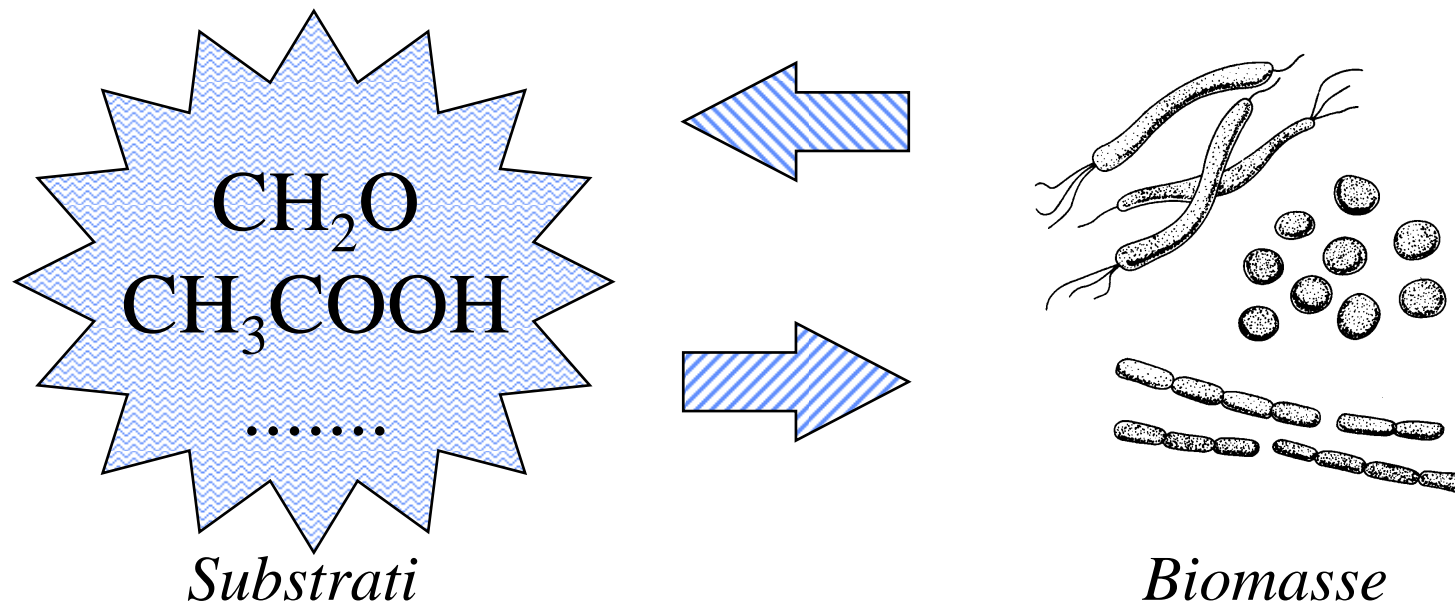


---

# Microbiologia

## Fondamenti e Modellistica



Interazioni fra Molecole e Microrganismi

# I cinque regni in cui si suddividono i viventi



Microorganismi

**Monera** [batteri, alghe azzurre (cianobatteri)]:  
procarioti sprovvisti di nuclei cellulari  
e di membrane citoplasmatiche

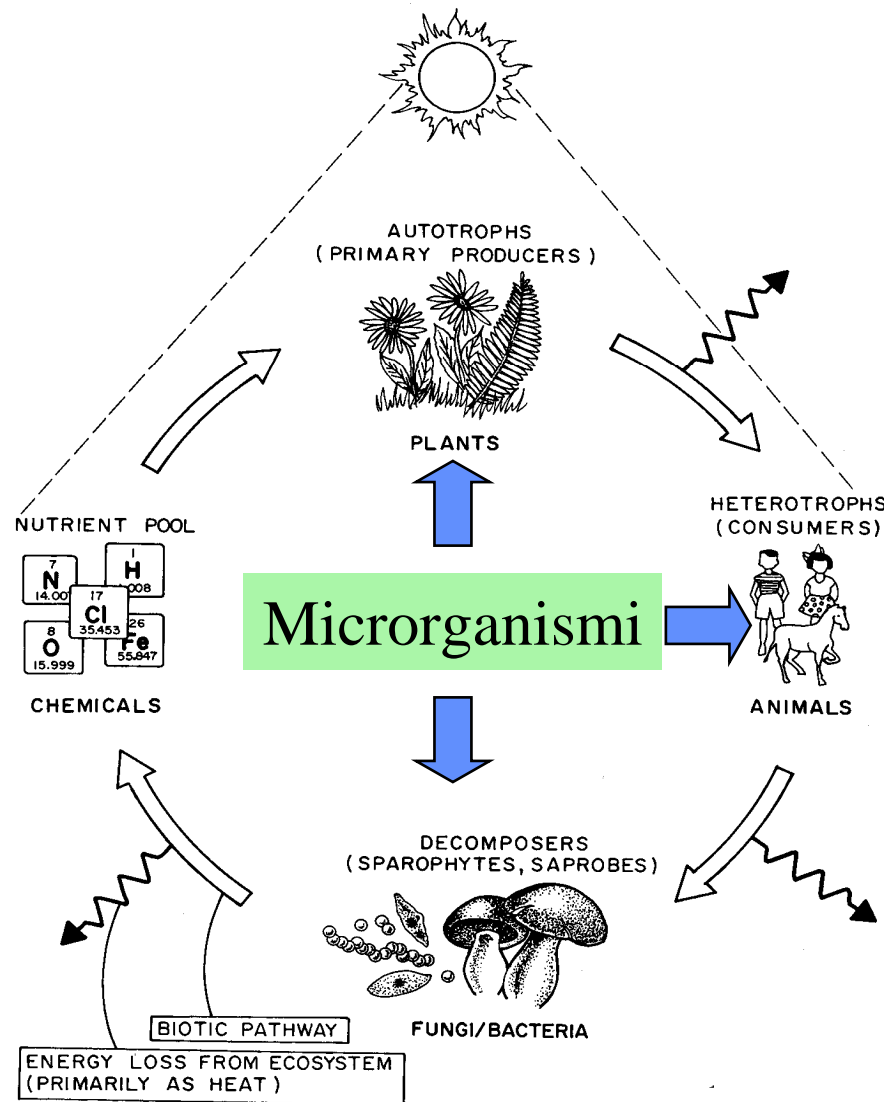
**Protoctista** (protozoi, alghe unicellulari):  
eucarioti unicellulari

**Fungi** (funghi): eucarioti pluricellulari  
eterotrofi con parete cellulare chitinoso

**Plantae** (metafiti, alghe pluricellulari):  
eucarioti pluricellulari autotrofi  
con parete cellulare cellulosa

**Animalia** (metazoi): eucarioti pluricellulari  
eterotrofi mobili, privi di parete cellulare

# Importanza dei microrganismi nell'ambiente



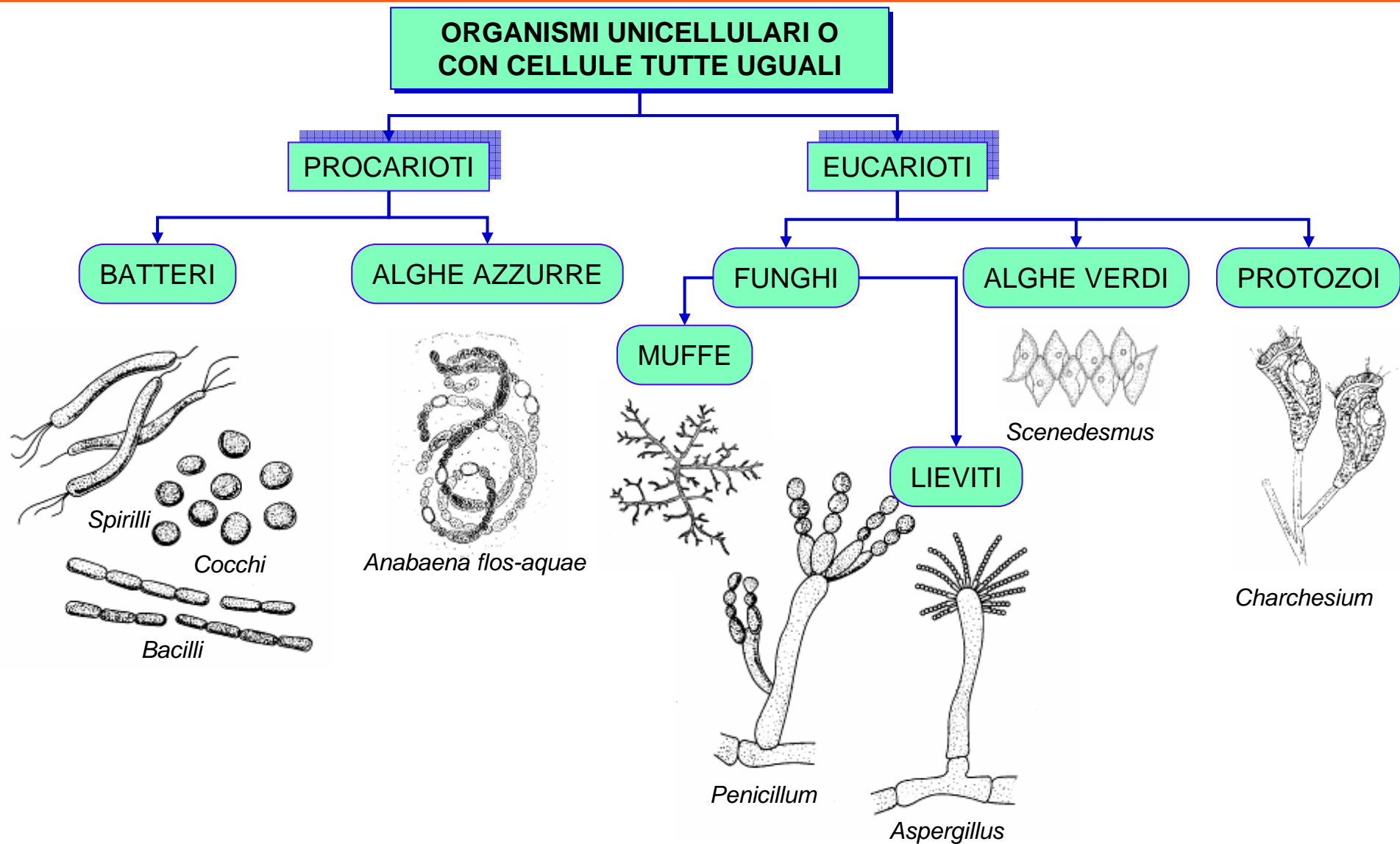
I *microrganismi* sono presenti ovunque:

Nel *terreno*, come decompositori

Nell'*acqua*, come catalizzatori biologici

In *organismi più complessi* come simbionti o parassiti, con funzione di catalizzatori biologici

# Suddivisione dei microrganismi



# Alcuni microrganismi di rilevanza ambientale

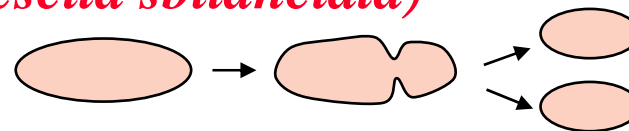
---

- ☞ ***Nitrosomonas***: effettua l'ossidazione dell'ammonio in nitrito.
- ☞ ***Nitrobacter***: prosegue l'opera del precedente ossidando il nitrito a nitrato completando così l'ossidazione biologica dell'ammonio.
- ☞ ***Acinetobacter, Lampropedia***: batteri che effettuano la denitrificazione (trasformazione da nitrato ad azoto atmosferico) ed accumulo di polifosfati
- ☞ ***Rhizobium***: bacillo aerobico che fissa l'azoto atmosferico in noduli associati alle radici delle leguminose
- ☞ ***Methanobacterium, Methanococcus***: batteri metanogeni in ambiente anaerobico
- ☞ ***Microthrix parvicella, Nocardia***: microorganismi filamentosi presenti nei fanghi attivi, dove creano problemi di sedimentazione

# Dinamica dei microrganismi

---

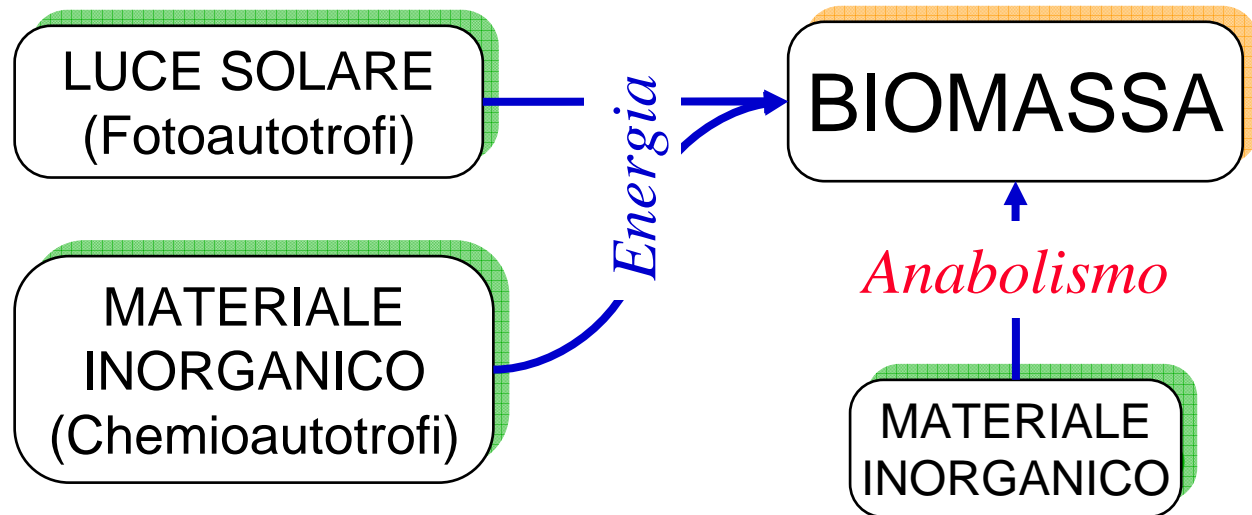
- ☞ I microrganismi possono adattarsi a qualsiasi condizione ambientale
- ☞ Molti di essi svolgono funzioni utili o addirittura essenziali per l'ecosistema (degradazione inquinanti, decomposizione dei detriti, produzione di sostanze utili)
- ☞ Si tratta di organismi elementari (unicellulari)
- ☞ Il loro metabolismo è molto semplice
  - ⇒ Assimilano nutrienti (*substrato*) attraverso la membrana cellulare
  - ⇒ Lo immagazzinano e lo trasformano al proprio interno per ricavarne energia e con questa fabbricare altro materiale cellulare
  - ⇒ In mancanza di nutriente esterno, utilizzano materiale nutriente di riserva accumulato nella cellula (*crescita sbilanciata*)
  - ⇒ Si riproducono per scissione



# Metabolismo autotrofo e eterotrofo

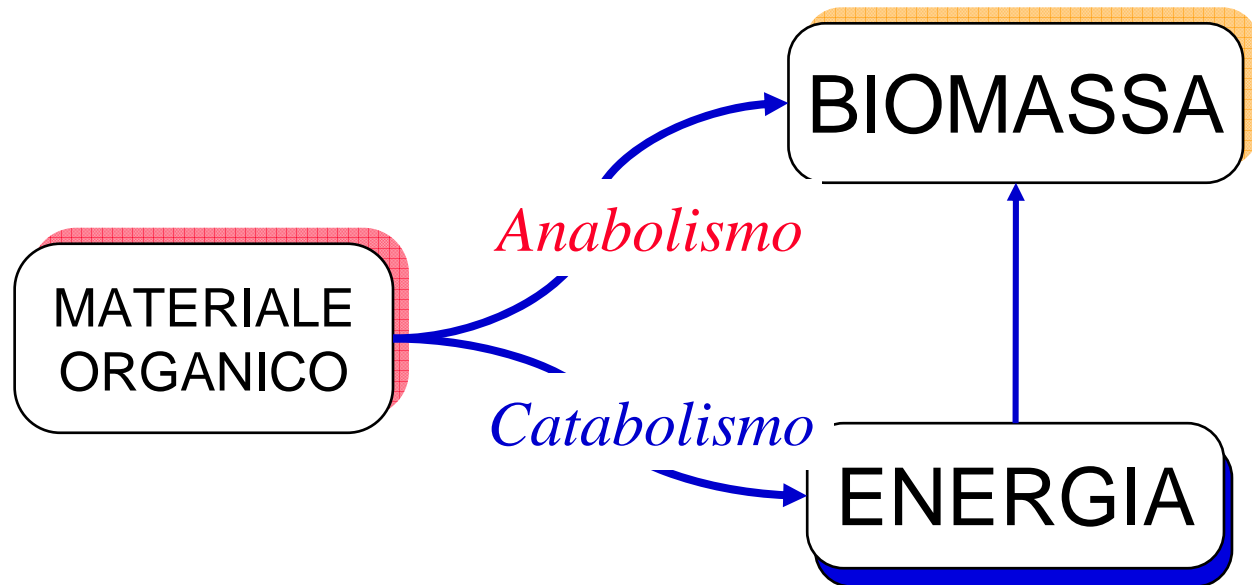
## AUTOTROFI

- La sorgente esterna di energia consente il cammino **anabolico**
- Non necessitano di cammino **catabolico** se la sorgente esterna è l'energia solare



