

1. Introduzione alla Bioremediation

La **bioremediation** (biorisanamento) viene utilizzata per eliminare i rischi ambientali derivanti dalla presenza di inquinanti (es. rifiuti tossici industriali).

Ogni anno enormi quantità di composti organici ed inorganici (es. IPA, PCB, mercurio, ecc.) vengono rilasciati nell'ambiente come risultato delle attività umane.

Inquinante



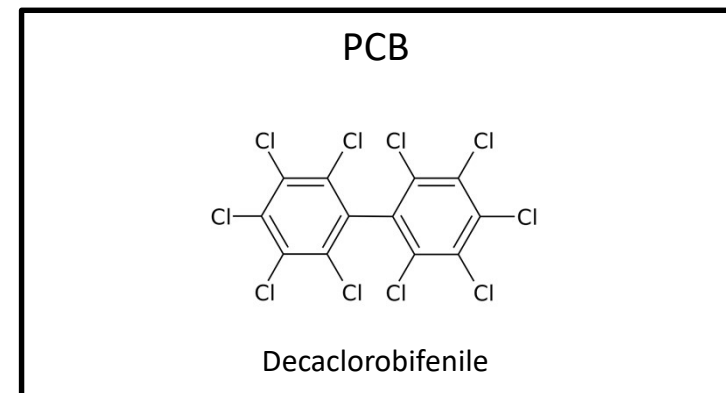
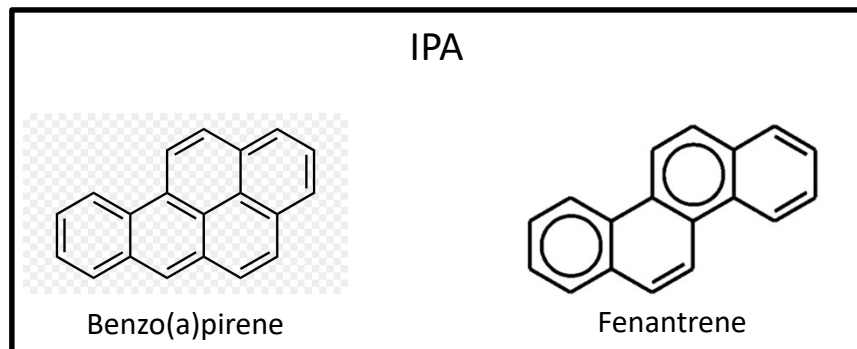
Struttura chimica
diversa dai prodotti
naturali



