

V. FORMENTINI, M. BERTONATI, E. IOANNILLI

STUDIO IN AMBIENTE NATURALE DELL'INFLUENZA
DEL PENNACCHIO TERMICO DI CENTRALI TERMOELETTRICHE
SULLA CINETICA DI ALCUNI PARAMETRI MICROBIOLOGICI

RIASSUNTO

Nel contesto di una più ampia indagine ecologica, si è ritenuto importante studiare gli eventuali effetti degli scarichi termici, esistenti nella laguna di Venezia, sui processi di ossidazione della sostanza organica ed inorganica.

Nell'arco di due anni, in tre diverse occasioni, sono stati determinati alcuni indici di attività batterica riferiti sia alla componente autotrofa che eterotrofa, e precisamente l'attività relativa ai nitrificanti (autunno '79) e quella relativa agli eterotrofi (primavera-estate 1980) mediante incubazione nel punto di prelievo.

L'andamento spaziale di tali indici di attività è stato determinato in un'ampia zona prospiciente lo scarico termico delle Centrali Termoelettriche ENEL-Fusina (1180 MW) e ALUMETAL (160 MW).

La struttura spaziale degli indici relativi ad entrambe le componenti, auto ed eterotrofa è risultata correlata con quella dei parametri indicatori della qualità delle acque (nutrienti, metalli pesanti, particolarmente Ni e Fe) e non con la temperatura al prelievo.

Ciò indica che tale struttura parziale è indotta non dallo scarico termico, ma dai fattori idrodinamici locali che determinano la dispersione degli effluenti industriali ed agricoli.

SUMMARY

Study about the influence of the thermal plume from power plants on the kinetics of some microbiological parameters in the natural water environment.

In the course of a wider ecological survey, we considered it important to study the effects of thermal discharges into the lagoon of Venice of the oxidation processes of organic and inorganic matter.

Three times in two years we measured some bacterial activity indexes referring to the

autotrophic and heterotrophic components, that is, the activity of the nitrifying macroorganisms (autumn '79) and that of the heterotrophic ones (spring-summer '80). The spatial trend of these indexes of activity was determined in a wide zone in front of the thermal discharge of the thermoelectric plants ENEL-Fusina (1180 MW) and Alumetal (160 MW).

The spatial patterns of both indexes (auto- and hetero- trophic) resulted to be correlated with those of the water quality parameters (nutrients, heavy metals, particularly Ni and Fe) and not with temperature.

Key words: Nitrifying - heterotrophic activity.

INTRODUZIONE

I processi microbiologici che presiedono al riciclo della materia organica rivestono, come noto, particolare importanza in ecosistemi in cui è rilevante l'apporto di sostanza organica alloctona.

Pertanto, nel quadro di un'ampia indagine per la valutazione degli eventuali effetti ambientali delle Centrali Termoelettriche di Fusina, è stato effettuato uno studio per stabilire se e in che misura tali processi fossero influenzati dallo scarico termico.

A tal fine sono stati determinati i tassi di attività nitrificante e di attività eterotrofa in numerose stazioni di campionamento, variamente interessate dalla perturbazione termica.

Area di studio

La Centrale Termoelettrica di Fusina (due gruppi da 160 MW e due da 320 MW) è posta sulla sponda Ovest della parte meridionale della laguna di Venezia, nel cuore di un'ampia area industriale polisettoriale (Petrochimica, Alluminio, ecc.) (fig. 1).

Il canale di presa dell'acqua di raffreddamento preleva da un bacino artificiale adibito a dock per navi di grande tonnellaggio, e il canale di scarico sbocca in un canale di irrigazione (Naviglio Brenta) che, dopo aver ricevuto lo scarico di un'altra Centrale (Alumetal, 160 MW), a sua volta scarica nella laguna dopo un percorso di circa 800 m e un tempo di permanenza di circa 10 minuti.

Nel complesso le due Centrali usano per il raffreddamento, nel funzionamento normale a pieno carico, circa 33 m³/sec di acqua con salinità media del 33‰; l'incremento di temperatura medio è pari a circa 10°C.

Il corpo d'acqua lagunare ha una profondità media di 1,5 m in condizioni di medio mare ed è solcato da numerosi canali con profondità variabili dai 18 m del canale industriale Malamocco-Marghera ai pochi metri degli antichi canali di collegamento Venezia-terra ferma.

