



Consiglio Nazionale  
delle Ricerche



# NOTIZIARIO

dei Metodi Analitici  
& IRSA news

doi: 10.3274/NOTIZIRSA-2026-01

**22 MARZO 2026**

## **CELEBRIAMO LA GIORNATA MONDIALE DELL'ACQUA CON UN NUMERO SPECIALE**

**2**

I contributi del Comitato di redazione in occasione della Giornata Mondiale dell'Acqua

**14**

Il modello di solubilità di Hansen applicato alla predizione di "uptake" di contaminanti organici su polimeri plastici: un approccio innovativo per l'ottimizzazione di processi di rimozione e la valutazione del destino ambientale degli inquinanti

**10**

Residui e metaboliti di farmaci nell'ambiente: sviluppo delle metodologie spettrochimiche per il loro rilevamento, identificazione e quantificazione

**21**

Tecnologie di sequenziamento long-reads per il biomonitoraggio ambientale: preparazione delle librerie genomiche, analisi bioinformatica e vantaggi applicativi per il biorisanamento

### **IRSA NEWS**

**Progetti** BioSpell, BORN, EcoModeB | **Tesi di Dottorato** Sviluppo di un modello idrologico semplificato per lo studio dei regimi idrici delle zone umide finalizzato alla conservazione e al ripristino | **Tesi di laurea** Impatto di nanoparticelle conduttive e stimolazione bioelettrochimica sulla digestione anaerobica di matrici organiche di scarto

# Numero speciale dedicato al World Water Day

## Editoriale

*L'oro blu ha il volto delle Donne  
Verso il 2030 con un Nuovo Passo*

Benvenuti a questo nuovo numero del Notiziario. Quest'anno l'uscita del fascicolo coincide con un momento simbolico: il **World Water Day 2026**. Il 22 marzo non è soltanto una data sul calendario, ma un richiamo alla consapevolezza. Oggi il nostro sguardo si posa su una verità ancestrale: l'acqua non è una mera formula chimica o una risorsa di mercato, ma il sottile filo azzurro che intreccia la trama della sopravvivenza e la dignità umana.

In queste pagine del Notiziario percorriamo, con i **primi due articoli speciali dedicati alla Giornata Mondiale dell'Acqua**, come l'oro blu sia il catalizzatore per il benessere globale. Oggi più che mai dobbiamo riconoscere l'acqua come il motore invisibile che muove l'intera architettura dell'**Agenda 2030** e dei suoi obiettivi. Infatti, senza una gestione idrica efficiente, tali obiettivi rimarrebbero solo delle semplici ambizioni sulla carta.

Ma c'è un elemento che trasforma la gestione idrica da sfida tecnica a rivoluzione sociale: **il ruolo delle donne**. In molte parti del mondo, le donne sono le principali custodi dell'acqua, gestendo con saggezza e fatica il fabbisogno idrico delle loro famiglie. Riconoscere ufficialmente questo ruolo e garantire un accesso equo all'acqua non è solo una questione di giustizia climatica, ma un atto concreto di emancipazione. Inoltre, sostenere la leadership femminile nella gestione delle risorse idriche significa promuovere la parità di genere e, al contempo, garantire soluzioni più resilienti per il pianeta.

Questo fascicolo, oltre ai due articoli speciali, esplora le frontiere **della ricerca ambientale**, presentando contributi che uniscono l'analisi chimica spinta alla modellizzazione termodinamica e alle biotecnologie innovative.

Il primo, di Inaudi e coautori, affronta la problematica dei residui farmaceutici nell'ambiente, offrendo una rassegna sulle tecniche spettrochimiche sviluppate nel periodo 2015-2025. Il lavoro evidenzia come il rilevamento, l'identificazione e la quantificazione di metaboliti e principi attivi non siano più opzioni, ma necessità stringenti per la protezione delle acque, degli alimenti e dei luoghi di lavoro e come la precisione analitica sia il primo passo per una politica di bonifica efficace.

Parallelamente, la sfida dei contaminanti emergenti si estende ai materiali polimerici. L'articolo di Pennazza e colleghi esplora l'interazione tra i contaminanti organici e le plastiche, con un approccio innovativo basato sull'uso dei parametri di solubilità di Hansen. Applicando approcci termodinamici predittivi, gli autori dimostrano come sia possibile da un lato ottimizzare i processi di rimozione basati sull'utilizzo di materie plastiche e dall'altro prevedere il destino ambientale dei contaminanti nel caso in cui le microplastiche agiscano come matrici passive di accumulo e vettori di contaminazione negli ecosistemi acquatici.

Infine, l'articolo di Matturro e colleghi pone l'attenzione sulla comprensione delle comunità microbiche che popolano gli ecosistemi contaminati, illustrando l'uso delle tecnologie di sequenziamento *long-reads* (nanopore) nel biomonitoraggio ambientale per ottenere il sequenziamento completo del gene 16S rRNA batterico e raggiungere una risoluzione tassonomica a livello di specie nel campo del biorisanamento, superando i limiti dei metodi tradizionali.

Questi articoli, pur esplorando ambiti differenti – dall'analisi chimica, alla termodinamica, fino alla microbiologia molecolare – hanno un obiettivo comune: dotare la comunità scientifica e tecnica di strumenti robusti per una gestione sostenibile e proattiva delle risorse idriche.

Questo Numero del Notiziario evidenzia come la salvaguardia dell'acqua richieda l'integrazione tra eccellenza scientifica e impegno sociale che valorizzi il ruolo femminile nella gestione delle risorse. Unire ricerca avanzata, come l'analisi dei contaminanti e il biomonitoraggio, a politiche inclusive è fondamentale per proteggere il "filo azzurro" che sostiene la vita e la dignità umana.

Buona lettura!

**Paola Grenni**  
*Direttore Scientifico*

## L'acqua come forza per uno sviluppo sostenibile e per l'uguaglianza di genere a vantaggio di tutti

Fin dall'**antica Grecia**, l'acqua è stata celebrata come l'*archè* (ἀρχή), il principio generatore del cosmo. Questa intuizione di Talete di Mileto (filosofo, astronomo e matematico vissuto tra il VII e il VI sec. a.C.) trova un riscontro pragmatico nel cammino dell'umanità: le prime grandi civiltà fiorirono lungo i bacini fluviali, eleggendoli a motori indispensabili di sopravvivenza e progresso. Dalla Mesopotamia, sorta tra il Tigri e l'Eufrate, all'Antico Egitto, indissolubilmente legato al dono del Nilo, l'acqua non fu mai una semplice risorsa, bensì il **fulcro dell'organizzazione sociale**. Attraverso il governo delle piene e l'ingegneria dei sistemi di irrigazione, l'uomo ha compiuto il passaggio cruciale verso un'agricoltura stanziale e produttiva, innescando la crescita demografica e la specializzazione del lavoro. Ma l'elemento idrico non garantì solo la sussistenza: offrì anche vie di comunicazione naturali che facilitarono scambi commerciali e contaminazioni culturali, confermando la visione di Talete: l'acqua come fondamento non solo biologico, ma universale della realtà.

Nel corso dei secoli, l'ingegno umano ha imparato a imbrigliare la forza cinetica dei flussi: dai mulini, essenziali per la macinazione e le prime automazioni, fino alle imponenti dighe moderne. Queste ultime, trasformando le correnti in energia elettrica, sono diventate il pilastro dello sviluppo industriale e tecnologico contemporaneo.

Tuttavia, questo rapporto armonico è andato progressivamente incrinandosi. Quel connubio ancestrale fatto di osservazione, rispetto e profonda conoscenza dei ritmi naturali — dalle piene stagionali alla siccità — si è indebolito. Se le civiltà antiche accettavano la variabilità dell'acqua, riconoscendone la natura generosa ma imprevedibile, la modernità ha abbracciato l'illusione di un dominio assoluto sulla natura, piegandola unilateralmente alle esigenze dell'espansione urbana ed economica.

**L'acqua è il fulcro vitale di ogni attività umana**, dai settori industriali e agricoli alla pesca, fino al turismo e al consumo quotidiano, rivelandosi un pilastro imprescindibile per la nostra salute e sicurezza. Tuttavia, la sua natura è duale: se da un lato è sorgente di vita, dall'altro può trasformarsi in una minaccia, manifestandosi attraverso il pericolo diretto di alluvioni o quello indiretto di frane e diffusione di patologie legate sia alla sua scarsità sia alla sua funzione di vettore infettivo.

L'Obiettivo 6 "Acqua pulita e servizi igienico-sanitari" dell'Agenda per lo Sviluppo Sostenibile ci ricorda che entro il 2030 bisogna conseguire l'accesso universale ed equo all'acqua potabile sicura e alla portata di tutti.

Nel contesto dell'attuale crisi climatica, la disponibilità di acqua potabile trascende la mera gestione delle risorse umane. Essa rappresenta una sfida cruciale per la sopravvivenza degli ecosistemi acquatici e impone la tutela e il ripristino di tutti gli habitat — dalle montagne alle foreste, dalle zone umide alle falde — ponendosi come pilastro imprescindibile dello sviluppo sostenibile. Gli ecosistemi agiscono infatti come vere infrastrutture 'verdi': se monta-



**Figura 1.** SDG 5 (Raggiungere l'uguaglianza di genere e l'empowerment -maggiore forza, autostima e consapevolezza- di tutte le donne e le ragazze) e SDG 6 (Garantire a tutti la disponibilità e la gestione sostenibile dell'acqua e delle strutture igienico-sanitarie); simbolo del World Water Day.



gne e ghiacciai sono le “torri di controllo” che regolano i flussi globali, i suoli e i boschi ne garantiscono la purezza. Al contempo, laghi e zone umide stabilizzano il ciclo idrologico agendo come spugne naturali, mentre i fiumi trasportano il nutrimento vitale lungo l'intero bacino.

La gestione dell'acqua e la sua tutela dovrebbero essere al centro di ogni scelta e di ogni politica di sviluppo. Basti pensare che il tessuto socio-economico globale è indissolubilmente legato alla disponibilità **idrica e ai servizi ecosistemici** generati dai corpi d'acqua. Questi ultimi, come definito dal *Millennium Ecosystem Assessment*, costituiscono l'insieme dei benefici che la natura offre gratuitamente all'umanità. L'acqua agisce come elemento trasversale alle quattro categorie fondamentali di tali servizi:

- **Approvvigionamento:** fornisce acqua potabile tramite fiumi, laghi e falde. Risorse vitali che, a causa del cambiamento climatico, non possono più essere considerate inesauribili.
- **Regolazione:** include i processi di autodepurazione, la mitigazione di eventi estremi (piene e siccità) e la ricarica degli acquiferi.
- **Culturali:** abbraccia il valore paesaggistico, le opportunità ricreative, turistiche e sportive, oltre alla valenza educativa e scientifica.
- **Supporto:** garantisce il ciclo dei nutrienti, la creazione di habitat e il mantenimento della biodiversità.

La **connessione tra scienza, genere e acqua** è tanto più profonda quanto più l'acqua è parte integrante di molte attività umane. Se guardiamo all'insieme delle possibilità offerte dall'acqua e dai suoi ecosistemi con un approccio più responsabile ed evolutivo non possiamo non valutare quanto l'evoluzione scientifica portata dalle donne abbia avuto un approccio integrato verso gli ecosistemi guardando alla Terra come rete complessa di interdipendenze biofisiche e sociali. **La conoscenza scientifica non è uno strumento di dominio ma pratica di responsabilità e cura.** Una visione più attenta alla sostenibilità e alla giustizia ambientale e alla *governance* partecipativa delle risorse nasce anche dalle esperienze di marginalizzazione e subordinazione dell'universo femminile. Grazie a ricercatrici come Sandra Diaz, Robin Wall Kimmerer, Karen Bakker e Elinor Ostrom, oggi possiamo guardare agli ecosistemi come a reti dinamiche di interdipendenze ecologiche, sociali e culturali, e non come a semplici stock di risorse da sfruttare.

Una gestione idrica efficace deve necessariamente salvaguardare la vulnerabilità degli ecosistemi acquatici connessi. Proteggere e ripristinare il loro equilibrio è, infatti, la condizione imprescindibile per garantire acqua di qualità e sostenere le attività economiche nel lungo periodo.

La perdita di servizi ecosistemici accelera l'insicurezza alimentare ed energetica, amplifica la vulnerabilità ai disastri naturali — inondazioni, siccità e tempeste — e compromette la salute e il patrimonio culturale. È dunque urgente riscoprire il valore dell'acqua come risorsa finita, puntando al ripristino delle dinamiche naturali di fiumi, laghi e falde.

Superare la logica dello sfruttamento a favore di un uso responsabile è cruciale per mantenere ecosistemi sani. La sfida risiede nel conciliare sviluppo socio-economico e tutela ambienta-

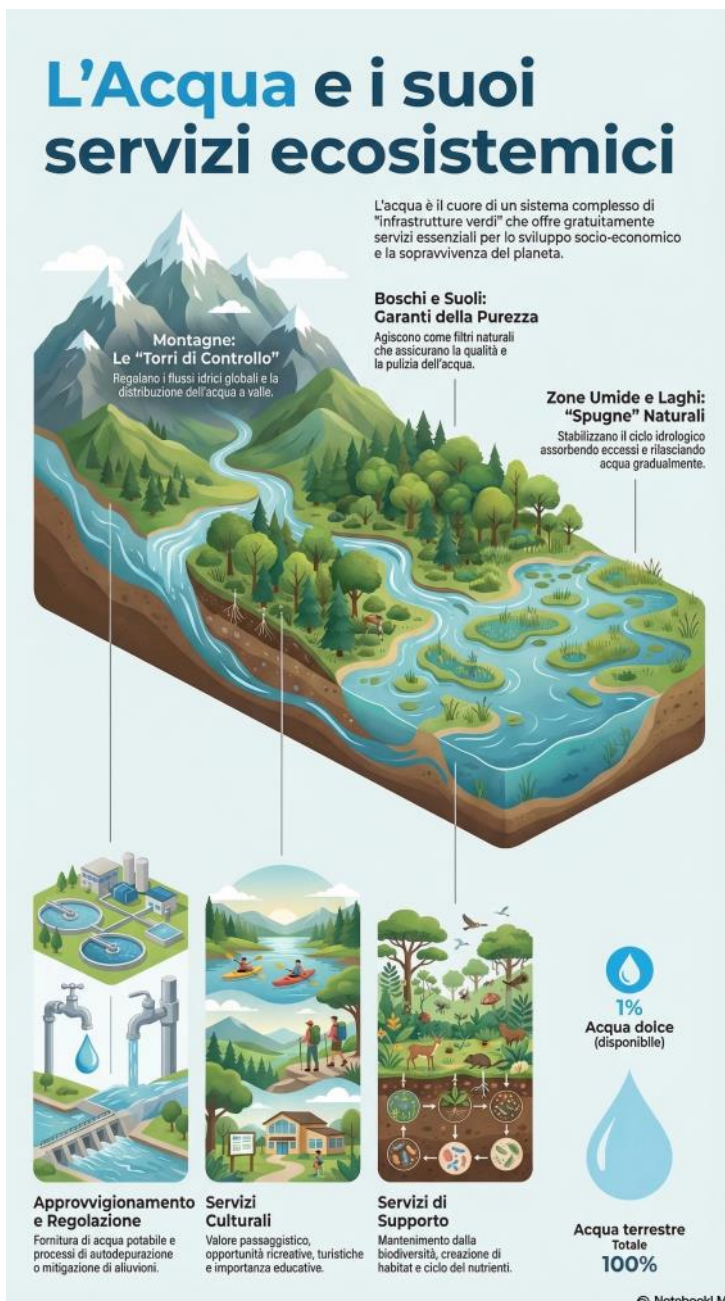


Immagine generata con NotebookLM

le, rivalutando il "capitale naturale" attraverso una pianificazione territoriale che integri i processi ecologici. Per una sostenibilità concreta, è indispensabile una stretta sinergia tra settori economici e livelli di governo, basata sulla consapevolezza delle interazioni tra attività umane e salute dell'ambiente.



