

## CRITERI DI PROTEZIONE DEGLI ACQUIFERI CARBONATICI DALL'INQUINAMENTO MICROBIOLOGICO<sup>(\*)</sup>

### PROTECTION OF CARBONATE AQUIFERS AGAINST MICROBIAL POLLUTION<sup>(\*)</sup>

FULVIO CELICO<sup>(\*)</sup>, EMMA PETRELLA<sup>(\*)</sup>, VINCENZO ALLOCCA<sup>(\*\*)</sup>, SILVESTRO MAROTTA<sup>(\*)</sup>,  
VALENTINA NERONE<sup>(\*)</sup>, GIUSEPPE MARZULLO<sup>(\*)</sup> & GINO NACLERIO<sup>(\*)</sup>

(\*) Università degli Studi del Molise, Dipartimento di Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio, Contrada Fonte Lappone - 86090 Pesche (IS)  
(\*\*) Università degli Studi "Federico II" di Napoli, Dipartimento di Scienze della Terra, Largo S. Marcellino 10 - 80134 Napoli

#### RIASSUNTO

Gli acquiferi carbonatici rappresentano la principale fonte di approvvigionamento idropotabile dell'Italia meridionale. Numerose città e centri urbani più o meno piccoli utilizzano tali acque a tale scopo. Sorgenti di entità relativamente modesta sono spesso utilizzate per imbottigliamento e/o per attività termali. Tuttavia, tali acque sono spesso interessate da inquinamento microbiologico di origine fecale, a causa dei microrganismi introdotti nell'ambiente dal pascolo e dallo stazzo di bestiame, nonché dall'uso di concimi organici. In questo scenario, la salvaguardia ottimale delle acque sotterranee necessita (a) di una corretta valutazione della vulnerabilità all'inquinamento degli acquiferi e (b) dell'introduzione di misure di protezione tarate sulle specifiche peculiarità idrogeologiche dei suddetti acquiferi. La ricerca finora sviluppata, attraverso attività sperimentali di campo e di laboratorio, ha consentito di verificare l'attendibilità del metodo DAC per la valutazione della vulnerabilità specifica rispetto ai contaminanti microbici e di testare l'efficacia delle soluzioni di protezione proposte.

**TERMINI CHIAVE:** *acquiferi carbonatici, inquinamento microbiologico, vulnerabilità all'inquinamento, salvaguardia delle risorse idriche sotterranee.*

#### INTRODUZIONE

Gli acquiferi carbonatici Appenninici sono spesso affetti da inquinamento microbiologico (CELICO *et alii*, 2004a e 2004b). Ciò fa sì che risulti indispensabile applicare soluzioni di salvaguardia che siano in grado di prevenire o minimizzare tale fenomeno. Tenendo conto dell'importanza del pascolo e dell'agricoltura all'interno di questi territori, non è realistico pensare di risolvere tali problemi eliminando o mortificando lo sviluppo delle attività antropiche che introducono i contaminanti nell'ambiente, ma è necessario mettere a punto strategie di salvaguardia in condizioni sostenibili (BIONDIC *et*

<sup>(\*)</sup> La ricerca è stata finanziata dall'Unione Europea (Progetti KATER e KATER II; coordinatore scientifico prof. Fulvio Celico)

#### ABSTRACT

The carbonate aquifers provide the main drinking-water resources in Southern Italy. Several important towns, many smaller towns and countless villages utilize this water for their public water supply. Small springs are often utilized by bottling plants or thermal resorts. Nevertheless, groundwater is often contaminated by fecal bacteria because of the interaction between rocks having high permeability and microbial pollutants introduced in the environment by grazing and/or manure spreading. In order to protect these aquifers against pollution it is necessary to (a) correctly assess specific vulnerability to microbial contamination and (b) define protection zones which take into account hydrogeological peculiarities of carbonate aquifers. In both cases, an experimental approach has to confirm the effectiveness of solutions proposed. On the whole, the results of both field and laboratory experiments demonstrated the effectiveness of DAC method for specific vulnerability assessing in carbonate aquifers. In details, it was verified its effectiveness to show the diversified role of diffuse infiltration of precipitations through topsoil and fracture pattern and more or less concentrated infiltration of surface water in karst areas. The efficiency of specific protection measures has been experimentally verified in a test site.

**KEYWORDS:** *carbonate aquifers, microbial contamination, vulnerability to pollution, groundwater protection.*

#### INTRODUCTION

Carbonate aquifers within the Italian Apennines are often affected by microbial pollution (CELICO *et alii*, 2004a and 2004b) and protecting measures must be applied to prevent or minimize this contamination. However, due to the strategic importance of grazing and agriculture in carbonate massifs in Central-Southern Italy, it is unrealistic the application of a total protection. Scientists have to work to define a protection under sustained development conditions (BIONDIC *et alii*, 1998) taking into account the socio-economic needs of local inhabitants. This approach requires a high level of knowledge of car-

<sup>(\*)</sup> The research was funded by the European Union (KATER and KATER II research programs; scientific coordinator prof. Fulvio Celico)

alii, 1998). Tuttavia, tale approccio richiede un elevato grado di conoscenza del modello concettuale di funzionamento degli acquiferi e delle modalità di trasporto dei contaminanti nel sottosuolo.

La ricerca ha come scopo ultimo quello di mettere a punto soluzioni di salvaguardia, attraverso lo sviluppo di attività sperimentali di campo e di laboratorio. Soluzioni che devono essere intese come integrative alla Legge attualmente in vigore. In questa sede non si entrerà nel merito dei vincoli d'uso del territorio, i quali sono in corso di affinamento tenendo conto dei risultati della sperimentazione in corso. In ogni caso, essi saranno definiti sia in base al tipo (CELICO & NACLERIO, 2005; CELICO *et alii*, 2006a, 2006b) che al grado di vulnerabilità all'inquinamento degli acquiferi coinvolti (SKINNER, 1985).