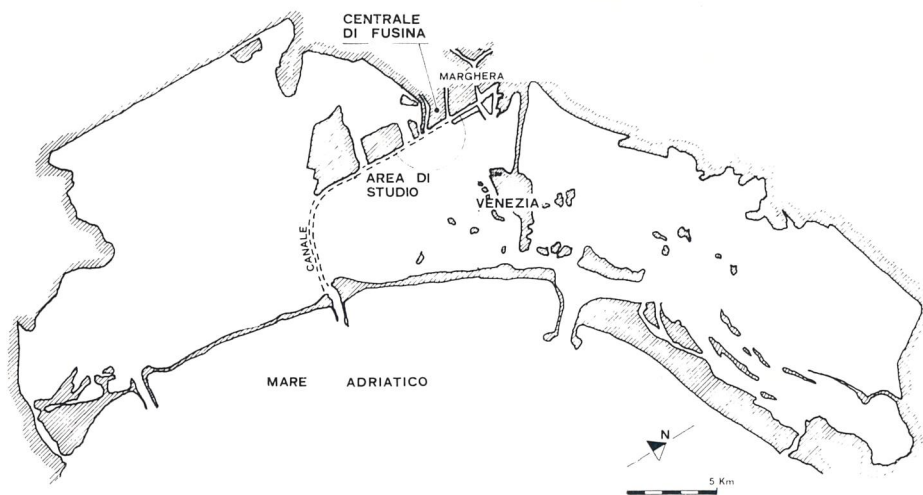


Fig. 1. — Laguna di Venezia.

Il regime delle correnti (NYFFELER, 1976) è caratterizzato da un moto di rotazione progressiva dei vettori di corrente, tipico di un sistema bidimensionale. Questa rotazione si fa marcata in marea discendente, quando l'effetto drenante dei canali di navigazione diviene preponderante. All'esterno dei canali di navigazione la massima velocità osservata è di circa 30 cm/sec in marea sizigiale di 1,20 m di escursione, mentre in quadratura non supera i 15 cm/sec. La distanza percorsa da un elemento liquido durante il riflusso è di circa 4 km in sizigia e di 2 km in quadratura, in direzione degli sbocchi a mare.

La laguna meridionale è soggetta agli sversamenti della citata zona industriale polisettoriale, di numerosi canali di irrigazione, oltre che, in piccola parte, agli scarichi urbani di Venezia.

Piano sperimentale

Il piano sperimentale ha previsto stazioni di campionamento disposte a raggiera centrata sullo scarico del Naviglio Brenta, alle distanze di 500, 1000 e 2000 m, oltre a due stazioni in corrispondenza delle opere di presa e scarico della Centrale di Fusina (fig. 2).

I campioni per la determinazione delle attività di nitrificazione sono stati prelevati il 24/15/'70; quelli per la determinazione dell'attività eterotrofa, sono stati prelevati il 26/3/'80 e il 6/8/'80, sempre in fase di marea calante. Contemporaneamente al campionamento sono state effettuate mi-

