

Reazioni fotochimiche

Reazioni causate da radiazione solare

Luce del sole

- Flusso solare: 1.3 kW/m² (19 kcal/min).
- Il massimo dell'intensità è intorno a 500 nm
 - **UV-A** (400-315 nm), **UV-B** (315-280 nm) e **UV-C** (280-100 nm)
 - **Visibile**: 400 – 780 nm
 - **IR**: 780 – 2000 nm

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

h = costante di Planck = 6.63x10⁻³⁴ Js

λ = lunghezza d'onda in nm = 10⁻⁹ m

c = velocità della luce = 3x10⁸ ms⁻¹

- Una mole (n° Avogadro) di fotoni ha l'energia di

$$E(kJ / mol) = \frac{120000}{\lambda(nm)}$$

Reazioni fotochimiche

- Molti composti possiedono gruppi in grado di assorbire energia solare.

ϵ = coefficiente di estinzione molare
 $A = \epsilon lc$ $l=1\text{cm}$, $c = \text{conc M}$

Table 6.1. Typical Chromophoric Values for Selected Organic Groupings

Chromophore	λ_{max} (nm)	ϵ (approx)	Transition
C-H or C-C	< 180	1000	$\sigma \rightarrow \sigma^*$
C=C	180	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
C=C-C=C	220	20,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Benzene	260	200	$\pi \rightarrow \pi^*$
Naphthalene	310	200	$\pi \rightarrow \pi^*$
Anthracene	350	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Phenol	275	1500	$\pi \rightarrow \pi^*$
Aniline	290	1500	$\pi \rightarrow \pi^*$
RS-SR	300	300	$n \rightarrow \sigma^*$
C=O	280	20	$n \rightarrow \pi^*$
Benzoquinone	370	500	$n \rightarrow \pi^*$
C=C-C=O	320	50	$n \rightarrow \pi^*$
C=N	< 220	20	$n \rightarrow \pi^*$
N=N	350	50	$n \rightarrow \pi^*$
N=O	300	100	$n \rightarrow \pi^*$
Ar-NO ₂	280	7000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Indole	290	5000	$\pi \rightarrow \pi^*$

Source: Scott (1964) and Turro (1978).

Destino della specie eccitata

“C”omposto



“C*”



Processi fisici:

- perdita di energia vibrazionale (trasferimento di calore)
- perdita di energia per emissione di luce (luminescenza)
- *trasferimento di energia con promozione di un elettrone a un'altra specie (fotosensibilizzazione)*

↓
“C”

Reazioni chimiche:

- frammentazione
- riarrangiamento intramolecolare
- isomerizzazione
- estrazione di H atomico
- dimerizzazione
- trasferimento elettronico *dal o al* composto chimico

↓
Prodotti diversi da
“C”

Resa quantica: $\Phi_{r(\lambda)}$

frazione della specie passata allo stato eccitato che subisce una trasformazione

dipende dalla struttura chimica, dal solvente, dal pH, dalla forza ionica, ecc.

Processi fotochimici

- Il processo fotochimico può essere composto da più reazioni fotochimiche ciascuna con la propria resa fotolitica.
 - Per la i -esima reazione si definisce una resa quantica $\Phi_{r(\lambda)}$ che rappresenta la frazione delle molecole eccitate del composto che reagiscono attraverso quella specifica reazione

$$\Phi_{r(\lambda)} = \frac{n^{\circ} \text{ di molecole che reagiscono via } i}{n^{\circ} \text{ totale di molecole attivate da } \lambda}$$

- $\Phi_{r(\lambda)}$ deve essere determinata sperimentalmente

Rese quantiche per alcuni composti chimici di interesse ambientale

Composto	Lunghezza d'onda ^a	solvente	Resa quantica ^c
Naphthalene	313		1.5×10^{-2}
Phenanthrene	313		1.0×10^{-2}
Anthracene	313		3.0×10^{-3}
1,2-Benzanthracene	313, 366, sun	1% AN ^b	3.2×10^{-3}
Benzo(a)pyrene	313, 366, sun	1–20% AN	8.9×10^{-4}
3,4-Dichloroanilina	313, polychr.	pH 7–10	4.4×10^{-2}
3,5-Dichloroanilina	313, sun	pH 4–10	5.2×10^{-2}
Pentachlorophenolate	314, polychr.	pH 8–10	1.3×10^{-2}
4-Nitrophenolo	313, polychr.	pH 2–4	1.1×10^{-4}
4-Nitrophenolato	365, polychr.	pH 9–10	8.1×10^{-6}
Nitrobenzene	313		2.9×10^{-5}
4-Nitrotoluene	366		5.2×10^{-3}
2,4-Dinitrotoluene	313		2.0×10^{-3}
2,4,6-Trinitrotoluene	313, 366, sun		2.1×10^{-3}

^aWavelength or wavelength range at which Φ , has been determined, sun = sunlight, polychr = polychromatic artificial light (> 290 nm).

^bAN = acetonitrile.

^cMoles of compound converted per moles of photons absorbed.

^d(1) Zepp and Schlotzhauer (1979); (2) Mill et al. (1981); (3) Lemaire et al. (1985); (4) Simmons and Zepp (pers. comm.). (5) Mabey et al. (1983)

Processi fotochimici

- Le reazioni fotochimiche ambientali sono di due tipi: **dirette ed indirette**.
 - *Diretta*: l'energia luminosa è assorbita direttamente dal composto chimico: aldeidi, chetoni, nitroaromatici, azoaromatici, PAH, ammine aromatiche.
 - *Indiretta*: l'assorbimento fotonico avviene per opera di un altro componente il sistema (es. acidi umici (HA) o sostanza organica disciolta (DOM)) che è capace di trasferire energia al composto interessato.
 - Queste sostanze sono dette *sensitizers*. (sensibilizzanti)

Processi fotochimici

- La *fotolisi diretta* comporta l'assorbimento di un fotone di energia corrispondente alla differenza di energia tra gli stati elettronici fondamentale e eccitato del composto.
- *Fotolisi indiretta*: ad esempio **l'acetone** assorbe a frequenze vicino a 280 nm raggiungendo il primo livello elettronico eccitato cui compete un'energia di 82 kcal mol⁻¹. Se un'altra molecola di un composto non assorbente (in quelle condizioni sperimentali) diffonde vicino all'acetone così attivato e ha un salto di primo livello di energia minore 82 kcal mol⁻¹, vi sarà un trasferimento di energia che porterà il secondo composto al livello energetico di primo livello.

Fotochimica nell'atmosfera

- Dipende solo dalla luce solare che viene assorbita dai cromofori che si trasformano in specie ossidanti
- Le reazioni che avvengono sono *ossidazioni*.
- Cromofori importanti
 - Troposfera: NO, NO₂, NO₃, HC aromatici, composti carbonilici, complessi ioni Me.
 - Stratosfera: O₃, O₂, organoalogeni.
- Agenti ossidanti principali: radicale ossidrile •OH, radicale idroperossido •OOH, ozono O₃.

Fotochimica indiretta nell'atmosfera

Ossidanti atmosferici	Concentrazioni medie	
HO·	0.01 – 0.4 ppt	parti per mille (ppt, ‰)
O ₃	0.02 – 0.5 ppm	parti per milione (ppm)
NO ₃	1 – 400 ppt	
NO ₂	20 – 500 ppb	parti per miliardo (ppb)

Composti	t _{1/2}	
	HO·	O ₃
Alcani	200 h	>10 ⁶ anni
Alcoli	60 h	>10 ⁶ anni
Aromatici	60 h	ca 10 ³ anni
Olefine	20-60 h	<20 anni

Fotochimica nell'acqua

- I processi fotochimici nei corpi d'acqua sono legati alla quantità di energia che raggiunge le sostanze disperse nel mezzo acquoso.
- La trasmissione della luce nell'acqua è maggiore per λ 400-500 nm (blu) e può arrivare fino a 140 m nelle acque oceaniche pure.
- Processi di scattering e di riflessione e materiali disciolti riducono percentualmente la disponibilità dell'energia.

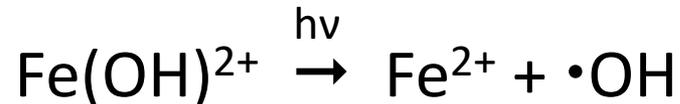
Fotochimica indiretta in acqua

Ossidanti in acqua di superficie	Conc., M
$^1\text{O}_2$	1×10^{-13}
$\text{RO}_2\cdot$	1×10^{-10}
$\text{HO}\cdot$	1×10^{-16}

Composti	$t_{1/2}$		
	$\text{HO}\cdot$	$\text{RO}_2\cdot$	$^1\text{O}_2$
Fenoli	<10 h	20 h	5 h
Ammine aromatiche	<100 h	20 h	10 h
Furani	250 h	100 h	10 h
Idroperossidi	250 h	20 h	10 h

Cromofori inorganici

- Acque marine: anioni e cationi sono trasparenti alla luce solare, ad eccezione di alcuni cationi metallici, i nitriti, i nitrati.
- Alcuni complessi del Fe(III) assorbono significativamente e quelli contenenti Cl possono rilasciare $\cdot\text{Cl}$.
 - Ad esempio $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ presente in acque leggermente acide rilascia $\cdot\text{OH}$ con alta resa quantica.



Il Ferro (III) si riduce a Fe (II)

Cromofori inorganici

- La fotolisi di nitrati (λ_{\max} 303 nm) e nitriti (λ_{\max} 355 nm) è il processo dominante per la formazione di $\cdot\text{OH}$ nelle acque profonde.



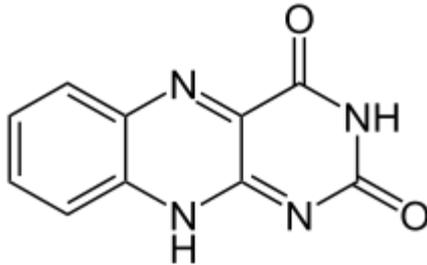
- I radicali nitrito e nitrato danno reazioni radicaliche, nitrando o nitrosando anelli aromatici.

Cromofori organici

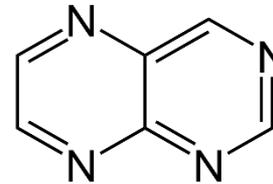
- La materia organica disciolta (principalmente acido umico e acido fulvico, ma anche pigmenti colorati) ha due funzioni:
 1. Assorbe luce UV (in modo crescente da 600 a 300 nm) e filtra i raggi UV vicino alla superficie, rallentando possibili reazioni dirette.
 2. Funge da sensitizer promuovendo reazioni di composti disciolti.

Cromofori organici

- Le flavine, pigmenti colorati derivati della pteridina, sono importanti per la fotochimica acquatica delle acque sorgive.



Anello isoallossazinico

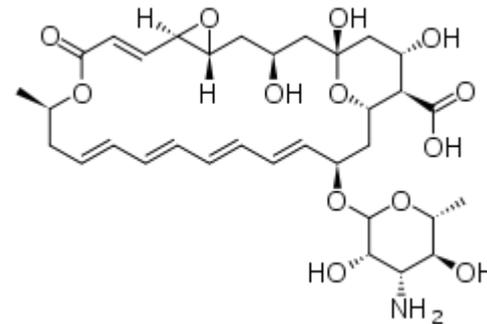
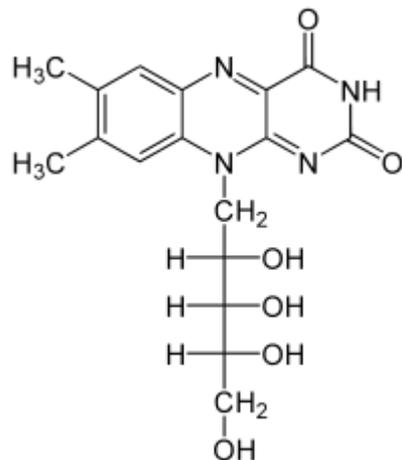


pteridina

- Assorbono a 440 nm con alta resa quantica.
- Gli stati eccitati partecipano a molti processi redox, come la rigenerazione di H_2O_2 , la fotoossidazione di amino acidi e la formazione di radicali organici liberi, ulteriormente ossidabili da O_2 .

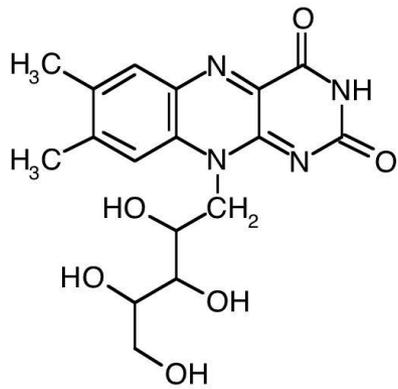
Riboflavina

- La riboflavina subisce fotolisi diretta con perdita parziale o totale della catena ribitilica.
 - Le riboflavine allo stato eccitato attivano composti ricchi di e^- (fenoli, aniline).
 - La riboflavina degrada il fungicida polienico primaricina in soluzione acquosa

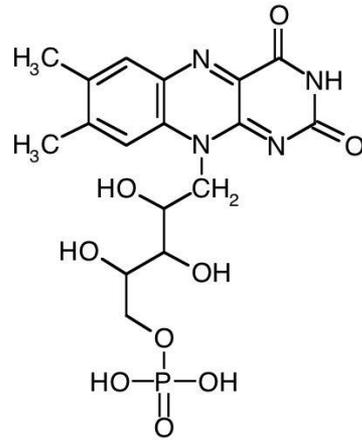


Primaricina
o Natamycin

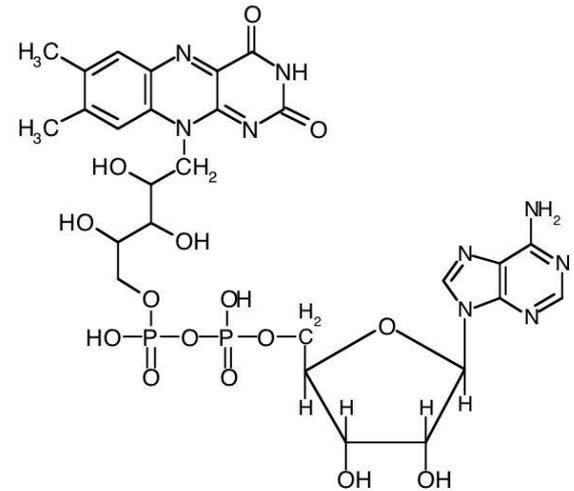
FMN e FAD



Riboflavina

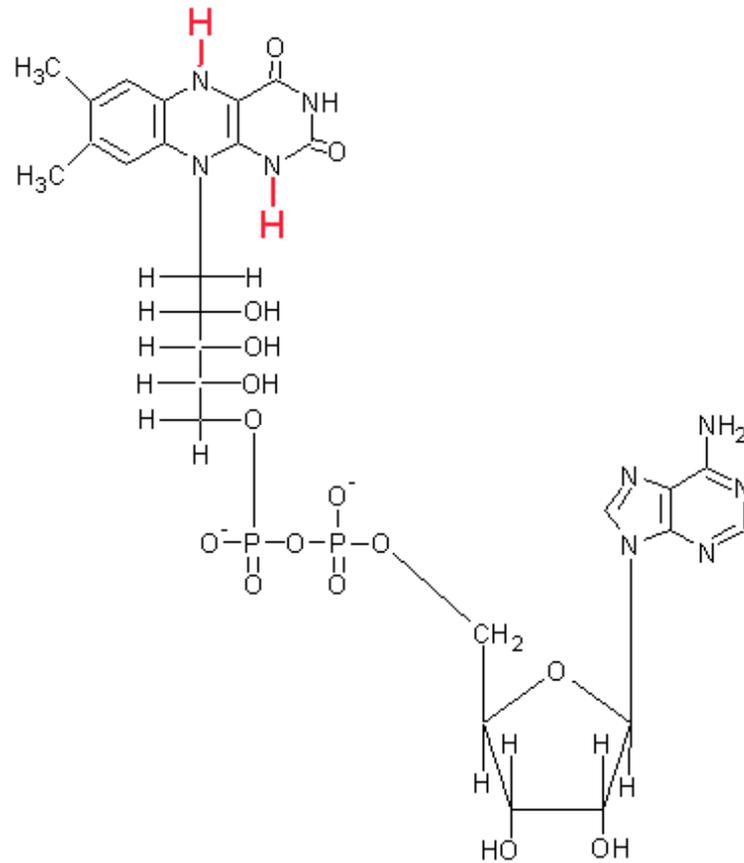


Flavin mononucleotide
(FMN)



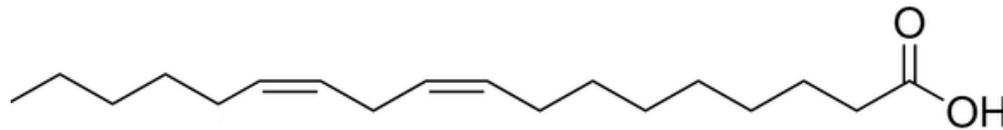
Flavin adenina dinucleotide
(FAD)

FADH₂

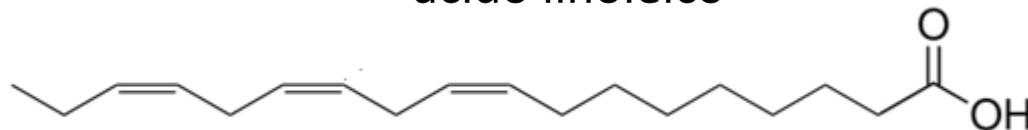


Interfaccia aria-acqua

- Vi è sempre uno strato superficiale organico esposto alla radiazione solare.
- Gli acidi grassi insaturi, comuni costituenti degli organismi acquatici vengono ossidati.
 - direttamente dall'ozono
 - indirettamente via idroperossidi, con catalisi di Fe^{2+} .