## ETEROTROFI

- Il cammino **anabolico** converte il Substrato in Biomassa
- Il cammino **catabolico** produce l'Energia necessaria a questa trasformazione



# Processi energetici cellulari

---

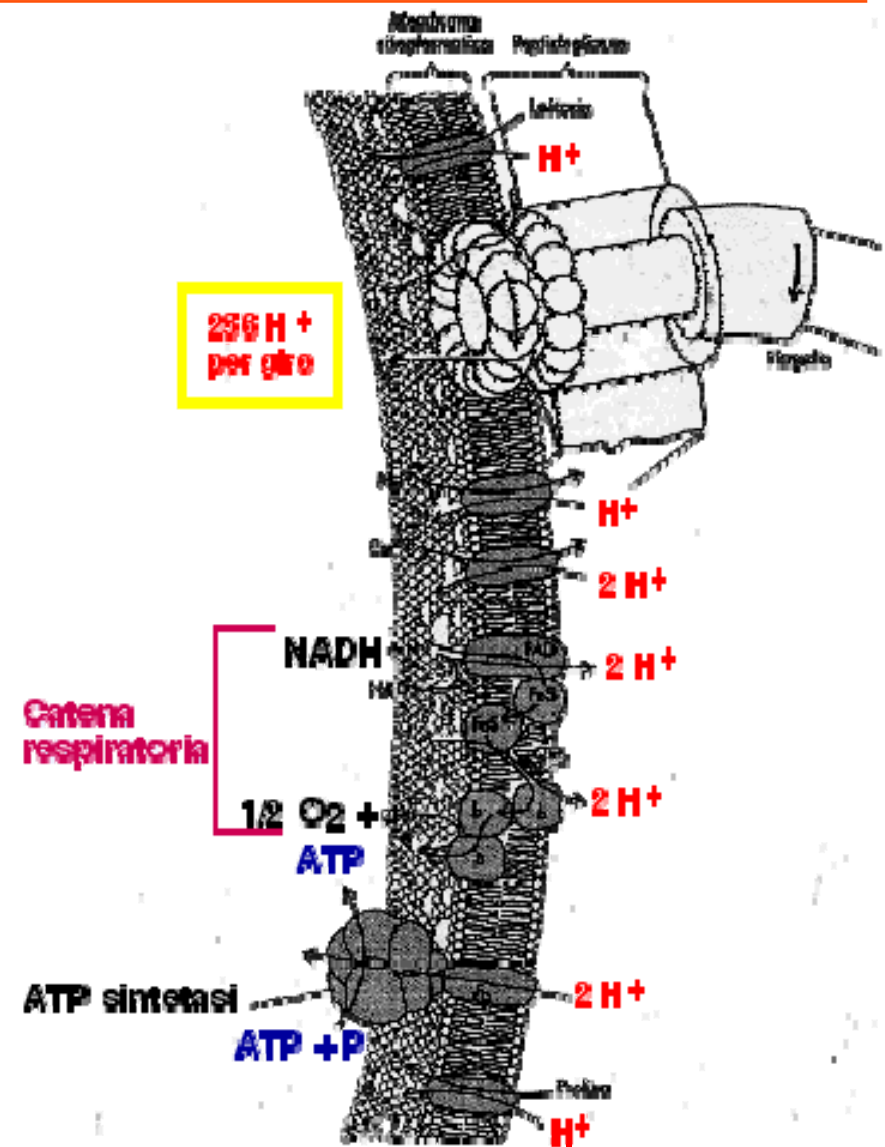
**I processi attraverso cui gli organismi trasformano le sostanze nutritive (Substrati) sono i seguenti:**

- ☞ **Dissimilativi (catabolici):** reazioni multistadio di trasformazione del substrato con produzione finale di prodotti stabili. Nel passaggio per questi stadi viene resa disponibile energia, di cui si servono gli organismi per i loro processi di *crescita* e di *mantenimento*;
- ☞ **Assimilativi (anabolici):** processi di crescita in cui il substrato viene utilizzato per sintetizzare i componenti principali della cellula (biosintesi) oltre a prodotti metabolici di respirazione come  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4^+$ , etc.
- ☞ I due processi sono complementari perché i processi anabolici richiedono l'energia resa disponibile dai processi catabolici

# Accoppiamento fra anabolismo e catabolismo

Negli organismi eterotrofi l'energia prodotta con i processi del *catabolismo* viene utilizzata a sostegno dei processi biosintetici endoergonici (*che richiedono energia*) dell'*anabolismo*, per l'assemblaggio di strutture cellulari, per il trasporto di soluti o per il movimento.

Parte può disperdersi nell'ambiente sotto forma di "calore metabolico" non più utilizzabile



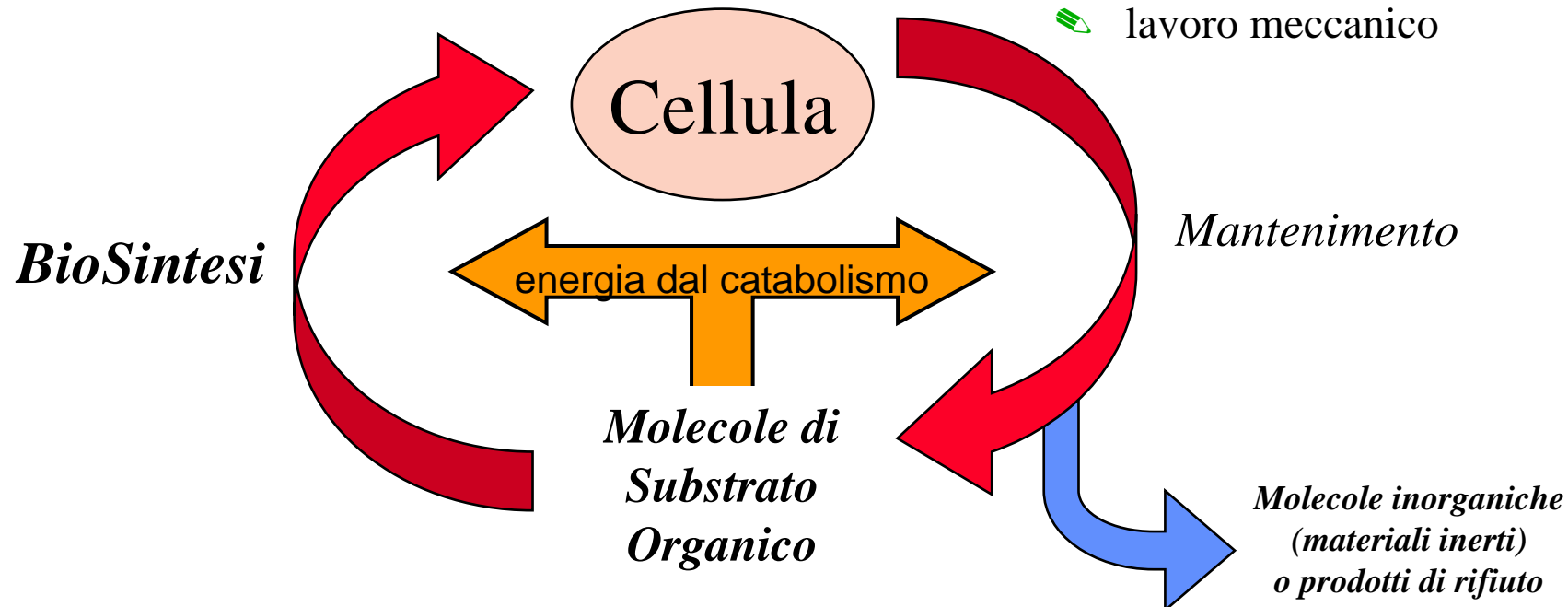
# Fabbisogno energetico della cellule eterotrofe

## 👉 Energia per **BIOSINTESI**

- ⇒ Produzione di nuovo materiale cellulare (**Crescita**)
- ⇒ I processi di crescita (**Anabolici**) sono resi possibili dalla disponibilità di energia chimica liberata dalle reazioni **Cataboliche**

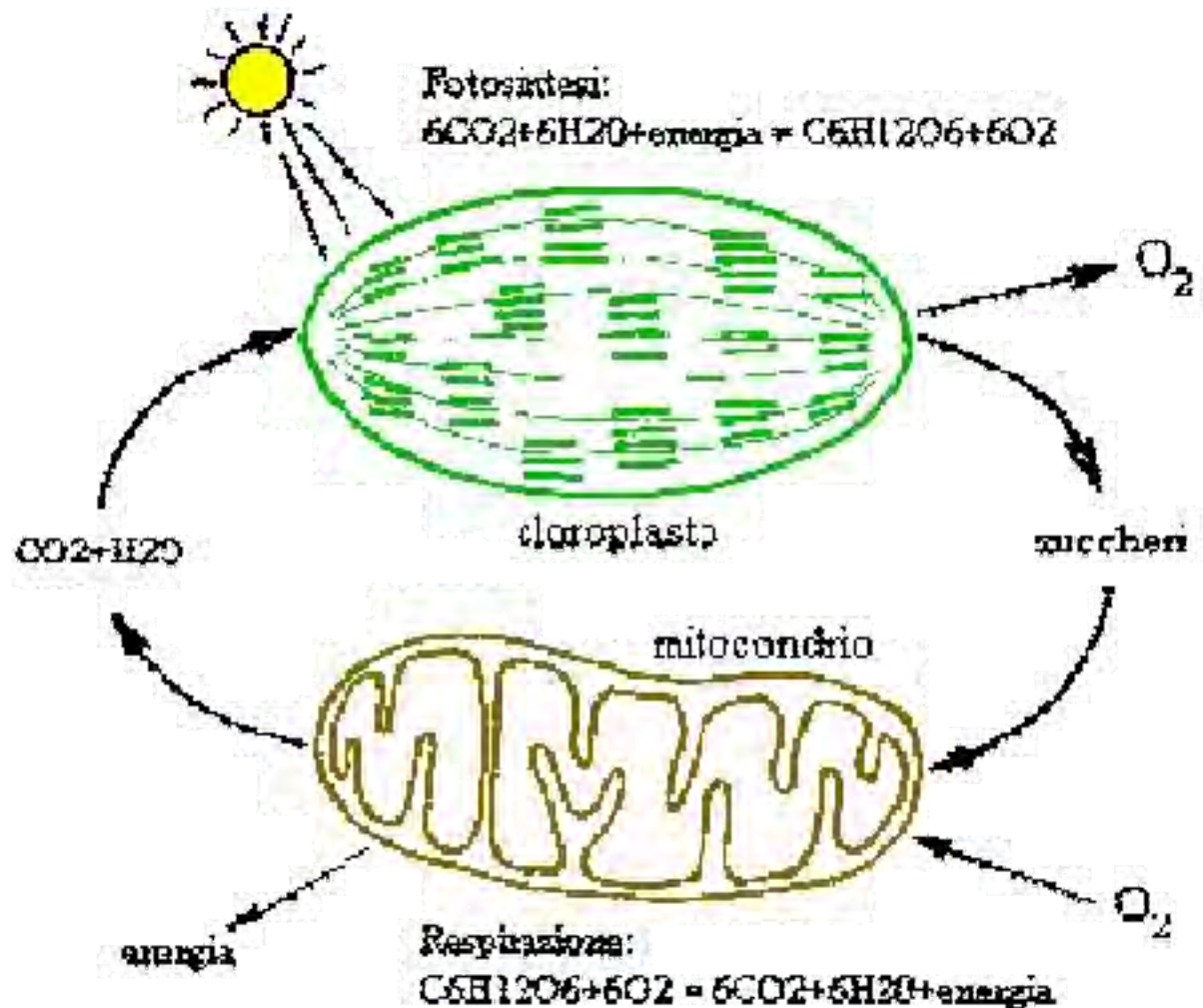
## Energia per **MANTENIMENTO**

- ⇒ Processi necessari alla sopravvivenza della cellula anche in assenza di crescita
  - ✍ Trasporto attraverso la membrana (contro gradienti di concentrazione) di nutrienti e prodotti di rifiuto
  - ✍ motilità cellulare
  - ✍ lavoro meccanico



# Accoppiamento Sintesi/Respirazione nelle piante

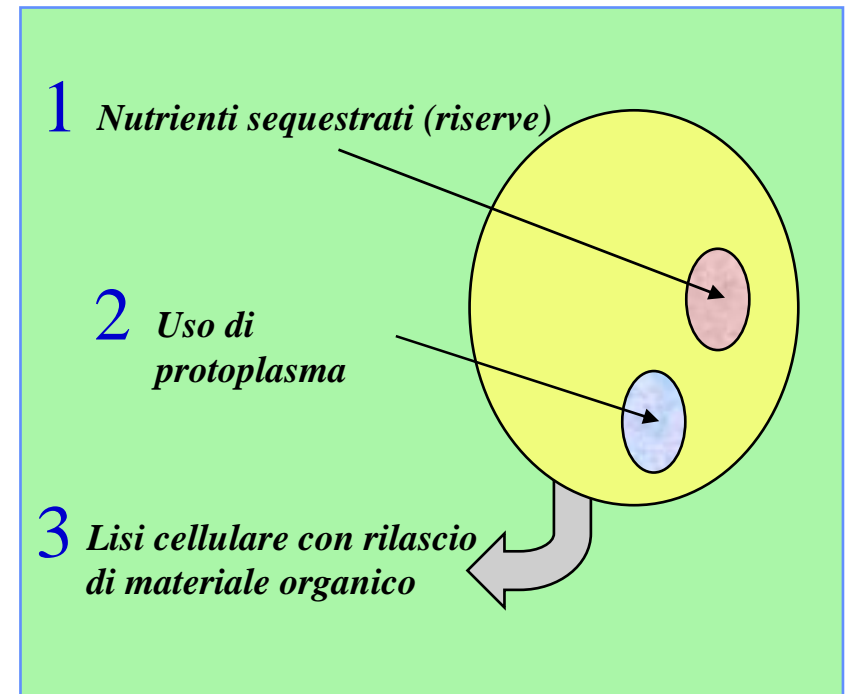
- ➔ Nella fotosintesi l'energia luminosa del sole viene accumulata dai cloroplasti in molecole organiche (glucosio)
- ➔ Con la respirazione (glicolisi), che avviene nei mitocondri, l'energia viene liberata e fornita alla cellula per i suoi processi biochimici.



# Metabolismo endogeno

- ☞ Insieme di processi metabolici che *non producono* crescita della biomassa
- ☞ Tali processi richiedono comunque energia
- ☞ Quale è la fonte di questa energia? Nell'ordine:

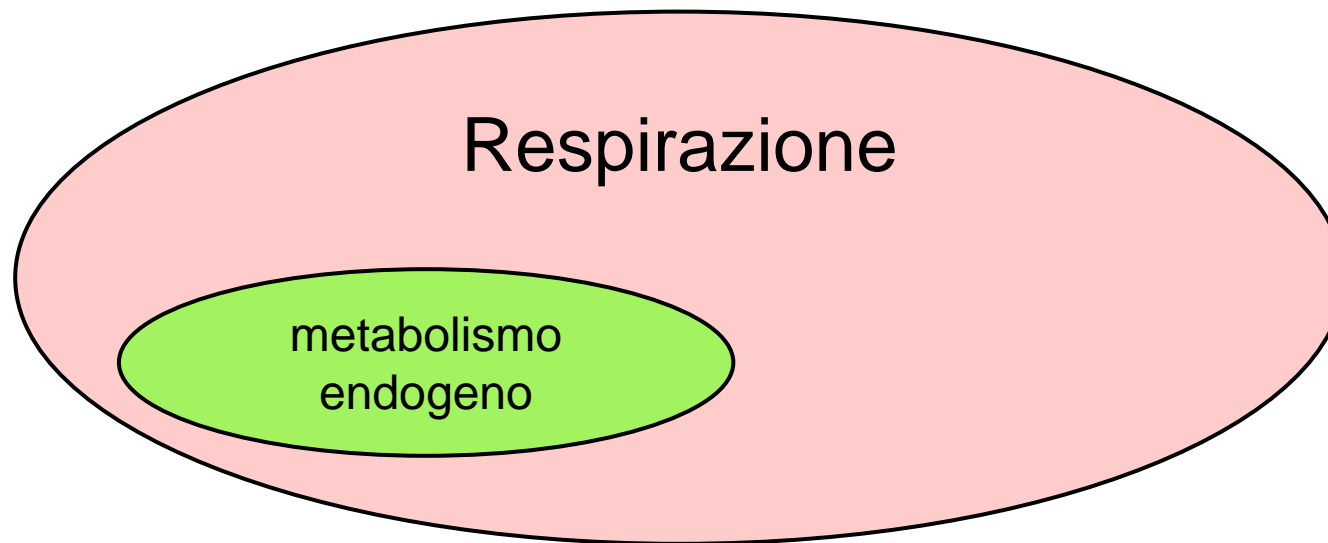
- 1. Utilizzo di substrato interno**  
precedentemente immagazzinato (sequestrato) all'interno della cellula;
- 2. Utilizzo di protoplasma cellulare:**  
questo a lungo termine porta alla morte della cellula;
- 3. Lisi cellulare**, con rottura della membrana e rilascio di materiale organico che può essere utilizzato come substrato da altre cellule.