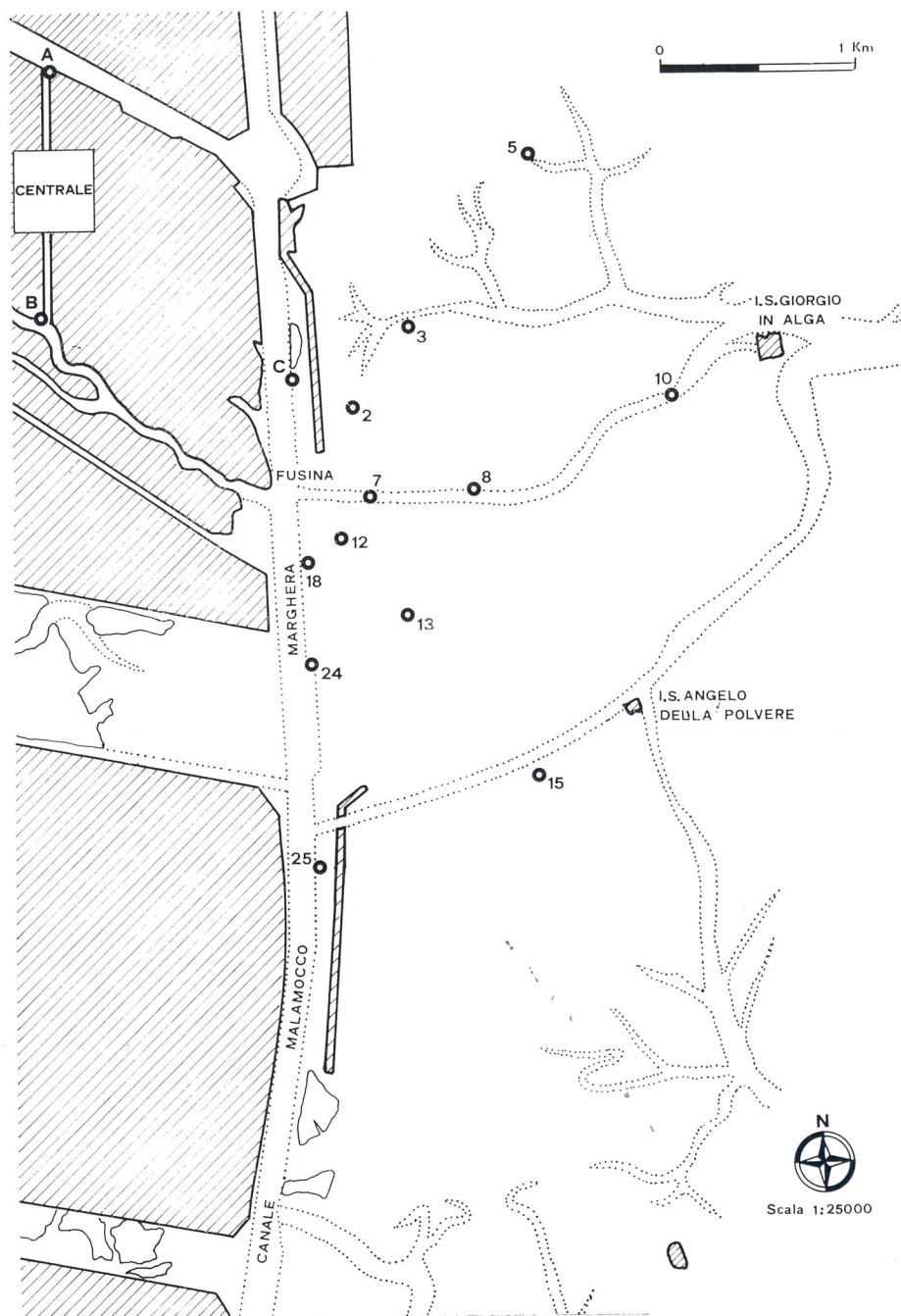


Fig. 2. — Reticolo di campionamento.

sure di parametri chimici e fisici (temperatura, pH, salinità, trasparenza, nutrienti, clorofilla *a*, ossigeno disciolto); durante la campagna estiva del 1980 sono state determinate, sugli stessi campioni, la produttività primaria (^{14}C) e le concentrazioni di alcuni metalli (Fe, Cu, Zn, Pb, Cd, Ni, dopo filtrazione attraverso membrana 0.45 μ), migliorando così la possibilità di studio delle correlazioni interparametriche degli andamenti riscontrati.

MATERIALI E METODI

Attività di nitrificazione

Il metodo si basa sul principio, generalmente riconosciuto, che la grande maggioranza di nitrificanti siano chemio-autotrofi stretti, così che l'incorporazione del bicarbonato gioca un ruolo primario nel loro metabolismo (vedi: GORING, 1961; BILLEN, 1975; SOMVILLE, 1978), occorre però tenere presente che numerosi microorganismi, sia autotrofi che, in minor misura, eterotrofi, assumono bicarbonato (SOROKIN, 1972).

Pertanto, come è stato già dimostrato da alcuni (GORING, 1961; SHATTUCK, 1963), la sola tecnica disponibile per discriminare l'incorporazione del bicarbonato tra diversi metabolismi, è quella di aggiungere al campione inibitori specifici e quindi valutare l'entità dell'incorporazione inibita.

Seguendo questa tecnica ed avvalendoci di precedenti esperienze (BILLEN, 1975), abbiamo usato come inibitore dei microorganismi nitrificanti la 2-6-cloro-6 triclora metilpiridina che è un inibitore specifico di *Nitrosomonas* sp.

È stato dimostrato che tale prodotto, già alla concentrazione di 5 ppm, ha la capacità di bloccare il metabolismo dei microorganismi nitrificanti, mentre non influenza minimamente quello degli altri (GORING, 1961, SHATTUCK, 1963; BILLEN, 1975; SOMVILLE, 1978).