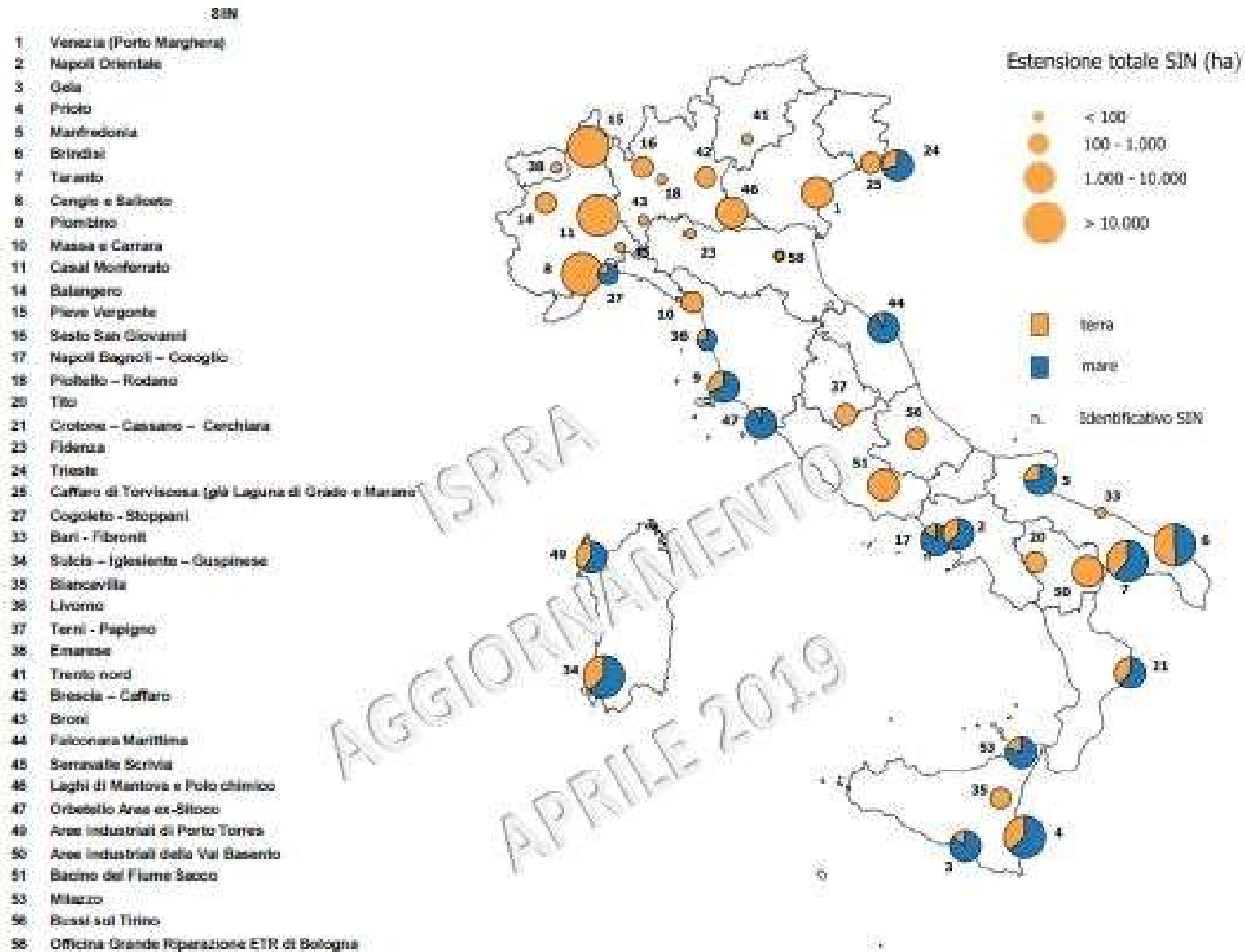
Persistenza
+
Tossicità



Mentre in passato si pensava di avere abbondanza di risorse e spazi illimitati, oggi sappiamo che la qualità della vita è indissolubilmente legata alla qualità dell'ambiente circostante.



L'ISPRA, dopo il D.Lgs. 152/06, ha redatto un elenco dei siti sottoposti ad intervento di bonifica e ripristino ambientale nonché degli interventi realizzati in questi siti



Elenco delle tecnologie di bonifica per il suolo redatto dall'ISPRA

	Composti Inorganici							Composti Organici													Tempi	Necessità di manutenzione/ monitoraggio a lungo termine	Impatti a breve e lungo termine sulle risorse naturali
	Arsenico	Cadmio	Cromo	Piombo	Mercurio	Zinco	Altri metalli e composti inorganici	Idrocarburi Aromatici	Idrocarburi Policiclici Aromatici	Idrocarburi Alifatici clorurati cancerogeni	Idrocarburi Alifatici clorurati non cancer.	Idrocarburi Alifatici alogenati cancer.	Nitrobenzeni	Clorobenzeni	Fenoli non clorurati	Fenoli clorurati	Ammine aromatiche	Fitofarmaci	Diossine e furani				
Suolo																							
- trattamento biologico in situ																							
- Bioventing	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Bioremediation (aerobica)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Bioremediation (anaerobica)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Phytoremediation	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- trattamento chimico-fisico in situ																							
- Ossidazione chimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Ossidazione elettrochimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Separazione elettrocinetica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Soil Flushing	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Soil Vapour Extraction	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Solidificazione/Stabilizzazione	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- trattamento termico in situ																							
- Trattamento termico	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- trattamento biologico ex situ (con escavazione)																							
- Biopile	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Compostaggio	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Landfarming	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Bioreattori	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- trattamento chimico-fisico ex situ (con escavazione)																							
- Estrazione chimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Ossidazione/riduzione chimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Dealogenazione	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Separazione (Gravità, Magnetica, Fisica)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Soil Washing	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Solidificazione/Stabilizzazione	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- trattamento termico ex situ (con escavazione)																							
- Incenerimento/Pirolisi	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Desorbimento termico	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- altro																							
- Copertura superficiale (Capping)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
- Scavo e smaltimento in discarica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	

Elenco delle tecnologie di bonifica per le acque sotterranee redatto dall'ISPRA

	Composti Inorganici							Composti Organici														Tempi	Necessità di manutenzione/ monitoraggio a lungo termine	Impatti a breve e lungo termine sulle risorse naturali
	Arsenico	Cadmio	Cromo	Piombo	Mercurio	Zinco	Altri metalli e composti inorganici	Idrocarburi Aromatici	Idrocarburi Policiclici Aromatici	Idrocarburi Alifatici clorurati cancerogeni	Idrocarburi Alifatici clorurati non cancer.	Idrocarburi Alifatici alogenati cancer.	Nitrobenzeni	Clorobenzeni	Fenoli non clorurati	Fenoli clorurati	Ammine aromatiche	Fitofarmaci	Diossine e furani					
Acque sotterranee																								
- trattamento biologico in situ																								
- Bioremediation	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Attenuazione naturale monitorata	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Phytoremediation	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- trattamento chimico-fisico in situ																								
- Air Sparging	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Ossidazione chimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Ossidazione elettrochimica	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- In-Well Air Stripping	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Dual/Multi Phase Extraction	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Barriere permeabili reattive	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- trattamento biologico ex situ																								
- Bioreattori	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Lagunaggi	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- trattamento chimico-fisico ex situ (con estrazione delle acque e conferimento in idoneo impianto)																								
- Processi di ossidazione avanzata	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Air Stripping	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Carboni attivi	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Pump and treat	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
- Scambio ionico	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		

Tecniche di Remediation

Smaltimento in discarica:

- Tecnica non sostenibile
- Costi elevati: 150-250 € per la messa in discarica

Trattamento chimico-fisico: sfruttano le proprietà fisiche del contaminante o della matrice contaminata per separare, contenere o distruggere il contaminante.