# Respirazione e metabolismo endogeno

---

- ☞ Attenzione a non confondere *respirazione* e *metabolismo endogeno*. Si tratta in ogni caso di reazioni cataboliche, ma:
- ☞ La *respirazione* è l'insieme delle reazioni cataboliche con produzione di energia per la *crescita* ed il *mantenimento*
- ☞ Il *metabolismo endogeno* è l'insieme delle reazioni di mantenimento cellulare, esclusa la crescita



# Energia nei processi microbiologici

---

- ☞ **Catabolismo:** Estrazione di energia da molecole organiche biodegradabili
- ☞ **Anabolismo:** Crescita di biomassa grazie all'energia prodotta dal Catabolismo
- ☞ Immagazzinamento di energia: **ATP**
- ☞ Trasporto di elettroni: **NAD/FAD**

# Reazione Redox

---

- Passaggio di elettroni dall'agente riducente che cede elettroni all'agente ossidante che acquista elettroni



- La tendenza per una reazione Redox a svolgersi spontaneamente è legata alla variazione di potenziale

$$\Delta E^{\circ} = E^{\circ}_{(A_{ox}/A_{red})} - E^{\circ}_{(B_{ox}/B_{red})}$$

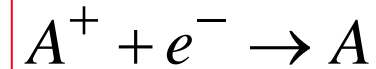
- Le reazioni Redox mettono in gioco una quantità di energia molto maggiore di altre reazioni (idrolisi, ionizzazione, etc.)
- La variazione di energia libera è legata all'equilibrio chimico della reazione da

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq}$$

# Reazioni Redox cellulari

---


**Ossidazione = perdita di e<sup>-</sup>    Riduzione = acquisto di e<sup>-</sup>**

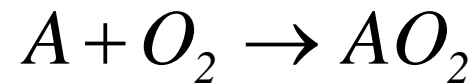



**L'Ossidazione nei sistemi cellulari può avvenire come:**

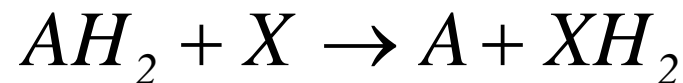
 **Sottrazione di Elettroni:** Privando uno ione di un elettrone, ciò corrisponde di fatto ad ossidarlo



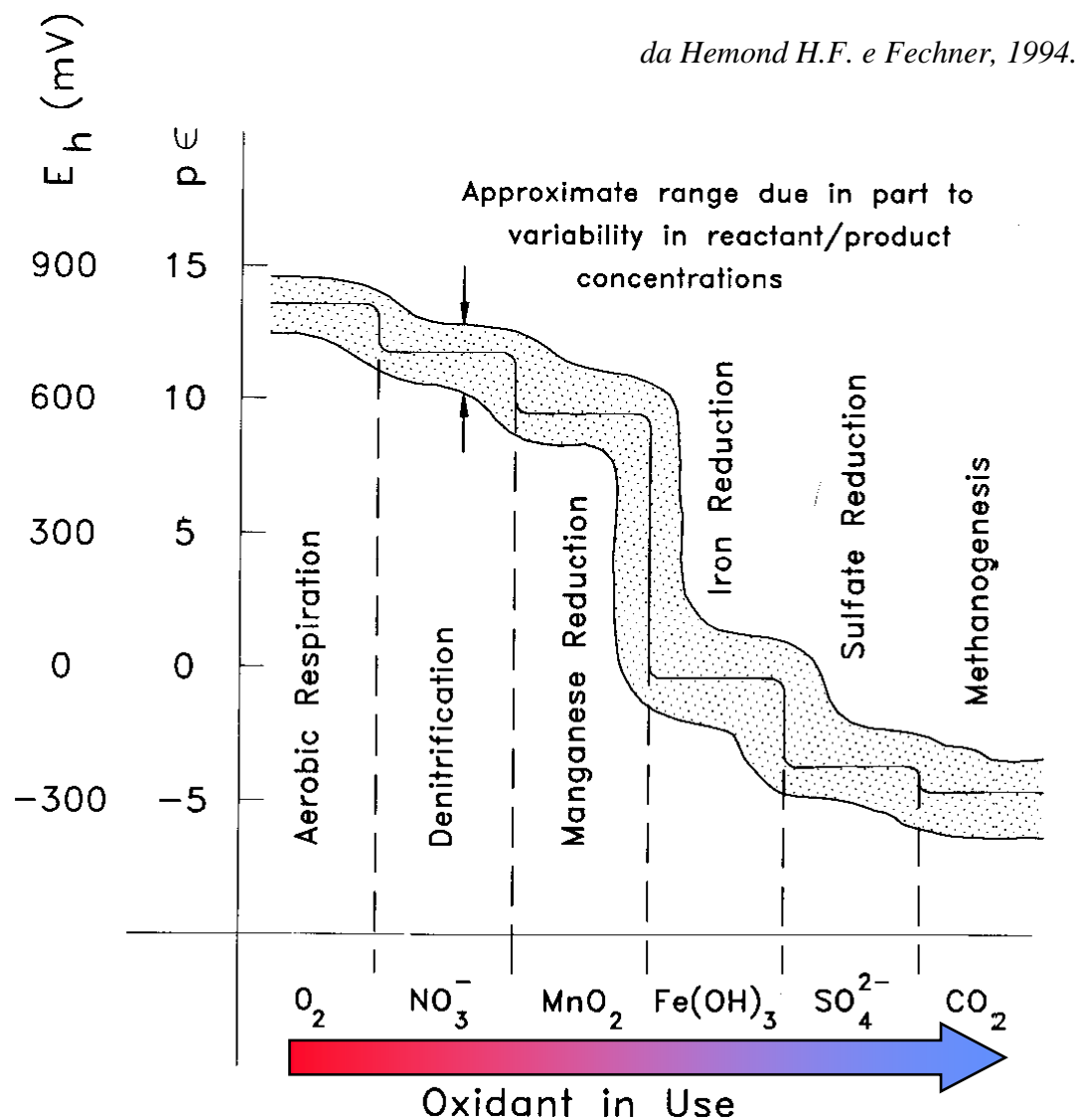
 **Ossigenazione:** aggiunta di una molecola di ossigeno (accettore di elettroni).



 **Deidrogenazione:** Sottrazione di idrogeno, a spese di X, che si riduce. Si ha ossidazione senza che sia presente ossigeno



# La sequenza RedOx nei processi naturali



In un ambiente ricco di sostanze organiche ed isolato dall'atmosfera i batteri, dopo aver consumato tutto l'ossigeno disponibile, utilizzano ossidanti alternativi, nella sequenza mostrata a lato.

Durante l'utilizzo di ciascun ossidante, il potenziale  $E_h$  si trova nei valori indicati.

La fascia indica le possibili variazioni di  $E_h$  dovute alla concentrazione dell'ossidante, considerato all'equilibrio, mentre in natura i sistemi RedOx non sono in equilibrio.

# Ingredienti per il metabolismo cellulare

---

- ☞ La cellula ricava energia per la crescita ed il mantenimento attraverso reazioni di *Ossido-Riduzione* (RedOx)
  
- ☞ Esse hanno bisogno dei seguenti quattro elementi:
  - ⇒ ***Sorgente di Energia***
    - ☞ Fornisce l'energia per le reazioni Anaboliche (Sintesi)
  - ⇒ ***Sorgente di Carbonio***
    - ☞ Viene convertito in materiale cellulare (protoplasma)
  - ⇒ ***Donatore di Elettroni***
    - ☞ Alimenta la semireazione di ossidazione
  - ⇒ ***Accettore di Elettroni***
    - ☞ Alimenta la semireazione di riduzione

# Sorgente di Energia

---

☞ Esistono due sorgenti di energia possibili:

⇒ **Energia solare**

⇒ **Energia chimica (di legame)**

☞ I microorganismi che usano l'energia solare sono detti *fototrofi* e sfruttando una fonte esterna di energia, non sono accoppiati ad alcuna reazione dissimilativa (catabolica) interna per la produzione di energia.

☞ I microorganismi *chemiotrofi* basano il loro rifornimento di energia su reazioni cataboliche, a cui sono accoppiate le reazioni di biosintesi (anaboliche).

☞ Devono perciò possedere i vari meccanismi in grado di trasportare elettroni dal donatore all'accettore finale.

# Sorgente di Carbonio

---

☞ Il Carbonio utilizzato può essere:

⇒ **Carbonio Inorganico**

(CO<sub>2</sub> atmosferica o disciolta nell'acqua)

⇒ **Carbonio Organico**

☞ Nel primo caso si ha a che fare con microorganismi **autotrofi** in quanto sintetizzano biomassa (materia organica ~  $nCH_2O$ ) a partire da sostanze **inorganiche**

☞ Nel secondo caso si hanno microorganismi **eterotrofi**, in quanto la biosintesi si basa su composti **organici**

☞ **In questo caso la sorgente di energia coincide con la sorgente di carbonio (organico)**

# Forme di carbonio

---

## **Carbonio inorganico**

- ⇒ *Nella molecola c'è un solo atomo di Carbonio*
- ⇒ Carbonio in forma ossidata
- ⇒ La disponibilità di C. inorganico è legato all'equilibrio dei carbonati
- ⇒ Fase gassosa  $CO_{2(g)}$



- ⇒ Fase liquida  $CO_{2(aq)} \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow H^+ + HCO_3^- \leftrightarrow 2H^+ + CO_3^{2-}$

## **Carbonio organico**

- ⇒ *Ogni atomo di Carbonio è legato ad altri atomi di Carbonio*
- ⇒ Unica eccezione: Metano ( $CH_4$ ) - unico atomo di C
- ⇒ Carbonio in forma ridotta
- ⇒ Composti in grado di fornire energia per ossidazione
- ⇒ Es. Carboidrati, Acidi grassi, Proteine, etc.....

# Scambio di elettroni

---


## Donatore di elettroni:

- ⇒ Se la sorgente di elettroni è inorganica, gli organismi si dicono *litotrofi*,
- ⇒ Se è organica, si dicono *organotrofi*.

 In ogni caso, per gli organismi chemioautotrofi il donatore di elettroni coincide con la sorgente di energia.

 Gli elettroni ceduti dalla fonte di energia servono a due scopi:

- ⇒ completare la reazione Redox per la generazione di energia;
- ⇒ ridurre la sorgente di carbonio nelle reazioni di biosintesi se il suo livello di ossidazione è superiore a quello dei costituenti cellulari

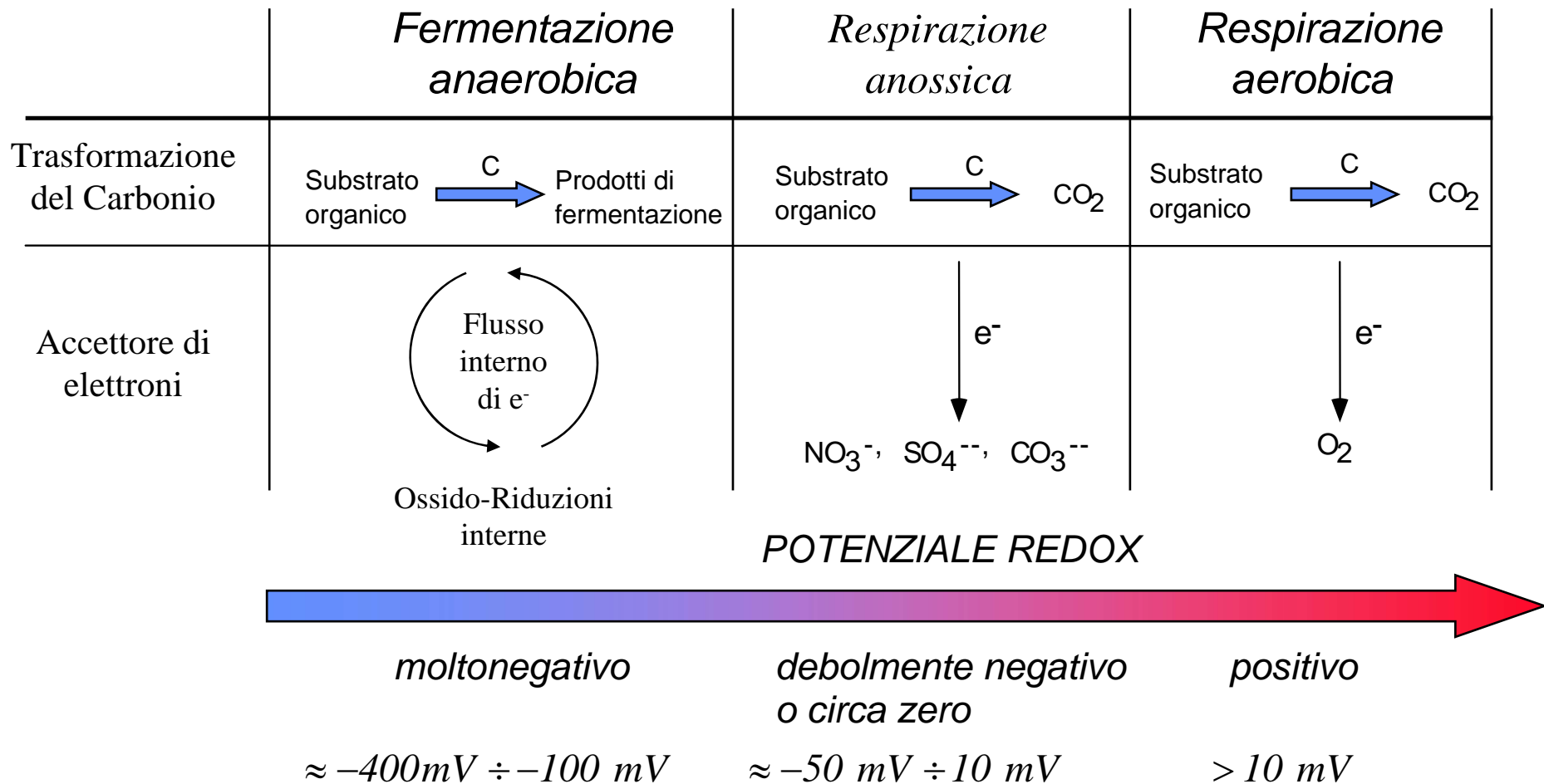
 **Accettore di elettroni:** è necessario per la semireazione di riduzione delle reazioni cataboliche, perciò è necessario solamente per gli organismi chemiotrofi.

