelle acque di processo, evidenziando una scarsa solubilità del metallo che, quindi, risulta prevalentemente associato alla frazione solida.

Oltre allo zinco, nonostante i valori riscontrati non rilevanti nei sedimenti di partenza (TQ), sono da valutare con attenzione le concentrazioni di rame e nichel: in particolare, nella frazione PE si evidenziano concentrazioni superiori al valore “L2” definito nel D.M.173/2016 (Figg. 59; 60).

Inoltre, per entrambi i metalli, si nota un arricchimento delle concentrazioni nelle acque di processo in uscita dall'impianto, rispetto a quelle registrate in entrata (Fig. 61).

Riguardo la presenza di metalli in traccia nei sedimenti di Livorno, possiamo concludere che, seppure non siano state rilevate evidenti contaminazioni nel sedimento trattato, il processo di separazione meccanico (e di ri-mobilizzazione dei vari metalli) determina la mobilizzazione, ovvero un processo meccanico di spostamento dei sedimenti a cui sono legati certi metalli, e quindi un aumento della concentrazione di alcuni di essi da tenere sotto attenzione a seconda della successiva gestione dei sedimenti da individuare. E' da tenere comunque presente anche la variazione di alcalinità, salinità, conducibilità e introduzione di acqua che determina variazioni a livello atomico comportanti diversi numeri di valenza delle specie metalliche.

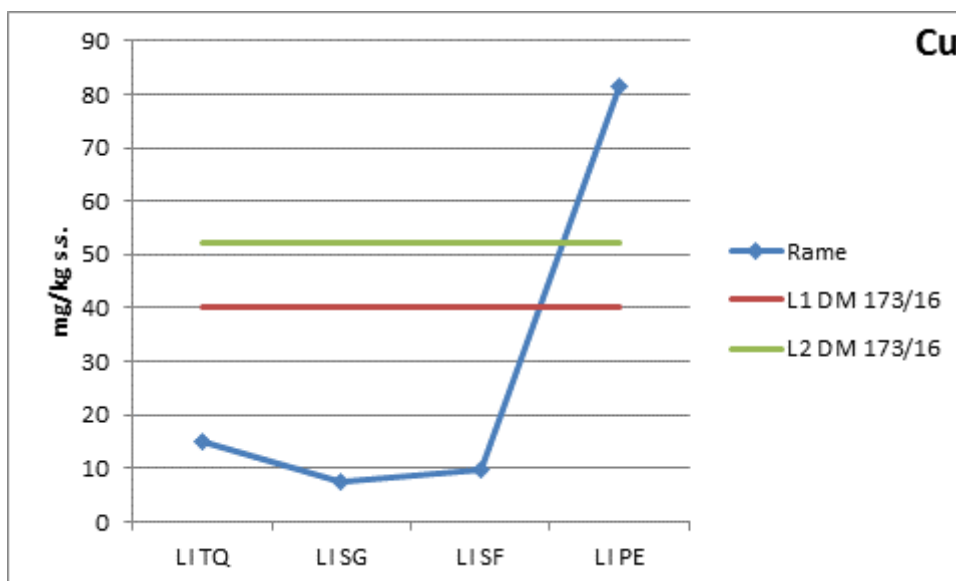


Figura 62 Andamento della concentrazione del rame (sedimenti Livorno).

