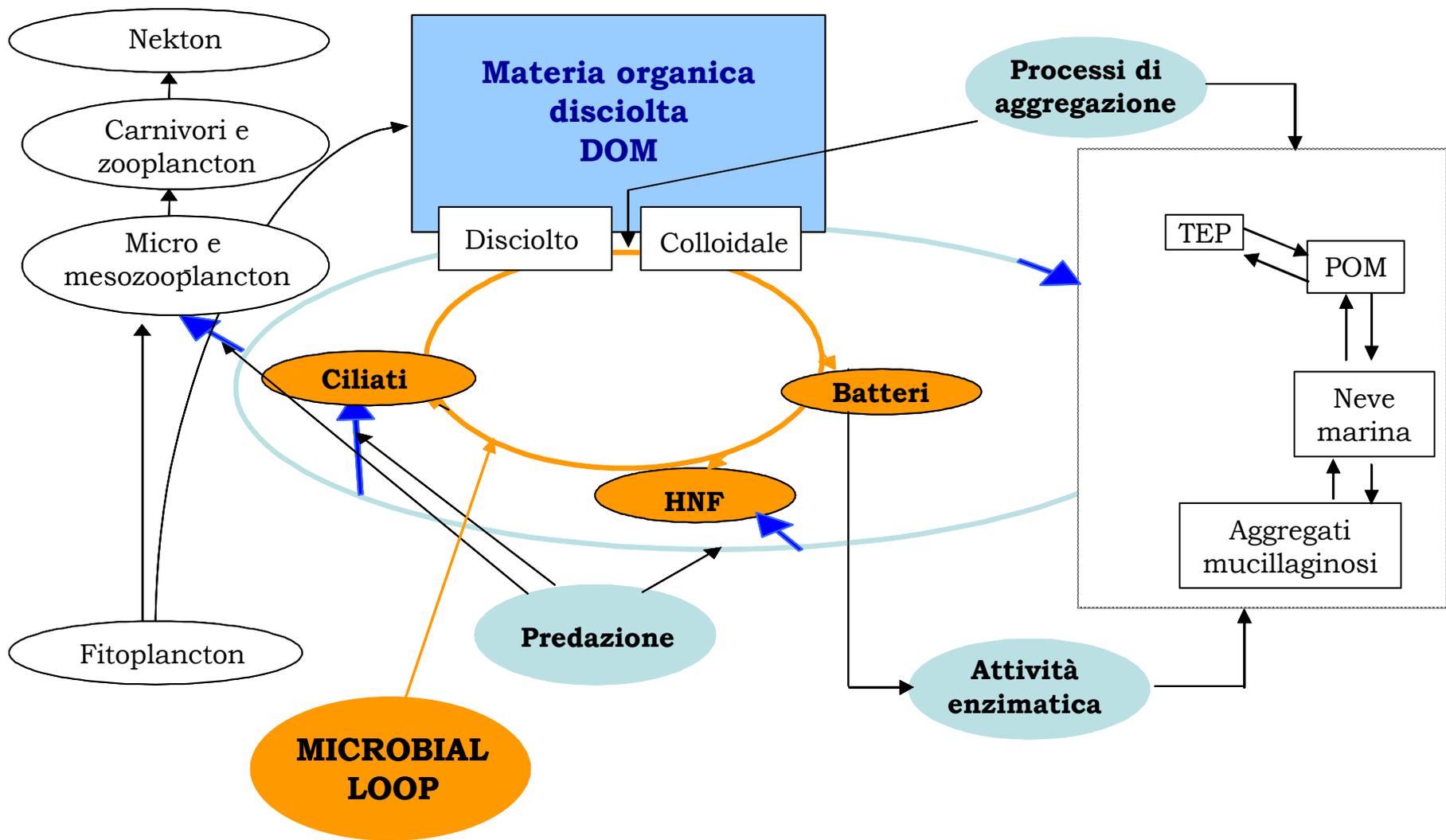


# La sostanza organica marina di natura macromolecolare: ruolo ecologico e metodologie di indagine

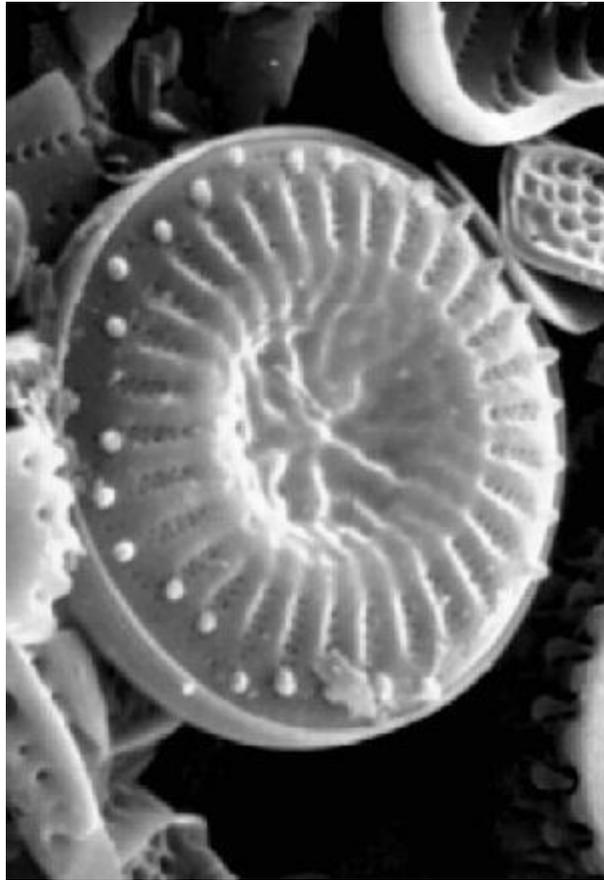
CASO STUDIO 1:  
Ricerche svolte nel periodo 2000-2010



# Catena trofica pelagica

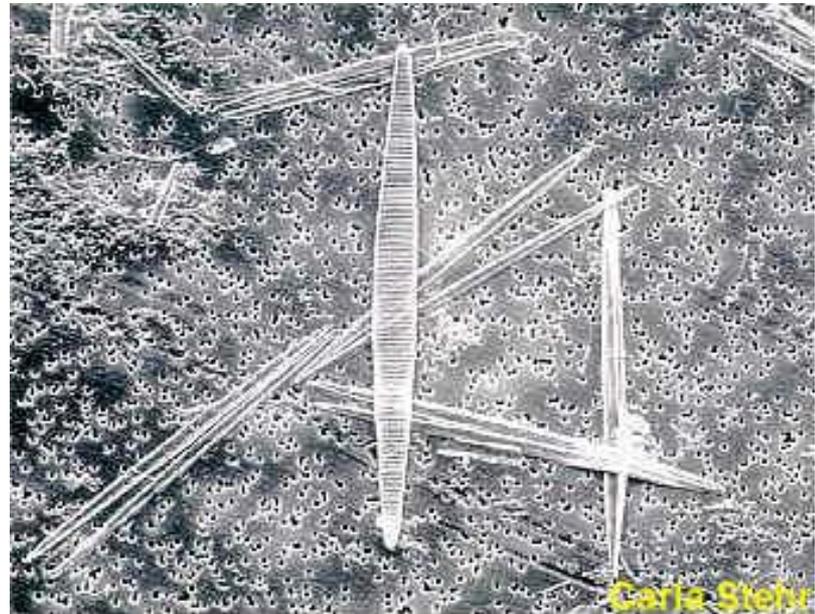
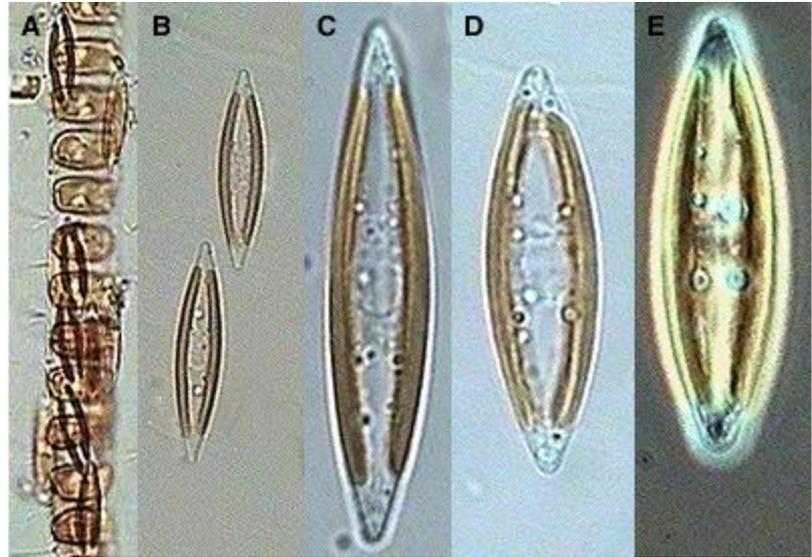


