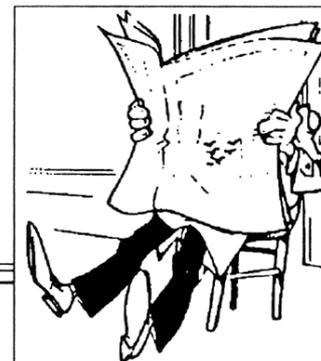

ABSTRACTS



IGIENE AMBIENTALE

- [337] 1- The activity of peracetic acid on sewage indicator bacteria and viruses
- [338] 2- Reduction of microbial levels in sewage effluents using chlorine and peracetic acid disinfectants
- [339] 3- Studio della contaminazione microbiologica negli impianti di emodialisi: primi risultati di una ricerca, valutazioni e prospettive di intervento

SAGGI TOSSICOLOGICI

- [340] 1- Metodi biologici per la valutazione del rischio da microinquinanti organici in ambienti acquatici
- [341] 2- The toxicity, bioaccumulation, metabolism and elimination of dioctyl sodium sulfosuccinate DSS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)
- [342] 3- Use of microbial and toxicant screening test for priority site selection of degraded areas in water bodies

DI TUTTO UN PO'

- [343] 1- Characterization of biofilm development on artificial substratum in natural water
- [344] 2- Use of a geographic information system for selection of sites for land application of sewage waste
- [345] 3- Effects of habitat disturbance on birds communities in riparian corridors
- [346] 4- Adesione batterica e sviluppo di biofilm su superfici solide (I parte)
- [347] 5- Adesione batterica e sviluppo di biofilm su superfici solide (II parte)

BALDRY M.G.C., FRENCH M.S., SLATER D. - 1991

The activity of peracetic acid on sewage indicator bacteria and viruses

Wat. Sci. Tech., 24 (2): 353-357.

[337]



L'attività battericida dell'acido peracetico è stata saggiata in laboratorio miscelandolo a varie concentrazioni con sospensioni batteriche per il tempo di contatto desiderato e procedendo poi, dopo diluizione con soluzione neutralizzante, alla numerazione dei microrganismi sopravvissuti per incorporazione in terreno colturale. Per misurare l'azione biocida sui virus è stata impiegata una tecnica analoga, con numerazione finale mediante conteggio delle placche su colture delle cellule ospiti.

L'ordine di grandezza delle concentrazioni microbiche sottoposte ai saggi è 10^7 cfu/mL per i batteri (*E. coli* e *Streptococcus faecalis*), 10^6 pfu/mL per i batteriofagi anti *E. coli*, 10^5 pfu/mL per i poliovirus, 10^4 pfu/mL per echovirus e coxsackievirus. Le sospensioni microbiche sono state eseguite sia in acqua demineralizzata che in soluzione tampone a pH 5, 7 e 9 e -per saggiare l'influenza della sostanza organica sull'attività biocida- in estratto di lievito 0,4% più sieroalbumina bovina 0,8%.

I requisiti standard ai quali deve soddisfare un buon disinfettante sono una riduzione di 5 unità logaritmiche (cioè 99,999%) in 5 minuti di contatto per i batteri; di 4 unità log in 5' per i batteriofagi; per gli echovirus è di 3 unità log mentre per i coxsackievirus è l'eliminazione totale.

I risultati mostrano che in acqua demineralizzata l'ac. peracetico è molto attivo verso i batteri e i batteriofagi (i requisiti dei disinfettanti sono soddisfatti da concentrazioni di 10-30 ppm) e che tale attività è solo lievemente ridotta in presenza di sostanza organica.

Per echovirus e coxsackievirus sono necessarie concentrazioni di 100-500 ppm mentre i poliovirus risultano più resistenti (fino e oltre 2000 ppm); anche per i virus, tuttavia, la presenza di sostanza organica riduce solo lievemente l'attività biocida; l'efficacia, inoltre, aumenta col tempo di contatto.

Interessante è il confronto con l'attività biocida dell'ipoclorito di sodio sugli stessi ceppi microbici. L'ipoclorito uccide rapidamente i poliovirus in acqua demineralizzata, ma la sua attività è ridotta di un fattore 25 (si passa da 40 a 2000 mg/L di cloro attivo) in presenza di estratto di lievito. In quest'ultima condizione (più vicina a quella del trattamento dei liquami civili) la stessa efficacia sui poliovirus è ottenibile con 2000 mg/L di cloro attivo o con 2250 mg/L di ac. peracetico (pari a 169 mg/L di O_2 libero) per 10' (riducibile a 750 mg/L per un tempo di contatto di 1 h). Inoltre in tale condizione l'attività dell'ipoclorito aumenta solo lievemente col tempo di contatto. Sui batteri e sui batteriofagi l'ac. peracetico risulta più attivo dell'ipoclorito.

Naturalmente le concentrazioni richieste nella pratica per la disinfezione dei liquami sono molto più basse (4-15 mg/L di ac. peracetico) di quelle richieste per soddisfare gli stringenti requisiti dei disinfettanti per uso generale.

Gli Autori concludono rilevando l'attività virucida dell'ac. peracetico e sottolineando i suoi vantaggi rispetto al cloro: scarsa inattivazione in presenza di sostanza organica e, quindi, prolungamento dell'attività anche dopo un'ora di contatto.