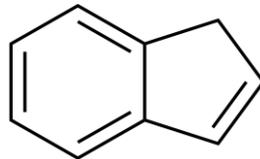
acido linoleico



acido linolenico

Fotoossidazione del Petrolio

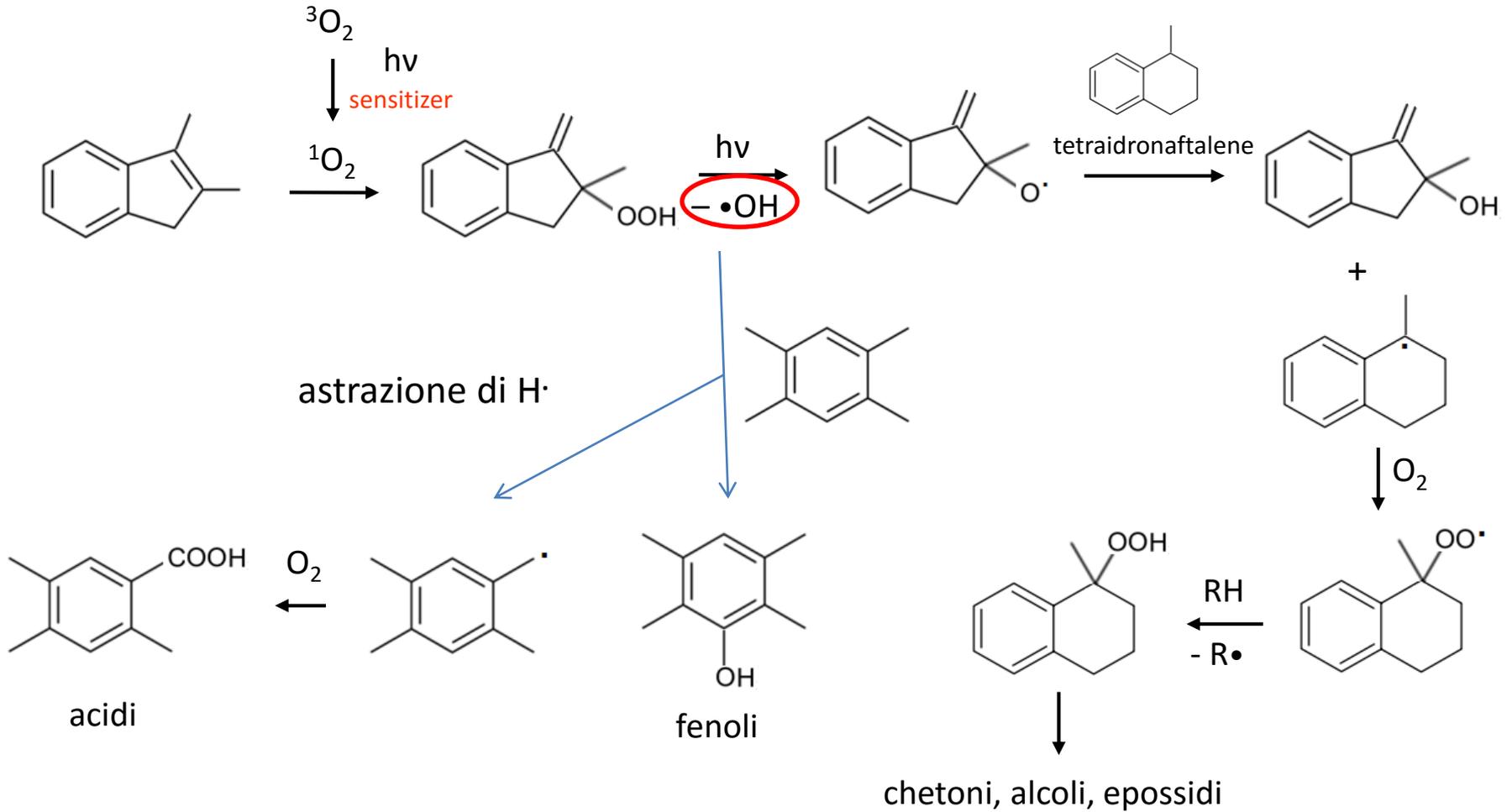
- Sulla superficie acquosa il petrolio subisce trasformazioni dei suoi componenti ossigenati (fenoli, perossidi e acidi).
- Il petrolio contiene HC aromatici come alchilbenzeni, indeni, tetraidronaftaleni che hanno attività sensibilizzante.



indene

Esempio

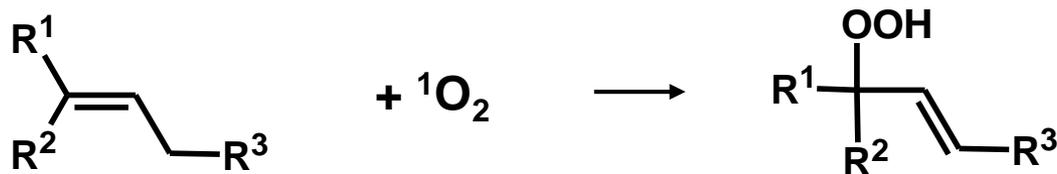
Ossigeno di singoletto viene generato dall'interazione tra l'ossigeno di tripletto e specie di tripletto fotoeccitate della sostanza organica



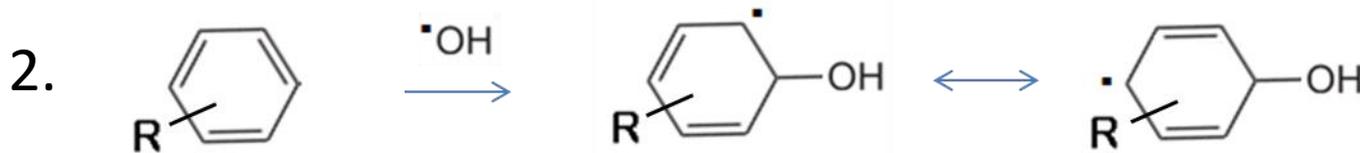
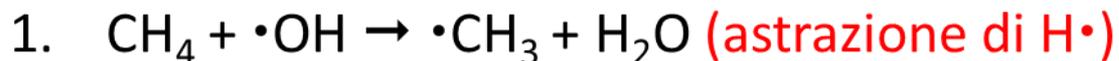
Reazioni di $^1\text{O}_2$ con composti organici

Olefine

- I doppi legami più sostituiti sono i più reattivi e si formano *idroperossidi*.



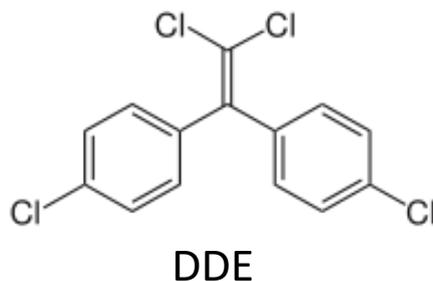
Reazioni di $\cdot\text{OH}$



Interfaccia solido-acqua, solido-aria

Suoli

- Nel suolo e nei sedimenti la penetrazione della luce arriva fino a 0.2 mm circa, sufficiente a dare in superficie reazioni veloci.
 - Es. DDE adsorbito reagisce più velocemente che in acqua dando prodotti diversi che in acqua.



Adsorbimento

- L'adsorbimento di un composto organico su una superficie ne cambia
 - le proprietà chimiche
 - le proprietà fisiche
 - tempi di vita degli stati eccitati
 - spettri (HC aromatici, composti carbonilici, composti azotati, etc.)
 - idrocarburi aromatici assorbiti su silica mostrano red shifts nei loro spettri UV in soluzione per la banda $\pi \rightarrow \pi^*$

Particelle sospese

- Possono ridurre la possibilità di reazioni fotochimiche attenuando per scattering la luce incidente.
- Possono favorire reazioni fotochimiche che avvengono sulla loro superficie, soprattutto se vi sono ossidi metallici.

Ossidi metallici

- ZnO, MnO₂, Fe₂O₃ sono semiconduttori.
 - Assorbendo la luce del sole a frequenza maggiore della loro energia di banda, emettono un e⁻ dalla banda di conduzione creando una *vacanza* (sito con carica positiva).

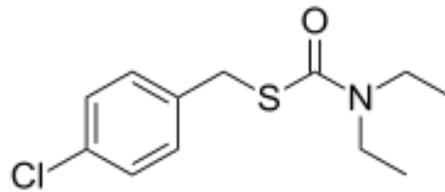
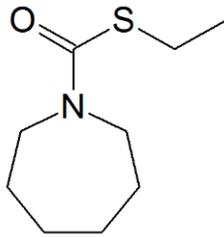
- L'e⁻ può trasferirsi all'ossigeno riducendolo:



- Il sito positivo può ossidare substrati ricchi di e⁻ accettando un e⁻ oppure prendendo un H dall'H₂O e producendo •OH.

Ossidi metallici

- ZnO ossida alcani ad alcanoni.
 - È in grado di degradare gli erbicidi Molinate e Thiobencarb nelle acque reflue agricole.



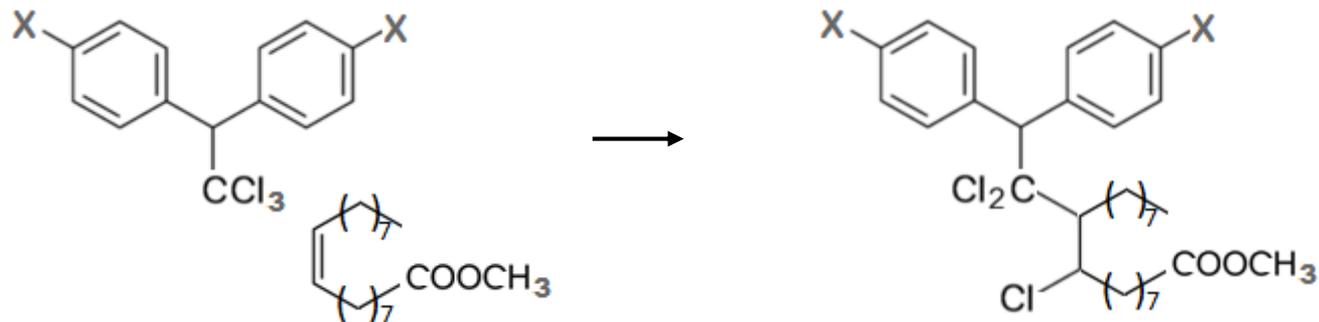
- Fe_2O_3 ossida I^- a I_2 , $-\text{S}-$ a SO e SO_2
- $\text{FeO}(\text{OH})$ (goethite) può decarbossilare acidi carbossilici lasciando radicali $\text{R}\cdot$ che possono reagire ulteriormente.

Ossidi metallici

- TiO_2 è un potente semiconduttore e electron transfer.
 - Stabile all'irradiazione.
 - Declorura ossidativamente i bifenili policlorurati (PCB) a 365 nm in 30 min.
 - Trasferisce un e^- a O_2 :
$$\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{O}_2^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH}$$
 - È in grado di mineralizzare molti composti organici.

Superfici di organismi

- La superficie delle piante è idrofoba.
 - Contiene alcani a catena lunga, alcoli e acidi grassi, steroli, cere, polimeri come le cutine, pigmenti e alcaloidi capaci di catalizzare reazioni fotochimiche.
 - Il DDT e il methoxychlor, sotto l'azione della luce, si addizionano ai doppi legami dei residui di acidi grassi, legandosi ai tessuti delle piante.



metil estere
dell'acido oleico

Alghe

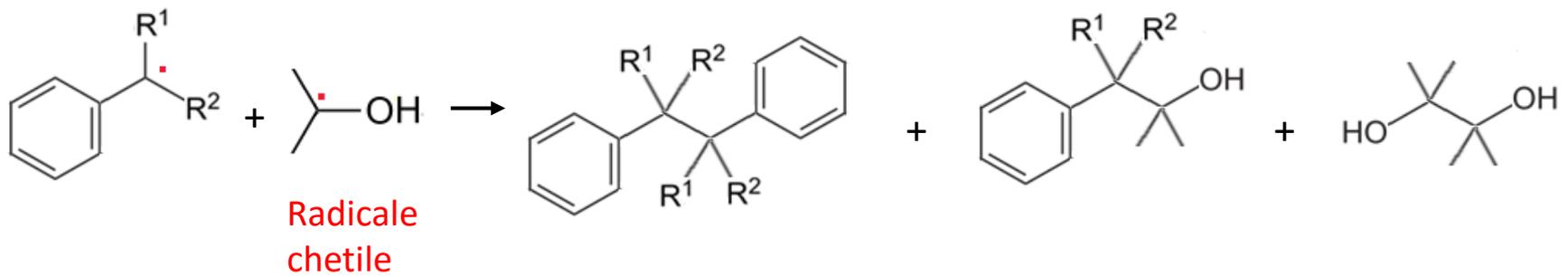
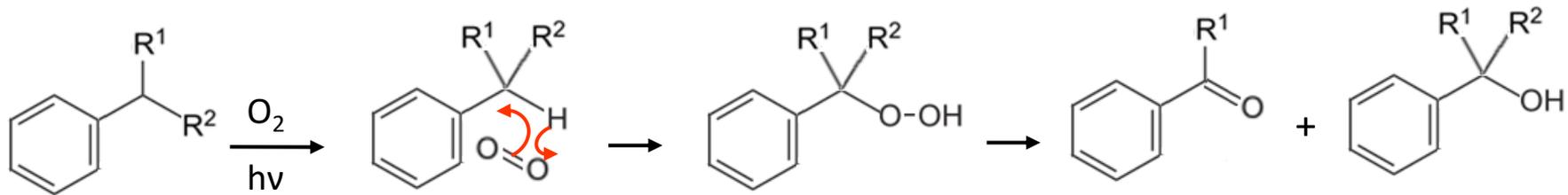
- Sono ritenute importanti agenti di promozione di reazioni fotochimiche.
- Infatti la loro pigmentazione assorbe molta luce e la clorofilla è un potente electron-transfer sia in vivo che in vitro.
 - Ad es. l'alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* trasforma anilina in azobenzene in 11 min.



Fotoreazioni di composti organici

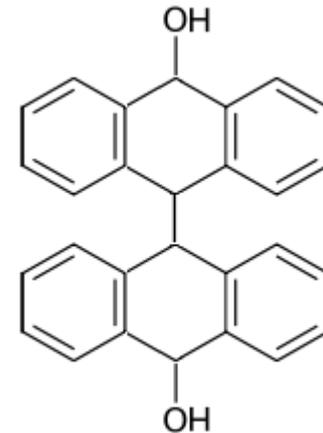
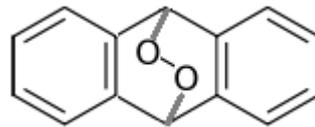
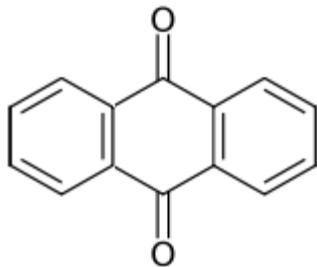
HC aromatici

- In presenza di ossigeno formano complessi che subiscono fotolisi:



PAH

- In acqua assorbono fortemente la radiazione UV solare subendo fotolisi.
- La presenza di ossigeno *disciolto* ha scarsa rilevanza, ossia le specie $^1\text{O}_2$ e $\cdot\text{OH}$ contano poco.
 - Antracene dà antrachinone + endoperossido + dimeri:



Lo step iniziale della loro fotodecomposizione può essere la fotoionizzazione a PAH radical catione e un «hydrated electron» seguita da una reazione di distruzione del PAH che coinvolge l'acqua

HC alifatici alogenati

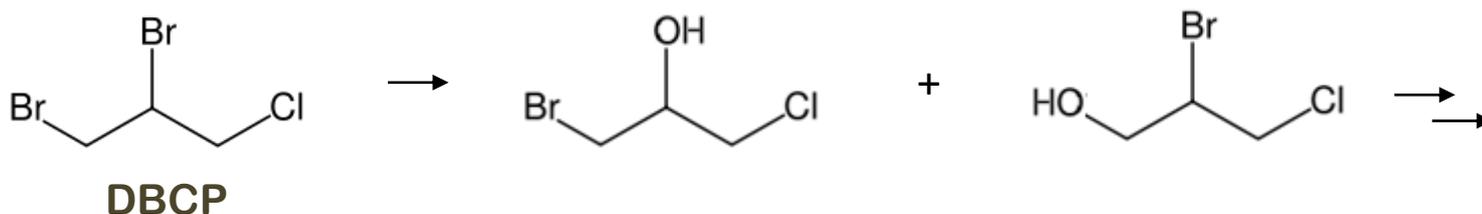
- Monoalogenati: non assorbono radiazione UV.
- Dialogenati e trialogenati geminali assorbono ($n \rightarrow \sigma^*$) e si può avere omolisi del legame C-Cl.
 - CCl_4 e CHCl_3 sono instabili alla fotodecomposizione
 - quelli commerciali contengono piccole quantità di metanolo come scavenger di radicali.