Da campioni di acqua di circa 5 litri prelevati alla profondità di circa 30 cm nelle stazioni stabilite, sono stati ottenuti due sottocampioni (A-B) in bottiglie di vetro neutro della capacità di 120 ml opportunamente oscure. In ognuna delle bottiglie era stato precedentemente iniettato 1 ml di soluzione sterile di bicarbonato marcato (12 μCi).

Nella bottiglia A è stata iniettata una soluzione alcolica di 2 cloro-6 triclora metilpiridina commercialmente conosciuta come N-SERVE (prodotto Dow Chemical) in modo da ottenere una concentrazione finale di 5 mg/l. Nella bottiglia B è stato iniettato un ugual volume di alcool etilico assoluto. Le due bottiglie sono state messe ad incubare « in situ » per un periodo variante dalle 4,5 ore alle 8,5 ore.

Dopo l'incubazione i campioni sono stati filtrati su filtro Millipore da 0,45 μ , quindi posti in una soluzione di alcool acidificato (10% di acido acetico e alcool v/v). La radioattività trattenuta sui filtri è stata misurata per mezzo di un contatore a scintillatore liquido, Beckmann LS 100.

La differenza di incorporazione di bicarbonato, tra campione trattato con N-SERVE e quello non trattato, è assunta proporzionale all'attività di nitrificazione e si considera un indice di quest'ultima.

Attività eterotrofa

È stato impiegato il metodo di misura proposto da STRICKLAND e PARSON (1962) ed elaborato in seguito da altri (WRIGHT e HOBBIE, 1966; VACCARO e JANASCH, 1969; WILLIAMS e ASKEW, 1968), che utilizza il glucosio marcato ^{14}C . L'attività totale è stata ottenuta determinando separatamente il tasso di Assimilazione e Respirazione.

Da una bottiglia di prelievo da 5 l sono stati ottenuti tre sottocampioni da 100 ml di acqua; questi sono stati versati in bottiglie di vetro neutro annerite (capacità 120 ml) attraverso un imbuto che montava una rete da plancton da 20 μ , atta a trattenere gli organismi più grossi. I sottocampioni sono stati addizionati con glucosio uniformemente marcato per una concentrazione di attività pari a 1 $\mu\text{Ci/l}$, corrispondente a 0.725 μg di glucosio/l e incubati « in situ » per circa due ore. Un sottocampione però, prima dell'incubazione, è stato fissato con formalina a costituire il bianco.

Alla fine dell'incubazione i rimanenti sottocampioni sono stati fissati con formalina; uno di essi è stato filtrato per determinare l'Assimilazione e l'altro, tal quale, acidificato, captando la CO_2 liberata su un filtro in fibra di vetro imbibito di iamina idrossido.

La radioattività fissata sul filtro (Assimilazione) e quella captata da iamina idrossido (Respirazione) servono a calcolare « V_n », indice di velocità di Assimilazione e Respirazione secondo la formula proposta da PARSON e STRICKLAND (1962).

È evidente che per conoscere il reale assorbimento del glucosio, dovremmo conoscere anche la concentrazione naturale di questo nel campione; questa però non è stata determinata, pertanto « V_n » rappresenta un indice e non un valore assoluto.

Assimilazione e Respirazione così determinate nelle diverse stazioni, possono essere confrontate tra loro nell'ipotesi generalmente assunta che nel sistema considerato la concentrazione di glucosio sia pressoché costante (R. P. GRIFFITHS, 1977) e che il substrato aggiunto non ne influenzi la cinetica di assorbimento. Il valore del conteggio per l'assimilazione è stato moltiplicato per = 1.06, che è un fattore che compensa la caduta di ren-

dimento di conteggio per il materiale depositato e per il filtro; il conteggio per la Respirazione è stato invece moltiplicato, nel caso specifico, per il fattore di correzione = 0.67, che tiene conto della chemiluminescenza dovuta alla iamina, come ottenuto da HERBLAND (1974).

Secondo GRIFFITHS (1977), la scelta di effettuare le misure dell'indice di attività per un'unica concentrazione del substrato aggiunto, anziché costruire l'intera curva di saturazione di Michaelis e Menten, è adeguata allo studio di andamenti spazio-temporali.

A partire dai valori di Assimilazione e Respirazione è stato calcolato il tempo di turnover.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Attività nitrificante

In tabella 1 sono riportati i valori dell'indice di attività nitrificante, relativi alla campagna dell'Ottobre 1979.