# Costituenti del metabolismo cellulare

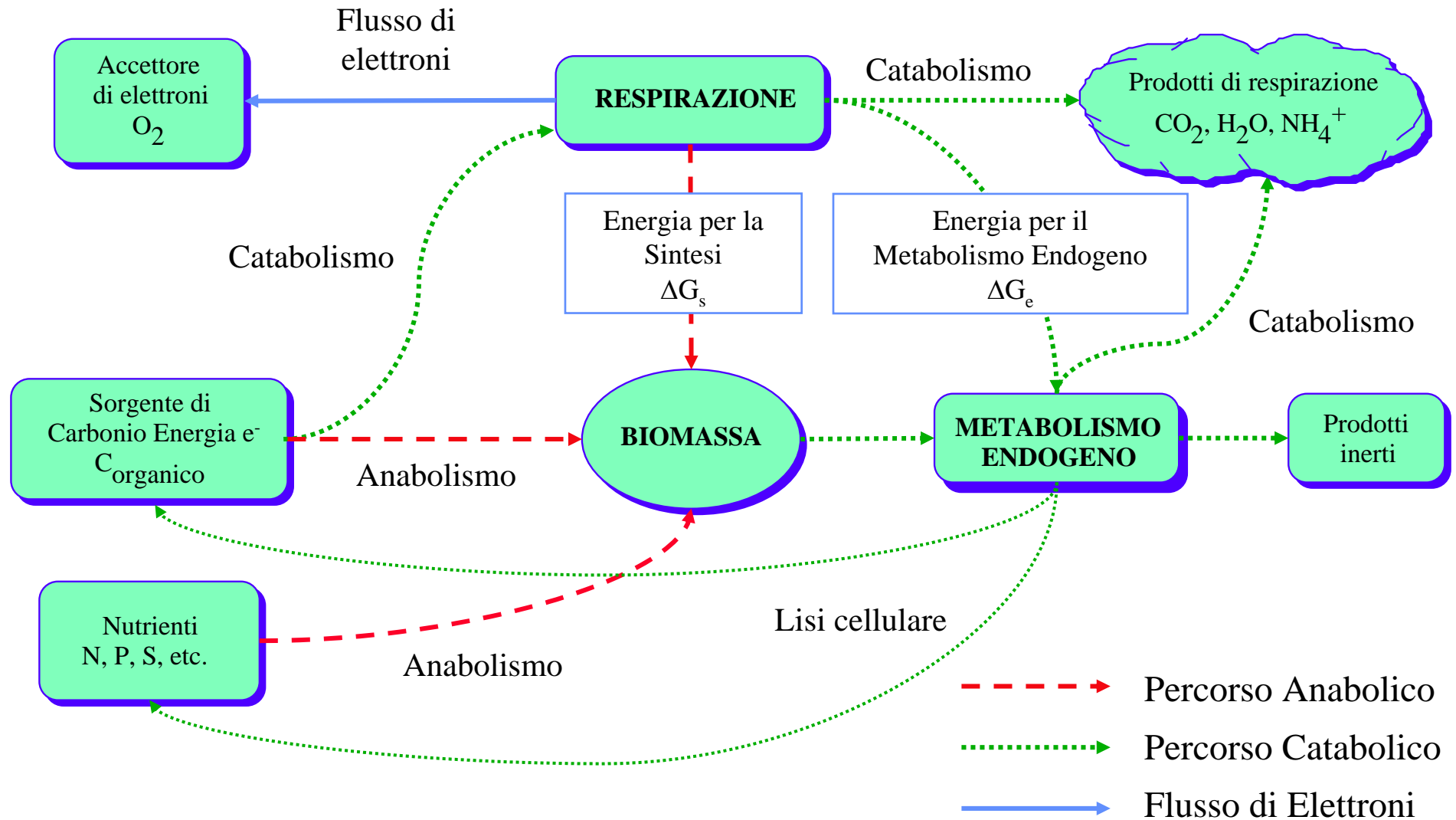
Sorgente di Energia	Micro organismi	Sorgente di Carbonio	Donatore di elettroni	Accettore di elettroni	Processo
<b>Energia Solare</b> <i>Per i fotoautotrofi manca lo stadio di riduzione</i>	Fotoautotrofi	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S	Non necessario perché manca lo stadio riducente	Fotosintesi batterica anaerobica
			H <sub>2</sub> O		Fotosintesi batterica aerobica
			H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	Fotosintesi algale
<b>Energia Chimica</b> <i>Per i chemioautotrofi la sorgente di energia ed il donatore di elettroni coincidono</i>	Chemioautotrofi	CO <sub>2</sub>	Composti inorganici H <sub>2</sub> , Fe <sup>++</sup> , S <sup>--</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	O <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Ossidazione + Assimilazione  Es. Nitrificazione
	Chemioeterotrofi	C - organico	C - organico	O <sub>2</sub>	Respirazione aerobica
				NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Respirazione anossica
C - organico	C - organico	C - organico	C - organico	Fermentazione anaerobica	

# Scambio elettronico nei vari metabolismi eterotrofi

Il tipo di trasformazione che il Carbonio organico subisce dipende dai livelli energetici disponibili, che sono tipici di ciascun metabolismo.



# Utilizzo di energia nei microorganismi eterotrofi



# Trasferimento di energia negli eterotrofi

---

- ☞ L'energia chimica necessaria per la cellula (*sintesi* + *mantenimento*) è ricavata da reazioni cataboliche;
- ☞ Queste producono energia ad un rateo maggiore di quanto la cellula può utilizzare;
- ☞ C'è la necessità di immagazzinare l'energia prodotta e rilasciarla ad un rateo “accettabile” dalla cellula;
- ☞ L'immagazzinamento temporaneo dell'energia avviene nella molecola di **ATP** (Adenosina Tri Fosfato);
- ☞ Il trasporto di elettroni nelle reazioni Redox è mediato da trasportatori (**NAD** e **FAD**) che variano gradualmente il livello di potenziale richiesto.

# Energia del metabolismo microbologico

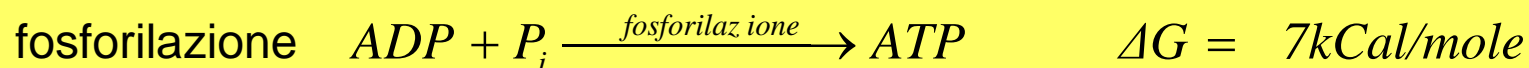
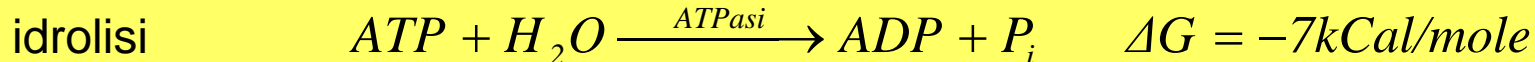
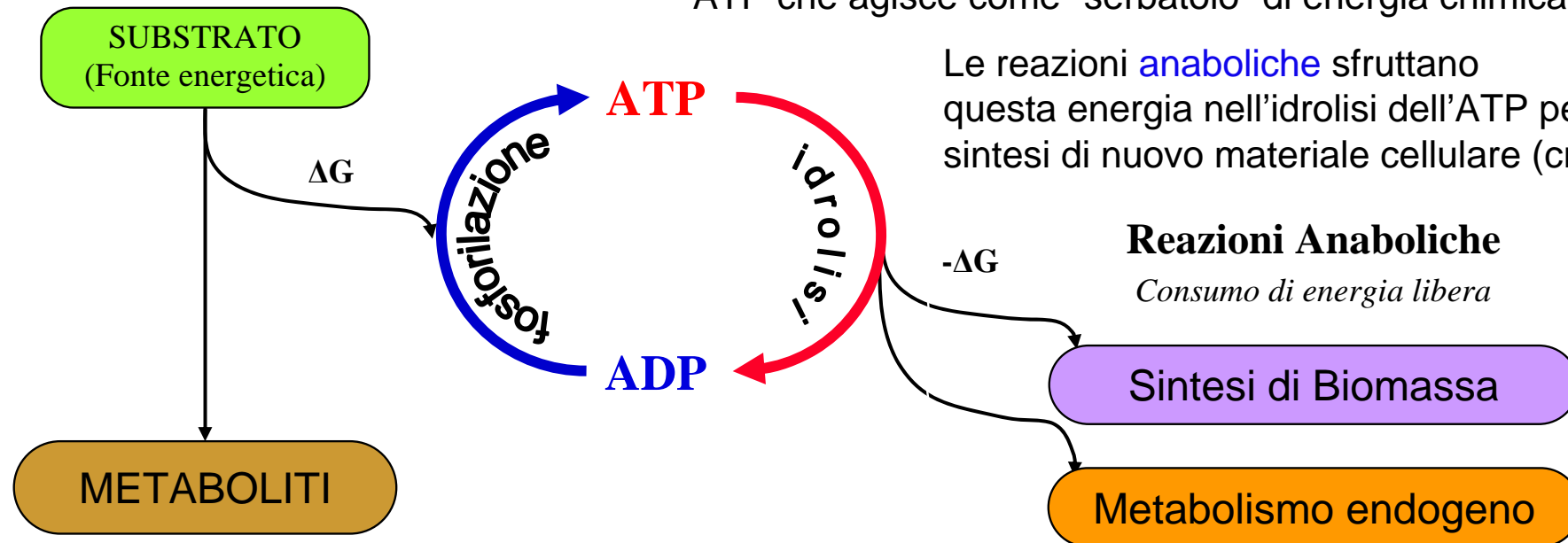
Ad ogni reazione che *consuma* energia è accoppiata una reazione che *produce* energia

## Reazioni Cataboliche

*Generazione di energia libera*

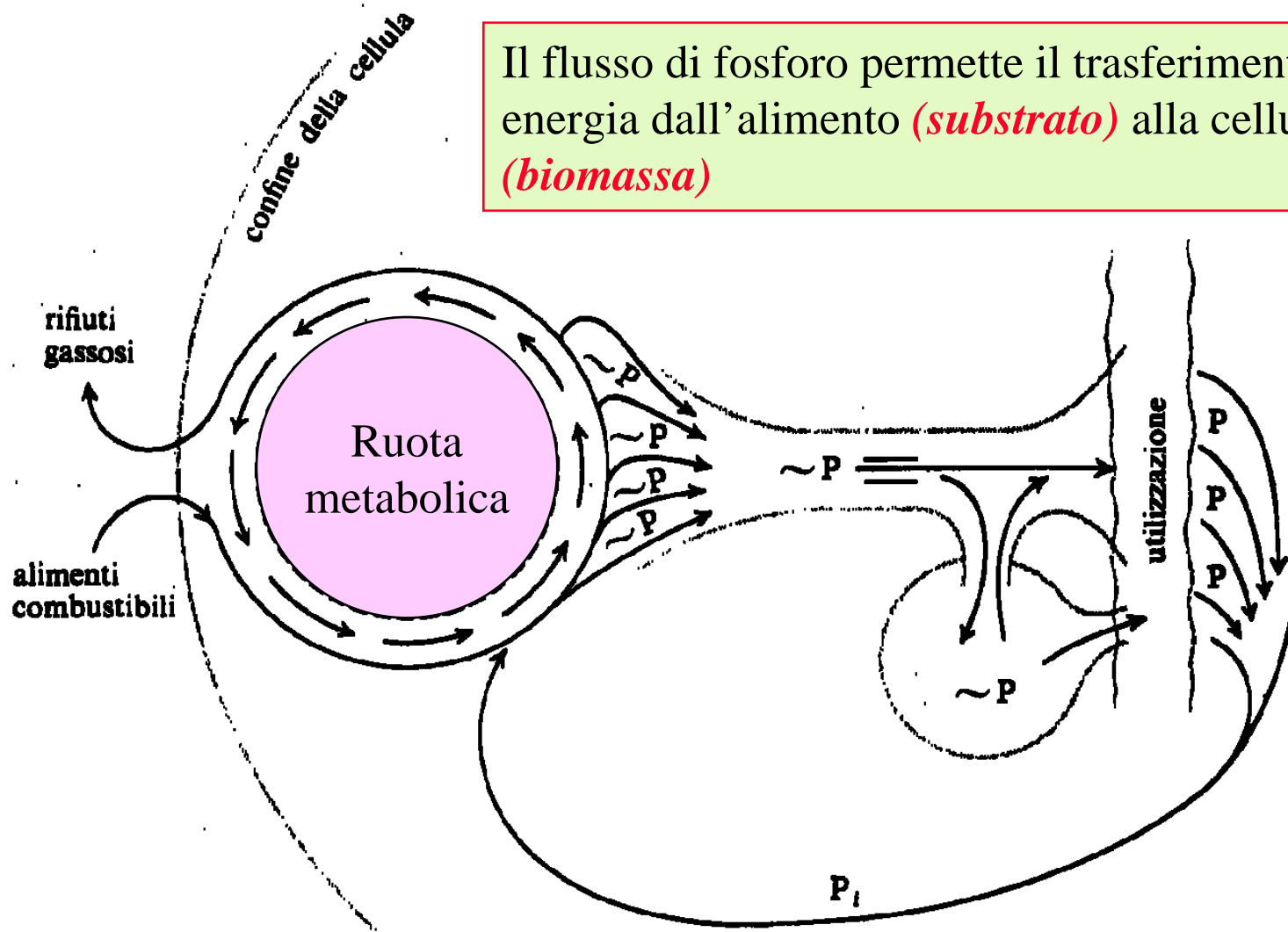
L'energia necessaria alla biosintesi è prodotta dalle reazioni **cataboliche** ed immagazzinata nelle molecole di ATP che agisce come "serbatoio" di energia chimica.

Le reazioni **anaboliche** sfruttano questa energia nell'idrolisi dell'ATP per la sintesi di nuovo materiale cellulare (crescita)

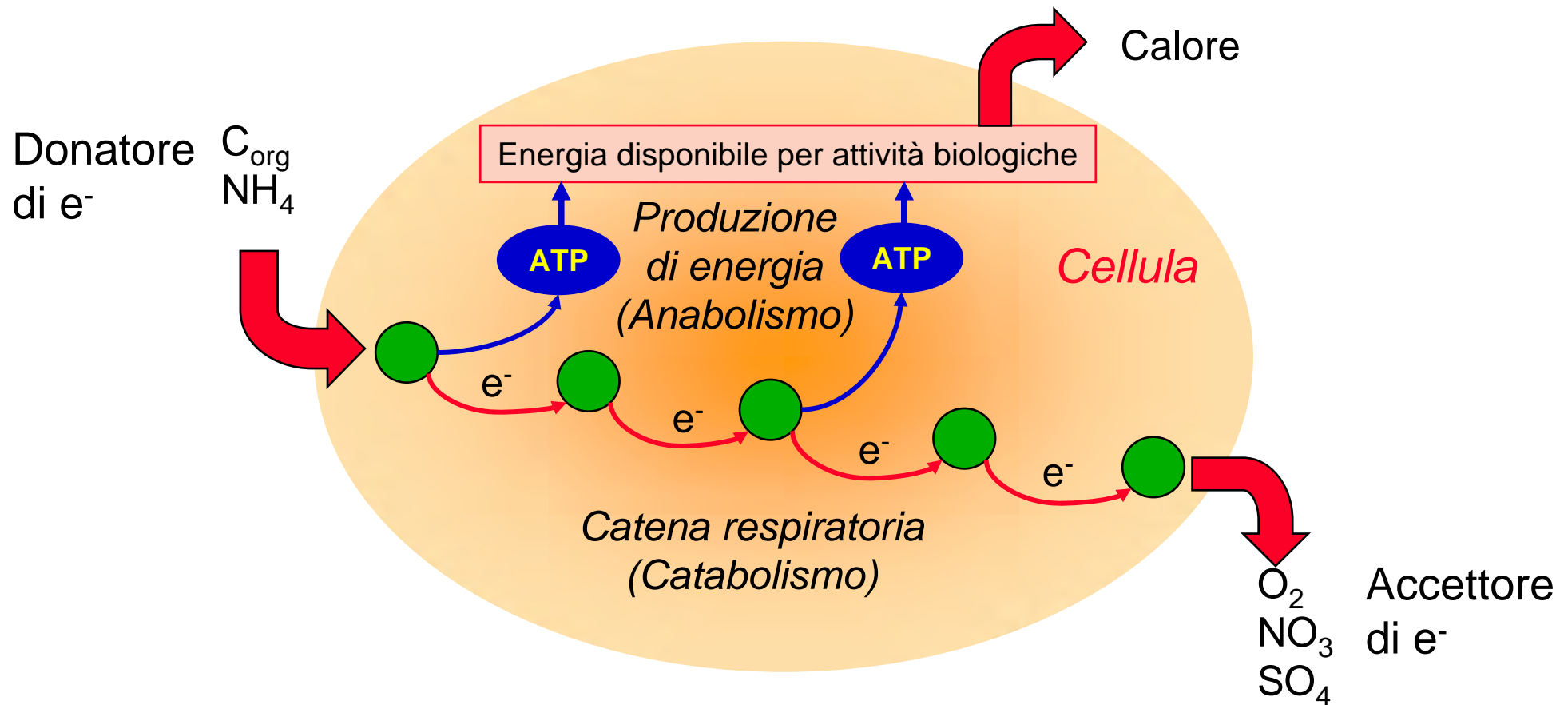


# Ciclo energetico nella cellula

Il flusso di fosforo permette il trasferimento di energia dall'alimento (*substrato*) alla cellula (*biomassa*)



# Produzione di bio-energia nella catena respiratoria

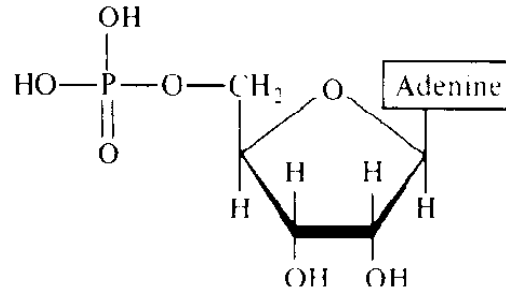


La catena respiratoria consiste in una serie di reazioni RedOx con trasporto di elettroni dal substrato all'acceptore finale.