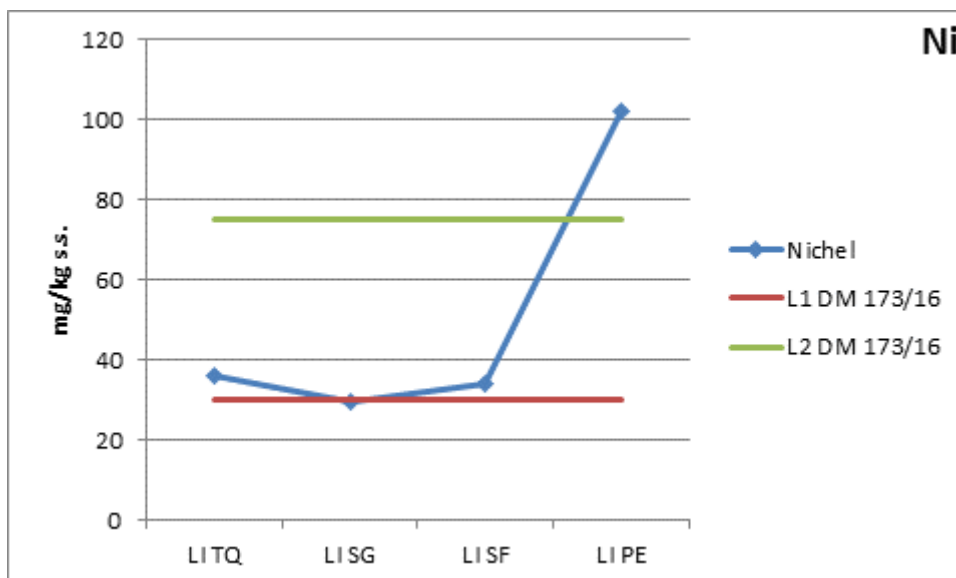


Figura 63 Andamento della concentrazione del nichel (sedimenti Livorno).

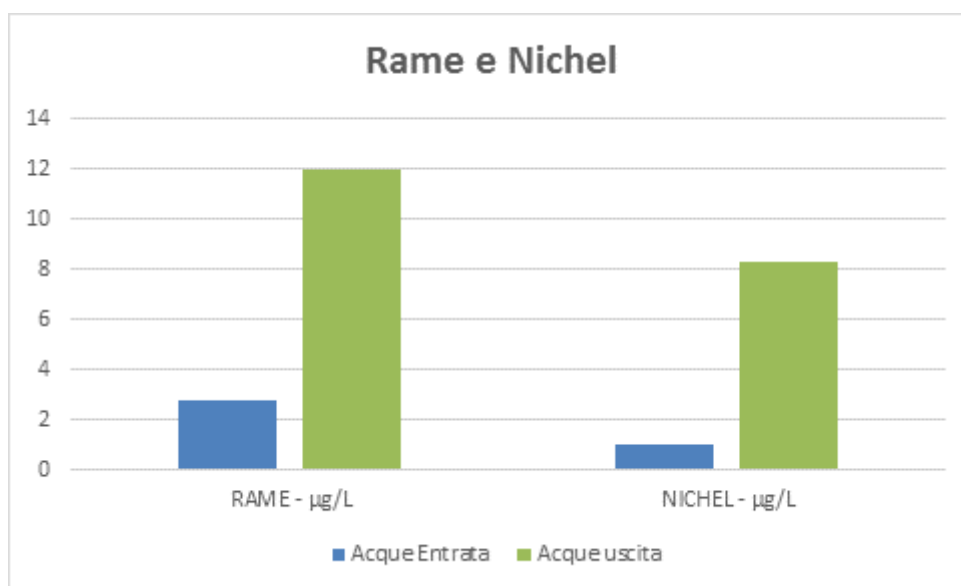


Figura 64 Concentrazione di rame e nichel nelle acque di processo (sedimenti Livorno).

Per ciò che concerne la contaminazione da inquinanti organici, le concentrazioni dei **composti organostannici (TBT)** nel sedimento TQ, risultano superiori ai valori di “L1” definito nel D.M.173/2016 anche se tuttavia si evidenzia che la sommatoria degli MBT, DBT E TBT non oltrepassa il valore “L2” (Figg. 62; 63). La preponderanza del MBT rispetto al DBT e, a loro volta del DBT rispetto al TBT, indicherebbe una contaminazione non attribuibile a fenomeni recenti.