Il metanolo cattura i radicali e si ossida terminando le reazioni a catena

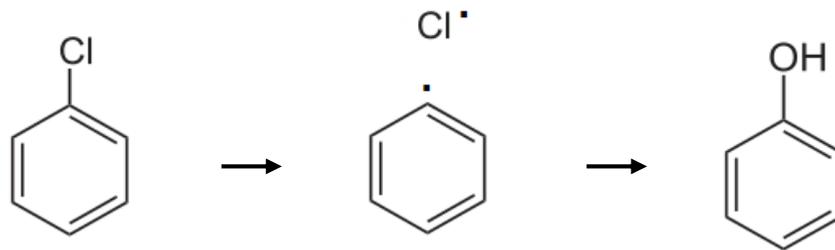
Idrocarburi alogenati

- Assorbono poco a 254 nm.
- Subiscono fotolisi nella stratosfera.
 - Es. DBCP (1,2-dibromo-3-cloropropano) in H_2O dà due alcoli che subiscono fotodealogenazione.



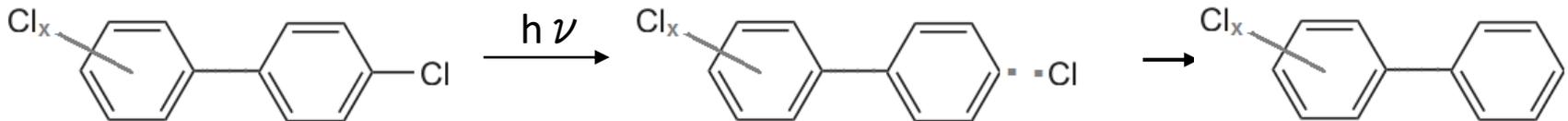
Benzeni clorurati

- Sono poco solubili in H₂O.
- Assorbono poca radiazione UV.
- Clorobenzene omolizza a Cl atomico e radicale fenile, il quale reagisce con H₂O a dare fenolo. Non si forma benzene.



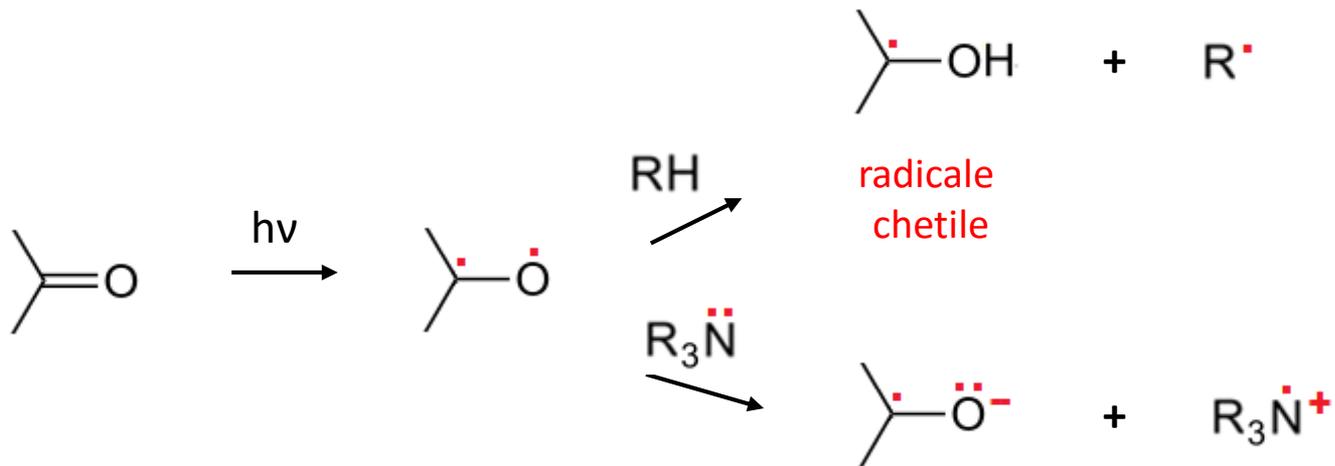
PCB

- A $\lambda > 290$ nm l'assorbimento è sufficiente a provocare alcune reazioni.
- In acqua le reazioni sono lente, in solventi HC si ha la fotolisi del legame C-Cl e l'estrazione di H dal solvente.



Composti carbonilici

- Allo stato eccitato il carbonile ha l'ossigeno elettrofilo e può assumere un H da cicloesano, da alcoli, o può ricevere un e^- da amine, da derivati solforati.
 - Si forma un radicale R^\bullet , iniziatore di reazioni.



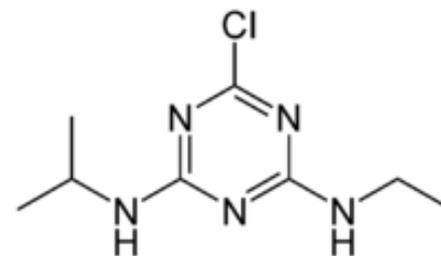
Composti carbonilici

- Il gruppo carbonilico nello stato eccitato può quindi iniziare reazioni radicaliche.
- Es. fotoossidazione di atrazina e di altri erbicidi triazinici.

- In H₂O è stabile alla fotolisi
- In presenza di acetone

$$t_{1/2} = 5 \text{ h}$$

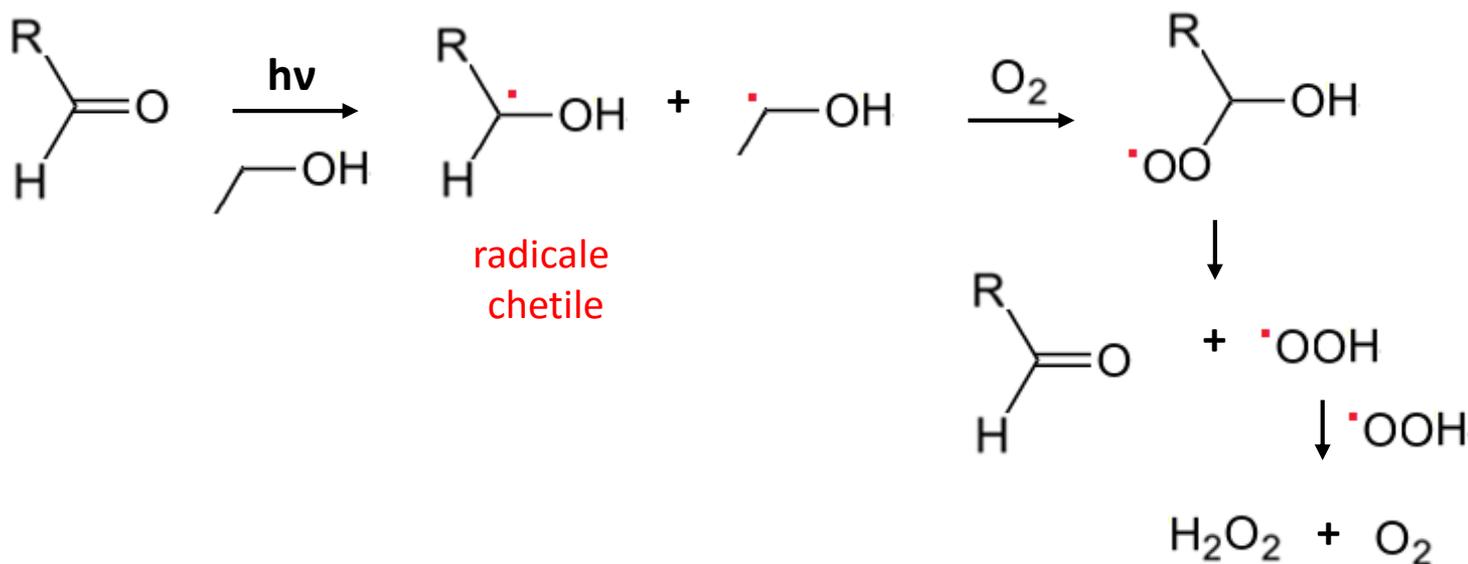
- Si formano prodotti di N-dealchilazione e triazine idrossilate.



atrazina

Composti carbonilici

- Il radicale chetile può reagire con O_2 per dare radicali perossidi.

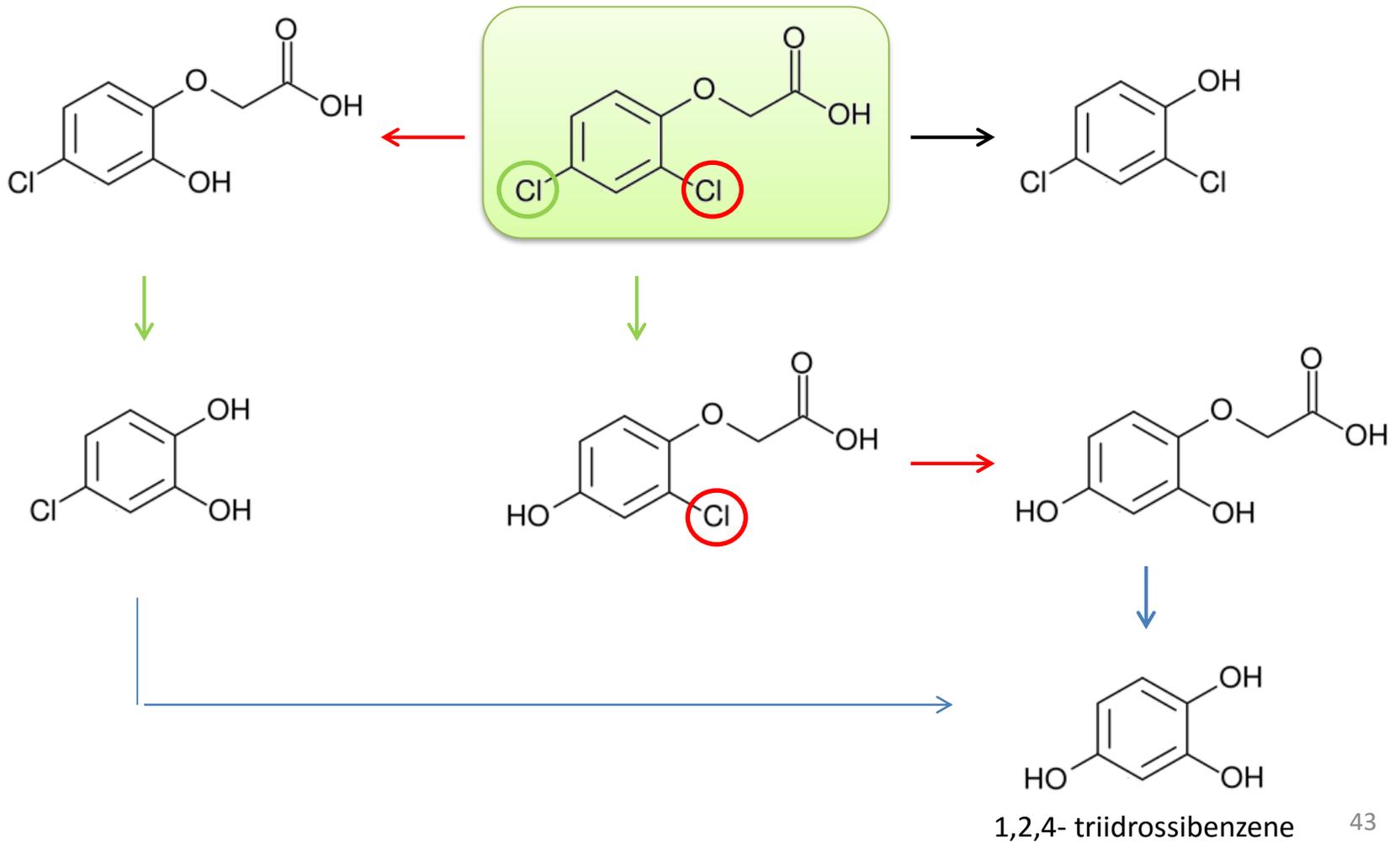


Fenoli

- Fenoli e clorofenoli in acque soleggiate: $t_{1/2}$ da <1h a >100h.
- La velocità di degradazione cresce con il pH perché il fenato ha un maggiore assorbimento della radiazione e maggiore velocità di fotolisi.
- I prodotti sono vari.

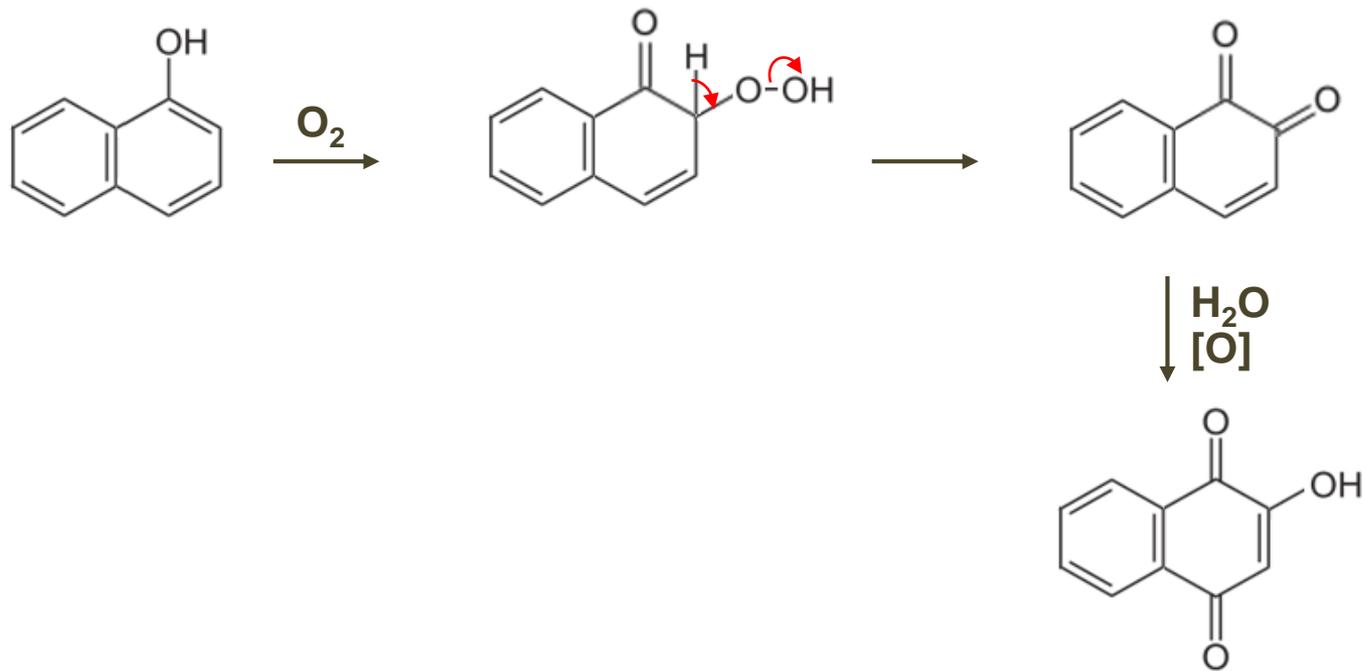
Fenoli

- Es. erbicida 2,4-D, fotoidrolisi



Fenoli

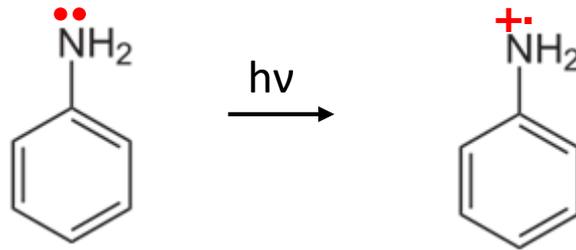
- L'1-naftolo in acqua ha un tempo di degradazione 6 volte maggiore a pH 8 che a pH 5 ($t_{1/2}$ 1h).