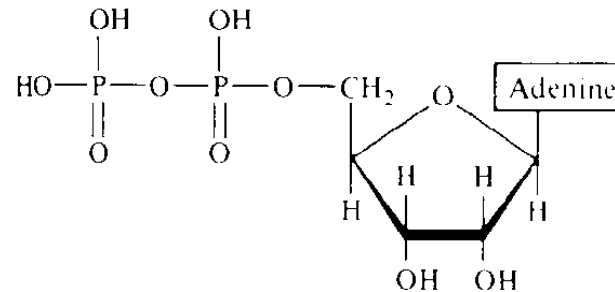
Lungo il percorso di reazione vengono generate varie molecole di ATP che costituiscono la riserva di energia *biologicamente disponibile*

# Struttura dei nucleotidi AMP, ADP, ATP

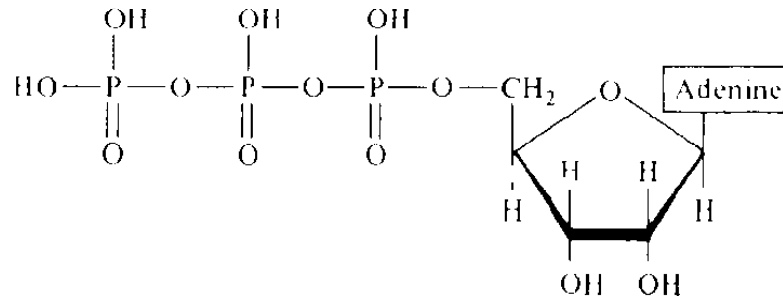
Adenosina  
MonoFosfato  
(AMP)



Adenosina  
DiFosfato  
(ADP)



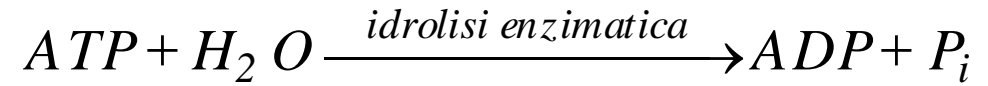
Adenosina  
TriFosfato  
(ATP)



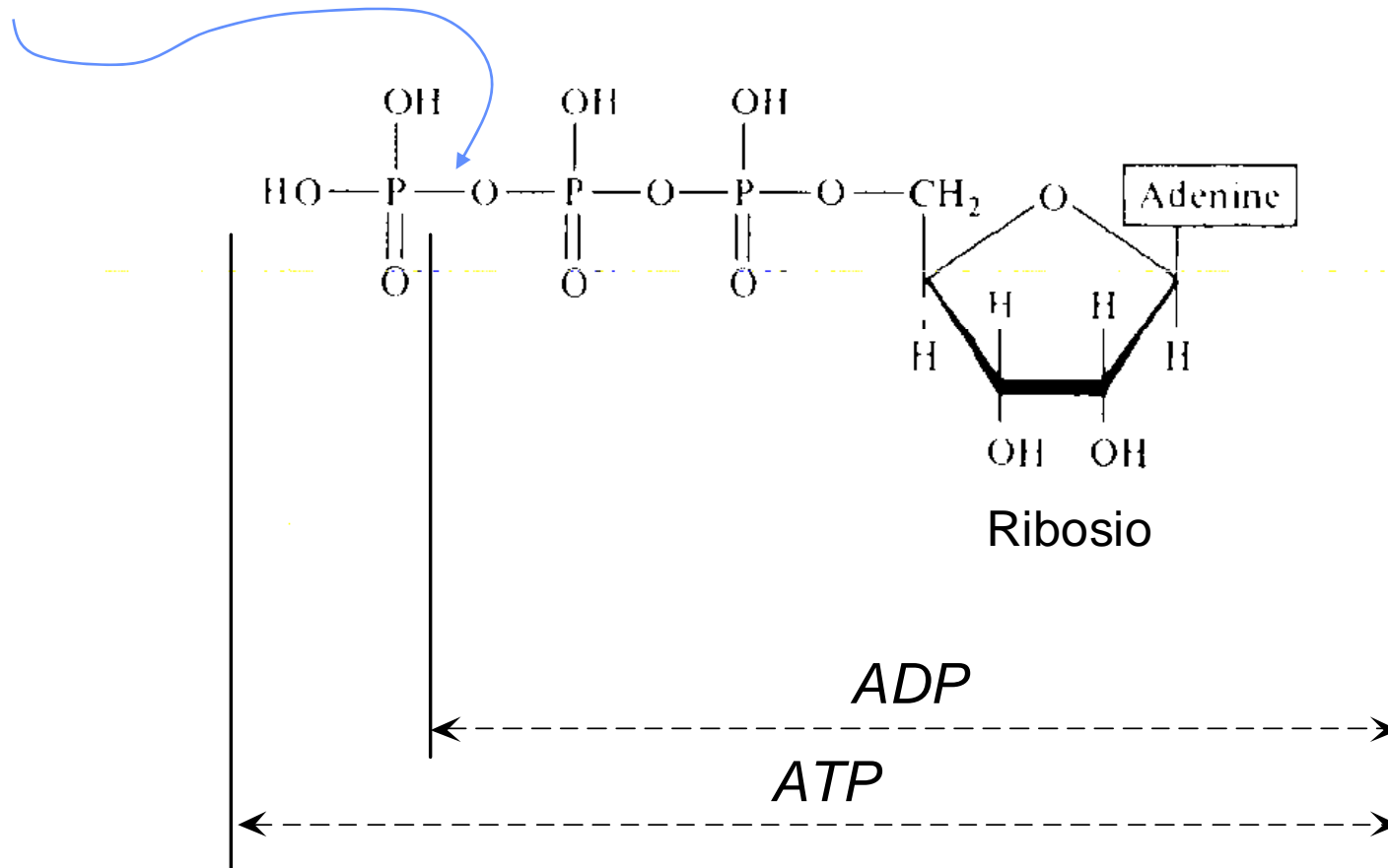
Energia Crescente

La differenza  
energetica  
dipende dal  
numero dei  
gruppi fosforici  
associati al  
gruppo Ribosio

# Idrolisi dell'ATP



*Rottura di un legame fosforico  
con conseguente liberazione di energia*



# Formazione di ATP

---

- ☞ Le reazioni che riforniscono la cellula di ATP sono dette cataboliche, in quanto producono energia utilizzabile a scapito di sostanze chimiche (substrati).
- ☞ La funzione biochimica di ATP è quella di trasportatore di fosfato (legame ricco di energia), perciò il meccanismo di generazione è detto *fosforilazione*.
- ☞ ATP viene formato da una serie di reazioni enzimatiche, che costituiscono un cammino *catabolico*.
- ☞ Esistono tre meccanismi di formazione di ATP
  - ⇒ Fosforilazione a livello di Substrato
  - ⇒ Fosforilazione Ossidativa
  - ⇒ Foto Fosforilazione

# Fosforilazione a livello di Substrato

---

- ☞ Comune a tutti gli organismi eterotrofi
- ☞ Per gli organismi anaerobici è il solo processo di formazione di ATP:
  - ⇒ Es: glicolisi mediante il Ciclo di Embden-Meyerhof-Parnas (EMP).
- ☞ Questo contributo è modesto per gli organismi aerobici

<i>Sorgente di energia</i>	<i>Metabolismo</i>	<i>Accettore di elettroni</i>
Chimica	Fermentazione	Composti organici

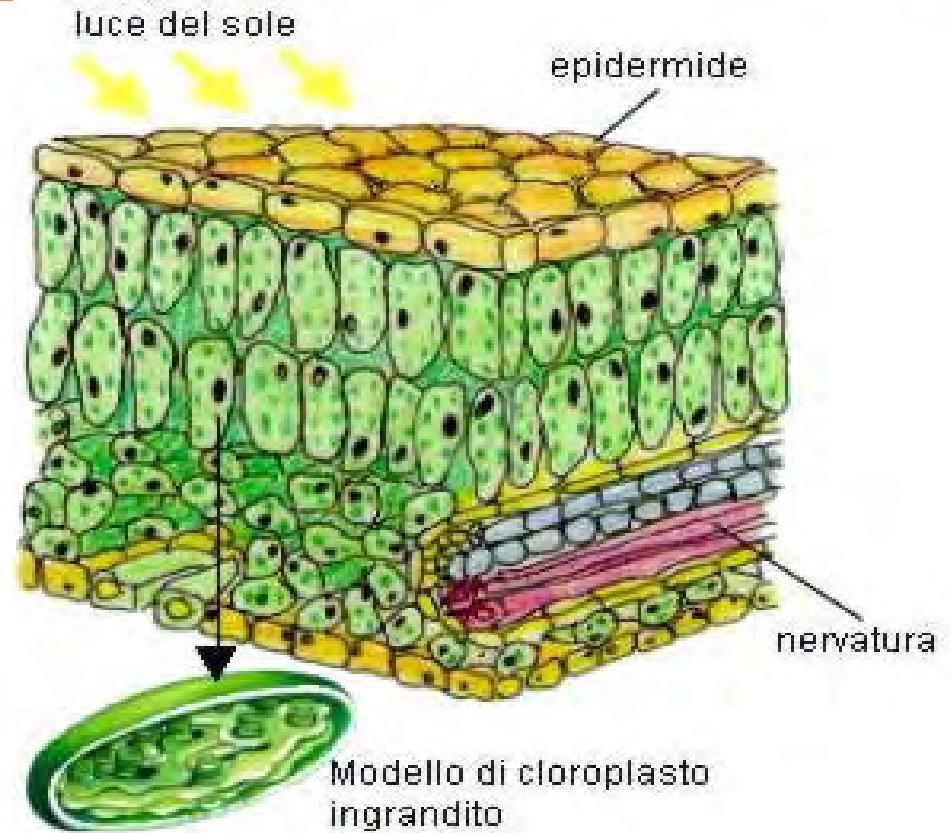
# Fosforilazione Ossidativa

- ☞ Produce molta più energia del precedente EMP, attraverso il ciclo dell'Acido Tricarbossilico (TCA).
- ☞ Include la fosforilazione a livello di substrato come contributo minore.
- ☞ Il livello di energia prodotto dipende dall'accettore finale di elettroni utilizzato nella catena respiratoria.

<i>Sorgente di energia</i>	<i>Metabolismo</i>	<i>Accettore di elettroni</i>
Chimica	Respirazione aerobica	$O_2 \rightarrow H_2O$
	Respirazione anossica	$NO_3^-$
<i>Esempi</i>	Riduzione di Nitrato	$NO_3^- \rightarrow N_2$
	Riduzione di Solfato	$SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$
	Riduzione di Carbonato	$CO_3^{2-} \rightarrow CH_4$

# Foto Fosforilazione

- ☞ E' limitata al processo di fotosintesi
- ☞ E' simile alla fosforilazione ossidativa nel senso che la generazione di ATP è accoppiata al trasferimento di elettroni
- ☞ La luce solare fornisce l'energia necessaria alla fosforilazione



<i>Sorgente di energia</i>	<i>Metabolismo</i>	<i>Accettore di elettroni</i>
Luce solare	Fotosintesi	$CO_2$
$ADP + P_i \xrightarrow{\text{luce solare}} ATP$		



# Catena Respiratoria

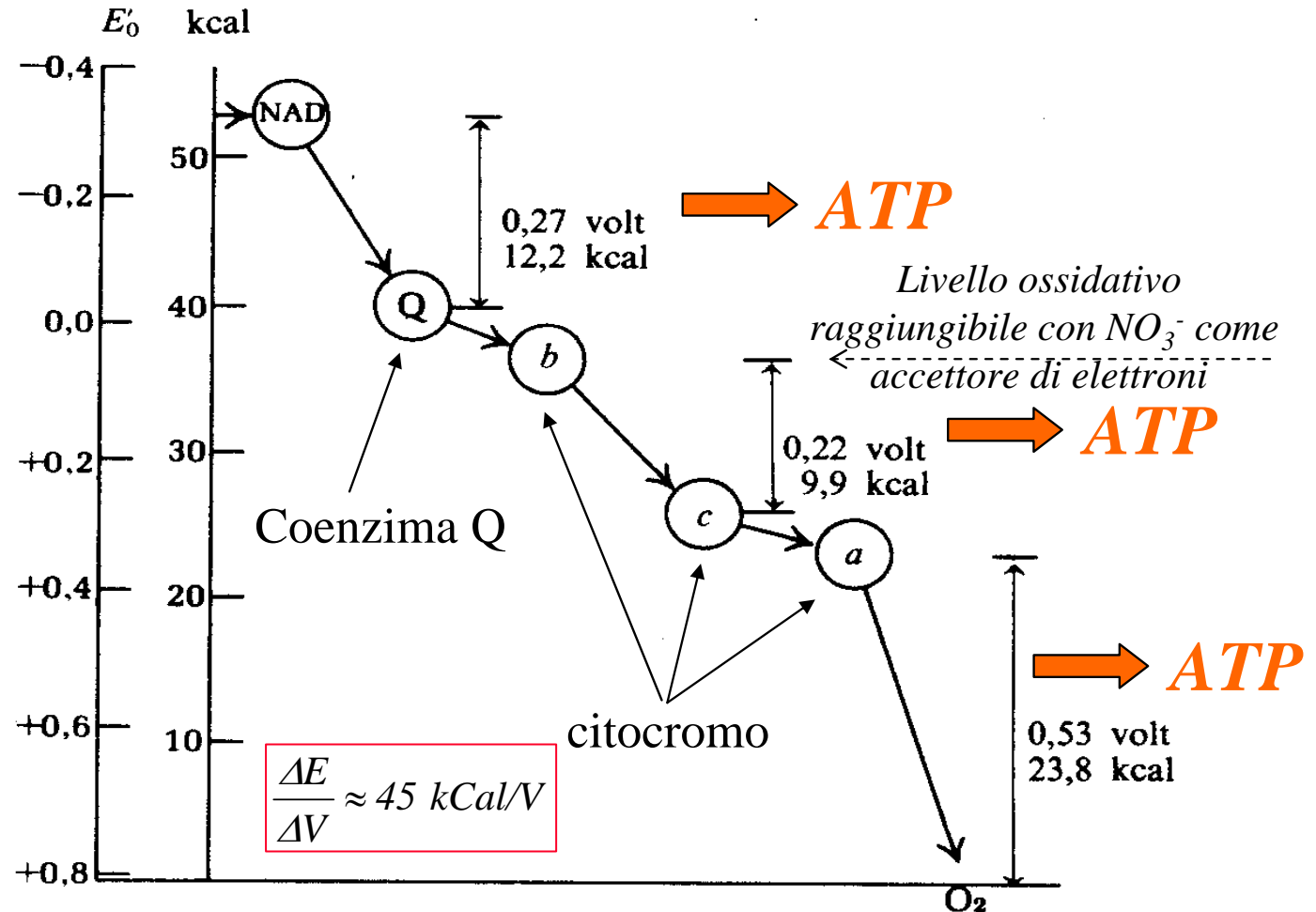
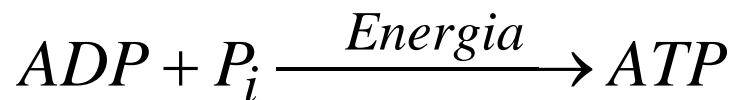
---

- ☞ La Catena Respiratoria è il percorso finale dopo i cicli EMP e/o TCA attraverso il quale gli elettroni rilasciati dalla sorgente di energia (*donatore*) raggiungono l'accettore finale
- ☞ Le molecole di **NAD** e **FAD** sono i primi donatori di elettroni della catena
- ☞ Gli elettroni sono trasmessi attraverso una serie di trasportatori enzimatici interni alla cellula (*quinone e citocromi: cyt b, cyt c, cyt a*)
- ☞ Il rilascio graduale dell'energia genera ATP e ne permette così l'utilizzo nelle reazioni **anaboliche**.

# Variazione di energia nella catena respiratoria

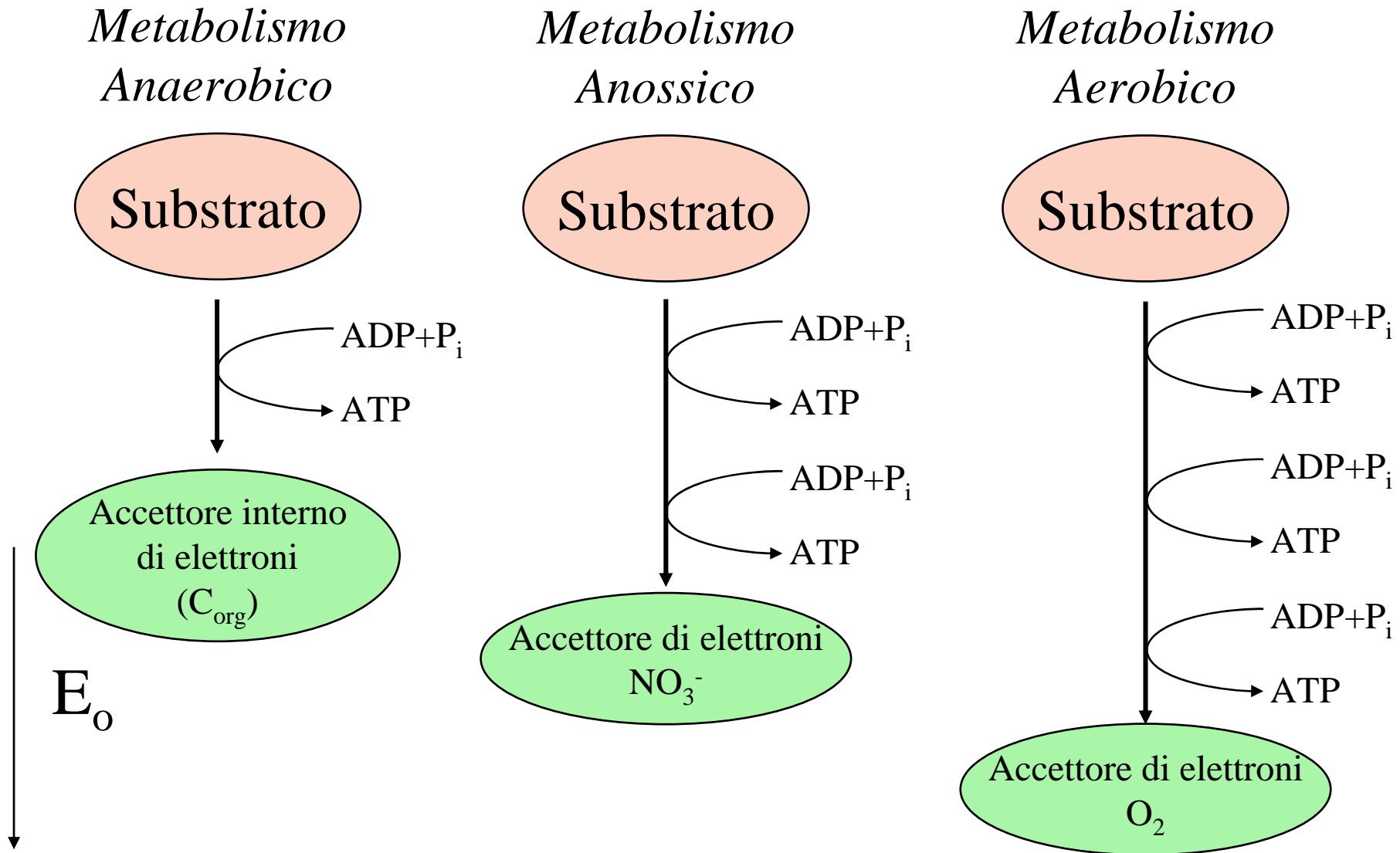
Declino dell'energia degli elettroni lungo il passaggio attraverso la catena respiratoria.