G. S.

MORRIS. R. - 1993

Reduction of microbial levels in sewage effluents using chlorine and peracetic acid disinfectants

Wat. Sci. Tech., 27 (3-4): 387-393.

[338]

Al fine di soddisfare i requisiti igienici delle acque marine adibite alla balneazione, nel Regno Unito è fortemente aumentato, negli ultimi anni, il ricorso alla disinfezione chimica dei liquami fognari grezzi o trattati, sebbene oggi l'attenzione sembri spostarsi verso i

trattamenti con raggi ultravioletti.

L'Autore compara l'efficacia disinfettante dell'ipoclorito di sodio (commercializzato col significativo nome "Coastguard") e dell'acido peracetico (commercializzato come Oxymaster). Liquami civili chiarificati per sedimentazione sono stati cimentati con diverse concentrazioni di ipoclorito e di ac. peracetico; dopo 5, 10, 20 e 30 minuti venivano prelevate aliquote della miscela per l'esame batteriologico e per il conteggio dei poliovirus tipo 2 (aggiunti appositamente nei campioni che ne contenevano un numero troppo scarso).

L'ipoclorito, in concentrazioni superiori a 5 mg/L, produceva una rapida riduzione dei coliformi totali e fecali (4 unità logaritmiche in 20') secondo una cinetica di primo ordine. Per il poliovirus, invece, occorrevano 30' per un abbattimento di 2 unità logaritmiche; concentrazioni di ipoclorito inferiori risultavano inefficaci.

L'ac. peracetico mostra un'efficacia analoga sui batteri mentre l'inattivazione del poliovirus, anche dopo 30', era inferiore ad una unità logaritmica; l'inat-

tivazione inoltre era dipendente più dal tempo di contatto che dalla concentrazione di disinfettante suggerendo un meccanismo d'azione che segue una cinetica di secondo ordine.

Entrambi i prodotti risultano dunque efficaci come battericidi e meno efficaci sul poliovirus, soprattutto l'ac. peracetico. Sebbene sia possibile che l'inattivazione prosegua prolungando il tempo di contatto, nella pratica della disinfezione dei liquami tempi superiori a 30 minuti sono spesso improponibili.

Entrambi i prodotti sono capaci di mantenere livelli stabili di disinfettante residuo per 30', ma per ottenere lo stesso livello residuo l'ac. peracetico richiede concentrazioni 10 volte superiori a quelle dell'ipoclorito. Questa considerazione, unita al maggior potere virucida dell'ipoclorito, induce a ritenere che l'ac. peracetico non rappresenti un'alternativa valida all'ipoclorito.

Un aspetto negativo dell'uso dell'ipoclorito su acque contenenti sostanze organiche è la formazione di sottoprodotti clorurati mutageni e/o cancerogeni; gli effetti ecotossicologici dell'ac. peracetico sono, al momento, sconosciuti.

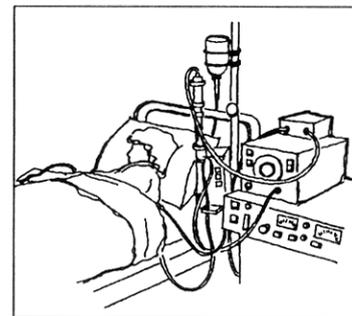
G. S.

CALAMO-SPECCHIA F.P., BUCCI R., DALLA TORRE F., TURNATURI C. - 1993

Studio della contaminazione microbiologica negli impianti di emodialisi: primi risultati di una ricerca, valutazioni e prospettive di intervento

L'Igiene Moderna, 100: 943-962

[339]



Nei reparti di emodialisi esiste il rischio di contaminazione microbica degli impianti da batteri ambientali o portati dagli stessi pazienti. Il sempre più diffuso utilizzo delle cartucce filtranti per rimuovere più rapidamente le tossine dal sangue comporta una maggiore esposizione del sangue a germi contaminanti contenuti nelle soluzioni di dialisi e fa dei pazienti dializzati un gruppo a rischio di infezioni batteriche.

Gli Autori hanno studiato la contaminazione di due impianti di dialisi costituiti da deionizzatore con resine a scambio ionico, filtro in panno all'uscita delle colonne, tubi in PVC per la distribuzione ai monitor dell'acqua trattata. Sono stati effettuati controlli routinari

(mensili) e intensivi (trisettimanali) sull'acqua grezza in ingresso all'impianto, all'uscita del deionizzatore (prima e dopo il filtro in panno) e a livello dei monitor. Nel controllo intensivo i prelievi sono stati effettuati il lunedì mattina (prima della messa in funzione dell'impianto), il Mercoledì e il Venerdì (al termine della seduta di dialisi e prima della disinfezione dei monitor).

Su ogni campione sono stati ricercati i seguenti parametri: carica totale a 32 °C e a 21 °C; gram negativi (con membrana filtrante su Mc Conkey e successiva tipizzazione con API 20 E e 20 NE); sporigeni solfito-riduttori (su Sulphite-Polymyxin-

Sulfadiazine, in giara anaerobica); carica micetica (su Rose-Bengal-Chloramphenicol).

