

Le acque di irrigazione e la sicurezza alimentare

Bruno Biavati, Paola Mattarelli*

*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università di Bologna
Via Fanin 44, 40127 Bologna*

Società Italiana di Microbiologia Agroalimentare e Ambientale

Riassunto

Il 71% della superficie terrestre è costituito dagli oceani. L'acqua pertanto è un importante ambiente per i microrganismi oltre che per tutti gli altri esseri viventi. Una grande varietà di tipi microbici colonizzano l'habitat acquatico dai fototrofi ai chemiorganotrofi. Le dinamiche che si creano fra i diversi componenti microbici e l'ambiente sono spesso alterate da contaminazioni organiche, chimiche e fisiche. L'immissione di materiale organico può anche essere fonte di inquinamento di microrganismi patogeni la cui presenza va monitorata al fine di evitare seri problemi alla salute umana ed animale. L'acqua, infatti, può rappresentare un veicolo di trasferimento sia diretto (acqua potabile) sia indiretto (acque di irrigazione) di microrganismi patogeni.

Parole chiave: biodiversità microbica, acqua potabile, acqua di irrigazione, microrganismi patogeni.

Summary

IRRIGUE WATER AND FOOD SAFETY

Seventy-one percent of the earth's surfaces are covered by oceans. Water therefore are an important habitat for the microorganisms and the other living things. A consistent microbial biodiversity is present in water from phototrophs to chemoorganotrophs. The complex relationships between different microorganisms and the environment are often modified by organic, chemical and physic contaminations. The input of organic material can determine pathogen pollution. The presence of pathogens has to be monitored to eliminate serious problems for animal and human health. Water, in fact, can be a vehicle direct (drinking water) or indirect (irrigue water) for microbial pathogens.

Key-words: microbial biodiversity, drinking water, irrigue water, pathogens.

1. Ecologia microbica delle acque

Il 71% della superficie terrestre è costituita da oceani. L'acqua quindi è l'habitat dominante della terra. Gli ambienti acquatici comprendono sorgenti, paludi, fiumi, laghi, oceani ma anche bacini idrici, acque di scolo e altri habitat acquatici. Gli habitat acquatici rispetto a quelli terrestri, presentano una minore variabilità di condizioni ambientali. La temperatura negli strati superficiali dell'acqua ha meno variazioni rispetto alla superficie terrestre. Le acque oceaniche hanno una temperatura che non supera i 4 °C. Questa uniformità si mette in evidenza anche nella distribuzione delle sostanze nutritive: esse sono disponibili in forma solubile e ionica

e sono continuamente disperse per diffusione, convezione e per mezzo delle correnti. La produttività negli ambienti acquatici è limitata agli strati eufotici di superficie ed è dell'ordine di grandezza della produzione primaria terrestre fotosintetica. Per quanto riguarda l'ossigeno la sua diffusione dall'atmosfera ai corpi acquatici ed infine ai sedimenti è estremamente lenta. Pertanto nei sedimenti sono presenti condizioni anossiche con limitato rimescolamento di acqua. Negli ambienti marini anossici l'anione più importante è il solfato. In presenza di materiale organico il solfato viene utilizzato come accettore finale di elettroni da numerosi microrganismi in grado di svolgere la riduzione dissi-

* Autore corrispondente: tel.: +39 051 2096275; fax: +39 051 2096274. Indirizzo e-mail: paola.mattarelli@unibo.it.

militoria del solfato. Da questa trasformazione deriva la liberazione di acido solfidrico che costituisce il donatore di idrogeno per fototrofi anaerobici come i batteri verdi e rossi. Gli habitat marini sono i maggiori ecosistemi anaerobici nella biosfera. Il Mar Nero ad esempio è privo di ossigeno da 150 metri fino alla sua massima profondità di 2000 metri. Quasi tutto lo zolfo presente deriva dalla riduzione del solfato (SO_4^{2-}). L'ossidazione dell'acido solfidrico da parte dei microrganismi fototrofi è condotta a livello dell'interfaccia aerobica-anaerobica ed è legata alla fissazione di grandi quantità di carbonio. Nelle acque anossiche marine la concentrazione del metano è minore rispetto agli ambienti anossici delle acque dolci. Nei sedimenti con elevate concentrazioni di solfato (più di 10 mM) la tappa finale della degradazione del materiale organico è principalmente condotta dai batteri solfato-riducenti. Diversamente in condizioni di basse concentrazioni di solfato la metanogenesi è il principale processo che conclude la serie di reazioni microbiche coinvolte nella degradazione della sostanza organica.