Ciascuno dei tre "salti" indicati fornisce energia sufficiente alla fosforilazione di una molecola di ATP





# Livelli energetici e produzione di ATP



# Fattore di resa e quota di respirazione

---

☞ Il concetto di resa è uno dei più importanti nella modellistica e nel bilancio energetico delle reazioni biochimiche

☞ Permette di valutare correttamente

⇒ la generazione di biomassa (crescita)

⇒ Il consumo di ossigeno

☞ Nel **metabolismo eterotrofo** il fattore di resa definisce la quantità di biomassa formata per unità di sostanza organica rimossa

$$Y = \frac{\text{Biomassa prodotta}}{\text{Substrato consumato}}$$

☞ La quota di respirazione è il quoziente fra CO<sub>2</sub> prodotta e ossigeno consumato



$$RQ = \frac{\Delta CO_2}{\Delta O_2}$$

# Caratterizzazione del materiale a base carboniosa




---

*Il substrato è caratterizzabile indirettamente attraverso il suo equivalente in ossigeno o in carbonio  $\Rightarrow$  contenuto energetico*




## **BOD** (Biochemical Oxygen Demand) (mg O<sub>2</sub>/l)

-  Quantità di O<sub>2</sub> necessaria per ossidare *biologicamente* il substrato
-  Riflette perfettamente i meccanismi naturali di biodegradazione

## **COD** (Chemical Oxygen Demand) (mg O<sub>2</sub>/l)

-  Quantità di O<sub>2</sub> necessaria per ossidare *chimicamente* il substrato
-  Permette di ricavare “l’equivalente in Ossigeno” dei vari composti organici, *unificando la rappresentazione di substrati e biomasse*
-  Rende conto dello scambio di elettroni nelle reazioni di ossido-riduzione fra substrato e biomassa

## **TOC** (Total Organic Carbon) (mg C/l)

-  Misura totale di Carbonio organico
-  Non indica lo stato di ossidazione delle varie componenti carboniose
-  Non permette di ricavare “l’equivalente in Ossigeno”

# BOD

---

☞ **Biochemical Oxygen Demand:** misura l'ossigeno consumato da batteri (*inoculo*) per ossidare la sostanza organica.

☞ Due metodi

- ⇒ manometrico ( $O_2$  costante)
- ⇒ a depressione (consumo di  $O_2$ )

☞ Pregi:

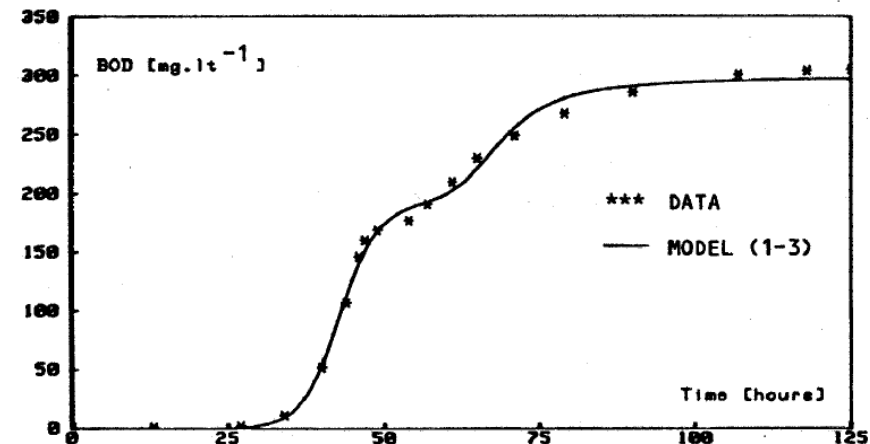
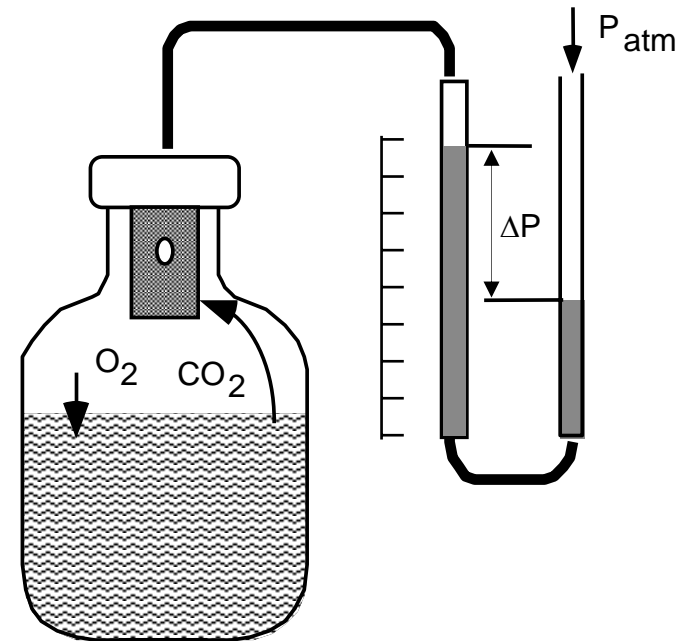
- ⇒ Riproduce esattamente la biodegradazione naturale

☞ Difetti:

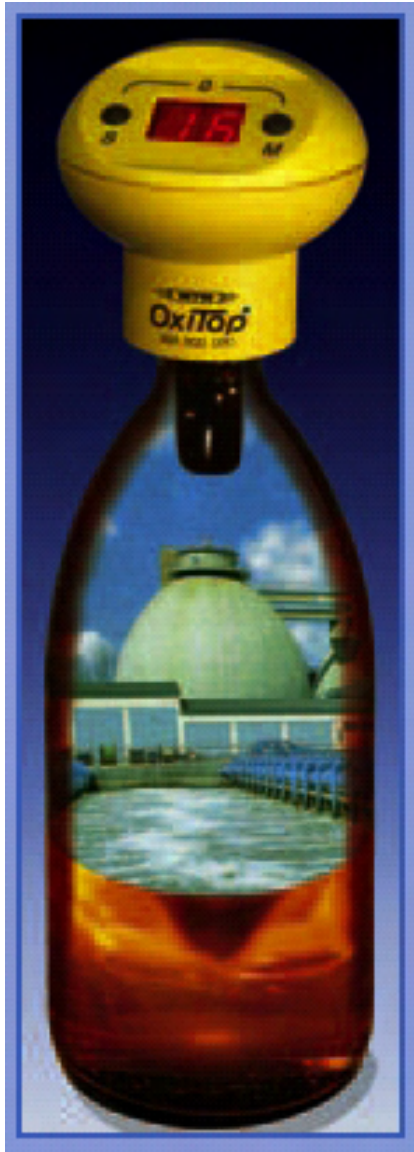
- ⇒ Diluizione del campione
- ⇒ Incertezza nell'inoculo
- ⇒ Consumo di Ossigeno dovuto alla nitrificazione
- ⇒ E' necessario un tempo considerevole (5 giorni =  $BOD_5$ )
- ⇒ Scarsa riproducibilità

# Misura a depressione del BOD

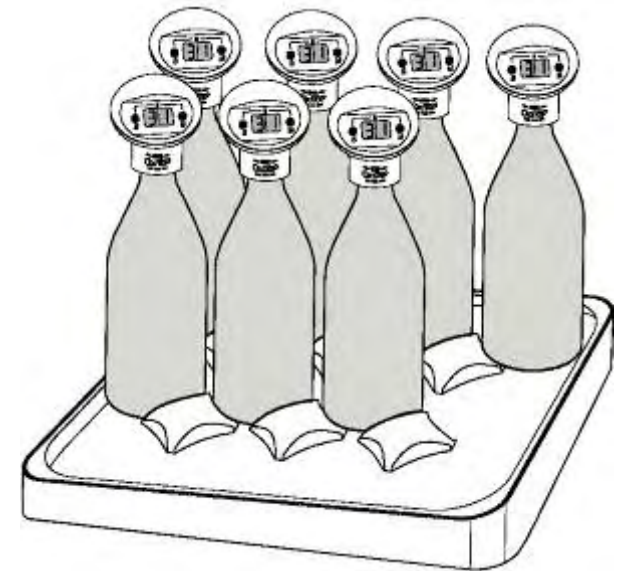
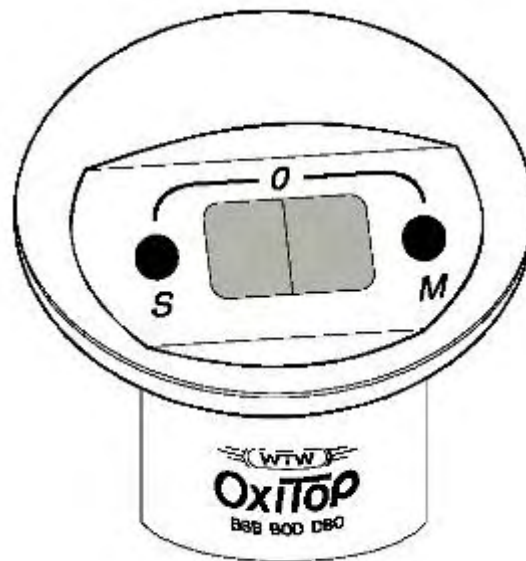
- ☞ Si misura l'ossigeno consumato dal metabolismo batterico
- ☞ Mentre l'ossigeno viene sottratto dallo spazio di testa nella bottiglia, al suo posto viene rilasciata  $\text{CO}_2$  come prodotto di respirazione
- ☞ Questa viene assorbita dal reagente presente nel tappo  $\text{K}(\text{OH})_2$
- ☞ Perciò si ha una depressione nello spazio di testa della bottiglia, che viene misurata dal manometro
- ☞ La durata convenzionale è di 5 giorni  $\rightarrow \text{BOD}_5$



## OxiTop per la misura del BOD



- Il tappo contiene il manometro ed il reagente.
- Il display frontale mostra il valore corrente di BOD, che può essere letto da apposito strumento ad infrarossi
- Le bottiglie vengono sistemate in batterie e tenute in ambiente termoregolato a 20°C



# COD

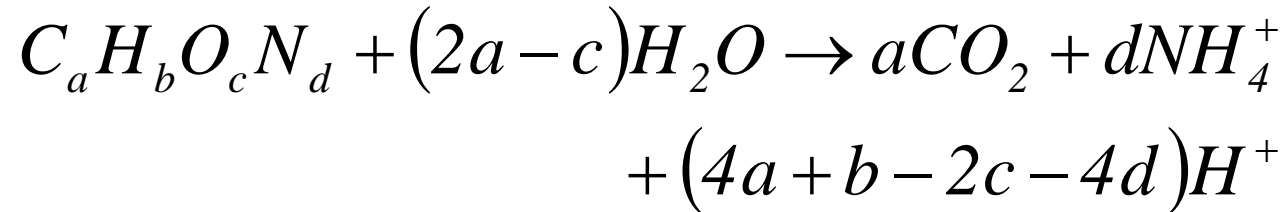
---

- ☞ **Chemical Oxygen Demand:** ossidazione chimica mediante bicromato di potassio ed acido solforico @ 150 °C.
- ☞ Non ossida l'Ammoniaca (nessun contributo di nitrificazione).
- ☞ Riflette il bilancio di Carbonio nelle reazioni biochimiche, ossidando ogni sostanza carboniosa (eccetto alcuni aromatici).
- ☞ E' il parametro diretto per l'equivalenza stechiometrica di sostanze carboniose.
  - Include anche componenti NON biodegradabili, ma questo non è un problema per misure differenziali, es. COD per abbattimento.
  - Questo difetto è risolto da tecniche analitiche che misurano separatamente COD biodegradabile e nonbiodegradabile.

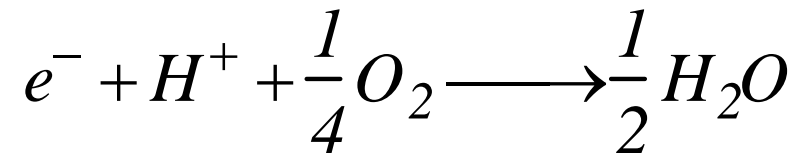
# COD come ossidazione generalizzata

☞ L'ossidazione di una generica molecola organica si svolge secondo la coppia delle due semireazioni RedOx

⇒ Semireazione di Ossidazione



⇒ Semireazione di Riduzione



☞ Dalla seconda 1  $e^-$  equivale a 8 gr di O, espresso come COD

☞ Perciò  $COD_{sost.org.} = 8(4a + b - 2c - 3d)$

# Considerazioni energetiche sul COD

---

*L'uso del COD rende conto del trasferimento di elettroni*

⇒ *8 grammi di COD corrispondono ad una mole di elettroni trasferita dal donatore all'accettore*

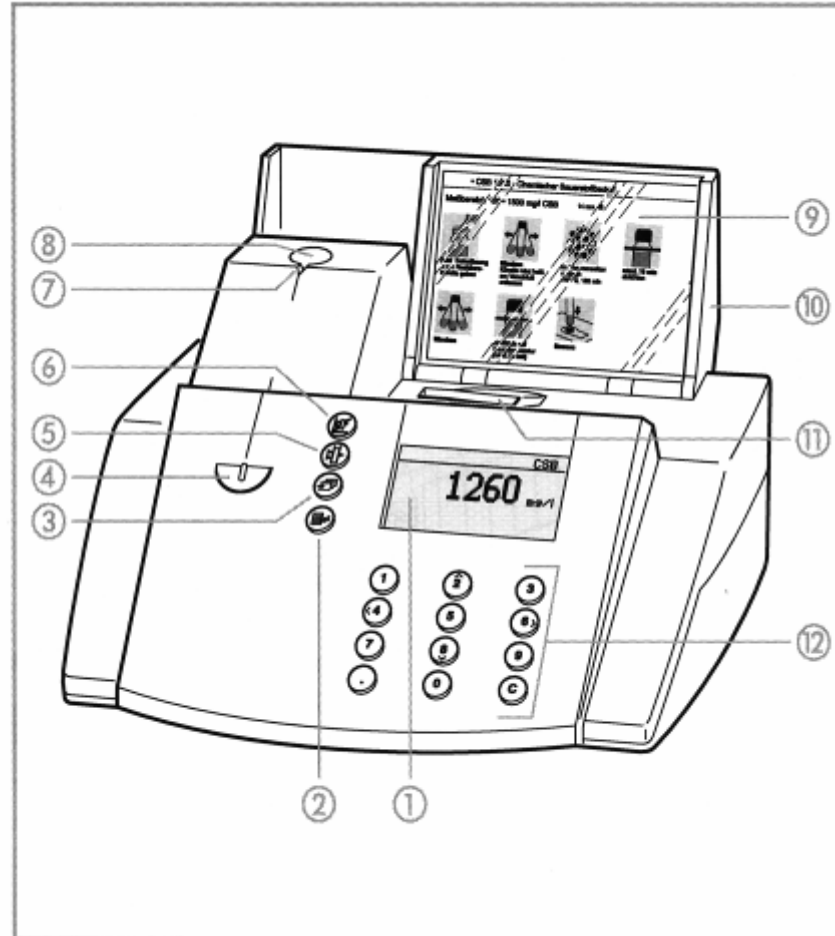
$$\mathbf{1\text{mole } e^- \sim 8 \text{ g COD} = 8 \text{ g O}_2}$$

- 👉 Nell'equivalenza in COD del substrato, si considera che tutto il substrato sia completamente ossidato a  $\text{CO}_2$ .
- 👉 Il substrato equivalente agli elettroni trasferiti all'accettore finale corrisponde al consumo per produzione di energia (*Catabolismo*)
- 👉 Il resto è incorporato come biomassa sintetizzata (*Anabolismo*)
- 👉 *Questa frazione, non ossidata a  $\text{CO}_2$ , rappresenta la resa (Yield) del processo di crescita.*

# Spettrofotometro

## Misura di assorbanza:

- ☞ Il campione viene miscelato con dei reagenti e riscaldato per un certo tempo
- ☞ Avviene una reazione chimica che produce dei composti di un determinato colore e densità ottica
- ☞ Queste caratteristiche sono proporzionali al COD del campione
- ☞ La determinazione viene fatta per via spettrometrica: si misura l'assorbimento ottico a determinate lunghezze d'onda



- ① Display
- ② Tasto chiamata menu/enter
- ③ Tasto di scorrimento sul video
- ④ Ricettacolo per MemoChip
- ⑤ Tasto misura assorbanza
- ⑥ Tasto misura concentrazione
- ⑦ Tacca di posizionamento centratura cuvetta
- ⑧ Ricettacolo per cuvette cilindriche
- ⑨ Scomparto prescrizioni per analisi (forma breve)
- ⑩ Coperchio con interruttore integrato on/off
- ⑪ Ricettacolo per cuvette rettangolari
- ⑫ Tastierino: tastatura numerica, funzione governo cursore, cancella, virgola

# Misura del COD

**Spectroquant®**

**COD**  
Domanda chimica di ossigeno

**14895**  
Test in cuvetta

**Intervallo di misura:** 15 – 300 mg/l COD



Risospingere il sedimento sul fondo della cuvetta agitando energicamente.



