

INQUINAMENTO

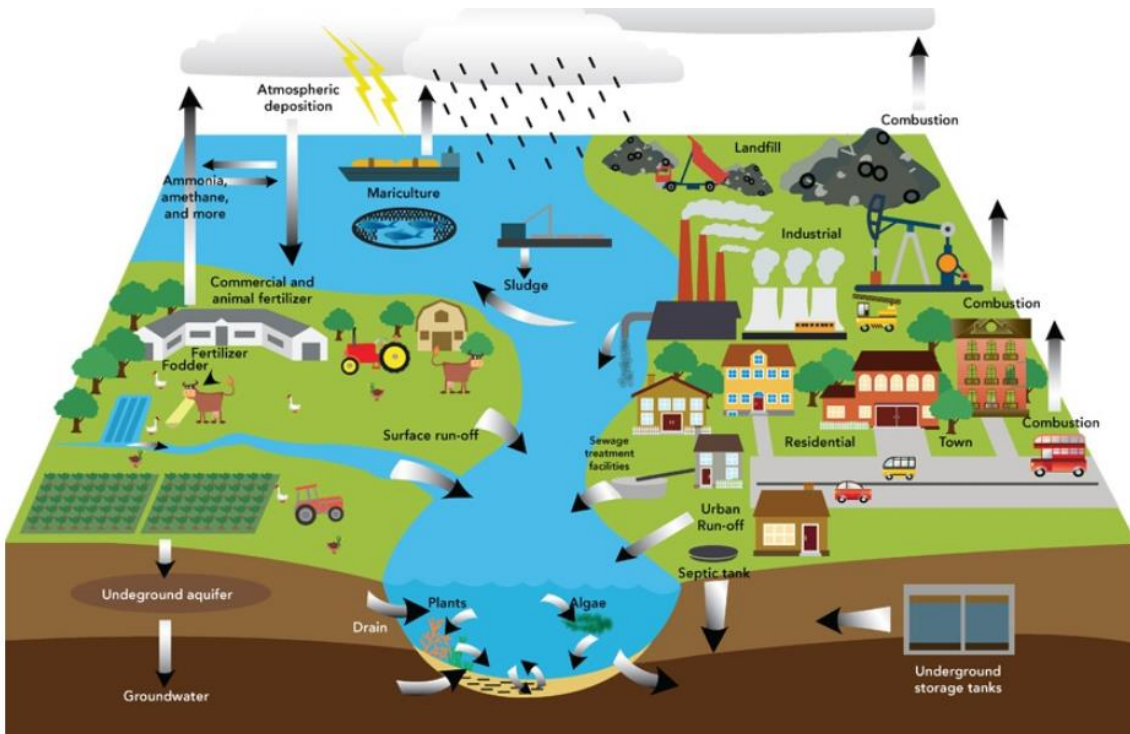
Introduzione di elementi, sostanze o energia nell'ambiente in quantità tali da compromettere la salute umana o la funzionalità degli ecosistemi.



Effetti deleteri sul funzionamento dei cicli biogeochimici, erosione della biodiversità



ripercussioni sull'intera biosfera.



Articolo 452 bis del Codice Penale

... reato di inquinamento ambientale, ovvero chiunque determini in modo abusivo una compromissione o un deterioramento significativi e misurabili delle acque o dell'aria, o di porzioni estese o significative del suolo o del sottosuolo, di un ecosistema, della biodiversità, anche agraria, della flora o della fauna.

La **gravità degli effetti sugli ecosistemi** giustifica le azioni contro l'inquinamento ambientale a livello locale, regionale, nazionale e internazionale.

Fonti di inquinamento

- Attività estrattive
- Attività industriali
- Attività agricole
- Impianti riscaldamento,
- Inceneritori
- Traffico veicolare
- ...

Forme di inquinamento

Una forma di inquinamento particolarmente importante è rappresentata dallo sversamento nel suolo o negli acquiferi, accidentale o volontario, di sostanze di origine petrolifera e solventi organici.

Un'altra forma emergente di inquinamento è rappresentata dalle microplastiche che si stanno accumulando nell'ambiente.

...

Secondo l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), in Italia sono stati individuati **12.482 siti contaminati** (aree territoriali a forte rischio sanitario).

Tipi di interventi sui siti contaminati

- Confinamento dell'area contaminata;
- Escavazione del materiale contaminato e trasporto in discarica dedicata;
- **Stabilizzazione** chimica dell'inquinante in forma meno mobile o meno tossica nella matrice;
- **Estrazione** dell'inquinante dalla matrice interessata e trattamento chimico, chimico-fisico o biologico;
- **(Bio)degradazione** dell'inquinante direttamente nella matrice.

- **Trattamento *in situ***

Intervento sulla matrice contaminata (suolo, acqua) senza necessità di escavazione o estrazione.

- **Trattamento *ex situ***

Rimozione della matrice contaminata e trattamento nello stesso sito (***on-site***) o presso impianti specifici (***off-site***).



- Miglior controllo ed ottimizzazione dei processi di decontaminazione



- Costi più contenuti
- Minori alterazioni del sito

Siti contaminati

Territori in cui le **attività umane** hanno determinato un'alterazione delle caratteristiche qualitative ambientali (suolo, sottosuolo e acque) tale da rappresentare un rischio per la salute umana.



Trattamenti di bonifica

I siti contaminati (suolo insaturo, suolo saturo, acqua di falda) possono essere sottoposti a trattamenti di bonifica di tipo fisico, chimico e biologico.

Trattamenti fisici

Termici, di solidificazione, estrazione con vapore, lavaggio.

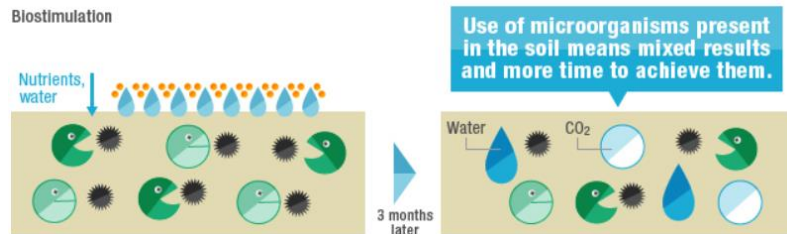
Trattamenti chimici

Impiego reagenti per reazioni di ossidazione, riduzione, idrolisi, dechlorurazione, polimerizzazione ossidativa, complessazione/precipitazione dell'inquinante.

Trattamenti biologici

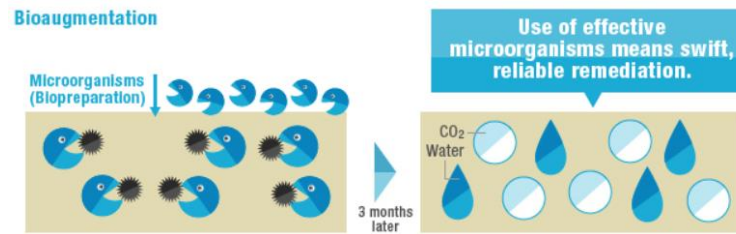
Impiego di organismi viventi (batteri, funghi, piante).

Trasformazione, degradazione parziale o completa (mineralizzazione) del contaminante.



Biostimulation

Aggiunta sostanze che stimolino l'attività degradativa dei **microrganismi già presenti** nella matrice da trattare (nutrienti, accettori/donatori di elettroni, cofattori, ...).



Bioaugmentation

Aggiunta di **ceppi microbici selezionati**, capaci di trasformare o degradare l'inquinante.

Per l'impiego di microrganismi (**batteri**, **funghi**) è necessario prevedere interventi e strutture che ottimizzino le condizioni ambientali per favorire l'attività microbica.

TRATTAMENTI BIOLOGICI I microrganismi sono elementi chiave nel disinquinamento dell'ambiente.

Per l'elevata variabilità genetica e l'elevata diversità metabolica, espresse in diverse condizioni ambientali, anche estreme, i microrganismi possono degradare quasi tutti gli inquinanti naturali e molte sostanze xenobiotiche, quando è concesso un tempo di esposizione sufficiente.

La variabilità genetica è correlata ai trasferimenti genici orizzontali che consentono la diffusione di geni catabolici spesso localizzati su plasmidi o elementi trasponibili. Questi elementi possono esistere sotto forma di plasmidi (lineari o circolari) o integrati nel cromosoma.

I meccanismi coinvolti sono diversi: biodegradazione, biotrasformazione, cometabolismo, sintrofia, bioaccumulo, bioimmobilizzazione e bioleaching.

Vantaggi dei trattamenti biologici

- Costi di intervento più contenuti
- Elevata compatibilità ambientale

Non vengono utilizzate sostanze chimiche particolarmente pericolose/tossiche (solventi, catalizzatori, ...) o trattamenti fisici drastici (alte temperature, alte pressioni, ...).

Spesso si può intervenire favorendo l'attività microbica di microrganismi autoctoni e con trattamenti direttamente *in situ*.

Campi di impiego dei trattamenti biologici

Contaminazione da sostanze organiche.



- Idrocarburi alifatici ed aromatici;
- Solventi clorurati.

Limiti

Alcune forme di contaminazione sono più difficili da trattare per via biologica.



Contaminazione sostanze inorganiche (metalli).

Per valutare la potenziale applicazione di un trattamento biologico è necessario procedere ad una iniziale **caratterizzazione del sito:**

- Struttura geologica ed idrologica
- Caratteristiche chimico-fisiche e biologiche
- Quantificazione dei contaminanti
- Distribuzione spaziale dei contaminanti
- ...



Caratterizzazione comunità microbica



Definire le **potenzialità cataboliche** della **comunità microbica autoctona** nei confronti dei contaminanti.



Indagando la capacità di degradazione o mineralizzazione dei contaminanti ed i possibili fattori ambientali che possono influenzare tale attività.

Questi studi consentono di

- Valutare se nel sito contaminato è presente una **comunità microbica attiva**;
- Isolare **ceppi microbici specifici** responsabili dei processi degradativi.

La caratterizzazione biologica consente, inoltre, la comprensione delle diverse reazioni biodegradative, della fisiologia e dei fattori ambientali che possono ottimizzare la crescita dei microrganismi attivi.

Non sempre, tuttavia, i risultati ottenuti in laboratorio sono sovrapponibili a quelli ottenuti *in situ*.



Non è detto che i ceppi isolati siano quelli che effettivamente sono in grado di degradare il contaminante *in situ*; inoltre, solo una piccola frazione della popolazione microbica del sito contaminato è coltivabile.

Informazioni utili sulle comunità microbiche, indipendentemente dalla coltivabilità dei suoi componenti, possono essere ottenute da studi ottenuti applicando **tecniche molecolari**.



Biorisanamento degli inquinanti organici IDROCARBURI

Da lungo tempo i microrganismi sono venuti a contatto con miscele complesse di idrocarburi, sviluppando processi metabolici (enzimi) in grado di degradarli.

Essential elements as a percent of cell dry weight



Il petrolio, per i microrganismi in grado di degradarlo, costituisce una **fonte di carbonio e di energia**.

A causa di **fattori limitanti** fisici o nutrizionali (ridotte quantità di ossigeno, azoto, fosforo, ...), in molti casi i microrganismi non sono in grado di degradare la sostanza inquinante alla velocità desiderata.

Gli idrocarburi sono **composti organici** che possono essere **degradati completamente** dai microrganismi.



Respirazione aerobica → CO_2 .

Con l'aumento della popolazione e l'ammodernamento della società, l'inquinamento ambientale da idrocarburi del petrolio è aumentato, determinando un'urgente necessità di procedere ad interventi di bonifica.

Più difficile risulta la degradazione di molte **sostanze xenobiotiche**, anche se di natura organica.



Dato il breve periodo di esposizione, i microrganismi non sono ancora riusciti a sviluppare enzimi o percorsi metabolici capaci di degradare completamente o in tempi ragionevoli, queste sostanze (persistenti).