La disamina degli aspetti legati alla valutazione di vulnerabilità ed alla configurazione delle soluzioni di salvaguardia sarà preceduta da una sintesi del comportamento idrogeologico degli acquiferi carbonatici utilizzati come aree campione (Acqua dei faggi, Monti del Matese, Molise; 1 in Fig. 1; Acqua della Madonna, Monte Terminio, Campania; 2 in Fig.2).

bonate aquifers hydrogeology and a thorough analysis of interactions between land use and groundwater contamination.

The purpose of this research is to define protecting criteria of groundwater in carbonate aquifers of Central-Southern Italy under sustained development conditions. These criteria have been defined as a function of experimental results which were acquired during several years of research in different test sites. All suggestions have to be considered as an integration to the Italian Law (D.L. 152/99) and respective Addenda, which do not provide sufficient or effective solutions for problems in these hydrogeological settings. The Law states that each Region should provide appropriate indications as to the setting up of protection zones taking into account the hydrogeological features of different areas of the Italian territory. No details are given concerning land use prohibitions. The research is in progress in different test sites in order to define relationships between extent of grazing and groundwater quality. Nevertheless, prohibitions have to be defined taking into consideration both the type (CELICO & NACLERIO, 2005; CELICO *et alii*, 2006a, 2006b) and the degree of vulnerability to pollution (SKINNER, 1985).

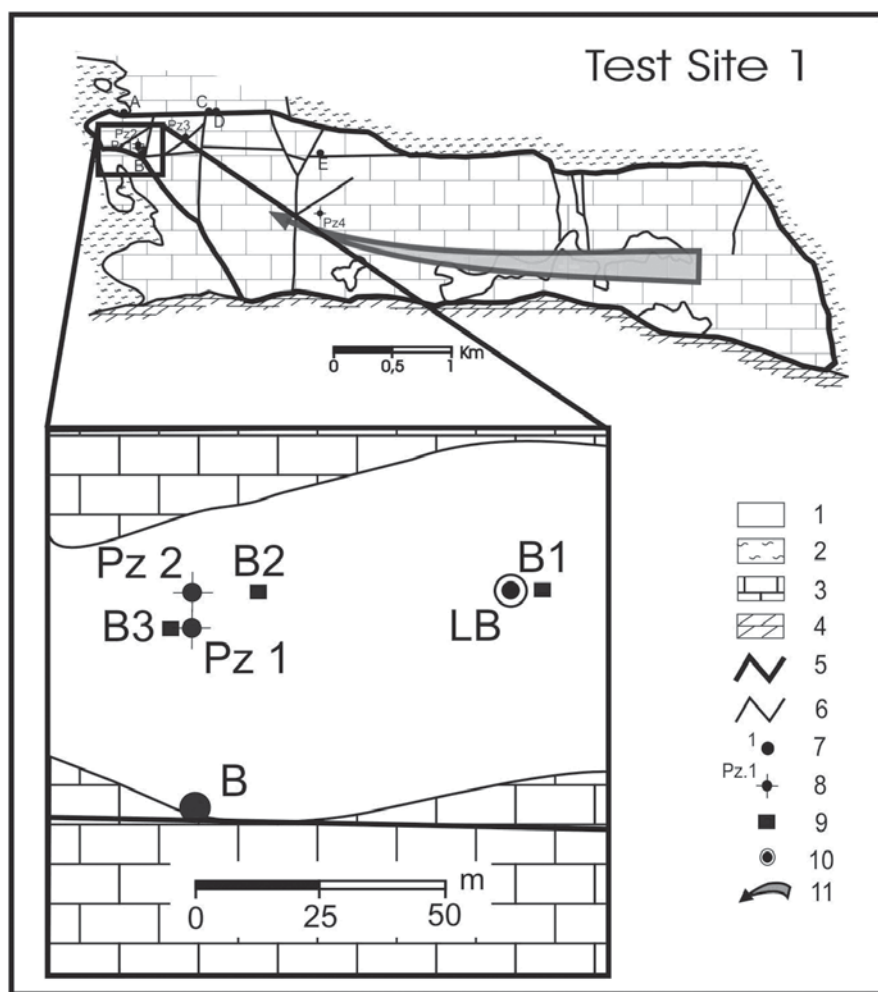


Fig. 1 - Schema idrogeologico dell'acquifero di Acqua dei Faggi e relativo dettaglio del sito campione 1 (Legenda: 1-depositi quaternari; 2-depositi marnoso-calcarei; 3-depositi calcarei; 4-depositi dolomitici; 5-limite del bacino sotterraneo; 6-faglia; 7-sorgente e relativa sigla di riferimento; 8-piezometri e relativa sigla di riferimento; 9-fori utilizzati per le prove Lugeon; 10-sondaggio di largo diametro utilizzato per l'analisi dei condotti carsici nell'epicarso; 11-principale direttrice di flusso della falda)

- Hydrogeological map of Test Site 1 (1-quaternary deposits; 2-marls and clays; 3-limestone; 4-dolostone; 5- aquifer boundary; 6- fault; 7- spring and its number; 8-piezometer and its number; 9-borehole used for Lugeon Tests; 10-borehole with a large diameter; 11- main groundwater flow direction)