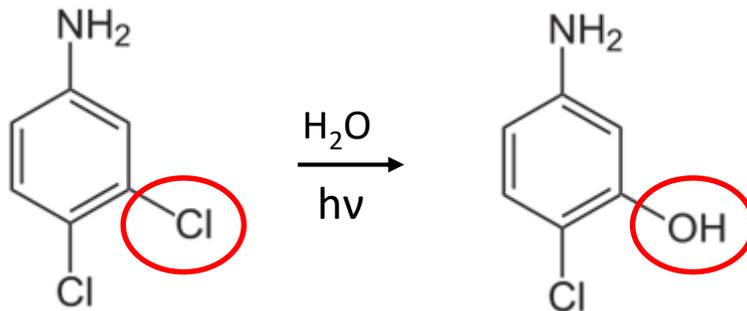
naftochinone

Aniline

- L'assorbimento di radiazione (ca. 290 nm) è accompagnato da espulsione di 1 e⁻ e formazione di un radical catione.

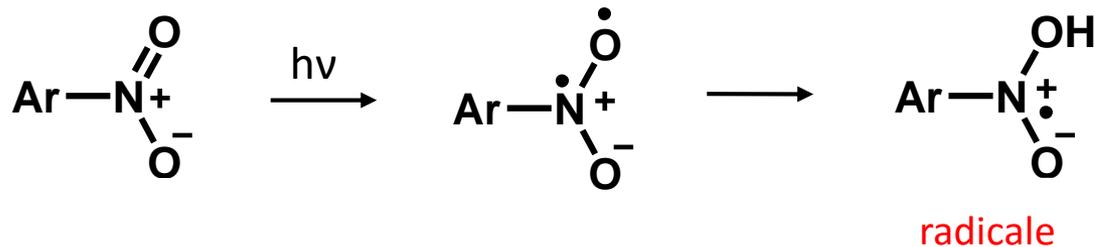


- Come i clorofenoli, le cloroaniline fotoidrolizzano



Nitrocomposti

- Il nitro gruppo è un potente cromoforo.
- I nitrocomposti aromatici sono colorati, assorbono a 260 e 350 nm e sono quindi suscettibili di fotolisi.
 - Il nitro gruppo eccitato estrae 1 H.



- Si formano aniline, nitroso derivati, idrossilammine, azocomposti.

Nitrocomposti

- Nitrocomposti aromatici *non molto disattivati* (contenenti alchili e alcossili) hanno $t_{1/2}$ di meno di 1 giorno.
- Nitrocomposti aromatici *molto disattivati* (contenenti più nitro gruppi) hanno tempi di settimane o mesi.
- La presenza di materiali umici come sensibilizzanti fa aumentare la velocità.

Reazioni biotiche

Reazioni biotiche

- Le reazioni che coinvolgono organismi sono molto importanti per il destino e la persistenza dei composti organici nei sistemi terra e acqua.
- Si dividono in:
 - Trasformazioni microbiche
 - Trasformazioni ad opera di organismi superiori

Trasformazioni microbiche

- I microorganismi sono ubiquitari.

Ambiente	N° di batteri per ml
Laghi montani	50 – 300
Laghi torbidi, ricchi di nutrienti	2000 – 12000
Sedimenti di laghi	8×10^{10}
Sedimenti di correnti	$10^7 - 10^8$

- In generale ad un aumento di materiale organico corrisponde un aumento di popolazione microbica.

Biotrasformazioni e Biodegradazioni

- Biodegradazione
 - Condizioni aerobiche: mineralizzazione a CO_2 e H_2O
 - Condizioni anaerobiche: formazione di CO_2 , CH_4 e solfuri
- Biotrasformazione
 - Lo scheletro della molecola rimane intatto, si modificano solo alcuni gruppi funzionali

Classi di microorganismi

- I microrganismi includono batteri, funghi, alghe, protozoi, virus.
 - Procarioti – Hanno una struttura cellulare semplice priva di nucleo.
 - Sono ampiamente distribuiti nell'ambiente sia superficiale che sotterraneo. Includono batteri e cianobatteri (alghe verdi-blu).
 - Eucarioti – Hanno una struttura più complessa e posseggono nucleo.
 - Nei terreni sono meno abbondanti dei procarioti. Includono alghe, funghi e protozoi.

Classi di microorganismi

	Procarioti	Eucarioti
Organismi	Batteri e cianobatteri	Protisti, Funghi, Piante e Animali
Dimensioni cellulari	Generalmente da 1 a 10 μm di dimensioni lineari	Generalmente da 5 a 100 μm di dimensioni lineari
Metabolismo	Anaerobio o aerobio	aerobio
Organelli	Pochi o nessuno	Nucleo, mitocondri, cloroplasti, reticolo endoplasmatico, ecc..
DNA	DNA circolare nel citoplasma	Molecole molto lunghe di DNA lineare contenenti molte regioni non codificanti; circondato da un involucro nucleare
RNA e proteine	RNA e proteine sintetizzate nello stesso compartimento	RNA sintetizzato ed elaborato nel nucleo; proteine sintetizzate nel citoplasma
Citoplasma	Assenza di citoscheletro: niente flussi citoplasmatici, endocitosi ed esocitosi	Citoscheletro composto da filamenti proteici; flussi citoplasmatici; endocitosi e esocitosi
Divisione cellulare	Cromosomi separati mediante attacco alla membrana plasmatica	Cromosomi separati da un fuso di citoscheletro
Organizzazione cellulare	In genere unicellulare	In genere multicellulare, con differenziamento di molti tipi cellulari

Processi metabolici

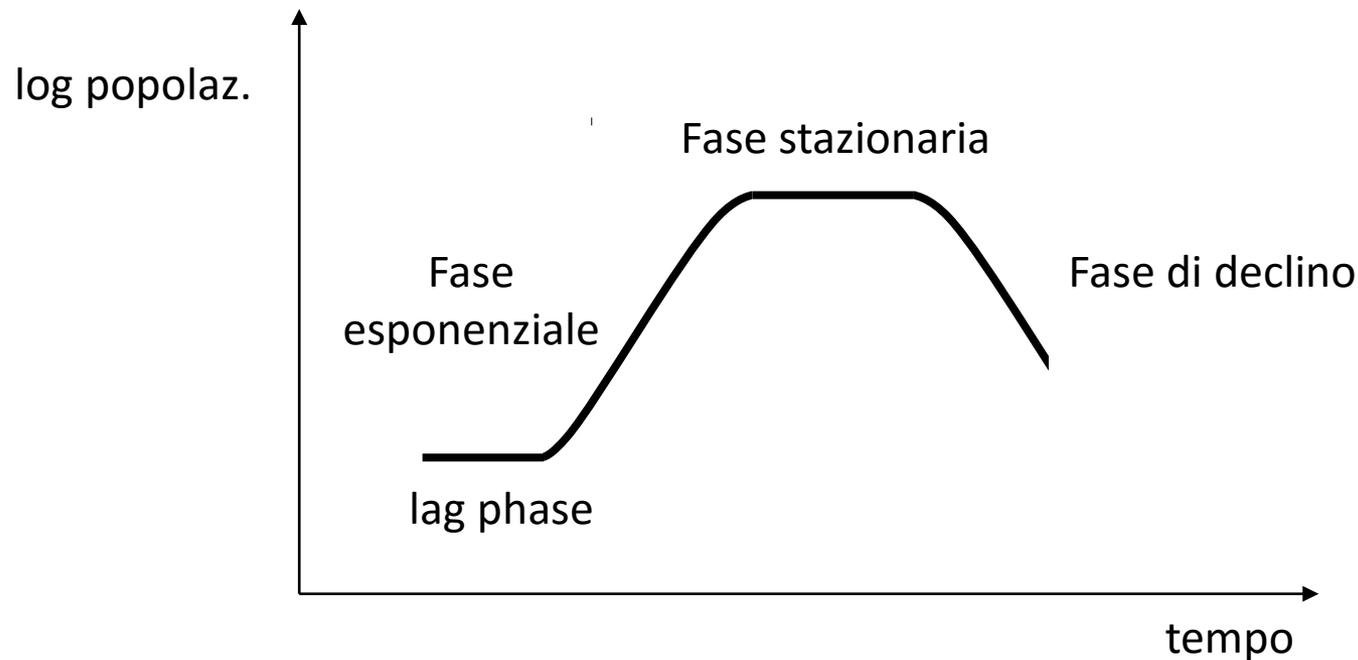
- Microorganismi autotrofi – Hanno la capacità di procurarsi il nutrimento e/o l'energia, come ad es. gli organismi fotosintetici.
- Microorganismi eterotrofi – Ricavano carbonio e energia dall'esterno, da composti naturali e non.

Microrganismi ambientali

- Comportamento di una cultura di microrganismi ambientali nei confronti di una sostanza xenobiotica:
 - Immediata utilizzazione come fonte di energia
 - Utilizzazione dopo un certo periodo (lag-phase)
 - Utilizzazione come cometabolismo (Il microorganismo non ricava né energia né sostanze dalla biodegradazione, ma utilizza normali processi metabolici per trasformare le sostanze inquinanti)
 - Nessuna utilizzazione

Azione microbica: curva di crescita batterica

- Periodo di adattamento dei microrganismi:
 - fase iniziale: 2 – 50 gg: spesso necessari enzimi specifici per la degradazione.



Azione microbica

- Il periodo di induzione è breve se
 - i microbi erano già stati esposti al composto xenobiotico
 - se le comunità microbiche sono grandi.
- Il periodo di induzione è lungo se vi sono altre fonti di carbonio.
- Concentrazione dello xenobiotico.

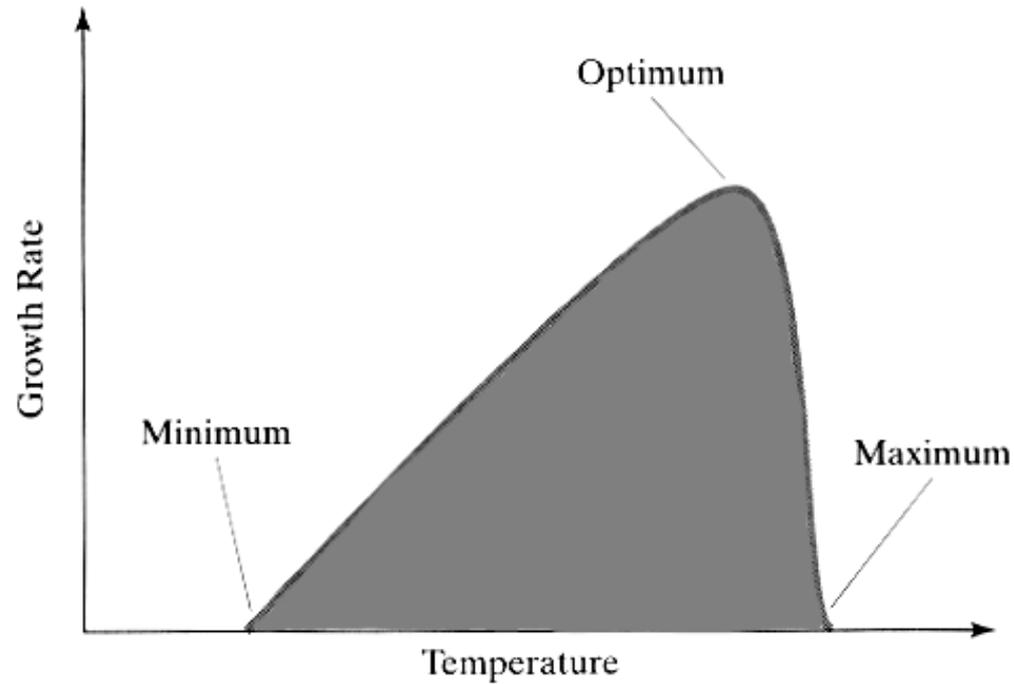
Cometabolismo

- Si verifica quando, nel degradare un substrato, l'enzima degrada incidentalmente anche un'altra molecola che si lega al medesimo sito attivo.
- Enzimi di bassa specificità degradano un composto a dare prodotti che vengono poi eventualmente degradati da enzimi ad alta specificità.

HABITAT microbico

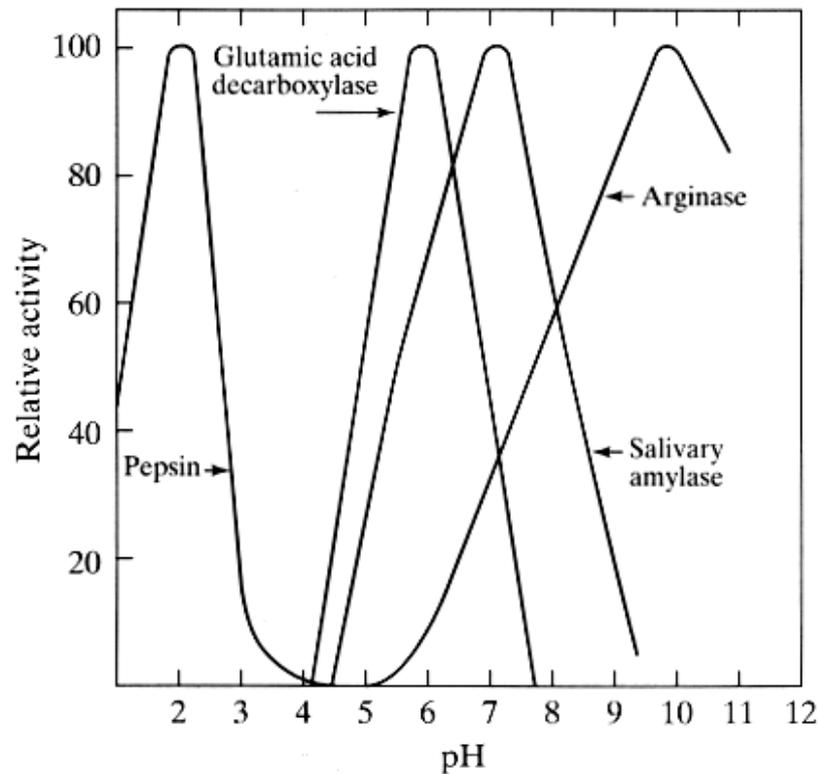
- La richiesta maggiore dei microrganismi, oltre alla presenza di nutrienti, è la presenza di acqua.
- I microrganismi sono variamente distribuiti:
 - Liberi o sospesi nell'acqua
 - Adsorbiti alla materia organica
 - Adsorbiti alle particelle di sedimento o suolo

Relazione temperatura – crescita



Temperature ottimali dai 15 ai 100°C

Microorganismi e pH



- In generale i microorganismi sono adattati a vivere da pH <2 (acque acide delle miniere) a >10 (laghi alcalini).
- Ceppi individuali di batteri tollerano range di pH relativamente stretti.
- Il pH influenza essenzialmente la attività.

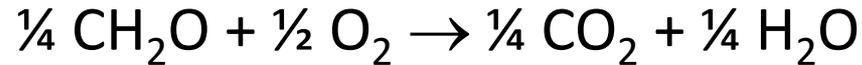
Effetto del pH sull'attività di quattro enzimi: pepsina, acido glutammico decarbossilasi, arginasi e amilasi salivare

Microorganismi e ossigeno

- *Aerobi obbligati* – Microorganismi per i quali la presenza di ossigeno è essenziale. L'ossigeno è il solo elettrone accettore che possono utilizzare.
- *Aerobi facoltativi* – Possono usare ossigeno se disponibile, ma possono spostarsi su altri accettori di elettroni se non vi è ossigeno.
- *Anaerobi Obbligati* – Usano elettrone accettori diversi dall'ossigeno che è tossico.
- Aerobi e Anaerobi possono trovarsi nello stesso comparto acquifero (micro-ambiente).

Enzimi

- L'ossidazione di materiale organico fornisce energia per gli organismi viventi perché sono reazioni termodinamicamente favorite.



$$\Delta G^\circ = -119.98 \text{ kJ/elettrone equivalente}$$

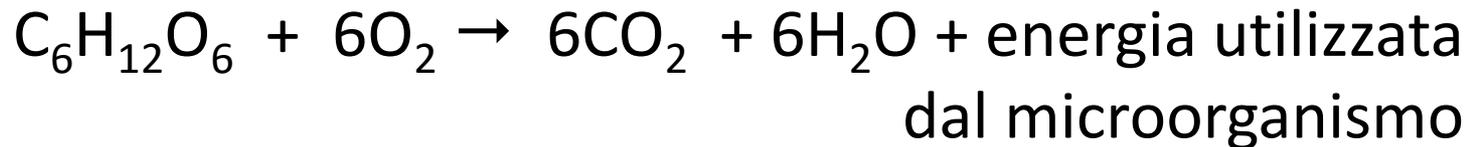
- Tuttavia le velocità sono molto basse a temperatura ambiente.
- I microorganismi utilizzano *enzimi* per superare la barriera energetica.