**Lentamente** pipettare 2 ml del campione nella cuvetta di reazione con tappo a vite. Avvitare bene e miscelare con forza. **Attenzione: la cuvetta diventa molto calda!**



Riscaldare la cuvetta a 148 °C nel termoreattore per 2 ore.



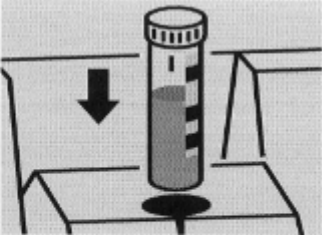
Togliere la cuvetta dal termoreattore e farla raffreddare sul supporto.



Dopo 10 minuti agitare la cuvetta.



Rimettere la cuvetta sul supporto e lasciarla raffreddare completamente a temperatura ambiente (**molto importante!**).



Inserire la cuvetta nell'apposito spazio con la tacca rivolta verso l'analista.

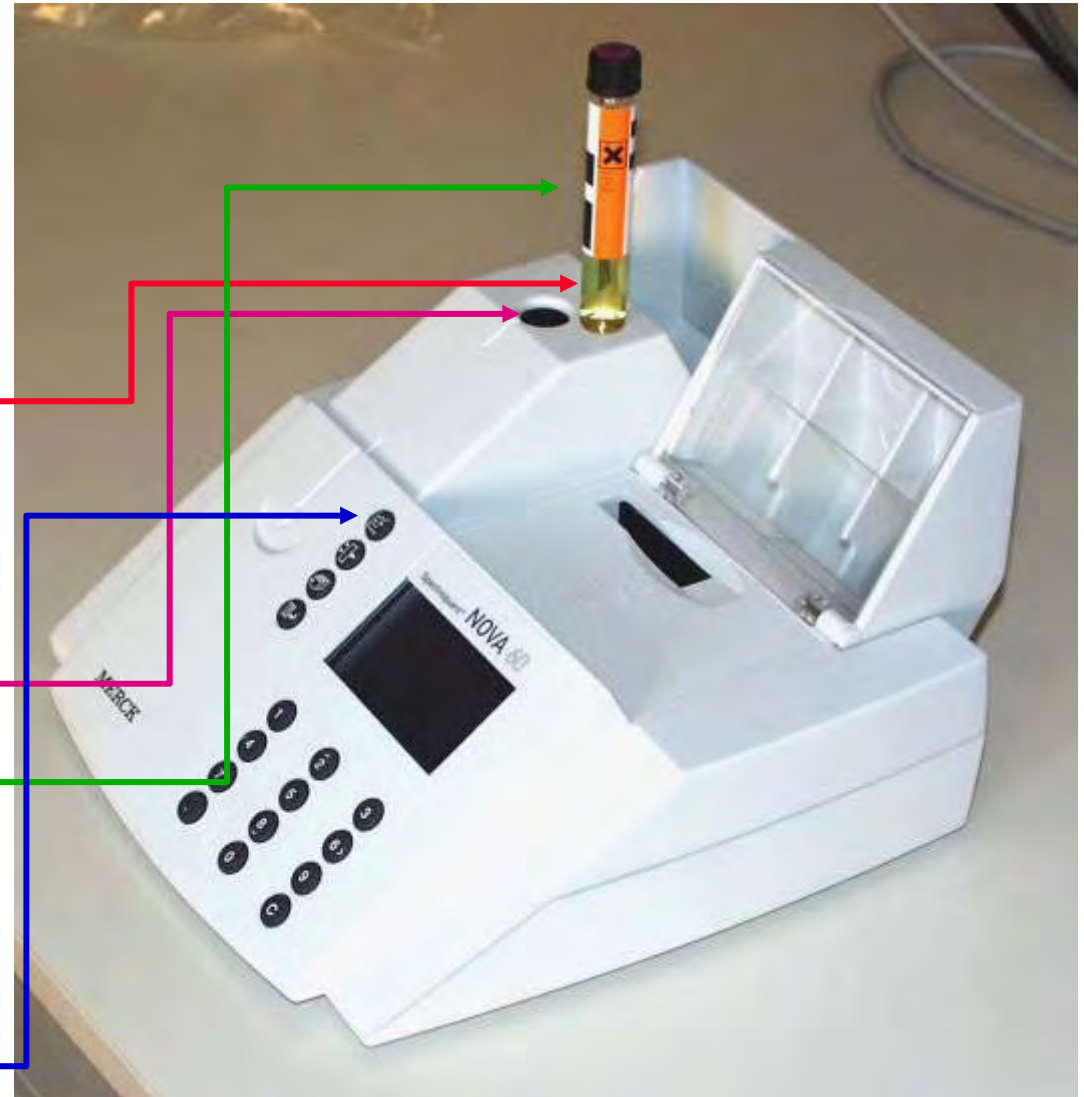
Le cuvette contengono già i reagenti necessari  
Variano a seconda del campo di concentrazione che si vuole misurare

# Misura spettrofotometrica del COD



# Misura spettrofotometrica del COD

- ❏ Dopo la *termodigestione* che avviene a 148 °C per 2 ore ottenuta nel termoreattore il campione nella cuvetta è pronto per la misura
- ❏ Notare il colore giallastro della soluzione, che sarà oggetto della misura
- ❏ Si inserisce la cuvetta nell'apposito alloggiamento
- ❏ Lo strumento legge il codice a barre e predispone lo spettro di assorbimento per la misura
- ❏ Premendo il primo tasto in alto si dà inizio alla misura



# TOC

---

- 👉 **Total Organic Carbon:** Carbonio organico totale
- 👉 Non viene normalmente usato nella pratica dei sistemi di depurazione per i seguenti motivi:
  - Non distingue fra parte biodegradabile e non biodegradabile
  - Non essendo legato al consumo di Ossigeno, non indica lo stato di ossidazione del substrato
  - Perciò non può essere usato per equivalenze nelle reazioni biochimiche
  - Necessita di apparecchiature sofisticate e costose

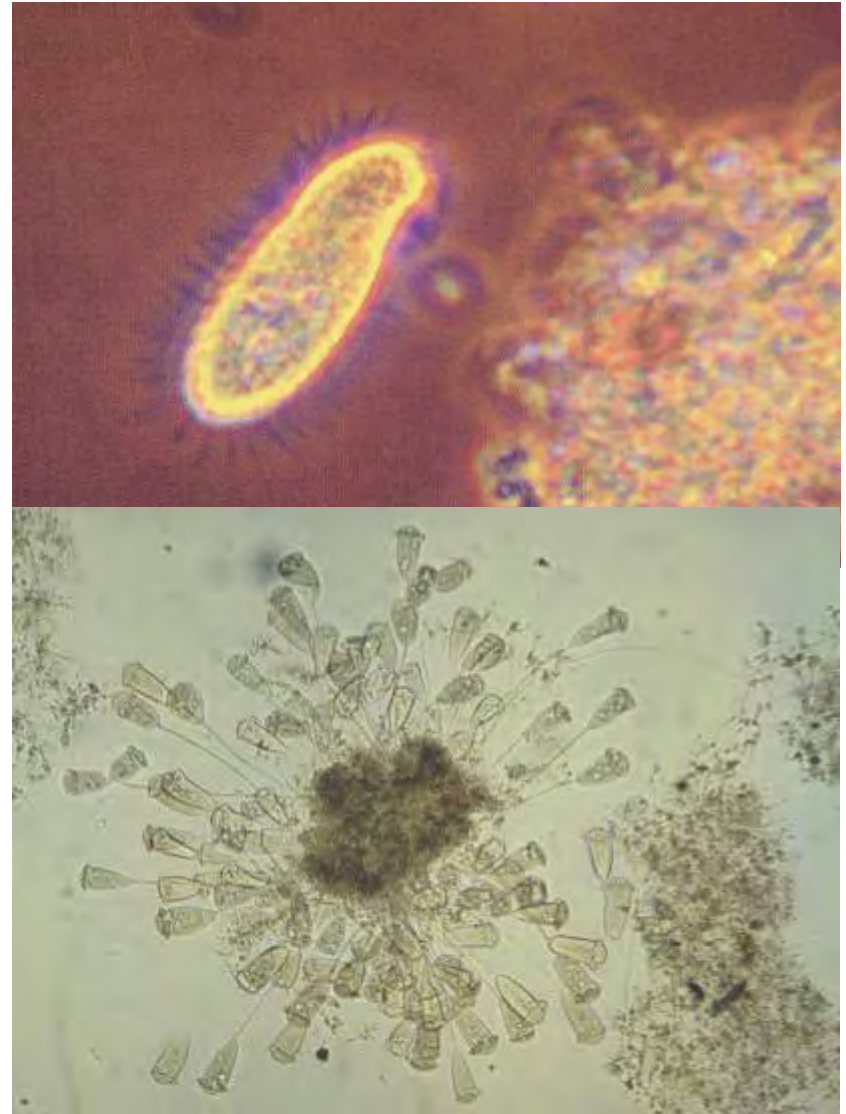
# Caratterizzazione della Biomassa

☞ La biomassa può essere espressa mediante

- ⇒ Solidi volatili sospesi (VSS)
- ⇒ Peso secco
- ⇒ Richiesta chimica di ossigeno (COD)\*

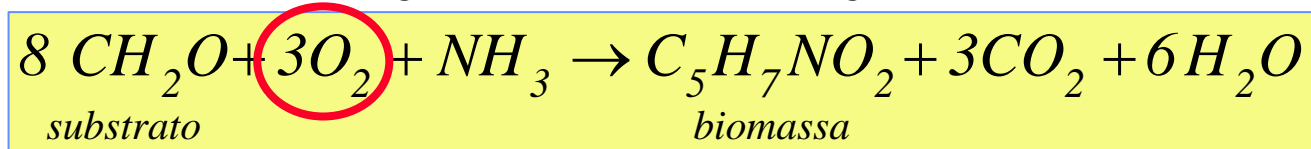
☞ Quest'ultima dimensione è la più vantaggiosa, perché utilizza la stessa unità di misura per la biomassa ed il substrato

☞ Usare le stesse unità è comodo quando si vuole determinare il ***fattore di resa***

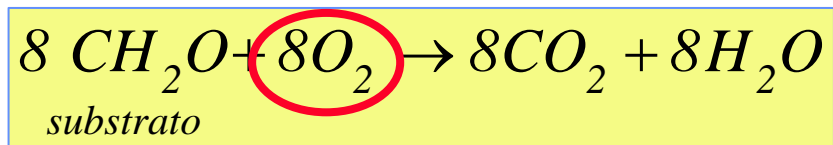


# Ripartizioni di massa nella crescita cellulare

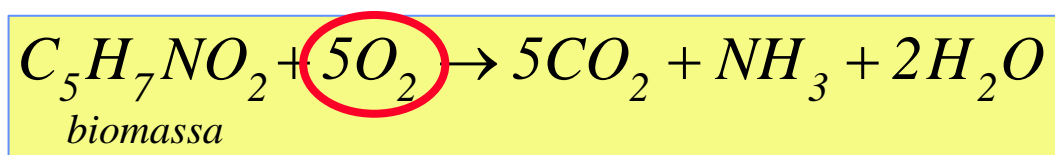
- Ossidazione (biologica) del substrato organico



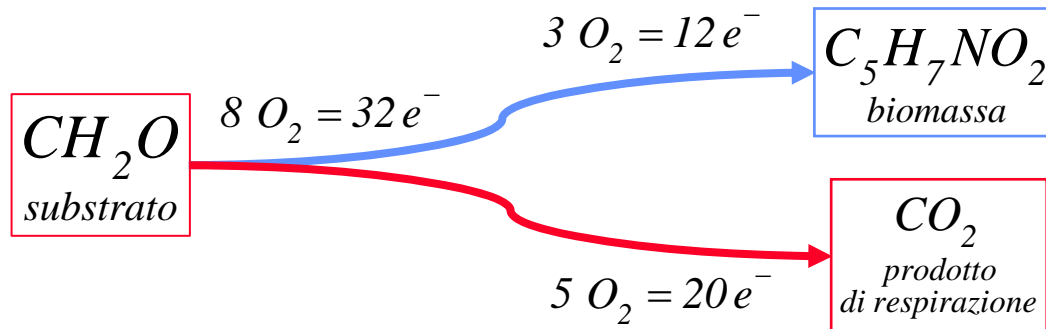
- Ossidazione chimica (COD) del substrato organico (ossidazione totale)



- Ossidazione chimica (COD) della biomassa (ossidazione totale)

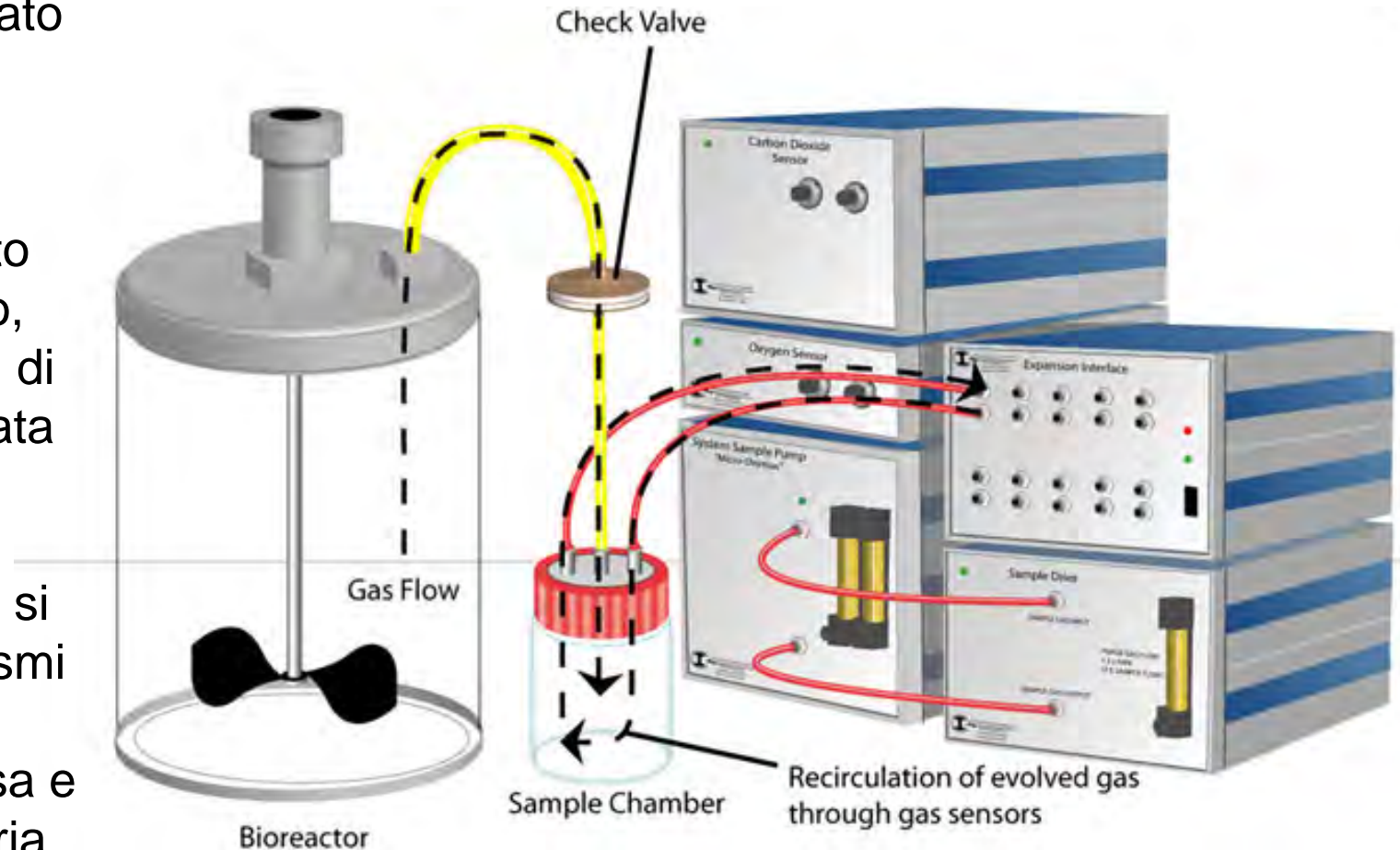


- Per ogni atomo di O ridotto vengono scambiati 2 elettroni, perciò la ripartizione elettronica fra catabolismo ed anabolismo è