# Diatomee



*Coscinodiscus*

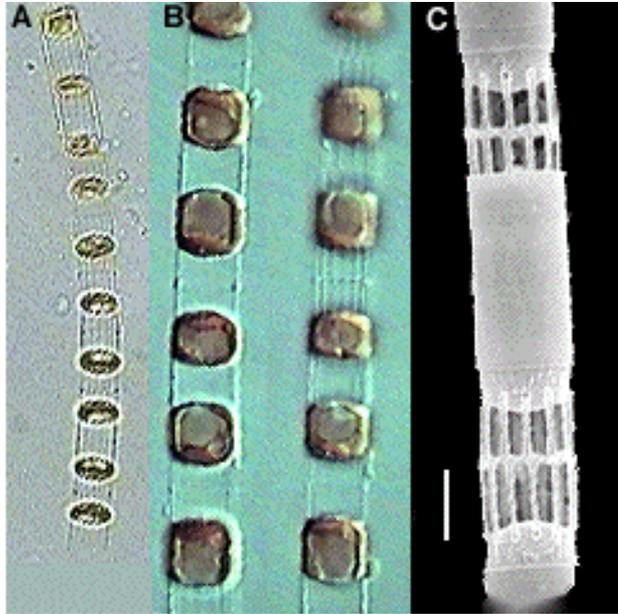
# *Navicula*



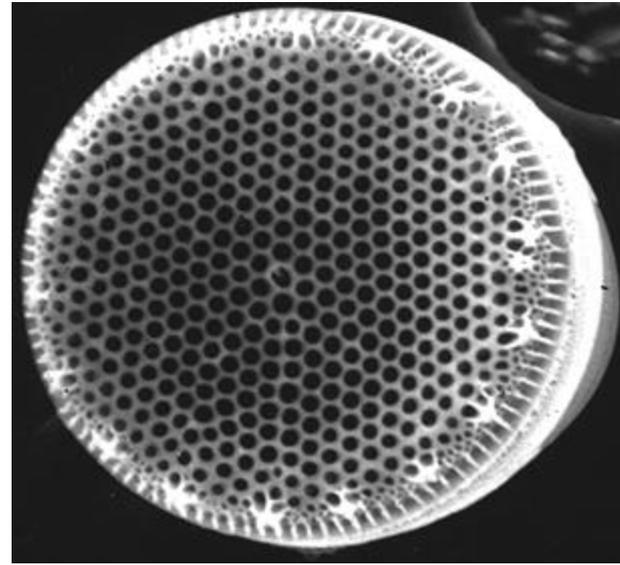
*Pseudo-Nitzschia*

Carla Stehr

*Skeletonema costatum*

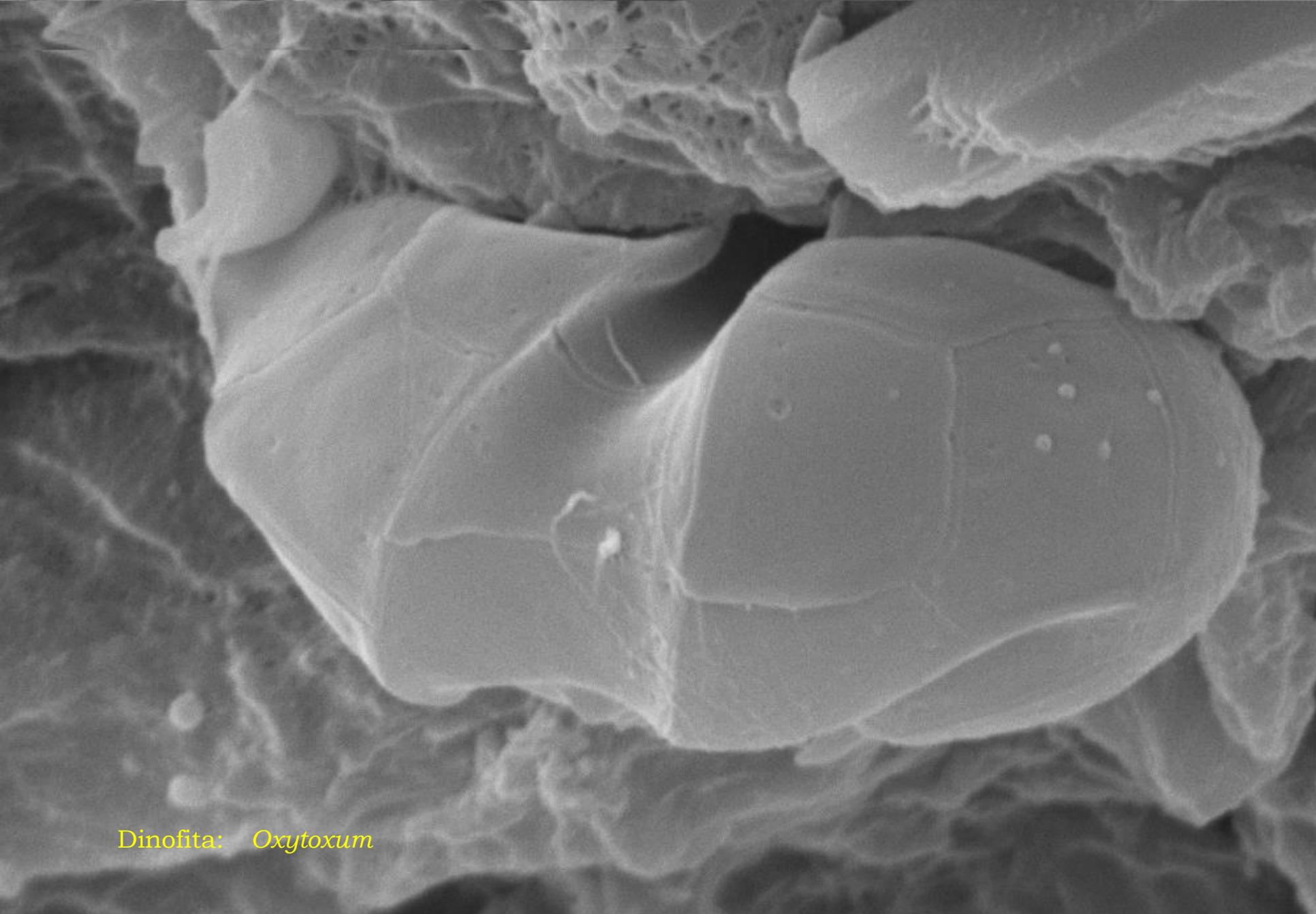


*Thalassiosira*



*Chaetoceros*





Dinofita: *Oxytoxum*

EHT=13.31 kV WD= 16 mm

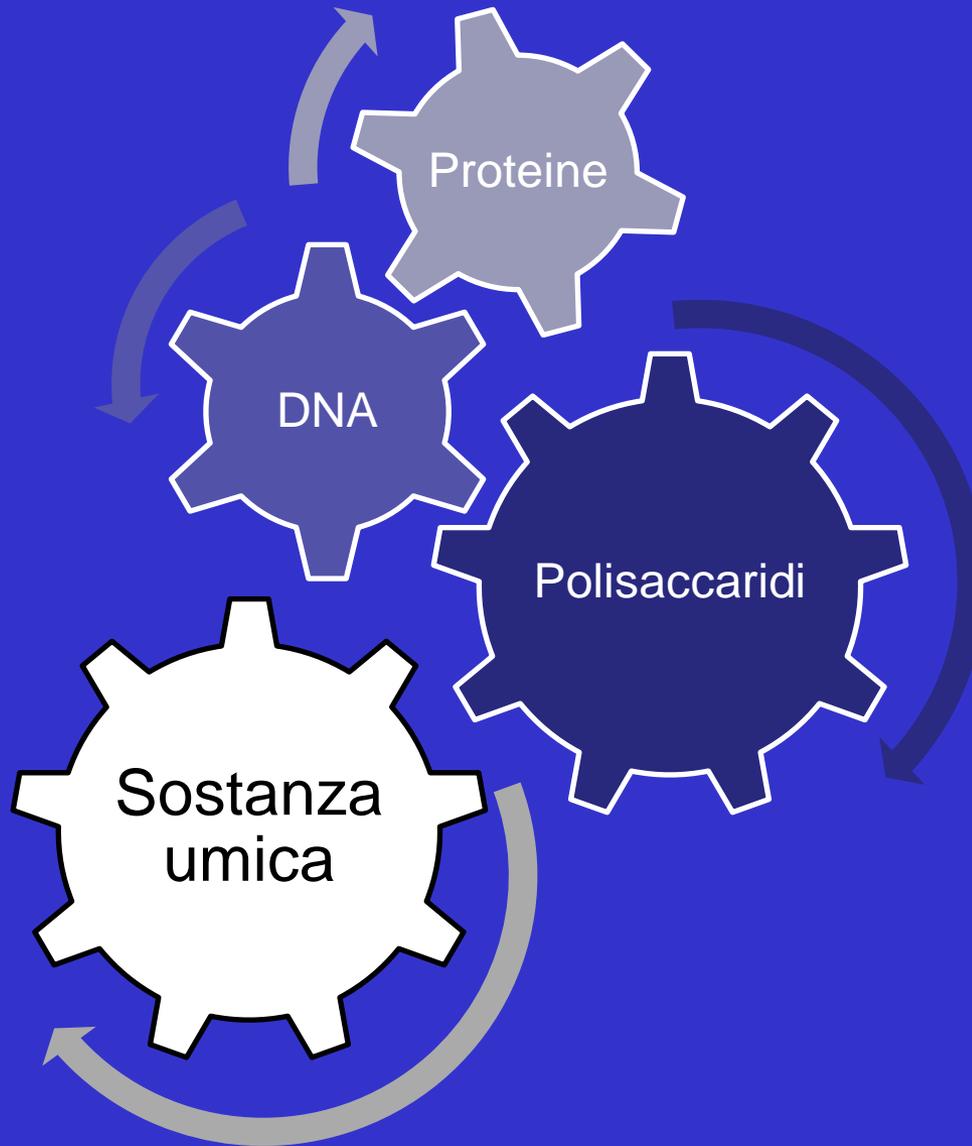
Mag= 9.98 K X Detector= SE1

1µm



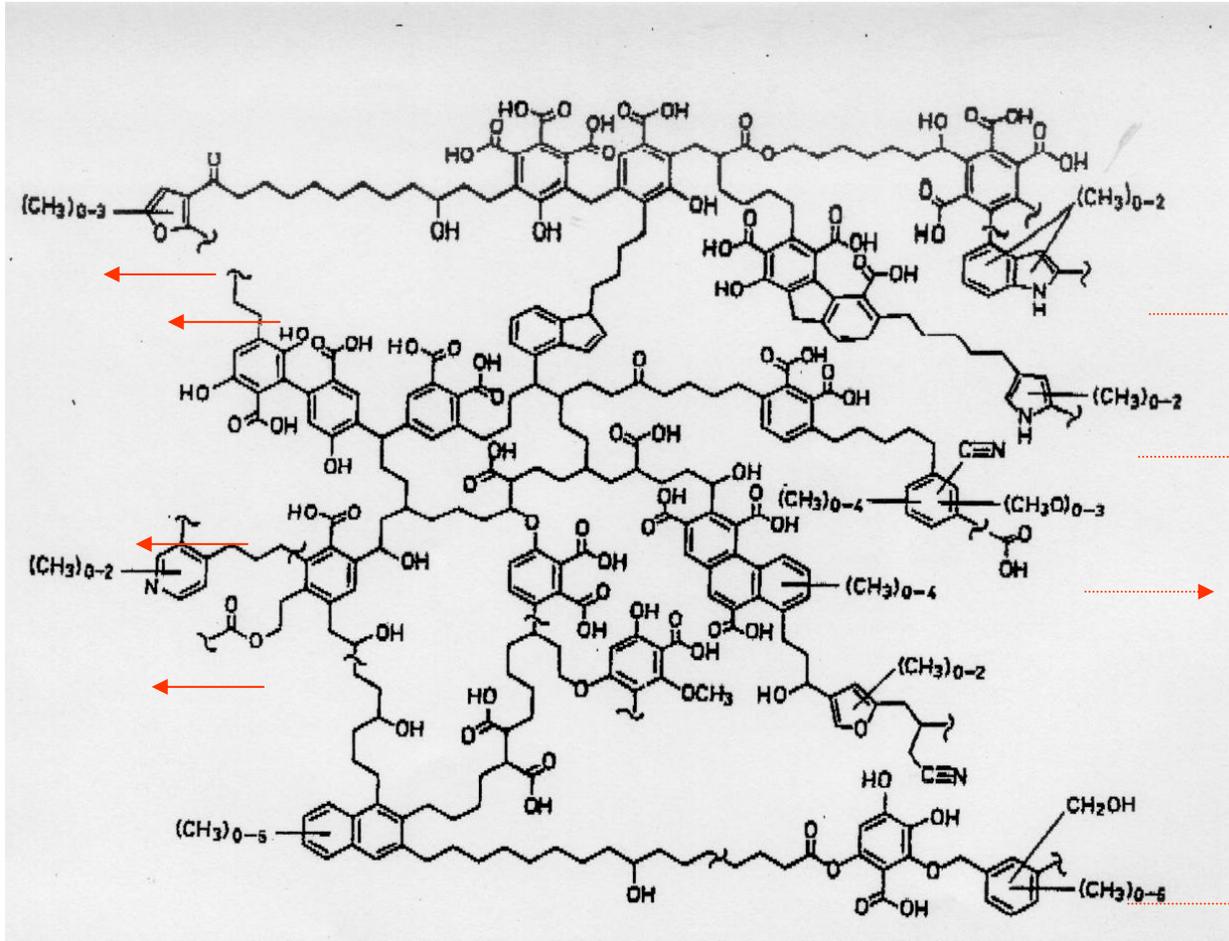
Photo No -1490

# BIOPOLIMERI MARINI



Sostanza umica

- acidi fulvici: basso P.M., pochi gruppi aromatici
- acidi umici: alto P.M., più gruppi aromatici
- umina: alto PM, alto grado di reticolazione



## Obiettivi della ricerca sui biopolimeri marini

1. Isolare e purificare i singoli biopolimeri;
2. determinarne la struttura primaria (composizione e concatenamento);
3. determinare le proprietà delle catene (grado di polimerizzazione  $\leftrightarrow$  PM, dimensione media  $\leftrightarrow$  raggio di girazione);
4. determinare le proprietà aggreganti/gelificanti;
5. studiare la stabilità dei biopolimeri rispetto alla degradazione enzimatica (biodegradazione);
6. individuare la relazione tra proprietà chimiche e funzione biologica (fisiologica, biochimica, ecologica, etc.);
7. individuare i marcatori biologici (biomarkers) relativi alle singole specie produttrici.
8. studiare la variazione stagionale mediante monitoraggio mensile dei composti macromolacolari su scala di bacino.

# Funzione *biologica* degli EPS

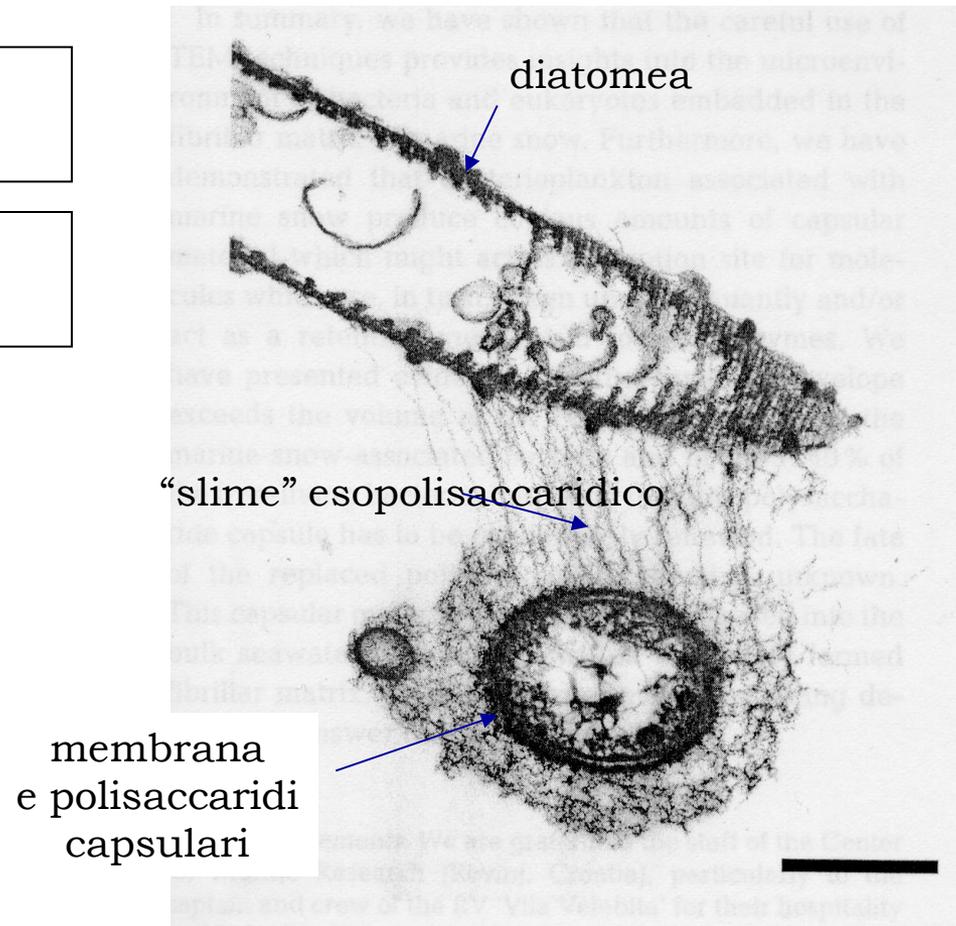
1. sistema tampone contro le variazioni chimiche e biologiche del microambiente (tossine, agenti virali e batterici, inquinamento da metalli pesanti, ecc.);

2. azione sequestrante e di concentrazione dei nutrienti;

3. azione adesiva alle superfici;

4. movimento e mantenimento delle relazioni simbiotiche;

5. protezione contro la predazione e l'azione di enzimi digestivi;



# Funzione *ecologica* degli EPS

1. La maggior parte del carbonio organico nei mari e negli oceani è presente come materia organica in forma disciolta (DOM), in forma colloidale (COC) o come particolato organico (POM).

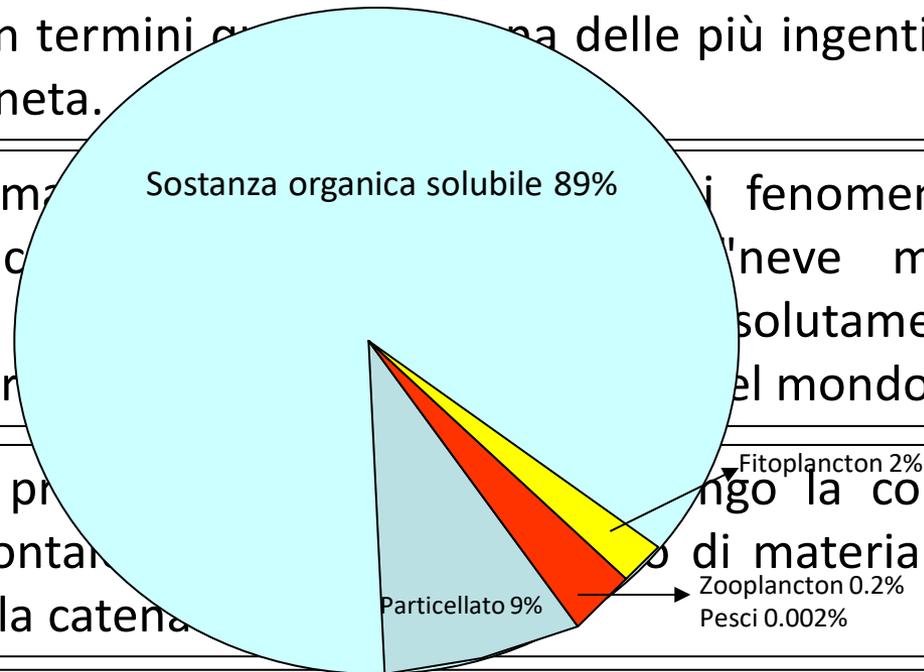
2. Il COC contenuto in particelle sospese di dimensioni comprese tra 1 e 1000 nm costituisce in termini quantitativi una delle più ingenti riserve di carbonio organico del pianeta.

3. Il prodotto marino è un fenomeno aggregativo della materia organica, "neve marina" di origine fitoplanctonica, assolutamente naturale ed indispensabile per la vita nel mondo.

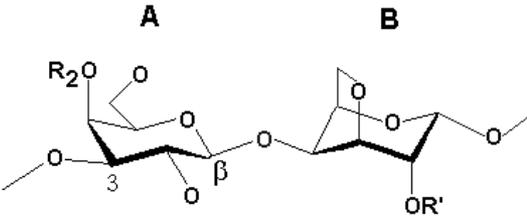
4. Attraverso i processi di diffusione orizzontale e verticale, la disponibilità nella catena alimentare è influenzata dal movimento di materia verso il fondo e la risalita.

5. Nella forma macroscopica, costituiscono la riserva alimentare per molti animali.

6. Fungono da adsorbenti della materia organica disciolta (DOM) e come tali da veicolo del DOM fino ai più alti livelli trofici.



# Struttura primaria



(Carrageenans)

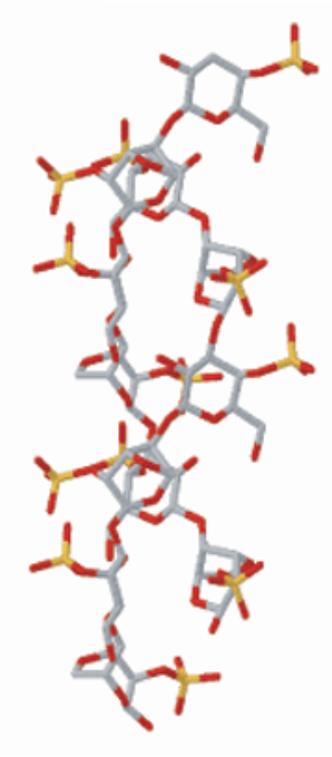
- λ R' = R<sub>2</sub> = SO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- κ R' = H R<sub>2</sub> = SO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- β R' = R<sub>2</sub> = H

In λ, the A unit is D-Gal (---- 2-sulphate), the B unit is D-Gal-2,6-bisulphate.

