Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
119° (2001), Vol. XXV, pp. 553-558

ENRICA GALLI *

Ruolo delle biotecnologie nel recupero ambientale **

Le «Biotecnologie Ambientali» possono essere definite come: «l'applicazione delle biotecnologie alla soluzione di problemi ambientali».

Ciò significa sviluppare biotecnologie per:

— salvaguardare le risorse naturali;
— prevenire i danni ambientali;
— trattare rifiuti solidi e liquidi ed emissioni gassose;
— risanare le aree contaminate.

L'impatto ambientale ha sempre accompagnato lo sviluppo della società umana. Il degrado ambientale come normalmente lo intendiamo oggi è iniziato con la creazione di grandi insediamenti urbani e lo sviluppo industriale.

Il rilascio nell'ambiente di grandi quantità di solventi, fertilizzanti, pesticidi per l'agricoltura, materie plastiche, metalli pesanti e in generale composti di sintesi, attraverso le attività industriali, agricole e domestiche, ha determinato gravissimi problemi di ordine ambientale con pesanti conseguenze sulla salute dell'uomo e in generale per tutti gli organismi viventi.

Negli ultimi anni si è assistito a un notevole incremento nell'utilizzo di tecnologie per il risanamento di aree contaminate: tali trattamenti, infatti, si sono dimostrati efficaci e versatili nel risolvere situazioni ambientali a rischio (Tab. 1).

Il biorisanamento più noto come «Bioremediation» di siti contaminati è il processo biotecnologico che impiega tecniche biologiche di disinquinamento per il recupero di acque e terreni inquinati da scarichi industriali o da petrolio. I sistemi microbici sono i più largamente usati nel biorisanamento di suoli e acque contaminati da inquinanti organici, proprio per sfruttare l'ampia potenzialità metabolica

* Dipartimento di Genetica e di Biologia dei Microrganismi, Università degli Studi di Milano.

** Relazione presentata al Primo Convegno Nazionale della U.N.A.S.A. su «Biotecnologie agroalimentari, industriali, ambientali: problemi e prospettive», Roma, 1-2 ottobre 2001.

Tab. 1 - *Gli strumenti disponibili per la bonifica dei suoli.*

Tecnologie tradizionali	*Tecnologie innovative*
– Incenerimento off-site – Incenerimento on-site – Stabilizzazione/inertizzazione (discarica) – Altre consolidate (neutralizzazione, aerazione, etc.)	– Soil Vapor Extraction – Desorbimento termico – On site bioremediation – In situ bioremediation – In situ flushing – Estrazione con solvente – Declorurazione chimica – Altre innovative (ossidazione cianuri, vetrificazione, separazioni fisiche, etc.)

dei microrganismi, che li rende capaci di degradare una vasta gamma di composti organici mediante un patrimonio enzimatico estremamente versatile.

Il Ministero dell'Ambiente ha emanato il DM n. 471 del 25 ottobre 1999 contenente «Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'art. 17 del Decreto Legislativo 5 febbraio 1997, n. 22, e successive modificazioni e integrazioni». Tale regolamento riporta i «Criteri generali per gli interventi in cui si faccia ricorso a batteri, ceppi batterici mutanti e stimolati di batteri naturalmente presenti», limitatamente a sistemi confinati.

L'emanazione di questo regolamento fa seguito alla legge n. 426 del 14 dicembre 1998, relativa a «Nuovi interventi in campo ambientale», con la specificazione di interventi di bonifica e ripristino ambientale di aree industriali e siti ad alto rischio ambientale comprese in una lista di priorità.

Sono considerati primi interventi di bonifica di interesse nazionale quelli compresi nelle seguenti aree industriali e siti ad alto rischio ambientale i cui ambiti sono perimetrati, sentiti i comuni interessati, dal Ministero dell'Ambiente sulla base dei criteri di cui all'art. 18 comma 1 lettera 12 del decreto legislativo 5 febbraio 1997 n. 22 e successive modificazioni.

— Venezia (Porto Marghera);
— Napoli orientale;
— Gela e Priolo;
— Manfredonia;
— Brindisi;
— Taranto;
— Cengio e Saliceto;
— Piombino;

— Massa e Carrara;
— Casale Monferrato;
— Litorale Domizio-Flegreo e Agro aversano (Caserta-Napoli);
— Pitelli (La Spezia);
— Balangero;
— Pieve Vergante;
— Sesto S. Giovanni (aree industriali e discariche);
— Napoli Bagnoli - Caroglio (aree industriali);
— Pioltello e Rodano.