Intervenire stimolando l'attività degradativa dei microrganismi, apportando le sostanze necessarie o modificando l'ambiente.



Biorisanamento (bioremediation)

Il **petrolio** è un'**importante risorsa** per tutti i paesi: le attività antropiche per il loro fabbisogno energetico dipendono da questa risorsa, il che fa prosperare l'industria petrolchimica.

Tuttavia, l'**uso del petrolio spesso è causa di gravi danni ambientali**.

Durante l'**estrazione** dai giacimenti, lo **stoccaggio**, il **trasporto**, la **raffinazione** e la **lavorazione** si verificano spesso **fuoriuscite accidentali di petrolio o derivati**. In caso di grandi sversamenti, gli idrocarburi dovrebbero essere recuperati o eliminati nella misura più ampia possibile. In molti casi è difficile recuperare i materiali fuoriusciti, con il risultato che rimangono nell'area interessata, con gravi e persistenti rischi per l'ambiente.

Basilicata, arrestato responsabile centro oli di Viggiano per sversamento di petrolio. Indagati in 13, anche la società



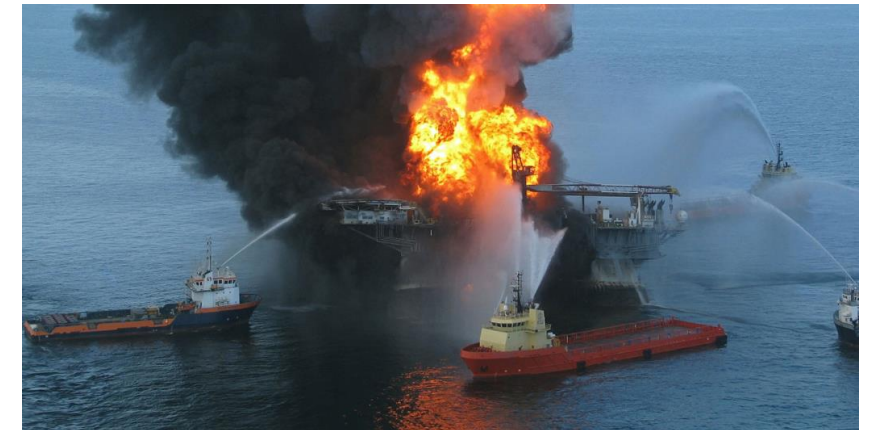
20-04-2010 – Golfo del Messico – Piattaforma petrolifera Deepwater Horizon: dopo l'incendio e con lo sprofondamento della piattaforma, le valvole di sicurezza presenti all'imboccatura del pozzo sul fondale marino non funzionarono correttamente.



il petrolio greggio (milioni di barili), spinto dalla pressione del giacimento petrolifero, iniziò ad uscire senza controllo, risalendo (in parte) in superficie per la minore densità rispetto all'acqua.



12-08-2020 - Mauritius - Una petroliera si è incagliata nella barriera corallina riversando in mare ingenti quantità di petrolio.



In presenza di aria ed umidità, il petrolio (idrocarburi) rappresenta un substrato utilizzabile da parte di diversi microrganismi.



La **proliferazione di microrganismi** all'interno dei serbatoi o delle condotte è un evento indesiderato in quanto causa di diversi problemi.

Il principale problema microbiologico nell'industria della raffinazione del petrolio è la contaminazione dei **prodotti stoccati**:

- **perdita di qualità del prodotto,**
- **formazione di fanghi,**
- **deterioramento delle tubazioni e dei serbatoi di stoccaggio.**

Il diesel risulta essere il carburante che presenta maggiori problemi microbiologici.

Diversamente, in caso di **sversamento accidentale**, la capacità di degradare gli idrocarburi da parte dei microrganismi può rappresentare un utile **strumento per il risanamento ambientale**.

Per aumentare l'efficienza di biodegradazione degli idrocarburi da parte dei microrganismi, spesso, è necessario aggiungere **nutrienti inorganici** per bilanciare le grandi quantità di carbonio organico disponibile.

C:N:P = 100:10:1



Come fonte di energia primaria

L'aggiunta di **sostanze organica facilmente metabolizzabile** (glucosio) facilita la biodegradazione di **sostanze recalcitranti** che i microrganismi, normalmente, non riescono ad utilizzare come fonte di carbonio o di energia.



Cometabolismo

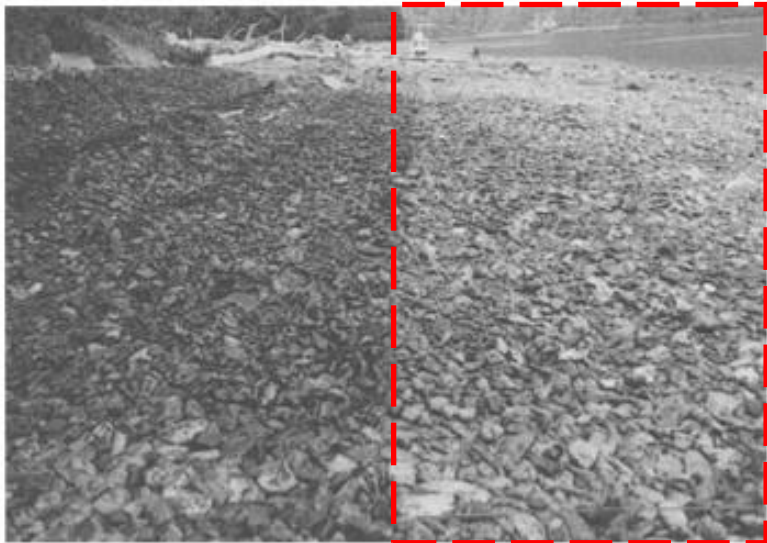


Il 24 marzo 1989, la superpetroliera Exxon Valdez si incagliò in una un'insenatura del golfo dell'Alaska, disperdendo in mare 40,9 milioni di litri di petrolio. In pochi giorni la marea nera interessò quasi 2.000 km di costa.



La fuoriuscita di petrolio dalla Exxon Valdez è stata una delle prime occasioni per sperimentare la **bioremediation**.

Per favorire la biodegradazione del petrolio fuoriuscito dalla petroliera vennero utilizzati diversi metodi: **aggiunta di nutrienti, sostanze chimiche disperdenti, biosurfattanti, vapore ad alta pressione, glicopeptidi ad azione emulsionante** di derivazione microbica.



La degradazione del petrolio da parte della **microflora autoctona** sulle spiagge dello Stretto di Prince William (Alaska) venne accelerata dall'**aggiunta di fertilizzanti** direttamente sulle spiagge contaminate.

Effetto visivo dell'applicazione del fertilizzante nella rimozione del petrolio dai lotti sperimentali a Snug Harbour (Knight Island), Prince William Sound. L'area trattata con fertilizzante è mostrata nel riquadro destro della foto.

Pritchard *et al.* 1992. Oil spill bioremediation: experiences, lessons and results from the Exxon Valdez oil spill in Alaska. *Biodegradation* 3, 315–335.

Circa 10-14 giorni dopo l'applicazione di un fertilizzante oleofilo, la **riduzione della quantità di petrolio** sulle superfici rocciose era visivamente ben evidente.

Le **osservazioni aeree** mettevano in risalto il contrasto tra un rettangolo della spiaggia «pulito» (area in cui era stato applicato il fertilizzante) e le aree circostanti ancora contaminate (non trattate).

Il contrasto era ben evidente anche a livello del suolo: c'era una precisa demarcazione tra aree trattate con fertilizzanti e aree non trattate: le aree di controllo (non trattate) apparivano visivamente ancora contaminate.

La rimozione del petrolio fuoriuscito dalla Exxon Valdez, attraverso un **approccio basato sul biorisanamento**, ha messo in evidenza successi e problemi legati all'applicazione di questa tecnologia.

Studi sul campo condotti dall'Agenzia per la Protezione Ambientale degli Stati Uniti hanno confermato che la degradazione del petrolio, da parte della microflora autoctona delle spiagge dello Stretto di Prince William è stata accelerata dall'aggiunta di fertilizzante direttamente *in situ*.

Ogni anno **1.300.000 tonnellate di petrolio** pervengono nell'ambiente, principalmente per infiltrazioni naturali.



Il fatto che le spiagge non siano perennemente ricoperte di frammenti di catrame è dovuto all'attività dei microrganismi (*Alcanivorax*, *Cycloclasticus*, *Thalassolituus*, ...).

Essi possono degradare vari idrocarburi saturi a catena lineare ed a catena ramificata e persino idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

Oil spills: microorganisms to the rescue?. Nat Rev Microbiol 8, 462 (2010).

Tuttavia, **ingenti fuoriuscite di petrolio di origine antropica**, come l'incidente nel Golfo del Messico o i molti incidenti alle superpetroliere, possono sovraccaricare le comunità microbiche naturali, consentendo al petrolio di diffondersi ed arrecare notevoli problemi ambientali ed ecologici.

Il **rilascio lento di petrolio**, legato alle infiltrazioni, consente alle comunità microbiche locali di degradarlo quando perviene nel loro ambiente.



I batteri costituiscono un meccanismo naturale per la degradazione del petrolio nell'ambiente.



Esplosione petroliera Haven (Genova, 1991):
disastro ambientale e spiagge nere.



La biodegradazione degli idrocarburi può avvenire sia in ambiente aerobico che anaerobico.

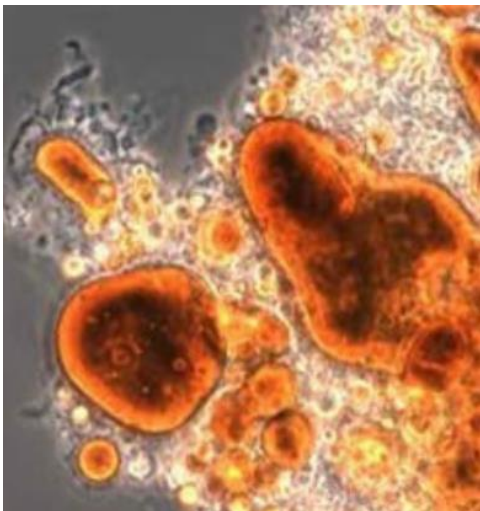
In **ambiente aerobico** è fondamentale il ruolo delle **ossigenasi**, enzimi che consentono l'introduzione di atomi di ossigeno nelle molecole degli idrocarburi.



