

Argomenti del corso: parte 1

Introduzione alla bioremediation

Il cometabolismo

Il suolo e batteri

Bioremediation in situ

Bioremediation ex situ

Phytoremediation

Bioremediation *ex situ*

Una varietà di tecnologie di bioremediation sono state sviluppate per il trattamento di sostanze chimiche tossiche non nel luogo in cui esse esistono, ma piuttosto dopo la loro rimozione o il trasferimento da quella posizione.

Alcune di queste tecniche sono utilizzate per i siti di smaltimento dei rifiuti, perché il materiale contaminato viene rimosso dalla sua posizione nel suolo, nei sedimenti, o nella falda acquifera:

tali procedure sono considerate *tecnologie ex situ*.

La linea di demarcazione tra procedure *in situ* ed *ex situ* non è sempre chiara perché spesso, come nel caso di bonifica di acque sotterranee con il sistema pump-and-treat, il trattamento viene eseguito immediatamente vicino o sopra il sito contaminato.

Il *biorisanamento ex situ* è comunemente effettuato mediante l'uso di un bioreattore.

Sono stati sviluppati bioreattori per il trattamento di liquidi, solidi o gas.

Tali sistemi sono spesso utilizzati per la distruzione dei residui chimici, di sottoprodotti e di altri rifiuti da impianti di produzione, e sono attraenti a causa del basso costo rispetto ad altre modalità di smaltimento di rifiuti.

Tuttavia, il trattamento *ex situ* è solitamente più costoso di un approccio *in situ*, ma è usato quando l'approccio *in situ* è impraticabile per il tipo di rifiuti o il sito il trattamento.

I maggiori costi di un trattamento *ex situ* rispetto ad un trattamento *in situ* derivano dalle spese di spostamento del materiale contaminato e dal capitale necessario per costruire gli impianti.

Bioreattori

Molti tipi di bioreattori sono utilizzati per la produzione microbica di antibiotici, solventi, amminoacidi, ed altri prodotti di fermentazione.

Alcuni di questi sono stati applicati solo alla distruzione degli inquinanti in siti contaminati o per evitare lo scarico in acque o terreni di effluenti industriali.

La maggior parte di questi reattori sono progettati per il **trattamento aerobico**, e il trasferimento di O_2 al liquido ad una velocità sufficiente a mantenere un'aerobiosi continua rappresenta il costo maggiore di funzionamento.

Sono stati progettati anche **reattori anaerobici** per diversi tipi di inquinanti

Reattori possono essere di due tipi generali:

- **utilizzano la crescita in sospensione dei microorganismi**
- **utilizzano le cellule immobilizzate.**

Nel primo tipo, i microrganismi sono tenuti in sospensione e crescono liberamente in acqua o attaccati al suolo o ai sedimenti anch'essi mantenuti in sospensione.

Questi tipi di reattori possono essere agitati con pale meccaniche o attraverso l'insufflazione continua di aria (sparging).

Alcuni esempi sono i reattori a fanghi, le lagune aerate, e i reattori a fanghi attivi.

Esistono anche reattori in cui le cellule vengono immobilizzate su un supporto e quindi non vengono rimosse quando l'effluente lascia il reattore.

Il supporto può essere fisso o, se è fatto di piccole particelle può essere mantenuto in sospensione (chiamati *fluidizzati*).

Se il supporto è fisso, il flusso dei rifiuti può semplicemente entrare in alto e uscire dal fondo del reattore.

Se il supporto è fluido, le particelle che contengono la biomassa devono essere sufficientemente pesanti da non essere lavate fuori del reattore con il flusso di acqua contenente composti da trattare.

Molti microrganismi naturalmente aderiscono ai solidi utilizzati in questi reattori, e quindi le cellule diventano immobilizzate.

I reattori possono essere in continuo, cioè il liquido o la sospensione contaminata entra e il liquido trattato viene rimosso continuamente.

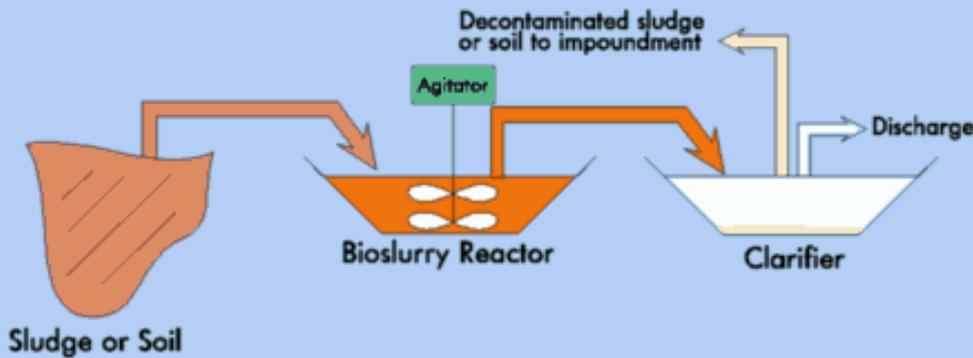
Alcuni trattamenti sono batch.

I sistemi batch sono comuni per il trattamento del suolo, dei fanghi o di altri solidi che richiedono lunghi periodi di tempo per la biodegradazione.

Un grande volume di liquido può essere trattato con un procedimento continuo, ma solo volumi piccoli sono trattati da sistemi batch.

La bioremediation può essere effettuata mediante una varietà di procedure in cui i solidi contaminati si mescolano costantemente con un liquido in un trattamento *slurry-phase*.

Bioslurry Bioremediation System



L'operazione assomiglia alla procedura a fanghi attivati che è comune per il trattamento dei rifiuti urbani:

permette l'aerazione, un'adeguata miscelazione, e il controllo di molti dei fattori che influenzano la biodegradazione



Slurry Bioreactor

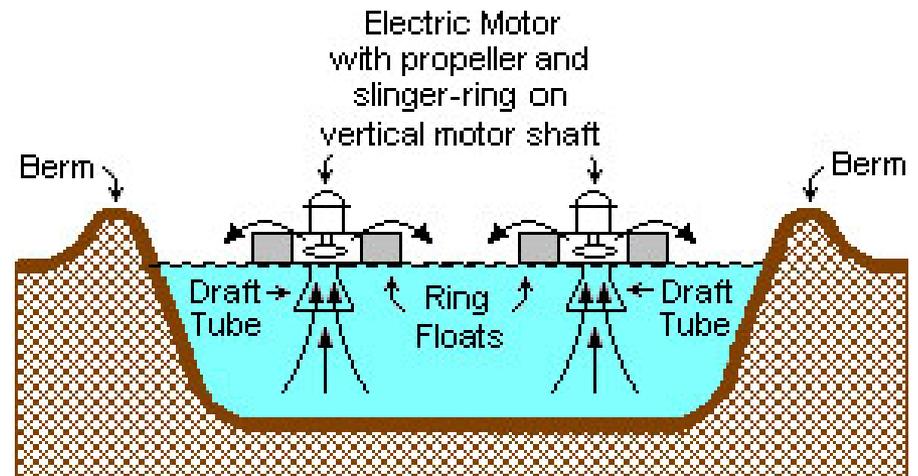
In alcuni casi si possono catturare i prodotti organici volatili che si generano.