L'indice varia da un minimo di 0.013 $\text{ngCm}^{-3}\text{h}^{-1}$ nella stazione di scarico B, ad un massimo pari a 0.43 $\text{ngCm}^{-3}\text{h}^{-1}$ nella stazione 15, posta in

Tab. 1 — Valori di Assimilazione (A), Respirazione (R), Attività eterotrofa (AET) $\text{ngCl}^{-1}\text{h}^{-1}$ e attività nitrificante in $\text{ngC m}^{-3}\text{h}^{-1}$

Stazioni	Attività nitrificante	Attività eterotrofa					
	Campagna ott. 1979	Campagna primaverile			Campagna estiva		
		Ass.	Resp.	AET (A+R)	Ass.	Resp.	AET (A+R)
A	0.027	4.2	4.50	8.70	0.70	4.60	5.300
B	0.013	7.5	6.60	14.15	0.06	0.16	0.224
C	0.220	8.3	9.40	17.70	5.20	6.80	12.000
2	0.260	10.1	15.20	25.30	3.34	4.60	7.940
3	0.380	8.0	18.00	26.00	17.50	11.30	28.800
5	0.064	11.2	24.60	35.80	8.30	19.60	27.900
7	0.180	9.7	16.50	26.20	13.00	11.50	24.500
8	0.200	6.7	7.90	14.60	2.00	7.80	9.800
10	0.054	10.4	11.50	21.90	6.40	7.70	14.10
12	0.050	7.3	15.60	28.90	17.80	10.50	28.30
13	0.042	12.2	15.05	27.25	17.50	11.00	28.50
15	0.430	8.6	7.60	16.20	5.50	4.60	10.10
18	0.049	14.3	12.30	26.60	10.10	4.50	14.60
24	0.052	10.6	11.10	21.70	7.30	8.70	16.00
25	0.190	11.1	11.60	22.70	18.70	12.60	31.30

laguna lungo la direttrice SE. Escludendo la stazione B, assoggettata ad una temperatura al prelievo di circa 24°C, non si sono riscontrate correlazioni significative tra l'attività nitrificante e temperatura al prelievo. Non si sono evidenziate correlazioni neppure con pH, salinità e distanza lineare misurata tra le stazioni ed il vertice del reticolo posto dinanzi allo sbocco del Naviglio Brenta (fig. 2).

Sono state trovate altamente significative ($p > 95\%$) le correlazioni (funzione $\log y = a + b \log x$) tra le attività di nitrificazione e Azoto totale Kjeldhal, Nitriti, Nitrati, Ammoniaca e tasso di incorporazione afotica del bicarbonato.

Tali risultati concordano con quanto riscontrato da SZWERINSKI nel 1977 in un'indagine concettualmente simile alla nostra effettuata nella Baia di Kiel, nella quale l'attività nitrificante risultava correlata con la concentrazione di ammoniaca e nitriti.

Attività eterotrofa

In tabella 1 sono riportati i risultati relativi agli indici di Assimilazione, Respirazione e Attività eterotrofa totale per le due campagne della primavera ed estate '80.

Nella campagna primaverile l'indice di Attività AET varia da un minimo di 8.7 ngC/l nella stazione A, corrispondente all'opera di presa della Centrale ENEL, ad un massimo di 35.8 nella stazione 5, in zona lagunare sulla direttrice NE. La stazione di scarico B, termicamente alterata di circa 12°C, non si differenzia in modo netto dalle rimanenti stazioni. Nella campagna estiva sono stati riscontrati valori massimi dello stesso ordine di grandezza; i valori minimi, invece, risultano assai inferiori: si osservi in particolare il valore prossimo a zero riscontrato nella stazione di scarico B, che presentava una temperatura al prelievo (costante durante l'incubazione) di circa 39°C.

Il quoziente respiratorio R/R+A varia dal 46 al 67% in Marzo e dal 31 all'86% in Agosto.

Per poter interpretare più compiutamente gli andamenti dell'indice di Attività eterotrofa totale sono state studiate le sue correlazioni con i principali parametri fisici e chimici.

Dai risultati ottenuti nelle due campagne, non si è evidenziata, escludendo la stazione B, nessuna correlazione tra indice di attività eterotrofa e temperatura dell'acqua lagunare al momento del prelievo, che è variata dai 28.2 ai 32.3°C. Ciò indica che le fondamentali funzioni descritte da questo parametro non risentono della presenza dello scarico termico, nel corpo di acqua lagunare.