Disponibilità di ossigeno

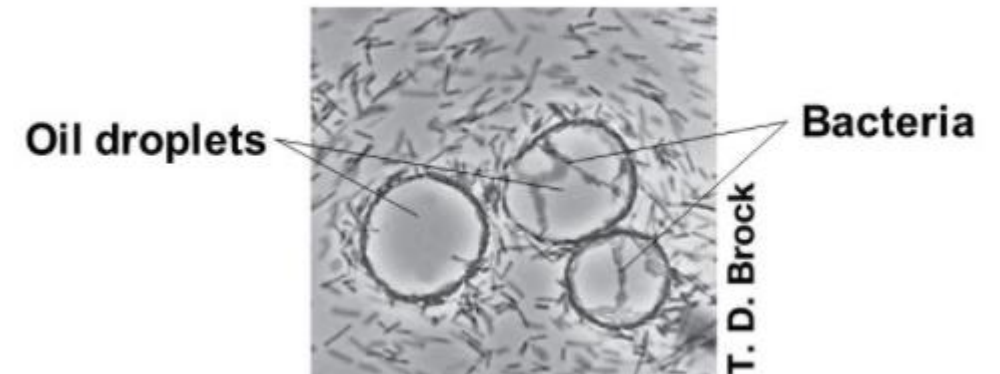
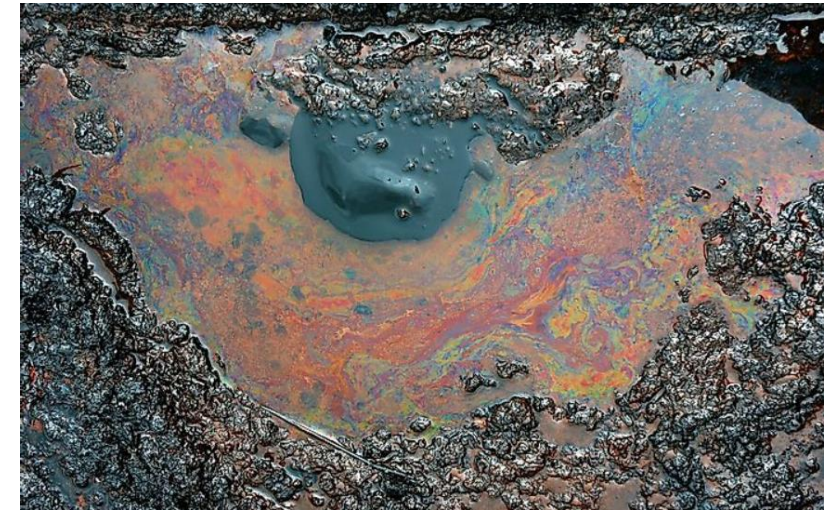
Consente di accelerare i processi di degradazione

I microrganismi (molti **batteri**, alcuni **funghi** e poche **alghe**), entrando in contatto con pellicole o chiazze di idrocarburi, possono avviare processi di ossidazione, la cui velocità dipende dalle **condizioni ambientali** (**temperatura**, **pH**, **concentrazioni di nutrienti**: N, P, ...).



Il petrolio, essendo insolubile e meno pesante dell'acqua, forma pellicole superficiali. All'interfaccia acqua-petrolio si addensano numerosi **batteri idrocarburo-ossidanti**.

I batteri non penetrano all'interno delle goccioline di petrolio.

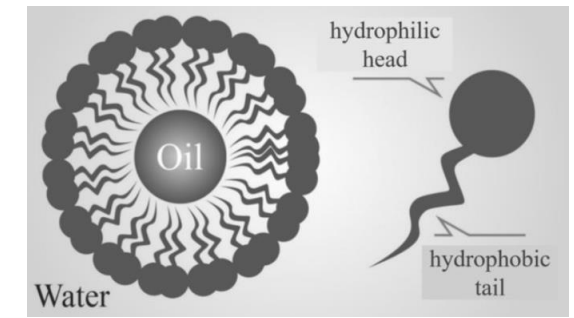


Per poter emulsionare e dissolvere le chiazze di petrolio, alcuni microrganismi producono **sostanze tensioattive**.



Aumento della superficie di interazione batterio-inquinante

Sostanze che hanno la proprietà di abbassare la tensione superficiale di un liquido, facilitando la **bagnabilità** delle superfici o la **miscibilità** tra liquidi diversi.



Il petrolio solubilizzato può più facilmente essere utilizzato come **fonte di energia** (donatore di elettroni) e **di carbonio**, con produzione di CO_2 .

Quando vengono riversate nell'ambiente grandi quantità di petrolio, gli **idrocarburi più volatili** non vanno incontro a biodegradazione in quanto evaporano rapidamente, mentre per la **componente non volatile** sono necessari interventi di rimozione.



Spiaggia contaminata lungo la costa dell'Alaska contenente petrolio dalla fuoriuscita di Exxon Valdez del 1989.

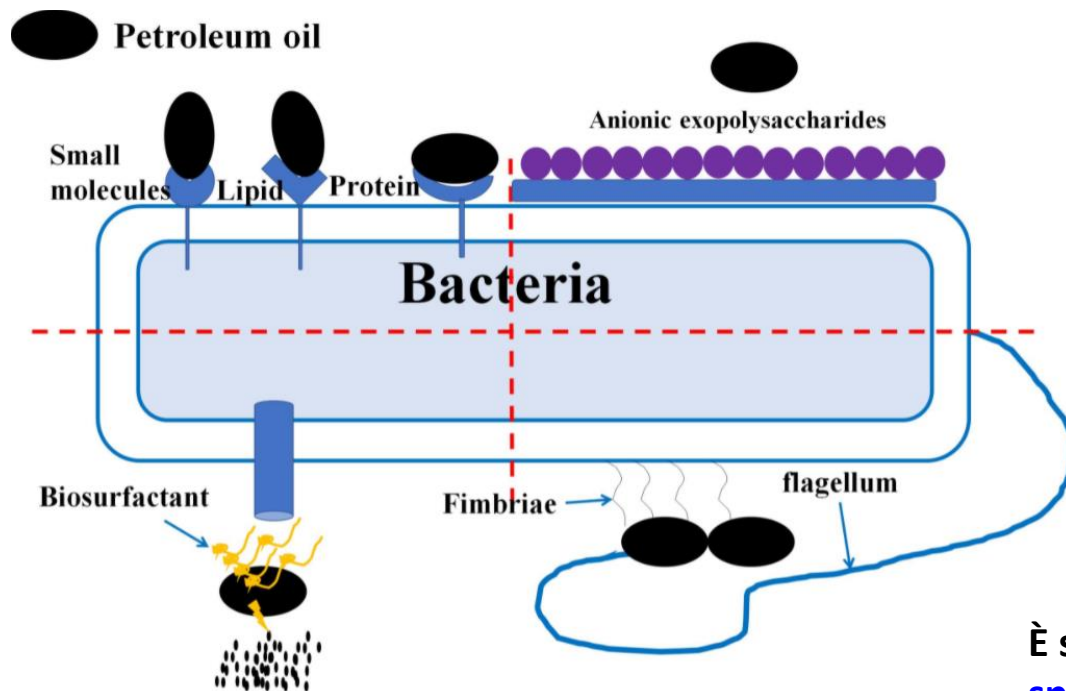


Area rettangolare della spiaggia (freccia) trattata con **nutrienti inorganici** per stimolare il biorisanamento da parte di microrganismi del petrolio fuoriuscito; le aree sopra ed a sinistra non sono state sottoposte a trattamenti.

In seguito all'**aggiunta di nutrienti**, i **microrganismi idrocarburo-ossidanti** si replicano più velocemente, arrivando ad ossidare fino all'80% della componente non volatile nell'arco di un anno.

Negli ambienti idrici, la frazione più recalcitrante (idrocarburi a catena ramificata ed IPA) raggiunge i sedimenti, dove permane per più tempo.

Sebbene, secondo una prospettiva umana, questi cambiamenti sembrano essere lenti, ecologicamente sono cambiamenti rapidi che mostrano che la risposta naturale è efficiente, specialmente in acque aperte.



Xu et al. (2018). Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 2885.

- Fimbriae or flagellum of bacteria attach to petroleum oil.
- Biosurfactants secreted by bacteria emulsify petroleum oil.
- Proteins, lipids and other small molecules on bacterial surface for adhering petroleum oil.
- Some anionic exopolysaccharides on bacterial surface prevent bacteria from attaching to petroleum oil.

Alcune proprietà della **superficie batterica** ed alcuni meccanismi di adesione sono essenziali per la biodegradazione degli idrocarburi idrofobici.

L'adesione delle cellule batteriche ad inquinanti idrofobici è correlata alla presenza di **fimbrie (idrofobiche)**, **flagelli**, **proteine** e **lipidi della membrana esterna**, nonché ad alcune **piccole molecole** presenti nelle superfici cellulari (gramicidina S, prodigiosina).

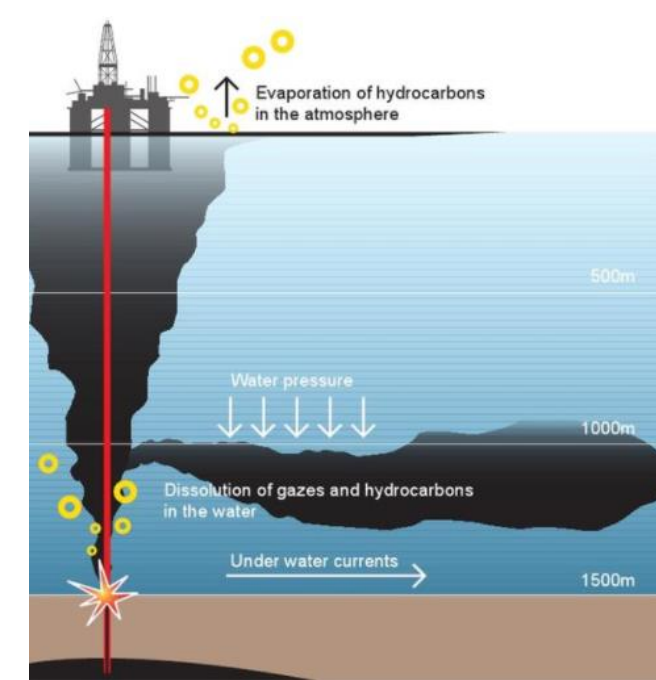
È stato osservato che le **fimbrie** presenti sulle superfici di *Acinetobacter* sp. **RAG-1** sono essenziali per la crescita su un alcano C₁₆.

Le **fimbrie** consentono l'adesione batterica a sostanze idrofobiche.



Utilizzo come fonte di carbonio o di energia per svolgere le attività metaboliche.

Nel 2010, un'esplosione sulla piattaforma petrolifera BP **Deepwater Horizon** ha causato il rilascio di circa 500 milioni di litri di petrolio nel Golfo del Messico. È stato il più grande sversamento di petrolio mai avvenuto nelle acque statunitensi e rappresenta, ancora oggi, uno dei maggiori disastri ambientali.



Il petrolio greggio, in seguito alla rottura della trivella, veniva immesso nel mare al fondo della colonna d'acqua. La rottura della trivella aveva determinato che anche le componenti a più basso peso molecolare, invece di evaporare, restassero intrappolate in profondità e disperse su lunghe distanze.



35% del greggio era costituito da **idrocarburi a più basso peso molecolare** (naftalene, etilbenzene, toluene, xilene) e gas naturali (metano, etano, propano).