- Elevata resa
- Costi maggiori
- Creazione di sottoprodotti tossici

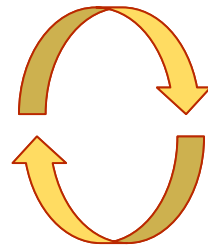
Trattamento termico: tecnica che sfrutta il calore per volatilizzare, fondere o bruciare la matrice contaminata.

- Tecnica veloce
- Elevati costi: fino a 250-800 € per m³ di matrice incenerita

Trattamento biologico: Bioremediation in situ ed ex situ

BIOREMEDIATION

È una tecnica che sfrutta il metabolismo di alcuni microrganismi che possono **biodegradare** o detossificare sostanze contaminanti del suolo, acqua o sedimenti e che minacciano la salute pubblica.



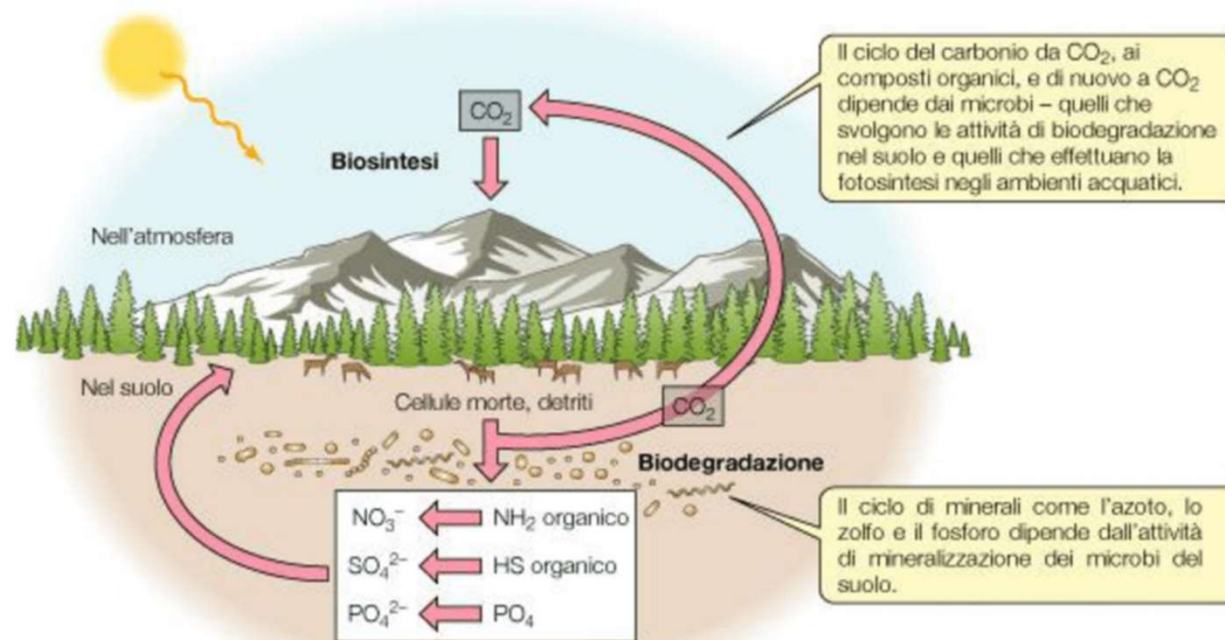
Nella **Biodegradazione** i contaminanti vengono metabolizzati e trasformati in molecole organiche ed inorganiche innocue: azoto, anidride carbonica e sali.

L'elenco di composti che possono essere soggetti alla degradazione biologica è lungo ma maggior interesse è stato rivolto al petrolio e ai prodotti petroliferi, agli idrocarburi policiclici aromatici, ai composti alifatici clorurati come tricloroetilene (TCE) e tetracloroetilene (chiamato anche percloroetilene o PCE), e ad idrocarburi aromatici clorurati.

BIODEGRADAZIONE

Degradazione di una sostanza o materiale, di origine naturale o sintetica, attraverso azioni enzimatiche operate da funghi, batteri ed altri microrganismi.

La biodegradazione è un processo naturale che rientra nel ciclo della vita sulla terra, incentrata sul carbonio:



BIODEGRADAZIONE

Degradazione di una sostanza o materiale, di origine naturale o sintetica, attraverso azioni enzimatiche operate da funghi, batteri ed altri microrganismi.



La maggior parte degli inquinanti ambientali sono molecole organiche ed inorganiche e molte di esse sono suscettibili ad attacchi enzimatici.