Possono essere monitorati e controllati il livello di O₂ disciolto, il pH e la concentrazione dei nutrienti inorganici.

Alcuni bioreattori vengono inoculati con una singola specie oppure con una miscela di microrganismi in grado di funzionare efficacemente nelle condizioni controllate.

A differenza di quello che succede nel *landfarming* in cui la biodegradazione rallenta e talvolta cessa a causa delle basse temperature durante una parte dell'anno, la temperatura nei reattori a fanghi viene mantenuta in intervalli adatti per una rapida biodegradazione.

Anche una piscina o una laguna possono essere utilizzate come reattori a crescita-sospesa. L'aerazione e la miscelazione vengono fatte con agitazione meccanica.



Le lagune aerate sono state impiegate per bonificare rifiuti di raffineria e altri materiali contenenti prodotti petrolchimici.

**Bioremediation of Sludge Rich in Oil and Grease
in an Aerated Lagoon^a**

Compound	Concentration (mg/kg)	
	Initially	At end
Benzene	64.4	1.19
Toluene	19.4	1.14
Ethylbenzene	32.4	0.32
Naphthalene	290	ND ^b
Phenanthrene	150	ND
Pyrene	540	0.03
Anthracene	20	0.02
Benzoanthracene	91	ND
Chrysene	20	ND
Benzopyrene	100	<0.01

Un modo comune di realizzare biodegradazione è quello di utilizzare i reattori in cui le cellule microbiche sono attaccate come film ad una matrice.

Una soluzione contenente le sostanze chimiche attraversa il biofilm risultante, che produce una rapida biodegradazione a causa della elevata densità cellulare.

Una modifica del trattamento a biofilm impiega cellule immobilizzate o fortemente legate.

Le cellule sono immobilizzate collegando saldamente gli organismi o incorporandole fisicamente nella matrice solida.

Le cellule possono essere trattenute da una grande varietà di materiali, tra cui perline di alginato, farina fossile, fibre di vetro cavo, poliuretano espanso ed attivato, e perline di poliacrilammide.

Caratteristica comune a questi sistemi è la maggiore tolleranza delle cellule a concentrazioni chimiche elevate rispetto alle cellule in sospensione.

La maggior resistenza può essere associata con l'assorbimento del substrato sul materiale solido o di immobilizzazione, riducendo così la quantità di inquinante disponibile che potrebbe sopprimere i microrganismi,

Diversi batteri e funghi, ed anche miscele di ceppi microbici sono stati utilizzati come biofilm o in sistemi cellulari immobilizzati, e un certo numero di composti sono facilmente degradati da queste procedure.

Biodegradation of Organic Compounds by Immobilized Cells or Strongly Sorbed Cells

Compound	Immobilizing material or solid phase	Microorganism	Reference
Acrylonitrile	Alginate	<i>Brevibacterium</i> sp.	Hwang and Chang (1989)
Aniline, chloroanilines	Diatomaceous earth	Mixed culture	Livingston and Willacy (1991)
Anthracene	Alginate beads	<i>Trichoderma harzianum</i>	Ermisch and Rehm (1989)
2-Chlorophenol	Alginate beads	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Lewandowski <i>et al.</i> (1990)
Glyphosate	Diatomaceous earth	Mixed culture	Hallas <i>et al.</i> (1992)
4-Nitrophenol	Diatomaceous earth	<i>Pseudomonas</i> sp.	Heitkamp <i>et al.</i> (1990)
PCP	Alginate beads	<i>Arthrobacter</i> sp.	Lin and Wang (1991)
Phenol	Activated carbon	<i>Pseudomonas putida</i>	Ehrhardt and Rehm (1989)
TCE	Alginate beads	<i>Methylocystis</i> sp.	Uchiyama <i>et al.</i> (1995)
Trichloropyridinol	Diatomaceous earth	<i>Pseudomonas</i> sp.	Feng <i>et al.</i> (1997)

Le cellule immobilizzate sono contenute in diversi tipi di reattori per facilitare una rapida biodegradazione. Tali tecnologie sono particolarmente utili per flussi di rifiuti da impianti chimici.

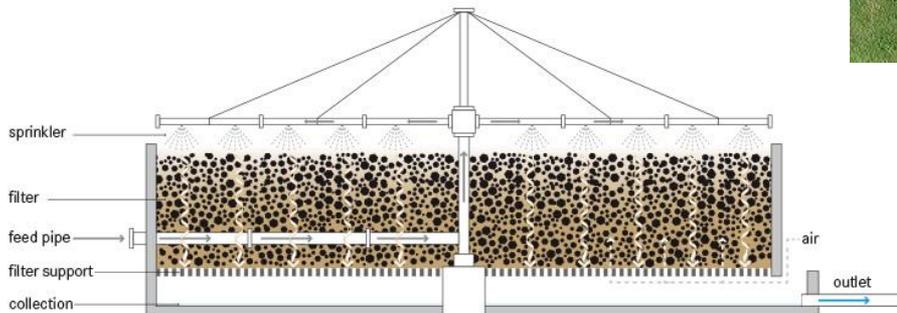
I tipi di reattori che si basano su biofilm o cellule immobilizzate includono:

- **i filtri percolatori (*trickling filter*)**
- **i bioreattori a film fisso (*fixed-film bioreactor*)**
- **i bioreattori rotanti (*rotating-disk bioreactors*)**
- **i reattori a letto fisso (*fixed-bed reactors*)**
- **i reattori a letto fluido (*fluidized-bed reactor*)**

filtro percolatore (*trickling filter*)

E' una tecnologia usata per il trattamento delle acque reflue da circa 100 anni. La soluzione viene gocciolata dall'alto verso il basso sopra il materiale impaccato dove si è sviluppata la biomassa. Gli organismi metabolizzano i contaminanti dell'acqua durante il tempo di passaggio.