I risultati hanno mostrato una contaminazione microbica non trascurabile degli impianti. È stata riscontrata quasi esclusivamente la presenza di batteri del genere *Pseudomonas* (specie più frequenti: *P. cepacia*, *P. maltophilia* e *P. aeruginosa*) mentre erano assenti gli sporigeni solfitoriduttori: si rientra dunque nel campo delle contaminazioni ospedaliere, con la ben nota capacità di *Pseudomonas* di crescere in condizioni ambientali avverse.

Le cariche batteriche più elevate sono state rinvenute immediatamente a valle del deionizzatore, subito prima del filtro in panno; anche quest'ultimo rappresenta un significativo centro di proliferazione. Il punto debole dell'impianto è dunque il deionizzatore, probabilmente a causa del formarsi di canalicoli di deflusso preferenziale all'interno delle resine, che non permettono a tutta la superficie di scambio di entrare in contatto con i liquidi rigeneranti/disinfettanti.

Il controllo intensivo ha mostrato che le cariche batteriche all'uscita dei deionizzatori, intorno a 1000 UFC/mL nei periodi di attività, subivano una riduzione di breve durata immediatamente dopo la rigenerazione delle resine per poi tornare ai valori tipici della fase di attività. Ciò mette in evidenza l'inefficacia complessiva dell'azione disinfettante della soda e dell'acido cloridrico utilizzati per la rigenerazione.

Un dato emerso dalla ricerca riguarda la scarsa contaminazione delle tubazioni dell'impianto, a valle delle quali sono state registrate cariche sempre più basse di quelle presenti a monte delle stesse; ciò è discordante con quanto riportato dalla letteratura, che indica nell'eccessiva lunghezza e larghezza delle tubazioni fattori favorevoli al ristagno di acqua e la proliferazione di *Pseudomonas*. Viene avanzata l'ipotesi esplicativa che le tubazioni degli impianti in studio siano meno predisposte alle contaminazioni perché in sezione ristretta e con andamento poco convoluto.

P. P.

GUZZELLA L., GALASSI S., MINGAZZINI M., VIGANÒ L. - 1992

Metodi biologici per la valutazione del rischio da microinquinanti organici in ambienti acquatici

Atti V Congr. SItE, Milano, 21-25 sett. 92: 643-646.

[340]

Carenze normative in materia di scarichi (la L. 319/76 prevede l'analisi solo di alcune categorie di composti), carenze conoscitive sui possibili effetti sinergici dei tossici eventualmente presenti e limiti analitici (difficoltà nell'individuare inquinanti molto diversi tra loro e in concentrazioni molto modeste), impongono l'uso di saggi biologici per valutare correttamente la qualità di un effluente.

Gli Autori espongono i risultati tossicologici ottenuti applicando un test multispecie (*D. magna*, test di tossicità acuta a 24 h; *Selenastrum capricornutum*, test di inibizione della crescita algale a 4 giorni; *Vibrio fischeri*, test di inibizione della bioluminescenza a 15' col sistema Lumistox) a 10 campioni di 80 L di acqua prelevati nel fiume Po presso Pontelagoscuro (FE).

I campioni venivano saggati dopo estrazione e adeguata concentrazione dei microinquinanti, rispettivamente con filtrazione su membrana a porosità 0,2 µm (sistema Domnick Hunter) e adsorbimento su

resine XAD-2.

Particolarmente importanti ai fini del risultato del saggio si rivelano le tecniche di concentrazione adoperate: il miglior recupero della frazione tossica è offerto dalle resine XAD-2 a pH naturale e dal Carbopack B che presenta l'ulteriore vantaggio di recuperare due diverse frazioni di tossici fornendo la possibilità di valutare eventuali effetti additivi, sinergici, ecc.

L'analisi dei risultati dei tre test evidenzia complessivamente un andamento tossicologico simile, ma *D. magna* e *S. capricornutum* esibiscono una maggiore sensibilità rispetto a *V. fischeri* e rilevano una risposta tossica correlata alla presenza di erbicidi nei due campionamenti di maggio-giugno '89.

I test multispecie si rivelano quindi determinanti nel valutare più compiutamente la qualità e i rischi tossicologici connessi all'esposizione ad una miscela di inquinanti, altrimenti difficilmente valutabile.

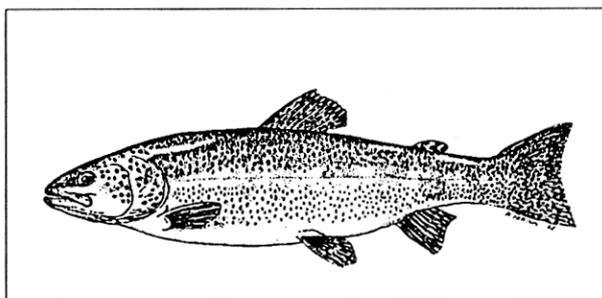
B. B.

GOODRICH M.S., MELANCON M.J., DAVIS R.A., LEGH J.J. - 1991

The toxicity, bioaccumulation, metabolism and elimination of dioctyl sodium sulfosuccinate DSS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Wat. Res., 25 (2): 119-124.

[341]



Il diottilsolfosuccinato (DSS) è un tensioattivo anionico usato in applicazioni industriali (minerarie, tessili, tipografiche), nell'industria alimentare e farmaceutica.