Figura 2. Foto da UN Women<sup>(2)</sup>

### World Water Day 2026 e il Ruolo delle Donne nella Gestione dell'Acqua

L'acqua rappresenta una risorsa trasversale e indispensabile per il raggiungimento degli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile (SDG) dell'Agenda 2030. Catalizzatore fondamentale per il benessere globale, la salute pubblica e la lotta alla povertà, essa si intreccia profondamente con l'**SDG 6** (Acqua pulita e servizi igienico-sanitari) e l'**SDG 5** (Parità di genere). Garantire un accesso equo e sostenibile non significa solo tutelare un bene primario, ma promuovere attivamente l'emancipazione femminile, riconoscendo alle donne il ruolo di principali custodi della gestione idrica familiare.

In un sistema finito, la crescita economica deve rispettare i "limiti planetari". La situazione è resa critica dal fatto che solo l'1% dell'acqua terrestre è dolce e disponibile, minacciata ulteriormente da inquinamento e cambiamento climatico, in un contesto in cui circa 2 miliardi di persone sono prive di acqua potabile sicura.

In occasione della 33ª Giornata Mondiale dell'Acqua (22 marzo 2026), l'attenzione si concentra sulla **gestione sostenibile e il suo legame indissolubile con la parità di genere**. Lo slogan ONU, "*Dove l'acqua scorre, cresce l'uguaglianza*", sintetizza la campagna guidata da UNICEF e UN Women<sup>(1)</sup> che pone donne e ragazze al centro delle soluzioni. La crisi idrica non è neutra: colpisce in modo asimmetrico, alimentando disparità. Se in Occidente l'acqua è percepita come un diritto acquisito, in molte aree del pianeta la sua assenza è una barriera invisibile che grava principalmente sulla popolazione femminile, trasformando la ricerca di una sorgente in una spossante sfida quotidiana.

A molti di noi può sembrare sorprendente pensare che esistano disuguaglianze legate all'acqua. Il **legame tra acqua e genere** è spesso invisibile persino agli occhi delle donne stesse. In gran parte dell'Occidente, nonostante esistano criticità legate alla scarsità idrica, all'inquinamento o alla cattiva gestione, l'accesso all'acqua resta un gesto quotidiano semplice, immediato, ed un diritto per tutti. Questo però, rischia di farci dimenticare che in molte regioni del mondo l'accesso a questa risorsa essenziale è una sfida quotidiana che ricade soprattutto sulle donne, spesso costrette a percorrere chilometri per raggiungere una sorgente quasi sempre non controllata.

In tal senso, **UN Women**<sup>(2)</sup>, la più giovane organizzazione delle Nazioni Unite che nel 2025 ha festeggiato il suo 15° anniversario e che si impegna a livello globale per i diritti delle donne e l'uguaglianza di genere, si impegna a fornire acqua e servizi igienico-sanitari a tutti, aiutando i governi a elaborare politiche e programmi che rispondano alle esigenze delle donne e sostengano servizi sostenibili. Tali misure includono facilitazioni per l'accesso all'acqua potabile, in modo che le donne abbiano più tempo per guadagnare un reddito, le ragazze abbiano maggiori possibilità di frequentare la scuola e la salute e l'igiene delle famiglie migliorino.

Secondo i dati UNICEF<sup>(4)</sup> e OMS, ogni giorno donne e bambine dedicano complessivamente oltre 200 milioni di ore alla raccolta dell'acqua. Questo enorme carico di lavoro invisibile sottrae tempo prezioso all'istruzione e alle attività produttive, esponendole al contempo a gravi rischi fisici, a malattie legate alla contaminazione idrica e a pericoli per la propria incolumità lungo i tragitti. Inoltre, la carenza di servizi igienici adeguati rimane una delle cause primarie dell'abbandono scolastico femminile.

L'accesso universale all'acqua potabile e ai servizi igienici, parte integrante dell'Agenda 2030, è dunque cruciale per diversi motivi:

- **Per la riduzione del carico di lavoro femminile:** in molte aree del mondo, donne e ragazze percorrono lunghe distanze per raccogliere acqua. La vicinanza di fonti idriche sicure libera tempo per attività educative ed economiche.

<sup>(1)</sup> <http://www.unwater.org/news/%E2%80%98where-water-flows-equality-grows%E2%80%99-world-water-day-2026-campaign-launches>

<sup>(2)</sup> <https://www.unwomen.org/en/news/in-focus/women-and-the-sdgs/sdg-6-clean-water-sanitation#:~:text=Water%20sustains%20life%2C%20but%20too,for%20both%20mothers%20and%20babies.&text=UN%20Women%20acts%20to%20provide,family%20health%20and%20hygiene%20improve.>

<sup>(4)</sup> <https://www.unicef.it/media/ogni-giorno-donne-e-bambine-spendono-200-milioni-di-ore-per-raccogliere-acqua>

- *Per l'istruzione e la salute:* un accesso più facile all'acqua aumenta significativamente l'iscrizione scolastica delle ragazze e riduce malattie legate a condizioni igieniche precarie.
- *Per l'empowerment economico:* quando l'acqua è facilmente accessibile, le donne possono dedicarsi ad attività generatrici di reddito, migliorando la sicurezza economica familiare.
- *Per la sicurezza e la protezione:* infrastrutture adeguate, inclusi servizi igienici separati e sicuri, riducono i rischi di violenza di genere.

### Leadership femminile: Il coinvolgimento delle donne nei processi decisionali sulla gestione dell'acqua porta a soluzioni più eque e durature

Le donne, spesso principali responsabili della gestione dell'acqua a livello domestico e comunitario, portano prospettive uniche che migliorano la sostenibilità e l'efficienza dei progetti.

**Il ruolo delle donne è fondamentale nella gestione dell'acqua**, ma nonostante ne siano le principali responsabili, dall'approvvigionamento all'igiene domestica, fino alla cura di bambini e anziani, **le donne vengono spesso escluse dai processi decisionali legati alle risorse idriche**, limitando l'efficacia delle politiche idriche quasi sempre poco aderenti alle reali necessità delle famiglie. Il coinvolgimento delle donne nei processi decisionali sulla gestione dell'acqua porterebbe a soluzioni più eque e durature in quanto, essendo le principali utilizzatrici di questa risorsa, possiedono conoscenze preziose per la sua gestione.

I benefici della Leadership Femminile nella Gestione dell'Acqua sono molteplici:

- **Soluzioni più eque ed efficaci:** L'inclusione delle donne garantisce che le esigenze di tutti i membri della comunità siano prese in considerazione, portando a una distribuzione più equa della risorsa. Studi dimostrano che i progetti con una significativa partecipazione femminile hanno una probabilità fino a sette volte maggiore di successo e sostenibilità.
- **Gestione comunitaria e sostenibilità:** A livello locale, la leadership femminile migliora la sicurezza idrica e l'efficienza. Le donne tendono a focalizzarsi sulla sostenibilità a lungo termine, migliorando la manutenzione delle infrastrutture e la conservazione della risorsa.
- **Impatto economico e sociale:** La partecipazione femminile facilita una migliore gestione dei fondi e un maggiore accesso alle risorse, riducendo gli sprechi.

La parità di genere, dunque, non è solo un obiettivo, ma una condizione necessaria per garantire una gestione davvero sostenibile delle risorse idriche. Una maggiore partecipazione femminile migliora la sicurezza alimentare e la salute, riducendo la diffusione delle malattie e favorendo produzioni agricole più sostenibili. La parità di genere è inoltre fondamentale per la sostenibilità ambientale, perché favorisce una gestione responsabile per le generazioni future. Infine, una *governance* più inclusiva migliora la cooperazione nella gestione dell'acqua contribuendo a e prevenire i conflitti e promuovere la pace.

Nonostante le evidenze positive, le donne rimangono sottorappresentate nei ruoli decisionali di alto livello e tecnici nel settore idrico. Persistono barriere strutturali e culturali, tra cui resistenze maschili e stereotipi, che limitano l'influenza femminile nelle politiche idriche.

## Acqua, Genere e Sostenibilità

### Dove l'acqua scorre, cresce l'uguaglianza

La gestione idrica è strettamente legata agli Obiettivi SDG 6 e SDG 5; garantire l'accesso equo riduce il carico di lavoro invisibile delle donne (200 milioni di ore al giorno per la raccolta) e ne favorisce l'empowerment.



### Leadership Femminile

I progetti idrici con partecipazione femminile attiva hanno una probabilità **7 volte** maggiore di sostenibilità a lungo termine.

Immagine generata con NotebookLM

### Sfide e Prospettive Globali

Lo sfruttamento intensivo del territorio e la crescente alienazione dagli ecosistemi hanno acuito le criticità legate alla gestione idrica. In un contesto climatico segnato dall'alternanza tra piogge intense e prolungati periodi di siccità, ci impone una profonda riflessione sul modello di sviluppo fin qui adottato. Recuperare un rapporto consapevole con l'acqua significa restituire vitalità ai fiumi, tutelare le zone umide e integrare il progresso scientifico con la memoria storica, in piena sinergia con gli obiettivi dell'Agenda 2030 e del Green Deal Europeo.

In occasione della Giornata Mondiale dell'Acqua 2026, focalizzata su "Water and Gender", emerge come l'integrazione delle prospettive di genere nelle politiche idriche sia essenziale per il raggiungimento degli obiettivi globali e per il bene dell'intera società. Riconoscere l'acqua come un elemento vivo e dinamico, da rispettare, non significa rinunciare al progresso, bensì recuperare la saggezza del passato, ponendo ascolto a una risorsa fondamentale.

Per trasformare il legame tra acqua e genere in un'opportunità di cambiamento, la ricerca ha un ruolo strategico: sviluppa tecnologie e sistemi innovativi che migliorano l'approvvigionamento idrico, la sicurezza delle sorgenti e i servizi igienici, lavorando in stretta collaborazione con le grandi organizzazioni *no profit*. In questo scenario, la presenza delle donne nella ricerca è fondamentale perché dimostra alle comunità che l'emancipazione è concreta e realizzabile, contribuendo a superare stereotipi ancora radicati in molte realtà. Garantire un accesso equo e sostenibile all'acqua significa, dunque, non solo proteggere un bene prezioso, ma anche promuovere l'emancipazione femminile, essendo le donne spesso le principali responsabili della gestione idrica familiare.

Solo coltivando **consapevolezza, prevenzione e responsabilità condivisa** potremo dare forma a un domani più sicuro e sostenibile. L'acqua deve rimanere il cuore del nostro sviluppo: spetta a noi, oggi, tracciarne la rotta verso il futuro.

A cura di:

**Marzia Ciampittiello**, CNR-IRSA, sede di Verbania

**Carolina Cruz Viggi, Bruna Maturro, Domenica Mosca Angelucci, Paola Grenni**,  
CNR-IRSA, sede di Roma-Montelibretti

**Anna Maria De Girolamo**, CNR-IRSA, sede di Bari

**Isabella Parlapiano**, CNR-IRSA, sede di Taranto

*Immagini realizzate con AI (NotebookLM) da Domenica Mosca Angelucci*

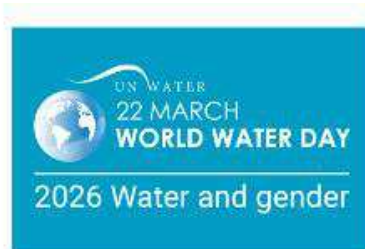


## Numero speciale dedicato al World Water Day

### Parità di genere nelle discipline STEM e nell'ingegneria: ieri, oggi, domani

Come ogni anno dal 1992 è stata istituita dall'ONU la World Water Day, giornata mondiale dedicata all'acqua, che si celebra il 22 Marzo. Il tema del 2026 è "Water and Gender", tema quanto mai attuale. Con lo slogan "Where Water Flows, Equality Grows" si pone l'attenzione sull'impatto della crisi idrica sulle donne e sulla parità di genere nei processi decisionali in materia di acqua e di gestione sostenibile delle risorse naturali. A causa di ruoli di genere radicati, infrastrutture inadeguate, finanziamenti limitati, norme sociali e disuguaglianze sistemiche, le donne sono maggiormente colpite dalle crisi idriche.

La campagna per la Giornata Mondiale dell'Acqua 2026 chiede un approccio trasformativo e basato sui diritti, in cui le donne abbiano pari voce, leadership e opportunità nei processi decisionali in materia di acqua, rendendo l'acqua una forza per un futuro più sano, prospero e con pari opportunità di genere, a beneficio di tutti.