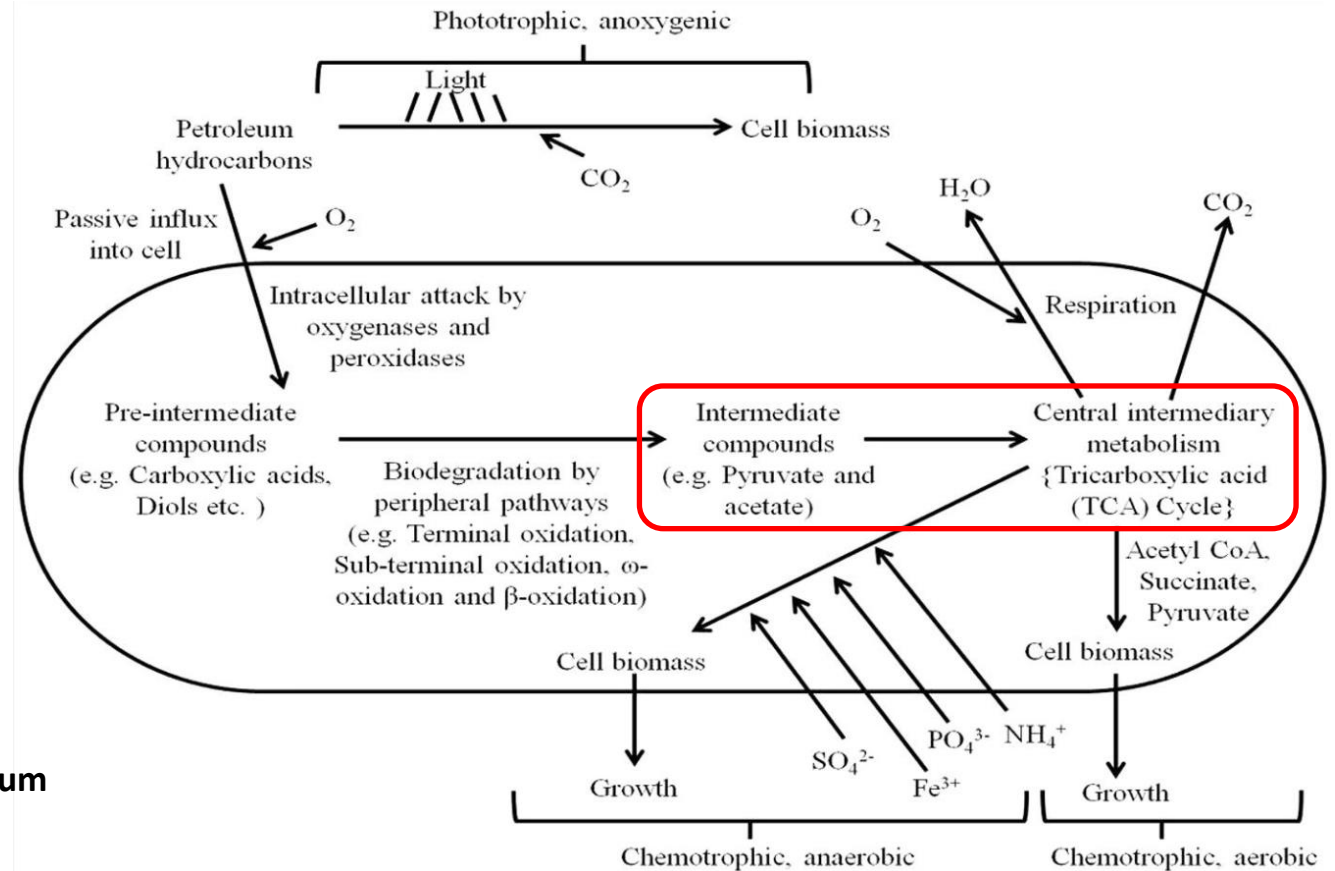
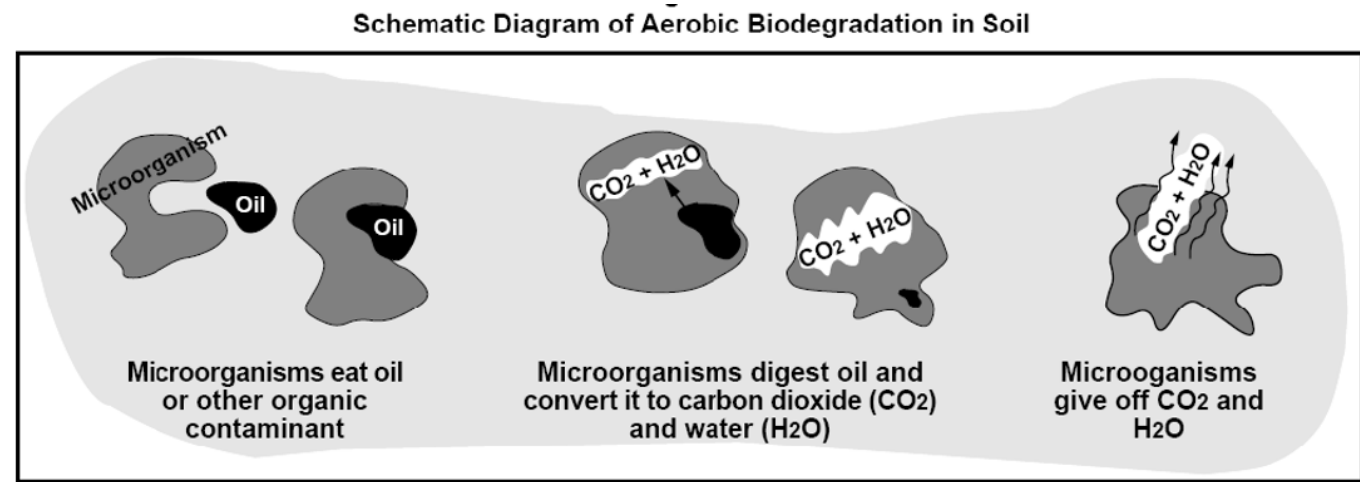


Accelerazione del processo di degradazione.

Al fine di favorire la dispersione del greggio, per aumentare la superficie e la biodisponibilità degli idrocarburi, nel pennacchio dello sversamento vennero iniettati migliaia di litri di **solventi chimici**.

La stimolazione di batteri capaci di trasformare gli idrocarburi in composti più facilmente degradabili (solubili ed a basso peso molecolare) ha contribuito ad attenuare l'impatto ambientale dello sversamento in mare. In particolare è stato riconosciuto il ruolo di batteri appartenenti ai generi *Colwellia*, *Cycloclasticus* ed ai generi del gruppo *Oceanospirillales*.

Esin (Eraydin) Erdogan and Ayten Karaca, 2011. Bioremediation of Crude Oil Polluted Soils. *Asian Journal of Biotechnology*, 3: 206-213.



Sunita J. Varjani (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223:277-286.

Interazione (micro)plastiche-microrganismi

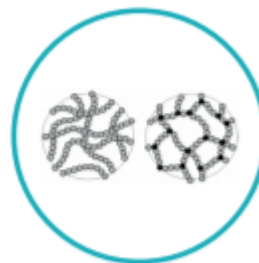
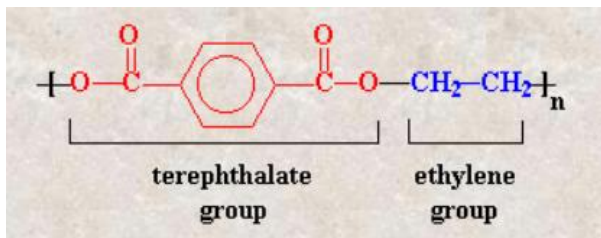
Plastica?

Materiale organico?
Materiale inorganico?

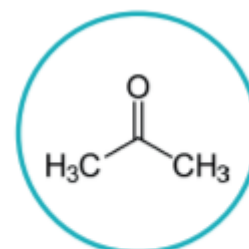
Naturale?
Non naturale?

La plastica non si trova in natura: viene sintetizzata a partire da risorse naturali (**gas**, **petrolio** e derivati).

Polietilen-tereftalato (PET) è il più abbondante materiale plastico lavorato nel mondo.



POLIMERO



ORGANICO



SINTETICO

Every year worldwide, more than 300 million tons of plastics are produced

HOW LONG UNTIL IT'S GONE?

Estimated decomposition rates of common marine debris items



Giulio Natta
premio Nobel
per la
chimica (1963)

In meno di un secolo di produzione, le plastiche sono diventate essenziali per la società moderna.

↑ versatilità di impiego
↓ costi di produzione

Lunghi tempi di persistenza nell'ambiente.



La plastica rappresenta una seria minaccia di inquinamento globale, soprattutto per gli ecosistemi marini.

Estimated individual item timelines depend on product composition and environmental conditions.

Source: NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration), US / Woods Hole Sea Grant, US
Graphics: Oliver Lohde / Museum für Gestaltung Zürich, 2018

La plastica rilasciata nell'ambiente lentamente si frammenta in minuscoli pezzi (micro e nano-plastiche).

Microplastiche (0,1–5.000 μm) e nanoplastiche (0,001 a 0,1 μm) possono agire da collettori di sostanze inquinanti altamente tossiche:

- policlorobifenili (PCB)
- idrocarburi policiclici aromatici (IPA)
- bisfenolo A (BPA)
- ...

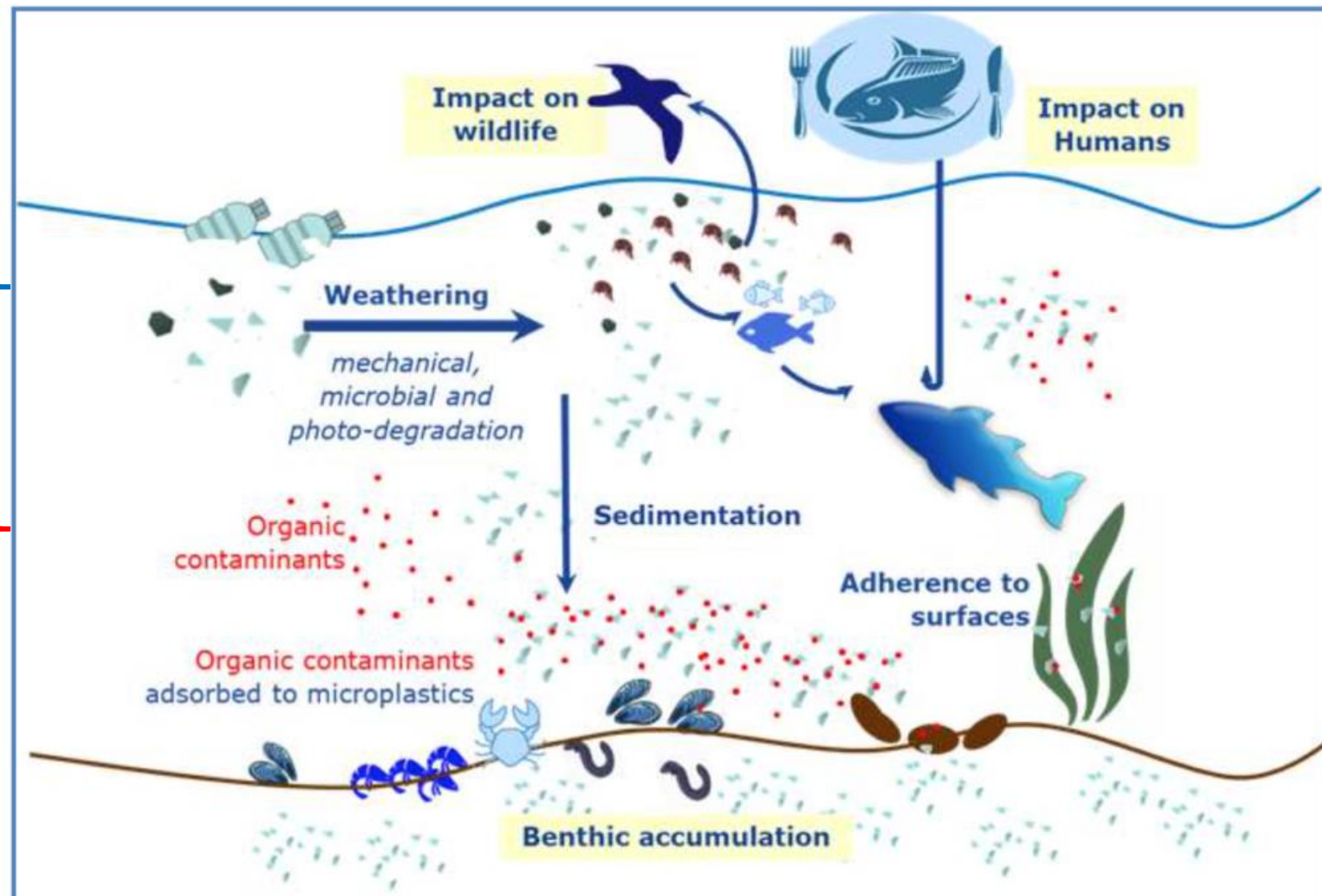
Micro- e nano-plastiche vengono ingerite dai pesci, entrando inevitabilmente nella catena alimentare.

Crostacei e molluschi bivalvi sono tra i prodotti alimentari più contaminati.

I molluschi bivalvi vengono consumati interi (sistema digerente incluso).

Le micro- e nano-plastiche, ingerite con gli alimenti, possono migrare nei tessuti.