Esso può essere immesso nell'ecosistema, ma la sua tossicità sulle specie acquatiche è stata poco studiata, mentre sono stati condotti studi di tossicità relativi alle larve di crostacei e a oligocheti.

Questo studio offre nuove informazioni sul DSS nelle acque dolci studiandone l'assorbimento, il bioaccumulo e l'eliminazione da parte della trota iridea.

La tossicità acuta (LC_{50}) del DSS nella trota iridea risulta essere pari a 28 mg/l. Le trote sono state esposte a DSS marcato con ^{14}C per misurare il bioaccumulo e l'eliminazione in quattro diversi compartimenti corporei: il sangue, la bile, i visceri e la carcassa. Le trote sono state esposte in condizioni statiche per 72 ore, seguite da 72 ore di depurazione. Campioni di tessuto sono

stati analizzati dopo 2, 4, 12, 18, 24, 48 e 72 ore, sia durante l'esposizione che durante la depurazione. La distribuzione del DSS non è la stessa nelle diverse parti del corpo: il tasso più alto di DSS si è riscontrato nella bile, mentre nel sangue si ha una comparsa rapida ed un tasso inferiore; nelle viscere la comparsa è lenta e il tasso relativamente alto, mentre il tasso minore si ha nella carcassa. L'eliminazione maggiore avviene nella bile e nel sangue. La valutazione del metabolismo del $[^{14}C]DSS$ è stata effettuata usando l'HPLC, seguendo il metabolismo biliare: i due picchi più alti contenenti ^{14}C non erano associati con il picco di DSS capostipite iniettato a causa della presenza di altri metaboliti. La trota non è così sensibile al DSS come gli invertebrati marini, nei quali è stata riscontrata una LC_{50} a 72 ore compresa tra 0,96 e 8 ppm; non si riscontrano inoltre effetti subletali e la letalità si manifesta durante le prime 24 ore di esposizione.

F. S.

DUTKA B.J., JONES K., KWAN K.K., BAILEY H., MCINNIS R. - 1998

Use of microbial and toxicant screening test for priority site selection of degraded areas in water bodies

Wat. Res., 22 (4): 503-510

[342]



È stato considerato un nuovo approccio analitico per valutare le condizioni dell'acqua e del sedimento dei corpi idrici del bacino del fiume St. John (New Brunswick, Canada). Si tratta di un test multiplo che prevede una serie di analisi biochimiche, microbiologiche e biologiche e test di tossicità-genotossicità. Lo scopo è quello di predisporre un'adeguata "batteria di test" che permetta di classificare i corpi idrici (acqua e sedimenti) in base al degrado e stabilire una

priorità per destinarli a ulteriori indagini. I test qui considerati sono i seguenti: Coliformi fecali, *E. Coli*, *Clostridium perfringens*, Colifagi, Streptococchi fecali, steroli, Microtox, ATP algale, *Spirillum volutans*, SOS chromotest, ATP-Tox System.

In questo modo dieci zone del bacino idrografico in esame sono state identificate come zone a "interesse prioritario" per l'inquinamento dell'acqua: quattro di esse presentano rischio sia in acqua sia nei sedimenti.

ATP-Tox System e Microtox, ATP algale e *S. volutans* hanno dato risultati paragonabili, mentre SOS chromotest sembra non dare la massima efficienza. Le conte di Colifagi non mostrano correlazione con i Coliformi fecali. Gli steroli hanno dato poche informazioni utili e potrebbero non essere inclusi nella serie di analisi e comunque non confermano i risultati batteriologici. Questo studio ribadisce che i test batteriologici

e tossicologici, usati singolarmente, non sono sufficienti per decidere realisticamente quali sono le aree che richiedono provvedimenti immediati. È consigliabile l'approccio con una batteria di test: l'obiettivo è quello di individuare un minimo di tre test di tossicità-mutagenicità e due microbiologici come base essenziale del test multiplo.

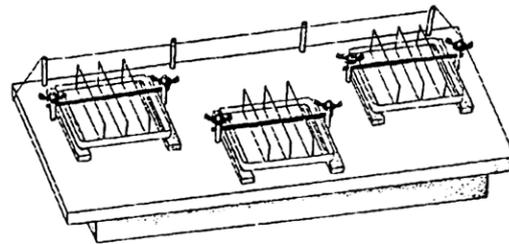
F. S.

LIU D., LAU Y.L., CHAU Y.K. & PACEPAVICIUS G.J. - 1993

Characterization of biofilm development on artificial substratum in natural water

Water Research, 27: 361-367

[343]



I biofilm batterici tendono a predominare negli ecosistemi acquatici con ampie aree specifiche (rapporto fra l'area della superficie del fondo ed il volume d'acqua sovrastante), come i torrenti. Il tasso di crescita del biofilm, inoltre, determina il tasso con il quale i contaminanti ambientali vengono rimossi e degradati in questi sistemi; la conoscenza dei meccanismi di crescita del biofilm è pertanto fondamentale per predire il destino ambientale delle sostanze chimiche nell'ambiente acquatico.

Gli Autori evidenziano la differente composizione e struttura del biofilm formatosi in ambiente interno rispetto a quello cresciuto in ambiente esterno e concludono che l'origine del biofilm naturale è determinata principalmente dall'attività microbica. Affermano che il metodo rapido per la determinazione del contenuto totale in carboidrati da essi proposto è applicabile anche per l'analisi di campioni cresciuti in acqua di mare o in acqua dura.