La campagna *World Water Day 2026* promuove dunque un approccio trasformativo e basato sui diritti, con l'obiettivo di garantire alle donne pari voce, leadership e opportunità nella *governance* dell'acqua, sostenendo direttamente gli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile (SDG 5 sulla parità di genere e SDG 6 sull'acqua pulita). Il tema di quest'anno valorizza pertanto il ruolo cruciale delle donne come professioniste, leader, ingegnere e scienziate nel settore idrico. In tale contesto è doveroso ricordare Emma Strada, pioniera, prima donna in Italia a laurearsi in ingegneria civile nel 1908, probabilmente non avrebbe certo immaginato che, nel terzo millennio, il gap di genere nell'ingegneria fosse una sfida ancora aperta. Ebbene sì, nonostante i progressi degli ultimi decenni in ambito STEM (*Science, Technology, Engineering and Mathematics*), l'ingegneria resta uno dei settori tecnici con la minore presenza femminile.

Il gap ha radici profonde. Ai tempi dell'ingegnera Emma Strada, si scoraggiavano le ragazze dall'intraprendere studi ingegneristici in modo implicito ed esplicito. L'ingegneria era percepita come disciplina "dura", legata ai cantieri e ad un immaginario maschile. Ma si sa, gli stereotipi di genere sono duri a morire, e così permane ancora oggi un forte squilibrio di genere, sebbene negli ultimi decenni la presenza femminile nelle discipline ingegneristiche sia cresciuta. Nel mondo del lavoro, il divario si amplifica: le donne sono meno rappresentate nei ruoli tecnici apicali, nei contesti decisionali, nella direzione dei progetti, in settori come la gestione delle risorse idriche, le grandi opere o la protezione idrogeologica e nella pianificazione per lo sviluppo sostenibile.

Non si tratta di una mancanza di competenze, di ambizioni o di capacità di affrontare le sfide ma di un sistema sociale e culturale che fatica ad adattarsi alla diversità. Bisogna ammettere che l'organizzazione della famiglia è ancora sbilanciata sulle donne, che hanno maggiori difficoltà nel conciliare vita professionale e personale. La piena disponibilità, la mobilità ed orari poco flessibili sono ostacoli invisibili ma invalicabili per molte donne.

Secondo l'ultimo rapporto del Centro Studi del Consiglio Nazionale degli Ingegneri, circa il 27,8% dei laureati in ingegneria in Italia è di genere femminile (dati Istat, media anno 2024), una cifra in costante crescita rispetto al passato ma ancora ben lontana dalla parità completa. Nell'anno accademico 2023-24, le immatricolazioni femminili nei corsi di laurea in ingegneria hanno raggiunto il 28,1%, il valore più alto mai registrato in Italia. Le donne in possesso di un titolo di laurea ad indirizzo ingegneristico costituiscono circa il 7% dell'intera popolazione femminile italiana laureata. Tali laureate sono concentrate soprattutto nelle fasce più giovani della popolazione; poco più del 6% ha un'età superiore a 65 anni (Figura 1).

#### KEY MESSAGES FOR WORLD WATER DAY 2026

- THE GLOBAL WATER CRISIS AFFECTS EVERYONE – BUT NOT EQUALLY.

*Where people lack the human rights to safe drinking water and sanitation, inequalities flourish, with women and girls bearing the brunt. It's time to centre women and girls in water solutions.*

- WOMEN MUST SHAPE THE FUTURE OF WATER.

*Water services must withstand climate change and meet everyone's needs. We need a transformative, rights-based approach to solving the water crisis, where women's voices, leadership and agency are fully recognized.*

- WHERE WATER FLOWS, EQUALITY GROWS.

*When women and girls have equal voice in water decisions, services become more inclusive, sustainable and effective. We must invest in women's leadership to make water a force for a healthier, more prosperous, gender-equal future that will benefit us all.*

FONT: UNITED NATIONS - WATER DAYS 2026



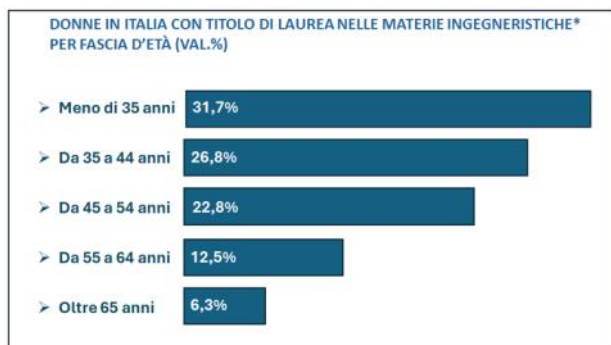
Il fenomeno non è solo italiano. Nei paesi OCSE, solo un laureato su tre nelle discipline ingegneristiche è donna, con percentuali ancora più basse in settori altamente tecnici o tecnologici. Negli Stati Uniti, ad esempio, i dati del *Bureau of Labour Statistics* indicano che circa il 17% degli ingegneri civili sono donne,

una cifra significativa ma ancora ben sotto la parità. Anche nel Regno Unito e in altri paesi, analoghi rapporti segnalano che la percentuale di donne nei ruoli ingegneristici varia tra il 15 e il 17%, sebbene in aumento negli ultimi anni.

Se guardiamo i dati relativi alle discipline STEM in generale, secondo il Rapporto di genere Almalaurea 2026, le laureate in Italia sono un numero contenuto e stabile: tra i laureati STEM del 2024 le donne sono il 41,1% (contro il 60% sul totale delle discipline) con una percentuale invariata dal 2015. Secondo il Rapporto Almalaurea 2024 (Figura 2), nel settore scientifico che include Fisica, Matematica, Biologia, Scienze Chimiche e Chimica

Industriale, e Biotecnologie, tali percentuali si ribaltano, con una prevalenza femminile (60%) tra i laureati italiani nel 2023.

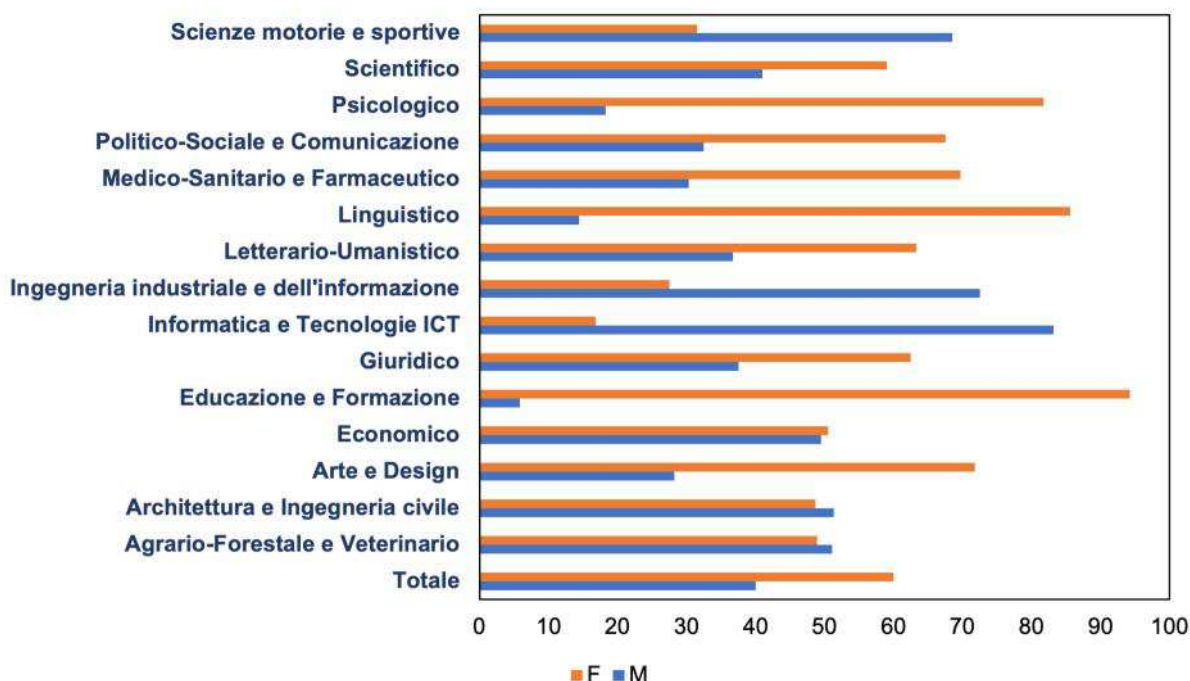
Nel mondo della ricerca scientifica, secondo il Rapporto SHE FIGURES 2024 dell'Unione Europea, nel 2021, la percentuale delle dottorande in Italia è stato del 49% (48% in Europa) ma nei settori STEM si scende fino al 35% nelle materie ingegneristiche e 25% in Matematica. Tuttavia, nel mondo accademico, la rappresentanza femminile diminuisce ulteriormente, soprattutto nelle posizioni di vertice. Per quanto riguarda il numero di ricercatrici, in Italia è pari al 42% (la media europea è 44%) ma nei settori STEM si va dal 45% in Scienze Naturali al 28% in Ingegneria e Tecnologia. La sottorappresentazione femminile è ancora più marcata nelle posizioni apicali degli enti di ricerca, dove le donne costituiscono solo il 26% in Europa e il 28,7% in Italia. Il cosiddetto "soffitto di cristallo" nel mondo accademico e della ricerca è ancora una barriera invisibile tra i cui effetti si annoverano l'esclusione dai ruoli decisionali, minore accesso ai finanziamenti di ricerca, e talvolta abbandono della carriera accademica. L'Unione Europea ha posto l'uguaglianza di genere tra le priorità, integrando il tema "*gender dimension*" nei programmi quadro della ricerca e promuovendo cambiamenti istituzionali. Il rapporto della Commissione Europea *Promoting gender equality and institutional changes* (2025) riporta i progressi compiuti e gli squilibri strutturali su cui è necessario intervenire.



**Figura 1.** Donne con titolo di laurea nelle materie ingegneristiche per fascia di età.

(\*) Sono comprese anche le laureate nelle classi di laurea attinenti all'Architettura

Fonte: stima Centro studi CNI su dati Forze Lavoro Istat - media 2024.



**Figura 2.** Dati disaggregati per genere per gli studenti italiani laureati nel 2023 nelle diverse discipline.  
Fonte Rapporto Almalaurea (2024).

Ridurre il *gap* di genere non è solo una questione di equità, ma anche di qualità del lavoro. La sostenibilità dell'uso delle risorse naturali affronta oggi sfide complesse: cambiamento climatico, eventi estremi, gestione sostenibile dell'acqua e del territorio. Affrontarle richiede approcci multidisciplinari, sensibilità diverse e capacità di integrare aspetti tecnici, ambientali e sociali. La diversità di genere può contribuire ad una visione più ampia e a soluzioni più inclusive ed efficaci. Negli ultimi anni stanno emergendo segnali positivi: programmi di orientamento nelle scuole, reti professionali femminili che promuovono la presenza femminile nell'ingegneria (es. WIE – *Women in Engineering; Inspiring Girls* Italia; EWES – *European Women Engineers Society*), politiche di inclusione nelle università e nelle aziende, maggiore attenzione al linguaggio. Tuttavia, il cambiamento richiede un impegno strutturale culturale e sociale continuo: azioni a livello educativo che incoraggino le ragazze fin dai primi anni scolastici, abbattere gli stereotipi, valorizzare le competenze, promuovere leadership femminili e ripensare l'organizzazione del lavoro.

Colmare il *gap* di genere nell'ingegneria significa investire nel futuro del settore e, più in generale, in una società capace di affrontare con competenza, innovazione e giustizia le sfide che i cambiamenti globali richiedono. Nel campo del *water gender*, questo è ancora più importante. Infatti, è ampiamente riconosciuto che le donne ingegnere e le professioniste del settore agro-ambientale stanno avendo un impatto significativo e trasformativo nella gestione degli ecosistemi e delle risorse agricole, introducendo approcci interdisciplinari, soluzioni innovative, una visione orientata alla sostenibilità e prospettive inclusive. Nuove opportunità si presentano alle giovani Ingegnere in ricerca e innovazione ed in ambito operativo legate alla transizione ecologica, alla gestione sostenibile delle risorse naturali, alla sicurezza idrica e alimentare ed all'adattamento climatico. Investire nella loro formazione e partecipazione significa rafforzare la resilienza dei territori, migliorare la qualità delle decisioni e costruire un modello di sviluppo più giusto, efficace e sostenibile.

A cura di:

**Anna Maria De Girolamo**, *CNR Istituto di Ricerca Sulle Acque, sede di Bari*

**Domenica Mosca Angelucci e Paola Grenni**,  
*CNR Istituto di Ricerca Sulle Acque, sede di Roma-Montelibretti*

### Bibliografia/Fonti

Fondazione Consiglio Nazionale Degli Ingegneri, Elaborazione Centro Studi CNI (2025) L'universo femminile nell'ingegneria italiana. Indagine 2025. [info@fondazionecni.it](mailto:info@fondazionecni.it)

United Nations (2025) <https://www.un.org/en/observances/water-day> (accesso 13 febbraio 2025)

Rapporto di genere AlmaLaurea (2026) [https://www.almalaurea.it/sites/default/files/2026-02/sintesi\\_rapportogenerealmalaurea2026.pdf](https://www.almalaurea.it/sites/default/files/2026-02/sintesi_rapportogenerealmalaurea2026.pdf) (accesso 24 febbraio 2026)

Rapporto AlmaLaurea (2024) XXVI Indagine Profilo dei Laureati 2023, <https://www2.almalaurea.it/cgi-php/universita/statistiche/visualizza.php?area=ingegneria&anno=2023&corstipo=tutti&ateneo=tutti&facolta=tutti&gruppo=tutti&livello=tutti&area4=tutti&pa=tutti&classe=tutti&postcorso=tutti&isstella=0&isstella=0&presui=tutti&disaggregazione=gruppo&LANG=it&CONFIG=profilo> (Accesso 24 febbraio 2026)

SHE FIGURES 2024 (2024) Gender in Research and Innovation: Statistics and Indicators, European Commission. <https://projects.research-and-innovation.ec.europa.eu/en/knowledge-publications-tools-and-data/interactive-reports/she-figures-2024> (Accesso 24 febbraio 2026)

European Commission (2025) Promoting Gender Equality and Institutional Changes through EU-Funded Research. Booster Service 5.1

# Residui e metaboliti di farmaci nell'ambiente: sviluppo delle metodologie spettrochimiche per il loro rilevamento, identificazione e quantificazione

a cura di

*Paolo Inaudi, Ornella Abollino, Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino, Torino*

*Paola Bottoni, già Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*Rosa Anna Grifa, Commissione di Studio per i Rapporti con le Aziende Farmaceutiche, Società Italiana di Telemedicina*

*Sergio Caroli (\*), già Istituto Superiore di Sanità, Roma; FullCRO Srl, Roma*

## RIASSUNTO

L'articolo presenta una rassegna delle tecniche spettrochimiche per l'analisi dei residui di farmaci nei comparti ambientali, negli alimenti e nei mangimi, nonché nei luoghi di lavoro, basata su una valutazione sistematica della letteratura scientifica pubblicata nel periodo 2015-2025. Vengono inoltre illustrate le metodologie più attuali e in uso per il pretrattamento dei campioni nonché per le procedure di convalida. Le molteplici versioni della spettrometria di massa accoppiata alle diverse modalità di cromatografia liquida risultano essere attualmente quelle più largamente impiegate per la determinazione dei residui di farmaci. Le tecniche spettrochimiche e microscopiche risultano peraltro essere spesso utilizzate per la rimozione di tali residui da svariate matrici, nonché per la caratterizzazione di materiali innovativi. La ricerca ha evidenziato una chiara tendenza verso lo sviluppo di metodi multi-residuo, ecocompatibili ed efficienti per l'ottimizzazione delle determinazioni analitiche, l'interpretazione dei dati sperimentali e la messa a punto di strategie innovative per la limitazione del fenomeno della dispersione ambientale dei residui di prodotti medicinali.

