

Degradazione microbica di fitofarmaci nei processi di *bioremediation*

Roberto Ambrosoli

DIVAPRA, Settore Microbiologia e Industrie agrarie
Università di Torino
Via L. da Vinci 44
10095 Grugliasco (Torino)

I processi di *bioremediation* sono basati sulle attività metaboliche svolte da microrganismi procarioti (batteri) e/o eucarioti (funghi) a carico di composti frequentemente ma non esclusivamente organici, in comparti ambientali diversi (suolo, acque, ed altri). Per comprendere le possibilità offerte all'intervento umano al fine di controllare e orientare tali attività, è necessario tenere presenti alcuni concetti generali sul metabolismo microbico ed in particolare sulla sua fase catabolica (produzione di energia attraverso reazioni chimiche), che è quella fondamentale nei processi di *bioremediation*.

Attacco microbico della sostanza organica.

Tutte le reazioni chimiche cataboliche sono, è noto, reazioni di ossido-riduzione, in cui cioè la produzione di energia (ATP) è il risultato dell'ossidazione di alcune sostanze che fungono da donatori primari di elettroni (composti organici principalmente, ma anche composti inorganici), cui fa inevitabilmente riscontro la riduzione di altre, trasportatori intermedi e accettori terminali di elettroni.

Convenzionalmente, in base alla natura dei trasportatori intermedi e degli accettori terminali, si distinguono 3 forme principali di catabolismo microbico:

- **respirazione aerobia**, in cui il trasporto intermedio di elettroni avviene all'interno della cellula microbica e l'accettore terminale è l'ossigeno presente nell'ambiente (Brock *et al.*, 1995);
- **respirazione anaerobia**, in cui il trasporto intermedio di elettroni avviene all'interno della cellula microbica, come nel caso precedente (sia pure con biochimismi a volte differenti), ma l'accettore terminale è rappresentato da composti ossidati diversi dall'ossigeno, anch'essi reperibili nell'ambiente in cui il processo si svolge (Ehrlich, 1993);
- **fermentazione**, in cui il trasporto intermedio di elettroni avviene all'esterno della cellula microbica, per mezzo di prodotti metabolici "diffusibili", e la funzione di accettore terminale di elettroni è svolta, in varia misura, non da sostanze "esterne" presenti nell'ambiente, ma dagli stessi composti che si producono nel processo di ossidazione dei donatori primari (Brock, *loc. cit.*).

Le 3 forme sono variamente rappresentate nel mondo microbico, potendosi avere microrganismi che si affidano unicamente ad un unico tipo di catabolismo per la propria sopravvivenza (come i funghi, che svolgono prevalentemente respirazione aerobia, o i batteri lattici, esclusivamente fermentativi), oppure gruppi microbici a catabolismo misto, fermentativo o respiratorio (aerobio e/o anaerobio), con maggiori possibilità di adattamento alle diverse situazioni ambientali che si trovano ad affrontare.

I fitofarmaci (e più in generale i composti xenobiotici) vengono coinvolti in questi tipi di catabolismo per lo più come donatori primari di elettroni, ma non infrequentemente anche come accettori. A seconda del tipo di catabolismo di cui sono oggetto, comunque, possono andare

incontro a trasformazioni diverse, di grande importanza ai fini dell'efficacia dei processi di *bioremediation*. Infatti, mentre le due forme di respirazione possono portare entrambe, in condizioni ambientali favorevoli, alla completa mineralizzazione (ossidazione totale a CO₂ e acqua) del donatore primario di elettroni, e quindi alla sua "scomparsa" dal comparto interessato, la fermentazione non è in grado di realizzare questa operazione, in quanto l'ossidazione progressiva del composto di partenza è, per così dire, "contrastata" dalla parallela riduzione dei prodotti dell'ossidazione, che vengono utilizzati come accettori di elettroni e quindi sottratti all'ulteriore produzione di ATP. Tali prodotti ridotti sfuggono all'azione ossidativa dei microrganismi e si accumulano nell'ambiente. Pur essendo molecole più semplici di quelle di partenza, essi mantengono non di rado caratteristiche di tossicità simili (e a volte anche superiori) a quelle dei composti da cui derivano.

Pertanto, a seconda del tipo di catabolismo che le popolazioni microbiche sono effettivamente in grado di attuare nelle condizioni specifiche dei diversi casi di *bioremediation*, i risultati possono essere più o meno accettabili ai fini della rimozione dei composti inquinanti.

Attività microbiche nei processi di *bioremediation*.

Le attività microbiche teoricamente coinvolte nei processi di *bioremediation* vengono classicamente fatte rientrare nelle seguenti categorie (Gianfreda, 1996):

- mineralizzazione
- cometabolismo
- polimerizzazione e coniugazione
- accumulo
- effetti secondari dell'attività microbica

Il loro significato è ormai ampiamente conosciuto anche al di fuori dell'ambito strettamente microbiologico e non richiede quindi spiegazioni. Ciononostante, qualche commento al riguardo può risultare utile.

Ad eccezione dell'inquinamento da metalli pesanti, la maggior parte degli interventi di *bioremediation* riguarda xenobiotici organici. Per questi, ogni trattamento dev'essere finalizzato a indurre o favorire le attività cataboliche che ne realizzano la mineralizzazione totale, perché solo con essa se ne ottiene la reale rimozione dal comparto. Facendo riferimento a quanto affermato nel precedente paragrafo, ciò significa che le attività microbiche realmente utili sono quelle di tipo respiratorio (aerobiche o anaerobiche che siano), verso le quali il metabolismo fermentativo può svolgere per lo più un ruolo di "supporto", contribuendo ad una prima, anche se parziale, demolizione della sostanza organica di partenza o ad una sua detossificazione. Un discorso simile, in termini di occasionale ma non risolutiva utilità, può essere fatto per la degradazione cometabolica degli xenobiotici.