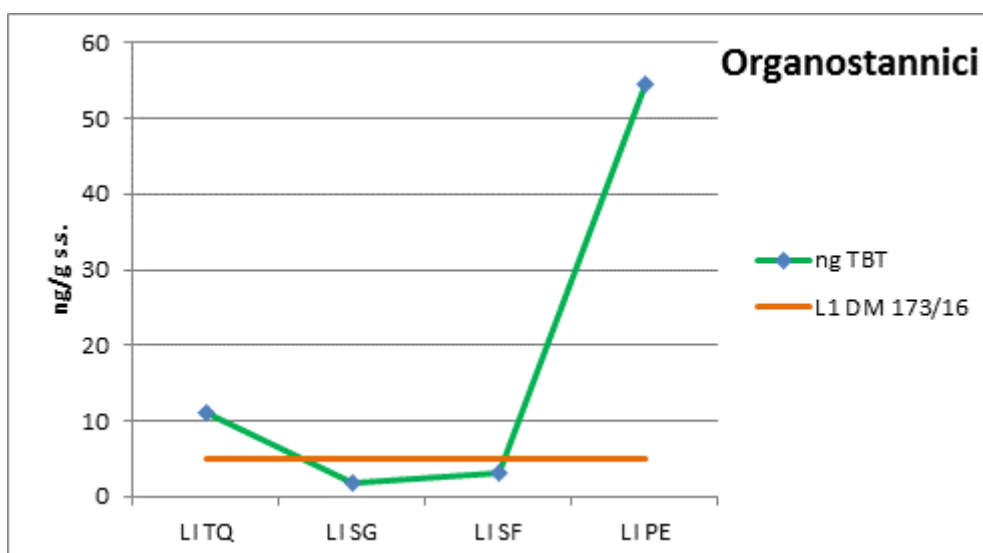


Figure 65 Andamento della concentrazione del TBT (sedimenti Livorno).

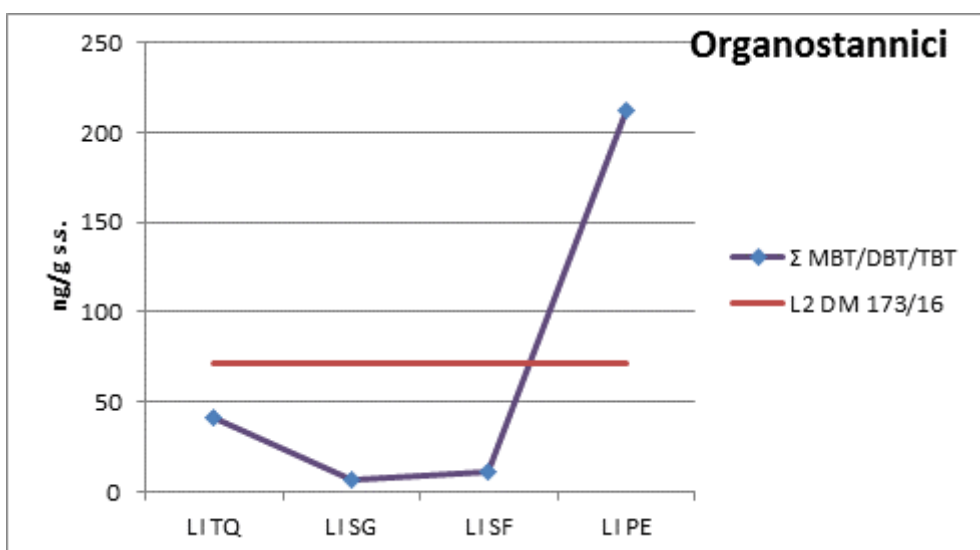


Figura 66 Andamento della concentrazione della Σ MBT/DBT/TBT (sedimenti Livorno).

Le concentrazioni degli **idrocarburi pesanti** ($C>12$) risultano superiori al limite “L2” definito nel D.M.173/2016 in tutte le frazioni ad esclusione delle SG, con un valore massimo registrato nella frazione PE (Fig. 64). Tale contaminazione non è stata riscontrata nelle acque in uscita al processo, a testimonianza del fatto che con questo procedimento gli idrocarburi presenti non possono essere separati facilmente dalla matrice in cui si trovano. La natura della matrice ambientale trattata era tale da non presentare particolari concentrazioni di IPA degne di nota.