Degradazione batterica

# Relazione struttura/ "destino"

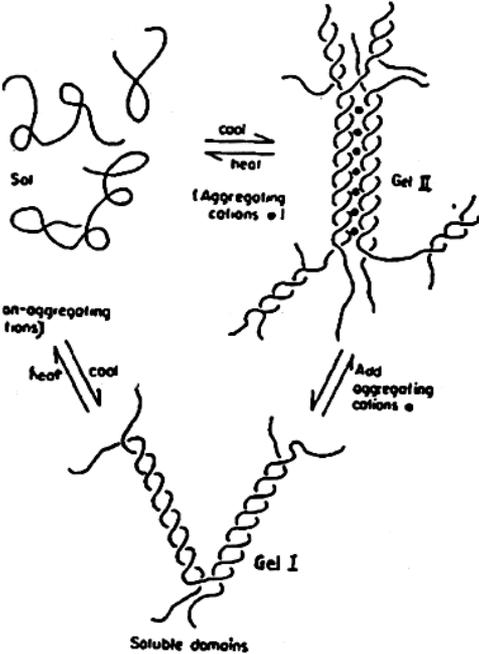
# Struttura secondaria



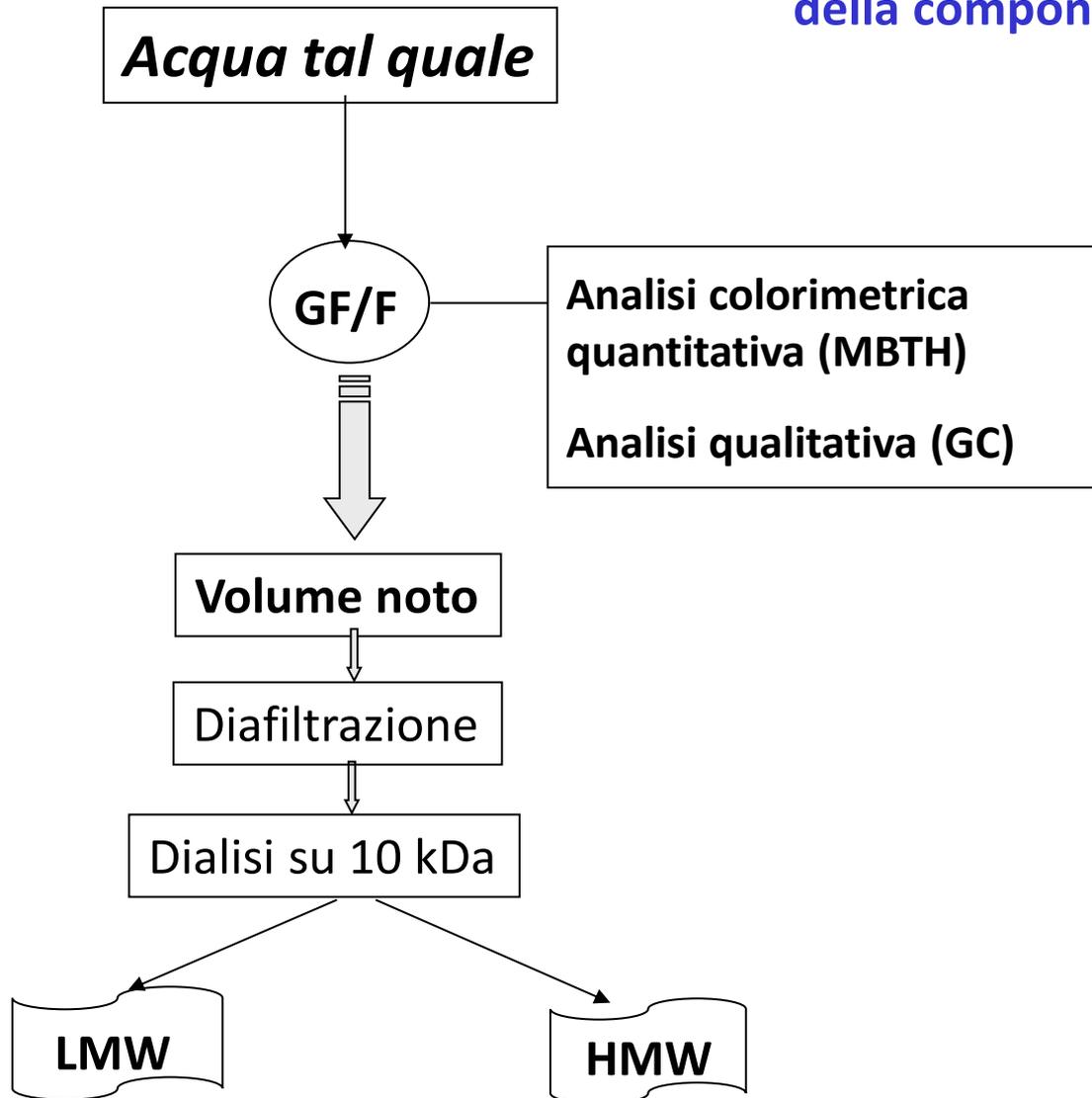
# Polisaccaridi

# Polisaccaridi amorfi e GEL

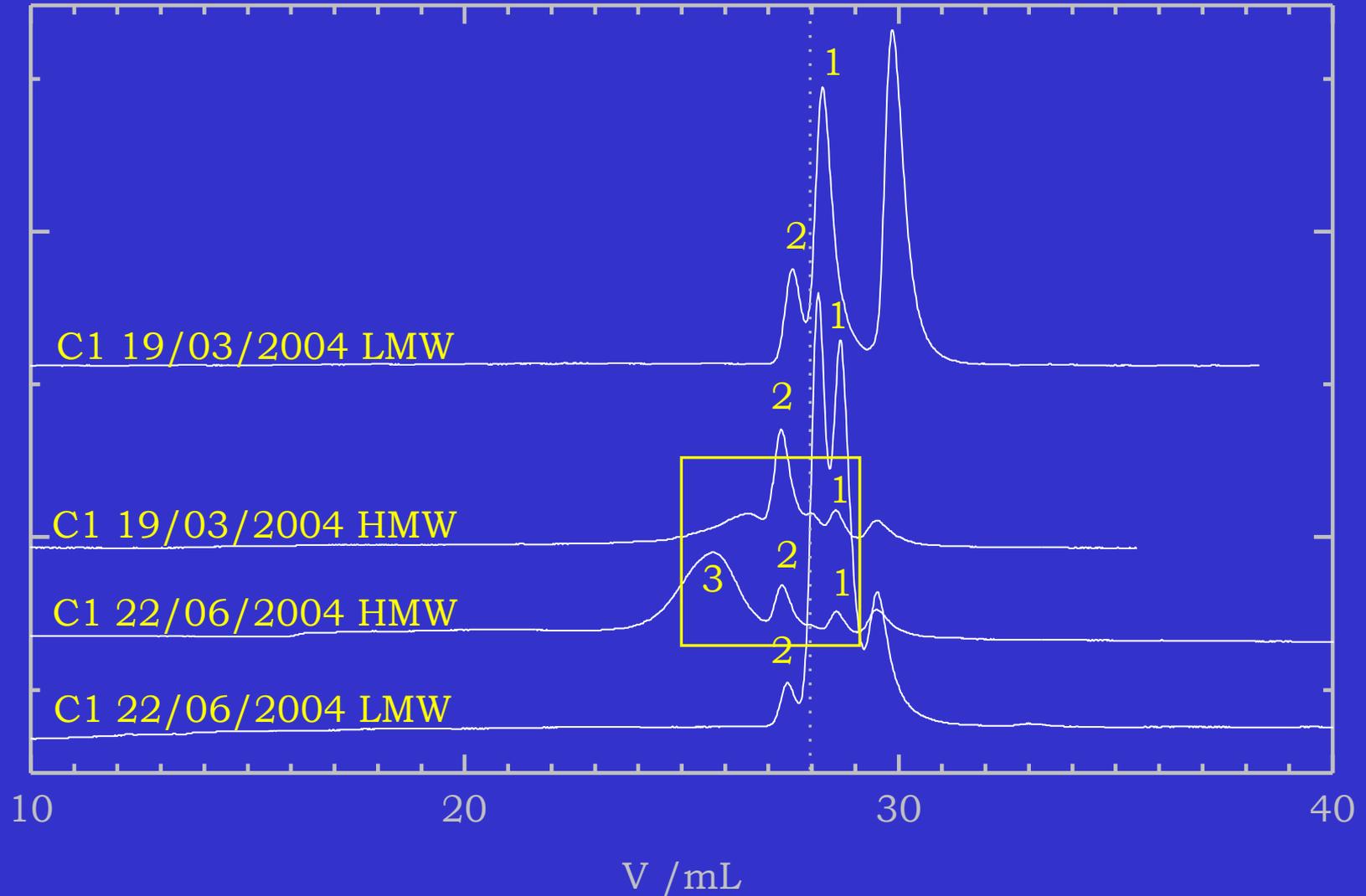
# Aggregazione



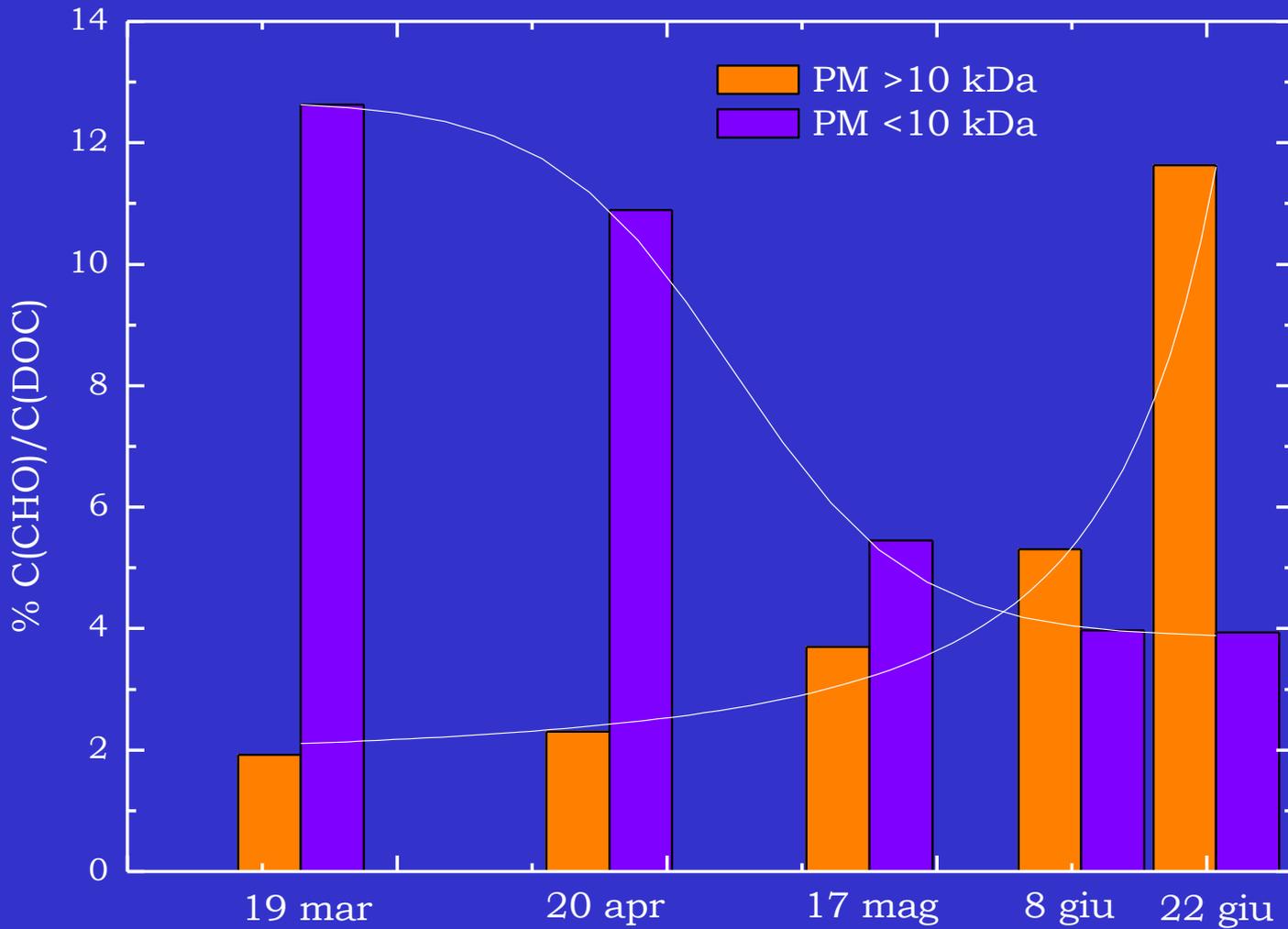
## Partizione ed analisi della componente saccaridica del DOC



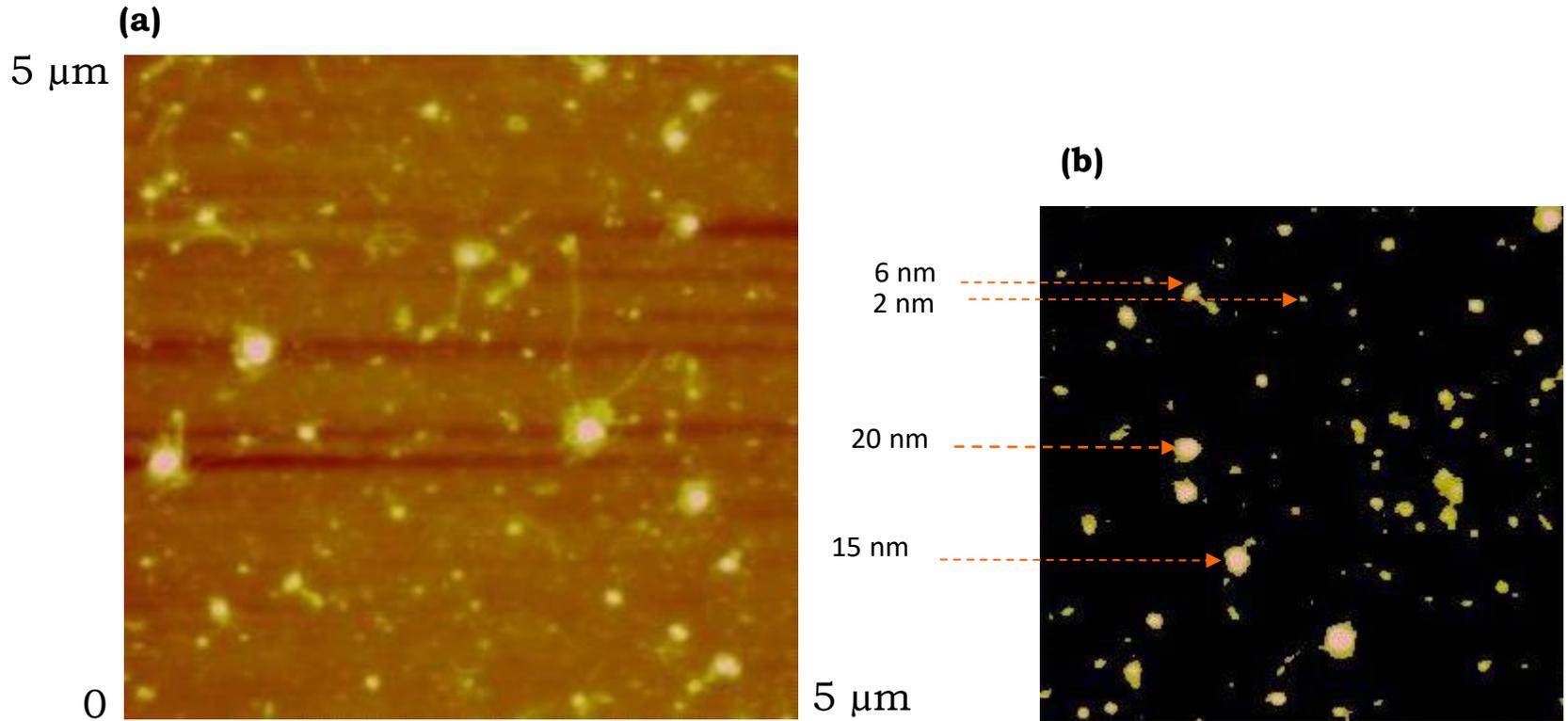
# Distribuzione dei pesi molecolari dei campioni HMW e LMW ottenuti per cromatografia HPSEC.



# Concentrazioni percentuali di HMW-DCHO e LMW-DCHO nel DOC in funzione del tempo di campionamento.

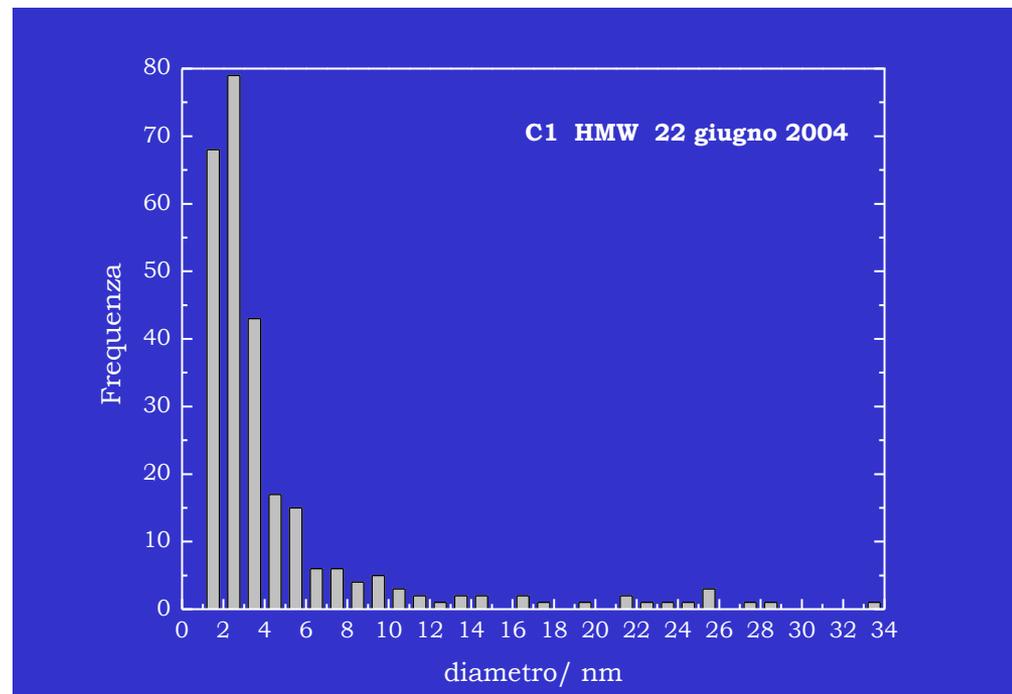
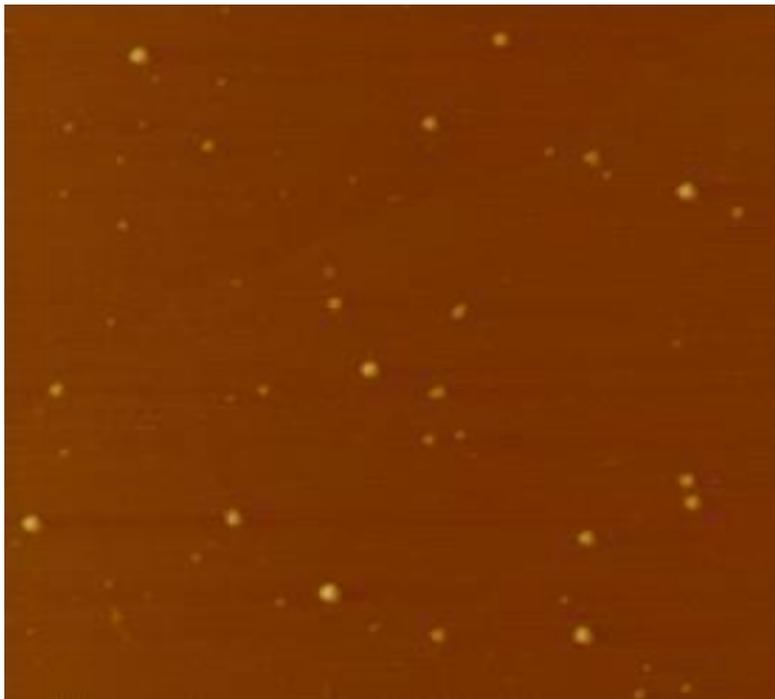


# AFM



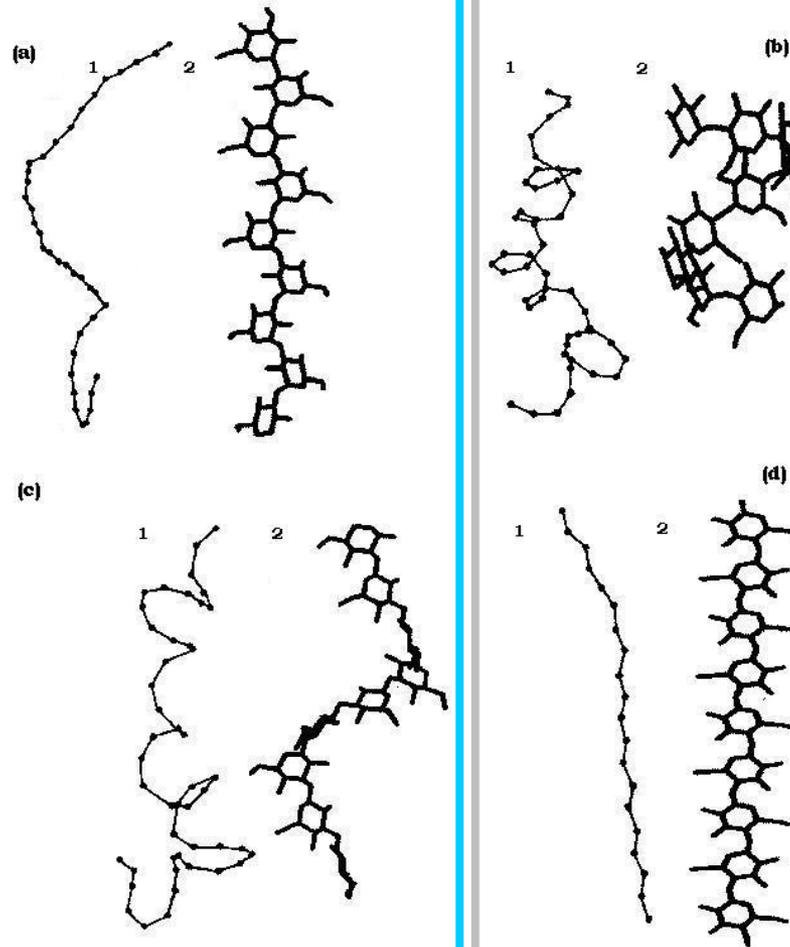
**(a)** Immagine AFM di una soluzione del campione HMW-DOC del 22 giugno 2004 in DMSO.