L'**UOMO** ingerisce frammenti di plastica con gli alimenti (soprattutto acqua)



'Research highlights: impacts of microplastics on plankton', V.S. Lin, Environ. Sci.:Processes Impacts, 2016, 18, 160.

~2000 microframmenti di plastica/settimana
(equivalenti al peso di una carta di credito)
~21 g/mese
~250 g/anno

Conseguenze interazione **plastica ↔ organismi viventi**

Le interazioni tra organismi più grandi e la plastica sono, principalmente, caratterizzate dalle conseguenze correlate all'**ingestione** o all'**intrappolamento**.



La superficie idrofobica delle plastiche consente la colonizzazione microbica e la formazione di un **biofilm**, costituito da batteri (*Bacteria*, *Archaea*), funghi e microrganismi eucarioti.

È stata rilevata una notevole **diversità** tra i microrganismi adesi alla plastica ed i microrganismi presenti nell'acqua o in altre matrici naturali.

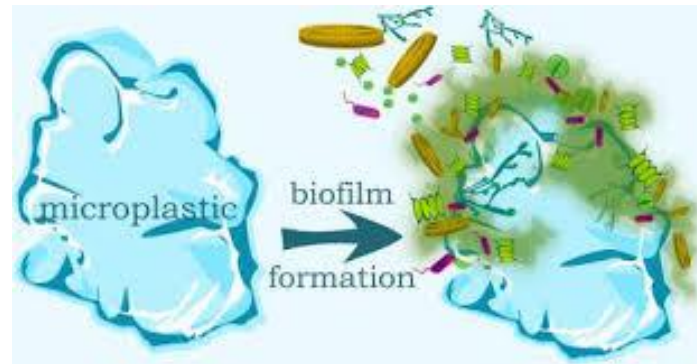
Diversità microbica anche tra i diversi tipi di plastiche (PE, PP, PET, PC).

Per i microrganismi le materie plastiche rappresentano un **habitat da colonizzare**, formando densi **biofilm** sulla superficie (**plastisfera**).

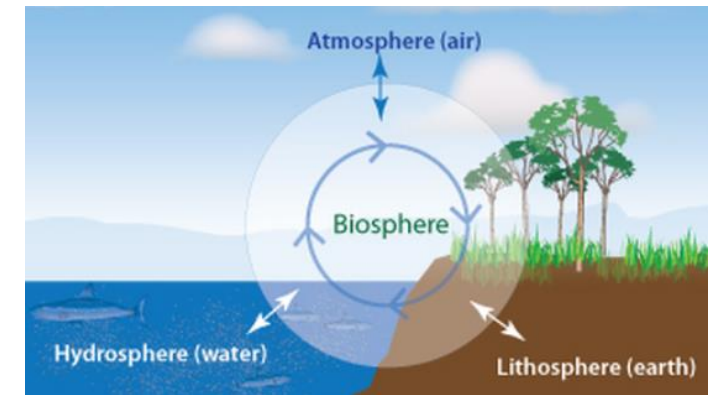
La plastica è un substrato che può fungere da **fonte di nutrienti** o da **veicolo** per la diffusione di numerosi microrganismi, anche potenzialmente patogeni.

Biosfera l'insieme delle zone della Terra in cui le condizioni ambientali permettono lo sviluppo della vita.

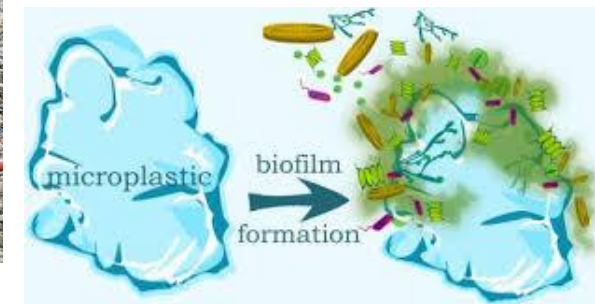
Con il termine '**plastisphere**' è stato definito il biofilm che si forma all'interfaccia tra la superficie del materiale plastico e l'ambiente.



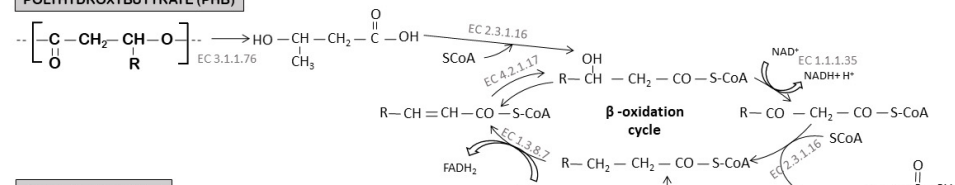
I microrganismi che compongono la **plastisphere** sono particolarmente attivi e possono condizionare i **cicli biogeochimici** (C, N, S, Fe, Mn, Cr, P, Ca, Si, ...) negli oceani.



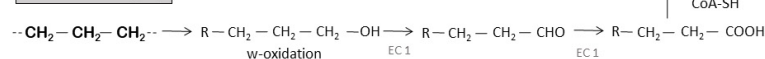
Dalla biodegradazione del materiale plastico vengono liberate molecole che entrano nel **metabolismo centrale dei microrganismi**.



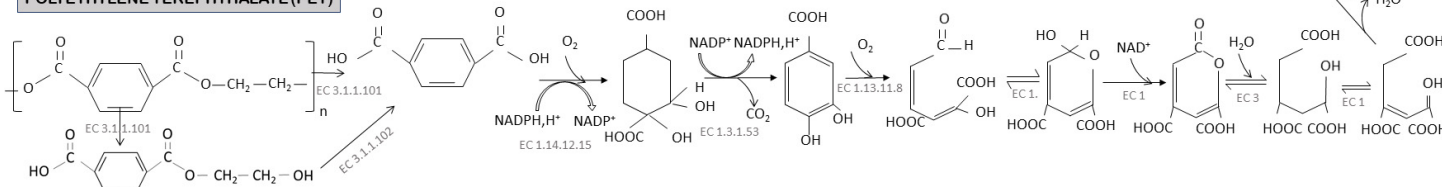
POLYHYDROXYBUTYRATE (PHB)



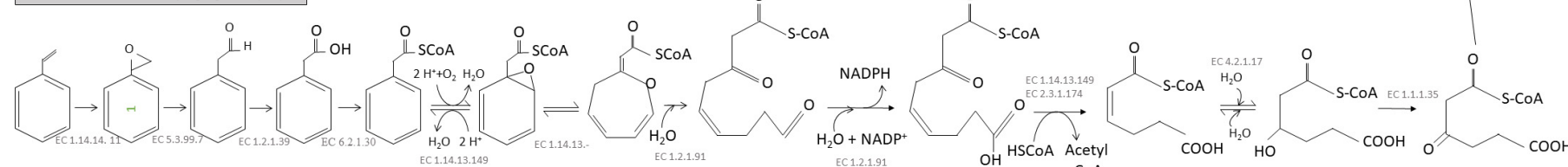
POLYETHYLENE (PE)



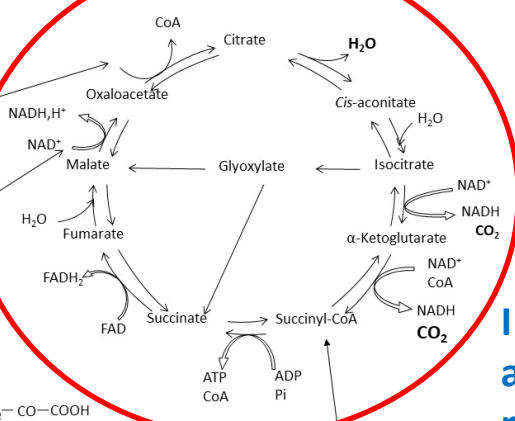
POLYETHYLENE TEREPHTHALATE (PET)



STYRENE-monomer of polystyrene (PS)



Ciclo degli acidi tricarbossilici (ciclo di Krebs)



Accumulo di materie plastiche nella biosfera

I microrganismi si stanno adattando evolvendo enzimi e percorsi catabolici per degradare (parzialmente) le materie plastiche

fonti di carbonio
fonti di energia

Limitata accessibilità ai legami estere!

Bio-deterioramento

Biofilm

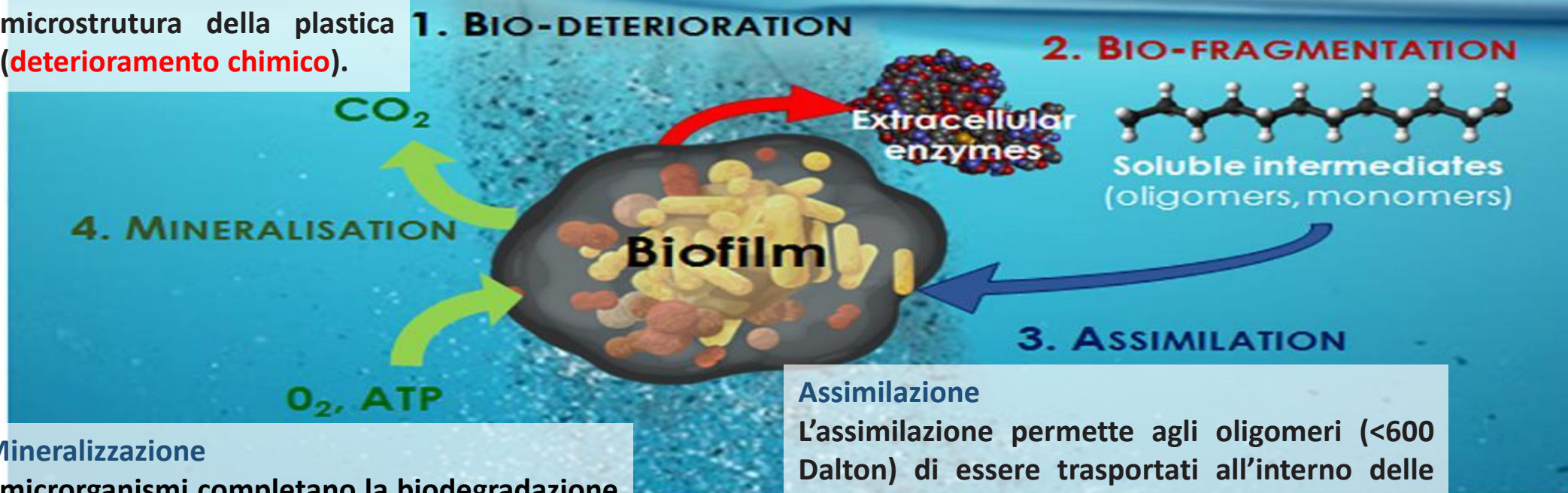
- Aumenta la grandezza dei pori, provoca rotture ed indebolisce le proprietà fisiche della plastica (**deterioramento fisico**).
- Rilascia composti acidi che modificano il pH nei pori ed induce cambiamenti nella microstruttura della plastica (**deterioramento chimico**).

The different steps of plastic **biodegradation** at sea
(modified from Dussud and Ghiglione, 2014).

Bio-frammentazione

Enzimi extracellulari

I microrganismi che colonizzano la plastica rilasciano esoenzimi (ossigenasi, lipasi, esterasi, depolimerasi, ...). Questi enzimi riducono il peso molecolare dei polimeri e rilasciano oligomeri e monomeri.



Mineralizzazione

I microrganismi completano la biodegradazione trasformando i polimeri della plastica in metaboliti che vengono escreti nell'ambiente (CO₂, N₂, CH₄, ed H₂O).

Assimilazione

L'assimilazione permette agli oligomeri (<600 Dalton) di essere trasportati all'interno delle cellule per essere usati come fonte di carbonio (aumento della biomassa microbica).

