

Progetto - Projet

GEREMIA - Gestione dei reflui per il miglioramento delle acque portuali



PRODOTTO: REPORT SULL'APPLICAZIONE DI SISTEMI DI SEGREGAZIONE NELL'AMBITO PORTUALE

PRODUIT: RAPPORT SUR L'APPLICATION DES SYSTÈMES DE SÉGRÉGATION DANS L'ENVIRONNEMENT PORTUAIRE

Partner responsabile - Partner responsable: Università di Genova

Partner contributori - Partenaires contributeurs: Servizi Ecologici Porto di Genova

Nome del prodotto	Redatto da:	Verificato da:	Validato da:
T3.2.1 – Report applicazione sistemi di segregazione nell'ambito portuale	Grazia Cecchi (UNIGE), Francesca Spotorno (SEPG)	Mirca Zotti e Laura Cutroneo (UNIGE), Andrea Dorigo (SEPG)	Marco Capello e Giovanni Besio (UNIGE)

Prodotto n. T3.2.1

Descrizione del Prodotto: In questo prodotto sono censiti i materiali e le tecniche disponibili sul mercato per la segregazione e cattura degli inquinanti insieme ai metodi di risanamento delle diverse matrici ambientali, valutandone l'applicabilità e l'efficacia. Inoltre, si descrivono l'installazione dei sistemi e le loro applicabilità.

Description du livrable: Dans ce produit, les matériaux et les techniques disponibles sur le marché pour la séparation et la capture des polluants sont étudiés, ainsi que des méthodes d'assainissement pour les différentes matrices environnementales, en évaluant leur applicabilité et leur efficacité. En outre, l'installation des systèmes et leurs performances sont décrites.

Sommario

1. Introduzione	1
2. Contenimento e confinamento degli inquinanti	4
2.1 Tipologie di panne	4
2.2 Posizionamento delle panne.....	8
3. Recupero degli inquinanti.....	10
3.1 <i>Skimmer</i>	10
3.2 Altri mezzi meccanici	13
3.3 Prodotti ad azione assorbente e disperdente	14
4. Contaminazione da metalli ecotossici e biorisanamento	16
4.1 <i>Bioremediation</i> (batteri e microalghe) per risanare sedimenti e acque marini contaminati da metalli	17
4.2 <i>Mycoremediation</i> per risanare sedimenti e acque marini contaminati da metalli.....	19
5. Contaminazione da inquinanti organici e biorisanamento	21
5.1 <i>Bioremediation</i> (batteri e microalghe) per risanare sedimenti e acque marini contaminati da composti organici	22
5.2 <i>Mycoremediation</i> per risanare sedimenti e acque marini contaminati da composti organici	24
6. Biorisanamento tramite biosurfattanti	26
6.1 Biosurfattanti in processi di <i>bioremediation</i> in sedimenti e acque marini contaminati da composti organici e/o metalli	27
7. Tecnologie integrate.....	29
8. Bibliografia.....	31

1. Introduzione

Ogni qual volta che si deve fronteggiare una causa di inquinamento o una minaccia improvvisa per l'ambiente marino, le scelte devono avvenire in tempi brevi e solitamente in un clima di emergenza. È necessario quindi che siano ben chiare le priorità di intervento, che fondamentalmente sono:

- limitare l'inquinamento allo stesso luogo in cui si è verificato o nelle più strette vicinanze;
- impiegare i mezzi più efficaci per proteggere la zona intorno all'area dell'incidente, soprattutto per non far uscire l'inquinamento dalla zona portuale e rischiare di contaminare la fascia costiera.

È evidente che le due azioni tendono, con il passare del tempo, a fondersi in una unica fase di intervento, in quanto una causa di inquinamento improvvisa, generalmente si presenta come un evento dinamico.

Ne consegue che le tecniche di intervento possibili sono di tipologie differenti in base a diversi fattori, quali:

- la natura della sostanza inquinante,
- la quantità della sostanza inquinante,
- l'ambiente in cui si deve operare,
- le condizioni meteo-marine.

Attualmente il contrasto derivante dalla presenza di un inquinante in mare, soprattutto quando si parla di idrocarburi, può attuarsi attraverso tre metodologie di intervento seguenti:

- contenimento e recupero del prodotto con l'impiego di panne di contenimento, di skimmers, di battelli ecologici e di pompe;
- applicazione di prodotti ad azione assorbente;
- applicazione di prodotti ad azione disperdente.

La scelta della metodologia più adatta al caso concreto, o di una combinazione di esse, è fondamentale nel determinare la buona riuscita dell'intervento, nel massimizzare la quantità

Prodotto n. T3.2.1

di prodotto recuperato e nel minimizzare l'entità delle conseguenze ambientali, economiche e sociali dell'inquinamento.

Le tecniche notoriamente utilizzate durante gli interventi di lotta all'inquinamento marino sono riportate di seguito:

Confinamento: si segrega la fonte inquinante nella zona oggetto dell'inquinamento, e nel caso la si indirizza dove sia possibile conseguire un più facile contenimento dello sversamento. Il confinamento può avvenire con l'impiego delle panne galleggianti. Il loro posizionamento viene operato o con lo stesso mezzo che poi effettuerà la raccolta (es. *rec-oi*) o con l'ausilio di altra imbarcazione.

Contenimento: consiste in qualsiasi intervento finalizzato a contenere lo spandimento del prodotto sversato.

Bonifica: è il complesso delle azioni messe in atto allo scopo di ridurre l'inquinamento, nonché ripristinare, per quanto possibile, le preesistenti condizioni delle aree, dei luoghi e dei beni colpiti dall'inquinamento.

Rimozione: Prevede, in teoria, la totale eliminazione dal mare dell'inquinante. Essa può avvenire attraverso l'utilizzazione di mezzi meccanici, materiali assorbenti o prodotti chimici.

Dispersione: si avvale dell'utilizzazione dei disperdenti che agiscono in base ad un principio di azione fisico, provocando il frazionamento del petrolio spezzandone la coesione molecolare, aumentando la superficie di separazione petrolio/acqua e, quindi, favorendo e accelerando fino a 1000 volte il processo di metabolizzazione del petrolio da parte dei batteri ubiquitari presenti nel mare. Viene utilizzata come *extrema ratio* a causa del suo impatto sull'ambiente marino.

Passato il momento dell'emergenza, si instaurano le azioni di recupero e ripristino dell'ambiente impattato per bonificare il sito e riportarlo quanto più possibile in una condizione simile a quella originale. Una recente promettente alternativa alle tradizionali

Prodotto n. T3.2.1

tecnologie chimico-fisiche di bonifica consiste nell'insieme di tecnologie note con il nome di *bioremediation*, in cui alcuni organismi, ed in particolare le loro attività metaboliche, sono sfruttati da un lato per interagire con i metalli ecotossici, migliorandone così la mobilizzazione e la solubilizzazione, e dall'altro per degradare inquinanti organici. Tra gli organismi maggiormente sfruttati per questi scopi vi sono i microrganismi, in particolare batteri, microalghe e funghi. A seconda dei soggetti impiegati, le tecniche di biorisanamento assumono definizioni differenti: *bioremediation sensu strictu*, qualora siano impiegati batteri e microalghe; *mycoremediation* nel caso in cui siano impiegati funghi.

Le strategie, quindi, sono molteplici e dipendono non solo dai microrganismi impiegati, ma anche dalle condizioni che vengono create per stimolare il metabolismo microbico stesso. A questo proposito, esistono due approcci principali: la *bioaugmentation*, in cui vengono inoculati ceppi microbici specifici nella matrice da bonificare, e la *biostimulation*, in cui il metabolismo della comunità microbica autoctona (già presente nella matrice e/o ambiente da bonificare) è stimolato dall'inoculo di substrati specifici ricchi di nutrienti. Recentemente, sono state sviluppate e modellizzate diverse tecniche; tuttavia, a causa della natura e/o del tipo di inquinante e dell'ambiente in cui esso è presente, non esiste un'unica metodologia applicabile. Molti studi hanno dimostrato che i microrganismi naturalmente presenti negli ambienti inquinati (autoctoni) sono la chiave per risolvere la maggior parte delle sfide associate al biorisanamento di sostanze tossiche in quanto più adattati alle difficili condizioni ambientali in cui si trovano. I microrganismi che popolano nicchie ecologiche estreme si sono evoluti e prosperano in questi ambienti come conseguenza della persistenza, dell'adattamento e della specializzazione, fungendo da serbatoi di genotipi e fenotipi specializzati. Questa plasticità fenotipica e genotipica rende i microrganismi estremofili promettenti dal punto di vista biotecnologico perché sono adattati ad ambienti sfavorevoli e forniscono cellule, enzimi e sistemi catalitici efficienti in condizioni estreme. Grazie alle loro caratteristiche fisiologiche ed enzimatiche uniche, questi microrganismi forniscono potenziali applicazioni per il risanamento di suoli, sedimenti e acqua contaminati da inquinanti tossici.

2. Contenimento e confinamento degli inquinanti

La prima operazione da mettere in atto nel caso di un'emergenza è quella di confinare l'inquinante mediante l'utilizzo di panne.

L'applicazione delle panne di contenimento si esegue nei casi in cui si voglia:

- prevenire che una fuoriuscita si espanda e consentirne il recupero con skimmer e unità navali adeguate;
- proteggere tratti di costa o ambienti sensibili;
- deviare la macchia oleosa lontano da zone sensibili o in aree dove è previsto il recupero.

2.1 Tipologie di panne

Le panne consistono in una barriera galleggiante che impedisce il movimento della massa di inquinante sulla superficie del mare e quindi la sua espansione. Esse sono composte generalmente da un bordo libero che impedisce il passaggio del materiale al di sopra, una gonna che impedisce il passaggio sotto il livello dell'acqua, una riserva di galleggiamento che sostiene l'attrezzo, zavorre per piombare la gonna e tenerla in posizione verticale, sistemi di accoppiamento per connettere diverse sezioni.