**(b)** Ingrandimento di un'area e rielaborazione dell'immagine per la valutazione delle dimensioni del particellato.



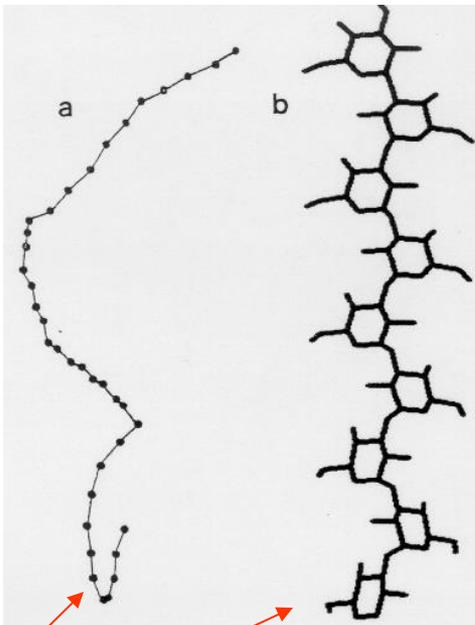
**Distribuzione dei diametri delle particelle per il campione HMW-DOC del 22 giugno 2004.**

**Immagine AFM di una soluzione del campione LMW-DOC del 22 giugno 2004 in DMSO.**

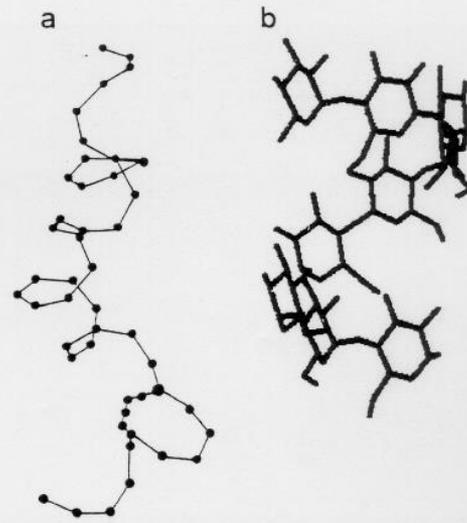


**Conformazioni di catene polisaccaridiche del glucosio (glucani) con diversa concatenazione e configurazione del carbonio anomerico (1) in soluzione ed (2) allo stato solido. (a)  $\alpha$ -(D)-(1,3)-glucano (b)  $\alpha$ -(D)-(1,4)-glucano (c)  $\beta$ -(D)-(1,3)-glucano (d)  $\beta$ -(D)-(1,4)-glucano (Urbani et al., 2001).**

poli[ $\beta$ -(1-4)-glc]

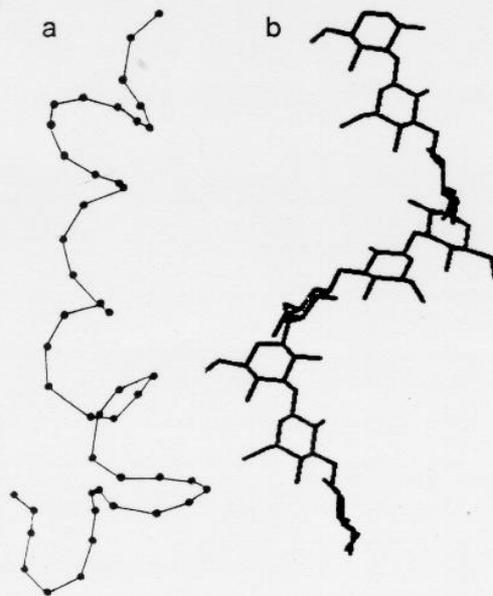


poli[ $\alpha$ -(1-4)-glc]

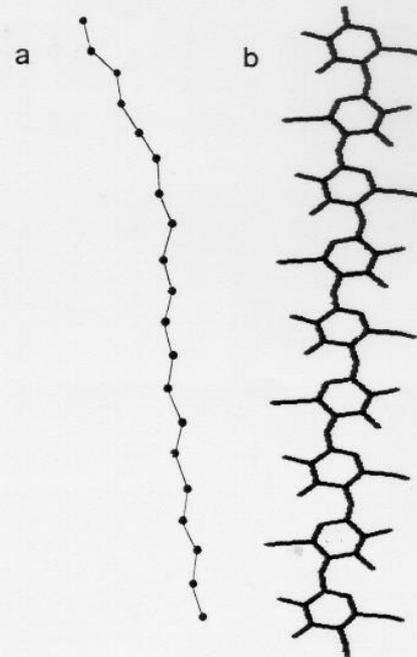


a: *soluzione*  
b: *stato solido*

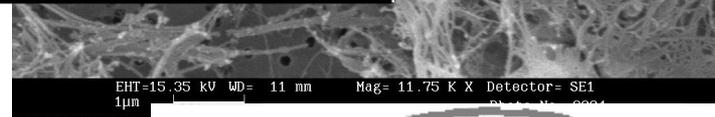
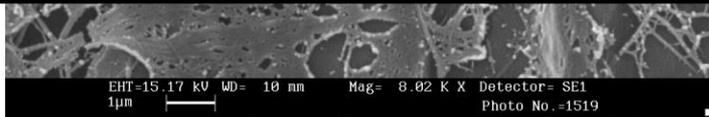
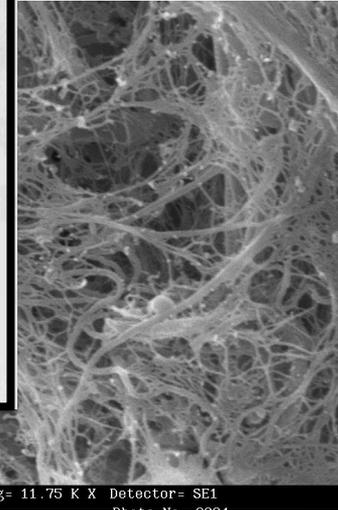
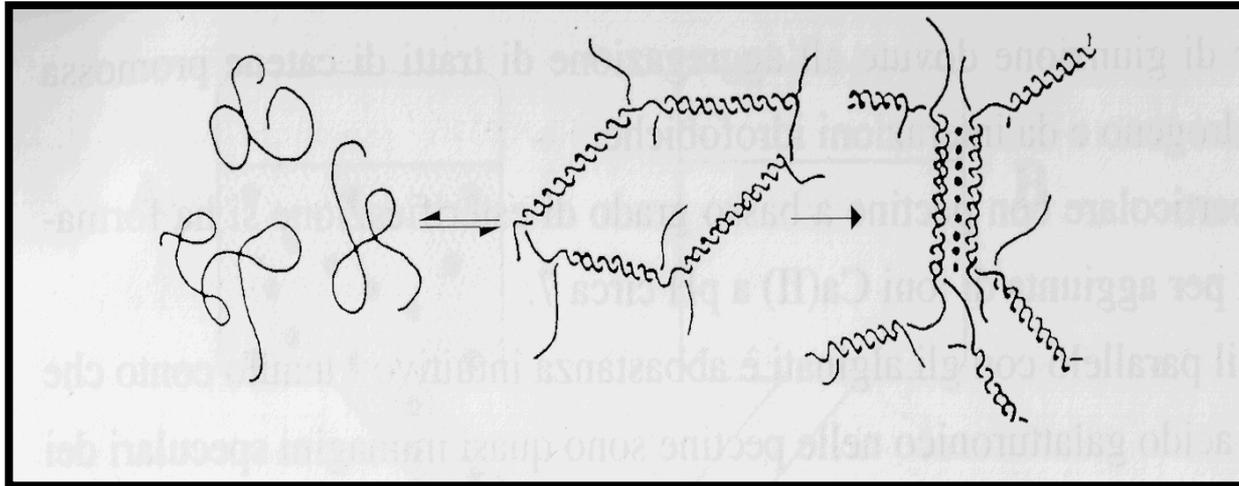
poli[ $\beta$ (1-3)-glc]



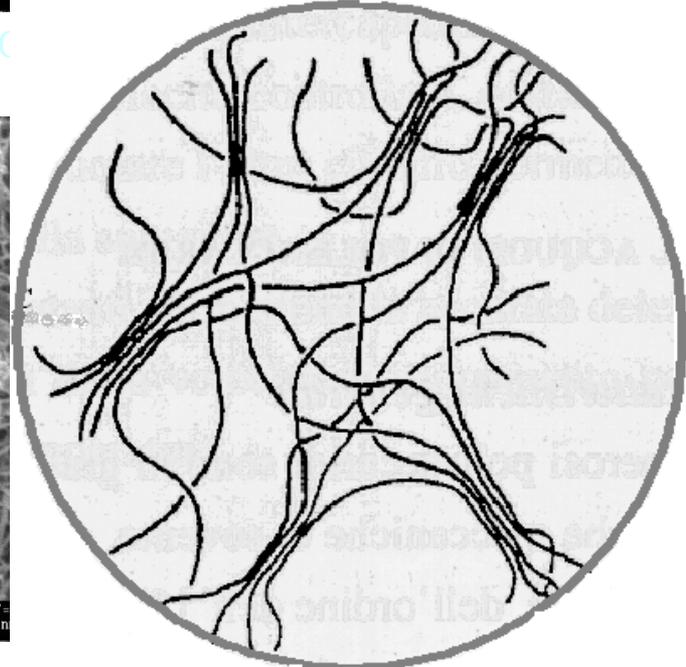
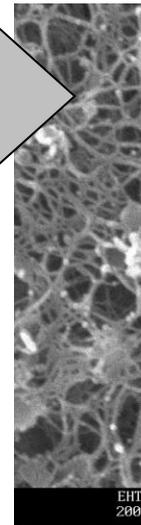
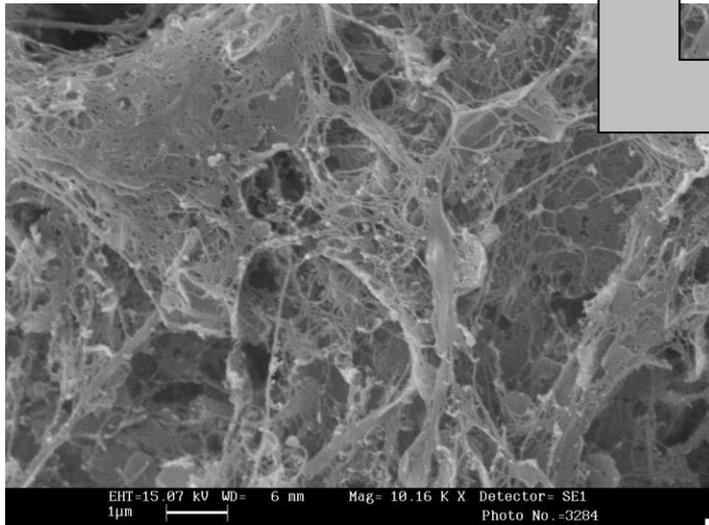
poli[ $\alpha$ -(1-3)-glc]



# Microscopia elettronica a scansione



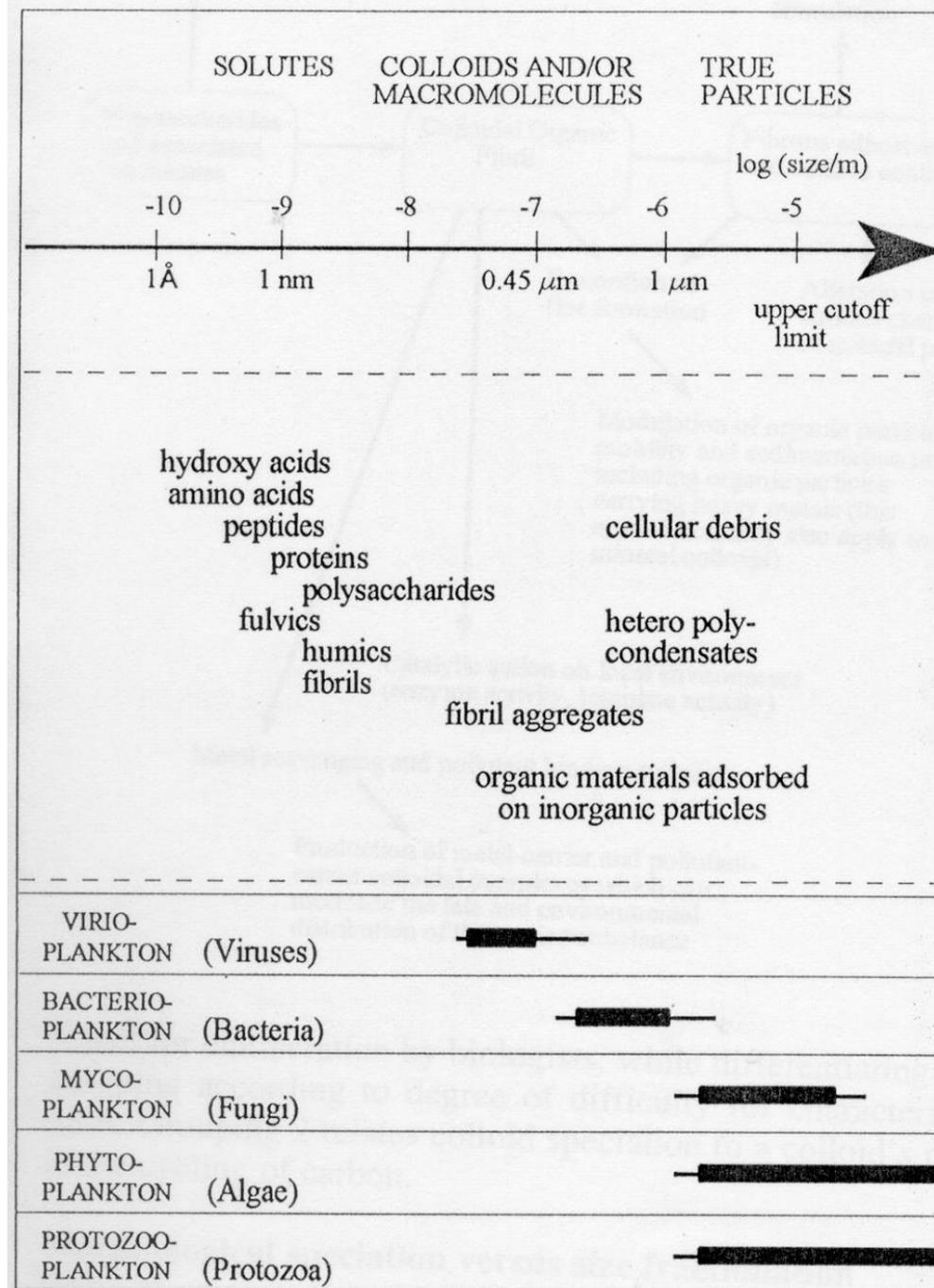
Campioni di mucillagine nativa (Urbani e Sist, 2003)



Soluzioni concentrate di polisaccaridi purificati da mucillagine (Urbani e Sist, 2003)