Un importante parametro della vita acquatica è la luce. L'assorbimento della luce regola la distribuzione di fototrofi come produttori primari che a loro volta influenzano la distribuzione dei chemorganotrofi. Per ogni metro di profondità, l'intensità della luce diminuisce di circa il 50%.

Il numero dei microrganismi è minore nella maggioranza degli habitat acquatici rispetto a quelli terrestri. I batteri più comuni negli habitat acquatici sono bastoncini Gram negativi dei generi *Pseudomonas*, *Vibrio* e *Flavobacterium*. La domanda se esistano microrganismi marini autoctoni è argomento di discussione da sempre. I batteri isolati dall'oceano non sono necessariamente di origine marina perché alcuni microrganismi possono essere immessi dai fiumi. È quindi necessario distinguere i microrganismi che si trovano in oceano aperto da quelli che si trovano vicino alle coste. È tuttavia generalmente accettata l'esistenza di microrganismi autoctoni marini che richiedono NaCl e sono psicrofili. I microrganismi con guaina o appendici sono strettamente acquatici e vivono nel bentos come anche quelli fototrofi che si stratificano nell'habitat planctonico. I batteri prostecati sono comuni nei corpi acquatici a basso contenuto di nutrienti. La maggioranza degli organismi planctonici è in grado di fluttuare in

verticale. Il loro galleggiamento dipende da dimensioni, motilità, vescicole di gas che sono presenti ad esempio in fototrofi e cianobatteri. Strutture simili sono presenti negli alobatteri che si trovano nei bacini di acqua salmastra.

I funghi sono i microrganismi più diffusi nelle acque dolci contrariamente a quelle marine: essi sono coinvolti principalmente nella degradazione di residui vegetali. I funghi più semplici, come i chitridi, sono parassiti di alghe planctoniche. Gli oomiceti sono ampiamente distribuiti nei fiumi, paludi e laghi ma sono rari nel mare. *Thraustochytridiales* sono funghi marini autoctoni. Anche gli ascomiceti si trovano nei fiumi e nei laghi dove degradano i residui di piante. I lieviti si trovano negli oceani fino a 3.000 m di profondità. Le principali specie nelle acque costiere sono *Rhodotorula* e *Torulopsis*. Le acque interne comprendono ambienti sia con acque correnti sia stagnanti. I corsi d'acqua presentano condizioni più o meno uniformi in tutta la profondità grazie al continuo rimescolamento del corpo acquoso. Nei bacini stagnanti invece si differenziano diversi strati con temperatura, densità, composizione chimica e condizioni biologiche diverse. Un esempio di tale stratificazione è data in figura 1. A causa del riscaldamento della superficie gli strati superiori hanno una temperatura più elevata. Alla base dello strato "caldo" è presente un brusco abbassamento di temperatura, noto come termocline. Il movimento verticale dei soluti attraverso il termocline è piuttosto lento. La profondità del termocline è compresa fra 8 e 15 m. Gli strati sottostanti costituiscono l'ipolimnio e quelli superiori l'epilimnio. La produzione primaria avviene nello strato aerobico superiore (epilimnio) grazie a cianobatteri e alghe e nello strato anaerobico sottostante (ipolimnio) ad opera di batteri rossi e verdi. Siccome parte del materiale organico sedimenta sul fondo del lago, la degradazione anaerobica (fermentazione, produzione di SO_4^{2-} , riduzione di CO_2 e produzione di CH_4) avviene nel sedimento grazie a batteri fermentativi, batteri solfato-riducenti e metanogeni.

I fiumi che sono poco contaminati appaiono trasparenti ed hanno una bassa concentrazione di microrganismi: le piccole quantità di materiale organico presenti sono facilmente degradate (auto-purificazione). Le acque altamente contaminate invece rivelano una drastica alterazione della microflora e della fauna.