Del tutto particolare è la situazione nella stazione B, posta sul canale

di scarico, dove l'effetto della temperatura sembrerebbe determinante. Infatti, rispetto ai valori di attività riscontrati nella stazione di ingresso al sistema di raffreddamento (staz. A) è stato registrato un leggero incremento di attività in Marzo (temperatura dello scarico ca. 23°C) e un decremento netto in Agosto (temperatura dello scarico 39°C). Va però fatto osservare che in Agosto nella stazione B si è rilevata anche la massima concentrazione di Ni (28 ppb), che, come illustrato in seguito, potrebbe avere un distinto effetto inibitore.

Anche uno studio effettuato precedentemente su questo sito (J. BEARDALL, 1979) ha mostrato la mancanza di correlazione tra temperatura dell'acqua e abbondanza di batteri eterotrofi, determinata su terreni di arricchimento.

In entrambe le campagne si sono evidenziate correlazioni significative (precisamente al 99% in Marzo e 95% in Agosto tra l'indice di attività eterotrofa) e la produttività primaria, la clorofilla *a* e l'ossigeno disciolto (peraltro tra loro correlati); tali correlazioni sono illustrate dai diagrammi di dispersione in fig. 3.

Per i dati della campagna estiva la « Steap-Wise Multiple linear regression » ha messo in evidenza che l'indice di attività è correlato positiva-

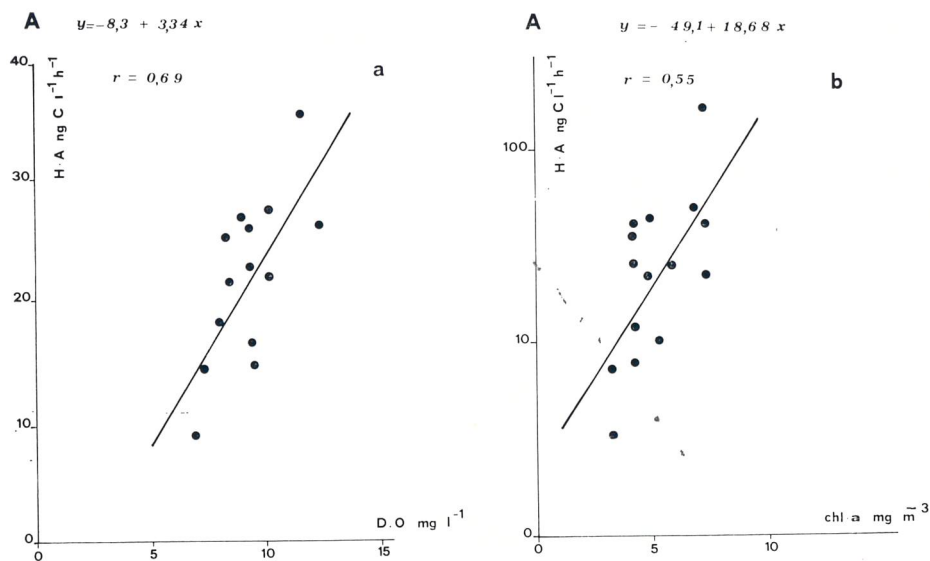


Fig. 3A

Fig. 3. — A) campagna primaverile. Relazioni tra attività e: (a) O.D.; (b) clorofilla *a*. B) campagna estiva. Relazioni tra attività eterotrofa a: (a) O.D.; (b) clorofilla *a* e (c) Produttività primaria.