# Sostanza organica macromolecolare nel mare e classi dimensionali

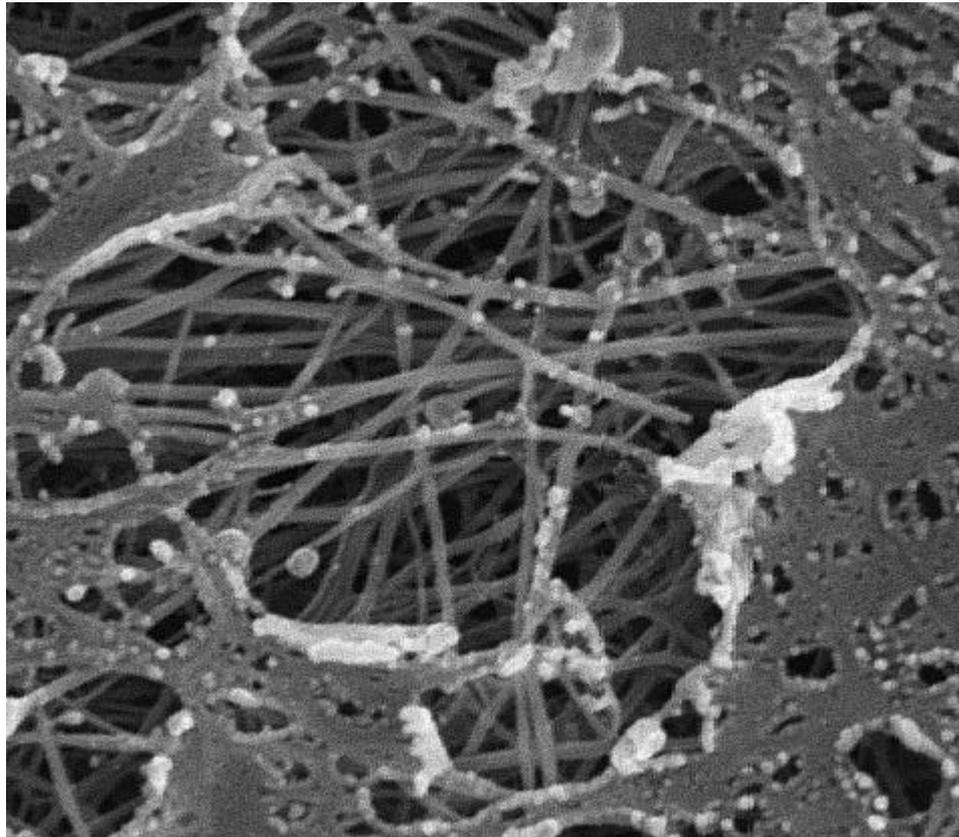
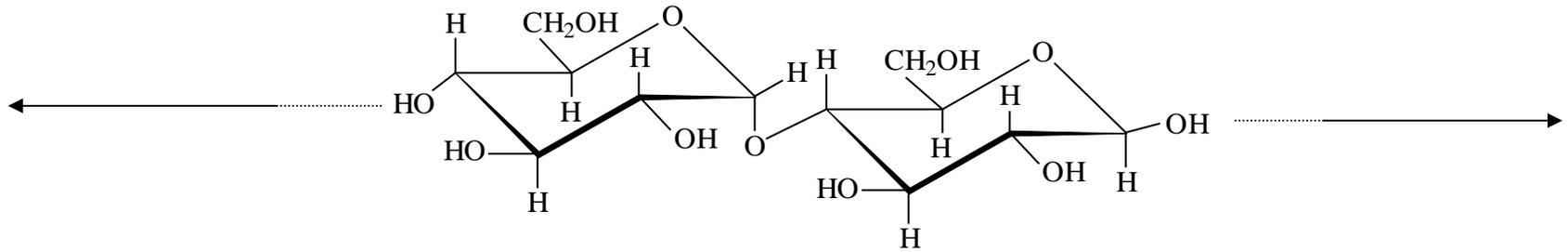
- Polisaccaridi ed oligosaccaridi
- Sostanza umica
- Proteine e peptidi
- Acidi nucleici



# Suddivisione dei biopolimeri marini in base alle loro caratteristiche macromolecolari

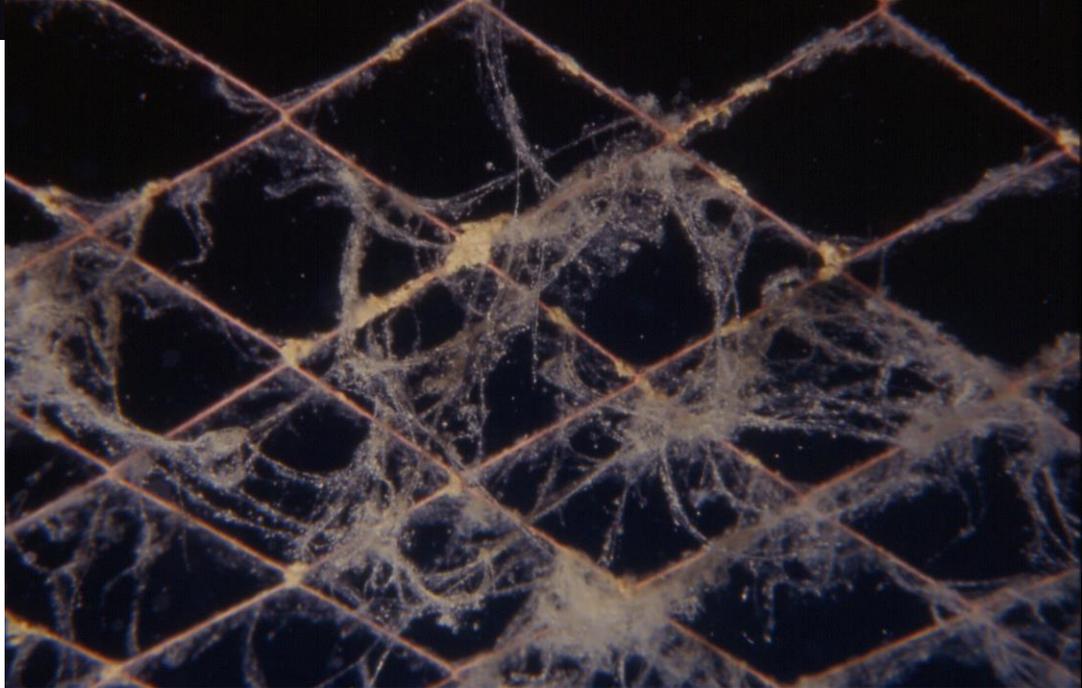
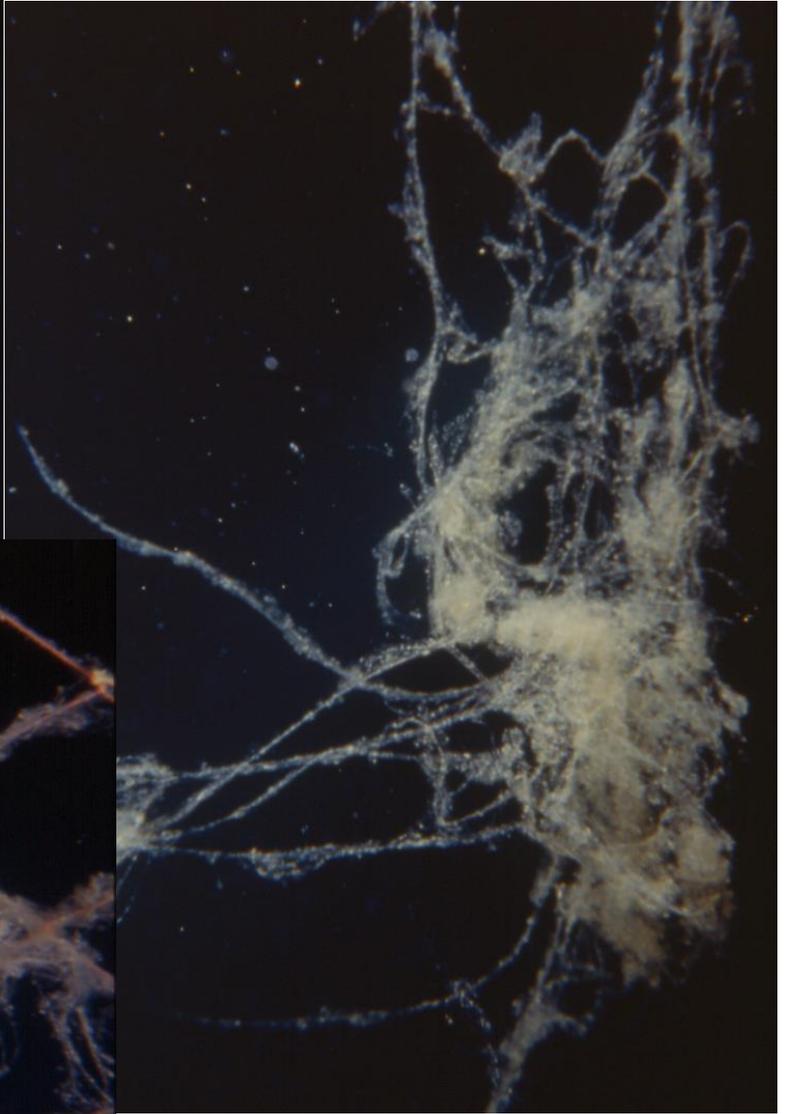
	Natura Origine	Massa molec. (dalton)	Dimensioni (nm)	Struttura supramolecolare	Tempo di vita medio	% della sostanza organica
<b>Biopolimeri RIGIDI</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- mucopolisaccaridi</li> <li>- peptidoglicani</li> <li>- cellulose</li> <li>- composti pectici (parete cellulare microbica e prodotti extracellulari)</li> <li>- Acidi nucleici</li> </ul>	$10^4 - 10^6$	100 – 1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>- struttura fibrillare basata su doppie o triple eliche</li> <li>- struttura a rete tridimensionale (gel)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sulla superficie: mesi</li> <li>- in profondità: 100 anni-secoli</li> <li>ore - giorni</li> </ul>	10-30
<b>Biopolimeri FLESSIBILI</b>	materiale refrattario (prodotti di ricombinazione di amminoacidi, zuccheri rilasciati dal plancton)	$500 - 10^5$	----	<ul style="list-style-type: none"> <li>- struttura flessibile, disordinata, più o meno estesa</li> </ul>	10 – 7000 anni	fino a 90
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- polisaccaridi di riserva (endocellulari)</li> <li>- composti proteici (endocellulari)</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>- struttura flessibile</li> <li>- struttura globulare</li> </ul>	ore - giorni	
<b>Sostanze umiche</b>	(di derivazione terrestre-fluviale)	500 - 5000	0.5 - 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- struttura globulare</li> </ul>	ca. 500 anni nel suolo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 40-80 laghi</li> <li>- tracce in mare aperto</li> </ul>

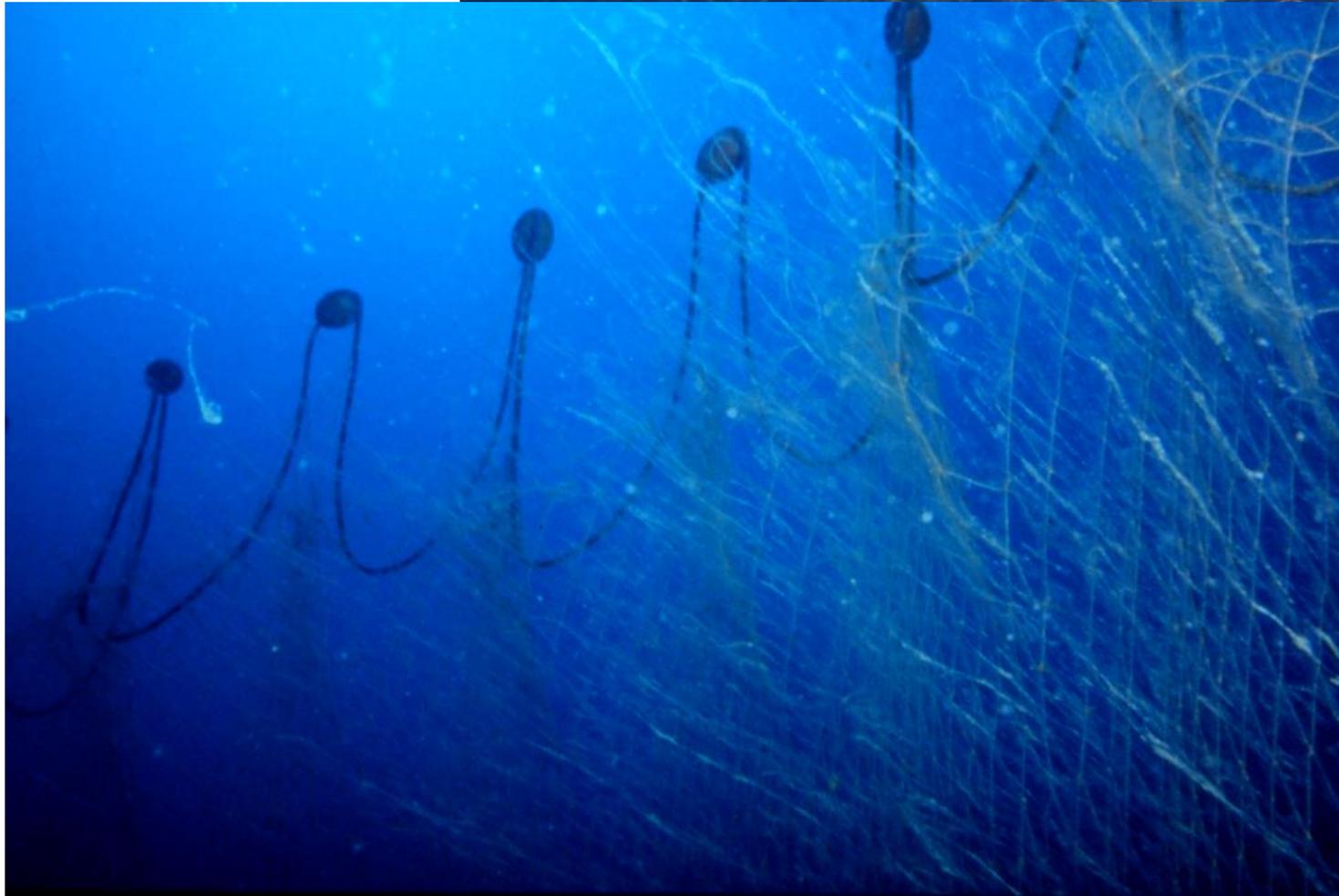
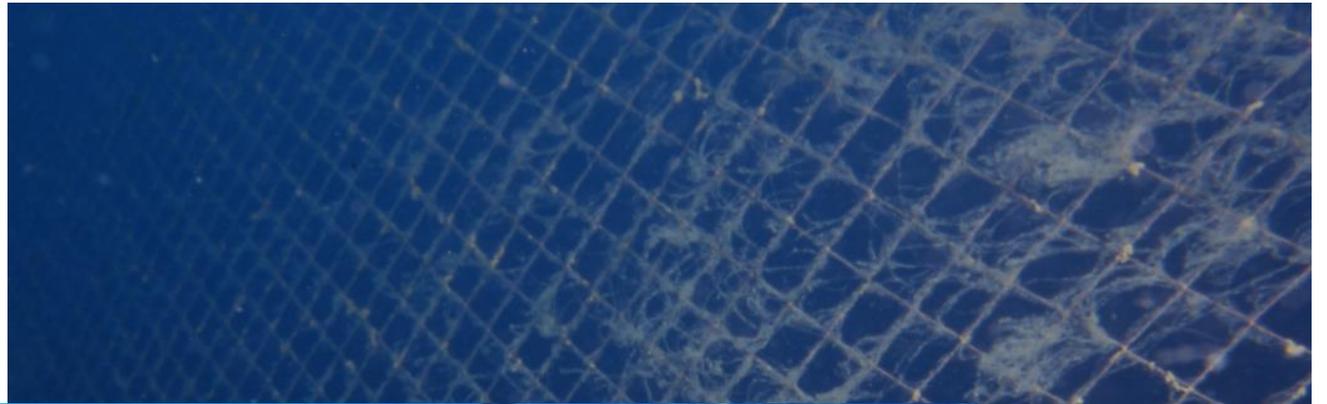
# Catene saccaridiche



**Neve marina**







# Ragnatele

An underwater photograph showing a large, intricate spider web suspended in the water. The web is illuminated from above, creating a bright, glowing effect against the dark, blue-green background of the water. The web's structure is complex, with many fine threads radiating from a central point and forming a dense, circular pattern. The water around the web is slightly disturbed, with some small bubbles and ripples visible.

Golfo di Trieste - mucillagini in sospensione

**Nastri**



An underwater photograph showing a diver in silhouette on the left, holding a large, billowing white cloud of mucus. The water is a hazy, light blue-green color, indicating turbidity. The diver is wearing a full scuba suit and fins. The white cloud is the central focus, appearing as a thick, suspended mass.