La capacità delle panne di trattenere gli inquinanti viene determinata dal comportamento dell'attrezzatura in relazione al movimento dell'acqua. Devono quindi avere una conformazione tale da resistere alle onde e trattenere gli idrocarburi. Devono essere flessibili per conformarsi al moto ondoso, ma anche sufficientemente rigide per trattenere gli idrocarburi. Nessun tipo di panna è in grado di essere efficiente con una corrente dell'acqua superiore a 1 nodo che agisce perpendicolarmente alla sua superficie.

Esistono diverse tipologie di panne, diversificate a seconda della loro conformazione e dell'uso. Possono, quindi, essere divise in:

Prodotto n. T3.2.1

Panne rigide portuali e per ambiente confinato (porti, bacini ecc.): costituite da una striscia di materiale rigido o semi-rigido (PVC o altro materiale plastico a cui sono unite delle piccole camere di galleggiamento in schiuma) che funziona da barriera verticale che confina gli inquinanti galleggianti. Sono facili da installare, veloci da posizionare, maneggevoli, resistenti ai danni, facilmente stoccabili anche in piccoli spazi e hanno una struttura semplice con costi generalmente bassi. Come svantaggi presentano una bassa adattabilità al profilo dell'onda causata dalla rigidità longitudinale, una scarsa spinta di galleggiamento. Inoltre, tendono a posizionarsi orizzontalmente in presenza di vento, corrente e onde.



Panne rigide

Panne a cortina (mare aperto, elevato idrodinamismo): provviste di gonna flessibile libera di muoversi indipendentemente dai galleggianti. Hanno galleggiabilità dovuta ad una camera gonfiata ad aria o gas inerte, o cilindri di schiuma che può essere flessibile, solida o granulare. Esistono anche con camera d'aria auto espandente e che quindi si gonfia autonomamente.

Le panne a cortina a galleggiante solido hanno la riserva di galleggiamento costituita da cilindri rigidi in schiuma a cellule chiuse, inseriti in tasche. Alla loro base c'è generalmente un cavo o una catena che permette di tenere tesa la gonna. Questo tipo di panne sono

Prodotto n. T3.2.1

resistenti alle forature, ma sono poco flessibili e si adattano male al profilo dell'onda. Inoltre, sono difficili da stoccare e da maneggiare.



Panne a cortina a galleggiante solido

Le panne a cortina gonfiabili sono provviste di camere gonfiabili che danno la riserva di galleggiamento. Solitamente costituite in PVC, poliuretano o neoprene/nitrile. Le camere di galleggiamento sono dotate di valvole di gonfiaggio e a volte anche di valvole di sfogo. Catene o pesi di piombo forniscono il peso verso il basso. Questo tipo di panne segue bene il profilo dell'onda e richiedono piccoli spazi per lo stoccaggio e il trasporto dal momento che possono essere gonfiate in loco. Per contro hanno lo svantaggio che un singolo foro pregiudica il funzionamento di un intero tratto di panne e inoltre il loro posizionamento risulta essere lento, a causa dei tempi necessari al gonfiaggio.



Panne a cortina gonfiabili

Infine, le panne a cortina autogonfiabili sono costituite da PVC o poliuretano, hanno forma simile a quelle gonfiabili. In questo caso però la camera di galleggiamento ha un meccanismo di auto-espansione che è costituito da una specie di molla metallica che la fa gonfiare quando viene srotolata. Alla base vengono posizionati pesi e catene. Questo tipo di panne non è soggetto a forature e i tempi di autogonfiaggio sono brevi. Sono inoltre maneggevoli e il loro posizionamento in mare è veloce e richiede poche unità di personale. Per contro hanno una riserva di galleggiamento poco stabile.



Panne a Cortina autogonfiabile

Panne per ambienti intertidali (acque basse soggette ad escursione di marea): necessarie quando lo schema di posizionamento prevede il loro punto di inizio dalla costa, dove l'onda e l'escursione di marea renderebbero inefficace l'applicazione delle altre panne. Sono composte da tre camere affiancate, quella superiore è riempita d'aria e le due inferiori di acqua. Quando la marea cala si appoggiano sul fondo, così da sigillare la zona di litorale da proteggere.



Panne intertidali

Le caratteristiche tecniche e costruttive delle panne sono varie e ogni tipo si adatterà meglio a determinate condizioni ambientali e operative. I parametri fondamentali per la scelta del tipo di panna sono quelli dell'ambiente in cui andranno usate e quelle delle condizioni meteo marine che dovranno affrontare.

Bisogna inoltre valutare l'eventualità che esse debbano sopportare e trattenere anche detriti che possono danneggiarle, per cui è richiesta una certa resistenza alla foratura e allo strappo.

Infine, si devono valutare gli aspetti operativi, come per esempio prevedere se le panne dovranno essere trainate, con che mezzi si dovranno disporre e in che modo.

2.2 Posizionamento delle panne

Il miglior modo di posizionare le panne dipende principalmente dallo scenario e dalle condizioni meteo che si devono fronteggiare. Inoltre la previsione di come verranno disposte le panne serve per calcolarne la quantità necessaria.

I metodi di posizionamento normalmente utilizzati sono i seguenti:

Accerchiamento: consiste nel circondare la fonte della perdita. Se questa è una nave è necessaria una lunghezza complessiva di almeno tre volte la sua lunghezza. Se la nave è in prossimità della costa, della banchina o di un'altra nave, questi ultimi possono essere usati come parte della barriera. Se ci si trova in prossimità della banchina si possono adottare anche sistemi di ancoraggio delle panne ad essa, attraverso appositi binari in cui

Prodotto n. T3.2.1

far scorrere le estremità delle panne, così da rendere stagna la segregazione. Questa tecnica viene solitamente utilizzato nelle prime fasi di uno sversamento per scongiurare la diffusione dell'inquinante, confinare le fuoriuscite e favorire il recupero. Questa disposizione è usata preferibilmente in acque confinate e protette a causa delle condizioni meteo marine.

Waylaying: viene usata quando non si dispone della quantità sufficiente di panne e non si può circondare completamente la fonte dello sversamento. È comunque possibile arginare e catturare l'inquinante prima che esso si espanda dalla fonte di rilascio. Le panne vengono disposte sotto corrente ad una certa distanza per intercettare il prodotto.

Deviazione: si ottiene disponendo in sequenza le panne in posizione angolate rispetto alla direzione della corrente. In questo modo la chiazza può essere deviata per evitare che entri in contatto con zone sensibili o convogliata verso posizione dove sia più agevole il recupero.

Traino: le chiazze di idrocarburi alla deriva possono essere intercettate trainando una linea di panne tra due imbarcazioni che procedono appaiate (U) o sfalsate (J). Nella zona di accumulo verrà impiegato uno skimmer per il recupero dell'olio. In tal caso si parla di operazioni integrate di contenimento e recupero. Il traino deve essere fatto nel verso della corrente per diminuire la velocità relativa tra acqua e panna, ed evitare così i fenomeni di perdita di efficienza.

Contenimento: consiste nel circondare la chiazza con le panne tenendole ancorate al fondo. Se la corrente è troppo forte per cercare di fermare la chiazza attraverso il sistema di panne ancorate, queste ultime, chiuse ad anello vengono liberate e fatte scarrocciare insieme alla chiazza (contenimento in corrente). In questo modo si prevencono fenomeni di drenaggio.

Disposizione multipla: quando si verificano fenomeni di drenaggio dovuto alla corrente elevata è necessario appaiare ulteriori file di panne sottocorrente alla prima fila. È preferibile predisporre una seconda o terza linea di panne anche in condizioni ritenuta buone se possibile.

3. Recupero degli inquinanti

Dopo aver provveduto a confinare e contenere l'inquinamento solitamente si interviene con la fase di recupero.

Esistono varie tecniche per il recupero degli inquinanti in mare, queste si basano principalmente su metodi meccanici o chimici. Di seguito descriveremo i principali dispositivi ad oggi utilizzati nelle attività di disinquinamento.

3.1 Skimmer

Gli *skimmer* vengono definiti come pompe aspiranti per il recupero di idrocarburi dalla superficie del mare, attrezzature specifiche montate su natanti per aspirare-raccogliere idrocarburi (ENI) o dispositivi in grado di separare per scrematura inquinanti galleggianti su un liquido (CNR).

Gli *oil skimmers* sono dispositivi progettati per separare e recuperare liquidi oleosi emulsionati in una massa d'acqua o galleggianti su di essa.

Essi basano sempre il loro funzionamento sulla differenza di peso specifico e di tensione superficiale dei fluidi da separare.

Esistono intere navi *skimmer* oppure possono essere dispositivi ausiliari con cui dotare navi o battelli d'appoggio.

I fattori che determinano il tipo di *oil skimmer* da usare e i metodi di intervento sono:

- il teatro d'intervento: mare aperto, oceano, fiumi, porti o aree ristrette;
- presenza o meno di venti o correnti;
- quantità di greggio che si deve recuperare: da poche decine di chili (per esempio in aree portuali per inquinamenti di routine) a milioni di tonnellate (per esempio nel Golfo del Messico).

Gli *skimmer* si distinguono in *skimmer* ad adesione, *skimmer* a stramazzo e a separazione meccanica.