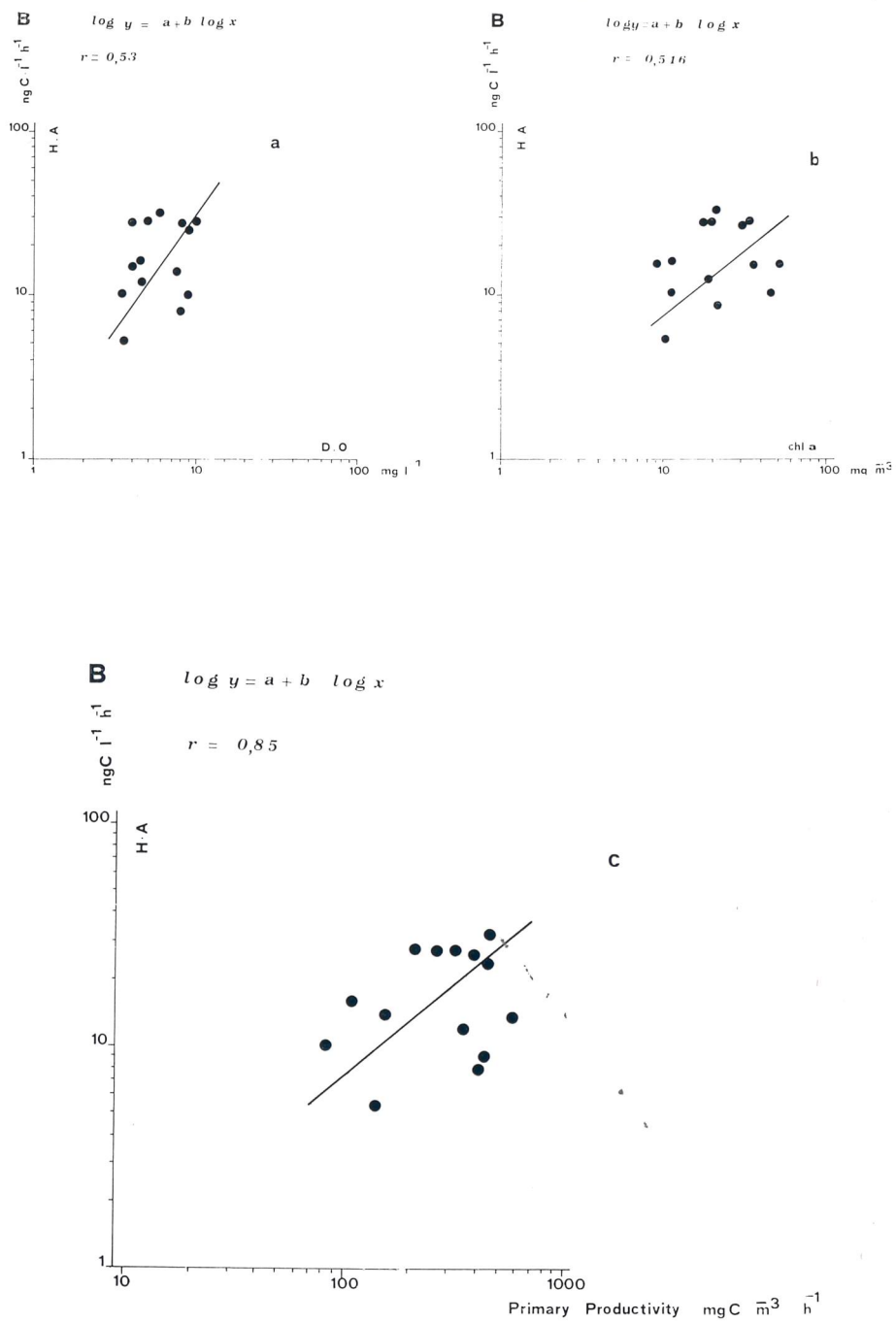


Fig. 3B

mente ($P > 0.95$) con la concentrazione di Fe (variabile da 82 a 530 $\mu\text{g/l}$) e negativamente con quella di Ni (variabile da 4 a 28 $\mu\text{g/l}$) con pesi ($\beta_{wt} = b\text{-S}_2/\text{S}_1$) rispettivamente di 0.64 e -0.55 .

La correlazione negativa tra indice di attività eterotrofa e Ni potrebbe indicare che questo metallo ha un effetto inibitore sul metabolismo eterotrofo; tale indicazione necessita ovviamente di conferma.

Il quoziente respiratorio R viene da alcuni autori considerato come un indice dello stress indotto da metalli pesanti (WOOD and CHUA, 1973); questi autori hanno riscontrato che in presenza di metalli pesanti la frazione di substrato respirata aumenta rispetto a quella assimilata.

Per altri autori invece (ALBRIGHT, 1972 e SAYLER, 1979) lo stress causerebbe depressione generalizzata. Nel nostro lavoro si è evidenziata una correlazione significativa ($P > 0.95$) tra questo parametro e la concentrazione di Ni, il che confermerebbe l'ipotesi di un'effettiva azione inibitrice di Ni sulla fase di Assimilazione.