## SUMMARY

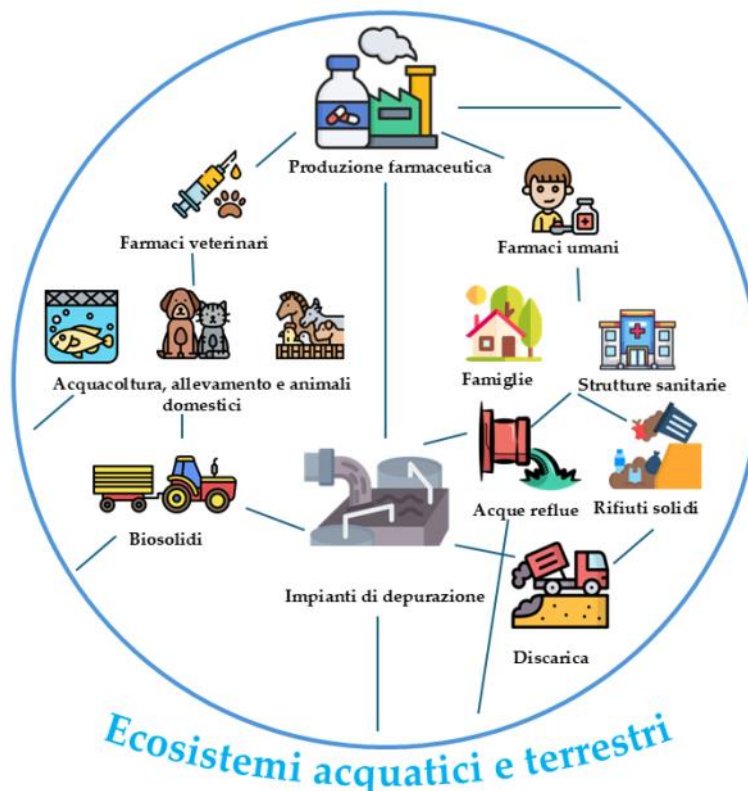
A systematic review of spectrochemical techniques for the analysis of drug residues in the environment, food and feed, and workplaces was conducted through a comprehensive evaluation of the scientific literature published between 2015 and 2025. Trends in sample pretreatment and validation procedures were also highlighted. Multiple versions of mass spectrometry coupled with various liquid chromatography modalities appear to be the most widely used for the determination of drug residues. Spectrochemical and microscopic techniques are also frequently used for the removal of such residues from various matrices, as well as for the characterization of innovative materials. The overall picture shows a clear trend toward the development of multi-residue, environmentally friendly, and efficient methods for optimizing analytical determinations, interpreting experimental data, and developing innovative strategies for limiting the environmental dispersion of drug residues.

### Acronimi utilizzati nel testo

|                                                 |                                                          |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| AOP Advanced Oxidation Process                  | MS Mass Spectrometry                                     |
| API Active Pharmaceutical Ingredient            | MEPS Micro-Extraction by Packed Sorbent                  |
| DART Direct Analysis in Real Time               | MRL Maximum Residue Level                                |
| DLLME Dispersive Liquid-Liquid Micro-Extraction | Q Quadrupole                                             |
| DSPE Dispersive Solid Phase Extraction          | QuEChERS Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe |
| EDX Energy Dispersive X-ray                     | R <sup>2</sup> Coefficient of Determination              |
| EMR Enhanced Matrix Removal                     | RSD Relative Standard Deviation                          |
| FPSE Fabric Phase Sorptive Extraction           | SBSE Stir Bar Sorptive Extraction                        |
| FTIR Fourier Transform Infrared (spectroscopy)  | SEM Scanning Electron Microscopy                         |
| HPLC High Performance Liquid Chromatography     | SERS Surface-Enhanced Raman Spectroscopy                 |
| HR High Resolution                              | SPE Solid Phase Extraction                               |
| LC Liquid Chromatography                        | TEM Transmission Electron Microscopy                     |
| LoD Limit of Determination                      | UHPLC Ultrahigh Performance Liquid Chromatography        |
| LoQ Limit of Quantification                     | WWTP Wastewater Treatment Plant                          |
|                                                 | XRD X-Ray Diffraction                                    |

\* [sergio.caroli@libero.it](mailto:sergio.caroli@libero.it), [sergio.caroli@gmail.com](mailto:sergio.caroli@gmail.com), [sergio.caroli@fullcro.org](mailto:sergio.caroli@fullcro.org)





**Figura 1.** Principali vie di rilascio dei farmaci umani e veterinari nell'ambiente. Schema modificato sulla base della figura pubblicata dall'OECD nel documento *Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses*, OECD Publishing, 2019. Pharmaceutical Residues in Freshwater, OECD.

## 1. INTRODUZIONE

Questo articolo ha lo scopo di valutare quale sia attualmente il potenziale delle tecniche spettrochimiche per rilevare, identificare e quantificare residui di farmaci nonché dei loro metaboliti e prodotti di degradazione nell'ambiente, negli alimenti, nei mangimi e nei luoghi di lavoro. A tale scopo è stato esaminato in modo sistematico la letteratura scientifica pubblicata su questo argomento negli ultimi dieci anni.

Questa tematica è attualmente oggetto di una sempre maggiore attenzione da parte della comunità scientifica, come testimoniato dai numerosissimi lavori pubblicati nel corso degli anni, di cui alcuni sono riportati a mero titolo di esempio nei riferimenti elencati in bibliografia (Caroli et al., 2015; EMA, 2024; Inaudi et al., 2025; Lunghi et al., 2025; OECD, 2019; UNEP, 2020; USEPA, 2024).

Questa capacità di indagine risulta di fatto preziosa all'interno della relativamente nuova disciplina denominata Ecofarmacovigilanza, tra gli obiettivi della quale è fondamentale la rapida identificazione, rilevazione e quantificazione ai fini del controllo delle problematiche legate alla presenza di medicinali nell'ambiente. I lavori consultati a questo scopo nell'arco di tempo compreso tra il 2015 ed il 2025 sono circa 300 e sono riportati in Appendice 1<sup>(4)</sup>.

In questo contesto va comunque doverosamente segnalato che anche le tecniche elettrochimiche stanno significativamente guadagnando terreno in un processo di rivalutazione (Berto et al., 2022; Mazzoni et al., 2025). Questa rinascita rinverdisce i riconoscimenti

riscossi alcuni decenni or sono dalle metodologie elettrochimiche.

I farmaci sono certamente essenziali per il mantenimento della salute, ma d'altro canto essi possono essere causa di inquinamento dell'aria, dell'acqua, del suolo e degli alimenti lungo tutto il loro ciclo di vita, dalla produzione all'uso e allo smaltimento (si veda la Figura 1).

Livelli rilevabili di API, metaboliti e prodotti di degradazione sono presenti nelle acque (superficiali, potabili, sotterranee, marine), nei suoli/sedimenti, nei biota, negli alimenti, nei mangimi, nei luoghi di lavoro e nelle strutture sanitarie.

Poiché il trattamento convenzionale delle acque reflue è spesso insufficiente per l'eliminazione dei residui dei farmaci, questi tendono ad accumularsi nei vari ecosistemi e possono quindi costituire una minaccia per la salute umana come avviene nel caso della induzione della resistenza dei microrganismi agli agenti antimicrobici

## 2. SISTEMI CONSIDERATI

I principali sistemi presi in esame per le finalità di questo articolo sono stati:

- **WWTP, acque reflue, acqua potabile, fiumi, laghi, acqua di mare.** In questo ambito non pochi studi hanno valutato anche nuove tecnologie di rimozione come quelle che fanno ricorso a processi di ossidazione avanzata, membrane adsorbenti, fitocatalisi, nanofiltrazione e strutture organometalliche;
- **Suoli e sedimenti.** Studi di questo tipo sono con-

<sup>(4)</sup> L'Appendice 1 è disponibile su richiesta rivolgendosi agli autori o scrivendo a: [redazione@irsa.cnr.it](mailto:redazione@irsa.cnr.it).

dotti più raramente di quelli di cui al punto precedente. È stato possibile comunque evidenziare come tali matrici siano rilevanti per l'accumulo di farmaci come conseguenza del trattamento con letame dei terreni agricoli, l'irrigazione con acqua contaminata e lo smaltimento di scarti di produzione;

- **Biota.** In questo caso vi è una chiara evidenza di bioaccumulo di farmaci in pesci, molluschi, crostacei e altri organismi acquatici, anche se sussistono tuttora significative lacune di conoscenza circa i meccanismi di trasferimento trofico;
- **Alimenti e mangimi.** Per questo tipo di matrice la massima attenzione è rivolta ai farmaci veterinari e ad altre sostanze vietate in carne, pesce, latticini, uova e mangimi. Le normative di rilievo in questo campo circa i MRL accettabili sono i parametri che guidano lo sviluppo e la convalida dei metodi di analisi.

## 2. TENDENZE NEL PRETRATTAMENTO DEI CAMPIONI

A causa della complessità delle matrici soggette ad esame e delle basse concentrazioni dei residui di farmaci in esse riscontrate, diviene fondamentale sviluppare procedure di preparazione dei campioni per l'analisi idonee allo scopo.

La maggior parte dei metodi utilizza estrazione con solvente (spesso acetonitrile, frequentemente acidificato, ad esempio, con acido formico o acetico) seguita da SPE o da un opportuno processo di purificazione. I pretrattamenti più frequenti includono DLLME, DSPE, EMR, FPSE, MEPS, QuEChERS, SBSE, SPE e SPE magnetica.

Il flusso di lavoro tipico segue lo schema estrazione → purificazione → evaporazione sotto azoto → ricostituzione in acqua-metanolo (o acqua-acetonitrile) → filtrazione/centrifugazione → analisi con LC-MS.

Il metodo QuEChERS è spesso segnalato come eco-compatibile ed efficiente, particolarmente per matrici alimentari e organismi biologici.

## 3. INDICATORI DI QUALITÀ E CONVALIDA

I metodi utilizzati generalmente permettono di ottenere:

- LoD/LoQ nell'intervallo di pochi ng/L (acqua) o inferiori ai µg/kg (solidi/alimenti);
- buona linearità ( $R^2 \geq 0,99$ );
- recuperi tipici del 70–120%;
- precisione (RSD) < 15–20%.

Viene sempre posta enfasi sulla necessità di convalida dei metodi analitici in termini di accuratezza, incertezza, LoD/LoQ, recupero, ripetibilità, riproducibilità e specificità per garantire affidabilità, tracciabilità e confrontabilità dei dati spettrochimici.

## 4. RISULTATI

Dal confronto delle frequenze di utilizzo delle varie tecniche spettrochimiche riportate nella letteratura scientifica presa in esame in questo articolo, si evince

con chiarezza che quelle che fanno uso di MS/MS in combinazione con tecniche di LC in generale e di HPLC e UHPLC in particolare sono le preferite, con una percentuale di impiego in costante aumento, oggi attestata a circa il 94% del totale. Va inoltre sottolineato come ci siano indicazioni di una crescente popolarità della tecnica SERS mentre sembra declinare l'utilizzo di DART-MS/MS, HPLC-Q-HR-MS e HR-MS.

Peraltro è interessante notare come molti studi utilizzino EDX, FTIR, SEM, TEM, XRD ed altro ancora per caratterizzare nuovi materiali adsorbenti, membrane, fotocatalizzatori e nanocompositi per rimuovere i residui di farmaci dai corpi idrici. In linea di massima il loro uso per la caratterizzazione dei materiali assomma a percentuali del 35% per FT-IR, 35% per SEM, 17% per XRD e 6,5% ciascuno per EDX e TEM, dimostrando così la funzione chiave delle tecniche spettroscopiche e microscopiche nello sviluppo di nuove tecnologie di bonifica

## 5. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

Tenendo conto di quanto esposto sopra si possono formulare alcune considerazioni di carattere generale, in particolare:

- negli ecosistemi e nelle matrici alimentari i residui di farmaci più frequentemente rilevati sono attribuibili all'impiego di antibiotici (spesso per uso veterinario), farmaci anti-infiammatori non steroidei, farmaci per il sistema nervoso centrale, ormoni, farmaci per le patologie cardiovascolari ed altro ancora;
- gli effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue sono ritenuti fonti principali di farmaci nei corpi idrici. I processi convenzionali spesso non riescono infatti a rimuoverli se non in parte;
- un certo numero di studi tra quelli esaminati è dedicato alla valutazione del rischio, ad esempio usando parametri quali lo *Hazard Quotient* e il *Margin of Exposure*. Ciò porta in genere ad una classificazione del rischio da basso a medio, mentre il rischio risulta più elevato nel caso di farmaci particolari e specifiche situazioni locali;
- la pressione normativa, in particolare per i farmaci veterinari e la sicurezza alimentare, risulta essere un fattore chiave nello sviluppo di metodi spettrochimici innovativi;
- si riscontrano notevoli lacune e pertanto necessità di ulteriori ricerche per ciò che concerne le proprietà fisico-chimiche e il destino ambientale di non pochi nuovi API, i meccanismi e l'efficacia delle tecnologie di rimozione, il bioaccumulo, il trasferimento trofico, gli effetti combinati dei componenti di miscele di farmaci, le interazioni tra suolo/sedimenti e biota, una migliore comprensione dei meccanismi di resistenza agli antibiotici e lo sviluppo di tecnologie di trattamento maggiormente integrate, come ad esempio l'uso di membrane con AOP e i bioreattori che impiegano funghi.