Tra gli *skimmer* ad adesione troviamo:

Prodotto n. T3.2.1

Skimmer a dischi oleofilici o a tamburo: funzionano tramite una serie di dischi affiancati in conformazione circolare, quadrata o cilindrica, che ruotano mossi da un motore oleodinamico, attraversando la superficie dell'acqua dal basso verso l'alto e facendo aderire gli idrocarburi sulla loro superficie. I dischi vengono poi puliti con delle spazzole che detergono la superficie e fanno scolare gli idrocarburi in un pozzetto di raccolta centrale da cui il prodotto verrà aspirato. I dischi sono solitamente in metallo e il principio di adsorbimento oleofilico permette di avere un elevato rapporto olio/acqua nella miscela raccolta. Funzionano bene con prodotti medioleggeri e poco viscosi e con spessori di prodotto da qualche mm in su. Per spessori superiori ai 5 mm hanno un buon tasso di recupero. Lavora bene con mare calmo fino a un grado della scala Beaufort "2", al di sopra perde rapidamente efficienza. Si adatta bene a lavorare tra materiale vegetale e detriti. È inefficace per idrocarburi che hanno subito fenomeni di invecchiamento o *weathering* e che iniziano a solidificare formando *tar balls* e con idrocarburi che hanno subito trattamento con disperdenti (si perde l'aderenza oleofilica sui dischi). Esistono anche degli *skimmer* simili che dispongono di tamburi generalmente di plastica al posto dei dischi.

Skimmer a spazzola: sono costituiti da rulli con spazzole oleofiliche che ruotano e raccolgono il prodotto dalla superficie dell'acqua. Questo dispositivo riesce a raccogliere anche il prodotto emulsionato o che ha subito già processi di *weathering*. Per contro lo *skimmer* a spazzola lavora bene se non vi è presenza di detriti e le condizioni del mare sono calme.

Skimmer con cima a spazzola: è costituito da una cima a spazzola oleofilica ad anello che viene fatta girare tra due punti che attraversano la chiazza di idrocarburi. Quando la cima passa attraverso i dispositivi che la tirano, viene strizzata tra due rulli e rilascia il prodotto. Questo dispositivo può essere disposto da riva oppure da natante. Questo tipo di *skimmer* può funzionare anche in condizioni di mare mosso (stato del vento sopra il grado della scala Beaufort "3") perché insensibile al movimento delle onde; può inoltre funzionare in spazi angusti.

Skimmer a nastro oleofilico a movimento verso il basso: questo tipo di *skimmer* a nastro oleofilico gira e spinge gli idrocarburi galleggianti sotto il pelo dell'acqua. La porzione di

Prodotto n. T3.2.1

idrocarburi che non viene adsorbita si staccherà all'estremità inferiore del nastro, la parte adsorbita risalirà e verrà staccata dal nastro da un raschietto. Funziona bene con mare mosso sopra il grado della scala Beaufort "3".

Tra gli *skimmer* a stramazzo distinguiamo:

Skimmer a stramazzo classico: in questo dispositivo l'olio sulla superficie cade in un collettore che mantiene il suo bordo appena al di sotto del pelo dell'acqua. Il prodotto scremato viene raccolto dal collettore e pompato in serbatoi di decantazione. Questo tipo di *skimmer* è indicato per sversamenti massivi in cui lo strato di olio è di spessore elevato e comunque superiore a 5 mm. In queste condizioni lo *skimmer* assicura grandi tassi di raccolta. La funzionalità di questo tipo di dispositivo è sfavorita da condizioni di mare mosso o corrente superiore a 1 nodo e dalla presenza di detriti sulla superficie.

Skimmer a stramazzo trainato: è incorporato ad una struttura scatolata che viene trainata, sfruttando quindi anche una separazione meccanica. Il flusso d'acqua entra nel dispositivo e un profilo alare separa un flusso di acqua verso il basso e un flusso laminare di idrocarburi che verrà catturato in una camera e poi pompato via. Questo dispositivo può essere usato solo in condizioni di mare calmo, ma garantisce il recupero in alto mare di grandi chiazze di idrocarburi. Per contro non è molto selettivo, di conseguenza, il rapporto acqua/olio-emulsione può essere molto alto.

Skimmer ad aspirazione: effettua l'aspirazione degli idrocarburi attraverso una testa semicircolare galleggiante in cui la fessura o i fori di aspirazione sono tenuti a pelo d'acqua. Questo *skimmer* funziona con prodotti medio leggeri ed è molto efficiente per strati di prodotto di spessore superiore ai 5 mm. Il funzionamento è limitato a condizioni di mare piatto (grado della scala Beaufort "0").

Infine, gli *skimmer* con separazione meccanica si distinguono in:

Prodotto n. T3.2.1

Skimmer ad ala sommersa inclinata: è un tipo di *skimmer* trainato nell'acqua in cui il flusso è forzato in basso su un'ala sommersa alla fine della quale c'è una camera in cui l'olio sale in alto mentre l'acqua che rimane in basso è libera di defluire.

Skimmer a sollevamento a nastro: funziona tramite un nastro trasportatore che si muove su un piano inclinato in senso contrario a quello in cui viene fatto avanzare il dispositivo. Il prodotto rimarrà sul nastro e alla fine del nastro cadrà in un serbatoio di stoccaggio. Può essere utile quando insieme agli idrocarburi sono presenti detriti oleati di vario genere e funziona in un ampio range di viscosità fino a viscosità alte o agglomerati appena sotto il pelo dell'acqua. Funziona anche in situazioni di mare mosso fino a un grado della scala Beaufort "3". Solitamente sono installati su una imbarcazione costruita in modo da consentire alla sua parte iniziale di fuoriuscire a prua e di potersi immergere. In pratica nave e nastro sono un tutt'uno e diventano "il dispositivo". Questi dispositivi sono particolarmente adatti alla raccolta di immondizie ma vengono appositamente progettati e costruiti anche per la raccolta di emulsioni gelatinose e grumi di petrolio. Per raccogliere petrolio liquido occorre che il nastro sia costruito o ricoperto con fibre oleofile assorbenti. I costi di acquisto e gestione sono quelli di un battello così come la manovrabilità. La manutenzione comporta anche la pulizia delle maglie del nastro dalle incrostazioni di petrolio mentre il raccolto viene fatto cadere dentro una vasca di contenimento, che occupa la parte libera da strutture del ponte del battello, che deve poi essere svuotata con l'ausilio di una gru.

3.2 Altri mezzi meccanici

Oltre a quanto già descritto sopra ci sono anche altre attrezzature che possiamo definire mezzi meccanici quali:

Bracci convergenti: sono dispositivi pensati per rastrellare (impropria traduzione dell'inglese "*to sweep*" che dà il nome a questa categoria di macchine: "*sweeping arms*") la superficie d'acqua. Bracci rigidi e convergenti sono meglio controllabili e più efficienti delle barriere galleggianti in quanto sono più pesanti delle barriere galleggianti e possono essere di

Prodotto n. T3.2.1

notevole altezza così da poter essere manovrati per mantenere una quota fissa rispetto al livello del mare insensibili al moto ondoso. All'interno di braccia di barriere possono essere posti gli oil *skimmer* per estrarre l'olio. Sono però da gestire, poco maneggevoli e molto costosi.

Battelli ecologici: imbarcazioni per pronto intervento attrezzate multiuso con funzioni anti-incendio, di salvataggio, anti-inquinamento, pattugliamento. Possono avere diverse configurazioni, quali per esempio la prua che si apre a pinza (come nei modelli Pelikan), essere dotate di nastro trasportatore, cesto per inquinanti solidi, casse per inquinanti liquidi, gru, rulli avvolgipanne.

3.3 Prodotti ad azione assorbente e disperdente

Questa tipologia di prodotto viene solitamente utilizzata dopo essere intervenuti utilizzando le procedure e le attrezzature sopra descritte. Le attuali prescrizioni normative prevedono di utilizzare prioritariamente i prodotti assorbenti ed eventualmente da ultimi, in via eccezionale, i prodotti disperdenti che devono comunque essere preventivamente autorizzati dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. Il Decreto 25 Febbraio 2011 (successivamente modificato dal Decreto Direttoriale 2014) indica dettagliatamente i requisiti che devono avere i prodotti disperdenti ed assorbenti da impiegare in mare per la bonifica dalla contaminazione da idrocarburi petroliferi per essere riconosciuti idonei, nonché i test e le prove di laboratorio cui devono essere sottoposti al fine di valutarne l'efficacia, la stabilità, la biodegradabilità, il potenziale di bioaccumulo e la tossicità verso gli organismi acquatici.

Questi prodotti secondo la normativa italiana vengono classificati in tre categorie:

Prodotti assorbenti inerti: svolgono un'azione assorbente nei confronti degli idrocarburi e sono composti da sostanze inerti dal punto di vista chimico e biologico. Possono essere di origine sintetica, minerale, animale o vegetale;

Prodotti assorbenti non inerti: svolgono un'azione assorbente nei confronti degli idrocarburi ma sono costituiti da sostanze non inerti dal punto di vista chimico e biologico. Possono essere di origine sintetica o naturale e sono insolubili in acqua: tuttavia possono

Prodotto n. T3.2.1

interagire con gli organismi viventi, motivo per cui deve essere preventivamente valutato il grado di tossicità sugli organismi marini;

Prodotti disperdenti: sono sostanze chimiche di origine sintetica o naturale che, svolgendo una funzione tensioattiva, favoriscono la disgregazione e la dispersione nella colonna d'acqua dello strato di idrocarburi. I prodotti disperdenti non hanno dunque la funzione di rimuovere fisicamente gli idrocarburi dall'ambiente marino, ma accelerano i processi di degradazione naturale.

I **prodotti assorbenti** sono costituiti da materiali che, immersi in acqua, assorbono gli idrocarburi in maniera preferenziale, funzionando come una spugna selettiva che può essere recuperata insieme al prodotto oleoso e successivamente smaltita. Normalmente gli assorbenti catturano usualmente una quantità di inquinante pari al proprio volume, operativamente è però opportuno impiegare una quantità di assorbente pari a due-quattro volte il volume stimato dell'inquinante al fine di assicurarne un'efficace rimozione. La massima efficacia dei prodotti assorbenti si ottiene in condizioni di mare calmo o quasi calmo, infatti i contesti più favorevoli dove possono essere impiegati sono specchi d'acqua limitati. Vengono utilizzati spesso in combinazione con panne di contenimento, così da unire l'azione di contenimento con quella di assorbimento dell'inquinante.