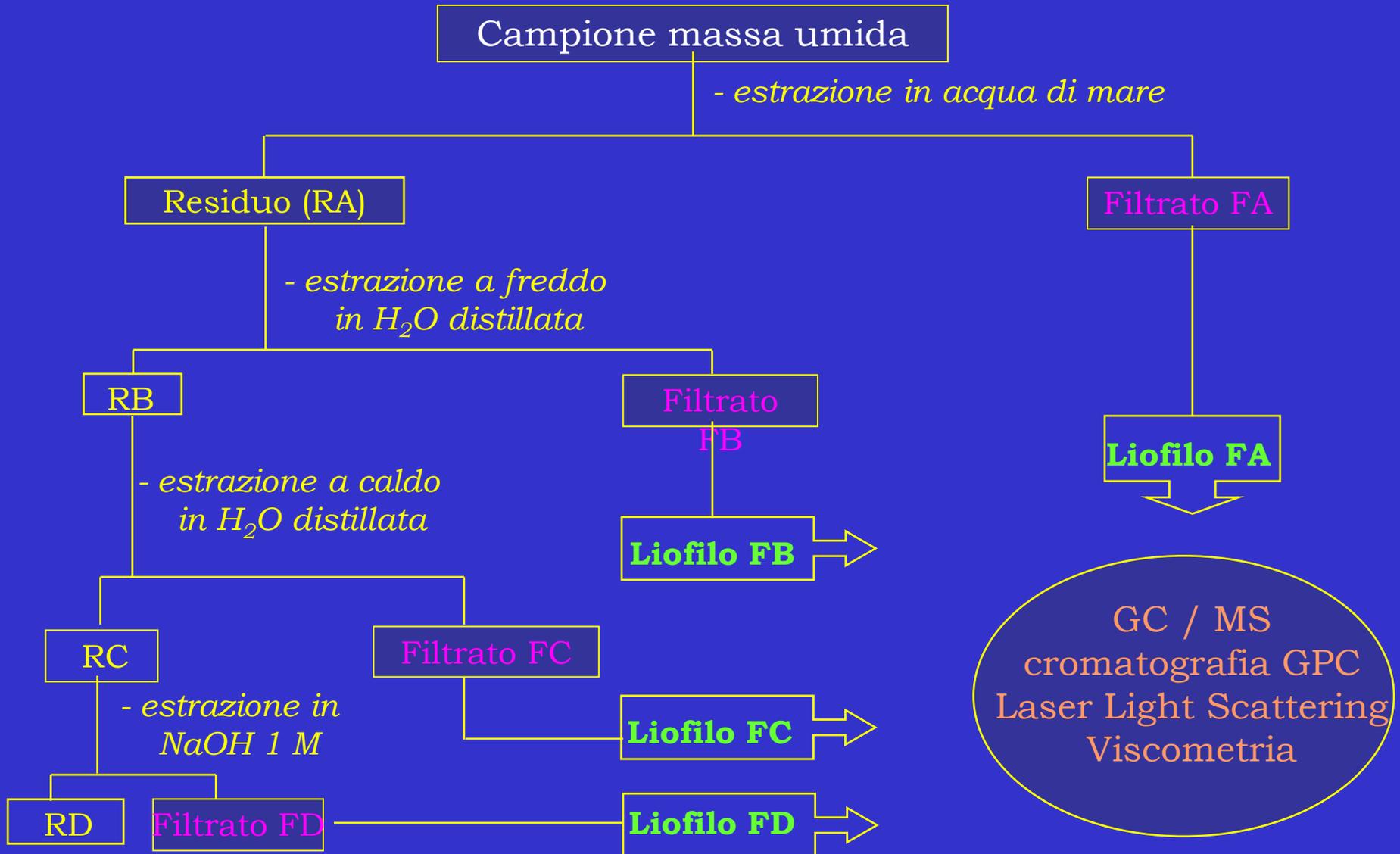
**Nubi**

Golfo di Trieste - mucillagini in sospensione

# Strati cremosi superficiali



# Isolamento e purificazione dei polisaccaridi da mucillagini

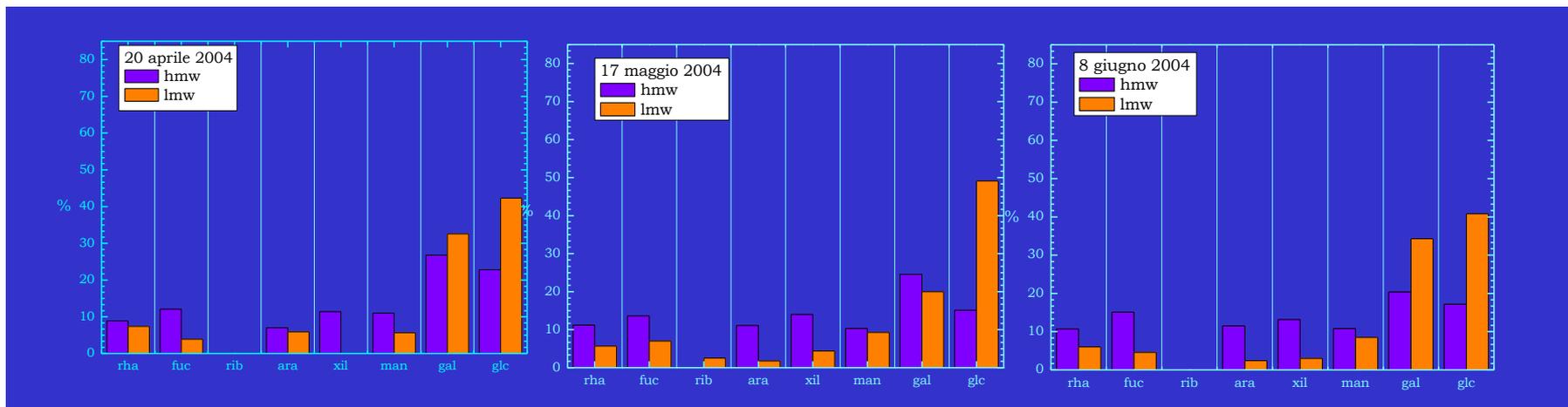


# Determinazione della struttura primaria (composizione e concatenamento)

Analisi gascromatografica degli idrolizzati acidi dei polisaccaridi per determinare la composizione relativa dei vari monosaccaridi;

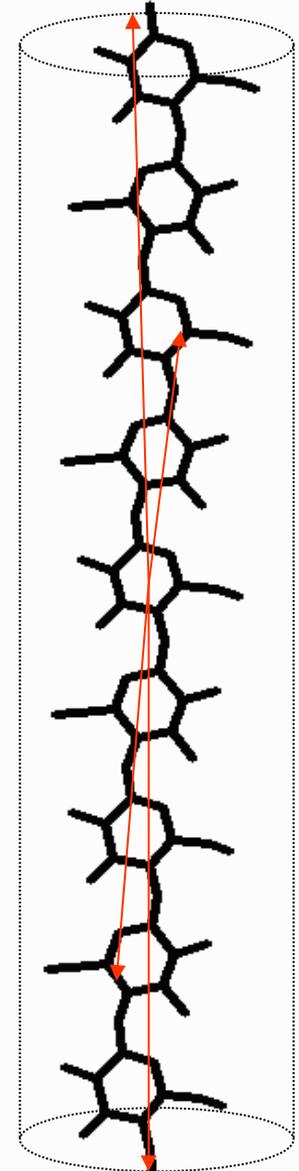
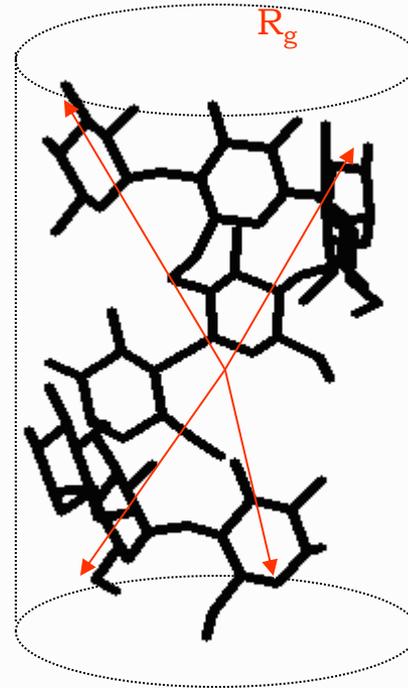
Analisi di metilazione per determinare i carboni implicati nel concatenamento

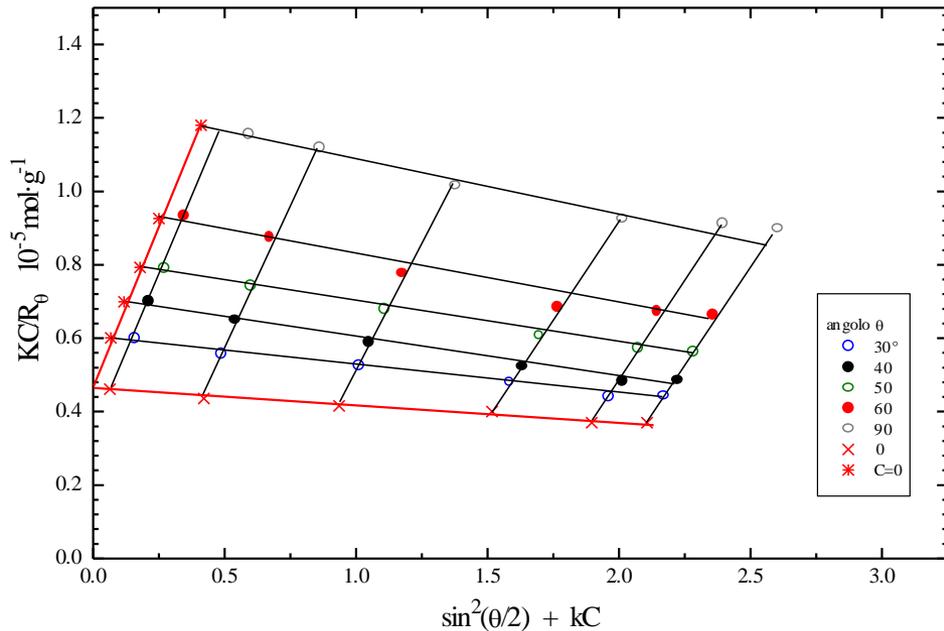
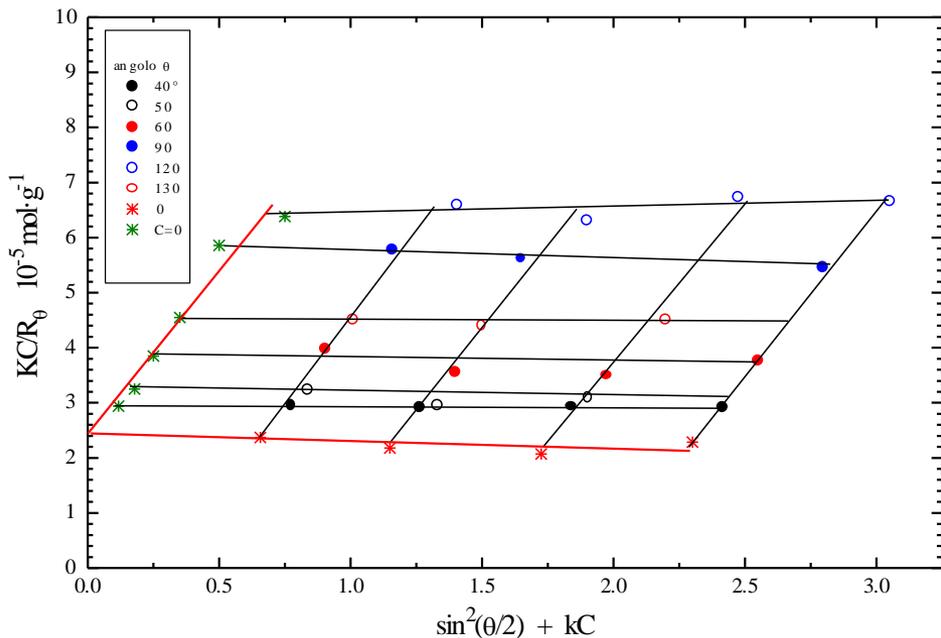
Analisi NMR per la definizione della chiralità nel legame anomeroico



# Determinazione delle proprietà delle catene (PM, raggio di girazione)

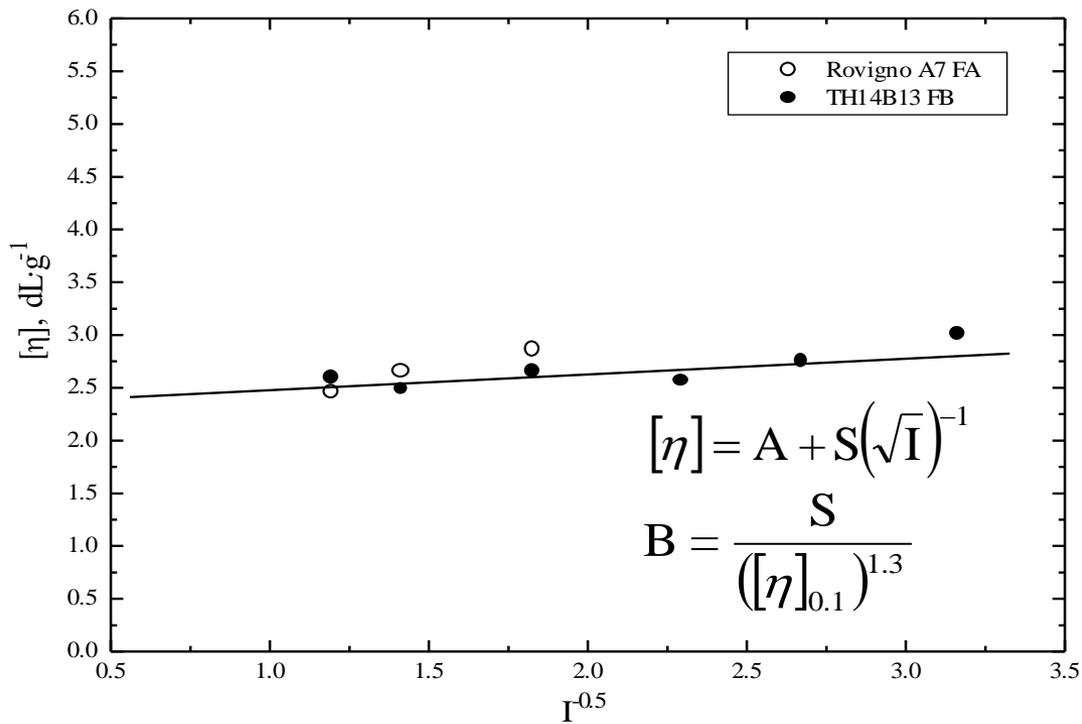
- Esperimenti di Diffusione della luce ( $R_g$ , PM, coefficiente del viriale) - **Laser Light Scattering**
- Esperimenti di Cromatografia di Permeazione su Gel (PM) - **GPC**
- Esperimenti di **Viscometria** (volume e raggio idrodinamico, conformazione)





sample	$M_{NaCl} = I$	$M_w$ /dalton	$A_2 \cdot 10^6$ / $cm^3 \cdot mol \cdot g^{-1}$	$R_G$ /nm
TH14B13 (2000)	0.10	264,000	-0.41	77
	0.30	145,000	-0.81	83
	0.50	218,000	-1.3	99
	0.70	234,000	-4.8	94
Rovinj, A7 (2001)	0.30	222,000	-0.43	155
	0.70	217,000	-0.20	131
			-0.45	
			-0.56	

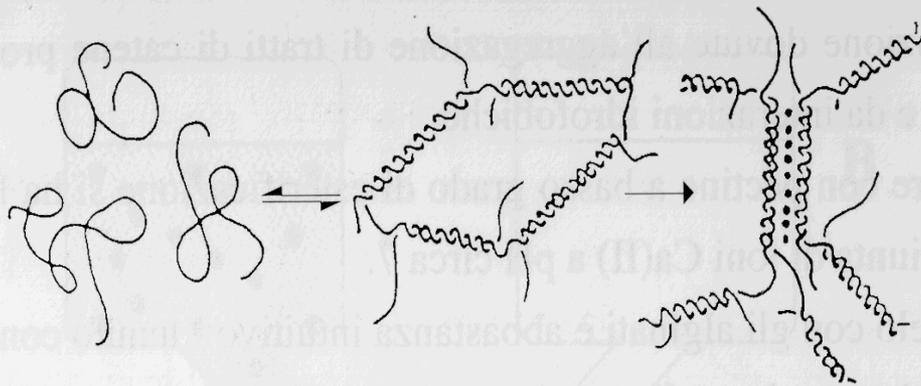
	$R_G$ /nm
Pullulan	24
Welan	68
Alginate	73
TH14B13 (2000)	77
A7 (2001)	155



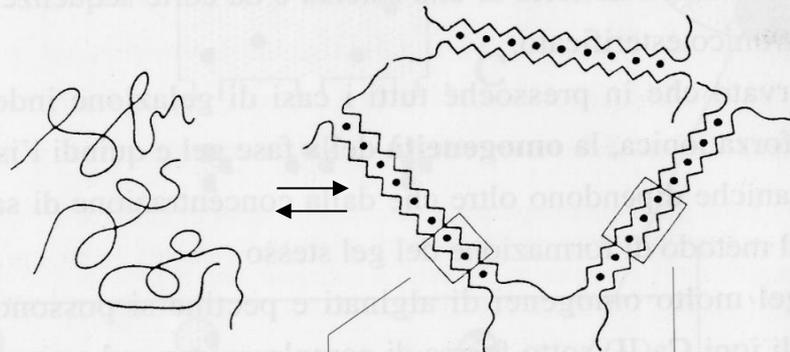
<b>Polymer</b>	<b>B</b>
<i>Polyphosphate</i>	0.44
<i>Poliacrylate</i>	0.23
<i>Dextran sulphate</i>	0.23
<i>Carboxymethyl-amylose</i>	0.20
<i>Carboxymethyl-cellulose</i>	0.065
<i>Hyaluronic Acid</i>	0.065
<i>Mannuronic-rich alginate</i>	0.040
<b>TH14B13 (2000)</b>	<b>0.036</b>
<i>Guluronic-rich alginate</i>	0.031
<i>DNA</i>	0.0055
<i>Xanthan</i>	0.0053