Processi redox nelle acque naturali

- In acque aerobiche i microorganismi utilizzano ossigeno per degradare composti organici.

- la concentrazione di O_2 varia da 0 a 10 mg/l.

- Es. carboidrati



ossigeno si riduce addizionando H e $2 e^-$

- Se la molecola contiene azoto, si forma NH_3 e ione nitrato (da ossidazione di ammoniaca da parte di microorganismi diversi, *batteri nitrosanti e batteri nitrificanti*).

Processi redox nelle acque naturali

- Al diminuire di DO (Ossigeno Disciolto), i processi degradativi rallentano.
- Quando DO scende a valori troppo bassi (0.5 – 1 mg/l), è il nitrato a fungere da ossidante:



Se la molecola contiene azoto, esso diventa NH_3 .

Processi redox nelle acque naturali

- Quando il nitrato scende a valori troppo bassi, è lo ione solfato a fungere da ossidante. Si producono H_2O , CO_2 , H_2S .
- Quando vi è mancanza di ossigeno disciolto, la degradazione può ancora procedere:



Fermentazione alcolica. Produce alcool etilico + CO_2 (lieviti)

Attività dei microorganismi

- Oltre che di carbonio, i microorganismi necessitano per il metabolismo anche di nutrienti (N, P) e di micronutrienti essenziali (fattori di crescita, metalli in tracce).
 - Es. il petrolio viene degradato più velocemente se si aggiunge Fe che agisce da cofattore per alcuni enzimi responsabili dell'ossidazione di HC.

Sistemi terrestri

- I microorganismi del suolo sono adsorbiti al materiale solido.
 - Suoli ben drenati sono aerobici.
 - Diventano anaerobici quando i livelli di umidità sono troppo alti.
- La velocità di degradazione si riduce se l'umidità è troppo bassa o troppo alta.

Organismi superiori (pesci)

- Operano in modo endogeno.
- MFO, mixed function oxidase – citocromo P450.
 - Poco specifico
 - Induzione per esposizione a diossina, DDT, PAH, barbiturici, e altri.
 - Fase I: Introduce O₂ nei legami C-H:
$$\text{R-H} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{R-OH} + \text{H}_2\text{O}$$
 - Fase II: Lega i prodotti della fase I a composti naturali.

Cinetica

- Velocità di degradazione di un inquinante: si valuta misurando la domanda di ossigeno dei microorganismi.
 - BOD (biochemical oxygen demand): è una misura dell'O₂ disciolto consumato in 5 gg dai microorganismi nella degradazione in acqua del composto.
 - La cinetica è del 2° ordine:

$$-\frac{d[C]}{dt} \propto [C][O_2] \text{ o } [H_2O]$$

riconducibile al 1°
Perché la quantità
di ossigeno o acqua
è grande e non
varia

$$-\frac{d[C]}{dt} \propto [C]$$

Cinetica

- Nel caso della degradazione microbica la cinetica può essere complessa.

- Si usa spesso la seguente relazione:

$$-\frac{d[C]}{dt} \propto [B][C] \quad \text{B popolazione dei microrganismi}$$

- Dato che [B] è relativamente costante,

$$-\frac{d[C]}{dt} = k[C]$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.693}{k} = \text{cost}$$

Cinetica

$$t_{1/2} = \text{cost}$$

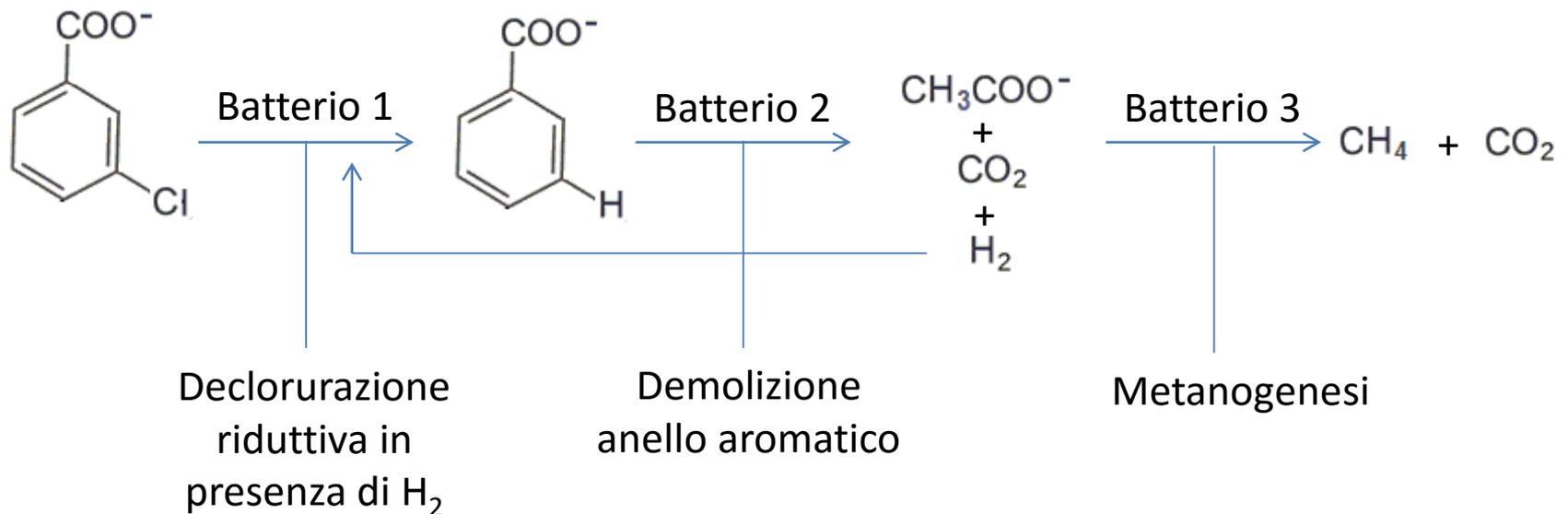
- Il tempo di semivita per un dato composto in un determinato processo degradativo in condizioni specifiche è costante.
- *La reale k di velocità della degradazione è molto variabile, dipende da pH, t , disponibilità di acqua, di ossigeno, e altro.*

Reazioni di degradazione

1. Entrata del composto nella cellula batterica
2. Inizio della degradazione:
 - Ossidazione
 - Riduzione
 - Idrolisi
3. Reazioni di varia natura a seconda del metabolita prodotto fino alla mineralizzazione totale.
 - Tali reazioni seguono la legge cinetica di Michaelis-Menten

Processi consortili

- Mineralizzazione del composto organico ad opera di associazioni di batteri che utilizzano in serie il prodotto della trasformazione:



Biotrasformazione o biodegradazione di composti organici

Introduzione di ossigeno

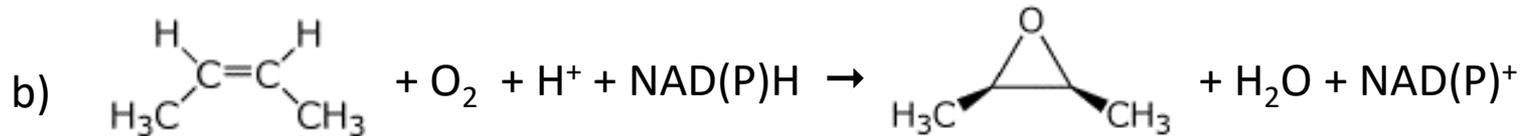
- Monoossigenazione
- Diossigenazione
- Ossigeno dall'acqua: ossidoreduttasi e idratasi
- Ossidasi: perossidasi e aloperossidasi

Introduzione di ossigeno

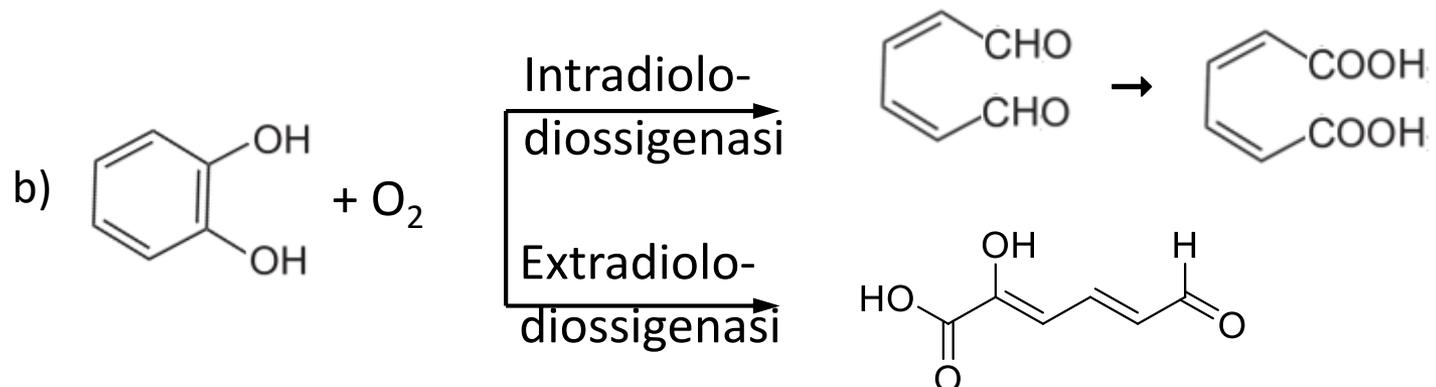
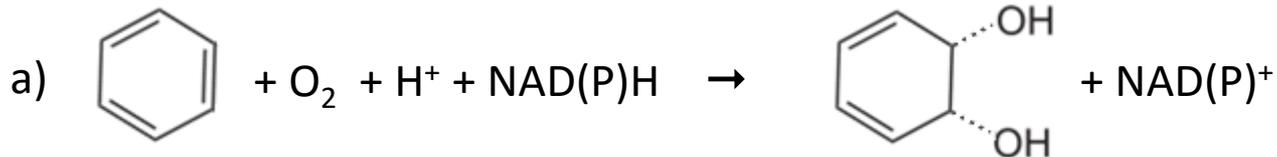
- Ossigeno molecolare – ossigenasi
 - monoossigenazione
 - diossigenazione
- Ossigeno dall'acqua – idrossilasi
 - idrossilazione
 - idratazione
- Attività di perossidasi e ossidasi