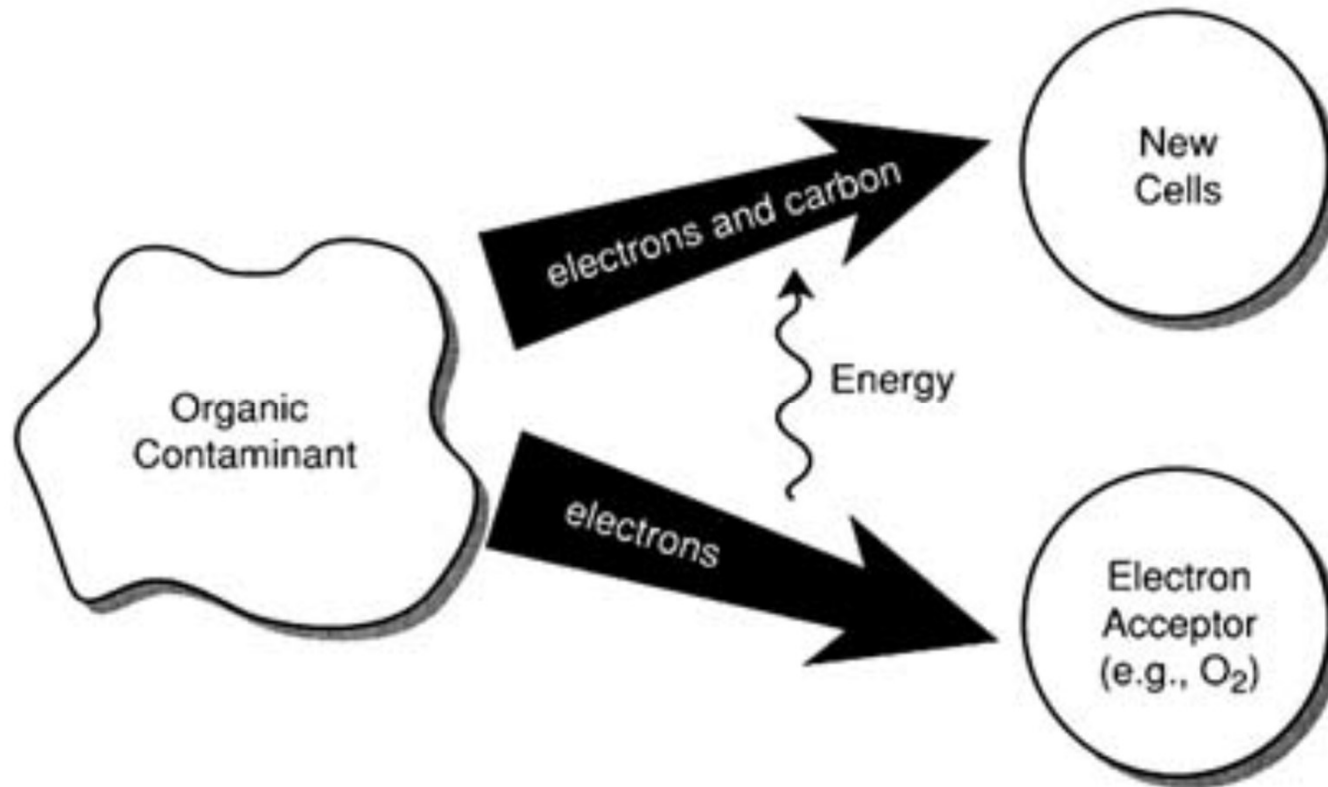
Il termine biodegradazione può comprendere molti processi con esiti e conseguenze drasticamente differenti:

- **Mineralizzazione** ovvero la completa ossidazione a prodotti come anidride carbonica e acqua;
- **Trasformazione** in un altro prodotto tossico o innocuo;
- **Polimerizzazione** dell'inquinante con un altro xenobiotico;
- **Coniugazione** con composti naturali nel terreno, sedimenti o nelle acque.

Per ogni sostanza è possibile che si verifichi più di uno di questi processi contemporaneamente.


Come metabolizzano lo xenobiotico?

I microrganismi usano i contaminanti come fonte di carbonio ed energia.



BIOREMEDIATION

Vantaggi:

- Basso costo 
- Non è una tecnica invasiva
- Sicura

Alcuni costi tipici per tonnellata sono i seguenti:

- land farming, 39-88 €;
- compostaggio, 44-110 €;
- soil pile, 99-110 €;
- trattamento liquami, 88-165 €.

Svantaggi:

- Conoscenza limitata della popolazione microbica e delle interazioni microbiche in essa.
- Processo non standardizzabile
- Non sempre si possono applicare le condizioni ambientali ottimali per avere la massima resa del processo.