# Determinazione delle proprietà aggreganti/gelificanti

Processo di aggregazione 1

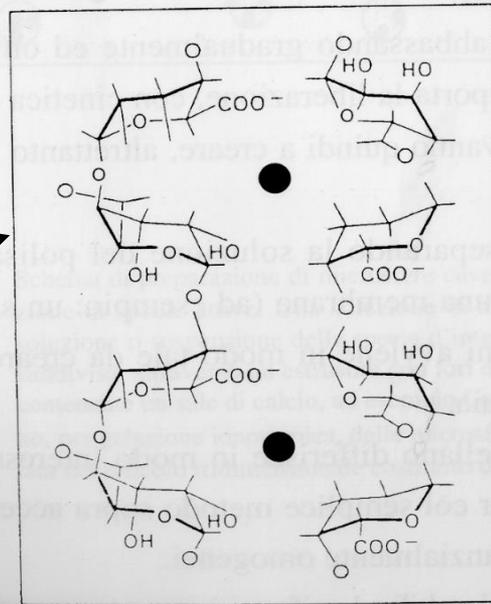


Processo di aggregazione 2



K-carragenano

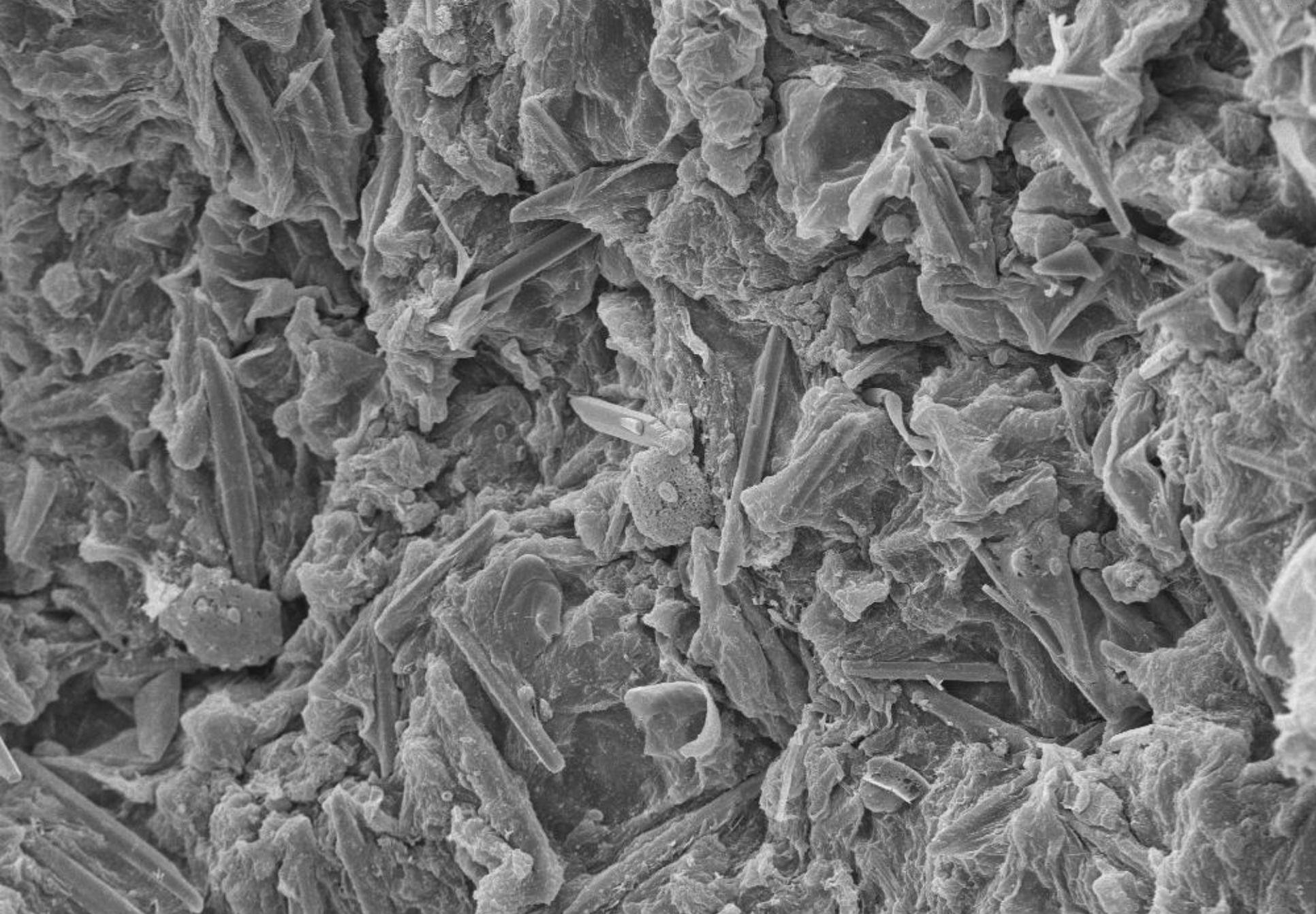
alginate



**GEL**



# Microscopia SEM di mucillagini adriatiche, anni 2000-2002

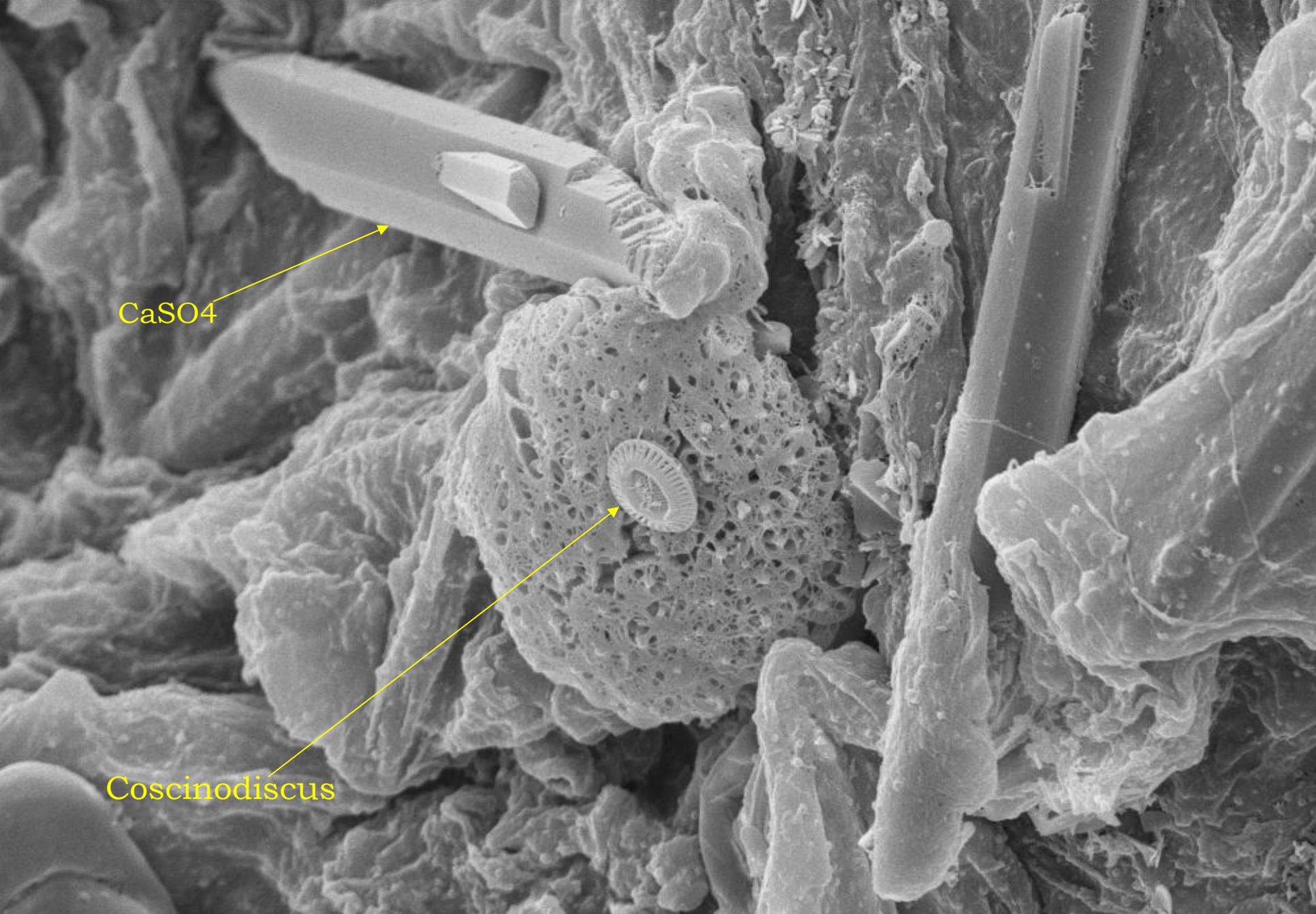


EHT=13.31 kV WD= 16 mm Mag= 600 X Detector= SE1

20µm



Photo No =1482



CaSO4

Coscinodiscus

EHT=13.31 kV WD= 16 mm Mag= 2.70 K X Detector= SE1

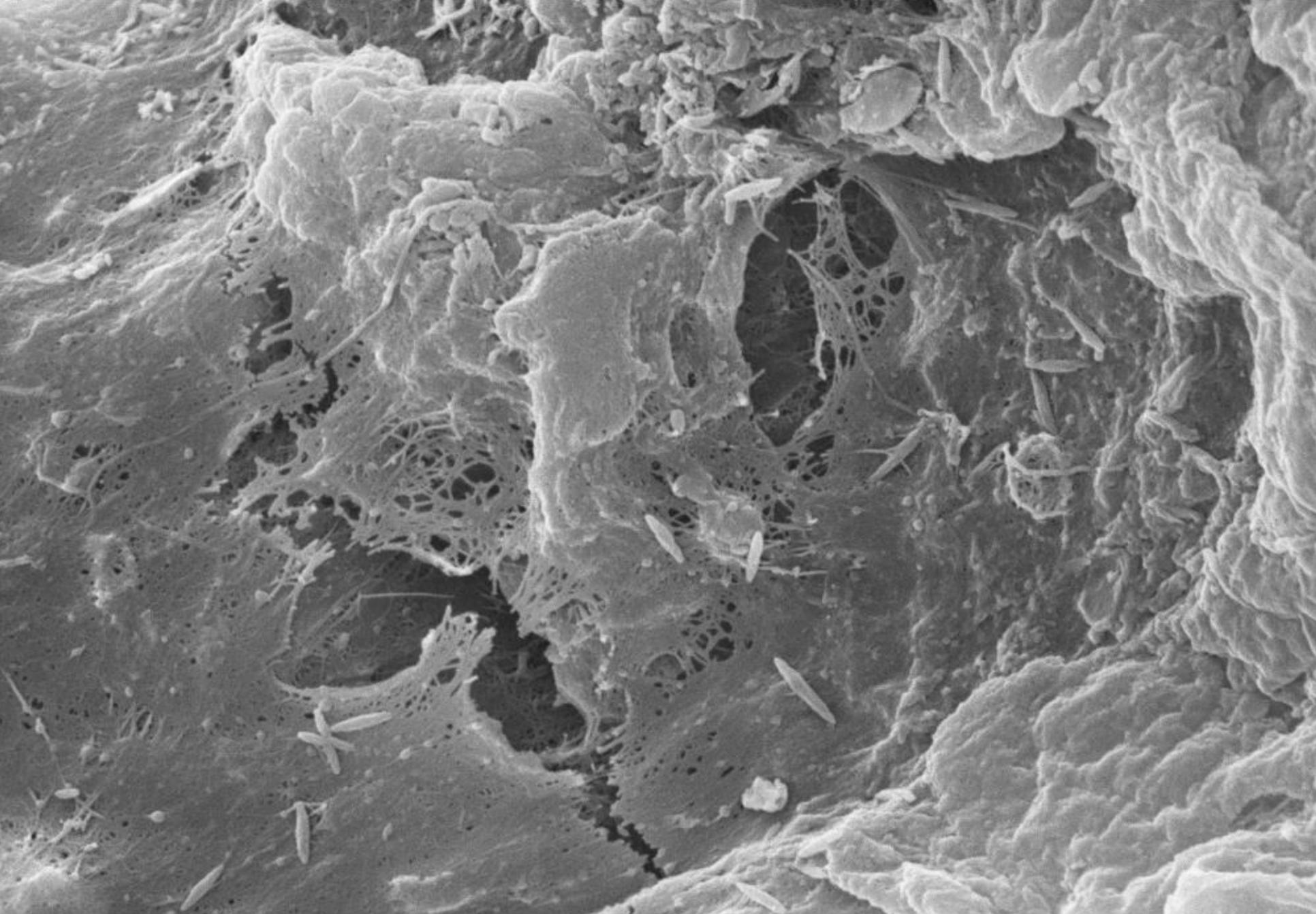
2µm

Photo No =1484



*Diatomea centrica*

EHT=15.17 kV WD= 9 mm Mag= 11.04 K X Detector= SE1  
1µm  Photo No =1499



EHT=13.31 kV WD= 16 mm

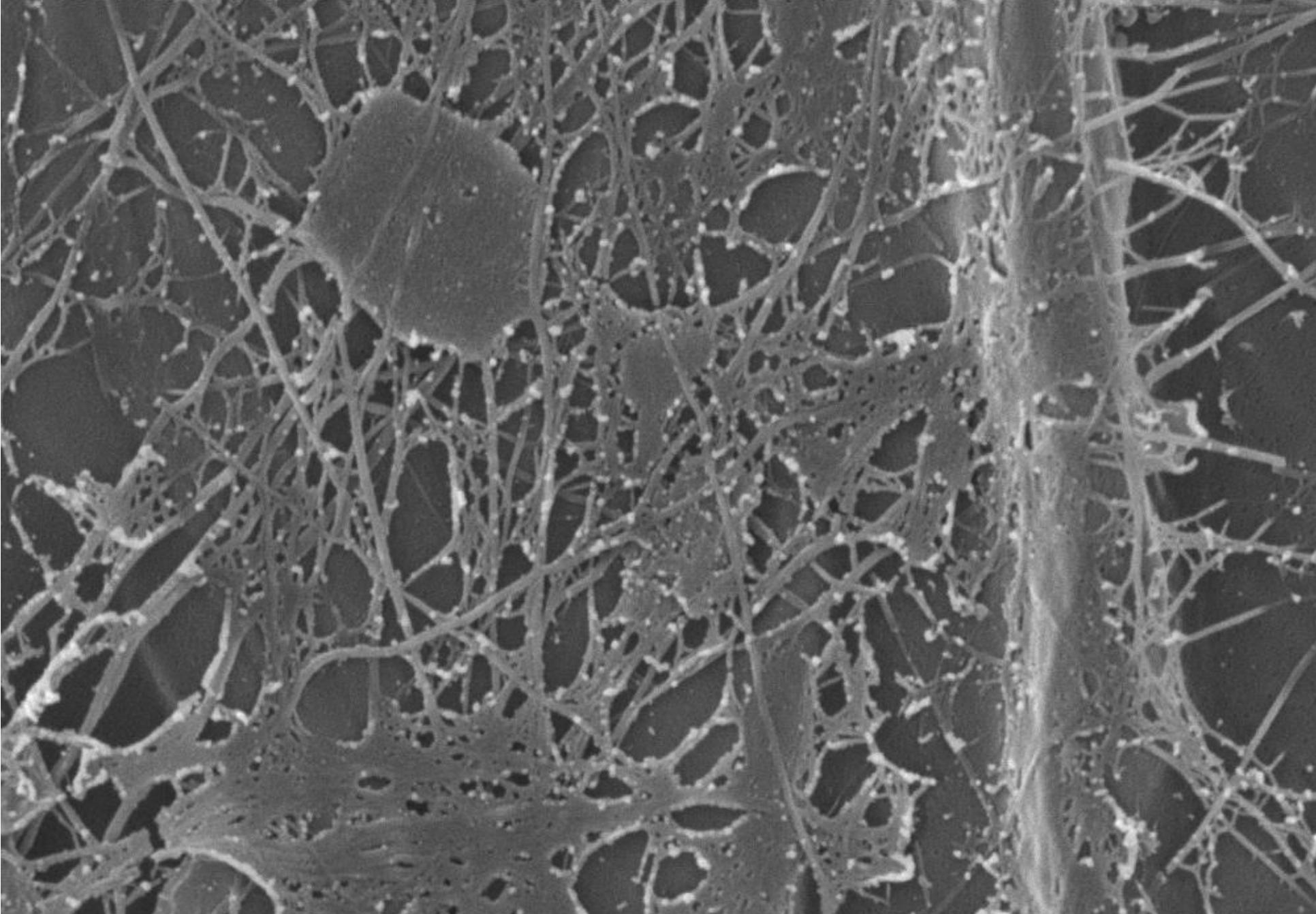
Mag= 4.62 K X Detector= SE1

40

1 $\mu$ m



Photo No =1493



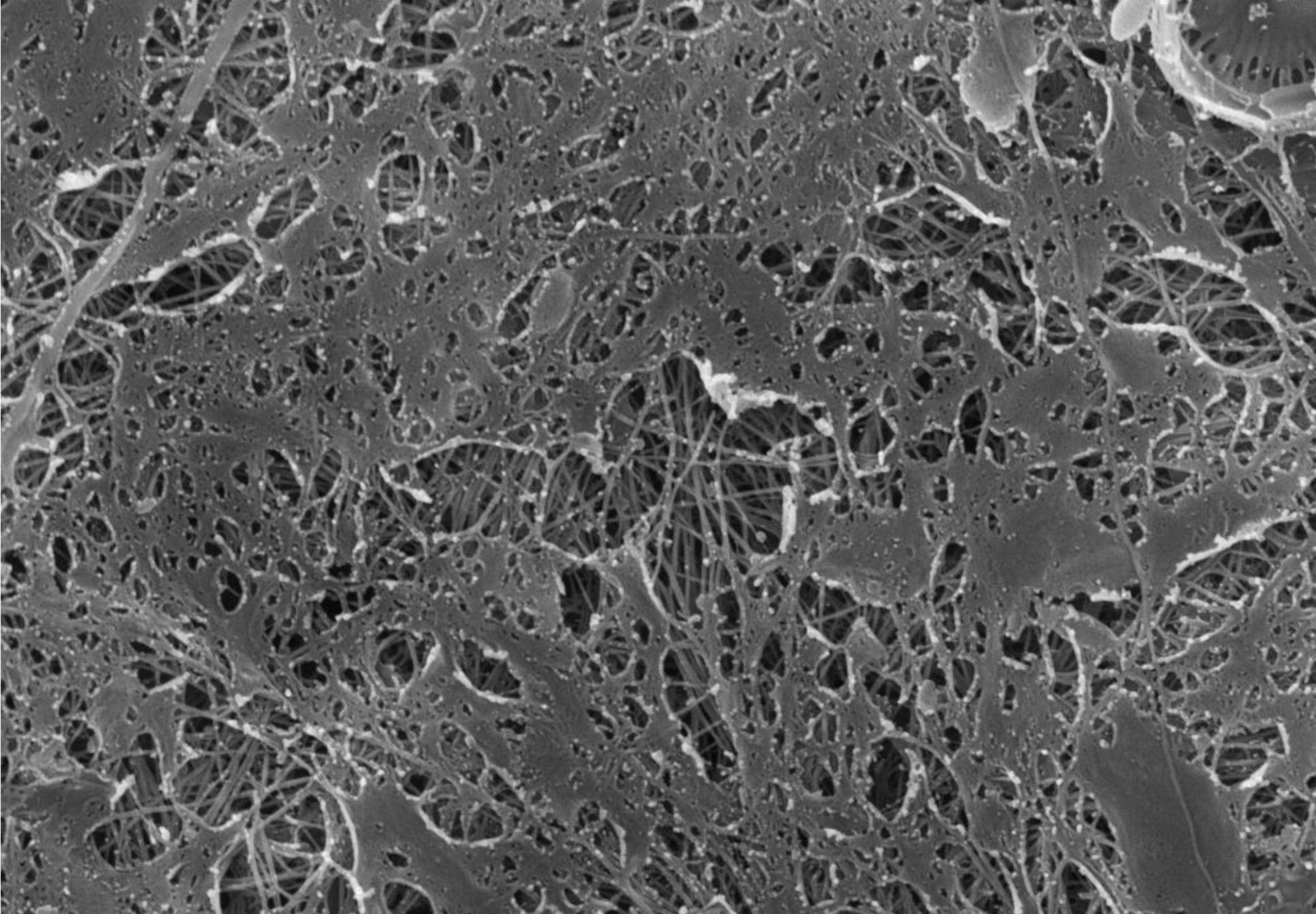
EHT=15.17 kV WD= 10 mm

Mag= 8.02 K X Detector= SE1

1 $\mu$ m