I contaminanti sui quali, almeno finora, sono stati sperimentati processi biologici sono essenzialmente di natura organica: benzine, gasolio, olicombustibili vari, catrame, cianuri, solventi aromatici come benzene, toluene, xileni, fenoli e composti aromatici clorurati (clorofenoli, policlorobifenili).

Lo sviluppo di queste biotecnologie si basa anzitutto sulla conoscenza delle basi biochimiche, genetiche e molecolari delle vie metaboliche evolute dai microrganismi per degradare i composti organici naturali ed eventualmente utilizzabili anche per la degradazione dei composti introdotti nell'ambiente attraverso le diverse attività umane ed industriali.

All'interno di comunità microbiche naturali si determina una situazione nella quale organismi con differenti «background» genetici hanno l'opportunità di scambiare informazione genica; questo processo contribuisce alla flessibilità genetica delle comunità microbiche del suolo e delle acque.

Gli interventi di bonifica dei siti contaminati possono essere di due tipi secondo la classificazione usualmente adottata a livello internazionale:

— Trattamenti in *situ*: il terreno inquinato viene trattato direttamente sul posto senza essere rimosso; sono stati fino ad ora applicati su scala reale per il biorisanamento di terreni contaminanti da prodotti petroliferi.

— Trattamenti *on site/off site*: il trattamento consiste nella rimozione del terreno inquinato e nel suo trattamento in un impianto in loco (*on site*) oppure in un impianto ubicato in un luogo distante da quello da bonificare (*off site*). Il terreno decontaminato viene poi generalmente riportato nel suo luogo originario.

Questi tipi di trattamento sono stati applicati con successo e su scala reale per il biorisanamento di terreni contaminati da idrocarburi poliaromatici e da pesticidi.

I vantaggi dei trattamenti microbiologici sono:

— costi molto contenuti, soprattutto se paragonati ad altri trattamenti;
— bassi consumi energetici;
— ottenimento di un terreno bonificato biologicamente attivo, quindi «vivo»;
— scarsi rischi di inquinamento delle acque e dell'atmosfera circostante: i contaminanti infatti vengono degradati dai microrganismi e non semplicemente trasferiti da un comparto ad un altro.

I maggiori svantaggi sono:

— la necessità di valutare preventivamente l'efficacia del trattamento microbiologico, con riferimento ai nutrienti richiesti e ai possibili metaboliti;
— la necessità di continui controlli delle condizioni ambientali, perché siano favorevoli allo sviluppo dei microrganismi coinvolti nel processo;
— la scarsa conoscenza della possibilità di biodegradazione di composti xenobiotici e comunque della biodisponibilità dei contaminanti da rimuovere.

Le principali tecniche di intervento *in situ* possono essere così classificate:

— *Bioventilazione*: l'aria insufflata lungo il perimetro dell'area contaminata ha lo scopo di stimolare la biodegradazione aerobica dei contaminanti.
— *Bioinsufflazione*: questo processo comporta insufflazione d'aria compressa direttamente nella porzione contaminata dell'acquifero allo scopo di permettere la biodegradazione aerobica dei contaminanti organici solubili e di trasferire i contaminanti organici volatili nella porzione insatura del terreno, dove verranno degradati mediante un processo di bioventilazione.

Le principali tecniche di biorisanamento *off site/on site* possono essere così classificate:

— *Landfarming*: consiste nella realizzazione di un bacino di trattamento confinato in cui viene ammassato il terreno da decontaminare.
— *Compostaggio*: consiste nella disposizione del terreno da trattare in cumuli o in strati sovrapposti con differenti modalità di areazione.
— *Bioreattori*: il terreno contaminato viene trattato all'interno di bioreattori a tipologia diversa con meccanismi diversi di agitazione, miscelazione e areazione. Trovano applicazione nella degradazione di composti difficilmente trattabili con gli altri processi biologici e in particolare nei casi in cui è necessario operare la decontaminazione con urgenza.

Come si è detto sopra i principali problemi microbiologici connessi con l'applicazione delle biotecnologie di biorisanamento sono legati alla presenza nel sito da trattare di microrganismi potenzialmente in grado di degradare gli inquinanti organici e alla biodisponibilità degli stessi.

Il biorisanamento *in situ* basato su processi naturali di rimozione dei contaminanti viene anche definito «biorisanamento intrinseco». L'accesso dei microrganismi ai contaminanti *in situ* è un fattore critico per il successo del processo; infatti, la biodegradazione di un contaminante *in situ* dipende sia dalle attività cataboliche dei microrganismi presenti sia dall'accessibilità del contaminante alle cellule microbiche dotate della capacità di degradare la molecola inquinante. Quest'ultimo fattore probabilmente è il più importante per determinare il successo di un intervento di biorisanamento.