Le attività cataboliche respiratorie sono più redditizie anche perché, a parità di donatore di elettroni, forniscono ATP in misura superiore alle fermentazioni. Permettono quindi lo sviluppo di biomasse quantitativamente più rilevanti e per questo motivo capaci di prestazioni biodegradative più intense. Nel caso della respirazione anaerobica, l'efficienza energetica è fortemente condizionata dalla sostanza che funge da accettore terminale di elettroni, risultando equivalente a quella della respirazione aerobia nel caso, ad esempio, del nitrato o di Fe(III), assai inferiore nel caso invece del solfato e altro.

Dunque il controllo dei diversi fattori ambientali che regolano l'attività respiratoria delle popolazioni microbiche attive è di primaria importanza per l'ottimizzazione degli interventi di *bioremediation*, volti a fornire ad esse, in assenza di ossigeno, i più opportuni accettori di elettroni, oltre ad un adeguato sostegno nutrizionale (nutrienti e/o co-fattori di crescita).

Fattori biologici dell'attività microbica

Non sempre però, anche se le condizioni ambientali sono teoricamente favorevoli, le popolazioni microbiche possiedono la sequenza enzimatica completa per operare quelle reazioni chimiche preliminari (a volte molto complesse, data la complessità delle molecole xenobiotiche) che permettono di trasformare il composto di partenza in un prodotto energeticamente utilizzabile. Se questa trasformazione si interrompe (come nei casi di co-metabolismo), lo xenobiotico viene solo parzialmente degradato e gli intermedi metabolici che risultano possono dare problemi di accumulo e/o tossicità.

Allo stesso modo, una *bioremediation* solo apparente, e comunque non pienamente efficiente, si può avere quando l'effetto del catabolismo microbico porta a fenomeni di polimerizzazione o coniugazione a carico delle molecole inquinanti, o semplicemente al loro accumulo all'interno delle cellule batteriche o fungine.

In assenza di appropriate attitudini cataboliche nelle popolazioni microbiche autoctone, l'immissione nel comparto da bonificare di ceppi microbici opportunamente selezionati (per arricchimento o più modernamente per manipolazione genetica) viene spesso indicata come una pratica di efficacia risolutiva (inoculo o *bioaugmentation*). Essa può essere realizzata mediante l'impiego di colture pure o, più frequentemente, di consorzi, che risultano in genere più efficaci per i sinergismi biodegradativi che possono risultare dalla presenza contemporanea di gruppi microbici diversi.

Oltre che ad integrare le prestazioni della microflora autoctona, la *bioaugmentation* può avere semplicemente lo scopo di accelerare il processo degradativo o ridurre il periodo di adattamento allo xenobiotico da trattare. (Alexander, 1999). Comunque, è sempre necessaria la considerazione di alcuni fattori che regolano nella pratica la portata delle trasformazioni biochimiche teoricamente possibili. Questi sono, essenzialmente:

- biodisponibilità del principio attivo
- bioattività dell'inoculo nelle condizioni operative

E' noto l'effetto adsorbente esercitato da materiali come le argille, o le sostanze umiche, o in generale le sostanze organiche, nei confronti di diverse molecole di fitofarmaci, che vengono in tal modo sottratte al contatto con i microrganismi e quindi all'azione di essi, autoctoni o artificialmente inoculati che siano. La presenza nel comparto da bonificare di materiali con caratteristiche simili può diminuire sensibilmente l'efficacia degli interventi di *bioaugmentation*, fino a vanificarli totalmente.

L'attività dell'inoculo (puro o misto che sia), in sostanza, non è esclusivamente dipendente dalla sua dotazione enzimatica, ma anche dalla quantità del fitofarmaco effettivamente disponibile nelle condizioni reali del comparto da bonificare. Anche in presenza di popolazioni risultate fortemente attive in laboratorio, il risultato biodegradativo può essere nullo o quasi, una volta che vengano immesse (ad esempio) nel suolo, se la molecola da attaccare è in quantità troppo scarsa per sostenere il loro sviluppo (Alexander, *loc. cit.*).

Oltre a ciò, nelle condizioni reali può accadere che la possibile interferenza dell'inoculo artificiale con le microflora autoctone influenzi negativamente l'efficacia della *bioaugmentation* al punto da rendere il consumo del fitofarmaco da bonificare più modesto nei comparti inoculati che in quelli non inoculati, deprimendo cioè l'attività della microflora autoctona anziché esaltarla (Gennari *et al.*, 2002).

Bibliografia citata

Alexander M., *Biodegradation and Bioremediation*, Academic Press, San Diego (USA), 1999.

Brock Th.D., Madigan M.D., Martinko J.M., Parker J., *Microbiologia*, Città Studi Edizioni, Milano (Italy), 1995.

Ehrlich L.H., Bacterial Mineralization of Organic Carbon under Anaerobic Conditions, in *Soil Biochem.*, vol. 8, Bollag J.M. and Stotsky G. Eds, Marcel Dekker, New York (USA), 1993.

Gianfreda L., Disinquinamento biochimico del suolo, in *La risorsa suolo: inquinamento e possibilità di recupero*, AIPEA, Giaveno (To, Italy), 1996.

Gennari M., Ambrosoli R., Nègre M., Minati J.L., Bioavailability and biodegradation of Prosulfocarb in soil. *J. Environ. Sci. Health*, B37 (4), 382-384, 2002.