I prodotti assorbenti sono disponibili in diverse forme: fogli, rotoli, cuscini, panne assorbenti, pon-pon.

I **prodotti ad azione disperdente** vengono definiti come agenti chimici che, attraverso un meccanismo di micellazione, favoriscono la dispersione degli idrocarburi nella colonna d'acqua. Aumentando la dispersione degli idrocarburi in acqua, ne facilitano la biodegradazione; tuttavia, l'utilizzo di questi prodotti comporta un aumento dell'esposizione degli organismi marini agli idrocarburi dispersi. L'impiego negli interventi di sversamenti accidentali in mare può essere considerato e ponderato per impedire che gli idrocarburi raggiungano ambienti sensibili e/o di pregio ecologico. Pertanto, la decisione sull'opportunità di usare i disperdenti si basa su un bilancio costi/benefici ambientali. Se l'uso dei disperdenti è

Prodotto n. T3.2.1

considerato vantaggioso si procederà all'erogazione dei prodotti mediante mezzi navali o aerei, previa l'espressa autorizzazione da parte del Ministero dell'Ambiente.

4. Contaminazione da metalli ecotossici e biorisanamento

L'esposizione a metalli pesanti è stata associata a numerosi disturbi che possono insorgere nell'uomo quali patologie neurologiche, circolatorie, endocrine e del sistema immunitario, diabete, mutagenesi, teratogenesi e cancro. È noto come queste sostanze siano capaci di provocare cambiamenti a livello molecolare e cellulare. Tra questi possiamo citare lo stress ossidativo, l'inibizione enzimatica, la genotossicità e la regolazione dell'espressione genica. A causa dell'ampia varietà di proprietà chimiche che possono essere attribuite ai metalli, non è stato riconosciuto, infatti, un meccanismo di tossicità uniforme.

In questo contesto, alcuni microrganismi hanno sviluppato meccanismi di resistenza e tolleranza per adattarsi a questi contaminanti e si sono rivelati promettenti per i processi di *bioremediation* e *mycoremediation*. Pertanto, i meccanismi di resistenza ai metalli possono essere esplorati per lo sviluppo di tecnologie pulite per affrontare questo tipo di contaminazione con l'obiettivo di promuovere la mitigazione degli impatti ambientali. I contaminanti inorganici non possono essere degradati direttamente in composti innocui. Tuttavia, i microrganismi possono modificare la forma chimica, la mobilità, la tossicità e la biodisponibilità dei metalli attraverso il metabolismo e i prodotti metabolici.

La tossicità dei sedimenti e delle acque portuali non è influenzata dalla concentrazione dei metalli totali, ma solo dalla concentrazione della frazione biodisponibile dei metalli stessi. Ciò suggerisce che la biodisponibilità dei metalli nei sedimenti e nelle acque marine è correlata all'attività chimica del metallo considerato.

Per i sedimenti e le acque contaminati da metalli, esistono due diverse strategie applicabili: biomobilizzazione e bioimmobilizzazione. Queste tecnologie sfruttano la capacità di alcuni microrganismi di modificare la speciazione dei metalli attraverso un processo biogeochimico, cambiando la mobilità, la tossicità e la biodisponibilità dei metalli stessi.

Prodotto n. T3.2.1

La **biomobilizzazione** è stata ampiamente utilizzata per risanare acque e sedimenti marini contaminati da metalli. Questo processo di solito prevede due passaggi. Innanzitutto, i metalli vengono mobilitati in una soluzione utilizzando metodi biologici (ad esempio, l'aggiunta diretta di microrganismi, preparazione microbica e/o biostimolazione). In secondo luogo, i metalli disciolti vengono separati in fasi solide e liquide, e quindi trattati. Il *bioleaching* è uno degli approcci più comuni della biomobilizzazione, poiché utilizza gli effetti dell'ossidazione biologica e della produzione di acidi organici da parte dei microrganismi per trasformare i composti metallici insolubili in ioni metallici solubili. I microrganismi utilizzati nel *bioleaching* includono principalmente batteri e funghi (ceppi singoli e/o inoculi compositi).

La **bioimmobilizzazione** si riferisce all'uso di metodi biologici (ad esempio, l'aggiunta diretta di microrganismi) per trasformare composti metallici tossici in stati a bassa o non tossicità attraverso il bioassorbimento e il bioaccumulo. L'obiettivo della bioimmobilizzazione è ridurre la solubilità, la mobilità, la biodisponibilità e la tossicità dei metalli senza rimuoverli completamente dai sedimenti o dalle acque contaminate. Il bioassorbimento descrive l'adesione di metalli solubili alla superficie cellulare esterna dei microrganismi (membrana cellulare o parete cellulare) attraverso la complessazione (ad esempio, elettrostatico, covalente, esopolisaccaridi), chelazione/coordinazione, riduzione, precipitazione, scambio cationico/anionico. Il bioaccumulo, invece, è la ritenzione e concentrazione di una sostanza all'interno di un organismo a causa di un trasporto attivo mediato dal metabolismo. Il bioaccumulo all'interno delle cellule dei microrganismi è generalmente mediato da proteine specifiche e/o agenti chelanti (es. Fe è trasportato attivamente da parte dei siderofori) che si legano con il metallo e lo trasportano nella cellula utilizzando un processo dipendente dall'energia.

4.1 *Bioremediation* (batteri e microalghe) per risanare sedimenti e acque marini contaminati da metalli

Numerosi sono i microrganismi potenzialmente impiegabili nella *bioremediation* delle acque marine da metalli ecotossici. Questi microrganismi generalmente sono caratterizzati dalla

Prodotto n. T3.2.1

capacità di tollerare alte concentrazioni di sale, mantenendo attivo il loro metabolismo e la loro capacità di riprodursi. Possono, inoltre, mostrare una selettività nell'accumulo e/o mobilizzazione dei metalli, interagendo prevalentemente con uno o pochi di essi escludendo gli altri, o possono essere più generalisti assorbendo tutti i metalli indifferentemente.

La *bioremediation* di sedimenti dragati contaminati da metalli si basa generalmente su trattamenti di *bioaugmentation* con *Acidithiobacillus* spp., batterio chemio-lito-autotrofo, in grado di ossidare lo zolfo (S⁰) e/o Fe(II) in condizioni acide, responsabile della solubilizzazione dei metalli contenuti nella frazione solfuro del sedimento. Altri approcci si basano sulla stimolazione delle comunità autoctone di batteri ossidanti Fe/S. Beolchini et al. (2009) in particolare confrontano nel loro lavoro l'efficienza dei seguenti gruppi/consorzi batterici: (i) batteri chemoautotrofi acidofili, Fe/S-ossidanti, (ii) batteri eterotrofi acidofili in grado di ridurre la frazione Fe/Mn, ossigeno co-respirante e ferro ferrico e (iii) chemoautotrofi e batteri eterotrofi, raggruppati insieme, poiché hanno ipotizzato che i due ceppi potessero cooperare. I risultati mostrano che l'effetto del trattamento della *bioremediation* basato sulla *bioaugmentation* dei ceppi ossidanti Fe/S da solo è simile a quello basato solo sui batteri che riducono il Fe e porta a rese di estrazione di metalli tipicamente comprese tra il 40% e il 50%. L'efficienza del processo basato solo sui batteri autotrofi è limitata dalla disponibilità di zolfo. Tuttavia, quando il trattamento si basa sull'aggiunta di batteri che riducono Fe e batteri ossidanti Fe/S insieme, i loro tassi di crescita e l'efficienza nella mobilizzazione dei metalli pesanti aumentano in modo significativo, raggiungendo rese di estrazione >90% per Cu, Cd, Hg e Zn. L'ulteriore vantaggio del nuovo approccio di *bioremediation* proposto da Beolchini et al. è che è indipendente dalla disponibilità di zolfo, aprendo così nuove prospettive per la *bioremediation* di metalli pesanti in sedimenti altamente contaminati.

Per quanto concerne le acque marine, le biotecnologie di *bioremediation* impiegabili sono molteplici. Kim et al. (2015) hanno realizzato un sistema per la rimozione di metalli (Cu, Ni, Cr) costituito da zeoliti supportate dal batterio solfuro-riducente *Desulfovibrio desulfuricans* (KCTC 5768). I risultati hanno dimostrato come i metalli presi in considerazione siano stati rimossi fino al 98%. È stato scoperto, infatti, che i batteri tolleranti alte concentrazioni di sale

Prodotto n. T3.2.1

(ipersalini) che riducono il solfato sono in grado di rimuovere bario, calcio, cadmio, cobalto, rame, ferro, magnesio, molibdeno, zinco, mercurio, nichel e piombo dalle acque saline. Essi producono acido solfidrico (H_2S) utilizzando il solfato come accettore di elettroni, che aiuta a ossidare la materia organica, e l' H_2S reattivo precipita i metalli pesanti disciolti come loro solfuri metallici e quindi gioca un ruolo importante nella disintossicazione delle acque saline. Questi batteri fanno precipitare quasi il 50% della concentrazione dei metalli disciolti nell'acqua come loro solfuri metallici, che gradualmente si depositano nei sedimenti sottostanti. Essi mostrano un'attività di riduzione dei solfati ottimale da 80 a 115 psu e sono quindi potenziali biorimediatori negli ecosistemi marini e, a loro volta, hanno un'applicazione nella disintossicazione degli effluenti industriali contenenti metalli pesanti.