Le tecniche spettrochimiche, in particolare la LC-MS/MS, sono strumenti indispensabili per il monitoraggio dei residui di farmaci e certamente resteranno tali ai

fini della sicurezza ambientale e alimentare. È auspicabile da questo punto di vista che:

- si sviluppino metodi multi-residuo per quantificare più farmaci in un'unica corsa analitica;
- la preparazione dei campioni evolva verso impostazioni più ecocompatibili, meno complesse e di maggiore efficienza;
- si adottino strategie di purificazione dei campioni da sottoporre all'analisi più adatte ai vari scopi.

È facilmente prevedibile, infine, che ulteriori progressi siano legati alla combinazione delle tecniche spettrochimiche con tecnologie emergenti quali l'intelligenza artificiale e il *machine learning* al fine di ottimizzare l'analisi e l'interpretazione dei dati, la valutazione del rischio e, in ultima istanza, l'attendibilità delle informazioni sperimentali.

## BIBLIOGRAFIA

Berto S, Cagno E, Prenesti E, Aragona G, Bertinetti S, Giacomino A, Inaudi P, Malandrino M, Terranova E, Abollino O (2022) Voltammetric Study for the Determination of Diclofenac in Aqueous Solutions Using Electro-Activated Carbon Electrodes, *Appl. Sci.* 12:7983. <https://doi.org/10.3390/app12167983>

Bottoni P, Caroli S (2015) Detection and Quantification of Residues and Metabolites of Medicinal Products in Environmental Compartments, Food Commodities and Workplaces. A Review. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 106:3–24. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.06.016>

EMA (2024) European Medicines Agency. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. Reference Number: EMEA/CHMP/SWP/4447/00. <https://www.ema.europa.eu/en/environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-scientific-guideline>

Inaudi P, Abollino O, Bottoni P, Grifa RA, Caroli S (2025) The Role of Spectrochemical Techniques for the Detection, Identification, and Quantification of Residues and Metabolites of Pharmaceuticals in the Environment: A Review of Developments in Ecopharmacovigilance over the Past Decade. *Appl. Spectrosc. Rev.* 60:1086 – 1155. <https://doi.org/10.1080/05704928.2025.2507212>

Lunghi C, Valetto MR, Barra Caracciolo A, Bramke I, Caroli S, Bottoni P, Castiglioni S, Crisafulli S, Cuzzolin L, Deambrosis P, Giunchi V, Grisotto J, Marcomini A, Moretti U, Murgia V, Pandit J, Polesello S, Poluzzi E, Romizi Scarpa RN, Scroccaro G, Sorrentino R, Sundström A, Wilkinson J, Paolone G (2025) Call to Action: Pharmaceutical Residues in the Environment: Threats to Ecosystems and Human Health. *Drug Saf.* 48:315–320. <https://doi.org/10.1007/s40264-024-01497-3>

Mazzoni L, Abollino O, Fabbri D, Marafante M, Locatelli M, Perrucci M, Giacomino A, Inaudi P (2025) Portable Electrochemical Sensor for Trace Analysis of Ciprofloxacin in Water and Pharmaceutical Samples. *Microc. J.* 115:295. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.115295>

[j.microc.2025.115295](https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.115295).

OECD (2019) Organisation for Economic Co-operation and Development. Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses. OECD Studies on Water, OECD Publishing, Paris, [https://www.oecd.org/en/publications/pharmaceutical-residues-in-freshwater\\_c936f42d-en.html](https://www.oecd.org/en/publications/pharmaceutical-residues-in-freshwater_c936f42d-en.html)

UNEP (2020) United Nations Environment Programme. Environmentally Persistent Pharmaceutical Pollutants (EPPPs) - Assessment Report on Issues of Concern. <https://doi.org/10.1787/c936f42d-en>.

USEPA (2024) Environmental Protection Agency, Contaminants of Emerging Concern Including Pharmaceuticals and Personal Care Products. Washington DC, USA: US EPA. <https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>

# Il modello di solubilità di Hansen applicato alla predizione di “uptake” di contaminanti organici su polimeri plastici: un approccio innovativo per l’ottimizzazione di processi di rimozione e la valutazione del destino ambientale degli inquinanti

a cura di

Nicolas Pennazza, Domenica Mosca Angelucci (\*), M. Concetta Tomei, CNR, Istituto di Ricerca sulle Acque, Sede di Roma-Montelibretti

## RIASSUNTO

La diffusione di contaminanti organici di origine antropica nei diversi comparti ambientali costituisce una delle principali sfide per la tutela dell’ambiente e della salute umana. I materiali plastici possono interagire con tali composti attraverso processi di *uptake* governati dall’affinità termodinamica, agendo sia come mezzi assorbenti in sistemi di trattamento innovativi, sia come matrici passive di accumulo, come nel caso delle microplastiche disperse negli ambienti acquatici. La modellizzazione previsionale delle interazioni polimero-contaminante risulta fondamentale sia per l’ottimizzazione delle tecnologie di rimozione sia per la valutazione del destino ambientale degli inquinanti.

Il presente lavoro analizza l’applicazione di approcci termodinamici predittivi basati sui parametri di solubilità, con particolare riferimento ai Parametri di Solubilità di Hansen (HSP), per descrivere e quantificare l’affinità tra polimeri e contaminanti organici. Vengono presentati dei casi studio per entrambi gli ambiti di applicazione, che dimostrano come il modello di Hansen sia in grado di prevedere l’affinità polimero-contaminante con buona correlazione rispetto ai dati sperimentali di partizione. Nel complesso, i modelli termodinamici basati sugli HSP si configurano come strumenti predittivi robusti e versatili, la cui affidabilità richiede tuttavia un’adeguata validazione sperimentale in funzione delle specifiche condizioni operative o ambientali.

## SUMMARY

The widespread occurrence of anthropogenic organic contaminants in environmental compartments is one of the major challenges for environmental protection and human health. Plastic materials can interact with these compounds through uptake processes governed by thermodynamic affinity, acting both as sorbent media in innovative treatment systems and as accumulation media, as in the case of microplastics dispersed in aquatic environments. Predictive modelling of polymer-contaminant interactions is therefore essential for both optimizing removal processes and assessing the environmental fate of pollutants.

This work analyses the application of the predictive thermodynamic approach based on Hansen Solubility Parameters (HSP), to describe and quantify the affinity between polymers and organic contaminants. Case studies are presented for different application fields, demonstrating that the HSP model can effectively predict polymer-contaminant affinity, showing good correlation with experimental partitioning data. Overall, HSP-based thermodynamic models emerge as robust and versatile predictive tools; however, their reliability requires appropriate experimental validation under specific operational or environmental conditions.

## 1. INTRODUZIONE

La diffusione di contaminanti organici di origine antropica nei diversi comparti ambientali rappresenta una delle principali sfide per la protezione dell’ambiente e della salute umana. Composti quali idrocarburi policiclici aromatici (IPA), fenoli, pesticidi, farmaci e intermedi industriali sono caratterizzati da proprietà chimico-fisiche che ne determinano persistenza, mobilità e potenziale tossicità. In tale contesto, la modellizzazione previsionale dei processi di *uptake* su materiali plastici ha un ruolo centrale, sia per lo sviluppo di tecnologie di rimozione innovative basate sull’utilizzo di materiali plastici che per la valutazione del destino ambientale degli inquinanti eventualmente assorbiti da plastiche e microplastiche disperse in ambiente.

I polimeri plastici, infatti, possono dar luogo a processi di *uptake* di contaminanti organici in funzione dell’affinità polimero-contaminante la cui entità è funzione delle caratteristiche strutturali del polimero stesso, delle proprietà chimico-fisiche del composto e di diversi fattori ambientali. Essi possono agire sia nei sistemi di trattamento quali materiali assorbenti, come avviene ad esempio nei reattori biologici a due fasi noti come TPPBs dalla definizione *Two-Phase Partitioning Bioreactors* (Quijano et al., 2009), che come matrici passive di accumulo, come avviene per le microplastiche disperse negli ambienti acquatici (Teuten et al., 2009) che diventano così vettori di contaminazione. Il processo di *uptake* è governato da interazioni molecolari di natura termodinamica tra

\* [domenica.moscaangelucci@cnr.it](mailto:domenica.moscaangelucci@cnr.it)



soluto (contaminante) e matrice polimerica la cui previsione quantitativa è piuttosto complessa, a causa dell'eterogeneità strutturale dei polimeri, della varietà dei contaminanti e dell'influenza delle condizioni operative o ambientali che sono caso-specifiche.

Per la modellizzazione della termodinamica dei processi di assorbimento si applicano approcci empirici o semi-empirici, quali le isoterme di equilibrio (e.g. Langmuir, Freundlich, ecc.). Sebbene tali strumenti risultino utili per l'interpretazione dei dati sperimentali, essi presentano limitazioni intrinseche: la parametrizzazione è specifica per ciascun sistema e le capacità predittive al di fuori delle condizioni sperimentali risultano spesso limitate (Wang e Guo, 2020). In questo scenario emerge l'esigenza di approcci termodinamici in grado di descrivere in modo più generale l'affinità tra contaminanti organici e materiali polimerici, in relazione ai diversi contesti applicativi.

Uno dei metodi predittivi termodinamici consolidati per la previsione dell'affinità tra due sostanze è quello basato sui Parametri di Solubilità di Hansen (*Hansen Solubility Parameters*, HSP), inizialmente sviluppato per predire la miscibilità in sistemi liquido-liquido sulla base del concetto "*like attracts like*" (Hansen, 2007) e successivamente esteso a sistemi solido-liquido in cui la fase solida è un polimero plastico con prevalente tendenza a sviluppare fenomeni di assorbimento come avviene nei liquidi. Il modello di Hansen quale strumento predittivo è stato impiegato in studi precedenti sia per l'ottimizzazione delle prestazioni di reattori TPPBs applicati al trattamento di reflui industriali operanti con polimeri quale fase di partizione (Bacon et al., 2014; Poleo e Daugulis, 2014; Tomei et al., 2017), che per la valutazione del ruolo di microplastiche quali vettori di contaminazione ambientale (Lionetto et al., 2023; Mosca Angelucci e Tomei, 2022; Mosca Angelucci et al., 2025).

In questo lavoro vengono presentati alcuni esempi applicativi sull'utilizzo di tale approccio modellistico per i due ambiti sopra citati.

## 2. PRINCIPIO DEL METODO

I metodi termodinamici predittivi sono strumenti utilizzati per la valutazione teorica delle condizioni di equilibrio termodinamico tra polimeri e contaminanti. Essi si basano su diverse proprietà termodinamiche che descrivono l'energia e la stabilità delle interazioni tra le specie chimiche, in particolare l'energia libera di Gibbs di miscelazione, l'entalpia e l'entropia di miscelazione, l'energia di coesione e le forze intermolecolari che determinano l'equilibrio tra le fasi.

### 2.1 Aspetti teorici dei modelli predittivi basati sui parametri di solubilità

Un primo approccio modellistico basato sui parametri di solubilità fu proposto da Hildebrand e Scott (1962) con l'obiettivo di definire un semplice criterio quantitativo per prevedere la miscibilità tra liquidi non polari e stimare l'entalpia di miscelazione a partire da caratteristiche misurabili come l'energia di vaporizzazione e il volume molare. Il metodo considera le interazioni binarie che si instaurano tra due sostanze, esprimen-

dole con il parametro di solubilità di Hildebrand ( $\delta$ ), anche definito "parametro di energia di coesione" poiché deriva dall'energia necessaria per convertire un liquido in vapore. Il parametro di solubilità di Hildebrand è definito come:

$$\delta = \sqrt{\frac{E}{V}}$$

dove  $V$  è il volume molare del solvente puro, in questo caso assimilato al polimero, ed  $E$  la sua energia di vaporizzazione, misurabile sperimentalmente. L'energia di vaporizzazione è una misura diretta dell'energia coesiva totale che tiene insieme le molecole del liquido.

Il parametro  $\delta$  è correlato al calore di vaporizzazione  $\Delta H^M$ : per una coppia solvente-soluto, esso è dato da:

$$\Delta H^M = \phi_1 * \phi_2 * V_M * (\delta_1 - \delta_2)^2$$

dove  $\phi_1$  e  $\phi_2$  sono le frazioni di volume di soluto e solvente, mentre  $V_M$  è il volume della miscela.  $\Delta H^M$  esprime il contributo entalpico dell'energia libera di Gibbs associata al mescolamento di un soluto ed un solvente, secondo la relazione:

$$\Delta G^M = \Delta H^M - T * \Delta S^M$$

Il processo di miscelazione è spontaneo per valori di  $\Delta G^M$  negativi. Noto che in una operazione di miscelazione il contributo entropico  $\Delta S^M$  risulta necessariamente positivo in valore assoluto, il valore entalpico  $\Delta H^M$  deve tendere al minimo possibile per rendere il processo favorito termodinamicamente. Questo equivale a dire che, minore è la differenza tra i valori di  $\delta$  del solvente e del soluto, migliore sarà la miscibilità tra loro e di conseguenza la loro affinità termodinamica.

I valori di  $\delta$  sono disponibili per un grande numero di composti e solventi in manuali tecnici (Brandrup et al., 1999; CRC, 2022) o banche dati (NIST, 2025).

Una limitazione del modello di Hildebrand e Scott è quella di tener conto soltanto delle interazioni binarie tra solvente e soluto, il parametro  $\delta$  non tiene conto, infatti, della possibile presenza di acqua e di altre possibili interazioni, quali i legami idrogeno. Questa limitazione viene superata dal metodo HSP sviluppato da Hansen (2007).