Introduzione di ossigeno

- Monoossigenasi - introducono un ossigeno

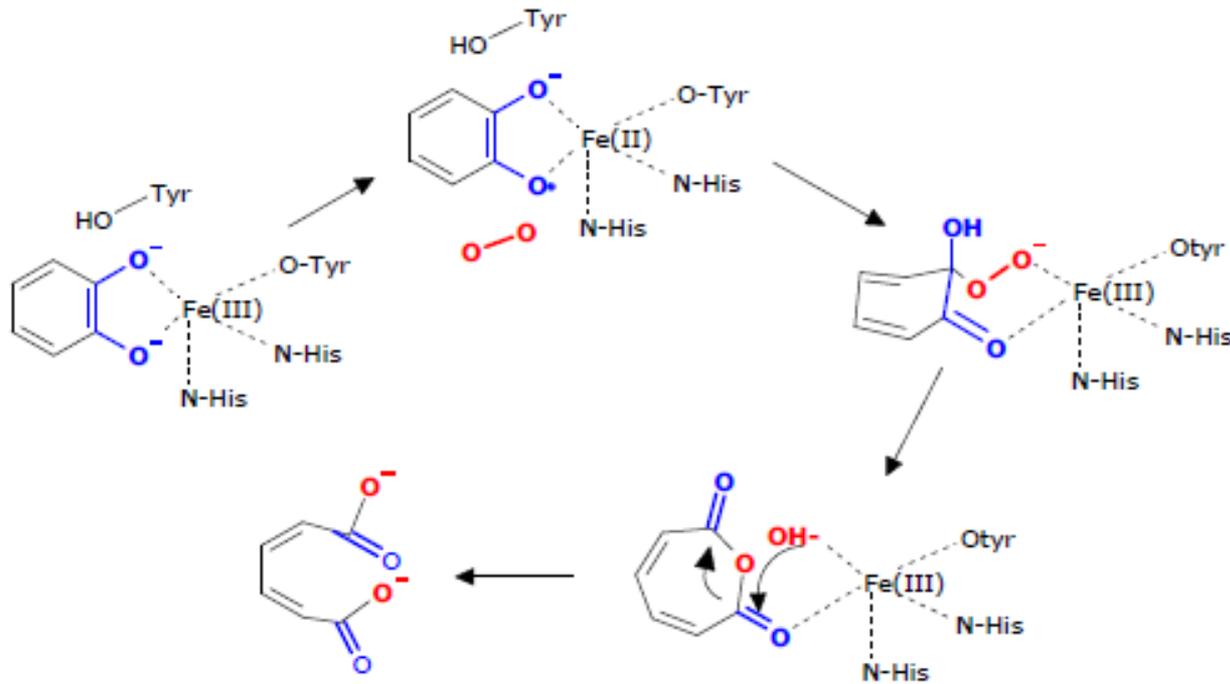


- Diossigenasi - introducono due ossigeni



Introduzione di ossigeno catecolo 1,2 diossigenasi

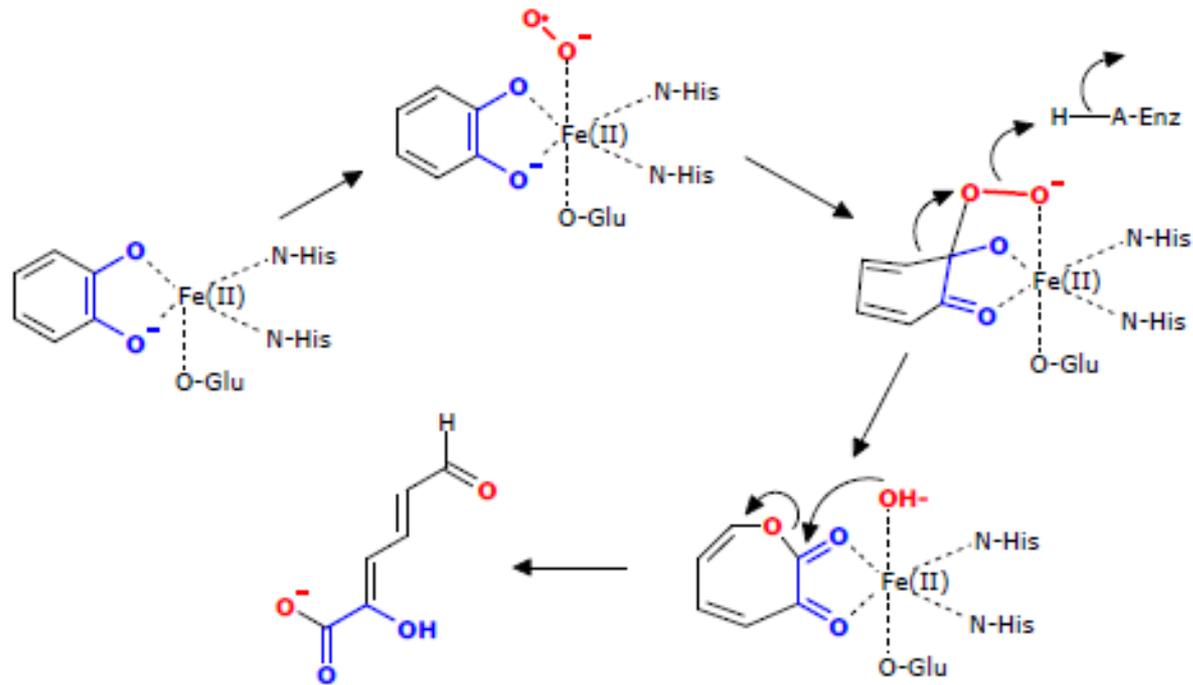
Apertura intradiolo



intradiolo- diossigenasi

Introduzione di ossigeno catecolo 2,3 diossigenasi

Apertura extradiolo



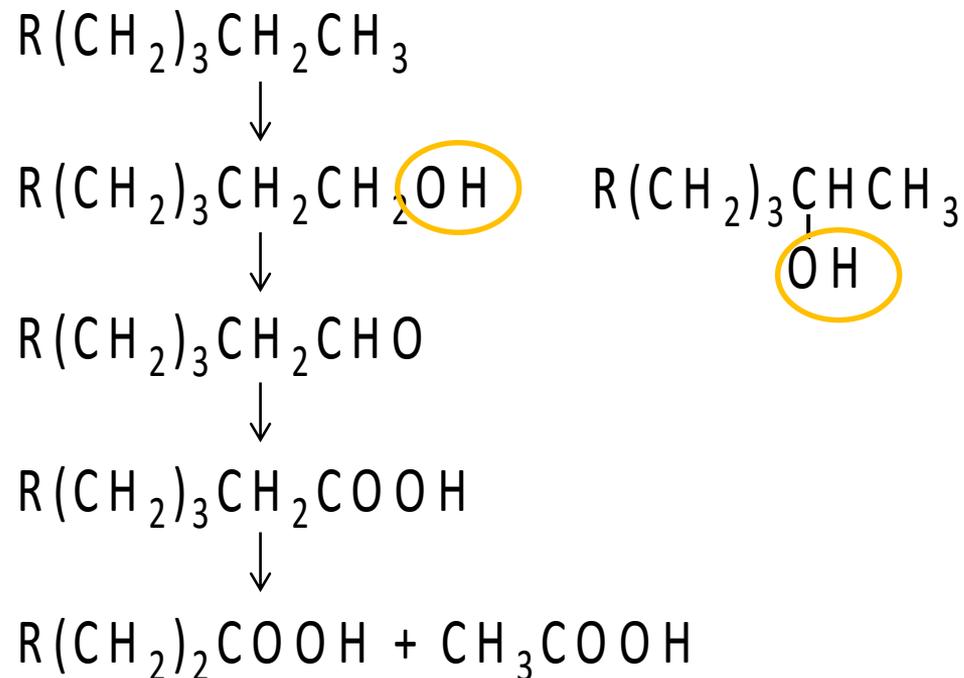
extradiolo-diossigenasi

Ossidazione di metano

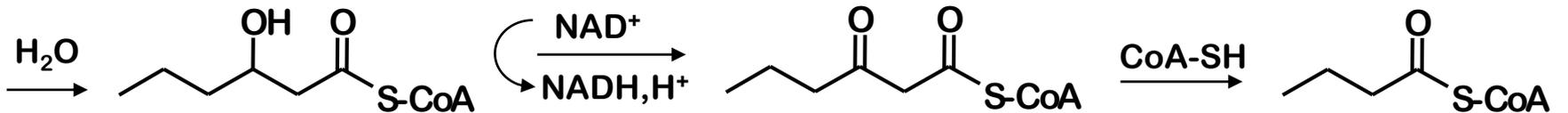
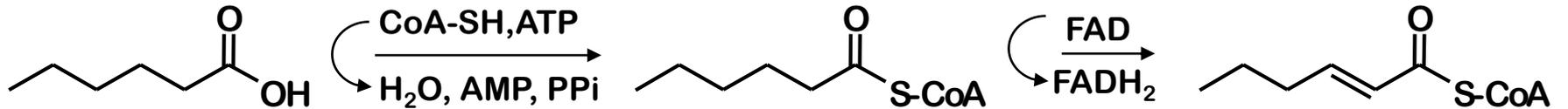
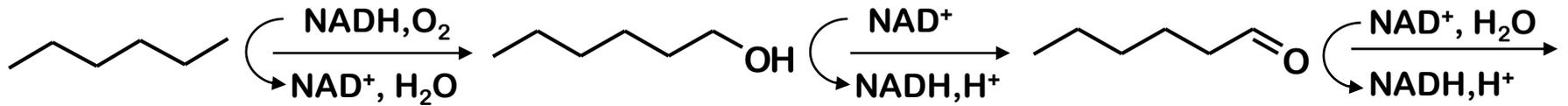
- In condizioni aerobiche e in presenza di metanomonooossigenasi (MMO):
 1. $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH}$ MMO
 2. $\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{HCHO}$ metanolo deidrogenasi
 3. $\text{HCHO} \rightarrow \text{HCOO}^-$

Alcani superiori

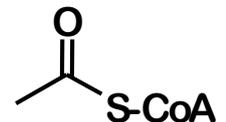
- La reazione inizia con la idrossilazione terminale o subterminale e prosegue con ossidazioni successive fino a degradazione



Degradazione di un *n*-alcano



retro Claisen +

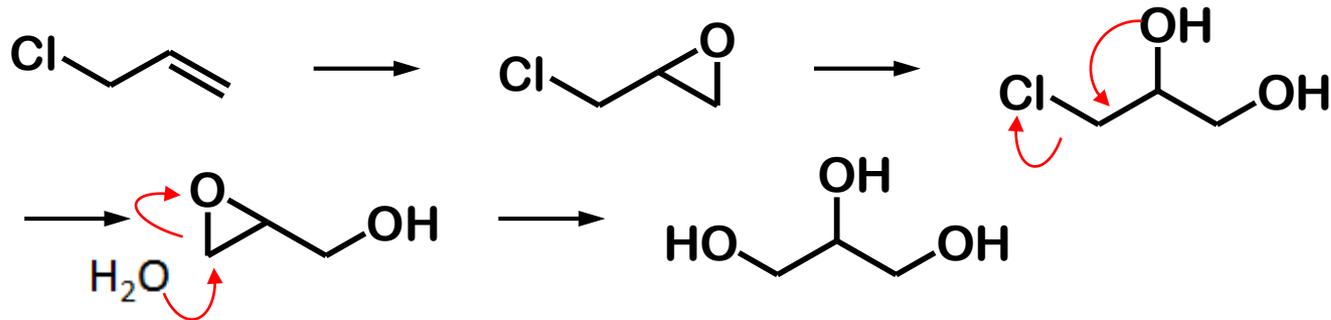


β -ossidazione acidi grassi

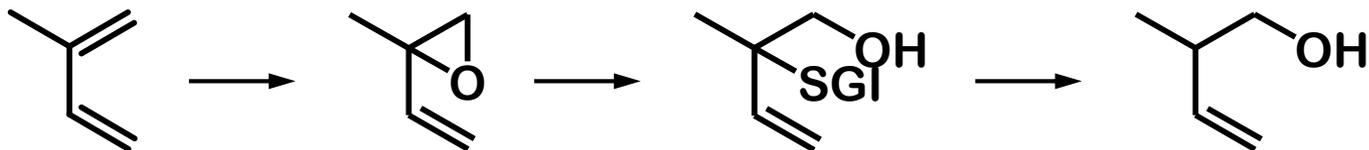
Eossidazione di alcheni

- È il primo stadio della degradazione di alcheni cui segue:

- Idrolisi a 1,2- diolo



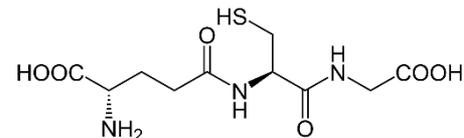
- Reazione riduttiva mediata da glutazione



SGT, Glutathione S-transferasi

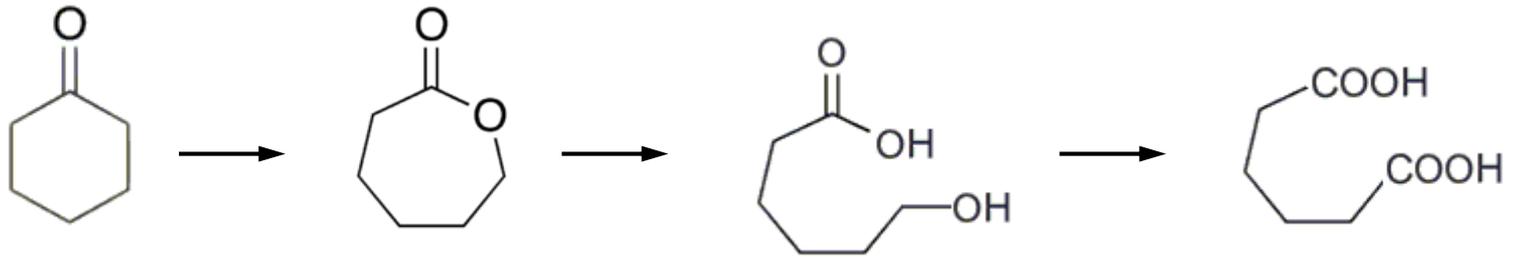
Glutathione: tripeptide

γ -L-glutammil-L-cisteinilglicina

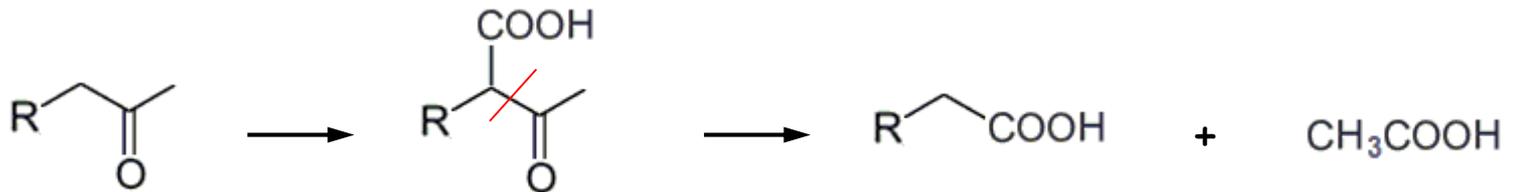


Alcanone monoossigenasi

- Inserisce un ossigeno nell'anello



- La degradazione anaerobica comporta carbossilazione e idrolisi

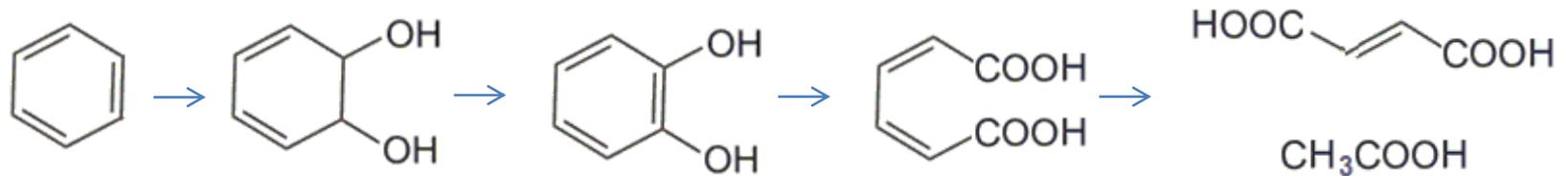


HC aromatici

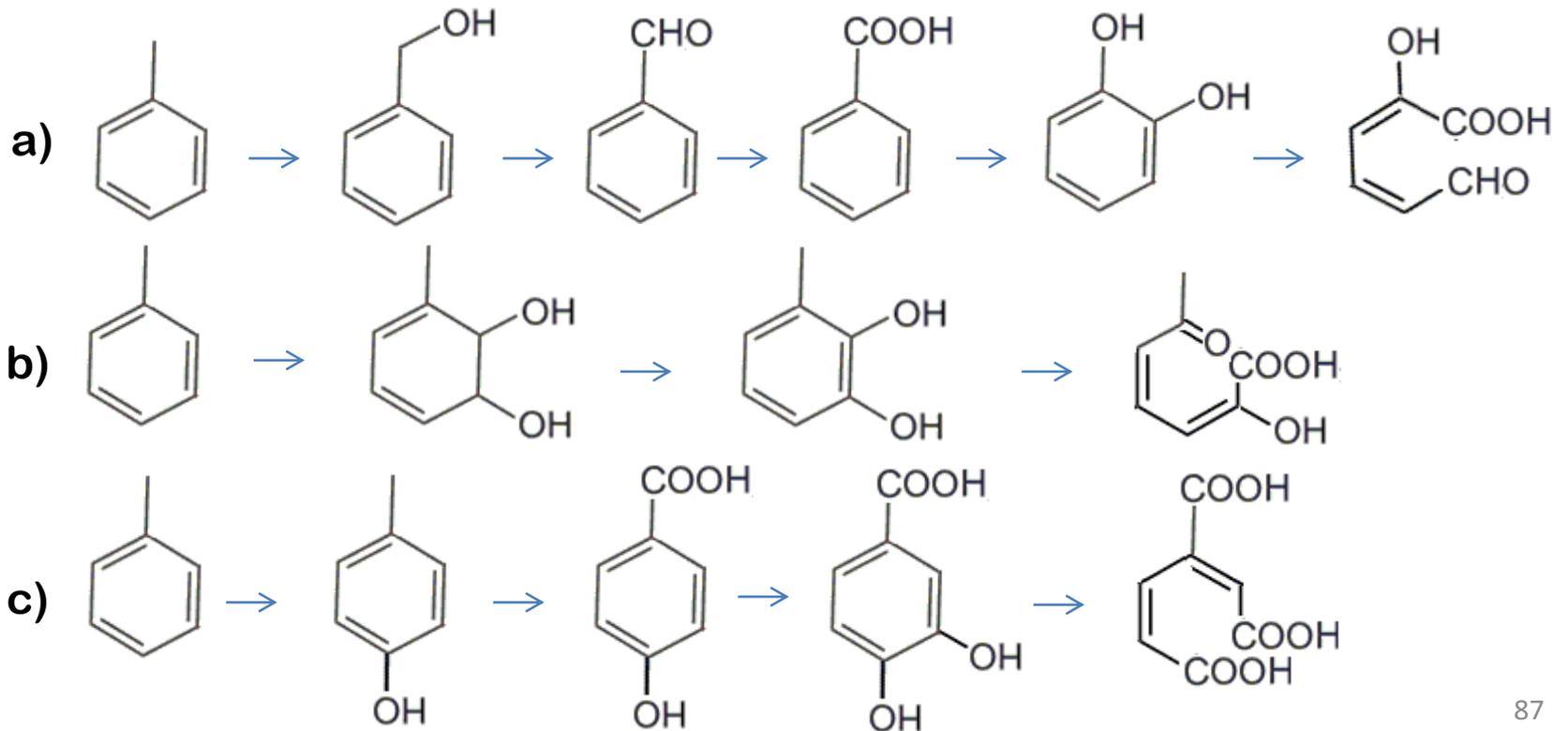
1. Degradazione di aromatici monociclici (BTX – benzene, toluene, xileni)
2. Degradazione di aromatici monociclici ossigenati (benzoati, idrossibenzoati, fenoli)

1. Degradazione di BTX

1. Benzene

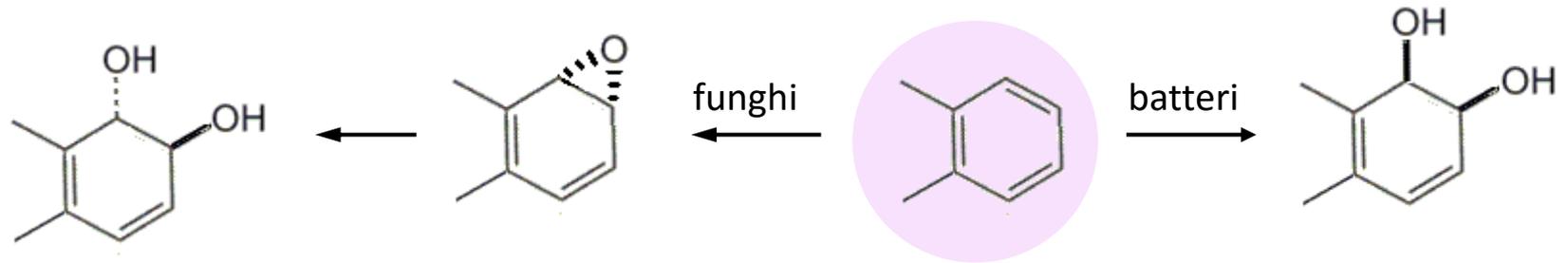


2. Toluene



1. Degradazione di BTX

3. Xilene



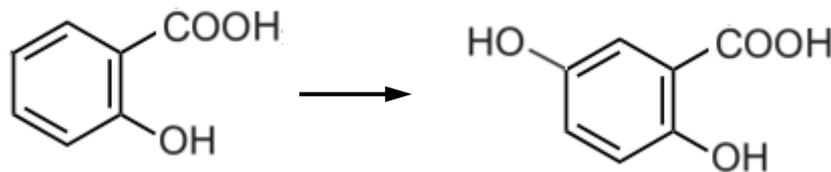
2. Degradazione di aromatici monociclici ossigenati