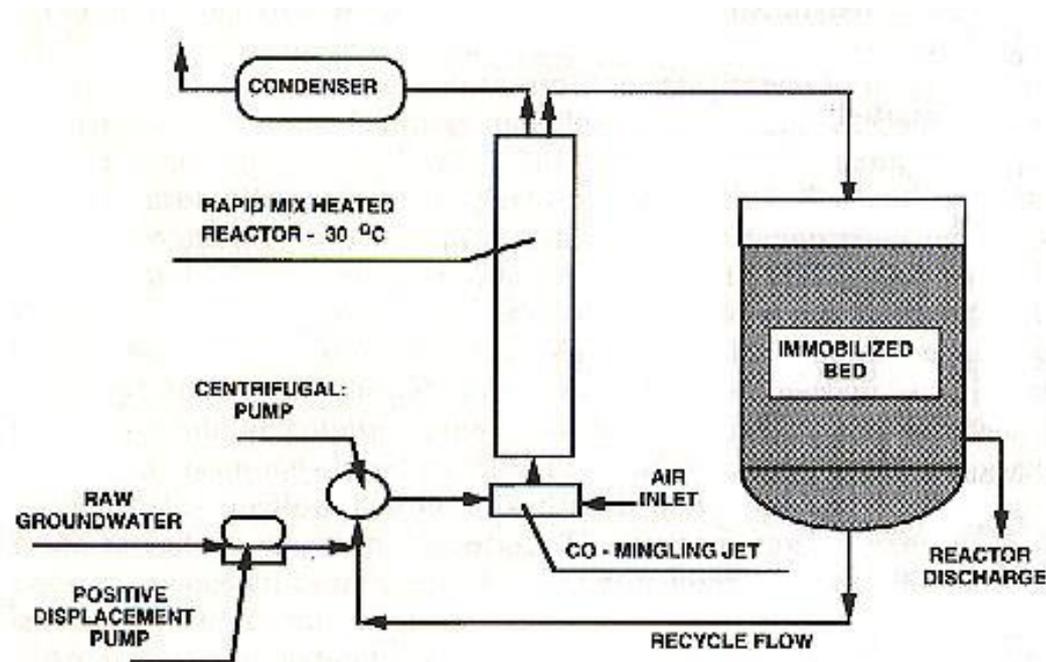
Particolarmente utilizzati per il trattamento biologico aerobico dei reflui.



il filtro percolatore, dove applicabile, è molto utile e conveniente

Bioreattore a film fisso (*fixed-film bioreactor*)

Il reattore contiene un supporto su cui i batteri crescono e si attaccano. Tale supporto ha una grande superficie per consentire lo sviluppo di un'ampia e disponibile biomassa.



Packed-bed reactor for treating groundwater contaminated with halogenated aliphatic hydrocarbons.

Il liquido contenente il contaminante forma uno strato sottile sulla massa cellulare, e i composti diffondono dal liquido al film microbico, dove sono degradati.

Tale approccio è stato utilizzato in campo ed è efficace nella rimozione di > 99% del BTEX e la maggior parte degli IPA dalla falda inquinata.

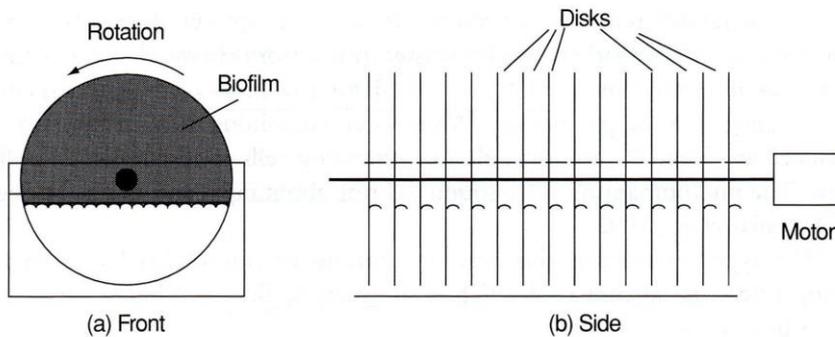
Frequentemente, la fase solida è carbone attivo granulare, che non solo assorbe molte sostanze chimiche organiche, ma anche una base sulla quale si può avere una pellicola microbica altamente attiva.

I microrganismi non solo distruggono molti dei contaminanti in acqua ma prolungano anche la durata del carbone attivo, che altrimenti dovrebbe essere rigenerato prima. Il processo di rigenerazione per consentire il riutilizzo del carbone attivo è costoso. L'efficacia di tale approccio è stata dimostrata in campo per la degradazione di 1,2-dicloroetano, clorobenzene e esaclorocicloesano nelle acque sotterranee.

Bioreattore a disco-rotante (*rotating-disk bioreactor*)

I biofilm sono anche la base per il biorisanamento effettuato dai **bioreattori a disco-rotante (*rotating-disk bioreactors*)**.

Il reattore contiene diversi dischi collegati ad un albero che viene posto orizzontalmente.



(a) Front

(b) Side

A rotating-disk bioreactor.



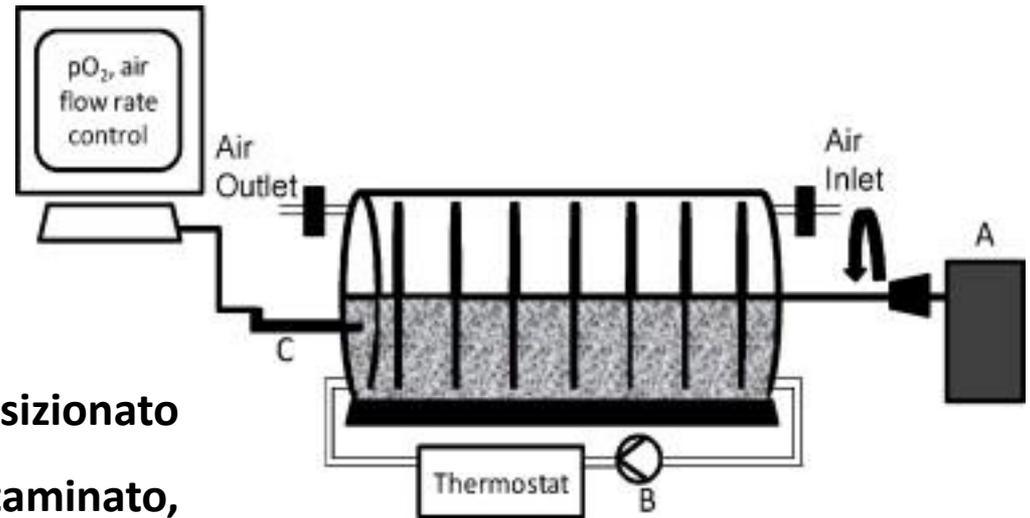
I dischi possono avere un diametro da 1.5 a 3.5 m.

Il biofilm si sviluppa su tali dischi.

L'albero, che è di solito posizionato immediatamente sopra il liquido contaminato, ruota lentamente, e quindi una elevata percentuale del biofilm aderente alle superfici dei dischi è all'interno della fase liquida.

Poiché i dischi ruotano, la parte sopra la fase liquida è aerata, e la biomassa aderente è mantenuta umida anche quando si trova sopra l'acqua a causa del velo d'acqua aderente.