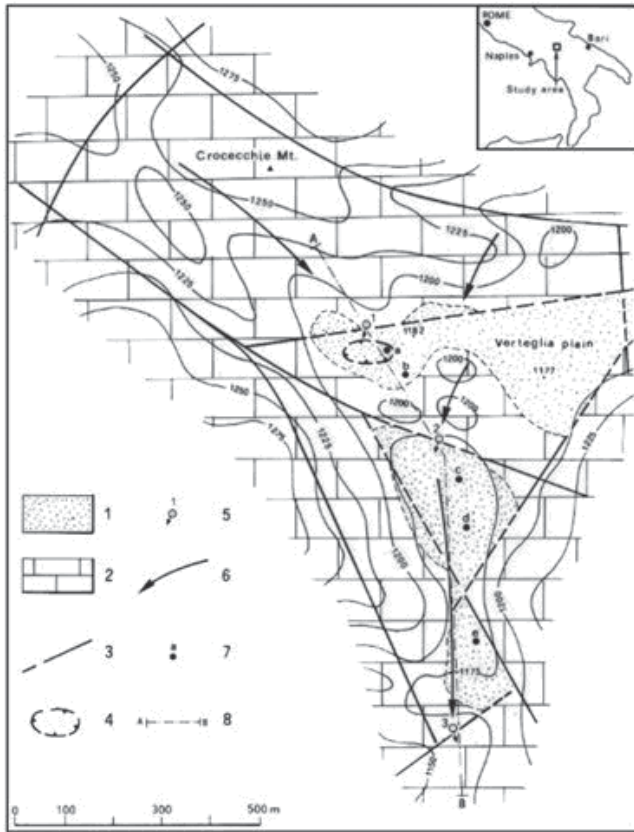


Fig. 2 - Schema idrogeologico dell'acquifero di Acqua della Madonna (Legenda: 1-depositi quaternari, 2-depositi calcarei; 3-faglie; 4-doline; 5-sorgente e relativa sigla di riferimento; 6-piezometro e relativo numero di riferimento)  
 - Hydrogeological map of Test Site 2 (1-quaternary sediments; 2-limestone; 3-fault; 4-dolines; 5-spring and its number; 6-groundwater flow direction; 7-borehole)

In this paper the hydrogeological behavior of carbonate aquifers will be synthesized, based upon an experimental research which is in progress in two test sites located within the Southern Apennines (Acqua dei Faggi test site, Monti del Matese, Molise; 1 in Fig. 1; Acqua della Madonna test site, Monte Terminio, Campania; 2 in Fig. 2).

## PROCEDURE SPERIMENTALI

### Monitoraggio meteorologico e idrogeologico

Precipitazioni e temperature dell'aria sono state monitorate mediante stazioni meteorologiche ubicate nelle singole aree campione.

I livelli piezometrici sono stati monitorati con cadenza oraria in numerosi pozzi e piezometri, da Ottobre 2003 a Dicembre 2005. Alcuni piezometri sono stati perforati in aree in cui il livello piezometrico arriva a lambire il piano campagna, in modo da analizzare le fluttuazioni della falda anche nella porzione di acquifero carbonatico immediatamente sottoposta alla copertura pedogenizzata. Le misure sono state eseguite mediante trasduttori di pressione. Ogni settimana è stato effettuato un controllo manuale dei livelli mediante freatimetro. Le portate sorgive sono state monitorate con cadenza settimanale, nel medesimo periodo di riferimento, mediante mulinello o micro-mulinello idraulico.

Una prova di emungimento è stata eseguita al fine di analizzare il grado di interconnessione delle fratture nel mezzo fratturato, quando l'intero spessore di acquifero carbonatico interessato dal pozzo fosse stato saturo. E' stata emunta una portata di 0.0017 m<sup>3</sup>/s per 4 ore. Il livello piezometrico durante la prova è stato monitorato mediante freatimetri, sia nel Pz2, sia in un piezometro ubicato a 7 metri di distanza (Pz1).

Quattro prove Lugeon sono state effettuate per determinare la conducibilità idraulica dell'acquifero carbonatico. Ciascun test è stato ese-

## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### Meteorological and Hydrogeological monitoring

Precipitations and air temperature were monitored on a hourly basis through meteorological stations located within the test sites.

Groundwater level was monitored on a hourly basis in several wells and piezometers, from October 2003 to December 2005. Some boreholes were drilled where the piezometric head comes near to the ground surface in recharge in order to analyze fluctuations also within the first meters of bedrock below the topsoil. The measurements were carried out by using pressure transducers. Every week the groundwater level was monitored by mean of a water level meter in order to compare the data. Spring discharge was monitored weekly, from October 2003 to December 2005, by means of a current meter.

A pumping test was carried out in order to analyze the interconnection of fractures within the limestone rocks when the whole carbonate medium was saturated. A discharge of 0.0017 m<sup>3</sup>/s was pumped for 4 hours. The groundwater level was monitored in Pz2 and in the nearby (7 meters) piezometer (Pz1) by mean of water level meters.

Four Lugeon tests were carried out in order to calculate the hydraulic conductivity of the carbonate medium. The tests were conducted on sealed sections 5 meters in length, with 5 pressure steps, making sure that the discharge injected was stabilised and measuring the undisturbed groundwater level before injection. It was ramped up

guito in sezioni di 5 metri di lunghezza, mediante 3 passi di incremento progressivo delle pressioni ed altri due di decremento progressivo.

### INDAGINI MICROBIOLOGICHE

La qualità microbiologica delle acque sorgive è stata monitorata con cadenza da giornaliera a settimanale. I campioni d'acqua sono stati prelevati in bottiglie sterili da 1000 ml e trasportati in box frigorifero fino in laboratorio. Le analisi sono state eseguite entro 2 ore dal prelievo, mediante la tecnica di filtrazione su membrana sterile.

### PROVE IN COLONNA

Sei campioni intatti di suolo (*Epilepti-Vitric Andosols (Mollic)*; 181.36 cm<sup>2</sup> per 11 cm di spessore) sono stati estratti dalle aree di pascolo in modo random. Per minimizzare il disturbo dei campioni, gli stessi sono stati prelevati utilizzando le medesime celle permeametriche con cui sono state successivamente eseguite le prove in colonna. Tutti i campioni sono stati avvolti in materiale plastico e trasportati in laboratorio, dove la procedura sperimentale ha avuto immediatamente inizio. Le prove sono state eseguite mediante permeametri standard, in modo da ottenere un flusso ed un trasporto diffuso dei microrganismi all'interno dei campioni. Gli esperimenti sono stati eseguiti in condizioni di saturazione dei campioni di suolo. L'acqua è stata immessa in testa alle celle e l'eluato è stato raccolto alla base, mediante falcon di plastica. Il flusso è stato mantenuto costante mediante l'uso di una pompa peristaltica. Per ciascun esperimento sono stati utilizzati 5400 ml di acqua distillata (corrispondente a 300 mm di infiltrazione efficace), la quale è stata sospinta all'interno dei campioni ad una velocità di 3 mm h<sup>-1</sup>. Vista la presenza di una frazione argillosa non trascurabile, è stata utilizzata una soluzione 0.001 M CaCl<sub>2</sub> per prevenirne la dispersione. Al fine di distinguere i batteri utilizzati per l'attività sperimentale da quelli naturalmente presenti nei campioni, sono stati utilizzati ceppi da collezione di *E. faecalis* (ATCC 29212), resistente ad acido nalidixico, e di *E. coli* (ATCC 10536), resistente ad acido nalidixico ed ampicillina. Gli enterococchi fecali ed i coliformi fecali naturalmente presenti nel suolo non hanno mostrato resistenza ai medesimi antibiotici.