Photo No =1519

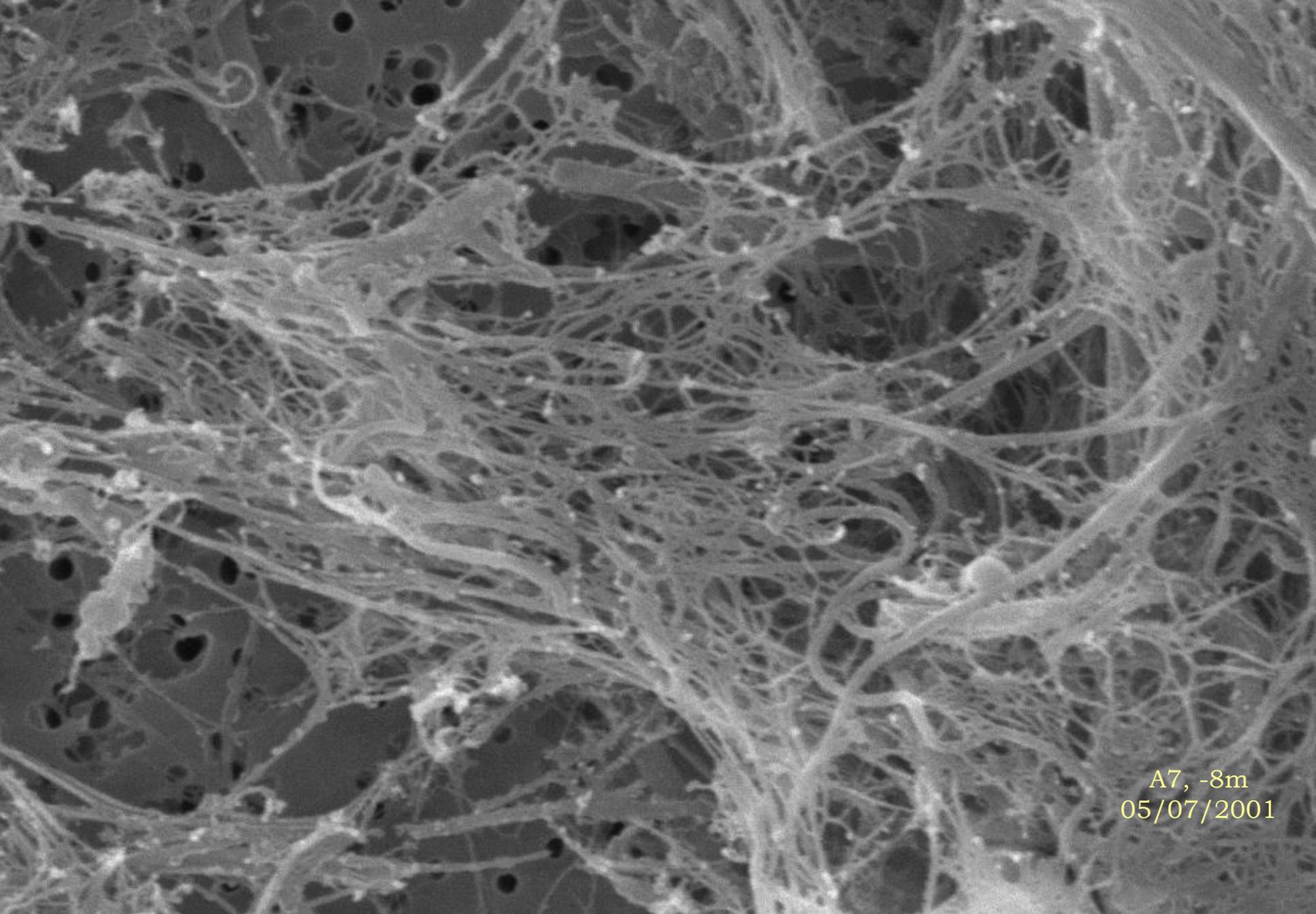


EHT=16.94 kV WD= 15 mm Mag= 5.03 K X Detector= SE1

1 $\mu$ m



Photo No. =1561



A7, -8m  
05/07/2001

EHT=15.35 kV WD= 11 mm

Mag= 11.75 K X

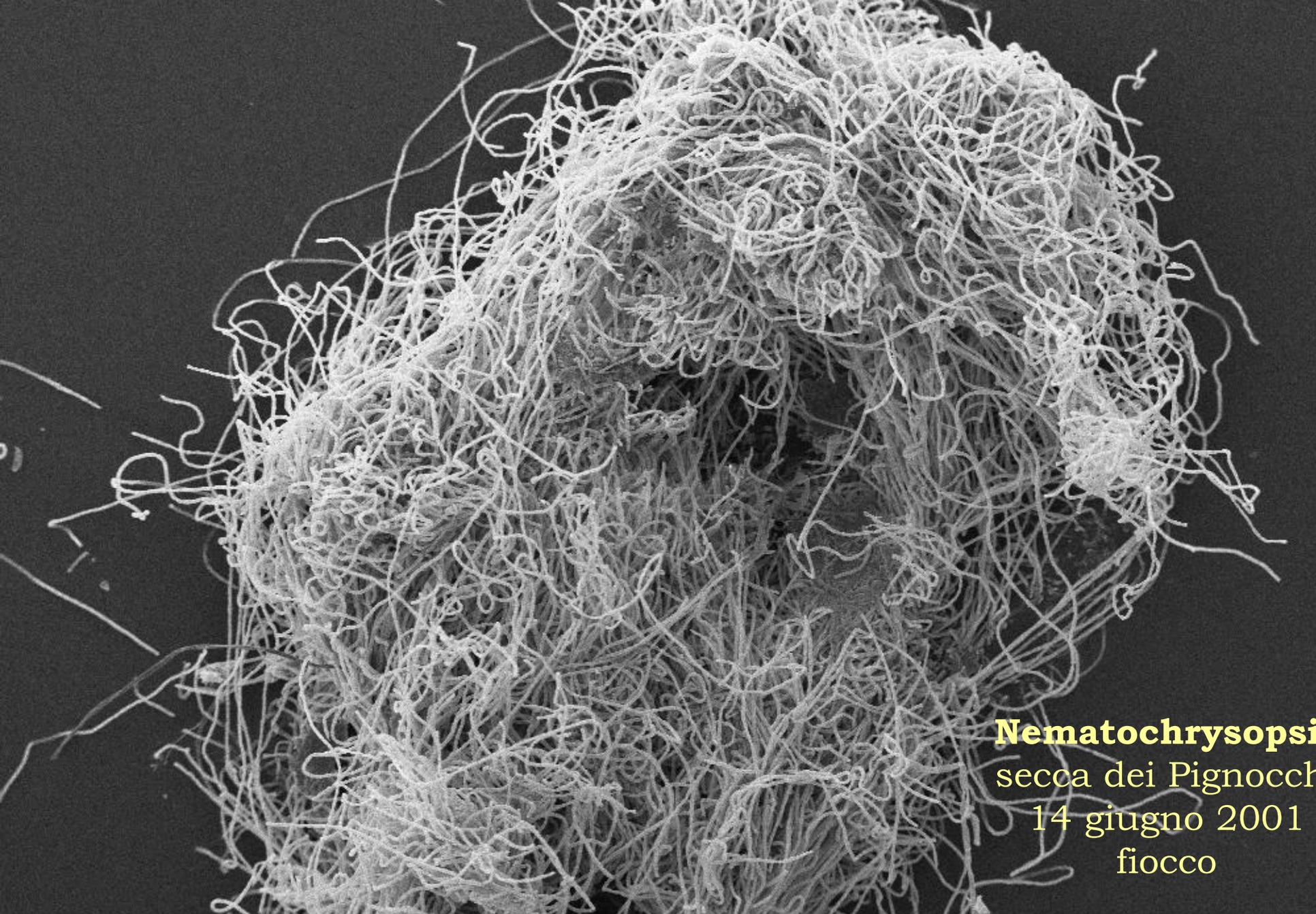
Detector= SE1

1μm



Photo No =3004

Microscopia SEM di mucillagini  
bentoniche tirreniche, anni 2000-2002



**Nematochryopsis**  
secca dei Pignocch  
14 giugno 2001  
fiocco

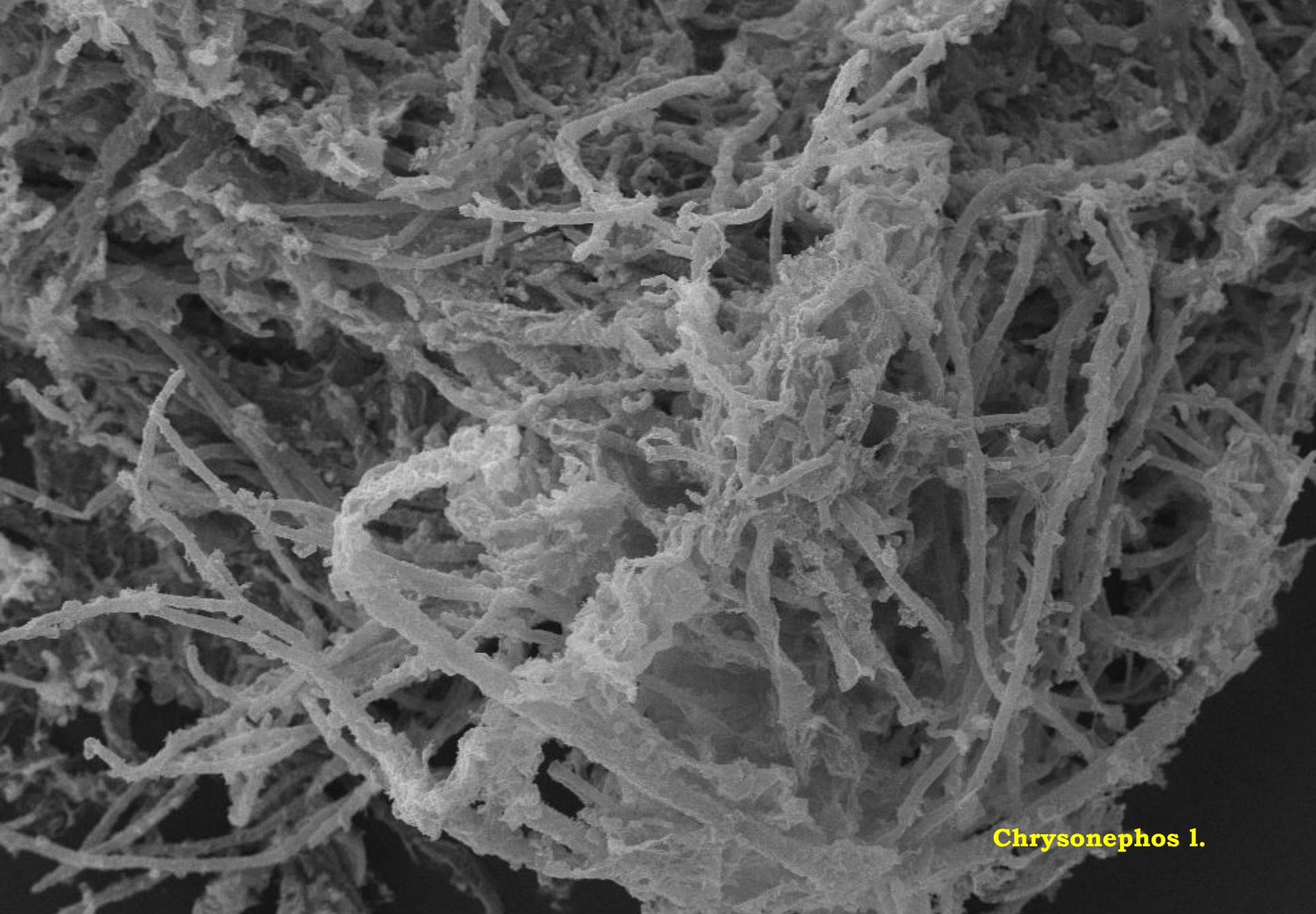
EHT=15.35 kV WD= 11 mm Mag= 35 X Detector= SE1

100µm 

Photo No =3022

Chrysonephus l.  
secca dei Pignocchi  
14 giugno 2001  
fiocco

EHT=14.05 kV WD= 9 mm Mag= 270 X Detector= SE1  
20µm  Photo No.=4360



**Chrysonephos 1.**

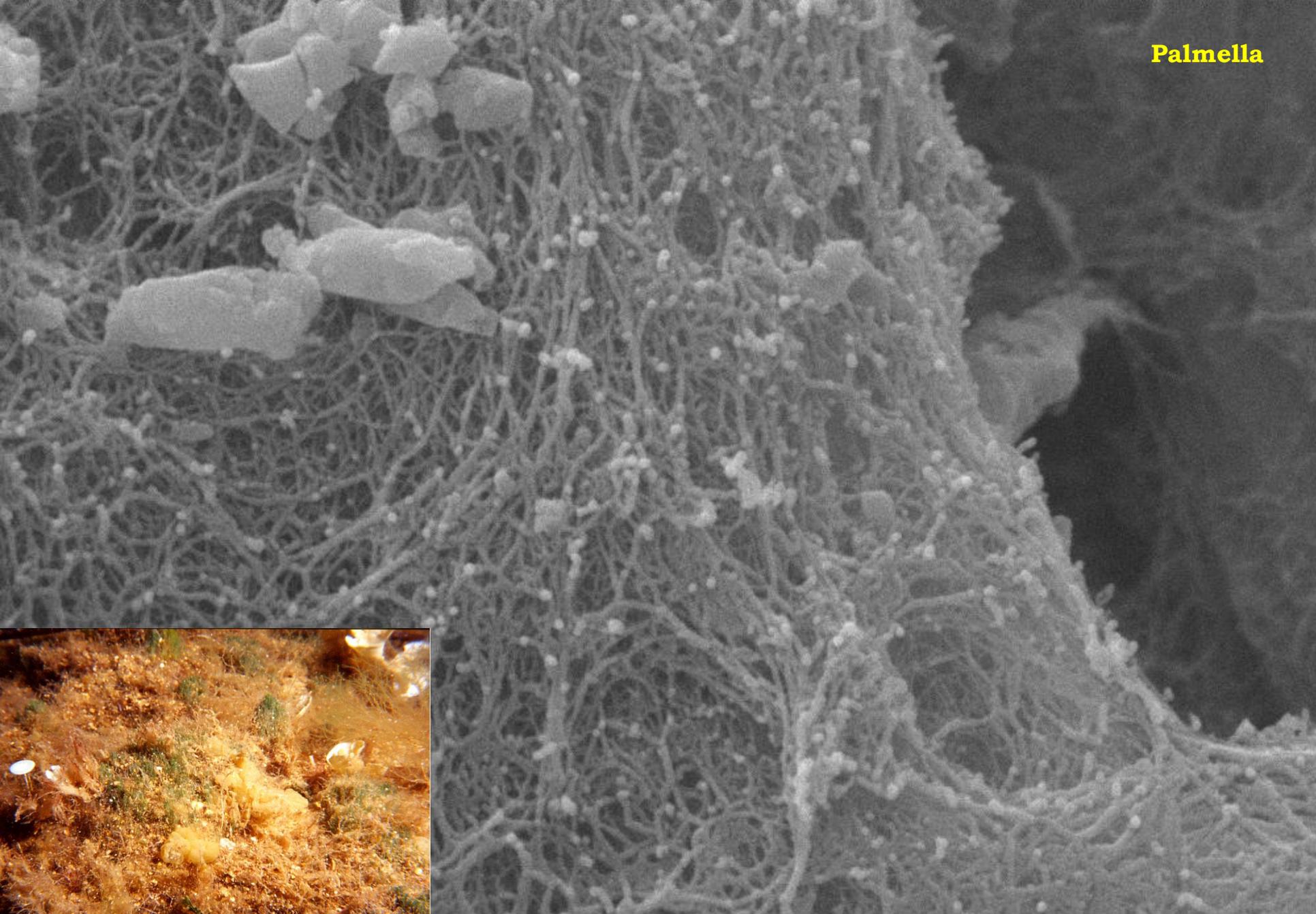
EHT=16.19 kV WD= 9 mm Mag= 124 X Detector= SE1

100µm



Photo No =4365

**Palmella**



EHT=14.05 kV WD= 9 mm Mag= 15.02 K X Detector= SE1  
1µm  Photo No =4361