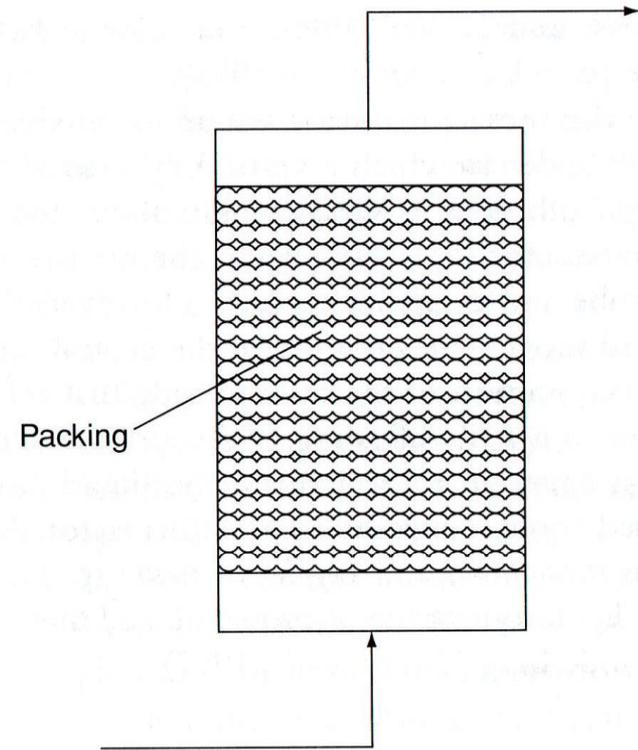
I cilindri e l'albero orizzontale sono in una vasca allungata o in una serie di serbatoi attraverso cui passa l'acqua contaminata.



Reattore a letto fisso (*fixed-bed reactor*)

Un mezzo comune di trattamento delle acque contaminate è il **reattore a letto-fisso** (*fixed-bed reactor*).

In questo tipo di sistema, il reattore è riempito con materiale di riempimento con una superficie sufficientemente grande per il fissaggio della biomassa. Questo materiale può essere terra di diatomee, silice porosa, fibre cave, particelle di plastica, o talvolta semplicemente ciottoli.



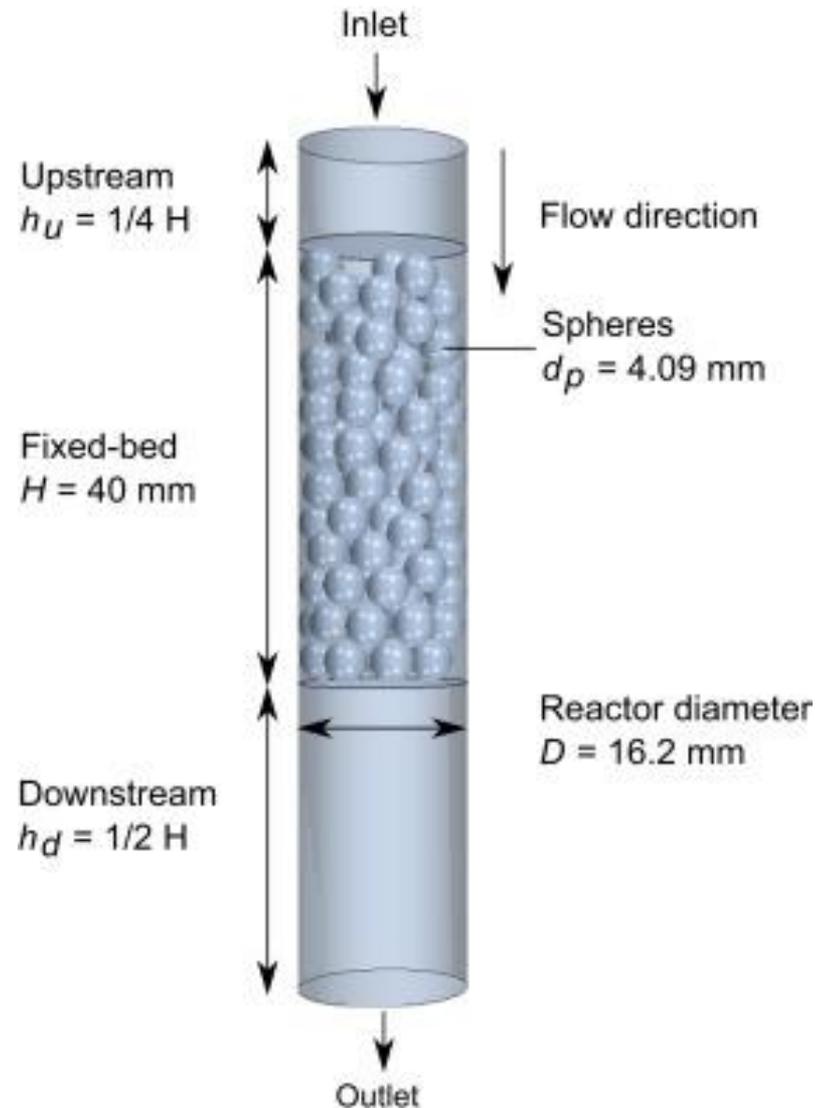
A fixed-bed reactor operating in an upflow mode

Il reattore può essere aperto ad un liquido o ad una corrente di gas in entrata o può essere sigillato.

Il fluido può attraversare il materiale dal basso verso l'alto (up-flow) o dall'alto verso il basso (down-flow).

Alcuni reattori a letto fisso contengono carbone attivo granulare.

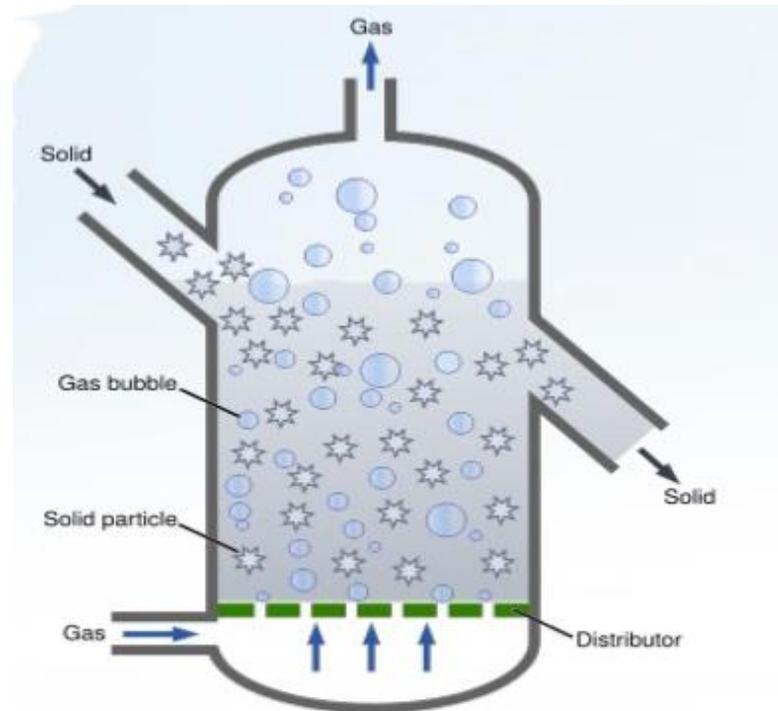
Tali sistemi sono stati utilizzati per il trattamento sul campo di acqua contenente atrazina e simazina dopo inoculo con ceppi di *Rhodococcus* e *Acinetobacter* in grado di degradare questi erbicidi.