M. G.

HENDRIX W.G., BUCKLEY D.J.A. - 1992

Use of a geographic information system for selection of sites for land application of sewage waste

J. of Soil and Water Conservation, 47: 271-275.

[344]



Nell'ambito della programmazione del territorio, l'impiego dei GIS (Geographic Information System) si rivela particolarmente utile e vantaggioso per i bassi costi e i rapidi tempi di esecuzione.

Gli Autori offrono un esempio applicativo del GIS nella selezione di siti idonei a quattro tipi di smaltimento di liquami al suolo (uso agricolo a basso dosaggio,

uso forestale a basso dosaggio, flusso superficiale, infiltrazione rapida).

La disponibilità di numerosi dati relativi ad uno studio precedente induceva gli Autori ad esaminare una parte della Mad River Valley (zona centrale del Vermont, California) di 21.016 ettari a topografia variabile, con un territorio misto (zone urbanizzate,

attività agricola, sviluppo forestale).

I dati ricavati da fonti esistenti, venivano computerizzati con un programma dell'Environmental System Research Institute.

Dopo un accurato lavoro cartografico per l'inserimento dei dati, si procedeva ad una valutazione preliminare dell'idoneità fisica, ad una successiva verifica delle restrizioni imposte da vincoli politici e sociali, ed ad una combinazione finale dei risultati ottenuti.

Il calcolo dell'idoneità del sito (E= non adatto; da 0 a 10 rispettivamente scarsa ed alta idoneità) per ciascun parametro fisico (es. altezza della falda, permeabilità e pendenza del suolo, ecc.) in relazione al diverso tipo di smaltimento impiegato, permetteva di tradurre in un punteggio la stima dell'«idoneità fisica totale» (bassa <15, media 15-25, e alta 25-35).

Nella seconda fase venivano mappate le celle topografiche in relazione alle restrizioni politiche e sociali (es. limiti di applicabilità in rapporto all'altitudine < 756 m., alla pendenza < 25%, alla distanza da acque

superficiali, ecc.). La sovrapposizione finale delle due mappe, scartando le celle non adatte per problemi politici e/o sociali, consentiva di valutare il grado complessivo di idoneità dei siti. Rispetto ai metodi manuali tradizionalmente impiegati, lo studio veniva completato in pochi giorni. Nel caso esemplificato l'analisi dei parametri fisici indicava che le percentuali di idoneità (valutata nel range da moderata ad alta) - per gli usi agricolo o forestale a basso dosaggio, flusso superficiale e infiltrazione rapida - erano rispettivamente del 30, 60, 7, e 4%. L'inserimento dei fattori politici e sociali riduceva notevolmente tali percentuali che scendevano al 7, 11, 1 ed 1%.

Gli Autori ritengono che l'uso sempre più frequente del computer e la maggiore capacità di immagazzinare i dati, rendano la tecnologia GIS particolarmente adatta agli interventi che le amministrazioni pubbliche (sia a livello centrale che locale) debbono effettuare nella gestione delle risorse idriche.

B. B.

CROONQUIST M. J., BROOKS R. P. - 1993

Effects of habitat disturbance on birds communities in riparian corridors

J. Soil and Water Conserv., 48 (1): 65-70

[345]



Gli Autori di questo studio, condotto in Pennsylvania tra il maggio 1988 e l'agosto 1989, annoverano i corridoi ripari, ossia le terre "di transizione" adiacenti ai corsi d'acqua, tra i nostri più preziosi ambienti naturali.

È ampiamente dimostrato che attività antropiche quali agricoltura, pascolo e sviluppo residenziale, alterando tali ambienti, influenzano negativamente non solo la qualità dell'acqua e gli organismi acquatici, ma anche le comunità selvatiche terrestri ad essi legate.

All'interno del corridoio l'attenzione viene focalizzata sulle comunità di uccelli residenti e migratori - indicatori di disturbo dell'habitat - allo scopo di determinare come le attività agricole e lo sviluppo residenziale ne influenzino le caratteristiche.

Sono stati esaminati un bacino di riferimento, il White Deer Creek (WDC, 89 kmq), come rappresentativo delle condizioni naturali, e un bacino "disturba-

to", il Little Fishing Creek (LFC, 109 kmq).

Lo studio ha dimostrato che le differenze tra le comunità di WDC e LFC erano attribuibili ai diversi usi del suolo, dal momento che entrambi i bacini appartenevano alla stessa ecoregione ed avevano lo stesso orientamento, simili portata media annuale e vegetazione naturale potenziale.

Ognuno dei corridoi considerati fu suddiviso in tre fasce, la cui massima distanza dall'alveo del corso d'acqua era rispettivamente di 25, 75 e 125 m, e i censimenti degli uccelli venivano effettuati entro le prime ore di luce del giorno.

Le specie classificate furono raggruppate in base ai seguenti parametri:

- dipendenza dall'acqua (strettamente dipendenti, facoltative, ecc.);
- livello trofico (carnivore, erbivore, onnivore);
- specificità dell'habitat (specialiste, generaliste);

- stagionalità (occasionali, residenti, migratrici neotropicali, ecc.);
- stato della specie in Pennsylvania (native, esotiche, ecc.).