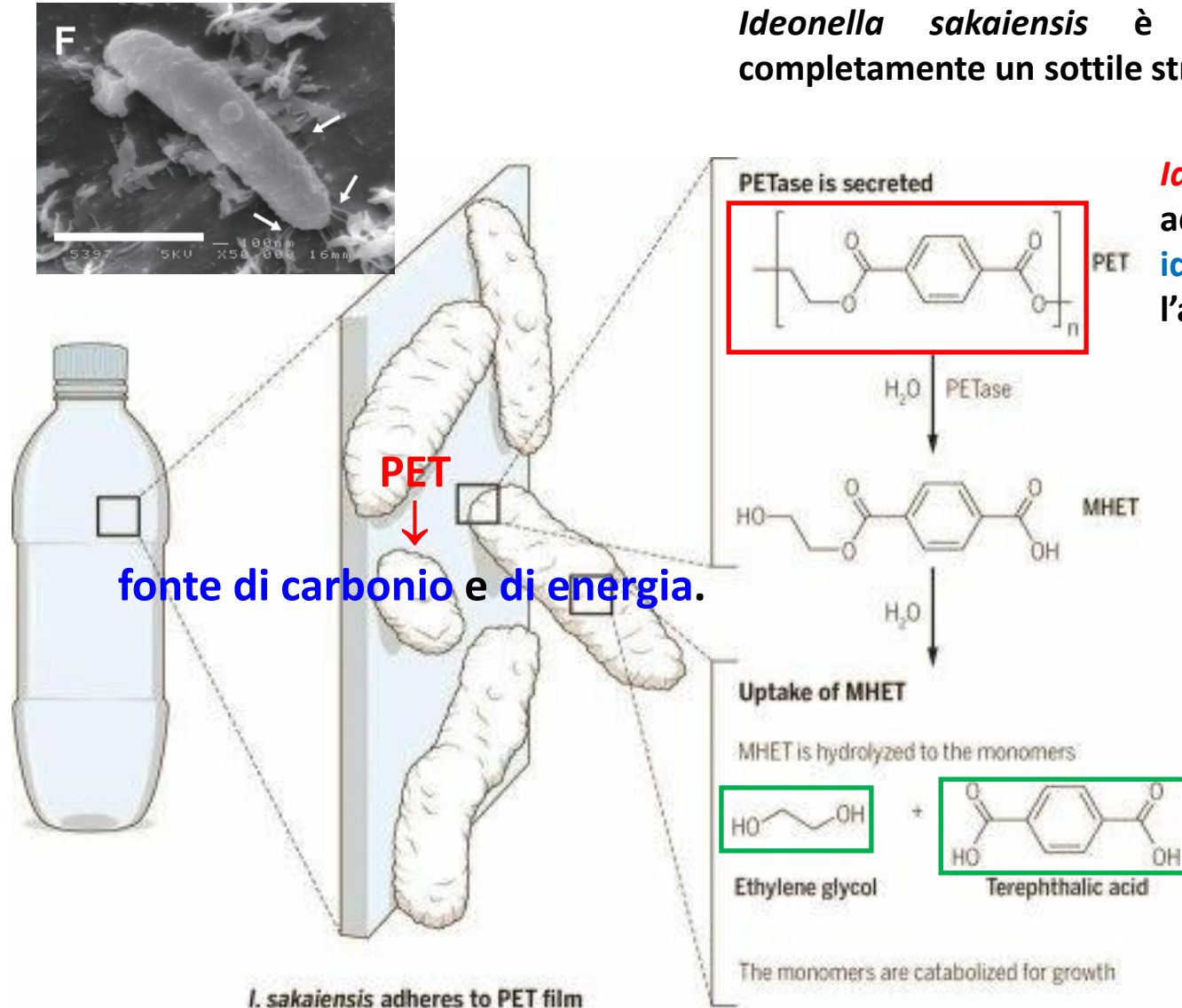
Yoshida et al. (2016). **A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)**. Science, 351(6278):1196-1199.

Nel 2013, nel mondo sono state prodotte 56 milioni di tonnellate di **PET** derivate per il 90% dal petrolio.

Solo il 14% circa viene separato e avviato ai processi di riciclaggio.

Ideonella sakaiensis è in grado di degradare quasi completamente un sottile strato di **PET** dopo 6 settimane a 30 °C.

Ideonella sakaiensis 201-F6, mediante due **enzimi**, riuscirebbe ad idrolizzare il **PET** e l'intermedio di reazione, l'**acido mono(2-idrossietil) tereftalico**, in due monomeri non dannosi per l'ambiente, il **glicole etilenico** e l'**acido tereftalico**.



L'attività di degradazione del PET da parte del batterio *Ideonella sakaiensis* deriva dall'azione sinergica di 2 enzimi:

- **PET idrolasi (PETase)**, codificato dal gene *ISF6 4831*
- **mono(2-idrossietil) tereftalato (MHET) idrolasi**, codificato dal gene *ISF6 0224*.

Biodegradazione del polietilene (PE) mediante bruchi della falena della cera *Galleria mellonella*

I bruchi della falena della cera (*Galleria mellonella*), normalmente, si sviluppano negli alveari, nutrendosi di miele e cera.

Bombelli et al. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology* 27, R283–R293.

Alcuni ricercatori, utilizzando sacchetti di plastica per trasportare i bruchi, hanno scoperto che questi possono digerire il **polietilene**, una plastica onnipresente e tra le più difficili da degradare.

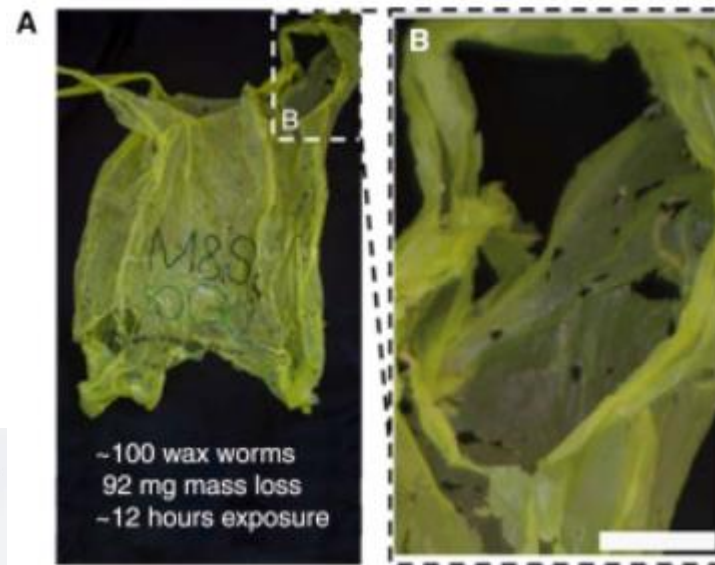


È stato osservato che sui sacchetti di plastica che contenevano i bruchi si formavano rapidamente dei buchi.

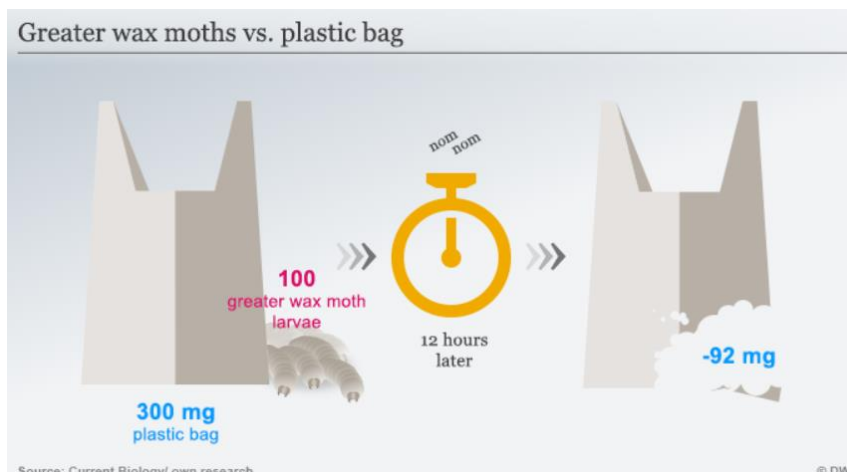
Alcuni bruchi (circa 100), in laboratorio, messi a contatto con una pellicola di polietilene, sono risultati in grado di degradare 92 mg di plastica in circa 12 ore.



Una velocità di degradazione molto più alta di quella raggiunta da altri microrganismi noti per abbattere il polietilene.



Le cellule di bruco omogeneizzate hanno avuto lo stesso effetto, dimostrando che questi organismi digeriscono la plastica, non solo masticandola.



Galleria mellonella normalmente non mangia la plastica.



Molto probabilmente la digestione della cera d'api e del PE richiede la rottura di legami chimici dello stesso tipo.

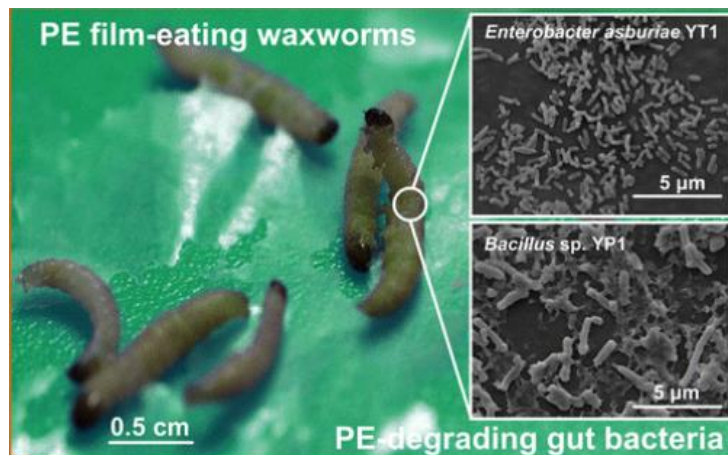
Sono necessari ulteriori ricerche per comprendere i dettagli molecolari della capacità di *Galleria mellonella* di digerire il polietilene: non è chiaro se la degradazione del PE sia dovuta direttamente alla larva o all'attività enzimatica della sua flora batterica.

Questa scoperta è molto interessante, soprattutto se si considera che pur se il batterio *Ideonella sakaiensis* è risultato in grado di biodegradare, anche se molto lentamente, il polietilene tereftalato (PET), la degradazione biologica del PE era finora ritenuta molto improbabile.

Precedentemente era già stata osservata una degradazione del polietilene, ma molto lenta ed inefficiente, da parte di microrganismi intestinali della larva, *Plodia interpunctella*.