Reattore a letto fluido (fluidized-bed reactor)

Questo reattore è ampiamente usato per la degradazione di liquidi contenenti sostanze chimiche di sintesi.

I batteri vengono immobilizzati su piccole particelle all'interno del reattore e queste particelle sono sospese (fluido) con una continua miscelazione o riciclo del liquido nel reattore.



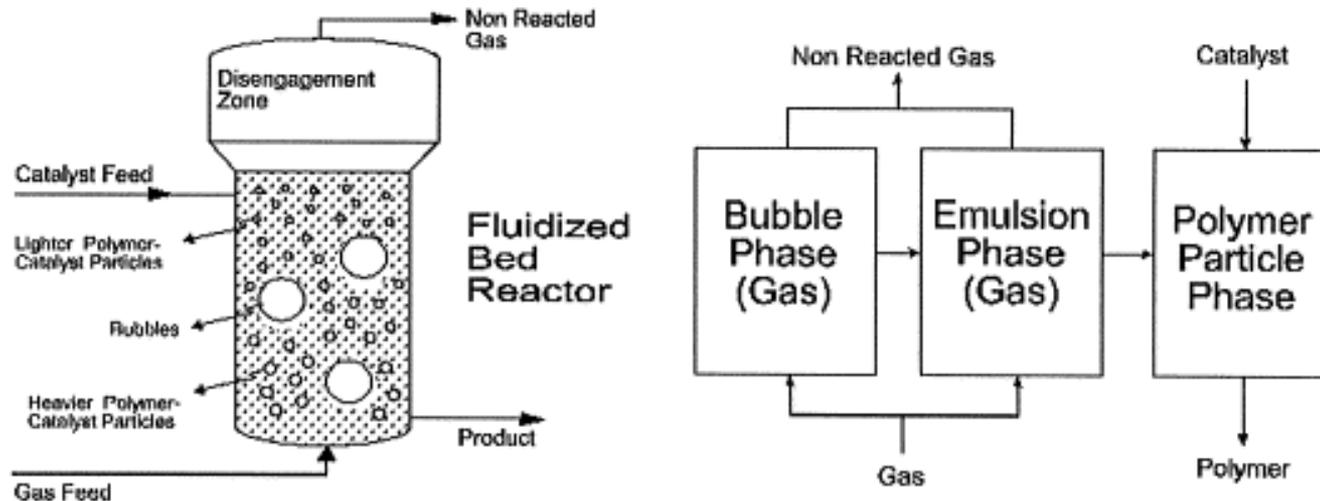
Le particelle possono essere di carbonio attivo, di sabbia, di resina sintetica, di plastica porosa, o di maglia di acciaio inossidabile.

In alcuni casi, la fluidizzazione è data da un gas o da una combinazione di una soluzione acquosa e di un gas.

Il letto fluidizzato non è soggetto al blocco meccanico dovuto dalla grande quantità di biomassa che si produce occasionalmente nei letti fissi.

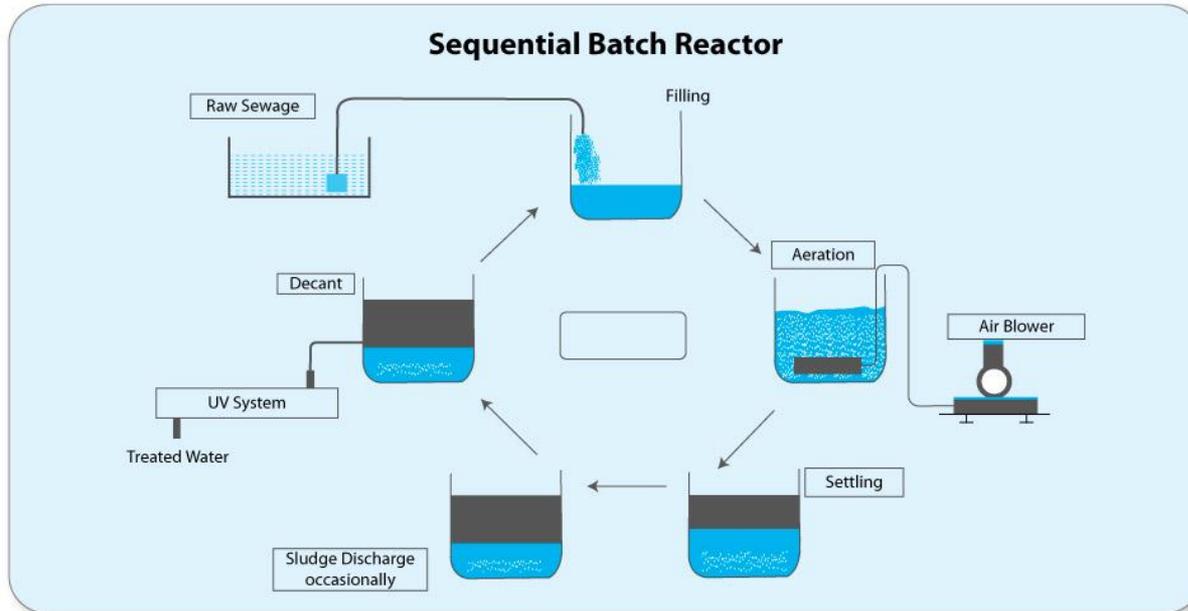
Reattori a letto fluidizzato sono stati utilizzati su scala pilota per il trattamento delle acque di falda contenente BTEX e IPA e dei rifiuti provenienti da un sito di un ex centrale a gas.

In entrambi i casi si è avuta la rimozione > 99% dei composti target.