All'inizio di ciascun esperimento sono stati inoculati in testa a ciascun campione 1.0 · 10<sup>10</sup> cellule di *E. faecalis* e 1.0 · 10<sup>10</sup> cellule di *E. coli*. Le cellule sono state prelevate nella fase di crescita esponenziale, centrifugate e risospese in una soluzione 0.001 M CaCl<sub>2</sub>. L'eluato è stato interamente campionato all'uscita dalle celle permeametriche. Per quanto concerne *E. faecalis*, 200 µl di ciascun campione e relative diluizioni seriali sono stati piastrati in triplicato su Slanetz-Bartley Agar, addizionato con antibiotico (50 µg ml<sup>-1</sup> di acido nalidixico) ed incubati a 37°C. Per quanto concerne *E. coli*, 200 µl di ciascun campione e relative diluizioni seriali sono stati piastrati in triplicato su m-FC Agar, addizionato con antibiotico (40 µg ml<sup>-1</sup> di acido nalidixico e 50 µg ml<sup>-1</sup> di ampicillina) ed incubati

over 3 increasing pressure steps in each test, to ramp back down 2 decreasing steps, at pressures that match the ramping up pressures.

### MICROBIOLOGICAL INVESTIGATIONS

Microbiological quality of spring water was monitored weekly or daily. The water samples were collected in sterile 1000 ml bottles and transported in a refrigerated box to the laboratory. Filtration processes for bacteriological analyses were made within 2 hours or less after sampling. Indicators of microbial contamination were determined using classic methods of water filtration on sterile membranes filter.

### COLUMN TESTS

Six intact soil blocks of *Epilepti-Vitric Andosols (Mollic)* were extracted randomly from the study site in the pasture area. To minimize the disturbance of samples, sod-covered blocks (181.36 cm square by 11 cm deep) were carved from undisturbed soil directly pushing permeameter cells used for column tests into the soil itself. All blocks were covered with plastic and transported to the laboratory, where experimental procedure started immediately. A diffuse interaction between bacteria and soil blocks was obtained by developing column tests in a standard permeameter, to minimize lateral flow within the gap between soil block and metal cell. All the experiment were carried out under saturated conditions. The water was applied on the top of blocks. The outflow was collected at the bottom by using sterile plastic tubes. A peristaltic pump was used to constantly push the water through the soil. In order to analyze the retention of both microorganisms at medium term, it was poured 5400 ml of distilled water (corresponding to 300 mm of effective infiltration) at a velocity of 3 mm h<sup>-1</sup>. Due to the clay content into the soil, a solution with 0.001 M CaCl<sub>2</sub> was used as rainwater to prevent dispersion of clays within the soil and the column plugging. The interaction between faecal bacteria and soil blocks was analyzed through the utilization of a collection strain of *E. faecalis* (ATCC 29212), nalidixic acid resistant, and a collection strain of *E. coli* (ATCC 10536), resistant to nalidixic acid and ampicillin. No fecal coliforms and fecal enterococci resistant to both antibiotics were observed in the natural background of soil blocks collected in pasture areas.

At the beginning of each experiment, 1.0 · 10<sup>10</sup> *E. faecalis* cells and 1.0 · 10<sup>10</sup> *E. coli* cells, collected during the exponential growth phase, were applied on the top of the soil block. The cells were collected during the exponential growth phase and were applied in a 0.001 M CaCl<sub>2</sub> solution. Soil block drainage was entirely collected beneath the outflowing holes. Concerning *E. faecalis*, 200 µl of each water sample and relative serial dilutions were plated in triplicate on Slanetz-Bartley Agar, supplemented with antibiotic (50 µg ml<sup>-1</sup> of nalidixic acid) and incubated at 37°C. As per *E. coli*, 200 µl of each water sample and relative serial dilutions were plated in triplicate on m-FC Agar, supplemented with antibiotic (40 µg ml<sup>-1</sup> of nalidixic acid and 50 µg ml<sup>-1</sup> of ampicillin) and incubated at 44°C. The number of *E. faecalis* cells and *E. coli* cells was estimated as colony-forming units (CFU), by

a 44°C. Il numero di colonie di entrambi i microrganismi è stato stimato come unità formanti colonie (UFC), utilizzando solo le piastre in cui vi erano tra 30 e 300 colonie, dopo 48 e 24 ore, rispettivamente.

Le proprietà fisiche ed indice dei campioni di suolo sono state determinate in laboratorio mediante procedure standard (ASTM D2974-87; ASTM D854-83; ASTM D422; ASTM D2217).

**RISULTATI**

*Caratterizzazione idrogeologica delle aree di studio*

Nell'area campione 1 (Fig. 1) il gradiente idraulico calcolato tra il Pz1 e il Pz2 varia da  $3.5 \cdot 10^{-2}$ , nelle porzioni non tettonizzate dell'acquifero, fino a  $6.6 \cdot 10^{-1}$ , all'interno delle fasce cataclastiche delle zone di faglia (CELICO *et alii*, 2006c). I livelli piezometrici e le portate sorgive mostrano una notevole variabilità a breve e medio termine (Fig. 3), con fluttuazioni sincrone nelle diverse porzioni di ciascun acquifero analizzato. L'entità e le modalità secondo cui tali fluttuazioni piezometriche avvengono sono diverse al variare della profondità del livello dal piano campagna. In fase di ricarica, precipitazioni di medesima entità ed intensità generano entità di innalzamenti piezometrici significativamente diversi a seconda che il volume di acquifero interessato dal sollevamento piezometrico sia posto a breve profondità dal piano campagna, ovvero a profondità superiori alla decina di metri. In fase di esaurimento, la velocità di abbassamento del livello di falda mostra anch'esso una significativa differenza con la profondità, in quanto avviene con maggiore

utilising only the plates where the number of colonies ranged from 30 to 300, after 48 hours and 24 hours respectively. All procedures were according to the methods of CELICO *et alii* (2004b).