La strategia di intervento deve tenere conto di tre livelli di conoscenza del sito da bonificare come si può vedere nello schema seguente, al fine di verificare se il trattamento biologico è fattibile o meno (Fig. 1).

È quindi evidente che la realizzazione delle biotecnologie di risanamento è legata alla presenza nel sito da trattare di microrganismi potenzialmente in grado di degradare gli inquinanti. Allo scopo si sono sviluppate tecnologie per il monitoraggio delle comunità microbiche presenti nel sito contaminato. Analogamente si sono sviluppati biosensori per monitorare la presenza di contaminanti nelle aree da risanare e seguire nel tempo la loro rimozione a seguito del processo di biorisanamento.

MONITORAGGIO **di** CONTAMINANTI

biosensori microbici	**saggi immunologici**
Sistemi che accoppiano l'elevata specificità e selettività del riconoscimento biomolecolare con un dispositivo elettronico per tradurre l'evento riconosciuto a livello biomolecolare in un segnale rilevabile	Anticorpi ed enzimi marcati per il rilevamento del livello di inquinamento

RILEVAMENTO e MONITORAGGIO di MICRORGANISMI per il BIORISANAMENTO

Sistemi molecolari per monitorare la presenza e/o moltiplicazione di microrganismi decontaminanti e il livello del processo di biorisanamento

A fianco dello sviluppo delle tecnologie per la bonifica di ambienti contaminati, le biotecnologie microbiche hanno dato anche un significativo contributo alla prevenzione dei danni ambientali attraverso la realizzazione di processi a basso impatto ambientale

La sostituzione di pesticidi chimici con sistemi eco-compatibili può essere raggiunta attraverso:

— utilizzo di enzimi microbici (industria conciaria, tessile e chimica);
— utilizzo di insetticidi biologici in alternativa ai tradizionali insetticidi chimici;
— utilizzo di batteri che promuovono la crescita delle piante riducendo l'uso di fertilizzanti chimici;
— utilizzo dei microrganismi per il controllo di fitopatogeni riducendo l'uso di fungicidi e nematocidi;
— utilizzo di biopolimeri per ridurre l'uso di risorse non rinnovabili (petrolio).

Il ricorso a processi biocatalitici costituisce un altro approccio molto impor-

Caratterizzazione dell'inquinamento	Caratterizzazione idrogeochimica	Caratterizzazione microbiologica
Parametri controllati: - composizione - concentrazione - tossicità - disponibilità - solubilità - valorizzazione	**Parametri controllati:** - proprietà geologiche - conduttività idraulica - direzione del flusso - entità del flusso - presenza di NO_3, $PO_{4,3}$ ecc. - presenza di accettori di elettroni - pH, temperatura	**Parametri controllati:** - dimensioni della popolazione microbica - specifiche attività cataboliche
Domande importanti: - Le sostanze inquinanti sono biodegradabili? - È possibile un trattamento biologico? - La biodegradazione può essere migliorata?	**Domande importanti:** - Le condizioni idrogeologiche sono favorevoli? - Le condizioni ambientali sono favorevoli per la crescita microbica e l'attività? - È richiesta l'aggiunta di sostanze nutritive? - L'ambiente può essere modificato (migliorato)?	**Domande importanti:** - C'è il potenziale biologico per la biodegradazione? - Si può stimolare la popolazione saprofita?

Fig. 1. Livelli di sviluppo caratteristici di un processo di biorecupero e strategia generale con cui se ne valuta l'efficacia.

tante nella prevenzione di danni ambientali. Infatti le bioconversioni sono preferibili alle sintesi chimiche tradizionali per le seguenti ragioni:

— specificità di substrato: un enzima catalizza generalmente un solo specifico step di reazione;
— regioselettività: se sono presenti sulla molecola dei gruppi funzionali, solo una specifica posizione può essere attaccata;
— stereoselettività: se come prodotto di partenza viene usata una miscela racemica, si ha la produzione di uno specifico enantiomero; se inoltre durante il processo appare un centro asimmetrico, la reazione ha prodotto un composto otticamente attivo;
— condizioni di reazione: le reazioni avvengono in condizioni blande (ambiente acquoso senza uso di solventi organici) ed ecocompatibili, offrendo pertanto un ulteriore elemento di interesse rispetto ai processi chimici tradizionali.

In conclusione, dall'esame degli esempi riportati di tecnologie per il recupero ambientale appare chiaro che il presente ruolo delle Biotecnologie Ambientali è prevalentemente quello di bonificare gli ambienti contaminati più che di prevenire i danni ambientali; è auspicabile pertanto che nel futuro ci sia uno sviluppo più avanzato di biotecnologie a basso impatto ambientale.