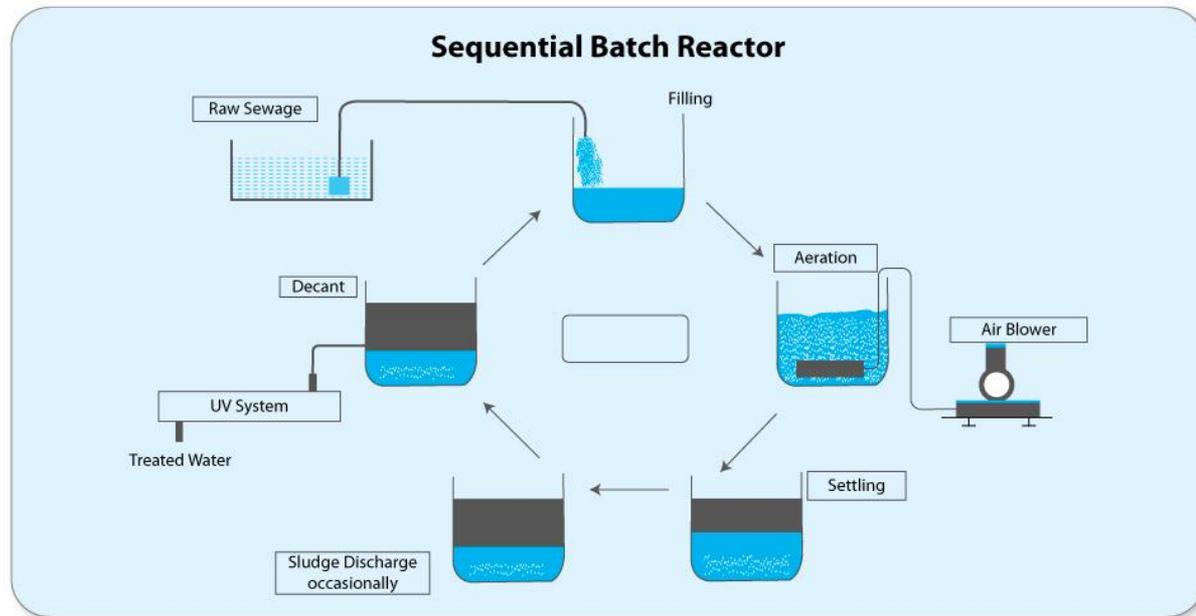
Reattori batch in sequenza (*sequencing batch reactors*)

Sono la base per alcuni approcci alla bioremediation



Con questo sistema all'inizio del processo un reattore contenente una miscela di microrganismi acclimatati viene riempito con il liquido contaminato e si lascia procedere la biodegradazione.

Quando la degradazione sembra essere andata sufficientemente avanti, la biomassa viene fatta sedimentare, il liquido trattato viene rimosso, e viene aggiunta altra acqua contaminata per iniziare un nuovo ciclo.

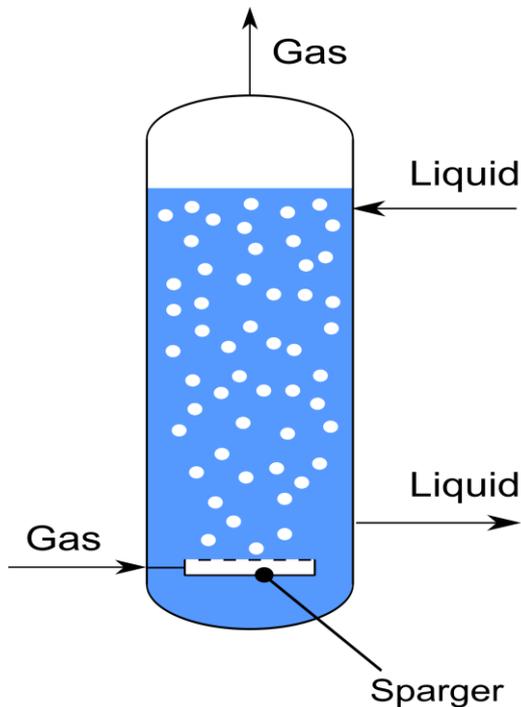


Il reattore può essere aerato, agitato, o entrambe le cose durante il periodo di trattamento.

Reattori batch in sequenza sono stati studiati per l'uso potenziale nel trattamento di tetracloroetilene (TCE) e sono state utilizzate per la distruzione di BTEX e altri componenti di carburante di aereo trovati nelle acque sotterranee.

Reattore con colonna a bolle (*bubble column reactor*)

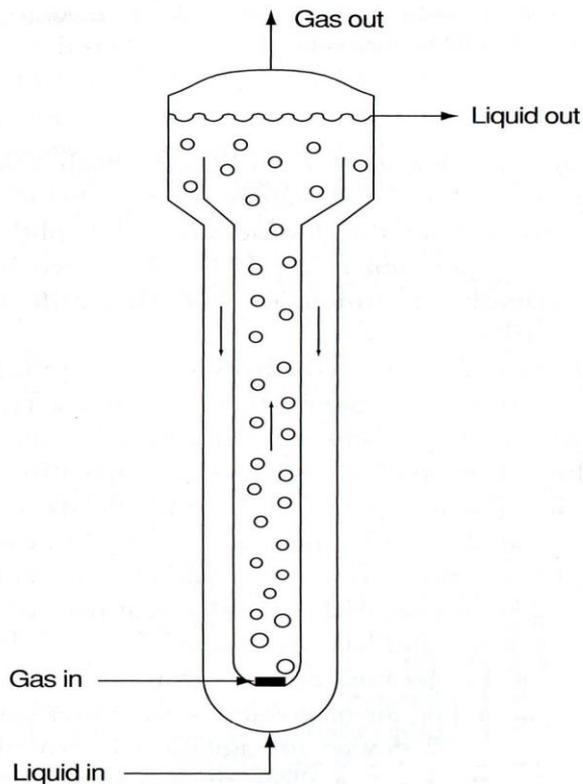
Nel reattore l'aria o possibilmente qualche altro gas vengono strippati attraverso il liquido, e non vi è nessun dispositivo meccanico per l'agitazione.



Lo spruzzatore è collocato nella parte inferiore del reattore per permettere alle bolle di gas di passare attraverso l'intera colonna di liquido.

Questo tipo di sistema è stato testato su scala di laboratorio per la degradazione dell'acido cianidrico con un ceppo di *Pseudomonas* adsorbito su argilla e di toluene con *Pseudomonas putida* immobilizzata su particelle Celite.

Anche il **reattore airlift** (*airlift reactor*) utilizza un sistema pneumatico per la miscelazione.



An airlift reactor.