BIOREMEDIATION

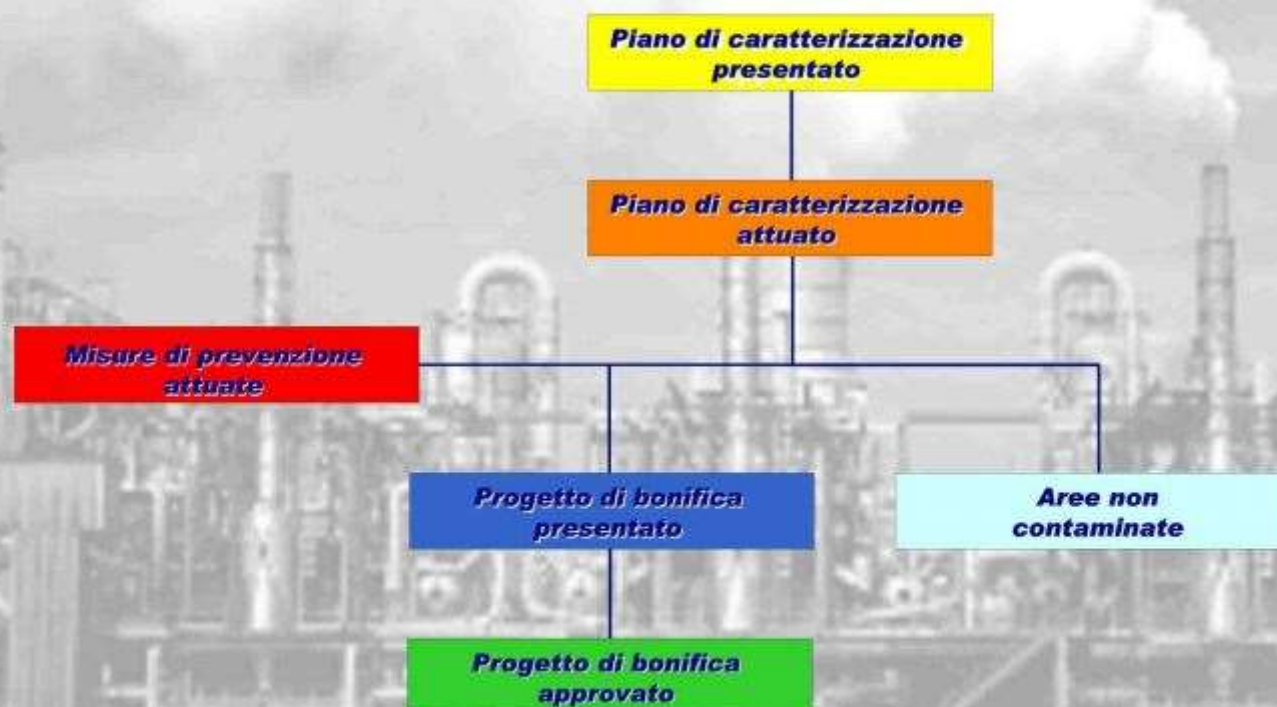
Prima di operare in campo bisogna fare uno studio approfondito, in laboratorio e su scala pilota, sulle variabili in gioco, in modo da confermare la **sicurezza e l'**efficacia** del processo!**

Inoltre ogni caso è diverso e bisogna sempre fare una valutazione costi/benefici.

Qualora il contaminante è intrinsecamente intrattabile alla trasformazione microbica/enzimatica bisogna essere aperti alla possibilità di combinare strategie chimiche o fisiche a processi biologici per ottenere una bonifica complessivamente efficace.



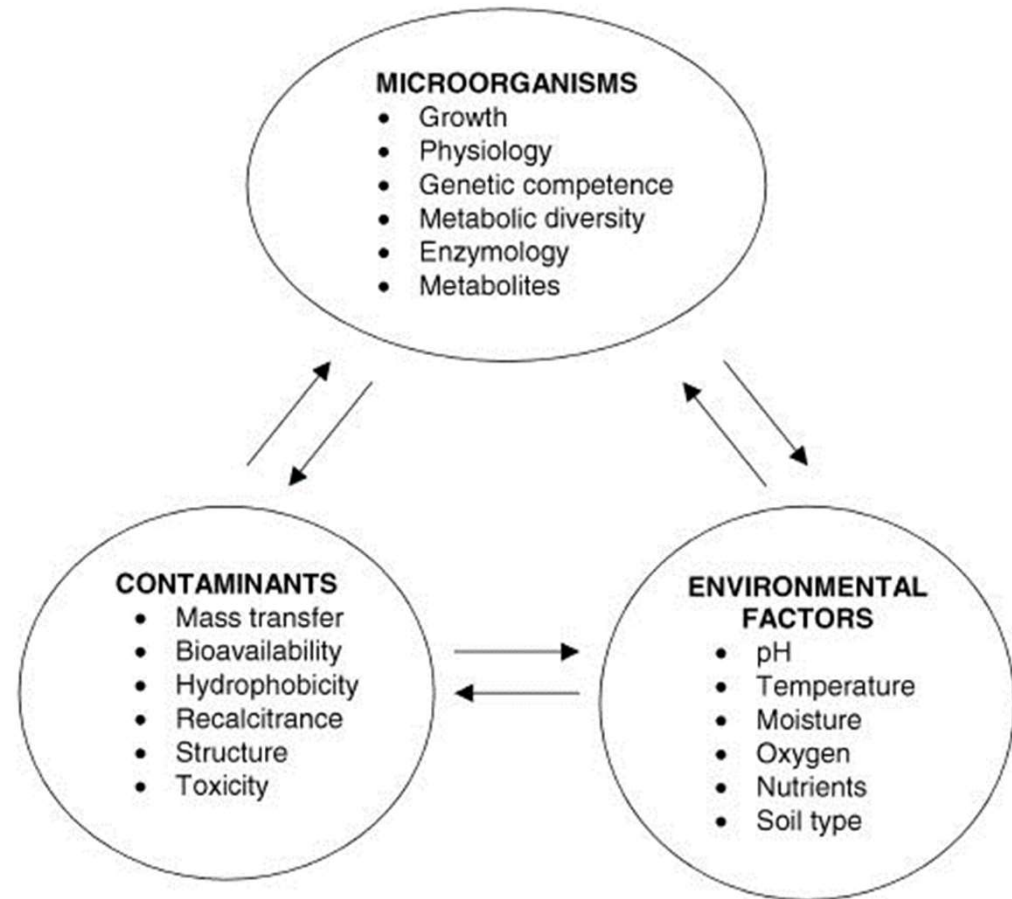
Iter delle procedure per la bonifica di aree contaminate:



Disegno sperimentale: parametri chiave

1. **Microrganismi**
2. **Contaminanti**
3. **Fattori ambientali**

Alcuni criteri devono essere soddisfatti affinché la bioremediation possa essere seriamente considerata come un mezzo pratico per il trattamento.