Physical and index properties of six soil samples were analysed by means of standard laboratory tests: water content, organic matter, grain size and specific gravity of particles (ASTM D2974-87; ASTM D854-83; ASTM D422; ASTM D2217).

**RESULTS**

*Hydrogeological behavior of study areas*

In Test Site 1 (Fig. 1) the hydraulic gradient between Pz1 and Pz2 ranges from  $3.5 \cdot 10^{-2}$ , within the protolith, to  $6.6 \cdot 10^{-1}$ , within the core of some faults (CELICO *et alii*, 2006c). A nervous hydraulic response can be observed in all piezometers and at springs (Fig. 3). Nevertheless, despite the nervous behavior, the fluctuations are simultaneous throughout each study site (Fig. 3). The amplitude and the modalities of groundwater fluctuations significantly change with depth. In recharge, when precipitation causes effective infiltration, the groundwater level rise has a different size in the deeper and in the upper portions of the aquifer that was investigated, even though no significant differences were detected in terms of amount and frequency of rainfall. During recession phase, the piezometric head falls with a velocity which changes with depth. For example, in a piezometer it is always slightly lower than  $0.09 \text{ m d}^{-1}$  above 1004 meters a.s.l. The rate ranges from 0.17 and  $0.18 \text{ m d}^{-1}$  between 998 and 1004 meters a.s.l., while it is always higher than  $0.6 \text{ m d}^{-1}$  below

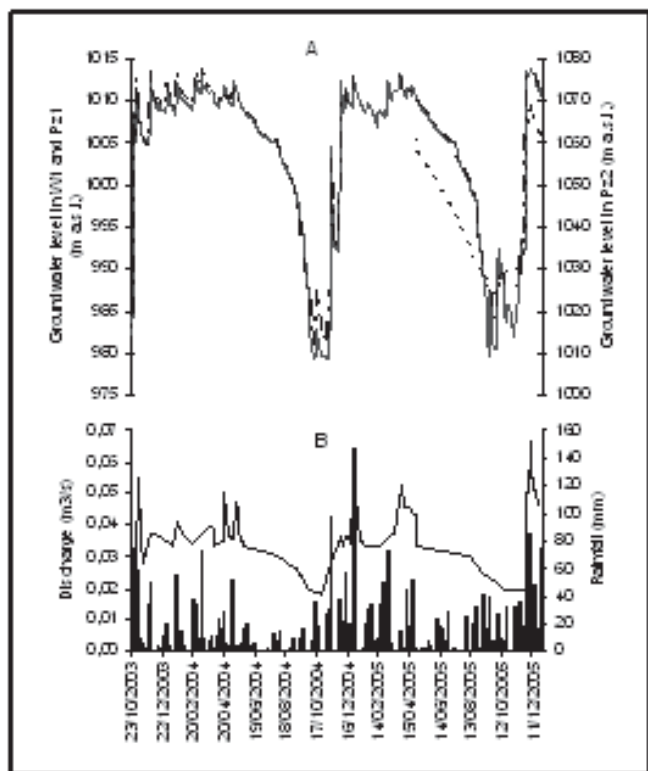


Fig. 3 - A) Livelli piezometrici monitorati nel Pz1 (linea tratteggiata), nel Pz2 (linea) e nel Pz3 (linea punteggiata). B) Idrogramma di portata della sorgente A e precipitazioni giornaliere  
 - Example of A) groundwater level fluctuations in Pz1 (dashed line), in Pz2 (line) and in Pz3 (dotted line); B) Spring hydrograph and daily rainfall

rapidità nelle porzioni più profonde dell'acquifero analizzato. Per esempio, nel Pz2 tale velocità è sempre di poco inferiore a  $0.09 \text{ m g}^{-1}$  al di sopra di 1004 metri s.l.m. La velocità oscilla da  $0.17$  a  $0.18 \text{ m g}^{-1}$  tra 998 e 1004 metri s.l.m., mentre è sempre maggiore di  $0.6 \text{ m g}^{-1}$  al di sotto di 998 metri s.l.m. Tenendo conto della progressiva diminuzione delle portate erogate dalle sorgenti in fase di esaurimento, tale incremento di velocità testimonia un chiaro decremento della porosità efficace del mezzo lungo la verticale. La maggiore porosità efficace del mezzo nella parte sommitale del substrato carbonatico è in linea con il rinvenimento di condotti carsici, circolari ed ellittici, nei primi 4 metri di rocce calcaree al di sotto del suolo, aventi diametri compresi tra  $0.01$  e  $0.1$  metro nel sondaggio di controllo LB1 (Fig. 1).

Le prove Lugeon effettuate nei B1, B2 e B3 (Fig. 1) testimoniano una conducibilità idraulica in zona di faglia compresa tra  $2.9 \cdot 10^{-6}$  e  $3.5 \cdot 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . Valori, questi, leggermente più elevati di quelli determinati nei depositi flyschoidi che costituiscono il semipermeabile di bordo di alcuni acquiferi carbonatici dell'Appennino meridionale (in media  $7.5 \cdot 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ ). Al contrario, nelle parti sommitali dell'acquifero carbonatico la conducibilità idraulica del mezzo è risultata troppo elevata per mettere in pressione il sistema e determinarne il valore, iniettando una portata di  $40 \text{ l min}^{-1} \text{ m}^{-1}$ .