### 2.2 Metodo HSP

Nell'approccio sviluppato da Hansen, il parametro  $\delta$  viene considerato come costituito da tre diversi contributi, ciascuno associato ad un diverso tipo di interazione:

$$\delta_{HSP} = \sqrt{\delta_D^2 + \delta_P^2 + \delta_H^2}$$

dove  $\delta_D$  è associato alle interazioni non polari, ad esempio le forze di dispersione,  $\delta_P$  è associato alle interazioni polari, quali le interazioni dipolo-dipolo, mentre  $\delta_H$  è associato ai legami idrogeno.

Questo approccio è stato formulato considerando che l'energia di vaporizzazione  $E$  è costituita dalla somma delle energie di vaporizzazione associate alle diverse

tipologie di interazioni. Nei composti organici, le tre principali interazioni presenti sono quelle non polari, alle quali corrisponde l'energia coesiva di dispersione ( $E_D$ ), le interazioni polari, alle quali è associata l'energia coesiva polare ( $E_P$ ) e i legami idrogeno, la cui energia coesiva associata è  $E_H$ . L'energia coesiva totale ( $E$ ) è quindi espressa dalla formula:

$$E = E_D + E_P + E_H$$

Dividendo queste energie coesive per il volume molare, si ottengono i valori dei parametri di solubilità di Hansen:

$$\left(\frac{E}{V}\right) = \left(\frac{E_D}{V}\right) + \left(\frac{E_P}{V}\right) + \left(\frac{E_H}{V}\right)$$

da cui:

$$\delta_{HSP}^2 = \delta_D^2 + \delta_P^2 + \delta_H^2$$

Come per il metodo di Hildebrand, anche i parametri di Hansen  $\delta_{HSP}$  sono tabulati per un grande numero di polimeri e di contaminanti, disponibili anche in questo caso in manuali (Hansen, 2007) oppure in database (HSPiP, 2026). In alternativa, possono essere determinati mediante metodi di stima basati su contributi di gruppo o approcci teorici (Hansen, 2007). Noti i parametri di solubilità, si ricava la "distanza"  $R_a$  espressa dalla seguente espressione:

$$R_a = \sqrt{4 * (\delta_{DP} - \delta_{DC})^2 + (\delta_{PP} - \delta_{PC})^2 + (\delta_{HP} - \delta_{HC})^2}$$

dove i pedici P e C si riferiscono al polimero/solvente e al contaminante/soluto.  $R_a$  equivale alla distanza al di sotto della quale la solubilità tra solvente e soluto è termodinamicamente favorita. In altre parole, minore è il valore di  $R_a$  maggiore è l'affinità tra le due sostan-

ze.

A differenza dell'approccio di Hildebrand, come già sottolineato, il metodo di Hansen non considera un singolo parametro per rappresentare un composto, ma utilizza uno spazio tridimensionale approssimabile ad una sfera (Figura 1). Ogni asse dello spazio tridimensionale è rappresentato da un tipo di interazione coesiva e le coordinate del centro della sfera corrispondono ai valori dei parametri HSP del soluto (in Figura 1 viene riportato come esempio il fenolo). Il raggio della sfera equivale al termine  $R_0$ , che viene determinato sperimentalmente con misure di solubilità di un dato soluto in un gran numero di polimeri/solventi. Il raggio  $R_0$  determina quindi la distanza limite al di sotto della quale un polimero/solvente deve trovarsi per essere in grado di assorbire/solubilizzare il soluto in questione. La solubilità, o l'alta affinità termodinamica, richiede quindi che il parametro  $R_a$  tra solvente e soluto risulti inferiore del valore  $R_0$  calcolato sperimentalmente. Per quantificare lo stato di solubilità/affinità si definisce il rapporto *Relative Energy Distance* (RED):

$$RED = \left(\frac{R_a}{R_0}\right)$$

Bassi valori di RED indicano alte affinità tra soluto e solvente (come nel caso dei polimeri riportati in blu in Figura 1), al tendere a 1 del valore di RED l'affinità tra le due specie diminuisce. Un valore di RED uguale a 1 corrisponde alla condizione limite per la quale il solvente risulta affine con il soluto.

### 3. ESEMPI APPLICATIVI

Nei paragrafi successivi vengono presentati alcuni casi applicativi del metodo HSP nei due contesti citati che vedono i polimeri da un lato come materiali assorbenti utilizzati per la rimozione di contaminanti, dall'altro come potenziali vettori di contaminazione.

Il metodo HSP è stato impiegato quale strumento predittivo in diversi ambiti per la pianificazione sperimentale ossia per definire il set ottimale di test e ridurre i tempi della sperimentazione. Tale peculiarità è particolarmente vantaggiosa nei casi in cui l'equilibrio termodinamico tra polimeri e contaminanti può instaurarsi in scale temporali molto lunghe, a volte difficilmente replicabili in laboratorio, come ad esempio succede nel caso delle microplastiche. Infine, è importante sottolineare che l'affidabilità dei risultati ottenuti con modelli predittivi e la loro possibilità di estrapolazione ad altre condizioni operative deve essere confermata con un processo di validazione basato su prove sperimentali ad hoc.

#### 3.1 Simulazione del funzionamento di reattori TPPB

L'impiego di polimeri commerciali in forma granulare quale fase di partizione nei reattori biologici TPPB applicati al trattamento di reflui industriali costituisce una strategia innovativa che si basa sull'affinità del contaminante da rimuovere con una fase polimerica immiscibile (introdotta in un reattore biologico) che consente di modulare la concentrazione del contami-



**Figura 1.** Sfera di solubilità del fenolo e di una serie di polimeri commerciali (Hytrel® G3548, Hytrel® 8206, Pebax® 2533) e puri (Polipropilene, PDMS: polidimetilsilossano o gomma silconica, HDPE: polietilene ad alta densità, NBR: gomma nitrilica). In blu i polimeri con RED <1, in rosso quelli con RED >1. (Immagine generata con NotebookLM).

nante stesso in fase acquosa, riducendone la tossicità per i microrganismi e migliorando così l'efficienza di biodegradazione (Amsden et al., 2003). I polimeri infatti, oltre ad essere biocompatibili con la biomassa, sono in grado di assorbire elevate quantità di contaminante che si distribuisce, in funzione del coefficiente di partizione, tra la fase acquosa e la fase polimerica. Il rilascio del contaminante nella fase acquosa è controllato dal ripristino dell'equilibrio termodinamico a seguito del consumo di contaminante da parte della biomassa nella fase acquosa consentendo, in tal modo, di operare in condizioni di tossicità ridotta per la biomassa.

La selezione del polimero più idoneo rappresenta un passaggio critico nella progettazione dei sistemi TPPB e può essere effettuata attraverso la valutazione preventiva dell'affinità termodinamica tra il materiale polimerico e il contaminante target (Priebe e Daugulis, 2018). L'utilizzo dei parametri di Hansen come strumento predittivo consente di razionalizzare tale scelta, superando approcci puramente empirici e riducendo il numero di prove sperimentali necessarie.

Bacon et al. (2014) hanno applicato il metodo HSP per prevedere l'affinità tra il polimero poli(n-butyl acrilato) e un'ampia varietà di molecole organiche. Sono infatti stati testati 16 composti appartenenti a diverse classi chimiche: alcoli (dal n-butanol al n-ottanol), chetoni (acetone, MIBK, cicloesano), eteri (THF, MTBE, anisolo), esteri (acetato di etile, acetato di n-butile) e aromatici (benzene, toluene), mentre il polimero investigato è stato scelto perché essendo polimero amorfo favorisce i fenomeni di assorbimento con cui operano i reattori TPPB. Gli autori hanno applicato il modello e calcolato la distanza  $R_a$  per ogni coppia polimero-contaminante, osservando una buona correlazione lineare ( $R^2=0.82$ ) tra i valori di  $R_a$  e i coefficienti di attività misurati sperimentalmente. I risultati ottenuti confermano che minori valori di  $R_a$  corrispondono a una maggiore affinità con il polimero e che il modello basato sugli HSP è un valido tool per classificare i polimeri in base alla loro capacità di assorbimento.

Poleo e Daugulis (2014) hanno applicato 3 modelli predittivi termodinamici (Hildebrand, Hansen e UNIFAC, basato sui coefficienti di attività) per un obiettivo più complesso: identificare un singolo polimero capace di assorbire simultaneamente due contaminanti estremamente diversi tra loro: il fenolo (polare, con forte capacità di formare legami idrogeno) e l'acetato di butile (idrofobico e volatile). Il metodo HSP ha fornito i migliori trend predittivi per 14 diversi materiali polimerici di origine sia commerciale che di scarto. I copolimeri di butadiene e Pebax® 2533 hanno mostrato valori sperimentali del coefficiente di partizione (PC) più elevati per l'acetato di butile, mentre tutti i copolimeri a base di polietere hanno mostrato valori di PC relativamente elevati per il fenolo. È importante notare che questi polimeri presentavano anche i valori di  $R_a$  più bassi ottenuti con il metodo HSP. Pebax® 2533 è stato quindi identificato come il polimero più idoneo ad assorbire entrambi i contaminanti studiati grazie all'elevata affinità termodinamica prevista, alla sua elevata frazione amorfa, pari all'80%, e alla bassa  $T_g$  (glass transition temperature o temperatura di

transizione vetrosa).

Le applicazioni precedentemente descritte riguardano materiali polimerici in forma granulare utilizzati in reattori TPPB, ma un'evoluzione tecnologica di tali sistemi basata sull'utilizzo di tubi permeabili costituiti da materiali polimerici è stata proposta da Tomei et al. (2016). Tale configurazione impiantistica offre un vantaggio aggiuntivo rispetto alla configurazione TPPB convenzionale: oltre a consentire di ridurre la tossicità del contaminante, essa permette di separare completamente la soluzione contenente composti tossici dalla biomassa tramite il tubo polimerico. In questo sistema, infatti, l'acqua da trattare scorre all'interno del tubo e i composti organici diffondono attraverso la parete del tubo stesso nella fase liquida del bioreattore, dove vengono biodegradati. Tale configurazione è particolarmente adatta al trattamento di acque reflue definite "ostili", ossia caratterizzate ad esempio da elevata salinità, pH estremi e specie inorganiche tossiche, poiché l'affinità con il polimero consente solo a specifiche molecole organiche di attraversare le pareti del tubo raggiungendo la biomassa (Mosca Angelucci et al., 2017; 2022). Un ulteriore vantaggio risiede nella possibilità che una volta rimossi i contaminanti organici tossici, il refluo trattato in uscita dal tubo può essere smaltito in sicurezza o riutilizzato o sottoposto a recupero di eventuali altri composti presenti di valore.

Nel lavoro di Tomei et al. (2017), il metodo HSP è stato fondamentale per selezionare il tubo polimerico da utilizzare in un bioreattore TPPB applicato al trattamento di acque ad elevata salinità caratterizzate da un contenuto di NaCl pari a 100 g/L e dalla presenza di un composto tossico, il 2,4-dimetilfenolo (DMP, 1.2 g/L). L'obiettivo era selezionare un tubo la cui parete fosse permeabile al DMP, ma non al sale, consentendo così il trasferimento del contaminante organico nella fase liquida del bioreattore contenente la biomassa per la degradazione, senza esporla ad elevate concentrazioni di sale. Sono stati considerati 3 diverse formulazioni del polimero commerciale Hytrel® (i.e. G3548, 4056 e 8206) e la gomma siliconica (polidimetilsilossano o PDMS). Il confronto dei valori degli HSP dei polimeri testati per il composto target (DMP) ha evidenziato una netta superiorità dell'Hytrel® G3548 ( $R_a = 7.0$ ) rispetto al PDMS ( $R_a = 16.3$ ). Questa differenza può essere giustificata considerando che il PDMS, essendo altamente idrofobico, ha un'affinità minore per il DMP (che ha un carattere parzialmente idrofilo) come confermato anche dai test di partizione effettuati nel lavoro.

### 3.2 Predizione del ruolo di microplastiche quali vettori di contaminazione ambientale

L'applicazione dei modelli predittivi termodinamici è stata di recente estesa allo studio del ruolo delle microplastiche quali *carrier* di contaminanti organici (Mosca Angelucci e Tomei, 2022). Vengono di seguito presentati esempi applicativi del modello di Hansen sia come strumento da utilizzare per la costruzione del disegno sperimentale che procedure sperimentali condotte per validarne le predizioni.

Un primo esempio è tratto dal lavoro di Mosca Ange-



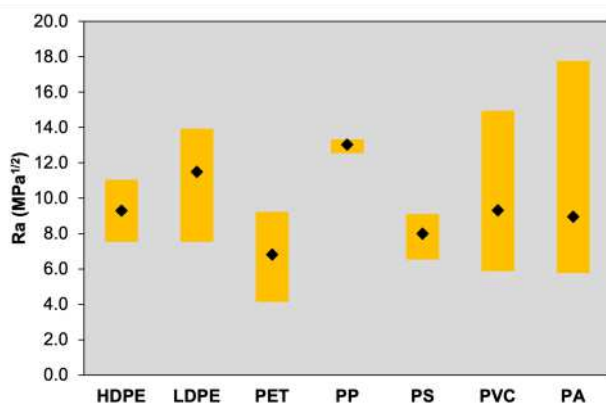
lucci et al. (2025) in cui il metodo HSP viene utilizzato in modo preliminare per determinare la condizione ottimale da testare in laboratorio. Questo studio è focalizzato sull'effetto combinato di un antibiotico, la ciprofloxacina (CIP) e di microplastiche sulla comunità microbica di acqua sorgiva raccolta da un ghiacciaio roccioso nelle Alpi Italiane, in particolare sulla valutazione dell'effetto sinergico contaminante/microplastica sulla composizione batterica e sullo sviluppo e l'evoluzione di geni di resistenza agli antibiotici (ARGs).

Lo studio propone per la prima volta un'applicazione originale del metodo HSP per preselezionare le microplastiche destinate a test di assorbimento di un antibiotico specifico in condizioni ambientali particolari quali quelle dei ghiacciai alpini. Per la selezione del polimero ottimale sono stati considerati diversi polimeri basandosi sulla loro diffusione nell'ambiente e sul loro utilizzo, ossia poliammide (PA), polietilene ad alta densità (HDPE), polietilene a bassa densità (LDPE), polietilene tereftalato (PET), polipropilene (PP), polistirene (PS), e polivinilcloruro (PVC). Per ogni coppia polimero-CIP è stato calcolato il valore di  $R_a$ , come riportato in Figura 2, considerando valori di parametri HSP disponibili in letteratura relativi a diverse formulazioni dei polimeri in esame (Hansen, 2007). Sulla base dei valori di  $R_a$  calcolati, è stata definita una scala di affinità dei polimeri considerati con il composto target ottenendo:

$$PP < LDPE < HDPE = PVC < PA < PS < PET.$$

Il metodo individua quindi il PET come il polimero più affine al composto target CIP, per cui la sperimentazione è stata successivamente effettuata con microplastiche a base di PET ottenute dallo sminuzzamento di bottiglie di uso comune.