Disegno sperimentale: parametri chiave

1. Microrganismi

2. Contaminanti

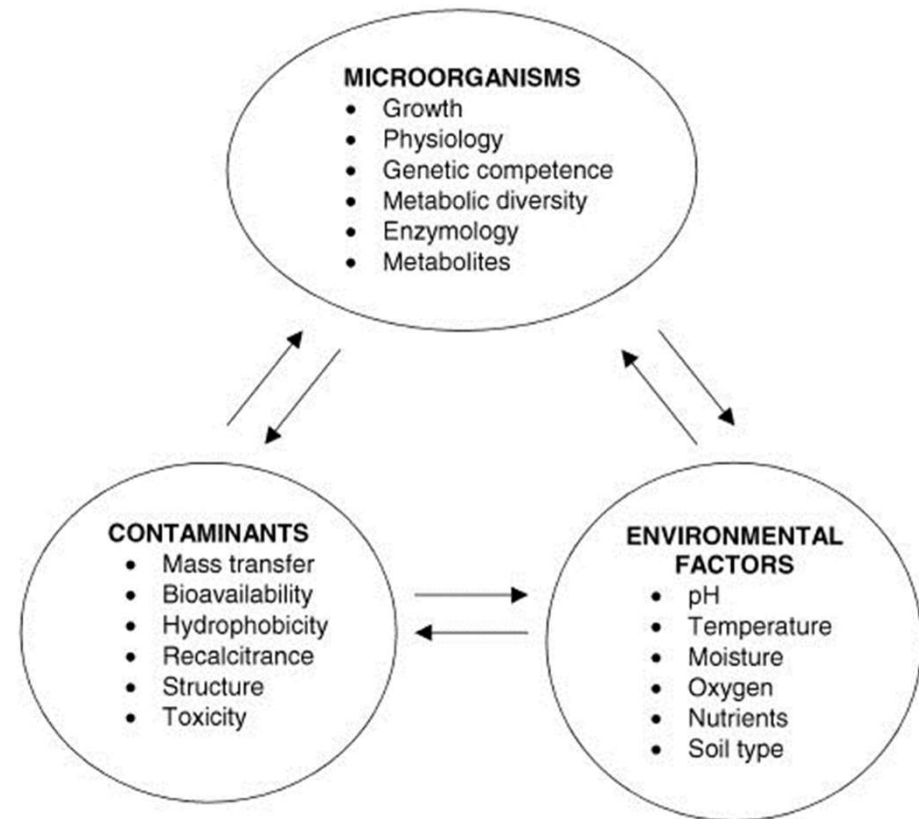
3. Fattori ambientali

Devono esistere i microrganismi che hanno l'attività catabolica necessaria.

Gli organismi devono avere la capacità di trasformare il composto a prezzi ragionevoli e portare la concentrazione a livelli che soddisfano gli standard normativi.

Non devono generare prodotti che sono tossici alle concentrazioni raggiunte durante la bonifica.

Una volta identificato un pool di microrganismi in grado di degradare un inquinante è importante analizzare i cambiamenti temporali e spaziali della popolazione microbica e come varia la diversità all'interno di una comunità.