In base a tali parametri la comunità ornitica variava significativamente tra i due bacini: WDC, al contrario di LFC, presentava ricchezza e densità specifica elevate in tutte le tre fasce del corridoio.

LFC mostrava ricchezza e densità specifiche basse nella seconda e terza fascia, mentre nella prima, relativamente meno disturbata e con residui di vegetazione spontanea, si osservava una densità addirittura superiore a quella del bacino indisturbato; in quanto unico habitat-rifugio rimasto, in essa tendeva infatti ad addensarsi la comunità ornitica residua dell'intero corridoio fluviale.

I risultati di questa ricerca sottolineano l'importanza dei corridoi ripari per il nutrimento, la sosta e la migrazione dell'avifauna, evidenziando come anche modesti cambiamenti delle comunità vegetali possano originare sostanziali variazioni nella composizione delle comunità ornitiche.

Nonostante la difficoltà di conservare l'ambiente naturale e contemporaneamente soddisfare le esigenze umane, è necessario, per ogni tipo di territorio, individuare e far rispettare le dimensioni ideali del corridoio fluviale, affinché non si ripetano decimazioni come quella che portò in un solo anno alla scomparsa del 93% della densità numerica di uccelli in un corridoio della California, dove la vegetazione naturale era stata rimossa dall'agricoltura e dal taglio degli alberi.

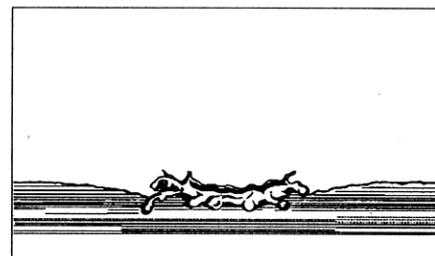
M. M.

DIACO L. ERAMO B. - 1993

Adesione batterica e sviluppo di biofilm su superfici solide (I parte)

Ingegneria sanitaria-ambientale, gcnn.-febbr: 31-43

[346]



La colonizzazione di superfici solide sommerse da parte di microrganismi è un fenomeno di notevole importanza per la sua frequenza nei circuiti di scambio termico, nelle reti di distribuzione idrica e in molti processi industriali.

L'adesione di una cellula batterica ad una superficie solida sommersa dipende da molte variabili. Gli Autori, apportando diverse semplificazioni, utilizzano un modello matematico per studiare l'andamento del fenomeno: i batteri vengono assimilati a particelle ideali, perfettamente sferiche, non deformabili e la superficie solida viene considerata perfettamente liscia e piana.

In queste condizioni le forze di interazione tra le sferette e la superficie possono essere distinte in forze a lungo raggio (elettrostatiche e di London-van der Waals) che agiscono a distanze superiori ai 10 nm e forze a corto raggio che implicano un contatto molecolare, essendo attive a distanze di 1 nm. Le prime regolerebbero la deposizione delle particelle sulla superficie mentre le seconde interverrebbero nella tra-

sformazione dell'adesione da reversibile a irreversibile.

La forza di attrazione a lungo raggio (attrattiva per superfici cariche di segno opposto e repulsiva per superfici cariche dello stesso segno) è inversamente proporzionale all'energia libera di interazione e direttamente proporzionale al raggio della particella ed alla concentrazione di elettroliti nel mezzo. Nelle usuali condizioni di pH la superficie dei microrganismi e quella dei comuni materiali delle tubazioni sono di segno negativo, perciò le particelle che giungono a contatto con la superficie vi aderiscono solo per qualche secondo, poi continuano a mostrare moti browniani mantenendosi a distanze dell'ordine di qualche nm. Nella realtà i microrganismi possono instaurare un legame più saldo con la superficie mediante meccanismi di tipo biologico.

Se la distanza tra particella e superficie è inferiore a 1 nm devono essere considerate le forze a corto raggio, comprendenti i legami chimici (covalente, elettrostatico, legame idrogeno), le interazioni dipolo-

dipolo e ione-dipolo e le interazioni idrofobiche. Nei sistemi acquosi queste ultime sono predominanti. Se entrambe le superfici sono idrofobiche le interazioni a corto raggio conducono ad un'attrazione netta. L'adesione batterica risulta favorita da valori negativi della variazione di energia libera tra cellule e liquido e superficie e liquido rispetto a quella tra cellule e superficie.

Un approccio diverso agli studi sulla bioadesione include il concetto di "bagnabilità"; teoricamente, quel liquido che per primo forma con una superficie un angolo di contatto uguale a zero (cioè che la bagna completamente) ha una tensione superficiale uguale a quella critica della superficie. L'idrofobicità di una superficie è dunque valutabile dall'angolo di contatto formato da essa con una goccia sessile di acqua. Una superficie scabra tende a far diminuire l'angolo di contatto rispetto ad una dello stesso materiale, ma liscia.

Per aderire alla superficie sommersa la cellula batterica deve "spezzare" il legame tra l'acqua e la superficie. Molti batteri di acqua dolce, tra cui *Pseudomonas* ed *Aeromonas*, hanno una maggiore adesività a superfici idrofobiche; *Pseudomonas putrida* mostra anche un'affinità per le superfici cariche, sia positivamente che negativamente: potrebbe esservi coinvolto il legame idrogeno. Il microscopio elettronico ha mostrato che l'adesione si verifica preferenzialmente in corrispondenza delle irregolarità della superficie.