Questa conclusione è in accordo con la struttura chimica della CIP: essa possiede infatti diversi gruppi funzionali polari come gruppi carbossilici o chetonici, un anello piperazinico e un anello aromatico fluorurato, che forniscono la possibilità di formare forti legami idrogeno. Tra i polimeri considerati, il PET è quello che risulta più affine alla struttura di CIP, grazie alla polarità conferitagli dai gruppi estere e alla possibilità di formare legami idrogeno. L'affinità CIP-PET predetta tramite il modello HSP si allinea anche con precedenti studi di letteratura (Lin et al., 2020) confermando la



**Figura 2.** Valori di  $R_a$  (minimo, massimo e media) stimati per le diverse coppie polimero-CIP. Immagine modificata da Mosca Angelucci et al. (2025).

validità del metodo HSP quale tool di predizione anche per le microplastiche.

Un'altra recente applicazione del metodo HSP viene riportata da Lionetto et al. (2023) in uno studio condotto per verificare la rispondenza dei risultati osservati in prove di laboratorio con la teoria termodinamica. L'obiettivo del lavoro è stato quello di studiare l'assorbimento di un altro antibiotico, l'amoxicillina (AMX) da parte di microplastiche di PET, in particolare sono state confrontate particelle di microplastiche di PET raccolte da una spiaggia a Torre Colimena (TA) sottoposte ad invecchiamento, con microplastiche dello stesso polimero ma di natura vergine. Per valutare l'affinità tra PET e AMX, è stato applicato il metodo HSP ad una serie di polimeri (PS, PE e PET) e di contaminanti (11 comuni antibiotici), e le rispettive affinità sono state poi confrontate con la coppia PET-AMX. In particolare, in questo lavoro, i parametri HSP sono stati integrati con due diversi approcci per valutare la rispettiva solubilità di due sostanze (Greenhalgh et al., 1999; Khansary et al., 2017). Entrambi gli approcci confermano la grande affinità tra PET e AMX, giustificata dalla possibile formazione di legami idrogeno tra le due specie, e grazie alla presenza di gruppi polari su entrambe le molecole.

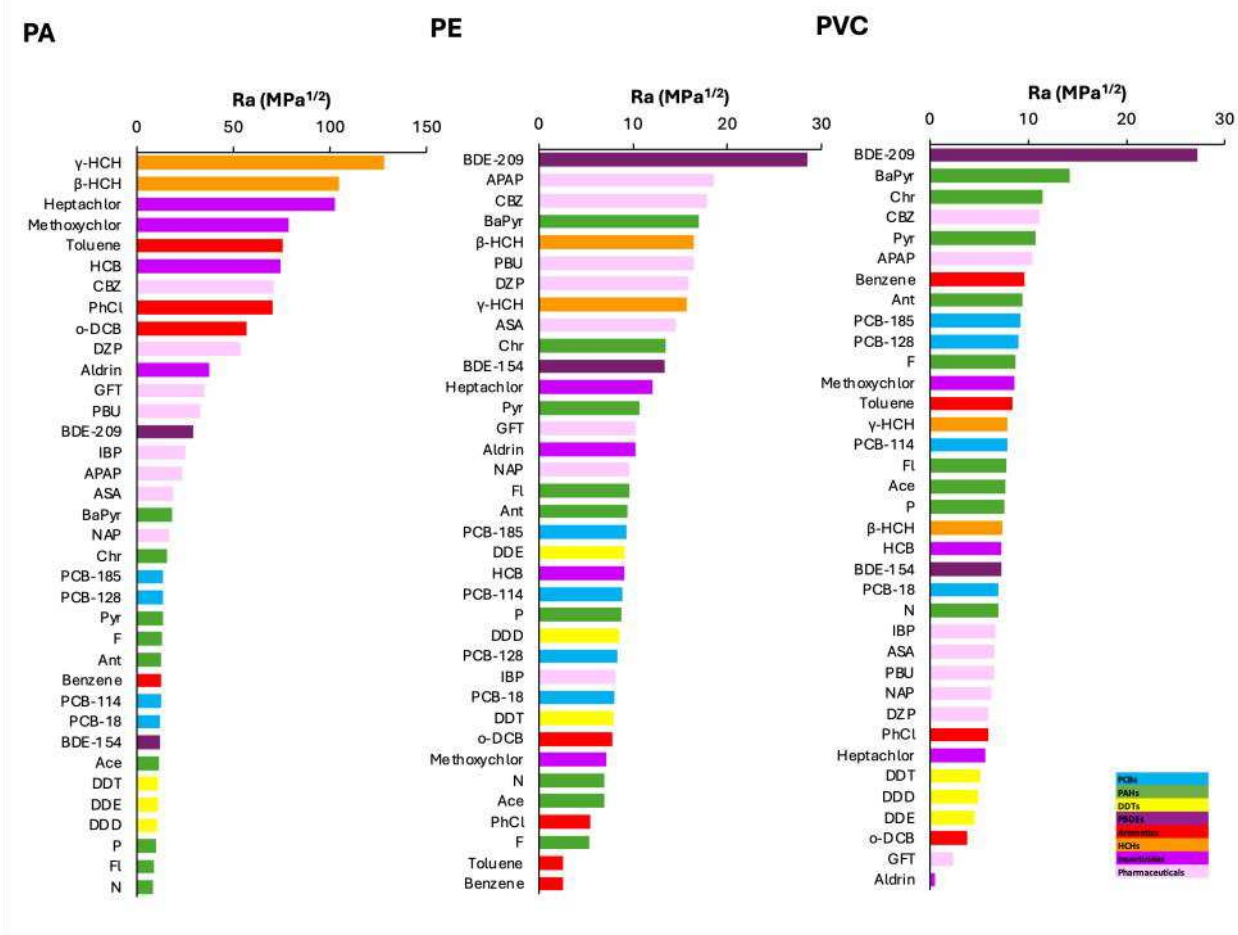
Oltre alle applicazioni già citate, la review di Mosca Angelucci e Tomei (2022), sottolinea l'efficacia dei metodi predittivi di tipo termodinamico – con particolare riferimento al metodo HSP – nell'interpretare il ruolo delle microplastiche come vettori di contaminazione. Tali approcci offrono una chiave di lettura quantitativa per i fenomeni di ripartizione e trasferimento dei contaminanti negli ecosistemi acquatici. In particolare, il metodo HSP è stato utilizzato nel lavoro come strumento predittivo per valutare l'affinità tra una serie di microplastiche (selezionate sulla base dei polimeri maggiormente utilizzati, i.e. PE, PET, PP, PS, PVC e PA) e contaminanti organici appartenenti a diverse categorie di inquinanti, tra cui farmaci, pesticidi, composti aromatici, PBDEs, DDTs, HCHs, PAHs e PCBs. La Figura 3 sintetizza i valori di  $R_a$  stimati per le diverse categorie di inquinanti in relazione ad alcuni (i.e., PA, PE e PVC) dei polimeri considerati nello studio: i composti nella parte alta dei grafici sono quelli con la più elevata affinità con il polimero, e quindi quelli che con maggiore probabilità potrebbero essere accumulati dal polimero in esame. I risultati ottenuti dal modello sono stati quindi confrontati con quelli sperimentali riscontrati in letteratura per diverse combinazioni polimero-contaminante ottenendo corrispondenze più che soddisfacenti.

L'utilizzo di modelli HSP in tale contesto consente di anticipare il potenziale ruolo delle microplastiche come vettori ambientali di composti organici tossici, contribuendo alla valutazione del rischio ecotossicologico associato alla loro presenza negli ecosistemi acquatici.

#### 4. LIMITAZIONI DEL METODO

Eventuali discrepanze tra i risultati sperimentali e le affinità termodinamiche predette dal modello HSP potrebbero dipendere da diversi fattori. In primo luogo, i parametri di Hansen sono generalmente riferiti a





**Figura 3.** Valori di Ra per le diverse categorie di inquinanti associati a PA, PE, e PVC. Immagine modificata da Mosca Angelucci e Tomei (2022).

polimeri puri, mentre i polimeri reali contengono spesso additivi, pigmenti e filler sia nel caso delle microplastiche che in quello dei polimeri, spesso commerciali, utilizzati nei bioreattori TPPB. Tali elementi non sono inclusi nei coefficienti HSP ma potrebbero influenzare significativamente la capacità di uptake dei polimeri. Inoltre, il modello HSP non considera esplicitamente effetti fisici quali dimensione delle particelle, porosità, grado di cristallinità, mobilità delle catene polimeriche, fenomeni di invecchiamento e degradazione, né variabili ambientali come temperatura e pH. Infine, alterazioni superficiali dovute a processi ossidativi o di invecchiamento potrebbero inoltre modificare la polarità dei materiali rispetto alla struttura chimica originale utilizzata nella modellizzazione termodinamica.

## 5. CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha evidenziato come il modello di Solubilità di Hansen (HSP) rappresenti uno strumento efficace per descrivere e quantificare l'affinità tra polimeri e contaminanti organici, sia in ambito tecnologico che nell'ambiente. Nei sistemi di trattamento, l'utilizzo del modello HSP consente di supportare in modo razionale la selezione dei materiali polimerici più idonei, riducendo la quantità di procedure sperimentali e ottimizzando tempi e costi di progettazione. Parallelamente, nell'ambito dello studio delle microplastiche quali vettori di contaminazione, il modello

fornisce una chiave interpretativa quantitativa dei fenomeni di partizione e trasferimento dei contaminanti, potenzialmente utilizzabile per la valutazione del rischio ecotossicologico associato alla loro presenza negli ecosistemi acquatici. Gli scenari previsionali ottenuti dall'applicazione del metodo HSP potrebbero inoltre consentire lo sviluppo di mappe di affinità polimero-contaminante e la costruzione di matrici previsionali in cui, a partire dalla composizione polimerica delle microplastiche presenti in un determinato ambiente, sia possibile anticipare quali contaminanti avranno maggiore tendenza ad adsorbirsi e accumularsi.

## BIBLIOGRAFIA

- AMSDEN, B.G., BOCHANYSZ, J. DAUGULIS, A.J. (2003) Degradation of xenobiotics in a partitioning bioreactor in which the partitioning phase is a polymer. *Biotechnology and Bioengineering* 84, 399-405. <https://doi.org/10.1002/bit.10804>
- BACON, S.L., PARENT, J.S., DAUGULIS, A.J. (2014) A framework to predict and experimentally evaluate polymer-solute thermodynamic affinity for two-phase partitioning bioreactor (TPPB) applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89, 948-956. <https://doi.org/10.1002/jctb.4348>

- BRANDRUP, J.; IMMERGUT, E. H.; GRULKE, E. A., Eds. (1999) *Polymer Handbook*, 4th ed.; Wiley: New York, 1999.
- CRC (2022) *Handbook of Chemistry and Physics*, 103rd ed.; Rumble, J. R., Ed., CRC Press: Boca Raton, FL, 2022.
- GREENHALGH, D.J., WILLIAMS, A.C., TIMMINS, P., YORK, P. (1999) Solubility parameters as predictors of miscibility in solid dispersions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 88, 1182–1190. <https://doi.org/10.1021/js9900856>
- HANSEN, C.M. (2007) *Hansen solubility parameters: A user's handbook* (2nd ed.). CRC Press.
- HSPIP (2026) *Hansen Solubility Parameters in Practice*. <https://www.hansen-solubility.com/HSPIP/>
- HILDEBRAND, J.H., SCOTT, R.L. (1962) *Regular solutions*. Prentice-Hall Inc.
- KHANSARY, M.A., MELLAT, M., SAADAT, S.H., FASIHI-RAMANDI, M., KAMALI, M., TAHERI, R.A. (2017) An enquiry on appropriate selection of polymers for preparation of polymeric nanosorbents and nanofiltration/ultrafiltration membranes for hormone micropollutants removal from water effluents. *Chemosphere* 168, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.049>
- LIN, J., YAN, D., FU, J., CHEN, Y., OU, H. (2020) Ultraviolet-C and vacuum ultraviolet inducing surface degradation of microplastics. *Water Research* 186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116360>
- LIONETTO, F., ESPOSITO CORCIONE, C., MESSA, F., PERRONE, S., SALOMONE, A., MAFFEZZOLI, A. (2023) The Sorption of Amoxicillin on Engineered Polyethylene Terephthalate Microplastics. *Journal of Polymers and the Environment* 31(4), 1383–1397. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02690-0>
- MOSCA ANGELUCCI, D., PIERGIACOMO, F., DONATI, E., PAGANI, L., MINUTI, E., BRUSETTI, L., TOMEI, M.C. (2025) Combined effects of ciprofloxacin and microplastics on alpine spring water microbiota: evidence from glacier-fed microcosm experiments. *Frontiers in Microbiology* 16, 1654589. doi: 10.3389/fmicb.2025.1654589
- MOSCA ANGELUCCI D., STAZI V., DAUGULIS A.J., TOMEI M.C. (2017) Treatment of synthetic tannery wastewater in a continuous two-phase partitioning bioreactor: biodegradation of the organic fraction and chromium separation. *Journal of Cleaner Production* 152, 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.135>
- MOSCA ANGELUCCI D., DONATI, E., TOMEI, M.C. (2022) Extractive membrane bioreactor to detoxify industrial/hazardous landfill leachate and facilitate resource recovery. *Science of the Total Environment* 806 (4), 150892. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150892>
- MOSCA ANGELUCCI, D., TOMEI, M.C. (2022) Uptake/release of organic contaminants by microplastics: a critical review of influencing factors, mechanistic modeling, and thermodynamic prediction methods. *Critical Review in Environmental Science and Technology* 52, 1356–1400. doi: 10.1080/10643389.2020.1856594
- NIST (2025) *Chemistry WebBook*, NIST Standard Reference Database Number 69; National Institute of Standards and Technology: Gaithersburg, MD. <https://webbook.nist.gov>
- POLEO, E.E., DAUGULIS, A.J. (2014) A comparison of three first principles methods for predicting solute-polymer affinity, and the simultaneous biodegradation of phenol and butyl acetate in a two-phase partitioning bioreactor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89(1), 88–96. <https://doi.org/10.1002/jctb.4116>
- PRIEBE, X., DAUGULIS, A.J. (2018) Thermodynamic affinity-based considerations for the rational selection of biphasic systems for microbial flavour and fragrance production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 93(3), 656–666. <https://doi.org/10.1002/jctb.5524>
- QUIJANO, G., HERNANDEZ, M., THALASSO, F., MUÑOZ, R., VILLAVARDE, S. (2009) Two-phase partitioning bioreactors in environmental biotechnology. *Applied Microbiology Biotechnology* 84, 829–846. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2158-6>
- TEUTEN, E.L., SAQUING, J.M., KNAPPE, D.R.U., BARLAZ, M.A., JONSSON, S., BJORN, A., ROWLAND, S.J., THOMPSON, R.C., GALLOWAY, T.S., YAMASHITA, R., OCHI, D., WATANUKI, Y., MOORE, C., VIET, P.H., TANA, T.S., PRUDENTE, M., BOONYATUMANOND, R., ZAKARIA, M.P., AKKHAVONG, K., ... TAKADA, H. (2009) Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 364(1526), 2027–2045. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0284>
- TOMEI, M.C., MOSCA ANGELUCCI, D., DAUGULIS, A.J. (2016) Towards a continuous two-phase partitioning bioreactor for xenobiotic removal. *Journal of Hazardous Materials* 317, 403–415. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.092>
- TOMEI, M.C., MOSCA ANGELUCCI, D., STAZI, V., DAUGULIS, A.J. (2017) On the applicability of a hybrid bioreactor operated with polymeric tubing for the biological treatment of saline wastewater. *Science of the Total Environment*, 599–600, 1056–1063. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.042>
- WANG, J., GUO, X. (2020) Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods. *Journal of Hazardous Materials* 390, 122156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>