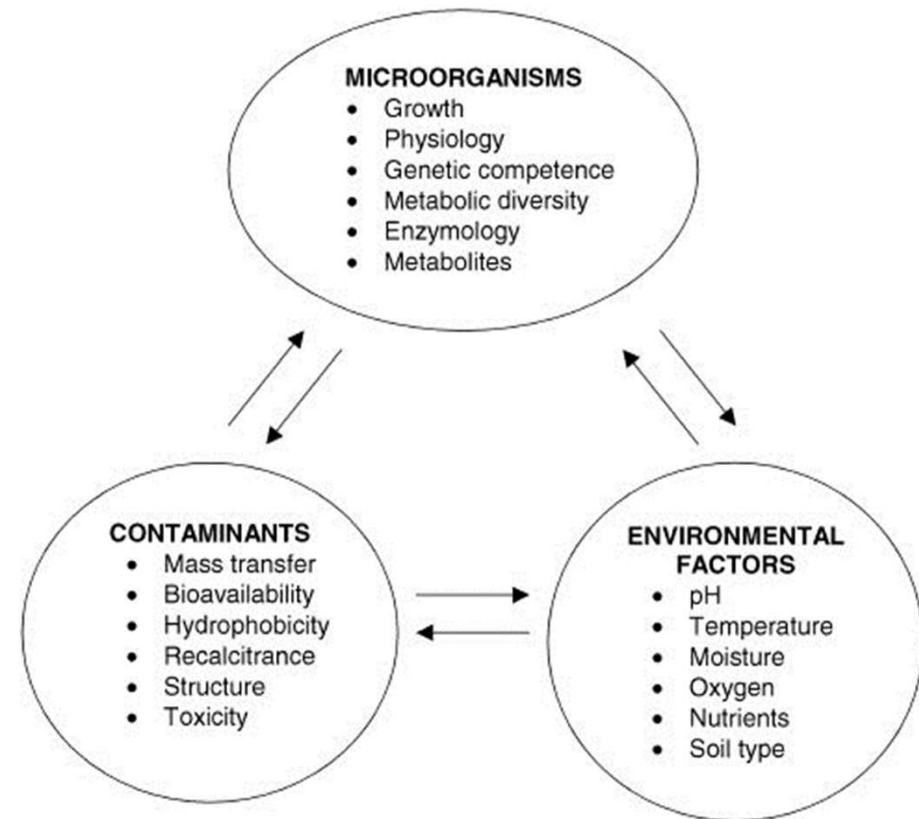
Disegno sperimentale: parametri chiave

1. **Microrganismi**
2. Contaminanti
3. Fattori ambientali

Catabolismo microbico

La capacità di un microrganismo di degradare un composto è strettamente correlata al suo metabolismo.

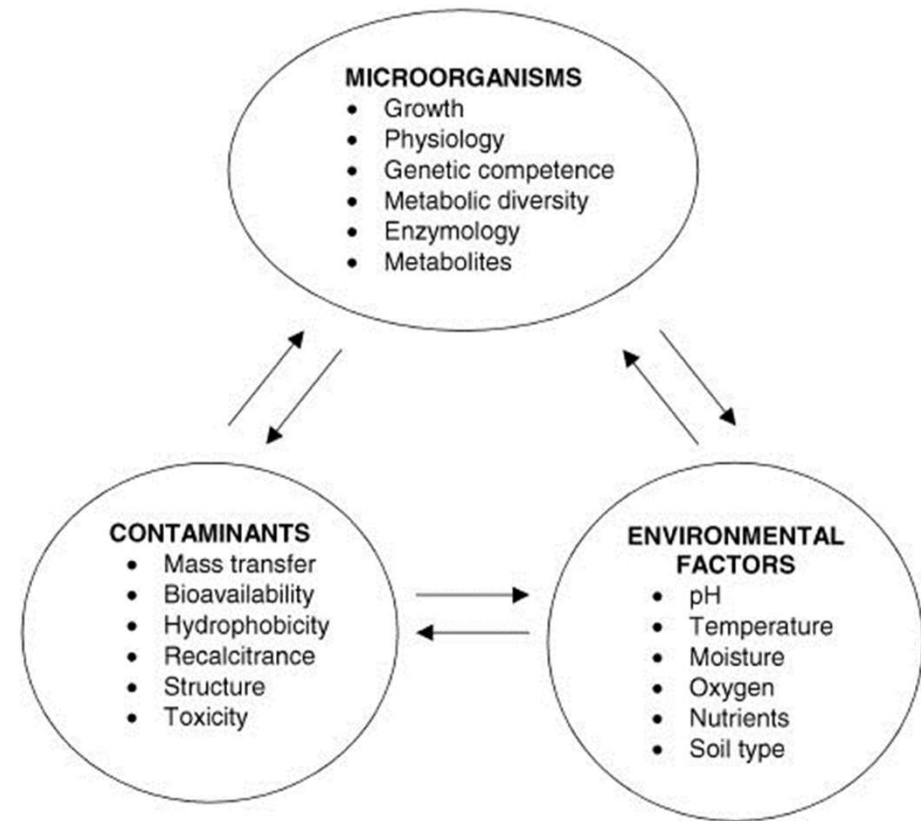
È possibile combinare l'azione di più microrganismi con pathways enzimatici diversi che operano in fasi diverse ma consequenziali.



Disegno sperimentale: parametri chiave

1. **Microrganismi**
2. **Contaminanti**
3. **Fattori ambientali**

Il sito non deve contenere concentrazioni o combinazioni di sostanze chimiche che sono marcatamente inibitorie per le specie in grado di bonificare il terreno stesso oppure devono esistere mezzi per diluire o rendere innocui gli inibitori.



Il composto target deve essere disponibile per i microrganismi.