La prova di emungimento ha indotto un abbassamento di 1.25 metri nel Pz2 e di 0.52 metri nel Pz1, a testimonianza di una buona interconnessione tra le fratture alla scala di osservazione. La trasmissività è risultata pari a  $2.0 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , mentre il coefficiente di immagazzinamento è risultato pari a  $2.3 \cdot 10^{-3}$ .

## INQUINAMENTO MICROBIOLOGICO E VULNERABILITÀ ALL'INQUINAMENTO

Il pascolo di bestiame e lo spargimento di concime organico generano un significativo, ma discontinuo inquinamento microbiologico delle acque sotterranee, la cui distribuzione temporale è strettamente connessa con il regime delle precipitazioni (Fig. 4). Infatti la presenza di diversi picchi di contaminazione è strettamente legata alle precipitazioni che generano infiltrazione efficace. In molti casi, i campioni d'acqua risultano contaminati da enterococchi fecali, ma non da coliformi fecali.

I risultati dell'attività sperimentale sono stati messi a confronto con le categorie di vulnerabilità all'inquinamento dedotte mediante l'applicazione del DRASTIC (ALLER *et alii*, 1987) e del DAC (CELICO, 1996), al fine di verificarne il grado di attendibilità, con particolare riferimento alla predizione di fenomeni di inquinamento microbiologico (CELICO & NACLERIO, 2005; CELICO *et alii*, 2006a, 2006b). La carta di vulnerabilità ottenuta mediante l'applicazione del DRASTIC ha mostrato pessime relazioni con i risultati sperimentali. Infatti, è stato determinato un grado di vulnerabilità generalmente oscillante da basso e medio, nonostante il più o meno elevato tasso di contaminazione riscontrata. La carta di vulnerabilità ottenuta mediante il DAC ha mostrato, invece, ottime correlazioni (CELICO & NACLERIO, 2005;

998 meters a.s.l. Taking into consideration the progressive decrease in discharge of the spring during recession, this increase in velocity suggests a decrease in effective porosity of the carbonate medium with depth. The lower interconnected void space can also explain the higher groundwater level rises which were observed, in recharge, in the deeper portions of the bedrock. The high effective porosity in the uppermost portion of the carbonate substratum was confirmed by detection of karst conduits within the first 4 meters of limestones below the topsoil. In more detail, both circular and elliptical openings were detected having a minimum diameter of 0.01 meters up to a maximum diameter of 0.1 meters in the test borehole (LB in Fig. 1).

The Lugeon tests carried out in boreholes B1, B2 and B3 (Fig. 1) suggest an hydraulic conductivity in a fault zone of  $2.9 \cdot 10^{-6}$  to  $3.5 \cdot 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . These values are slightly higher than those (average hydraulic conductivity of  $7.5 \cdot 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ ) determined by carrying out Lugeon tests in the flysch deposits which represent the regional aquiclude of several carbonate aquifers in Southern Apennines. On the contrary, in the uppermost portion of the bedrock in the test site, the permeability of rock mass was too high to determine the hydraulic conductivity. The rock mass absorbed  $40 \text{ l min}^{-1} \text{ m}^{-1}$  and the water acceptance exceeded capacity of test system. No pressure was recorded on the manometer.

Pumping caused 1.25 meters of drawdown in Pz2 and 0.52 meters in Pz1. The water level fluctuations in Pz2 in response to pumping show that the limestone aquifer is laterally and vertically well connected in the subsurface. It was calculated a transmissivity of  $2.0 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  and a storage coefficient of  $2.3 \cdot 10^{-3}$ .

## MICROBIAL CONTAMINATION AND VULNERABILITY TO POLLUTION

Cattle grazing and manure spreading produced a significant but discontinuous microbial contamination of spring water in the carbonate aquifers. Time dependence of pollution was strongly conditioned by distribution of precipitation versus time (Fig. 4). In fact, the existence of several peaks in bacterial contamination is well correlated with the sequence of different precipitation events which allow for a significant effective infiltration. In many cases, no fecal coliforms were detected in contaminated spring water samples (more than 1 CFU/100ml of fecal enterococci).

Groundwater quality data were compared with vulnerability categories produced by both DRASTIC (ALLER *et alii*, 1987) and DAC (CELICO, 1996) to verify effectiveness of the latest methodology as a predictor of microbial contamination in extensively fractured and subordinately karstified carbonate aquifers (CELICO & NACLERIO, 2005; CELICO *et alii*, 2006a, 2006b). The vulnerability map, obtainable through the application of DRASTIC, had poor correlation with microbial contamination data. In fact, it assesses a vulnerability generally ranging from low to medium while significant microbial contamination was often detected at springs (up to several hundreds CFU/100 ml). The vulnerability map obtained by

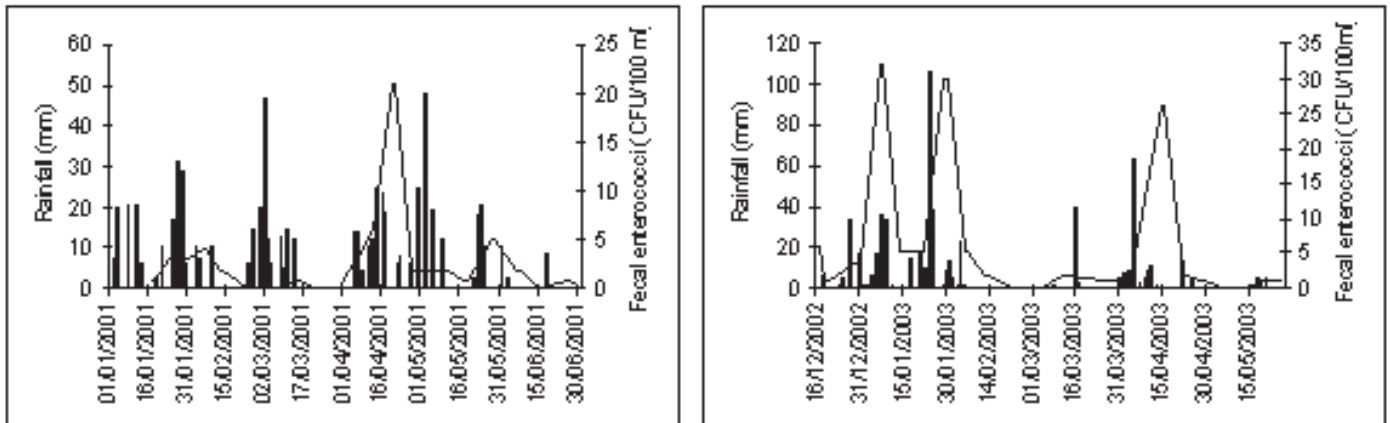


Fig. 4 - Esempio di variazione temporale della contaminazione microbica di una delle sorgenti studiate  
 - Example of variation of microbial contamination over time at a spring in the study site