a) Con eliminazione di CO₂

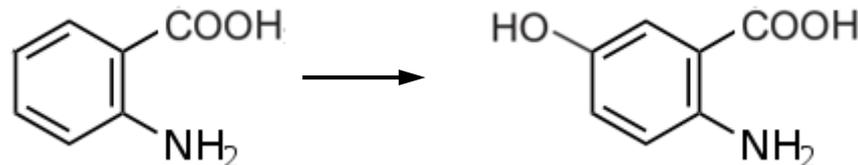


salicilato-1-idrolasi

b) Senza eliminazione di CO₂



salicilato-5-idrolasi

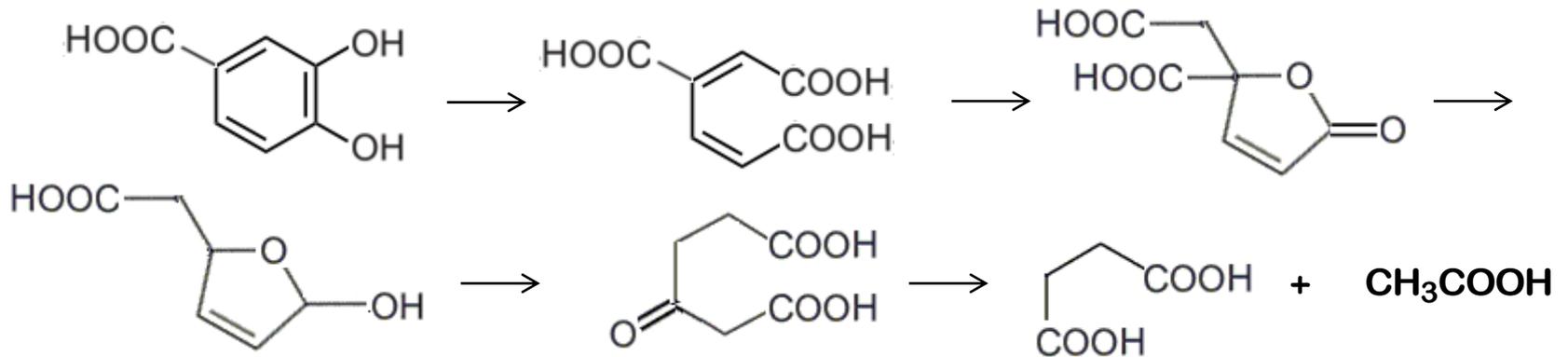


antranilato-5-idrolasi

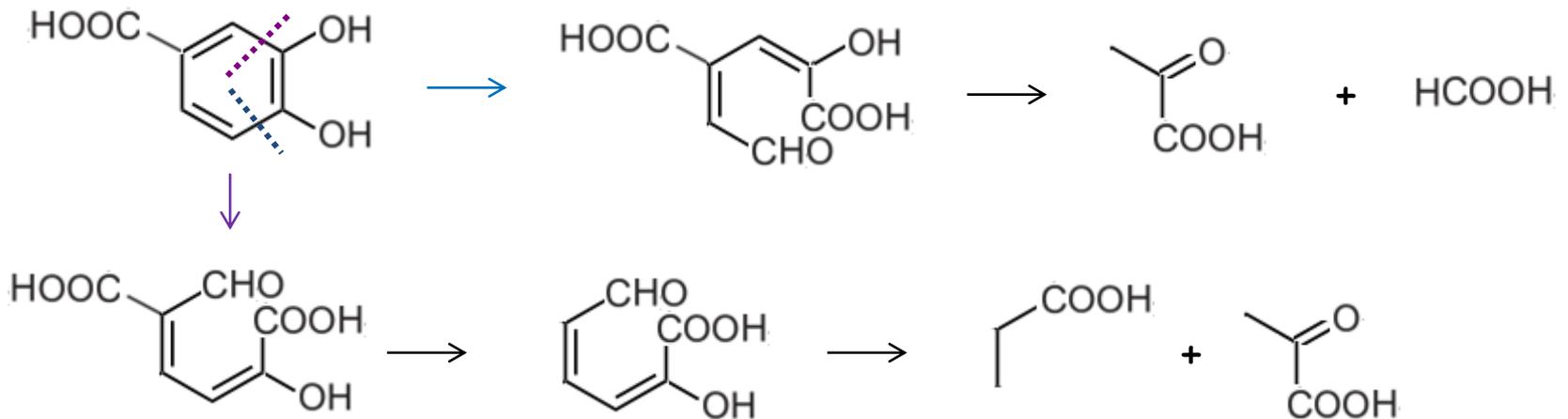
Si formano catecoli o diidrossibenzoati che vengono degradati anch'essi 

2. Degradazione di aromatici monociclici ossigenati

1. Fissione intradiolo

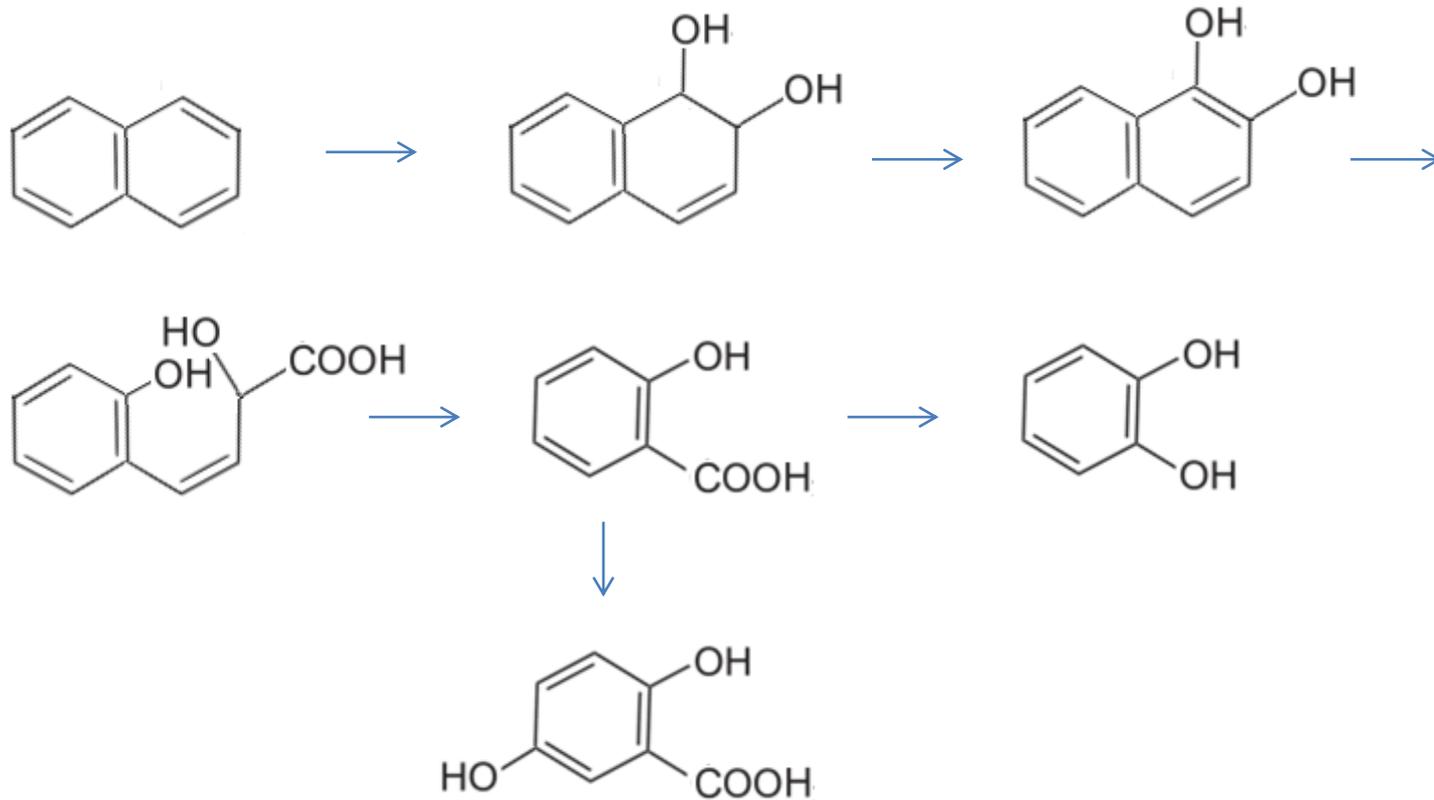


2. Fissione extradiolo



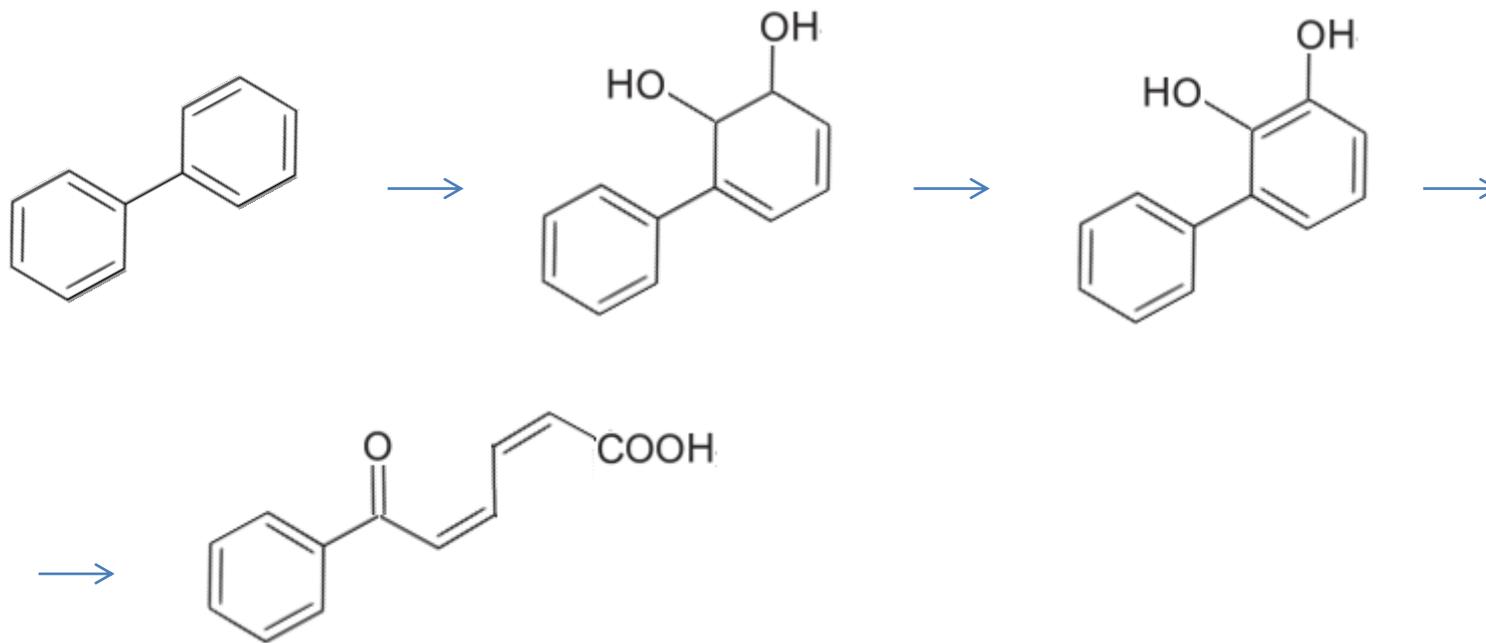
PAH

- Naftalene: è degradato da molti batteri



Bifenili

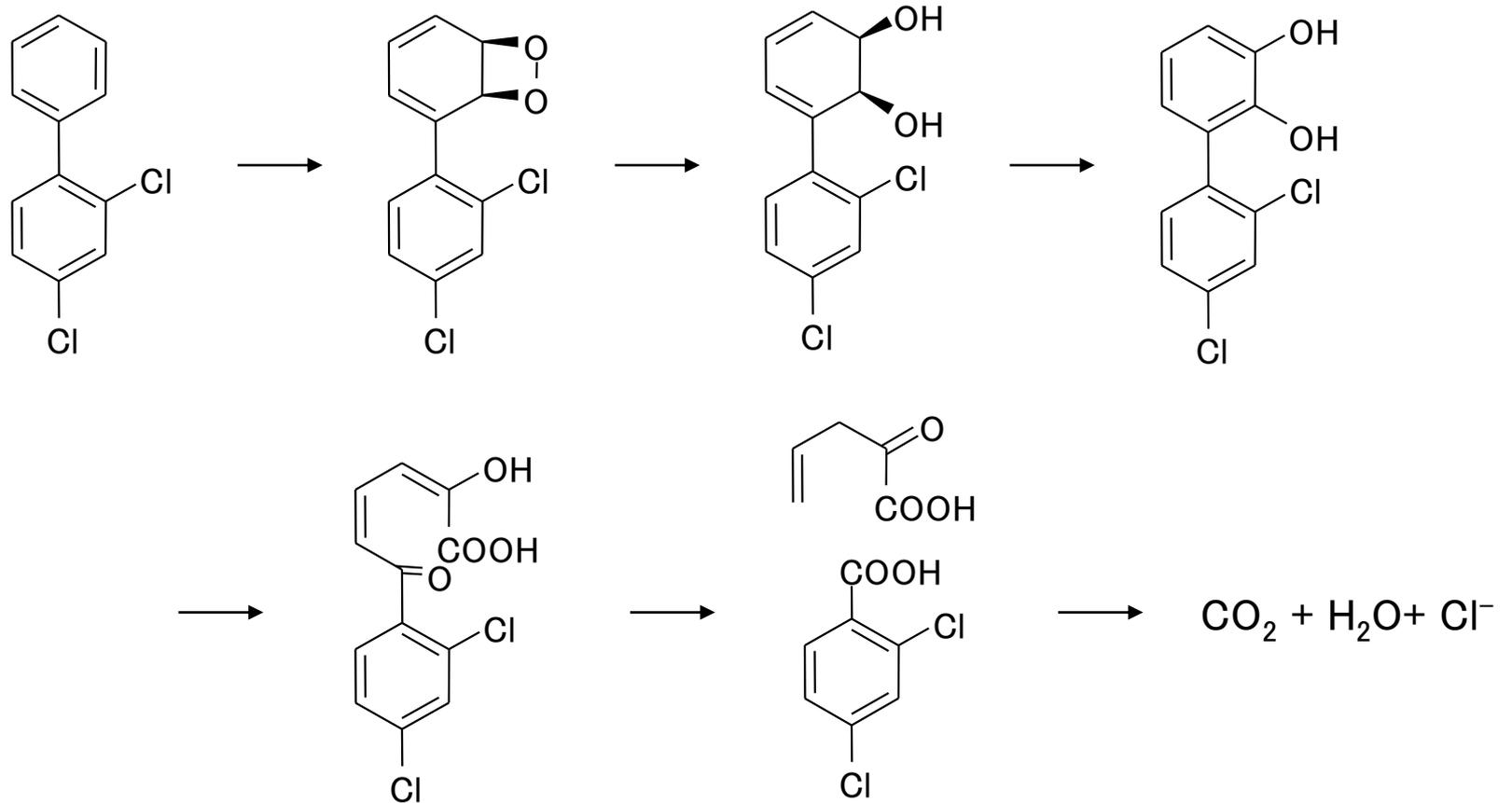
- È importante per la degradazione dei PCB.



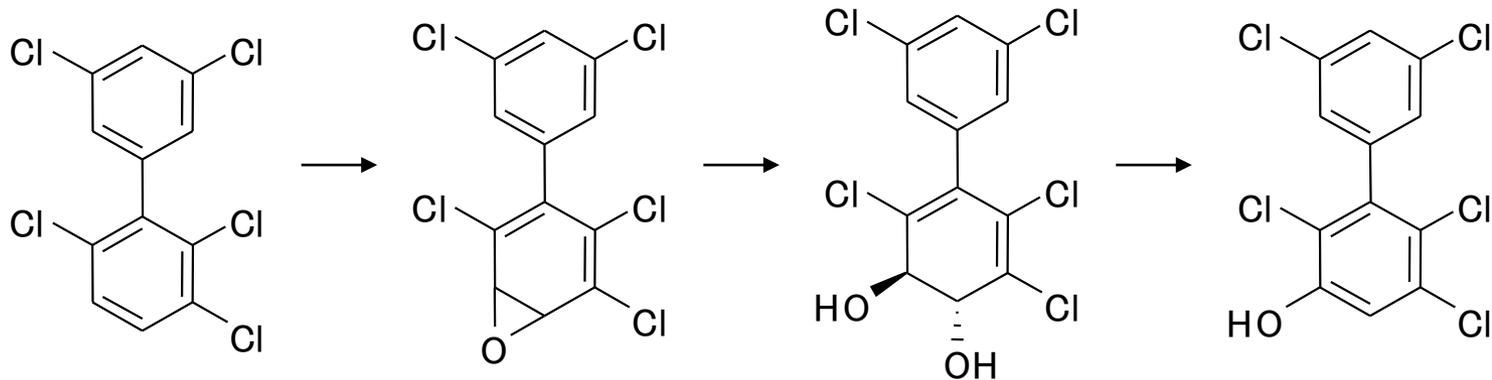
PCB, diossine

- I PCB e le diossine adsorbono sul materiale organico del suolo, soprattutto quando il contenuto di cloro è elevato.
- I microorganismi li degradano in ambiente aerobico attraverso la diossigenasi, incorporando 2 atomi di ossigeno su C adiacenti.
 - I substrati devono possedere almeno 2 CH adiacenti

Degradazione di un PCB



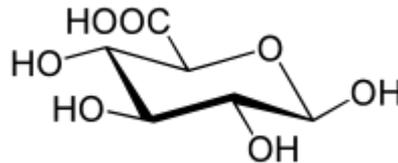
Degradazione di un PCB



- In condizioni anaerobiche (sedimenti) i PCB possono essere trasformati da batteri con un processo di dealogenazione riduttiva.