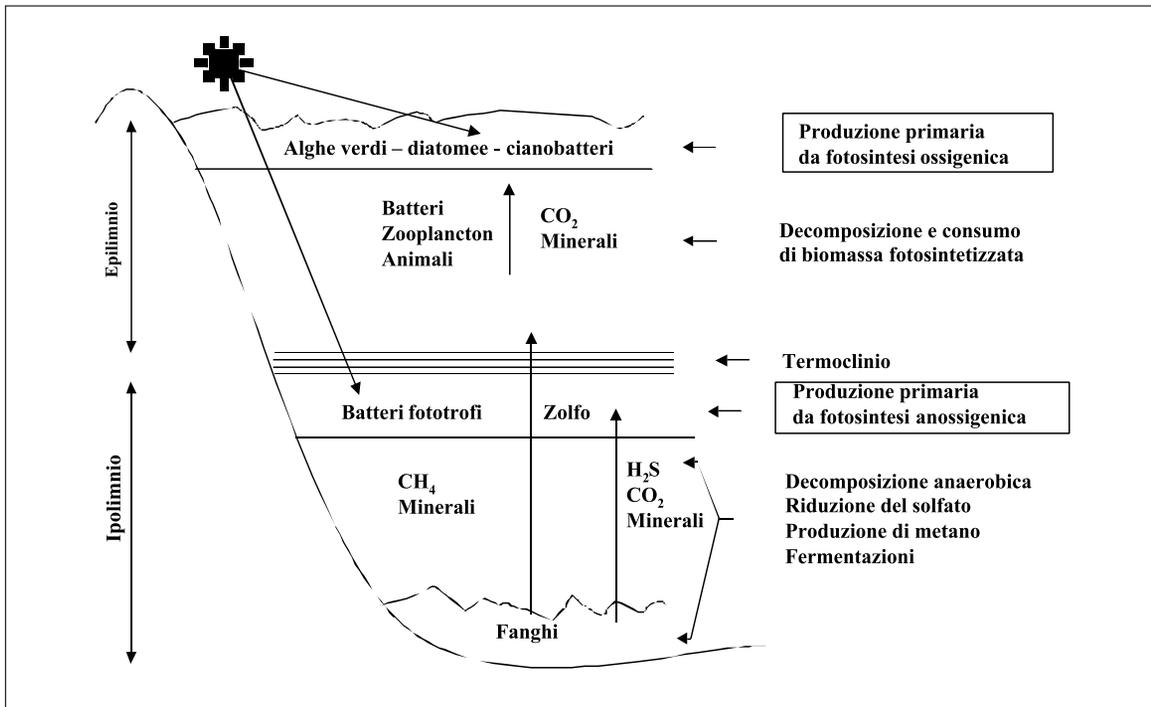


Figura 1. Profilo verticale della stratificazione di un lago.

Figure 1. Vertical profile of a lake stratification.

Il numero di batteri negli habitat acquatici dipende dalla interazione di molteplici fattori. I microrganismi produttori primari attivi sono il punto di partenza della catena alimentare. Ad essi seguono i chemoorganotrofi. Nelle acque oligotrofiche la concentrazione batterica è intorno a 10^3 - 10^4 CFU ml⁻¹ mentre nelle acque eterotrofiche è intorno a 10^7 - 10^8 CFU ml⁻¹. Sulla superficie dei detriti dei sedimenti dei laghi, è stata stimata una concentrazione microbica di circa 10^9 CFU ml⁻¹. Negli oceani dove una minor quantità di detriti raggiunge i sedimenti dei fondali si ha una concentrazione microbica di 10^4 - 10^5 CFU ml⁻¹. Poiché l'apporto di nutrienti è molto lento il tempo di duplicazione nell'acqua è relativamente lungo. Nei laghi oligotrofici il tempo di duplicazione è stato stimato fra 60 e 180 ore. Invece in acque ricche di nutrienti e calde è stata osservata una rapida crescita microbica con un tempo di duplicazione di 4 ore.

2. Contaminazione organica, chimica e fisica dell'acqua

Nei diversi habitat acquatici sono presenti in numero variabile microrganismi di diversi generi.

La popolazione microbica indigena è in grado di degradare composti organici ed è parte costituente della catena alimentare per protozoi, insetti, vermi e pesci. In condizioni normali delle acque, la popolazione microbica è parte di un ecosistema bilanciato e piccole quantità di composti organici non alterano il suo equilibrio. Tuttavia questo equilibrio può venire destabilizzato se un eccesso di materiale organico, come elevate quantità di acque di scolo, viene riversato nei corpi acquatici. L'immissione di materiale organico metabolizzabile causa un considerevole aumento della crescita del metabolismo della popolazione microbica aerobica dell'acqua. Questo eccesso di crescita consuma tutto l'ossigeno disponibile disciolto nell'acqua rendendo l'acqua anaerobica. La figura 2 illustra l'effetto di aggiunta di materiale organico biodegradabile in un fiume. I livelli di ossigeno disciolto calano rapidamente nel punto dove è stato immesso il materiale organico ma se questo non è troppo elevato i livelli di ossigeno saliranno lentamente quando il materiale si mescola e si muove a valle del punto di aggiunta. Questo susseguente aumento nell'O₂ disciolto è dovuto in parte al rimescolamento dell'acqua, alla dilui-