CELICO *et alii*, 2006a, 2006b). I risultati di tale confronto hanno dimostrato che le carte di vulnerabilità ottenute mediante l'applicazione del DAC sono efficaci nel mostrare l'elevata e diversificata influenza che i fenomeni di infiltrazione concentrata di acque superficiali rivestono nei processi di contaminazione degli acquiferi carbonatici.

Il confronto di cui sopra è stato effettuato utilizzando gli enterococchi fecali, in quanto migliori indicatori di contaminazione fecale rispetto ai coliformi fecali, nelle aree di studio, in cui i carbonati sono sottoposti a suoli di origine piroclastica ed i cicli gelo-disgelo sottopongono a ripetuti stress i microrganismi in periodo invernale (CELICO *et alii*, 2004b; ALLOCCA *et alii*, 2006).

**CRITERI DI SALVAGUARDIA**

I caratteri idrogeologici delle aree oggetto di studio e le principali attività antropiche in esse sviluppate richiedono la messa a punto di criteri e soluzioni di salvaguardia ad hoc, ad integrazione di quanto riportato nel D.L. 152/99.

Le misure integrative possono essere sintetizzate come segue: (a) introduzione di nuove aree di salvaguardia, (b) identificazione dei criteri per la delimitazione delle aree di rispetto, (c) introduzione del concetto di "aree di salvaguardia ad evoluzione progressiva", (d) utilizzo di misure di protezione "dinamica", nei casi in cui sussistono già attività antropiche ritenute incompatibili con le esigenze di protezione.

Nuove aree di salvaguardia devono essere configurate al contorno di inghiottitoi e zone di assorbimento concentrato di acque superficiali (zone di tutela assoluta) ed all'interno di aree totalmente o parzialmente endoreiche (zone di rispetto lontane o zone di protezione complessa *sensu* CELICO, 1998), al fine di valutare correttamente l'incidenza dei fenomeni di interazione tra acque superficiali e sotterranee. Le zone di rispetto lontane (caratterizzate da maggiori restrizioni) comprendono le aree endoreiche in cui le acque superficiali si infiltrano (a) in un inghiottitoio e/o (b) attraverso un filtro litologico molto permeabile e/o (c) laddove sussista una non significativa dilui-

DAC methodology had good correlation with groundwater quality data (CELICO & NACLERIO, 2005; CELICO *et alii*, 2006a, 2006b). The results of this correlation demonstrate that the vulnerability map obtained by DAC is effective in showing the higher influence of concentrated infiltration of surface water in karst areas on groundwater pollution potential.

Comparison has been obtained by using fecal enterococci which represent an indicator better than fecal coliforms in study areas (CELICO *et alii*, 2004b; ALLOCCA *et alii*, 2006) where limestone underlies topsoils of pyroclastic origin and bacteria are stressed by freezing and freeze-thaw intervals.

**PROTECTION MEASURES**

Hydrogeological features of carbonate aquifers and their main anthropic uses within the Apennines require the identification of protecting criteria which must be integrated to those introduced by Italian Law (D.L. 152/99) in order to prevent groundwater pollution in carbonate aquifers. Since grazing and manure spreading represent the main land use activities, the research has been focused on microbial contamination of water resources.

Integrative measures can be synthesized as follows: (a) introduction of new protection zones, (b) identification of criteria for delimiting zones IIa, (c) introduction of concept of "developing protection zones" and (d) use of "dynamic" protecting measures when polluting human activities are already existent within protection zones.

New protection zones have to be introduced in swallow hole areas (zones Ib) and within endorheic basins and catchment areas of streams which feed a carbonate aquifer (zones IIb and IIIb) in order to correctly evaluate role of surface – groundwater interaction on transport of contaminants into the aquifer. Zones IIb (characterized by more restrictions) comprise those areas where surface runoff infiltrates in the subsurface (a) in a swallow hole and / or (b) through a high permeability medium as well as areas where there is not a significant dilution of surface water into groundwater. On the contrary,

zione in falda delle acque superficiali. Al contrario, le zone di protezione complessa (caratterizzate da minori restrizioni) comprendono le aree endoreiche in cui le acque di infiltrazione secondaria si infiltrano (a) attraverso un filtro poco permeabile e/o (b) laddove sussista una significativa diluizione in falda delle acque superficiali.

Quale criterio di delimitazione delle zone di rispetto è stato prescelto il criterio del tempo di trasferimento, tenendo conto del fatto che i microrganismi hanno un tempo di persistenza, in falda, oltre il quale non risultano più vitali. Tuttavia, tenendo conto delle elevate velocità di deflusso delle acque sotterranee negli acquiferi in esame, si ritiene necessario diversificare il valore delle isocrone a seconda della destinazione d'uso delle risorse. Ciò al fine di evitare o minimizzare sovradimensionamenti delle aree di salvaguardia, a discapito dello sviluppo socio-economico dei luoghi coinvolti. In pratica, minore è il grado di trattamento delle acque consentito, più estesa sarà la zona di rispetto. Quindi, dato un acquifero, l'estensione della zona di rispetto sarà la più ampia possibile in caso di uso per imbottigliamento, vista l'impossibilità di trattare le acque captate. Nei casi in cui già sussistono attività antropiche inquinanti in prossimità delle opere di captazione, le aree di salvaguardia saranno definite "ad evoluzione progressiva" e la piena efficacia dell'intervento sarà garantito da soluzioni integrative mirate ad escludere o minimizzare, dalla captazione, i circuiti idrici maggiormente soggetti ad inquinamento. Nel frattempo, si procederà ad una progressiva rimozione delle attività antropiche indesiderate dal perimetro della zona di rispetto medesima.