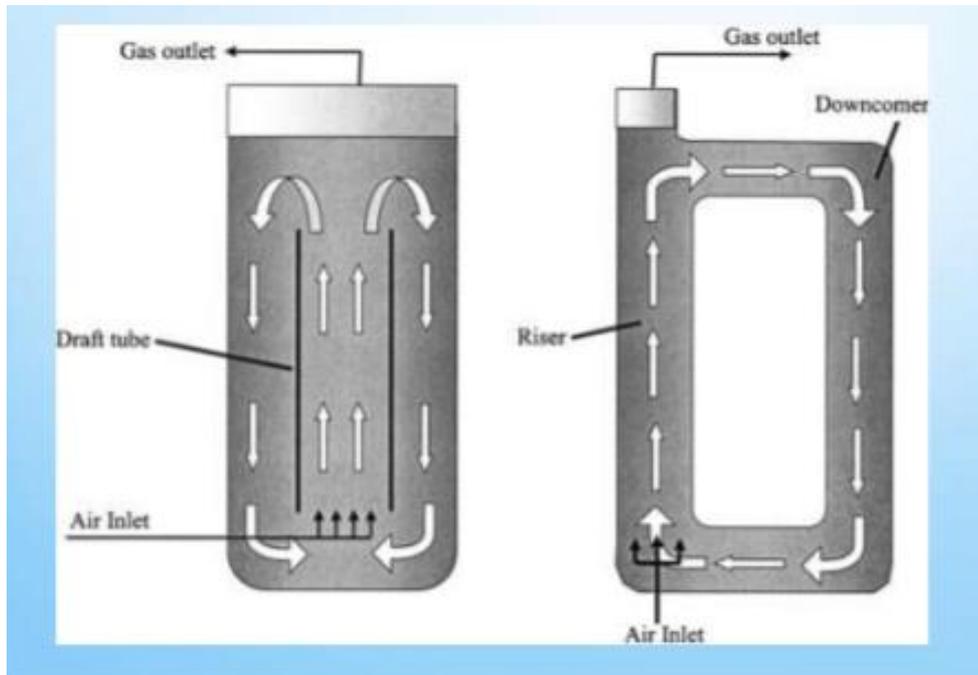
Il reattore è un profondo cilindro in cui è posto un tubo cilindrico verticale.

Tale tubo, che è aperto ad entrambe le estremità, è situato proprio al di sopra del punto in cui l'aria viene introdotta nel reattore.

Le bolle nel flusso d'aria passano attraverso il liquido nel tubo centrale ed escono in alto.

Il movimento dell'aria determina un movimento verso l'alto del liquido nel tubo centrale, che porta alla fuoriuscita di parte del liquido nella parte superiore.

Il reattore **airlift a circuito (airlift loop reactor)** è una modifica del reattore airlift in cui la pompa che viene utilizzata per l'agitazione meccanica fa ricircolare il liquido più velocemente rispetto alla velocità con cui il liquido contaminato viene introdotto nel reattore



Un reattore airlift a circuito contenente *Rhodococcus rhodochrous* e *Hyphomicrobium sp.* è studiato per la decomposizione di diclorometano, 2-propanolo e metanolo usati come solventi per la sverniciatura

Quindi...

I bioreattori vengono comunemente inoculati con singoli batteri, con miscele di specie note, o con una coltura mista.

Questi sistemi ingegnerizzati, in cui vengono favoriti organismi specifici in un brodo abitualmente ben mescolato, di solito sono efficaci .

Questo è in netto contrasto con il frequente esito negativo o talvolta discutibile dell'inoculazione/ bioaugmentation nella bioremediation *in situ*.

Per il trattamento in situ di suoli inquinati e dei sedimenti, i fattori che limitano la crescita delle singole specie batteriche o fungine non sono noti o raramente sono conosciuti.

Il successo di un inoculo per la bonifica *in situ* può essere limitato da:

- **la mancanza di mobilità,**
- **l'assorbimento delle cellule,**
- **la suscettibilità alla predazione protozoica e al parassitismo,**
- **l'incapacità di fare uso del substrato organico adsorbito o sequestrato,**
- **la suscettibilità alle tossine microbiche**

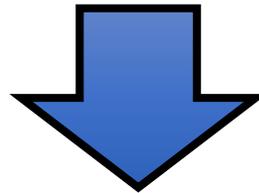
**Nel bioreattore, al contrario, molte di queste limitazioni
non esistono o sono superate**

Biofiltri

I microrganismi vengono anche utilizzati per distruggere una varietà di composti volatili.

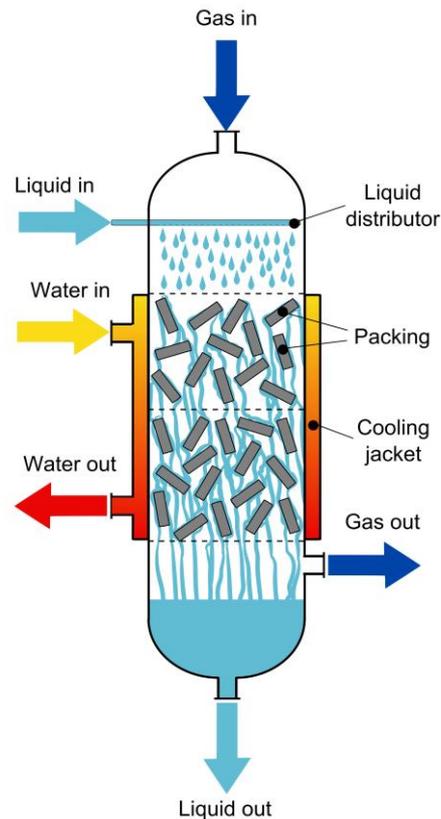
In tali tecnologie, i microrganismi possono crescere su un supporto solido, e una corrente di gas contenente le molecole indesiderate viene passato attraverso il supporto solido.

L'azione microbica porta alla distruzione dei contaminanti.



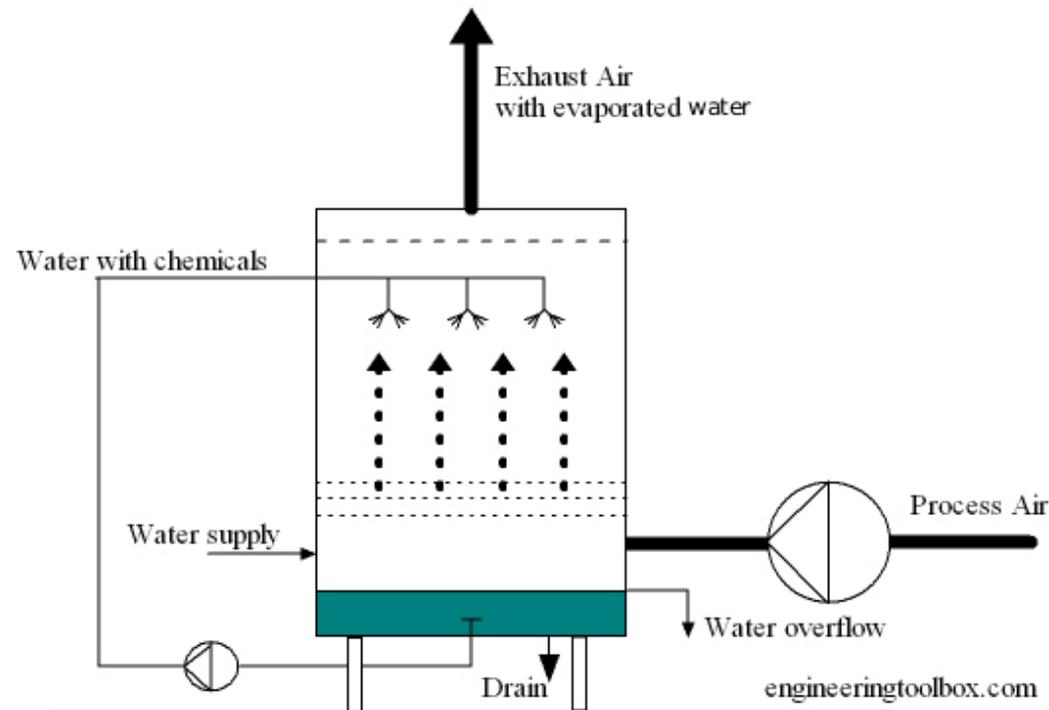
BIOFILTRAZIONE

Un *reattore a gocciolamento (trickle-bed reactor)*, in cui i batteri sono fissati su una colonna, può essere progettato per i composti volatili, con le sostanze chimiche da degradare che percolano sciolte in una soluzione