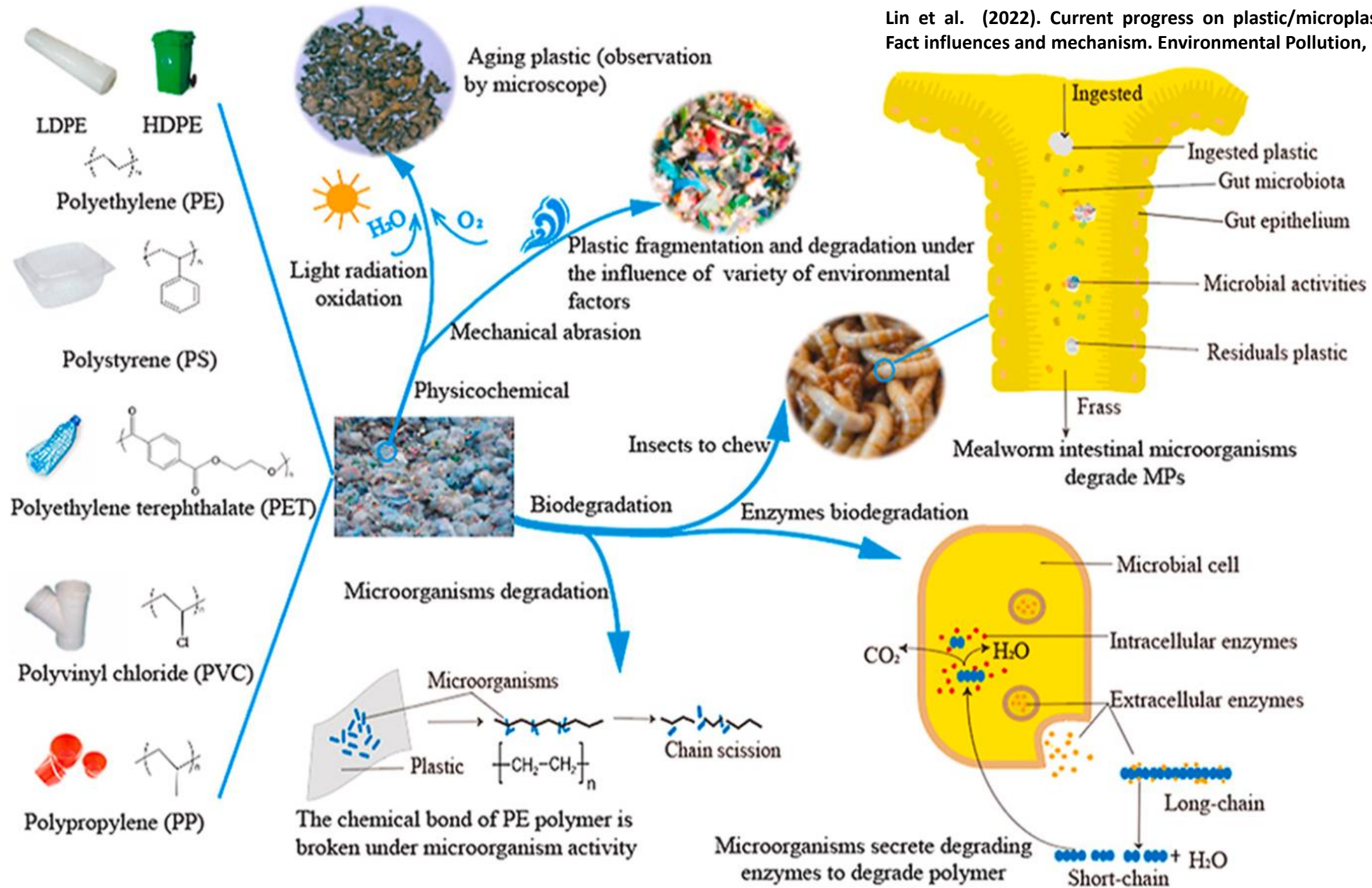


Due ceppi di batteri, *Enterobacter asburiae* e *Bacillus* sp., isolati dall'intestino di *Plodia interpunctella* (larva della cera) si erano dimostrati in grado di decomporre il PE in test di laboratorio: in 28 giorni, questi due ceppi riducevano l'idrofobicità dei film di PE ed inducevano danni (cavità) alla superficie delle pellicole.



Yang et al. (2014). Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. Environmental Science & Technology. 48 (23): 13776–13784.

Potenziale soluzione biotecnologica della gestione dei rifiuti di polietilene grazie all'impiego di microrganismi degradatori.



Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles

Inga V. Kirstein ^{a,1}✉, Sidika Kirmizi ^{a,1}, Antje Wichels ^a, Alexa Garin-Fernandez ^a, Rene Erler ^a, Martin Löder ^{a,b},
Gunnar Gerdtz ^a

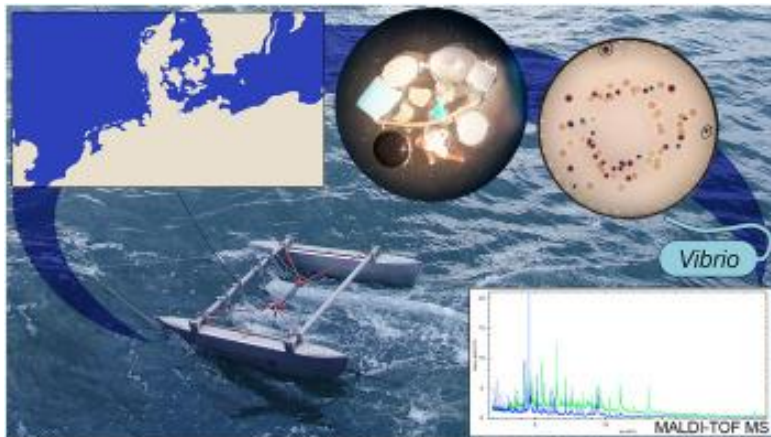
Recenti studi indicano che alcuni batteri (*Vibrio* spp.), potenzialmente patogeni, potrebbero essere presenti sulle microplastiche galleggianti. Queste particelle, quindi, potrebbero fungere da veicoli per la diffusione di agenti patogeni.

Vibrio cholerae

Vibrio vulnificus

Vibrio parahaemolyticus

Urgente necessità di analisi biogeografiche dettagliate delle microplastiche marine.





Contents lists available at ScienceDirect

Marine Pollution Bulletin

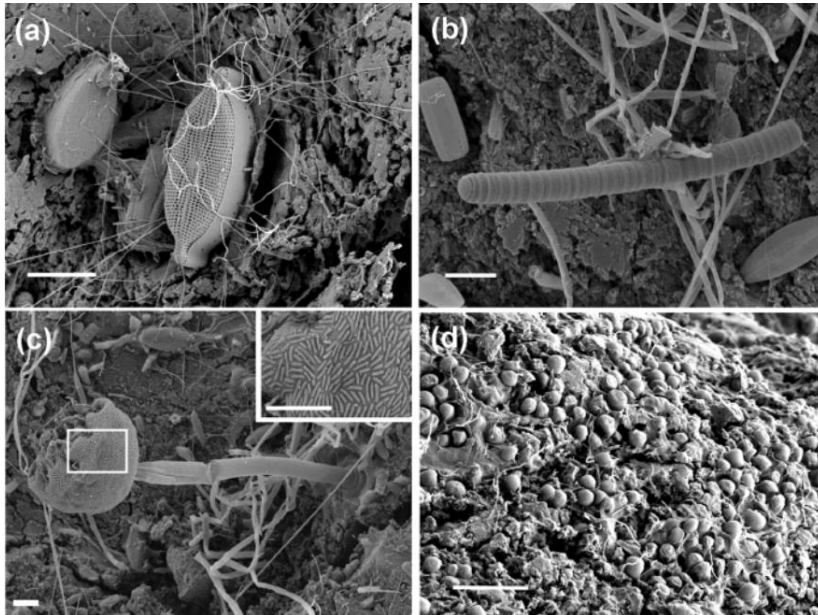
journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul



Colonisation of plastic pellets (nurdles) by *E. coli* at public bathing beaches

Alyssa Rodrigues, David M. Oliver, Amy McCarron, Richard S. Quilliam*

Biological and Environmental Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, UK



- La plastica (*plastisphere*) può essere considerata un veicolo, oltre che di microrganismi indicatori fecali, anche di microrganismi potenzialmente patogeni.
- Buste di plastica raccolte da spiagge pubbliche sono risultate colonizzate da *E. coli* e *Vibrio* spp.

Materiale plastico disperso sulle spiagge potrebbe, quindi, esporre l'uomo a microrganismi potenzialmente patogeni.

METALLI PESANTI

Gruppo di metalli e metalloidi che hanno una densità relativamente alta ($>4,5 \text{ g/cm}^3$) e sono tossici anche a livelli di ppb.

Pb, As, Hg, Cd, Zn, Ag, Cu, Fe, Cr, Ni, Pd, Pt, ...

Vengono rilasciati nell'ambiente da fonti sia naturali che antropogeniche (scarichi industriali, scarichi di automobili, miniere, ...).

Heavy metals on Periodic Table

1	2	13	14	15	16	17	18
1 H Hydrogen 1.008							2 He Helium 4.002
3 Li Lithium 6.94	4 Be Beryllium 9.012						
5 B Boron 10.81	6 C Carbon 12.011	7 N Nitrogen 14.007	8 O Oxygen 15.999	9 F Fluorine 18.998	10 Ne Neon 20.180		
11 Na Sodium 22.990	12 Mg Magnesium 24.305						
13 Al Aluminum 26.982	14 Si Silicon 28.086	15 P Phosphorus 30.974	16 S Sulfur 32.06	17 Cl Chlorine 35.45	18 Ar Argon 39.95		
19 K Potassium 39.098	20 Ca Calcium 40.078	21 Sc Scandium 44.956	22 Ti Titanium 47.867	23 V Vanadium 50.942	24 Cr Chromium 51.996	25 Mn Manganese 54.938	26 Fe Iron 55.845
27 Co Cobalt 58.933	28 Ni Nickel 58.693	29 Cu Copper 63.546	30 Zn Zinc 65.38	31 Ga Gallium 69.723	32 Ge Germanium 72.63	33 As Arsenic 74.922	34 Se Selenium 78.96
35 Br Bromine 79.904	36 Kr Krypton 83.798						
37 Rb Rubidium 85.468	38 Sr Strontium 87.62	39 Y Yttrium 88.906	40 Zr Zirconium 91.224	41 Nb Niobium 92.906	42 Mo Molybdenum 95.94	43 Tc Technetium (98)	44 Ru Ruthenium 101.07
45 Rh Rhodium 101.07	46 Pd Palladium 106.36	47 Ag Silver 107.868	48 Cd Cadmium 112.411	49 In Indium 114.818	50 Sn Tin 118.710	51 Sb Antimony 121.757	52 Te Tellurium 127.6
53 I Iodine 126.905	54 Xe Xenon 131.29						
55 Cs Cesium 132.905	56 Ba Barium 137.327	57 La Lanthanum 138.905	58 Ce Cerium 140.12	59 Pr Praseodymium 140.908	60 Nd Neodymium 144.24	61 Pm Promethium (145)	62 Sm Samarium 150.36
63 Eu Europium 151.964	64 Gd Gadolinium 157.25	65 Tb Terbium 158.925	66 Dy Dysprosium 162.50	67 Ho Holmium 164.930	68 Er Erbium 167.259	69 Tm Thulium 168.934	70 Yb Ytterbium 173.054
71 Lu Lutetium 174.967							
72 Hf Hafnium 178.49	73 Ta Tantalum 180.948	74 W Tungsten 183.84	75 Re Rhenium 186.207	76 Os Osmium 190.23	77 Ir Iridium 192.222	78 Pt Platinum 195.084	79 Au Gold 196.967
80 Hg Mercury 200.59	81 Tl Thallium 204.38	82 Pb Lead 207.2	83 Bi Bismuth 208.98	84 Po Polonium (209)	85 At Astatine (210)	86 Rn Radon (222)	
87 Fr Francium (223)	88 Ra Radium (226)	89 Ac Actinium (227)	90 Th Thorium (232)	91 Pa Protactinium (231)	92 U Uranium (238)	93 Np Neptunium (237)	94 Pu Plutonium (244)
95 Am Americium (243)	96 Cm Curium (247)	97 Bk Berkelium (247)	98 Cf Californium (251)	99 Es Einsteinium (252)	100 Fm Fermium (257)	101 Md Mendelevium (258)	102 No Nobelium (259)
103 Lr Lawrencium (260)							

Shows maximum characteristics of heavy metals

Shows less characteristics of heavy metals

Shows fewer characteristics of heavy metals

A differenza degli inquinanti organici, i metalli pesanti non sono biodegradabili e hanno la tendenza ad accumularsi negli esseri viventi.

L'esposizione continua ed a lungo termine ha gravi effetti sugli organismi viventi.