Anche le diatomee possono svolgere un ruolo determinante nell'immobilizzazione di metalli tossici. In particolare, *Skeletonema costatum* è tra i pochi microrganismi in grado di tollerare e accumulare il mercurio. Essa è in grado di rimuovere efficacemente 2 mg L^{-1} di $Hg(II)$ 79.5% con 5000 cellule L^{-1} in 72 ore, 83.3% con 10 000 cellule L^{-1} in 72 ore, e 85% con 15 000 cellule L^{-1} in 72 ore (Soedarti et al., 2017). Matsunaga et al. (1999) hanno individuato 24 ceppi microalgali caratterizzati da una notevole tolleranza al cadmio. In particolare, i ceppi appartenenti al genere *Chlorella* sp. sono dotati di una capacità di rimozione del Cd pari al 50% del totale presente nella matrice contaminata. Sempre tra le diatomee, altre molto note per la rimozione dei metalli sono: *Skeletonema costatum* (Hg), *Planothidium lanceolatum* (Cd, Cu, Zn) e *Nitzschia closterium* (Cu, Zn, Co, Mn).

4.2 Mycoremediation per risanare sedimenti e acque marini contaminati da metalli

Molti funghi sono caratterizzati da un'elevata tolleranza ai metalli. Questi microrganismi, infatti, possono efficacemente interagire coi metalli presenti nell'ambiente. E' noto come possano attivamente accumulare ioni metallici all'interno delle loro cellule sfruttando il metabolismo chelandoli con specifiche proteine a basso peso molecolare (metallotioneine e fitochelatine); come possano stocarli nei vacuoli intracellulari e neutralizzarli; come possano

Prodotto n. T3.2.1

assorbirli sulla superficie della parete cellulare esterna; come siano capaci di biotrasformarli grazie alla produzione di metaboliti secondari quali acidi organici che, una volta emessi nel microambiente, modificando il pH circostante, inducono la precipitazione degli ioni presenti all'intorno delle cellule in composti più stabili (Gadd, 2007).

Pochi studi, tuttavia, ad oggi, sono stati condotti sull'applicabilità di questi microrganismi nel risanamento di sedimenti marini contaminati da metalli. Cecchi et al. (2020) hanno sviluppato e saggiato una nuova biotecnologia allo scopo di sfruttare efficacemente il bioaccumulo e bioassorbimento dei metalli da parte dei microfunghi. Isolati i ceppi fungini autoctoni, ovvero quelli più adattati a tollerare condizioni estreme di tossicità, dai sedimenti oggetto di studio, essi sono stati impiegati nella realizzazione di co-inoculi (consorzi) specifici. Questi ultimi sono stati fatti crescere su di una membrana microporosa resistente alla trazione, che successivamente è stata fatta aderire ai sedimenti da decontaminare. La membrana deve permettere ai funghi di crescere agevolmente nelle sue trame, di assorbire nutrienti e metalli dai sedimenti sottostanti e di essere rimossa facilmente alla fine del trattamento, in modo tale da poter essere smaltita come rifiuto speciale, senza lasciare residui sui sedimenti appena trattati. Dopo 60 gg di trattamento le membrane addizionate con i funghi hanno dimostrato di iperaccumulare numerosi metalli tra cui Cd, Cr, Ni e Cu.

Per quanto riguarda il trattamento delle acque marine contaminate, invece, i funghi sono considerati tra i microrganismi più promettenti, grazie anche alla loro elevata adattabilità e capacità di accumulare varie specie metalliche contemporaneamente. Tra i filamentosi, i generi prevalentemente impiegati e studiati sono *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* e *Trichoderma*. Tra i lieviti solo poche specie sono state studiate, tra cui *Yarrowia lipolytica* (Cr), *Rhodotorula rubra* (As) e *Cryptococcus* (Cd, Cu, Pb, Zn).

In particolare, i ceppi appartenenti alla specie *Trichoderma viride* Pers. sono in grado di bioassorbire e bioaccumulare Cr rimuovendo 4.66 mg g^{-1} di Cr a pH 6 dopo 45 min (El-Kassas & El-Taher, 2005). Mentre le specie appartenenti al genere *Aspergillus* (in particolare *A. candidus* Link, *A. flavus* Link e *A. niger* Tiegh.) risultano molto efficaci nella rimozione di arsenico (As) dalle acque costiere contaminate fino al 90% (Vala, 2010; Vala et al., 2018). Per

Prodotto n. T3.2.1

quanto riguarda le potenzialità di rimozione di metalli da parte dei lieviti, rispetto ai funghi filamentosi essi sono stati limitatamente indagati. Alcuni lavori riportano i ceppi appartenenti alla specie *Yarrowia lipolytica* (Wickerham, Kurtzman & Herman) Van der Walt & Arx abili nel rimuovere il cromo esavalente (Rao et al., 2013; Imandi et al., 2014).

5. Contaminazione da inquinanti organici e biorisanamento

L'inquinamento da parte degli idrocarburi derivati dal petrolio nel mare e nei Porti è un problema internazionale sempre più diffuso che minaccia l'ambiente e la salute umana. L'ecosistema marino e il litorale fungono da risorse pubbliche ed ecologiche e forniscono habitat e protezione per la biodiversità marina. Gli sversamenti di petrolio in mare influenzano direttamente gli organismi, inclusi uccelli marini, mammiferi marini e organismi intertidali e subtidali. Se la fuoriuscita di petrolio si diffonde al litorale, essa può causare l'erosione dei sedimenti e la contaminazione della vegetazione, degli habitat naturali, della fauna selvatica e dell'uomo. Il petrolio è persistente nei sedimenti e nell'ambiente marino, provocando effetti letali per la biodiversità.

I principali vantaggi di una bonifica da inquinanti organici ad opera di microrganismi risiedono nel suo basso costo e alta efficienza sostenibile. Il metodo più efficace è sfruttare la capacità dei microrganismi di degradare gli inquinanti organici che sono la loro fonte di cibo o substrato e pulire così i siti contaminati (biodegradazione). Inoltre, a causa della complessa miscela rappresentata dagli idrocarburi del petrolio, spesso è necessario un consorzio di specie tassonomicamente diverse con ampie capacità enzimatiche, poiché una singola specie può metabolizzare solo una gamma limitata di substrati idrocarburici. Poiché, in ambienti naturali, la maggior parte dei microrganismi (>99%) coesiste sotto forma di consorzi microbici, ci sono grandi aspettative sugli usi dei consorzi per eseguire la degradazione di molecole complesse presenti negli idrocarburi del petrolio. Rapporti recenti hanno evidenziato che i batteri alotolleranti e gli archei hanno la capacità non solo di far fronte a stress da alta salinità, ma anche di metabolizzare n-alcani e Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA),

Prodotto n. T3.2.1

suggerendo il loro ruolo chiave nella mitigazione di vaste aree di habitat costieri altamente salini colpiti da composti petroliferi che rappresentano una minaccia per gli ecosistemi terrestri e marini.

A questo proposito, recentemente, Villela et al. (2019) hanno raccolto e riportato nel loro lavoro un'analisi dei brevetti di potenziali tecniche di biodegradazione del petrolio che utilizzano microbi per bonificare l'acqua di mare. La ricerca è stata eseguita utilizzando una serie di motori di ricerca specifici quali: Orbit Intelligence[®], Sci Finder[®] e Derwent World Patents Index[®]. Circa 500 documenti brevettuali sono stati convalidati in base all'obiettivo della ricerca e studiati attentamente. Si è potuto notare come gli aumenti dei depositi di brevetti coincidano con periodi successivi a sversamenti di petrolio ampiamente segnalati, suggerendo una relazione tra la divulgazione dei media e lo stimolo alle attività di innovazione. La Cina è in testa alla lista dei Paesi con domande di brevetto con 152 depositi, seguita dalla Russia con 133 e dagli Stati Uniti con 48. Questi tre Paesi hanno profili di deposito temporali completamente diversi, influenzati dai loro scenari storici, politici ed economici. Un totale di 368 brevetti ha descritto la degradazione dei composti oleosi esclusivamente da parte di batteri, 24 da funghi e lieviti, 1 da Archaea, 1 utilizzando un ceppo microalgale e 32 da consorzi misti. I principali generi microbici trovati nei brevetti sono *Pseudomonas* (114 brevetti), *Bacillus* (75) e *Rhodococcus* (60).

5.1 *Bioremediation* (batteri e microalghe) per risanare sedimenti e acque marini contaminati da composti organici

Una vasta gamma di batteri, come *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, hanno un elevato potenziale nella biodegradazione aerobica dei composti aromatici. Le specie appartenenti al gruppo di *Pseudomonas fluorescens*, ad esempio, utilizzano crisene e benz[a]antracene come fonti di carbonio ed energia; mentre i batteri appartenenti al genere *Rhodococcus* sono in grado di crescere a temperature comprese tra 4°C e 30°C e in grado di degradare gli idrocarburi come petrolio greggio, gasolio e benzina (Peng et al., 2020).