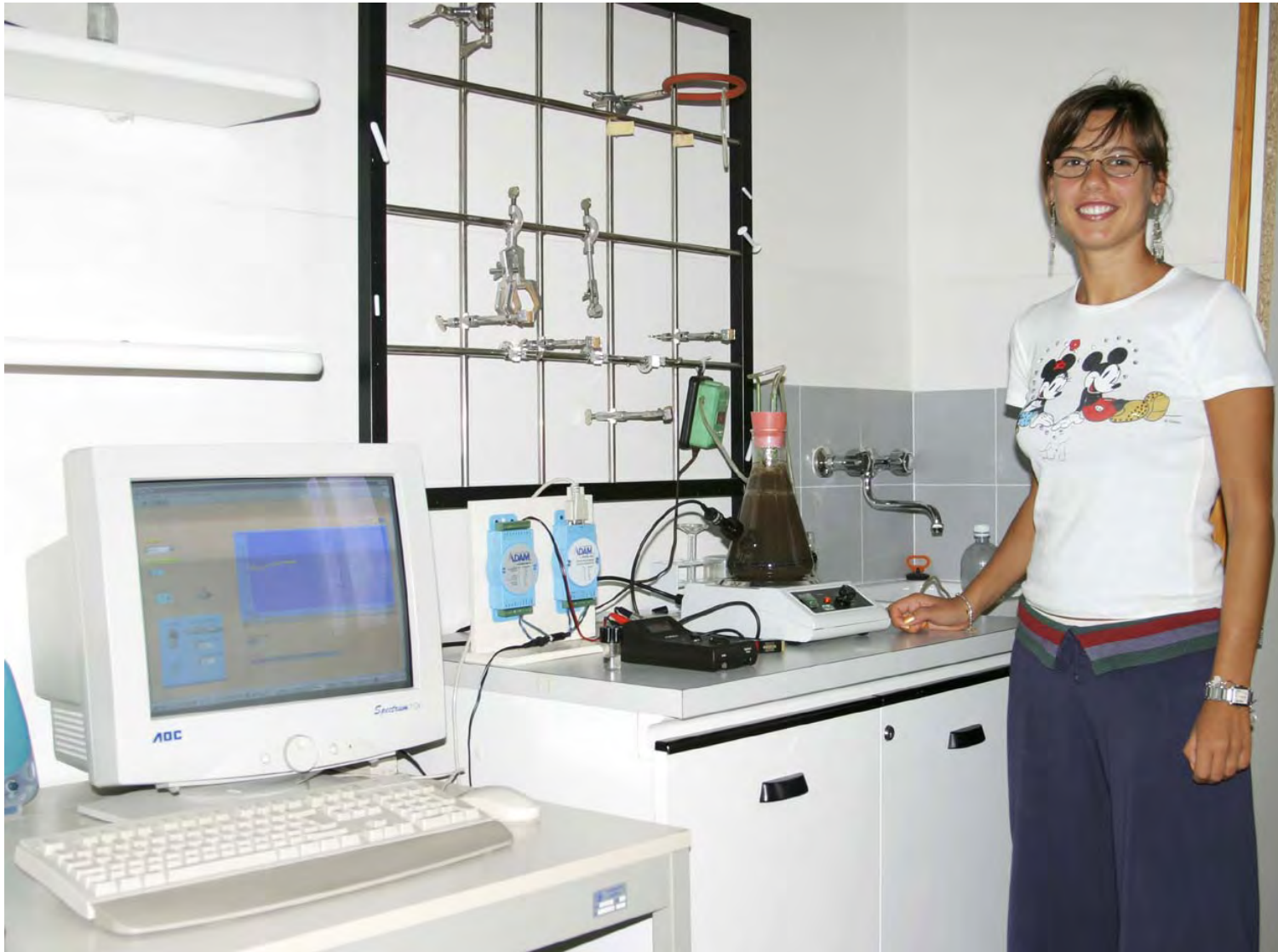
# Respirometro da laboratorio

La quantità di ossigeno consumato e la CO<sub>2</sub> espulsa possono essere misurate con un apposito strumento detto respirometro, che misura i flussi di questi gas in entrata ed in uscita dalla camera di respirazione dove si trovano gli organismi di cui si vuole determinare la resa e la quota respiratoria



# Il nostro respirometro

---



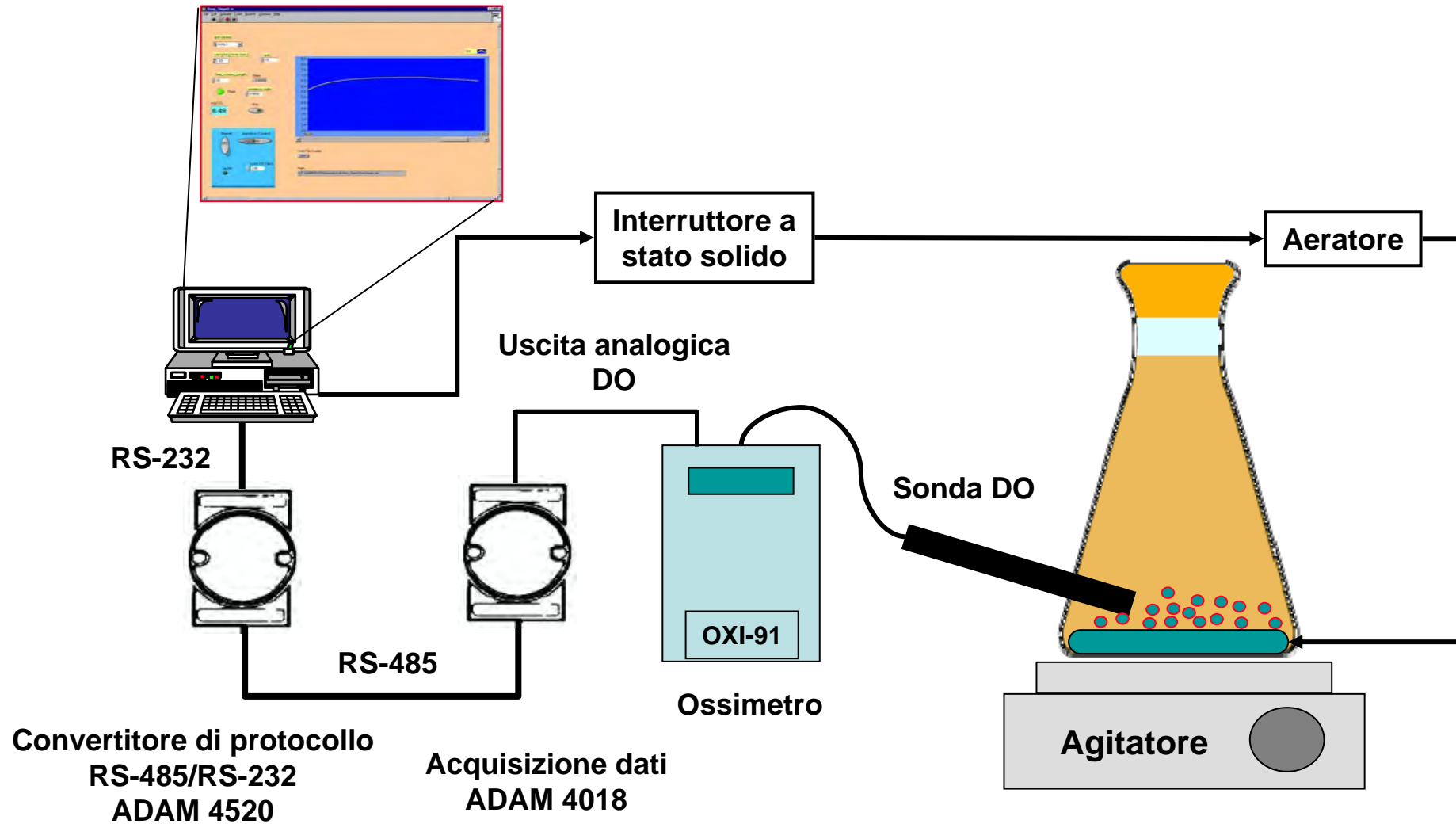
# Il nostro respirometro

---



# Struttura del respirometro

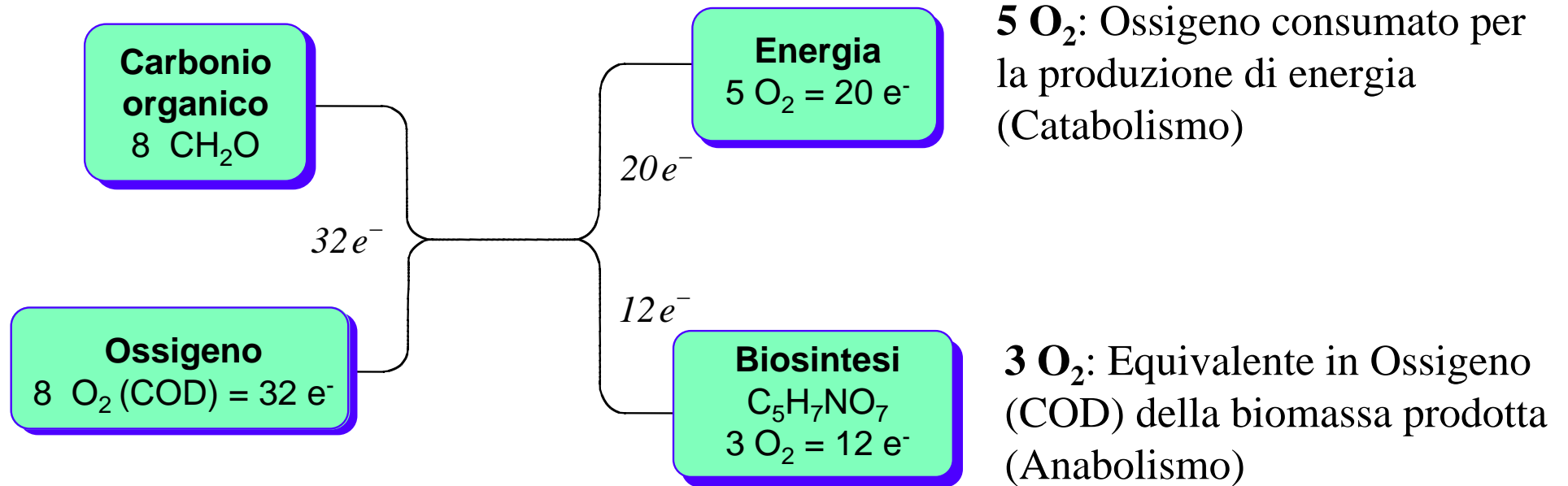
## Software di elaborazione e controllo



# Crescita della biomassa su substrato organico



$$Y = \frac{\text{Biomassa prodotta}}{\text{Substrato consumato}} = \frac{\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2}{8 \text{ CH}_2\text{O}} = \frac{113}{8 \times 30} = 0.47 \frac{\text{g SSV}}{\text{g substrato}}$$

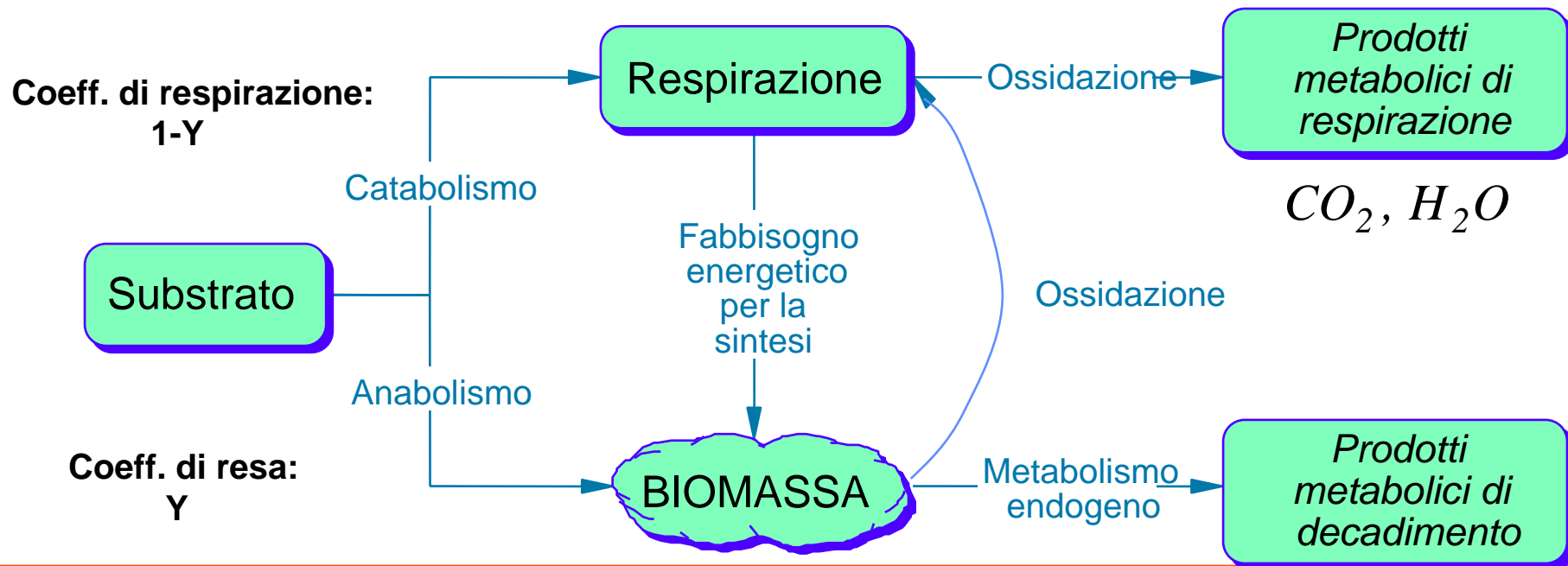


# Ripartizione del substrato nella biosintesi aerobica

- ☞ Parte del substrato (Y) viene utilizzata per la sintesi (Anabolismo)

$$\text{Fattore di resa} = \frac{\text{Biomassa sintetizzata}}{\text{Substrato utilizzato}} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

- ☞ La rimanente parte (1-Y) viene “spesa” nei processi di produzione di energia (Catabolismo)



## Esempio di calcolo di Y per biomassa prodotta

---

➡ Peso molecolare del substrato  $\text{CH}_2\text{O} = 30$

➡ Peso molecolare della biomassa (approssimato)  $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 = 113$

➡ Fattore di resa Y

$$Y = \frac{\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2}{8 \text{ CH}_2\text{O}} = \frac{113}{8 \times 30} = 0.47 \frac{\text{g SSV}}{\text{g Substrato}}$$

➡ Resa di consumo di ossigeno rispetto al substrato











$$Y_{\text{O}_2} = \frac{3 \text{ O}_2}{8 \text{ CH}_2\text{O}} = \frac{3 \times 36}{8 \times 30} = 0.40 \frac{\text{g O}_2}{\text{g Substrato}}$$

➡ Resa di consumo di ossigeno rispetto alla biomassa prodotta

$$Y_{\text{O}_2} = \frac{3 \text{ O}_2}{\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2} = \frac{3 \times 36}{113} = 0.84 \frac{\text{g O}_2}{\text{g SSV}}$$

# Bibliografia

---

-  Lehninger A.L. *Biochimica*, Zanichelli, 1982.
-   J. Wanner, *Microbial population dynamics in biological wastewater treatment plants*, IAWQ Scientific and Technical Report n. 5, 1997.
-  Hemond H.F. e Fechner E. J., *Chemical fate and transport in the environment*, Academic Press, 1994.
-  Bailey J.E. e Ollis D.F. *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, 1986.
-  Battley E.H., *Energetics of Microbial Growth*, Wiley, 1987.
-   Orhon D., Artan N., *Modelling of Activated Sludge Systems*, Technomic Publ. Co., 1994.
-   Cloete T.E. and Muyima N.Y.O. (eds.) *Microbial Community Analysis*, IAWQ Scientific and Technical Report n. 5, 1997.