Biodisponibilità

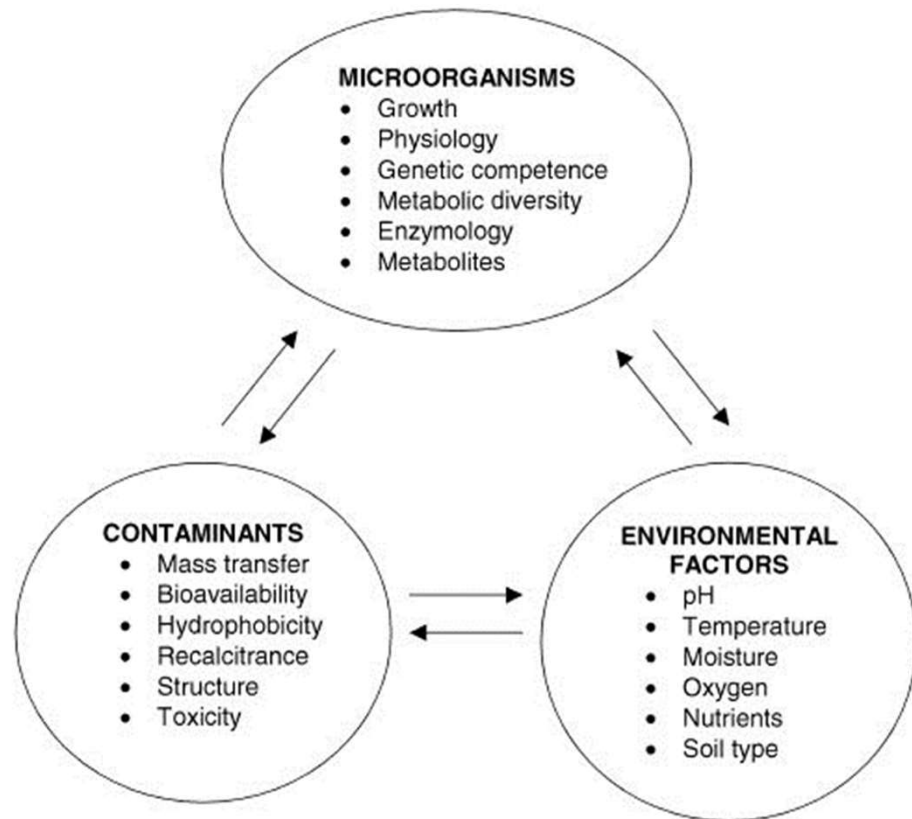
Disegno sperimentale: parametri chiave

1. Microrganismi

2. Contaminanti

3. Fattori ambientali

- pH
- Temperatura
- Umidità
- Tipo di matrice
- Concentrazione dei contaminanti
- Concentrazione ossigeno
- Potenziale redox
- Concentrazione di nutrienti →



Tipica cellula batterica:

50% **C**; 14% **N**; 3% **P**; 2% **K**; 1% **S**;
0,2% **Fe**; 0,5% **Ca, Mg, Cl**

La variazione di questi parametri lontano dalle condizioni ottimali influisce sulla resa del processo



Iter delle procedure per la bonifica di aree contaminate:



E poi?

Monitoraggio

➤ **Sulle quantità, tipologia ed attività di microrganismi presenti:**

- Numero di batteri (isolamento e conta su terreno solido, MNP, ecc, BIOLOG assay.)
- Tipi di batteri (PCR 16sRNA, Realtime PCR, ecc.)

- Numero di protozoi

Sono predatori dei batteri. La loro presenza indica una buona crescita batterica.

- Tasso di attività batterica

Si valuta la capacità e velocità biodegradativa in laboratorio rimanendo fedeli alle condizioni in campo.

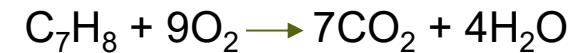
- Adattamento

Si valuta se i microrganismi hanno sviluppato la capacità di degradare un dato contaminante.

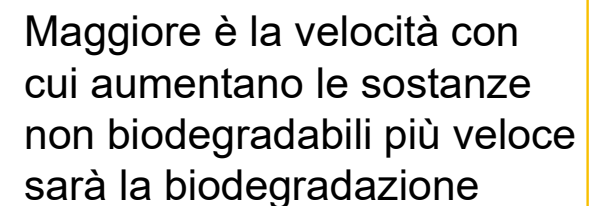
Monitoraggio

➤ Sul tasso di degradazione dei contaminanti e formazione dei prodotti:

- Misurazione del consumo di ossigeno e della produzione/consumo di anidride carbonica.



- Concentrazione di altri accettori di elettroni
- Rilevamento di prodotti di trasformazione specifici, sottoprodotti o intermedi di reazione.
- Rapporto tra le sostanze biodegradabili e non biodegradabili



Maggiore è la velocità con cui aumentano le sostanze non biodegradabili più veloce sarà la biodegradazione

➤ Sulla tossicità di un inquinante

- Test sull'inibizione di enzimi (deidrogenasi, lipasi, ureasi, catalasi, ecc.)

Riassumendo...

La bioremediation viene utilizzata per la distruzione di sostanze chimiche nel suolo, nelle acque sotterranee, nelle acque reflue, nei fanghi, nei sistemi industriali, nei rifiuti e nei gas.

L'obiettivo del biorisanamento è di degradare inquinanti organici portandoli a concentrazioni che sono non rilevabili o, se rilevabili, inferiori ai limiti stabiliti dalla legislazione.

Ciò che rende la bioremediation una tecnica competitiva è il costo che deve essere inferiore o, nel peggiore dei casi, non più costosa di altre tecnologie.



**Arsenic Complicates
Groundwater Bioremediation**

Superfund Research Program

Argomenti del corso: parte 1

Introduzione alla bioremediation

Il cometabolismo

Il suolo e batteri

Bioremediation in situ

Phytoremediation

Bioremediation ex situ