Confrontando i valori dell'indice di attività ottenuti nelle due campagne (Marzo/Agosto '80) si osserva una stretta correlazione ($P > 0.99$), con retta di regressione avente pendenza di circa 45° e valore di intercetta non significativamente diverso da zero; ciò indicherebbe un'interessante stabilità della struttura spaziale nel tempo, a parità di condizioni di marea.

CONCLUSIONI

I risultati non hanno evidenziato, se si esclude la stazione sul canale di scarico, effetti significativi della perturbazione termica sugli indici di attività studiati.

Un'influenza significativa è stata riscontrata solo prima dello sversamento dell'acqua utilizzata per il raffreddamento nel corpo d'acqua lagunare vero e proprio. Tale influenza sembrerebbe leggermente negativa per l'attività nitrificante nell'Ottobre '79; sull'attività eterotrofa leggermente positiva in primavera e nettamente negativa in estate.

Sulla base delle correlazioni interparametriche trovate si può concludere che il pattern spazio-temporale nel corpo d'acqua lagunare degli indici studiati sia governato non tanto dalla perturbazione termica, quanto dalla maggiore o minore diluizione degli apporti dovuti ai canali di irrigazione e alle zone industriali, legati ai complicati fattori idrodinamici locali.

Per chiarire meglio l'intervento di tali fattori è necessario un approfondimento dell'indagine, attualmente in programma.

BIBLIOGRAFIA

- ALBRIGHT L. J., 1972 — Technique for measuring metallic salt effects upon the indigenous heterotrophic microflora of a natural waters. — *Water Research*, 6: 1589-1596.
- BEARDALL J. e VOLTOLINA, 1979 — Rapporto alla Commissione Tecnico Scientifica per la sperimentazione e i controlli periodici sulla Centrale Termoelettrica dell'ENEL sita in località Fusina di Porto Marghera (Venezia).
- BILLEN G., 1976 — Evaluation of nitrifying activity in sediments by dark ¹⁴C-bicarbonate incorporation. — *Water Research*, 10: 51-57.
- GORING C. A. I., 1962 — Control of nitrification by 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine. — *Soil Sci.*, 93: 211-218.
- GRIFFITHS R. P. et al., 1977 — Comparison between two methods of assaying relative microbial activity in marine environments. — *Applied and Environmental Microbiology*, 34 (6): 801-805.
- HERBLAND A. M. et BOIS J. F., 1974 — Assimilation et mineralisation de la matière organique avissantés ans la mer: methode par comptage en scintillation liquide. — *Marine Biology*, 24: 203-212.
- NYFFELER F., 1972 — Il regime idrodinamico della laguna di Venezia. — *Fonds National Suisse de la Reserche Scientifique*, Post box 156 - 8024 Zürich.
- PARSON T. R. and STRICKLAND J. D. H., 1962 — On the production of particulate organic carbon by heterotrophic processes in sea water — *Deep Sea Research*, 8: 211-222.
- SAYLER G. S., 1979 — Comparative effects of aroclor 1254 (polychlorinated bipheyls) and pthenanthrene on glucose uptake by freshwater microbial populations. — *Applied and Environmental Microbiology*, 37 (5): 878-885.
- SHATTUCK G. E., 1963 — A differential inhibitor of nitrifying microorganisms. — *Soil Sci. Soc. Proceedings*.
- SOMVILLE M., 1978 — A method for the measurement of nitrification rates in water. — *Water Research*, 12: 843-844.
- SOROKIN Y. I. and KADOTA, 1972 — Microbial production and decomposition in fresh waters. — *IBP Handbook 23 Blackwell Sci. Pub.*
- SZWERINSKI, 1977 — Nitrification (pp. 237-243) in *Microbial Ecology of Brackish Water Environment*. — Ed. G. Rheinheimer - *Springer Verlag*.
- VACCARO R. F. and JANNASCH H. W., 1966 — Studies on heterotrophic activity in seawater based on glucose assimilation. — *Limnology oceanography*, 11: 596-697.
- WILLIAMS B. and ASKEW C., 1968 — A method of measuring the mineralization by microorganism of organic compounds in sea water. — *Deep Sea Research*, 15: 365-375.
- WOOD L. W. et al., 1973 — Glucose flux at the sediment, water interface of Toronto Harbour, Lake Ontario with reference to pollution stress. — *Can. J. Microbiol.*, 19: 413-420.
- WRIGHT R. T. and HOBIE J. E., 1966 — Use of glucose and acetate by Bacteria and Algae in aquatic ecosystems. — *Ecology*, 47: 447-463.