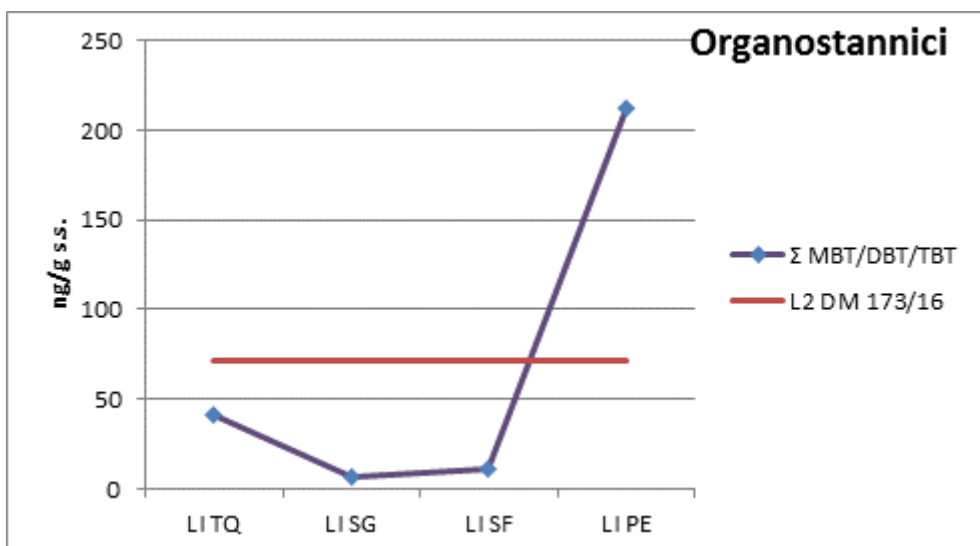


Figura 67 Andamento della concentrazione degli idrocarburi $C>12$ (sedimenti Livorno).

Per ciò che concerne le contaminazioni da PCB (Fig. 65), si ha una concentrazione compresa tra L1 e L2 soltanto per la componente PE capace, come noto, di attrarre questo tipo di inquinanti in considerazione della maggior superficie di scambio a disposizione per unità di volume.

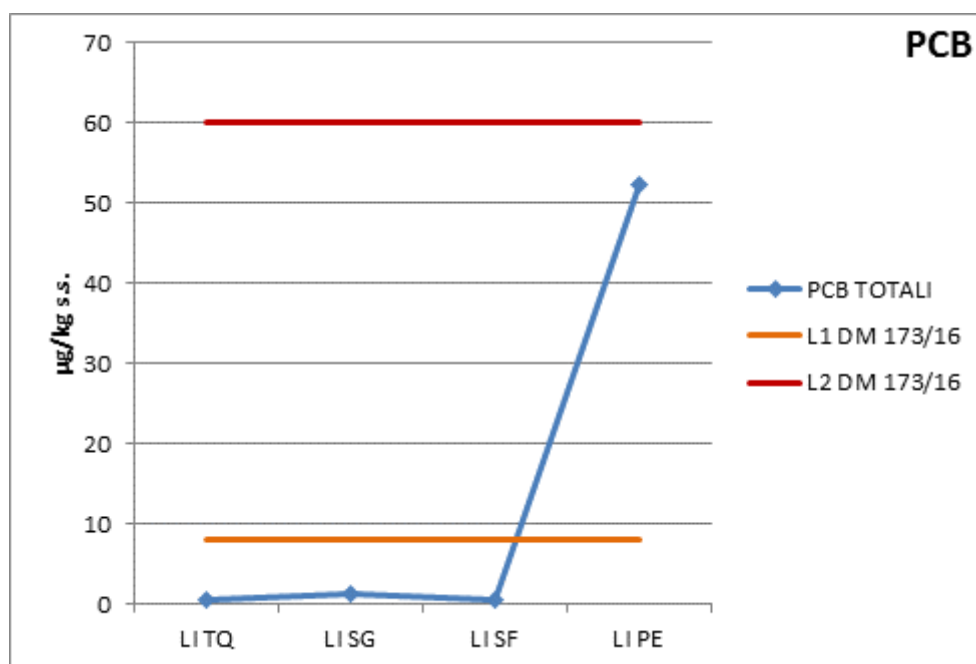


Figura 68 Andamento della concentrazione dei PCB (sedimenti Livorno).

Conclusioni e prospettive

L'impianto pilota ha svolto in maniera soddisfacente ed efficiente la propria funzione di separazione meccanica dei sedimenti nelle diverse classi granulometriche di cui si compongono.