Degradazione di PCB

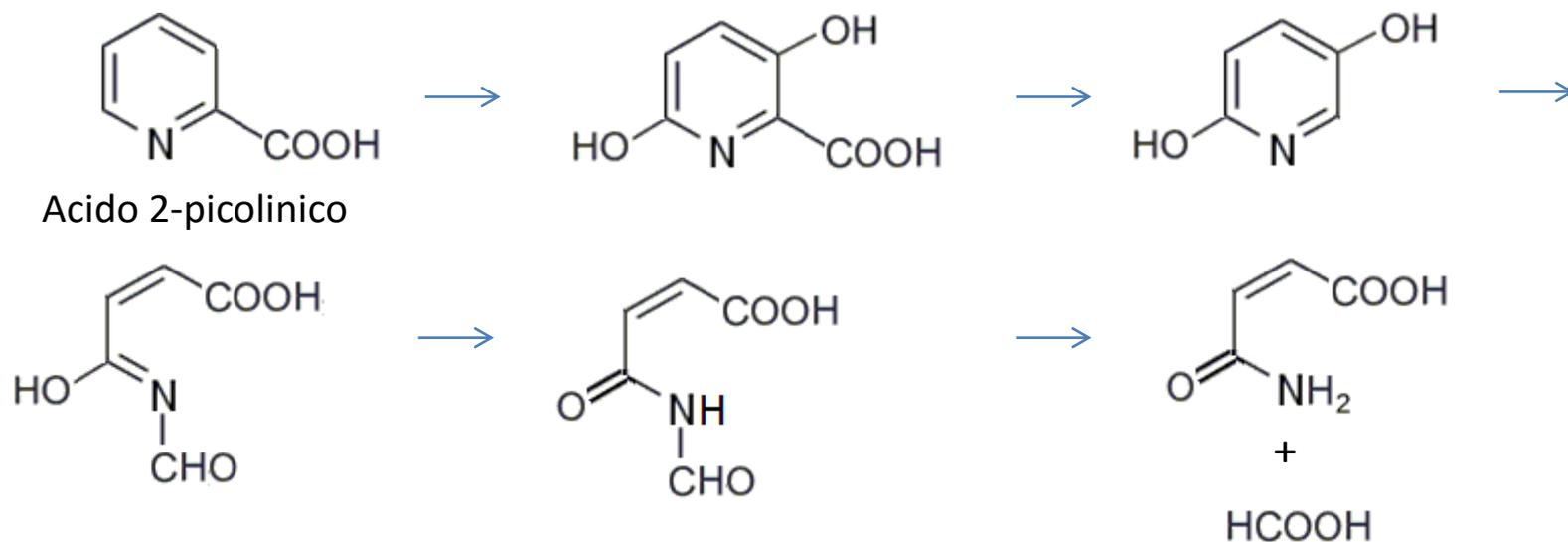
- In generale le biotrasformazioni tendono a dare derivati ossidrilati, più polari dei composti iniziali.
- Essi coniugano con l'acido glucuronico formando addotti molto solubili in acqua che possono essere eliminati.



acido glucuronico

Ossigeno dall'acqua – Ossidoreduttasi

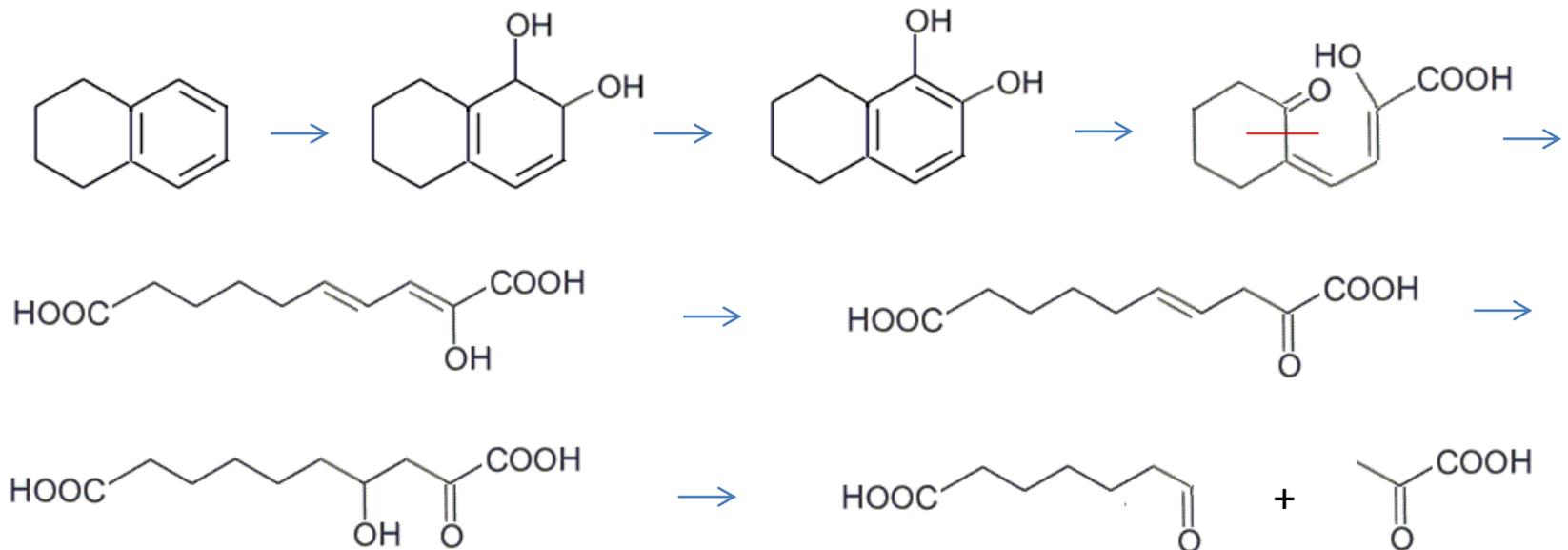
- Batteri degradano composti aromatici azotati con la mediazione delle ossidoreduttasi.



Ossigeno dall'acqua – idratasi

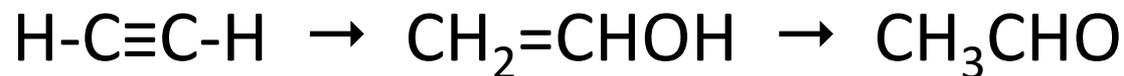
- Idratasi catalizzano l'aggiunta dell'acqua ai legami doppi e tripli C=C, C=N, C≡C, C≡N

Doppi legami: Degradazione della tetralina



Ossigeno dall'acqua – idratasi

- Tripli legami:

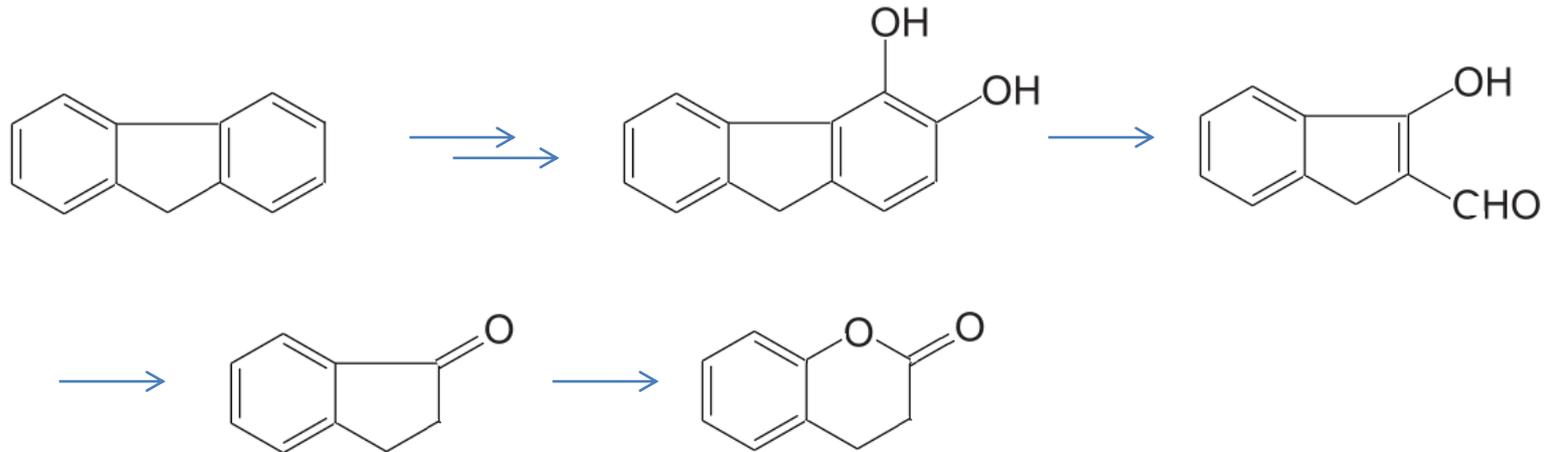


Ossidasi, perossidasi, aloperossidasi

- *Aloperossidasi* : coinvolte nella biosintesi degli organoalogeni:



- ma hanno anche attività degradativa:

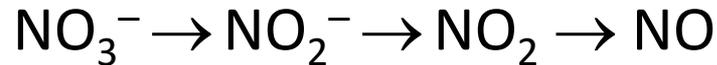


Accettori di elettroni diversi da O

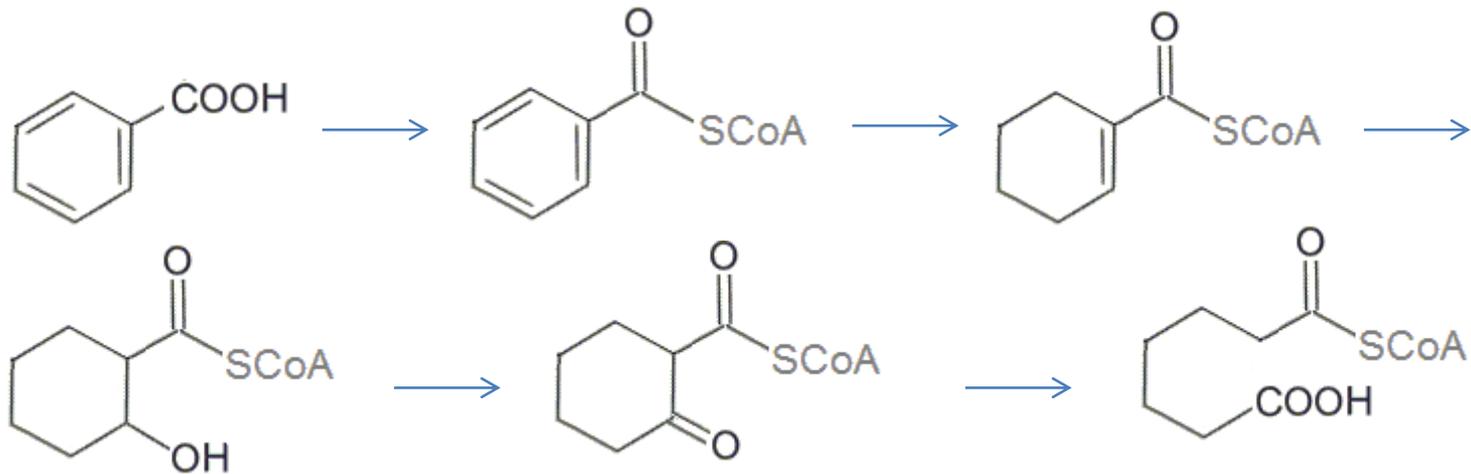
- In assenza di ossigeno i batteri possono usare vari accettori di elettroni, in numero limitato:
 - Ossianioni:
 - Nitrato, solfato, clorato, selenato, arsenato
 - Cationi metallici
 - Acido umico
 - Nitroalcani

Ossianioni

- Nitrato: La denitrificazione comporta la sequenza:



- La degradazione di xenobiotici può avvenire in condizioni aerobiche, anaerobiche, fermentanti.



- CoA: Coenzima A, degradazione anaerobica dell'acido benzoico

Cationi metallici

- Esistono batteri in grado di usare metalli riducendoli e utilizzando l'energia per la propria crescita.
- Possono essere utilizzati per il biorisanamento dei siti contaminati con U(VI) o Tc(VII), convertendoli da specie solubili a specie insolubili.

Reduttasi

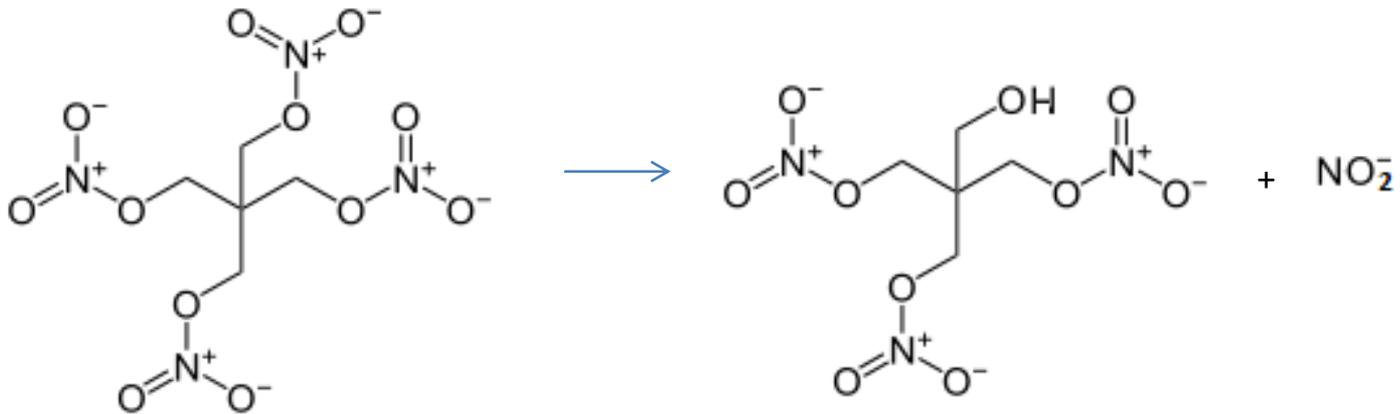
- Rompono:
 - legami C-X di alifatici e aromatici,
 - legami N-O dei nitrati,
 - legami C-P degli organofosfonati
 - legami C-Hg degli organomercuriali
 - Riduzione nitroareni
 - Riduzione esteri nitrati
 - Enoni
 - Azocomposti
 - Aldeidi

Riduzione nitroareni

- Esistono due tipi di nitroarene reduttasi:
 1. Reduttasi insensibili a O_2 che catalizzano la sequenza di riduzione del nitro gruppo a 6 e^-
 2. Reduttasi sensibili a O_2 che catalizzano la riduzione a 2 e^- del nitro gruppo a radicale il quale reagisce con l'ossigeno a dare superossido.

Riduzione esteri nitrati

- È una riduzione e non una idrolisi.
 - Es. riduzione dell'esplosivo pentaeritrolo tetranitrato (pentrite).

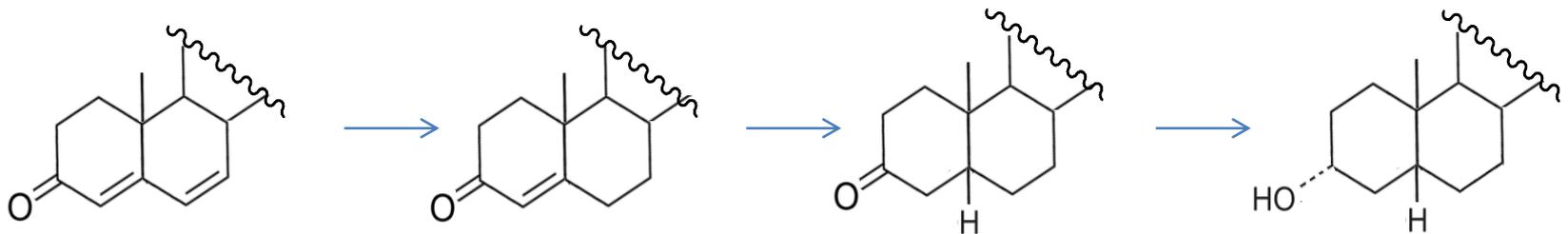


Enoni

- Un gruppo di reduttasi riducono un doppio legame purché attivato con C=O o con un gruppo nitro.
 - Condizioni aerobiche



- Condizioni anaerobiche



Azocomposti

- Nei coloranti la riduzione del gruppo $N=N$ a NH_2 provoca la loro decolorazione.
- La reazione avviene ad opera di azoreduttasi.