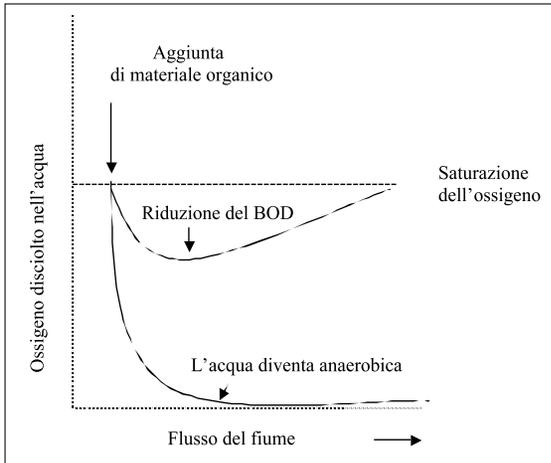


Figura 2. Conseguenze dell'aggiunzione di materiale organico a un fiume in termini di ossigeno disciolto. L'ossigeno disciolto diminuisce vicino al punto di immissione ma con il rimescolamento l'ossigeno disciolto raggiunge ancora il valore di saturazione. Questa caratteristica è nota come "riduzione del BOD". Tuttavia se l'aggiunzione di materiale organico è rilevante l'ossigeno disciolto non viene ripristinato e l'acqua diventa anaerobica.

Figure 2. Effects of organic materials addition to a river as solved oxygen.

zione con acque fresche e al metabolismo del materiale organico. Le acque stagnanti come quelle di laghi e paludi diventano anaerobiche più rapidamente quando viene aggiunto un eccesso di materiale organico in quanto non hanno un sistema di rimescolamento con acque pulite. Se l'immissione di materiale organico è rilevante l'eccessivo metabolismo microbico determina condizioni anaerobiche. In condizioni anaerobiche i microrganismi aerobi diminuiscono o scompaiono mentre aumentano gli anaerobi. Il metabolismo anaerobico è più lento rispetto a quello aerobico così diminuisce la velocità di degradazione della sostanza organica e si ha accumulo di materiale organico o sedimentazione nell'acqua. Il permanere delle condizioni anossiche determina la morte degli altri organismi acquatici come pesci e crostacei. Il metabolismo anaerobico nel sedimento produce gas come acido solfidrico e metano; pertanto la formazione di bolle gassose è indice di condizioni anaerobiche. Oltre al materiale organico di origine fognaria, rifiuti industriali derivati da processi come la produzione di birra, la panificazione, la produzione di carta, la lavorazione dei metalli e dall'agricoltura possono essere im-

messi nelle acque: questi rifiuti sono generalmente più inquinanti degli scarichi fognari. Gli impianti di trattamento dei reflui fognari normalmente trattano residui di origine domestica mentre i residui industriali sono trattati dalle industrie stesse prima di essere immessi nei bacini idrici o nei reflui fognari. L'inquinamento dell'acqua è determinato non solo dall'aggiunzione di residui biodegradabili ma anche da inquinanti di natura chimica e fisica. Inquinanti chimici derivano principalmente dall'industria col rilascio di acidi, alcali e composti tossici che possono avvelenare gli organismi viventi dell'acqua. Gli inquinanti chimici come pesticidi possono derivare anche dall'agricoltura. L'inquinamento fisico è causato dal rilascio di materiale che può cambiare le condizioni fisiche di un habitat, come l'immissione nell'ambiente di grandi quantità di acqua calda che modificano la temperatura. Il cambiamento di temperatura dell'acqua può favorire la crescita degli organismi autoctoni o di nuovi organismi alterando così l'equilibrio ambientale.