I criteri di salvaguardia proposti in questa sede possono essere agevolmente adattati ed utilizzati in altri contesti idrogeologici in cui vi sia la partecipazione attiva di acque superficiali all'idrodinamica sotterranea.

## OPERE CITATE / REFERENCES

- ALLER, L., BENNET T., LEHER J.H., PETTY R.J. & HACKETT G. (1987) - *DRASTIC: A Standardized System for Evaluating Ground Water Pollution Potential Using Hydrogeological Settings*. EPA/600/2-85/018, Washington D.C.
- ALLOCCA V., CELICO F., PETRELLA E., MARZULLO G. & NACLERIO G. (2006) - *The role of land use and environmental factors on microbial pollution of mountainous karst aquifers*. Environmental Geology, in corso di stampa.
- ASTM International D854-83 (1983) - *Standard Test Methods for Specific Gravity of Soil Solids by Water Picnometer*.
- ASTM International D2217-85 (1985) - *Standard Practice for Wet Preparation of Soil Samples for Particle Size Analysis and Determination of Soil Gustants*.
- ASTM International D2974-87 (1987) - *Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Plat and Other Organic Soils*.
- ASTM International D422-63 (2002) - *Standard Test Methods for Particle-Size Analysis of Soils*.
- BIONDIC B., BIONDIC R. & DUKARIC F. (1998) - *Protection of karst aquifers in the Dinarides in Croatia*. Environmental Geology, **34**:309-319.
- CELICO F. (1996) - *Vulnerabilità all'Inquinamento degli Acquiferi e delle Risorse Idriche Sotterranee in Realtà Idrogeologiche Complesse: i Metodi DAC e VIR*. Quaderni di Geologia Applicata, **1**:93-116.
- CELICO F. (1998) - *La protezione degli acquiferi dall'inquinamento: aree di salvaguardia, vincoli territoriali, soluzioni complesse e interventi in scenari dinamici*. Quaderni di Geologia Applicata, **1**:59-73.
- CELICO F., CELICO P., DE VITA P. & PISCOPO V. (2000) - *Groundwater flow and protection in the Southern Apennines (Italy)*. Hydrogeology, **4**: 39-47.
- CELICO F., MUSILLI I. & NACLERIO G. (2004a) - *The impact of pasture and manure spreading on microbial groundwater quality in carbonate aquifers*. Environmental Geology, **46**: 233-236.
- CELICO F., VARCAMONTI M., GUIDA M. & NACLERIO G. (2004b) - *Influence of precipitation and soil on transport of fecal enterococci in limestone aquifers*. Applied and Environmental Microbiology, **70**: 2843-2847.

zones IIIb (characterized by less restrictions) comprise those areas where surface runoff infiltrates in the subsurface through a low permeability medium as well as areas where there is a significant dilution of surface water into groundwater.

Since no technical solutions are given by the Law, it was chosen the travel time criterion for delimiting zones IIa, taking into account persistence of bacteria into aquatic environments. Nevertheless, due to the high flow and transport velocities within the studied aquifers, the choice of travel time which must be used for delimiting the boundaries of zones IIa should be diversified as a function of water destination. This to avoid delimitation of overextended protection zones which negatively influence the socio-economic needs of an area. The lower the water treatment allowed, the wider the zones IIa have to become. Given an aquifer, the widest extension must be used for bottling mineral water because no treatments are allowed. On the other hand, when there are polluting human activities in the hinterland of groundwater capture, the immediate effectiveness of protecting measures can be obtained by using "developing protection zones". These zones must be integrated with technical measures which minimize capture of polluted groundwater. Within these zones it is necessary to work towards a gradual introduction and extension of non-polluting or low-pollution technologies. These integrative technical measures will minimize capture of polluted groundwater. They have been defined as "dynamic measures" because they correspond to groundwater management solutions and / or capturing criteria.

The protection criteria here synthesized can be easily adapted to other kinds of aquifers with emphasis on those characterized by a significant interaction between surface and groundwater.



## PROTECTION OF CARBONATE AQUIFERS AGAINST MICROBIAL POLLUTION

- CELICO F. & NACLERIO G. (2005) - *Verification of a DRASTIC-based method for limestone aquifers*. Water International, **30**: 530-537.
- CELICO F., PETRELLA E. & NACLERIO G. (2006a) – *Updating of a DRASTIC-based method for vulnerability assessment in carbonate aquifers*. Water International, in corso di stampa.
- CELICO F., PETRELLA E. & NACLERIO G. (2006b) – *DAC: a vulnerability assessing methodology for carbonate aquifers, validated by field and laboratory experiments*. IAH book of Selected papers on “Groundwater Vulnerability Assessment and Mapping”, Balkema, in corso di stampa.
- CELICO F., PETRELLA E. & CELICO P. (2006c) – *Hydrogeological behavior of some fault zones in a carbonate aquifer of Southern Italy: an experimental-based model*. Terra Nova, **18**: 308-313.
- CELICO P. (1983a) - *Idrogeologia dei massicci carbonatici, delle piane quaternarie e delle aree vulcaniche dell'Italia centro-meridionale (Marche e Lazio meridionali, Abruzzo, Molise e Campania)*. Quaderni CASMEZ, Roma, 4/2.
- CELICO P. (1983b) - *Le risorse idriche sotterranee dell'Appennino carbonatico centro-meridionale*. Idrotecnica, **1**: 3-18.
- SKINNER A.C. (1985) - *Groundwater protection in fissured rocks*. In: Theoretical background, hydrogeology and practice of groundwater protection zones, I.A.H., Heise, Hannover: 123-143.

*Received April 2006 - Accepted January 2008*