Prodotto n. T3.2.1

I rapporti sul trattamento dell'acqua di mare contaminata da petrolio dopo un evento di fuoriuscita di petrolio avvenuto nel Golfo di Taranto (Italia; Crisafi et al., 2016), utilizzando diversi approcci di *bioremediation*, hanno mostrato che: la biostimolazione *in situ* ha consentito la biodegradazione degli idrocarburi fino al 73%; la *bioaugmentation*, mediante consorzio selezionato composto da *Alcanivorax borkumensis*, *Alcanivorax dieselolei*, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, *Cycloclasticus* sp. e *Thalassolituus oleivorans*, ha consentito una degradazione di circa il 79%; mentre l'aggiunta di sostanze nutritive e un agente di lavaggio ha consentito una degradazione del 69%. Studi effettuati nel Porto Antico di Genova (Italia; Gallizia et al., 2005) durante un trattamento di *bioremediation* di sedimenti (1998) in un'area caratterizzata da scarichi continui ha permesso di registrare un forte aumento della densità batterica bentonica totale (TBN) in diverse parti dell'area trattata. L'aumento del TBN è stato collegato all'esaurimento della materia organica, da più di 40 a meno di 20 mg g⁻¹. Questo aumento suggerisce una forte associazione tra i sedimenti e i processi della colonna d'acqua. Le tecniche di *bioremediation* saggiate in quest'area sono state la *bioaugmentation* (inoculi di 5 diversi microrganismi), la biostimolazione (con la sola alimentazione di ossigeno) e l'attenuazione naturale. È stato saggiato anche l'utilizzo congiunto delle tecniche *bioaugmentation*/biostimolazione. Dopo 60 giorni, seguendo il protocollo di *bioaugmentation*, si è valutato che la comunità era in grado di sopravvivere e moltiplicarsi. Tuttavia, mentre la *bioaugmentation* da sola sembrava non essere in grado di effettuare una degradazione significativa, il suo accoppiamento con insufflazioni d'aria ha prodotto la risposta migliore: le densità microbiche sono aumentate, soprattutto nell'acqua (da 2.3 x 10⁷ a 3.5 x 10⁸ cellule ml⁻¹) la dimensione media delle cellule e le attività enzimatiche sono aumentate e la materia organica sedimentaria è stata significativamente ridotta.

Dell'Anno et al. (2012) hanno studiato i cambiamenti dell'abbondanza microbica e della biodiversità durante esperimenti di *bioremediation* condotti su sedimenti di porti marini ossigenati e anossici contaminati da idrocarburi. I loro risultati hanno indicato che la temperatura esercita l'effetto principale sull'abbondanza microbica, la diversità e la composizione. A temperature più elevate la diversità e l'uniformità microbiche aumentano in

Prodotto n. T3.2.1

modo significativo in condizioni aerobiche, mentre diminuiscono in condizioni anaerobiche. Sia in condizioni aerobiche che anaerobiche, l'efficienza di biodegradazione degli idrocarburi è significativamente e positivamente correlata alla ricchezza e all'uniformità della comunità microbica. Le strategie di *bioremediation*, che possono sostenere alti livelli di diversità microbica piuttosto che la selezione di *taxa* specifici, possono aumentare significativamente l'efficienza della degradazione degli idrocarburi nei sedimenti marini contaminati.

Sebbene le microalghe e i protozoi siano membri importanti che costituiscono la comunità microbica negli ecosistemi sia acquatici che terrestri, l'entità della loro partecipazione alla biodegradazione degli idrocarburi rimane ancora poco studiata. Le microalghe marine e d'acqua dolce sono ben note per il loro ruolo nell'accumulo di inquinanti. Diverse ricerche hanno confermato l'importante ruolo di *Scenedesmus platydiscus*, *Chlorella vulgaris*, *S. capricornutum* e *S. quadricauda*, per la biodegradazione degli IPA (Hung et al., 2020); i cianobatteri, le diatomee e le alghe verdi, come alghe marine fotoautotrofe procariote ed eucariotiche, sono note, invece, per la degradazione del naftalene che attuano attraverso una serie di prodotti metabolici. Sono stati studiati anche alcuni microcosmi algali-batterici per la biodegradazione del fenantrene tramite *Pseudomonas migulae* e *Sphingomonas yanoikuyae*.

5.2 *Mycoremediation* per risanare sedimenti e acque marini contaminati da composti organici

Gli studi hanno dimostrato che diversi microfunghi agiscono come decompositori per i prodotti petroliferi ed effettuano la degradazione attraverso enzimi extracellulari. In ambiente marino i funghi ed in particolare le cellule fungine si sono adattati a condizioni di elevata salinità rendendo possibile anche in questo ambiente la sopravvivenza, la riproduzione e il susseguirsi dei processi metabolici. Alcuni ricercatori suggeriscono che in alcune circostanze specifiche i funghi possono degradare il petrolio e i suoi derivati meglio dei batteri, essendo dotati di una serie di enzimi molto più complessi e completi che gli permettono di demolire catene idrocarburiche molto più lunghe, rendendo così disponibili ai batteri substrati più semplici. Recentemente, gli studi hanno evidenziato come probabilmente ci sia una

Prodotto n. T3.2.1

successione di comunità fungine/batteriche che entrano in gioco durante la degradazione di sostanze inquinanti molto complesse, in cui i microrganismi invece di competere cooperano tra di loro.

La maggior parte dei funghi alotolleranti includono i generi *Aspergillus* e *Penicillium*, mentre *Trichoderma*, *Mortierella* e *Fusarium* sono tra i generi più conosciuti in grado di degradare i prodotti petroliferi (Greco et al., 2019). Non solo i microfunghi, ma anche i macrofunghi degradatori del legno e/o agenti di carie o di marciume radicale sono in grado di ridurre composti come i bifenili policlorurati (PCB) e gli IPA in sostanze molto più semplici e innocue (es. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm, *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát, *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall) (Kumar et al., 2018). Infine, anche alcuni lieviti inclusi *Candida* sp., *Pichia* sp. e *Yarrowia* sp. sono conosciuti per degradare i composti disponibili nei contaminanti oleosi.

Molte comunità fungine in grado di degradare le fuoriuscite di petrolio sono state studiate e molti ceppi potenzialmente impiegabili sono stati isolati dal Mar Mediterraneo (67 ceppi) e dai suoi rispettivi sedimenti (17 ceppi). La crescita e la capacità di questi funghi di degradare petrolio greggio è stata saggiata e si è potuto evidenziare come i funghi stessi utilizzino gli inquinanti organici come fonte di carbonio. Tra questi *Aspergillus terreus* Thom, *Trichoderma harzianum* Rifai e *Penicillium citreonigrum* Dierckx hanno prodotto la più alta percentuale di dechlorizzazione e *A. terreus* ha riportato la più alta resa in composti idrocarburici decrescenti (Bovio et al., 2017).

Aspergillus sydowii (Bainier & Sartory) Thom & Church e *Aspergillus destruens* Zalar, F. Sklenar, S.W. Peterson & Hubka in condizioni saline hanno anche utilizzato benzo- α -pirene e fenantrene come unica fonte di carbonio e rimosso oltre il 90% di entrambi gli IPA; *A. sydowii* grazie alla biodegradazione e *A. destruens* al bioassorbimento (González-Abradelo et al., 2019). Questi ultimi hanno rimosso il 100% di una miscela di quindici IPA in acque inquinate saline. Greco et al. (2019) hanno dimostrato come un consorzio fungino, isolato a partire da morchia risultante dagli scarichi delle navi in porto e composto da *Fusarium solani*, *Pseudallescheria*

boydii, *Talaromyces amestolkiae* e *Sordaria fimicola*, fosse capace di degradare efficacemente l'80% di una miscela di IPA.

6. Biorisanamento tramite biosurfattanti

I tensioattivi sono una classe importante di sostanze chimiche ampiamente utilizzate nell'industria moderna. Queste molecole agiscono sull'interfaccia acqua-olio, formando micelle di varie forme e dimensioni. I biosurfattanti rappresentano una scelta naturale come sostituti dei tensioattivi sintetici perché hanno diversi vantaggi: (1) una produzione fermentativa realizzabile utilizzando risorse rinnovabili; (2) efficacia in piccole quantità, anche in condizioni estreme; (3) potenziale selettivo e specifico per varie applicazioni; (4) bassa tossicità; (5) alta biodegradabilità; (6) stabilità al pH, salinità e variazioni di temperatura. I biocomposti prodotti da processi fermentativi sono apparsi come un'alternativa economica e sostenibile a molte molecole sintetiche. In tal modo, i biosurfattanti sono diventati un sostituto promettente grazie al loro potenziale di sintesi da parte di un'ampia varietà di microrganismi. Essi sono un gruppo molto diversificato di strutture, come glicolipidi, lipopeptidi, complessi polisaccaride-proteina, fosfolipidi, acidi grassi e lipidi neutri. Nonostante i loro benefici, i biosurfattanti non sono ampiamente utilizzati a causa degli alti costi di produzione. Quindi, substrati economici, condizioni di coltivazione ottimizzate e sviluppo di linee mutanti sono indispensabili per rendere queste biomolecole un prodotto economicamente competitivo per proporre una diffusa sostituzione dei tensioattivi sintetici. I tensioattivi di origine microbica hanno quasi totalmente un'origine lipidica e sono generalmente classificati come lipidi naturali, acidi grassi, lipopolisaccaridi, glicolipidi, fosfolipidi e lipopeptidi. I biotensioattivi sono caratterizzati come composti anfipatici (dotati di un gruppo idrofilo e un gruppo idrofobo) e la loro capacità di assorbire gli idrocarburi all'interno delle cellule è una condizione che dipende proprio dal loro dominio affine all'acqua e quello non affine. Sono molecole particolarmente interessanti perché sono coadiuvanti

Prodotto n. T3.2.1

nelle attività di pulizia e recupero dell'olio, nonché nell'emulsificazione dell'olio e nella separazione delle emulsioni oleose.