La principale funzione dei sistemi di trattamento dei residui fognari è di ridurre il contenuto organico, i microrganismi patogeni e le particelle solide così da reintrodurre l'acqua nei bacini idrici, soprattutto quelli utilizzati come sorgenti di acqua potabile, senza causare inquinamento. Nei primi impianti venivano utilizzate colture di singoli microrganismi per trattare i reflui: questi però sono complesse mescolanze per cui sono stati sviluppati inoculi che utilizzano le popolazioni microbiche che si trovano naturalmente nei reflui (Wagner et al., 2002). Poiché la natura e la composizione dei reflui è molto variabile non esiste un processo universale di trattamento. Esistono tuttavia quattro fasi di trattamento che sono la fase preliminare, quella primaria, quella secondaria e quella terziaria. Il primo ed il secondo trattamento sono di natura fisica e permettono la rimozione dei detriti e delle particelle solide sospese. Il trattamento secondario che può essere di tipo anaerobico (in bioreattori) o aerobico (in vasche a filtri drenanti o con fanghi attivi) utilizza l'attività biologica dei microrganismi per degradare la sostanza organica. Il trattamento terziario permette la rimozione di fosfati, nitrati e microrganismi patogeni per produrre acqua potabile e per prevenire l'eutrofizzazione. Tale processo richiede reazioni chimiche, disinfezione con clo-

ro, filtrazione e l'uso di stagni di maturazione. L'applicazione di metodi molecolari per lo studio della microbiologia dei sistemi di trattamento dei reflui ha rivoluzionato le nostre conoscenze sull'ecologia microbica di questi sistemi. Diversi gruppi di batteri non coltivabili sono stati identificati e ad essi sono state attribuite alcune funzioni come aumentata rimozione del fosforo, ossidazione del nitrito e denitrificazione. Il vantaggio di questi studi ha fornito le basi per un trattamento "guidato" dei reflui. Ad esempio all'inizio o durante il trattamento secondario vengono addizionati microrganismi specializzati o fanghi attivati derivati da un altro sistema: questo processo prende il nome di "bioaugmentation" (Rittman e Whiteman, 1994).

3. Microrganismi patogeni dell'acqua

L'immissione di materiale organico oltre ad avere conseguenze ecologiche per l'ambiente acquatico può essere causa di contaminazione di microrganismi patogeni costituendo un serio problema per la salute umana. Alcuni patogeni sono descritti come emergenti in quanto costituiscono un considerevole pericolo per la salute umana in paesi sia industrializzati sia in via di sviluppo. *Vibrio cholerae* è un esempio di patogeno che ha causato e continua a determinare epidemie in diversi paesi (Karaolis et al., 1995). Anche i ceppi che afferiscono alla specie *Escherichia coli* fra cui *E. coli* O157:H7 enteromorragico e "shiga toxin-producing" *E. coli* (STEC) costituiscono un gruppo di patogeni dell'acqua dell'occidente industrializzato (Khan et al., 2002; Lawson, 2004). *Cryptosporidium*, protozoo parassita, causa diarrea persistente in individui immunocompromessi. *Campylobacter*, importante patogeno dell'acqua che causa gastroenteriti acute, è considerato un patogeno emergente (Engberg et al., 1998; Furtado et al., 1998). *Yersinia enterocolitica* è un importante patogeno del cibo e dell'acqua che causa problemi gastrointestinali di vario tipo (Ostroff, 1995). Altri agenti microbici patogeni che si possono trovare nell'acqua che non sono emergenti ma sono potenziali candidati sono vari virus enterici (epatite, coxavirus, rotavirus), micobatteri ambientali, *Helicobacter spp.*, aeromonadi, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leptospira spp.*, *Brucella spp.*, *Listeria mo-*

nocytogenes, *Salmonella spp.* (Gerba e Smith, 2005). Il controllo e un'adeguata disinfezione sembrano essere i maggiori punti chiave nella salvaguardia contro i patogeni dell'acqua. Una rigorosa analisi dell'acqua è utile nell'individuare nuovi microrganismi patogeni. Successivamente all'identificazione microbica il problema può essere affrontato su diversi fronti: a) documentando la diffusione del patogeno attraverso l'acqua potabile e altre vie, b) sviluppando un sistema di monitoraggio accurato, c) mettendo a punto sistemi efficaci di disinfezione o filtrazione, d) stabilendo i rischi relativi alla salute (Sharma et al., 2003).