I risultati ottenuti indicano che i sedimenti portuali trattati attraverso l'impianto pilota possono fornire materiali idonei e di buona qualità chimico-fisica, permettendo quindi possibili interventi di riutilizzo delle frazioni sabbiose SG recuperate.

In presenza di un materiale di partenza TQ di buona qualità ambientale, si può supporre che anche la frazione sabbiosa fine SF potrebbe essere riutilizzata, con evidenti benefici economici e ambientali, e la residua frazione pelitica rappresenterebbe sicuramente un esiguo volume di sedimento da smaltire rispetto alla totalità del sedimento tal quale.

Terminate le prove sperimentali di *soil washing*, le principali considerazioni che derivano dalle procedure sia tecniche che amministrative che hanno portato all'esecuzione delle prove di trattamento dei sedimenti contaminati possono essere sintetizzate come di seguito:

- il *soil washing* sfrutta la tendenza delle sostanze inquinanti a concentrarsi maggiormente nella frazione fine, a causa della sua maggiore superficie specifica, quindi maggiormente interessata ai fenomeni di adsorbimento riguardanti sia la sostanza organica, sia i contaminanti stessi.
- Rispetto alla matrice sabbiosa, costituita principalmente da silice e carbonati, la frazione limo-argillosa è caratterizzata tendenzialmente da minerali argillosi, ossidi e idrossidi di ferro e

alluminio e materiale organico, tutte specie chimiche molto attive nei processi di scambio ionico e complessazione.

- Dal processo di separazione meccanica e *soil washing* si sono ottenute una frazione fine, minoritaria, quale principale sede di destinazione nella migrazione dei contaminanti e una sabbia caratterizzata da una buona qualità ambientale, idonea per molte attività di riutilizzo e **beneficial use**, quali ad esempio la realizzazione di piazzali e sottofondi stradali, ripascimenti di arenili, utilizzo come materiali edili, riempimenti di banchine e infrastrutture portuali, opere di ingegneria ambientale, etc;
- l'esecuzione di **test di cessione** condotti sulle acque di processo e sull'eluato dei sedimenti è stata ritenuta utile per analizzare la mobilità degli inquinanti in matrici complesse come i sedimenti marini, al fine di capire come possa variare il rilascio di questi elementi nell'ambiente marino-costiero o in ambito terrestre. Questo test in particolare ha anche la duplice valenza di essere un primo indicatore in tema di caratterizzazione dei rifiuti ai fini dell'eventuale attribuzione di pericolosità. Ciò che ne deriva è senz'altro l'indicazione a poter procedere, quando le norme lo consentiranno, ad un sapiente riutilizzo delle frazioni risultate idonee in base alle considerazioni di cui sopra. Oltre che per la valutazione qualitativa dei sedimenti, infine tali test sono stati utili anche per valutare la capacità di **trasferimento dei contaminanti** dal sedimento alle acque di processo, simulando i potenziali impatti che le differenti opzioni di gestione e riutilizzo potrebbero avere sull'ambiente;
- oltre alla concentrazione di partenza degli elementi chimici indagati nei sedimenti e alla grande variabilità ambientale del sito di prelievo dei sedimenti trattati, alcuni fattori chimico-fisici (quali pH, potenziale Redox, solubilità, temperatura, concentrazioni di Ossigeno e Carbonio organico) interagendo tra loro potrebbero influire sui processi di mobilità degli inquinanti creando alcune difficoltà nella valutazione qualitativa dei diversi parametri indagati e quindi nel processo di trattamento utilizzato. Il ruolo di tali fattori interferenti dovrebbe essere oggetto di ulteriori approfondimenti in successive sperimentazioni.

In conclusione, si rendono necessarie ed auspicabili ulteriori esperienze analoghe a quelle condotte, al fine di ridurre gli impatti ambientali insiti nei sedimenti contaminati al fine di implementare e favorire le attività di recupero e d'impiego dei materiali trattati in opere di *beneficial re-use*.

E' auspicabile continuare ad approfondire le sperimentazioni condotte, compresi lo sviluppo e l'applicazione di ulteriori tecniche integrate ed innovative, applicate a sedimenti marini con livelli di contaminazione di partenza più elevati rispetto a quelli testati all'interno di questo progetto.