Confrontando il comportamento di due specie di *Pseudomonas* rispetto ad una serie di superfici con diverse energie libere superficiali, è stata osservata una maggiore adesione della specie più idrofobica; la specie meno idrofobica, invece, aderiva sotto forma di aggregati anche quando giungeva in prossimità della superficie come cellule singole.

Il ruolo del pH nel processo di adesione è notevole in quanto esso influisce sul potenziale elettrico superficiale, sia dei microrganismi che del supporto. È stata osservata un'inibizione dell'adesione in assenza di ioni Ca^{2+} e Mg^{2+} . Se si aggiunge al mezzo un chelante specifico per il calcio si verificano il distacco del biofilm dal supporto e la disgregazione dei fiocchi batterici. Il calcio è quindi indispensabile sia per l'adesione batterica su superfici inerti sia per la formazione di legami intercellulari, favorendo legami incro-

ciati tra polimeri extracellulari e mantenendo la struttura terziaria di queste molecole.

Anche le forze idrodinamiche esercitano un'influenza sia sull'adesione batterica che sul metabolismo del biofilm. Le componenti tangenziali idrodinamiche (forze di taglio) sono circa 1000 volte più intense di quelle perpendicolari alla superficie. La velocità dell'acqua ostacola l'adesione, ma crea migliori condizioni per la crescita dei batteri già adesi, aumentando la disponibilità di substrato e di nutrienti. Una volta adesi, i microrganismi rafforzano il loro legame con la superficie: per provocarne il distacco, infatti, occorre una forza maggiore di quella necessaria a prevenirne l'adesione. I microrganismi copiotrofi dotati di motilità, in condizioni di limitazione trofica, riducono le loro dimensioni ed aderiscono alle superfici solide, per poi staccarsene quando substrato e nutrienti tornano a concentrazioni normali.

I batteri producono sostanze polimeriche di natura principalmente polisaccaridica (esopolisaccaridi) che sono sia associati alla loro superficie (glicocalice) che rilasciati nel mezzo; ad esse è attribuita una certa importanza nei processi di bioadesione. Le superfici vengono rapidamente coperte da una secrezione microbica contenente polisaccaridi e che sembra essere la reale superficie colonizzata.

Al microscopio elettronico gli esopolisaccaridi hanno l'aspetto sia di una sottile pellicola adesa alla superficie cellulare (per l'adesione alla superficie) sia di corte fibrille (per la formazione dei ponti intercellulari). La sintesi degli esopolisaccaridi appare un processo legato alla sovrabbondanza del substrato carbonioso rispetto alla disponibilità di nutrienti; ciò è stato dimostrato per i rapporti C/N, C/S e C/P. Anche in questo caso la presenza di ioni inorganici come Ca^{2+} e Mg^{2+} risulta indispensabile sia per la crescita cellulare che per la produzione di esopolisaccaridi. Al contrario, l'assenza dello ione Fe^{2+} ne stimola fortemente la produzione.

Sono stati selezionati mutanti mucoidi con minore adesività del ceppo selvatico e mutanti crenati con minor produzione di esopolisaccaridi e maggiore adesività. Nel caso di *Deleya marina*, invece, il ceppo selvatico, mucoido, possiede elevata adesività, ma non attecchisce su superfici idrofobiche.

Lo *sloughing* è un fenomeno di distacco di ampi lembi di biofilm attribuito a carenze di substrato,

nutrienti e ossigeno negli strati profondi del biofilm. I batteri del biofilm sono in parte metabolicamente attivi e in grado di riprodursi e in parte nello stato inerte, metabolicamente inattivi ma responsabili dell'accumulo della biomassa adesa. Un biofilm cresciuto con scarsa disponibilità di substrato ha una struttura lassa, non pellicolare, ma intricata ed è popolato da microrganismi filamentosi.

Il modello matematico utilizzato dagli Autori tiene conto anche dei coefficienti di resa cellulare (biomassa prodotta per unità di substrato metabolizzata) e dei processi di decadimento endogeno (limitazioni dell'ossigeno negli strati profondi del biofilm che passa così ad un metabolismo anaerobio e variazioni nella produzione di esopolisaccaridi).

P. P.

DIACO L. ERAMO B. - 1993

Adesione batterica e sviluppo di biofilm su superfici solide (II parte)

Ingegneria sanitaria-ambientale, mar-apr.: 77-89

[347]

Le reazioni di degradazione del substrato ad opera dei batteri presenti nei biofilm sommersi, sono eterogenee in quanto si svolgono in presenza di una fase solida, una liquida e una gassosa. Il substrato, nella fase liquida, sottostà a due diversi meccanismi: convezione e diffusione molecolare. Se predomina la convezione, allora la concentrazione di substrato all'esterno dello strato limite è omogenea; se invece predomina la diffusione molecolare, dato il flusso di substrato all'interno del biofilm, all'equilibrio si stabilisce un gradiente di concentrazione all'esterno dello strato limite.