Simili ai biofiltri sono i **bio-scrubbers**, in cui il gas e l'O₂ passano di solito prima in un'unità in cui le sostanze volatili si dissolvono in acqua.

Quindi la soluzione viene introdotta in un sistema, di solito un impianto a fanghi attivi, in cui i composti organici sono degradati da microrganismi dispersi nella fase acquosa.



Questi sistemi di trattamento sono attraenti a causa

- **della poca energia necessaria,**
- **del costo relativamente basso,**
- **della semplicità di funzionamento, e**
- **della frequente capacità di distruggere i composti a basse concentrazioni.**

La fase solida del biofiltro può essere:

- **torba,**
- **suolo,**
- **materia organica compostata,**
- **segatura,**
- **trucioli di corteccia,**
- **carbone attivo,**
- **particelle di argilla,**
- **terra di diatomee,**
- **vetro poroso.**

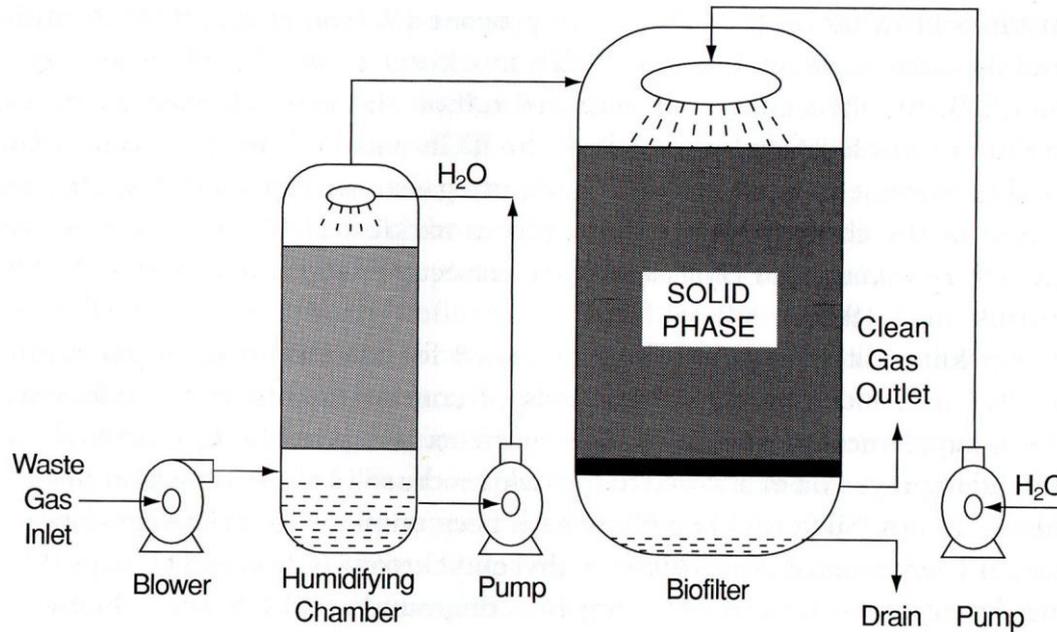
Il suolo e il compost sono fasi solide molto comuni.

Un composto organico volatile, che passa attraverso un letto di suolo o di compost, è dapprima adsorbito dalla fase solida, che deve essere tenuta umida per mantenere l'attività biologica, in seguito la molecola adsorbita è metabolizzata dal film di microrganismi.

Un biofiltro, non sofisticato ma efficace, è semplicemente un letto di terreno posizionato sopra un sistema di tubi attraverso i quali passano le sostanze volatili.

Un gran numero di composti volatili può essere degradato in biofiltri :

naftalene, acetone, propionaldeide, composti volatili di zolfo, toluene, benzene, diclorometano, cloruro di vinile, ammoniaca, esteri e ammine, emissioni volatili provenienti da impianti di trattamento di acque reflue e di impianti di compostaggio.



The design of a typical biofilter.

L'uso della biofiltrazione per il trattamento di composti volatili nel suolo è spesso legata a una tecnica di vuoto o di estrazione del vapore iniziale per spostare i composti dal suolo al biofiltro.

Caratteristiche generali di un biofiltro

L'unità deve avere adeguati nutrienti inorganici, e possono essere presenti importanti sistemi che prevengano l'acidificazione.

La fase solida deve avere una grande superficie per massimizzare l'assorbimento dei composti da trattare e per consentire lo sviluppo di una grande biomassa
e
un'elevata porosità per trattenere l'umidità .

L'inoculo di microrganismi spesso non è necessario perché il supporto solido (ad esempio, compost o suolo) può avere una popolazione sufficientemente attiva o una che si svilupperà rapidamente per produrre una grande biomassa.

Riepilogo – Tecniche di bioremediation

Bioremediation in situ VS Bioremediation ex situ

I Bioreattori: impianti che permettono la degradazione di un contaminante in fase solida, liquida o gassosa, in condizioni controllate.

Tipi di bioreattori:

➤ Con microrganismi in sospensione



- slurry-phase Bioreactor
- lagune aerate
- reattori a fanghi attivi

➤ Con microrganismi immobilizzati



- i filtri percolatori
- i bioreattori a film fisso
- i bioreattori rotanti
- i reattori a letto fisso
- i reattori a letto fluido

Riepilogo – Bioremediation ex situ

Bioremediation in situ VS Bioremediation ex situ

I Bioreattori: impianti che permettono la degradazione di un contaminante in fase solida, liquida o gassosa, in condizioni controllate.

Tipi di bioreattori:

➤ Reattori in continuo

➤ Reattori Batch → • Reattori Batch in sequenza

➤ Con miscelazione pneumatica → • Reattore con colonna a bolle
• Air Lift

➤ Per il trattamento di sostanze volatili → • Biofiltri
• Reattori a gocciolamento
• Bio-scrubbers