6.1 Biosurfattanti in processi di *bioremediation* in sedimenti e acque marini contaminati da composti organici e/o metalli

Tra i vari microrganismi in grado di produrre biosurfattanti, i batteri appartenenti al genere *Pseudomonas* rappresentano il gruppo più promettente. Le specie più studiate includono *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Arthrobacter* sp., *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* (Elliot et al., 2010; Shekhar et al., 2015). Diversi tipi di biosurfattanti possono essere prodotti anche da funghi come il sophorolipide prodotto da *Torulopsis bombicola* J.F.T. Spencer, Gorin & A.P. Tulloch, *Starmerella apicola* (Hajsig) C.A. Rosa & Lachance, *Yarrowia lipolytica* (Wick., Kurtzman & Herman), *Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, *Moesziomyces antarcticus* (Goto, Sugiy. & Iizuka) Q.M. Wang, Begerow, F.Y. Bai & Boekhout e *Candida glabrata* (H.W. Anderson) S.A. Meyer & Yarrow (Mulligan et al., 2001). Le molecole biosurfattanti più conosciute e chimicamente caratterizzate sono: ramnolipidi ad esempio in *Pseudomonas aeruginosa*, cellobiolipidi sintetizzati da *Ustilago maydis*, lipidi trealosio sintetizzati da *Rhodococcus* sp., *Nocardia* sp., *Arthrobacter* sp. e *Mycobacterium* sp., sophorolipidi sintetizzati da *Candida* sp. e lipidi mannosylerythrioli sintetizzati da *Pseudozyma antarctica*. Molti batteri possono produrre lipopeptidi, formati da una molecola di acido grasso legata a una catena polipeptidica. I composti appartenenti a questo gruppo sono: surfattina e subtilisina sintetizzata da *Bacillus subtilis*, lichenisina sintetizzata da *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*, ornitina sintetizzata da *Myroides* sp., *Pseudomonas* sp., *Thiobacillus* sp., *Agrobacterium* sp. e *Gluconobacter* sp., viscosina sintetizzata da *Pseudomonas fluorescens*, serrawettina sintetizzata da *Serratia marcescens*, fengicina sintetizzata da *Bacillus* sp., artrofactina sintetizzata da *Arthrobacter* sp. e polimixine sintetizzate da *Bacillus polymyxa* e *Brevibacterium polymyxa* (Shekhar et al., 2015).

La letteratura suggerisce come i biosurfattanti prodotti da batteri marini siano sufficientemente in grado di degradare le macchie d'olio che galleggiano sulla superficie

Prodotto n. T3.2.1

dell'acqua al fine di promuovere la dispersione dell'olio in acqua formando un'emulsione stabile, aumentando così il tasso di biodegradazione. I biosurfattanti mostrano, così, un potenziale nelle loro applicazioni di pulizia delle fuoriuscite di petrolio sulle coste e in mare. Molti studi di ricerca hanno dimostrato la fattibilità e l'efficacia della fertilizzazione delle acque con azoto e fosforo per combattere le fuoriuscite di petrolio in ambienti marini. La rapida diluizione dei nutrienti idrosolubili può essere superata da formulazioni oleofile che mantengono concentrazioni ottimali di nutrienti all'interfaccia olio-acqua dove avviene la biodegradazione. Alcuni lavori, inoltre, hanno dimostrato che i processi di biodegradazione sono potenziati dall'aggiunta di fertilizzanti lipofili di origine naturale (acido urico e lecitina). Nikolopoulou e Kalogerakis (2008) hanno esaminato l'efficacia di questi nutrienti in combinazione con biosurfattanti (ramnolipidi) e melassa (fonte di carbonio e vitamine) per migliorare la biodegradazione da parte dei microrganismi presenti in natura. È stato riscontrato che l'uso di biosurfattanti ha determinato una maggiore rimozione degli idrocarburi del petrolio (rimozione del 96% degli n-alcani C19-C34 entro un periodo di 18 giorni) nonché una riduzione della fase di latenza (quasi l'80% della rimozione è stata raggiunto entro la prima settimana dall'applicazione del biosurfattante).

Durval et al. (2019), con l'obiettivo di produrre un materiale biotensioattivo da utilizzare nella bonifica degli ambienti marini, hanno condotto uno *screening* per selezionare batteri produttori di biosurfattanti con ceppi isolati da acqua di mare contaminata da derivati del petrolio. Il sequenziamento genico ha rivelato che tutti e quattro gli isolati promettenti che producono biosurfattanti appartenevano allo stesso genere e specie: *Bacillus cereus*. Il biosurfattante ha migliorato la degradazione dell'olio motore fino al 96% in 27 giorni e ha mostrato una notevole capacità di spostamento dell'olio motore, dimostrando il suo potenziale nell'applicazione dei processi di bonifica in ambienti marini. Araùjo et al. (2019) hanno condotto uno studio sul biosurfattante ottenuto da *Serratia marcescens* UCP 1549 allo scopo di verificarne l'applicabilità nella *bioremediation* di ambienti marini contaminati.

Das et al. (2009) hanno, invece, studiato il ruolo dei biosurfattanti nella rimozione di metalli tossici (Cd e Pb) dalle acque marine, evidenziando come la concentrazione metallica e la

Prodotto n. T3.2.1

concentrazione dei biosurfattanti da impiegare nella rimozione siano direttamente collegati. Diversi processi mediati da batteri possono ridurre la mobilità dei metalli pesanti nei sedimenti, comprese le interazioni dei metalli con i componenti della membrana batterica (ad esempio pigmenti, polimeri, complessi con composti organici rilasciati dalle cellule) e la produzione di solfuro da parte dei batteri che riducono i solfati portando alla formazione di complessi insolubili di solfuro di metallo. Nonostante questi processi abbiano il potenziale di ridurre la mobilità del metallo, non sono efficaci nel ridurre le concentrazioni metalliche, che è un obiettivo nel caso di sedimenti dragati per il loro successivo riutilizzo. In questo caso, sono stati proposti approcci biotecnologici basati sull'uso di batteri in processi di *bioleaching* (cioè batteri ossidanti acidofili Fe/S). In questo contesto, l'utilizzo di microrganismi produttori di biosurfattanti potrebbe rappresentare un'opzione per la rimozione di metalli da sedimenti contaminati, fornendo vantaggi anche per la rimozione di contaminanti organici se presenti. Il meccanismo di desorbimento dei metalli pesanti da parte dei biosurfattanti avviene attraverso processi di complessazione dei metalli liberi, secondo i principi di Chetellier (secondo il quale un sistema in equilibrio sottoposto ad un cambiamento si riadatta per contrastare l'effetto del cambiamento applicato per stabilire un nuovo equilibrio), e attraverso il collegamento di metalli, legati alla matrice solida, e il biosurfattante, che di conseguenza si accumula all'interfaccia della soluzione solida. I biosurfattanti più utilizzati nella *bioremediation* dei metalli comprendono molecole con carica elettrica, ovvero biosurfattanti cationici e anionici che legano metalli di carica opposta e li rimuovono tramite desorbimento. Biosurfattanti anionici ben caratterizzati sono i ramnolipidi, in grado di formare strutture micellari e simili a lamelle o aggregati lipidici, esibendo cariche negative a pH basso, anche se l'attività superficiale più elevata dei ramnolipidi è quasi a pH neutro.

7. Tecnologie integrate

I metodi di risanamento fisico-chimici, noti anche come tecniche tradizionali, sono generalmente altamente efficienti nella bonifica, ma spesso hanno costi elevati e

Prodotto n. T3.2.1

danneggiano ulteriormente ecosistemi già compromessi. I metodi biologici sono considerati strategie promettenti; sono rispettosi dell'ambiente ma richiedono tempi di risanamento più lunghi e sono instabili nella loro efficienza. In quanto tali, entrambi i metodi presentano vantaggi e svantaggi.

A causa della natura eterogenea e della complessità compositiva degli inquinanti che si possono trovare sia nelle acque marine che nei sedimenti, un singolo metodo fisico-chimico o metodo biologico non può solitamente ottenere un effetto di bonifica ideale. La combinazione dei metodi aiuta a massimizzare i loro vantaggi, migliorando l'efficienza dell'operazione di bonifica. Ad esempio, il metodo combinato di applicazione di metodi fisico-chimici e microrganismi viene utilizzato principalmente nel *bioleaching* e nella biostabilizzazione. Liu (2016) ha studiato l'effetto del sodio dodecil-solfato (SDS) sul *bioleaching* di Cd, Cu e Zn da sedimento utilizzando batteri che ossidano lo S (*Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*). I risultati hanno mostrato che la SDS potrebbe aumentare l'idrofilia superficiale della polvere di S, la solubilità dello zolfo elementare, l'interazione tra S e batteri che ossidano lo S e il tasso di ossidazione dello S. Quando la dose di SDS è compresa tra 0 e 0.5 g L⁻¹, il tasso di rimozione di Cd, Cu e Zn aumenta rispettivamente a 87.74, 84.48 e 83.08%. Zeng et al. (2015) hanno studiato l'effetto di una reazione simile nel promuovere il *bioleaching* di *Aspergillus niger* ceppo SY1 per risanare sedimenti dragati. Siracusa et al. (2016) hanno applicato trattamenti chimico-fisici per rimuovere la salinità e la contaminazione da metalli da sedimenti dragati in combinazione con approcci *bio-based* (*mycoremediation*). Essi hanno isolato nuovi ceppi fungini da sedimenti dragati contaminati, e dopo averli fatti crescere in modo esponenziale li hanno re-inoculati nella matrice durante il trattamento per rimuovere la contaminazione da idrocarburi di petrolio totale (TPH). Hanno mostrato come la combinazione dell'approccio chimico-fisico e biologico sia stato in grado di rimuovere la contaminazione organica (TPH) e l'eccesso di sali di sodio che costituiscono un punto critico per l'eventuale riassegnazione dei sedimenti dragati. Allo stesso tempo i sedimenti sono stati disintossicati e hanno acquisito i tratti biochimici dei suoli produttivi unificati, eventualmente adatti alla loro sicura riallocazione nell'ambiente.