Nei modelli matematici, la concentrazione del substrato esternamente allo strato limite liquido (nel "bulk") viene assunta omogenea; l'interfaccia tra biofilm e fase liquida viene teorizzata come uno strato attraverso cui, essendo praticamente nulla la componente della velocità del fluido ortogonale all'interfaccia, il trasporto di substrato dipende essenzialmente da meccanismi di diffusione molecolare. Il modello di calcolo fornisce uno spessore dello strato limite di 56 μm ; secondo altri Autori, invece, lo spessore sarebbe di circa 30 μm e dipenderebbe dalle irregolarità della superficie del biofilm.

Generalmente si ritiene che il trasporto di substrato all'interno del biofilm avvenga solo per diffusione molecolare. I coefficienti di diffusione all'interno del biofilm sono stati misurati sperimentalmente su biofilm prodotti artificialmente mediante filtrazione di

colture sospese e, per NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- e O_2 , sono stati valutati tra l'80 e il 100% del valore in acqua. Altri Autori hanno osservato che i coefficienti di diffusione non erano costanti, ma dipendevano dallo spessore del biofilm e variavano tra il 40 e il 140% del valore in acqua. Sarebbero le microturbolenze locali, generate dalle irregolarità del biofilm, la causa del fenomeno: gli strati più esterni del biofilm sarebbero dominati dalla diffusione turbolenta; nelle porzioni più profonde, invece, predominerebbe la diffusione molecolare con coefficienti di diffusione attorno al 60% dei valori in acqua.

Per ottenere un'espressione matematica per i processi di trasporto e di rimozione all'interno di un biofilm occorre introdurre delle semplificazioni: la superficie del supporto deve essere piana e definita, impermeabile al substrato e biochimicamente inerte; il biofilm deve essere omogeneo e di spessore uniforme; il substrato deve diffondere attraverso il biofilm secondo la legge di Fick; la cinetica intrinseca di reazione deve seguire l'espressione di Michaelis-Menten; la concentrazione di substrato nel bulk deve essere uniforme.

Matematicamente è possibile costruire un'equazione differenziale di secondo ordine, non lineare, che non ha soluzioni analitiche se non per i casi limite di cinetica intrinseca di ordine zero o uno; per tutti gli altri casi esistono solo soluzioni numeriche. L'integrazione permette di determinare sia i profili di concentra-

zione del substrato lungo lo spessore del biofilm che il flusso di substrato all'interfaccia biofilm/fase liquida (valore coincidente con la velocità di reazione osservata per unità di superficie).

Alcuni Autori hanno sviluppato un metodo approssimativo per risolvere l'equazione attraverso lo studio del comportamento agli asintoti e sfruttando le analogie con le reazioni di catalisi eterogenea. È stata proposta un'espressione che consente di esprimere la velocità di rimozione del substrato in funzione di un parametro, il modulo di Thiele, il cui valore consente una stima dell'importanza relativa dei processi biochimici rispetto ai fenomeni diffusivi.

Nel formulare il modello matematico sulle attività metaboliche che avvengono all'interno di un biofilm sommerso bisogna considerare, oltre ai fenomeni di trasporto ed utilizzazione del substrato, anche i processi di produzione e decadimento della biomassa adesiva. La perdita di biomassa non avviene solo per decadimento, ma anche per distacco; se quest'ultimo fattore è significativo, è opportuno inserire nell'equazione che descrive il fenomeno un coefficiente che comprende anche il distacco.

La biomassa presente allo stato stazionario, infatti, è quella che può essere sostenuta dal flusso di energia in ingresso; lo spessore del biofilm allo stato stazionario può quindi essere calcolato uguagliando il flusso di energia in ingresso alla velocità di decadimento della biomassa.

Un fattore di notevole importanza è la distribuzione delle specie microbiche perché può avere una conside-

revole influenza sulle cinetiche di rimozione dei substrati. Nel caso di ossidazione e nitrificazione simultanea, la competizione avviene per il donatore di elettroni, l'ossigeno. Le due specie convivono nella zona aerobica del biofilm e la loro dinamica di crescita dipende dal coefficiente di resa cellulare, dalla massima velocità specifica di crescita, dalla disponibilità di ossigeno e dalla concentrazione relativa dei substrati carboniosi e azotato. Per questo motivo i microrganismi nitrificanti possono essere esclusi dalle porzioni superficiali del biofilm e venire relegati agli strati più profondi.

Ossidazione, nitrificazione e denitrificazione possono avvenire simultaneamente in caso di parziale penetrazione dell'ossigeno nel biofilm. Il biofilm è dunque stratificato in una zona superficiale entro la quale avvengono le reazioni di mineralizzazione e nitrificazione ed in una anossica, più profonda, in cui avviene la denitrificazione. La concentrazione di ossigeno disciolto, di substrato carbonioso e di azoto ammoniacale nella fase liquida sono parametri fondamentali per determinare lo spessore delle porzioni aerobia ed anossica.

In ambienti microaerofili la nitrificazione e la denitrificazione sono state osservate contemporaneamente, dipendendo dalla pressione parziale dell'ossigeno nella fase gassosa, dalla temperatura, dal tempo di ritenzione idraulica e dal rapporto tra la concentrazione di sostanza organica e quella dell'azoto ammoniacale.

P. P.