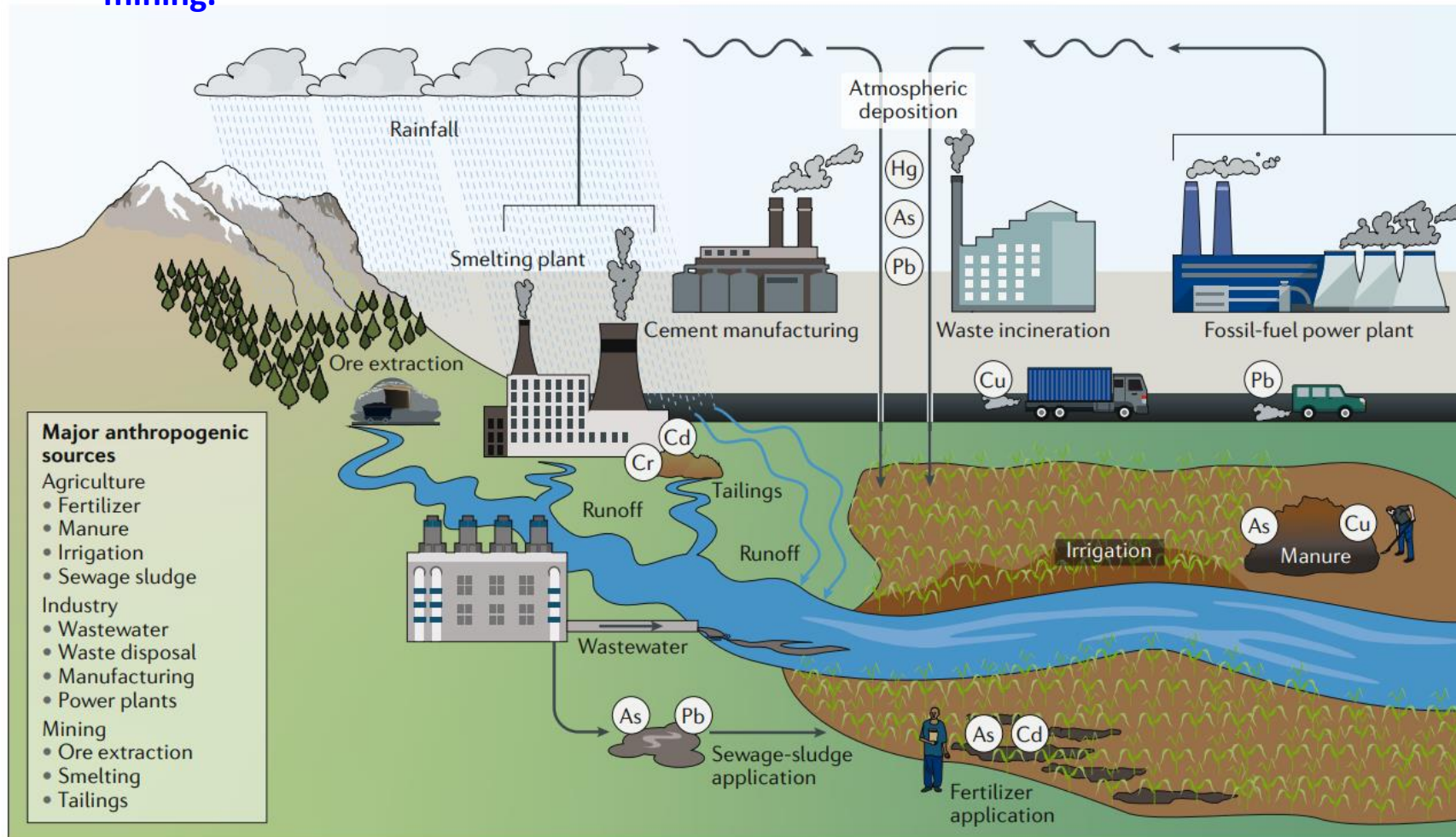
La maggior parte di loro sono noti come potenziali cancerogeni.

A causa della loro elevata tossicità è necessario definire metodi efficienti nella rimozione dagli ambienti contaminati.

Sources of heavy metal(loid)s pollution in agricultural soil.

Major anthropogenic sources can be classified into three categories:

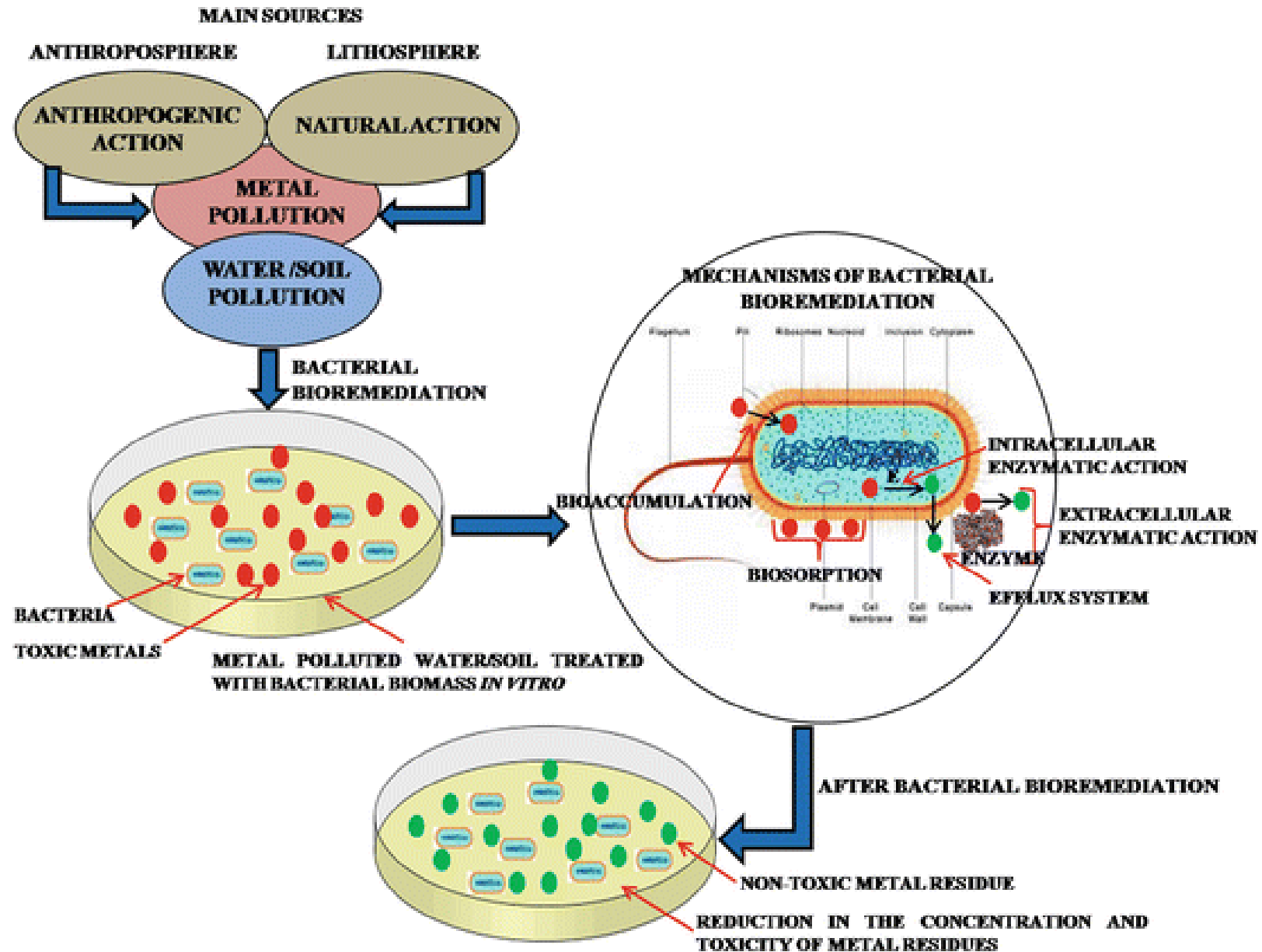
- agricultural,
- Industrial
- mining.



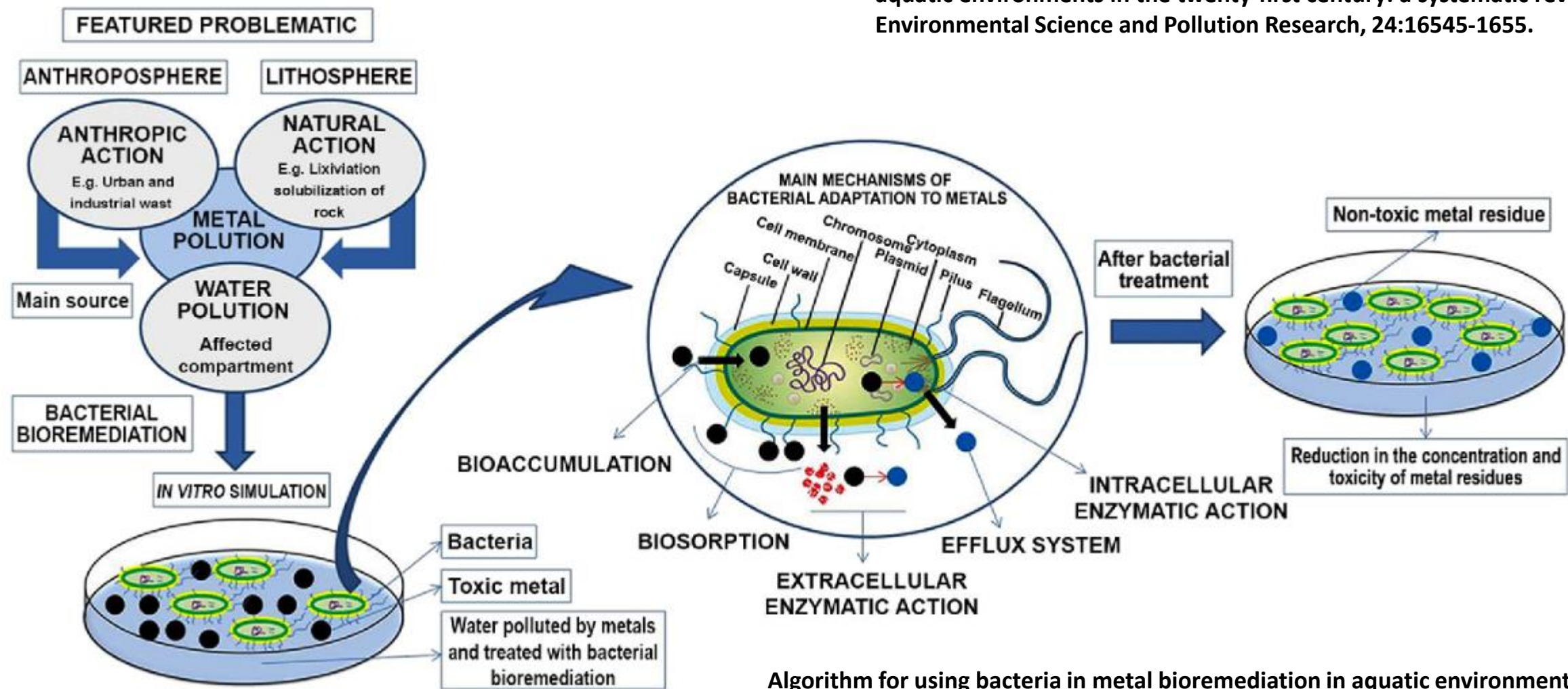
Heavy metal(loid)s can enter agricultural soil through atmospheric deposition, following release into the atmosphere from fossil-fuel burning, waste incineration or cement manufacture.

Heavy-metal(loid)s-contaminated runoff from mining and industry can enter waterways and reach agricultural land.

The use of manure or sewage contaminated with heavy metal(loid)s to fertilize crops can also contaminate agricultural land.



Lacerda et al. (2017). The use of bacterial bioremediation of metals in aquatic environments in the twenty-first century: a systematic review. Environmental Science and Pollution Research, 24:16545-1655.



Algorithm for using bacteria in metal bioremediation in aquatic environments and the main mechanisms involved