8. Bibliografia

- Beolchini, F.; Dell'Anno, A.; De Propriis, L.; Ubaldini, S.; Cerrone, F.; Danovaro, R. Auto- and heterotrophic acidophilic bacteria enhance the bioremediation efficiency of sediments contaminated by heavy metals. *Chemosphere* 2009, 74, 1321-1326. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.057>
- Kim, I.H.; Choi, J.H.; Joo, J.O.; Kim, Y.K.; Choi, J.W.; Oh, B.K. Development of a microbe-zeolite carrier for the effective elimination of heavy metals from seawater. *J Microbiol Biotechnol* 2015, 25, 1542-1546. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1504.0406>
- Matsunaga, T.; Takeyama, H.; Nakao, T.; Yamazawa, A. Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater. *J Biotechnol* 1999, 70, 33-38. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00055-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00055-3)
- Gadd, G.M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycol Res* 2007, 111, 3-49. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001>
- Cecchi, G.; Cutroneo, L.; Di Piazza, S.; Vagge, G.; Capello, M.; Zotti, M. From waste to resource: mycoremediation of contaminated marine sediments in the SEDITERRA Project. *J Soil Sediment* 2020, 20, 2653-2663. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02527-9>
- El-Kassas, H.Y.; El-Taher, E.M. Optimization of batch process parameters by response surface methodology for mycoremediation of chrome-VI by a chromium resistant strain of marine *Trichoderma viride*. *Am-Eurasian J Agric Environ Sci* 2009, 5, 676-681.
- Imandi, S.B.; Chinthala, R.; Saka, S.; Vechalapu, R.R.; Nalla, K.K. Optimization of chromium biosorption in aqueous solution by marine yeast biomass of *Yarrowia lipolytica* using Doehlert experimental design. *A J Biotechnol* 2014, 13, 1413-1422. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2840>
- Rao, A.; Bankar, A.; Kumar, A.R.; Gosavi, S.; Zinjarde, S. Removal of hexavalent chromium ions by *Yarrowia lipolytica* cells modified with phyto-inspired Fe⁰/Fe₃O₄ nanoparticles. *J Cont Hydrol* 2013, 146, 63-73. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2012.12.008>

Prodotto n. T3.2.1

- Vala, A.K. Tolerance and removal of arsenic by a facultative marine fungus *Aspergillus candidus*. *Biores Technol* 2010, 101, 2565-2567.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.084>
- Vala, A.K.; Sachaniya, B.; Dave, B.P. Marine-Derived Fungi: Promising Candidates for Enhanced Bioremediation. In: Prasad R., Aranda E. (eds) *Approaches in Bioremediation. Nanotechnology in the Life Sciences*. Springer, Cham 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02369-0_12
- Villela, H.D.; Peixoto, R.S.; Soriano, A.U.; Carmo, F.L. Microbial bioremediation of oil contaminated seawater: A survey of patent deposits and the characterization of the top genera applied. *Sci Total Environ* 2019, 666, 743-758.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.153>
- Hung, C.M.; Huang, C.P.; Hsieh, S.L.; Tsai, M.L.; Chen, C.W.; Dong, C.D. Biochar derived from red algae for efficient remediation of 4-nonylphenol from marine sediments. *Chemosphere* 2020, 126916. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126916>
- Crisafi, F.; Genovese, M.; Smedile, F.; Russo, D.; Catalfamo, M.; Yakimov, M.; Giuliano, L.; Denaro, R. Bioremediation technologies for polluted seawater sampled after an oil-spill in Taranto Gulf (Italy): A comparison of biostimulation, bioaugmentation and use of a washing agent in microcosm studies. *Mar Pollut Bull* 2016, 106, 119-126.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.017>
- Gallizia, I.; Vezzulli, L.; Fabiano, M. Evaluation of different bioremediation protocols to enhance decomposition of organic polymers in harbour sediments. *Biodegradation* 2005, 16, 569-579.
- Peng, T.; Kan, J.; Hu, J.; Hu, Z. Genes and novel sRNAs involved in PAHs degradation in marine bacteria *Rhodococcus* sp. P14 revealed by the genome and transcriptome analysis. *3 Biotech* 2020, 10, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2133-6>
- Dell'Anno, A.; Beolchini, F.; Rocchetti, L.; Luna, G.M.; Danovaro, R. High bacterial biodiversity increases degradation performance of hydrocarbons during bioremediation of

Prodotto n. T3.2.1

contaminated harbor marine sediments. Environ Pollut 2012, 167, 85-92.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.043>

Greco, G.; Di Piazza, S.; Cecchi, G.; Cutroneo, L.; Capello, M.; Zotti, M. Mycoremediation of Oily Slime Containing a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Mixture. Waste Biomass Valor 2019, 10, 3821-3831. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00802-x>

Kumar, V.; Kumar, M.; Prasad, R. (Eds.). Microbial Action on Hydrocarbons, Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1840-5>

Bovio, E.; Gnavi, G.; Prigione, V.; Spina, F.; Denaro, R.; Yakimov, M.; Calogero, R.; Crisafi, F.; Varese, G. C. The culturable mycobiota of a Mediterranean marine site after an oil spill: isolation, identification and potential application in bioremediation. Sci Tot Environ 2017, 576, 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.064>

González-Abradelo, D.; Pérez-Llano, Y.; Peidro-Guzmán, H.; del Rayo Sánchez-Carbente, M.; Folch-Mallol, J.L.; Aranda, E.; Vaidyanathan, V.K.; Cabana, H.; Gunde-Cimerman, N.; Batista-García, R.A. First demonstration that ascomycetous halophilic fungi (*Aspergillus sydowii* and *Aspergillus destruens*) are useful in xenobiotic mycoremediation under high salinity conditions. Biores Technol 2019, 279, 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.002>

Araújo, H.W.; Andrade, R.F.; Montero-Rodríguez, D.; Rubio-Ribeaux, D.; da Silva, C.A.A.; Campos-Takaki, G.M. Sustainable biosurfactant produced by *Serratia marcescens* UCP 1549 and its suitability for agricultural and marine bioremediation applications. Microb Cell Fact 2019, 18, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1046-0>

Das, P.; Mukherjee, S.; Sen, R. Biosurfactant of marine origin exhibiting heavy metal remediation properties. Biores Technol 2009, 100, 4887-4890. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.028>

Durval, I.J.B.; Resende, A.H.M.; Figueiredo, M.A.; Luna, J.M.; Rufino, R.D.; Sarubbo, L.A. Studies on biosurfactants produced using *Bacillus cereus* isolated from seawater with biotechnological potential for marine oil-spill bioremediation. J Surfact Deter 2019, 22, 349-363. <https://doi.org/10.1002/jsde.12218>

Prodotto n. T3.2.1

- Elliot, R.; Singhal, N.; Swift, S. Surfactants and bacterial bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil—unlocking the targets. *Crit Rev Environ Sci Technol* 2010, 41, 78-124. <https://doi.org/10.1080/00102200802641798>
- Mulligan, C.N.; Yong, R.N.; Gibbs, B.F. An evaluation of technologies for the heavy metal remediation of dredged sediments. *J Hazard Mater* 2001, 85, 145-163. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(01\)00226-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(01)00226-6)
- Shekhar, S.; Sundaramanickam, A.; Balasubramanian, T. Biosurfactant producing microbes and their potential applications: a review. *Crit Rev Environ Sci Technol* 2015, 45, 1522-1554. <https://doi.org/10.1080/10643389.2014.955631>
- Siracusa, G.; Becarelli, S.; Chicca, I.; Condino, F.; de Lima Silva, M.R.; Ruffini Castiglione, M.; Petroni, G.; Munz, G.; Lorenzi, R.; Di Gregorio, S. Recovering of dredged sediments contaminated by total petroleum hydrocarbon to productive soils: the mycoremediation approach in the Bioresnova project. In *X International Symposium On Sanitary And Environmental Engineering*, 2016, (pp. 1-7). SIDISA.
- Zeng, X.; Tardowska, I.; Wei, S.; Sun, L.; Wang, J.; Zhu, J.; Cai, J. Removal of trace metals and improvement of dredged sediment dewaterability by bioleaching combined with Fenton-like reaction. *J Hazard Mater* 2015, 288, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.017>
- Liu, W. 2016. Effect of sodium dodecyl sulphate on bioleaching of Cd, Cu and Zn from Xiangjiang sediment by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. MSc thesis, Hunan University, Changsha, China (in Chinese).
- ISPRA-MATTM Quaderno n.1-Quaderni delle Emergenze ambientali in mare-Allegato al Quaderno Ricerca Marina ISPRA n.6/2014
- CAPITANERIA DI PORTO-guardia costiera genova piano operativo di pronto intervento locale per fronteggiare gli inquinamenti marini da idrocarburi e altre sostanze nocive-edizione 2013
- CEntre de Documentation, de Recherche et d'Experimentations sur les pollutions accidentelles des eaux (CEDRE), 2012. Manufactured Spill Response Booms. www.cedre.fr

Prodotto n. T3.2.1

- CEntre de Documentation, de Recherche et d'Experimentations sur les pollutions accidentelles des eaux (CEDRE), 2009. Use of Sorbents for Spill Response. www.cedre.fr
- CEntre de Documentation, de Recherche et d'Experimentations sur les pollutions accidentelles des eaux (CEDRE), 2007. Response to Small-Scale Pollution in Ports and Harbours. www.cedre.fr
- International Tanker Owners Pollution Federation Ltd (ITOPF), 2011. Use of Booms in Oil Pollution Response – Technical Information Paper Number 3. www.itopf.com
- International Tanker Owners Pollution Federation Ltd (ITOPF), 2011. Use of Chemical Dispersants to treat Oil Spills – Technical Information Paper Number 4. www.itopf.com
- International Tanker Owners Pollution Federation Ltd (ITOPF), 2012. Use of Skimmers in Oil Pollution Response – Technical Information Paper Number 5. www.itopf.com
- International Tanker Owners Pollution Federation Ltd (ITOPF), 2012. Use of Sorbent Materials in Oil Spill Response – Technical Information Paper Number 8. www.itopf.com