4. Riutilizzo di acque derivate da reflui per l'irrigazione

La risorsa idrica è un bene prezioso e purtroppo in questo ultimo decennio si è assistito sempre più frequentemente a periodi di scarsità di acqua anche in paesi che non avevano avuto prima problemi di siccità. Il riutilizzo di acque derivanti da impianti di trattamento di reflui per l'irrigazione in agricoltura potrebbe essere un valido strumento per l'economia dell'acqua. Sono stati definiti tre principali approcci per stabilire delle linee guida per la qualità microbiologica di acque derivanti da reflui e riutilizzate per l'agricoltura. Questi approcci hanno diversi obiettivi come l'assenza di organismi indicatori fecali nelle acque di scolo, l'assenza di un aumento misurabile di malattie enteriche nella popolazione esposta e un modello in grado di definire in modo quantitativo un rischio associato ad un patogeno. Se il secondo approccio (che usa studi epidemiologici empirici insieme a studi microbiologici della trasmissione di patogeni) è usato unitamente al terzo approccio (che usa una definizione del rischio quantitativo usando un modello per patogeni selezionati) si ottiene uno strumento potente per aiutare lo sviluppo di regolamentazioni. Questo approccio combinato è più efficiente in termini di costi del primo approccio e protegge adeguatamente la salute pubblica (Blumenthal et al., 2000). Le linee guida stabiliscono la concentrazione dei coliformi fecali deve essere ≤ 1000 coliformi fecali/100 ml⁻¹ per irrigazioni a pieno campo, mentre per irrigazioni limitate a spazi ristretti il limite è ≤ 105 coliformi fecali /100 ml⁻¹ consi-

derando la possibile esposizione agli aerosol di agricoltori adulti. Il limite ≤ 103 coliformi fecali/100 ml⁻¹ è raccomandato se viene utilizzata irrigazione per allagamento (ad es. risaie) o se sono esposti i bambini (Shuval et al., 1997).

Da quanto esposto risulta evidente che le acque rappresentano un habitat ideale per molti microrganismi alcuni dei quali possiedono caratteri che possono determinare patologie di varie gravità nell'uomo e negli animali. Le acque di irrigazione possono quindi rappresentare un mezzo attraverso il quale avviene il trasferimento dei microrganismi a varie colture in particolare frutta e verdura trasformandole in possibile veicolo di trasmissione di agenti patogeni.

Bibliografia

- Blumenthal U.J., Mara D.D., Peasey A., Ruiz-Palacios G., Stott R. 2000. Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines. Bull. World Health Organ., 78:1104-1116.
- Engberg J., Gerner-Smidt P., Scheutz F., Moller Nielsen E., On S.L., Molbak K. 1998. Water-borne Campylobacter jejuni infection in a Danish town – a 6-week continuous source outbreak. Clin. Microbiol. Infect., 4:648-656.
- Furtado C., Adak G.K., Stuart J.M., Wall P.G., Evans H.S., Casemor D.P. 1998. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-1995. Epidemiol. Infect., 121:109-119.
- Gerba C.P., Smith J.E. Jr. 2005. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes. J. Environm. Qual., 34:42-48.
- Karaolis D.K., Lan R., Reeves P.R. 1995. The sixth and seventh cholera pandemics are due to independent clones separately derived from environmental, non-toxicogenic, non-O1 *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol., 177:3191-3198.
- Khan A., Das S.C., Ramamurthy T., Sikdar A., Khanam J., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B. 2002. Antibiotic resistance, virulence genes, and molecular profiles of shiga toxin producing *Escherichia coli* isolates from diverse sources in Calcutta, India. J. Clin. Microbiol., 40:2009-2015.
- Lawson J.M. 2004. Update on *Escherichia coli* O157:H7. Curr. Gastroenterol. Rep., 6:297-301.
- Ostroff S. 1995. *Yersinia* as emerging infection: epidemiologic aspects of yersiniosis. Contrib. Microbiol. Immunol., 13:5-10.
- Rittmann B.E., Whiteman R. 1994. Bioaugmentation: a coming of age. Biotechnology, 1:12-16.
- Sharma S., Sachdeva P., Viridi J.S. 2003. Emerging waterborne pathogens. Appl. Microbiol. Biotechnol., 61:424-428.
- Shuval H., Lampert Y., Fattal B. 1997. Development of a risk assessment approach for evaluating wastewater reuse standards for agriculture. Water Sci. Technol., 35:15-20.
- Wagner M., Loy A., Nogueira R., Purkhold U., Lee N., Daims H. 2002. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. Antonie Van Leeuwenhoek, 81:665-680.