# Tecnologie di sequenziamento *long-reads* per il biomonitoraggio ambientale: preparazione delle librerie genomiche, analisi bioinformatica e vantaggi applicativi per il biorisanamento

a cura di

*Bruna Matturro (\*), Luca Niccolini, Davide Corso, Bruno Benedetti, CNR, Istituto di Ricerca sulle Acque, Montelibretti–Roma*

*Andrea Firrincieli, Università degli Studi della Tuscia –Dipartimento per la Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali (UNITUS-DIBAF), Viterbo*

## RIASSUNTO

Le tecnologie di sequenziamento note come *long-reads* basate su nanopori stanno ridefinendo l'approccio al biomonitoraggio microbiologico in ambito ambientale. Nel contesto del biorisanamento, dove la corretta interpretazione del ruolo funzionale dei microrganismi è cruciale, la possibilità di ottenere il sequenziamento *full-length* del gene 16S rRNA (~1550 bp) consente una risoluzione tassonomica fino al livello di specie, riducendo le ambiguità associate agli approcci *short-reads* basati su regioni ipervariabili parziali.

Il presente contributo descrive un *workflow* completo per il sequenziamento *long-reads* mediante tecnologia Oxford Nanopore Technologies (ONT), includendo la preparazione delle librerie genomiche, l'analisi bioinformatica e le strategie di ricostruzione del profilo tassonomico e funzionale. Vengono discussi strumenti dedicati per l'assegnazione specie-specifica (EMU) e per la predizione funzionale indiretta (PICRUST2 e FAPROTAX), evidenziandone potenzialità e limiti.

Nel contesto di sistemi contaminati complessi, caratterizzati da interazioni sintrofiche e processi cometabolici, l'integrazione tra identificazione specie-specifica e inferenza funzionale rappresenta un passaggio interpretativo cruciale per rafforzare il collegamento tra struttura della comunità microbica e potenziale degradativo.

Il sequenziamento *long-reads* si configura pertanto non solo come avanzamento tecnologico, ma come strumento applicativo per supportare decisioni operative nelle diverse fasi del biorisanamento, dalla caratterizzazione preliminare alla valutazione dell'efficacia degli interventi.

## SUMMARY

Long-read nanopore sequencing technologies are reshaping microbial biomonitoring approaches in environmental systems. In the context of bioremediation, where accurate interpretation of microbial functional roles is essential, full-length 16S rRNA gene sequencing (~1550 bp) enables species-level taxonomic resolution, reducing the ambiguities associated with short-read approaches targeting partial hypervariable regions.

This contribution presents a comprehensive workflow for long-read sequencing using Oxford Nanopore Technologies (ONT), including genomic library preparation, bioinformatic processing, and strategies for taxonomic and functional profile reconstruction. Dedicated tools for species-level assignment (EMU) and indirect functional prediction (PICRUST2 and FAPROTAX) are discussed, highlighting both strengths and limitations.

In complex contaminated systems characterized by syntrophic interactions and cometabolic processes, integrating species-level identification with functional inference represents a crucial interpretative step to strengthen the link between microbial community structure and degradation potential. Long-read sequencing therefore emerges not only as a technological advancement, but as an operational tool supporting decision-making across different stages of bioremediation, from site characterization to performance evaluation.

## 1. INTRODUZIONE

Il biomonitoraggio ambientale rappresenta uno strumento a supporto della valutazione dell'impatto antropico sulle matrici ambientali e dell'efficacia delle strategie di mitigazione, inclusi gli approcci di biorisanamento. In tale ambito, l'analisi delle comunità microbiche (microbiomi) costituisce un indicatore biologico particolarmente sensibile e dinamico, in grado di riflettere le modificazioni ambientali e di anticipare

variazioni rilevabili mediante parametri chimico-fisici tradizionali. Nel tempo, il biomonitoraggio microbico si è progressivamente esteso dagli ecosistemi naturali ai contesti antropizzati e ingegnerizzati (Timmis et al., 2017). In questi sistemi, il biomonitoraggio consente di valutare in modo mirato le risposte delle comunità microbiche a differenti stimoli ambientali, pressioni antropiche o interventi di risanamento, nel quadro delle specifiche condizioni idrogeochimiche.

\* [bruna.matturro@irsa.cnr.it](mailto:bruna.matturro@irsa.cnr.it)

Negli ultimi due decenni, tale approccio si è affermato come strumento rilevante nel biorisanamento, sia nelle fasi di caratterizzazione preliminare dei siti contaminati, sia a supporto della valutazione e della scelta delle strategie di intervento, sia nel monitoraggio dell'efficacia delle azioni di bonifica basate su strategie di biorisanamento. Nei sistemi sperimentali in scala di laboratorio, impiegati per lo sviluppo e la validazione di nuove tecnologie, l'analisi dettagliata dei microbiomi rappresenta inoltre un supporto essenziale per l'identificazione di taxa funzionali e per l'ottimizzazione dei processi, inclusa la valutazione della loro trasferibilità alla scala reale.

Nel biorisanamento, gli approcci di biomonitoraggio più frequentemente adottati includono la quantificazione di geni funzionali, che fornisce un'indicazione diretta della presenza e dell'attività metabolica di microrganismi coinvolti in specifici processi biodegradativi (Matturro et al., 2025). Tuttavia, tale approccio non consente di descrivere in modo esaustivo la struttura complessiva delle comunità microbiche né di evidenziare le interazioni ecologiche tra i taxa presenti. Questo aspetto assume particolare rilevanza negli ambienti contaminati complessi, nei quali le condizioni chimico-fisiche, incluse le pressioni antropiche, modulano profondamente la dinamica delle popolazioni microbiche. In tali contesti, i microrganismi possono svolgere ruoli sinergici o competitivi rispetto ai processi di interesse, rendendo necessario un inquadramento più ampio rispetto alla sola presenza di specifici biomarcatori funzionali. Comprendere tali dinamiche è quindi fondamentale per identificare i microrganismi chiave, valutare la sostenibilità dei processi di biorisanamento ed ottimizzare le condizioni operative.

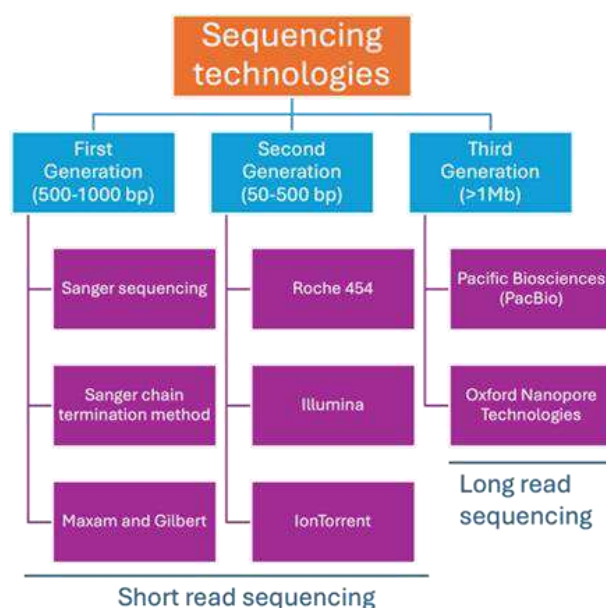
Inoltre, nei casi in cui i processi di degradazione siano sostenuti da microrganismi altamente specializzati (ad esempio batteri dechloranti o idrocarbonoclasti), può risultare relativamente semplice stabilire una correlazione tra biomarcatori funzionali, assegnazione tassonomica e attività biodegradative osservate. In tali situazioni, la presenza di specifici geni può essere interpretata in modo affidabile grazie alla limitata variabilità intra-genere e alla marcata specificità metabolica delle specie coinvolte.

Diversa è la situazione nei processi cometabolici, nei quali la trasformazione degli inquinanti non è accoppiata alla crescita microbica né alla conservazione diretta di energia, ma rappresenta un'attività collaterale del metabolismo primario, mediata da enzimi a bassa specificità di substrato. Tali processi si verificano in comunità microbiche complesse, nelle quali i microrganismi utilizzano substrati principali per il proprio metabolismo e solo incidentalmente trasformano i contaminanti. In questi contesti, la sola presenza di un determinato taxon non implica necessariamente una funzione attiva o rilevante nel contesto del biorisanamento. Inoltre, la ridondanza filogenetica e metabolica può complicare ulteriormente l'interpretazione dei processi biologici: specie filogeneticamente affini, appartenenti allo stesso genere, possono presentare profili funzionali profondamente differenti. Di conseguenza, una risoluzione tassonomica limitata, come quella tipicamente ottenuta mediante approcci *short-*

*reads* (ad esempio la regione V3-V4 del gene 16S rRNA), può condurre a interpretazioni fuorvianti sul ruolo metabolico dei microrganismi all'interno di un microbioma in relazione ai processi di biodegradazione o biotrasformazione dei contaminanti. In assenza di dati ad alta risoluzione, si rischia infatti di attribuire impropriamente attività funzionali a taxa che, nel contesto specifico della matrice ambientale e dell'intervento di bonifica, non sono effettivamente coinvolti nei processi di interesse. Questo limite metodologico può ridurre l'efficacia del biomonitoraggio microbiologico, ostacolando l'identificazione di target funzionali realmente rilevanti. Nonostante tali complessità, il cometabolismo rappresenta una strategia biologica di grande interesse per la trasformazione di contaminanti recalcitranti non degradabili attraverso percorsi metabolici primari. Per supportare adeguatamente tali applicazioni è tuttavia necessario disporre di strumenti in grado di fornire una classificazione tassonomica ad alta risoluzione e, al contempo, una predizione funzionale più accurata.

Negli ultimi anni, le tecnologie di sequenziamento si sono evolute rapidamente, passando dalle metodiche di prima generazione ai sistemi di *Next Generation Sequencing* (NGS) basati su *short-reads*, fino alle più recenti piattaforme *long-reads*, definite tecnologie di terza generazione (Figura 1).

Storicamente, la caratterizzazione dei microbiomi ambientali si è basata prevalentemente sul sequenziamento di *short-reads*, che consente l'analisi di porzioni ipervariabili del gene 16S rRNA (ad esempio la regione V4, ~300 bp). Sebbene tali approcci siano adeguati per studi di biodiversità o per valutazioni ecologiche generali, potrebbero risultare poco esaustivi in contesti applicativi quali il biorisanamento, nei quali è necessario distinguere microrganismi dotati di specifiche capacità degradative, e talvolta è indispensabile l'identificazione a livello di specie. Inoltre, i



**Figura 1.** SDS PAGE dove nella prima "lane" (M) è rappresentata la corsa di una soluzione marker con MW noti per riferimento, mentre le altre "lane" mostrano le corse contemporanee di 11 campioni dello stesso fango attivo campionato in momenti e condizioni diversi.



principali strumenti di predizione funzionale (es. *PI-CRUST*) si basano su inferenze effettuate a partire da livelli tassonomici relativamente elevati, quindi poco specifici, con una conseguente perdita di precisione nell'attribuzione delle funzioni microbiche effettivamente presenti nelle comunità analizzate. L'introduzione delle tecnologie *long-reads* rappresenta una risposta concreta a tali limitazioni. In particolare, piattaforme come *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) consentono il sequenziamento completo del gene 16S rRNA (~1550 bp) in un'unica lettura, permettendo una risoluzione tassonomica più elevata, spesso fino al livello di specie, e una più efficace discriminazione tra taxa strettamente correlati. La disponibilità dell'intera sequenza del gene marcatore filogenetico non solo rafforza l'affidabilità della classificazione tassonomica, ma favorisce anche un'integrazione più solida con strumenti bioinformatici dedicati alla predizione funzionale, migliorando la coerenza e la robustezza nella ricostruzione dei *pathway* metabolici potenzialmente attivi nelle comunità studiate.

In questo quadro metodologico, il presente contributo descrive un *workflow* sperimentale e bioinformatico completo basato sul sequenziamento *long-reads* mediante tecnologia ONT, dalla preparazione delle librerie genomiche all'analisi tassonomica e predizione funzionale tramite *pipeline* dedicate. L'obiettivo è dimostrare come tale approccio possa superare i limiti degli approcci di sequenziamento tradizionali e fornire una caratterizzazione microbiologica più dettagliata, affidabile e direttamente applicabile al monitoraggio e all'ottimizzazione dei processi di biorisanamento.

## 2. TECNOLOGIE LONG-READS: PRINCIPIO E FUNZIONALITÀ

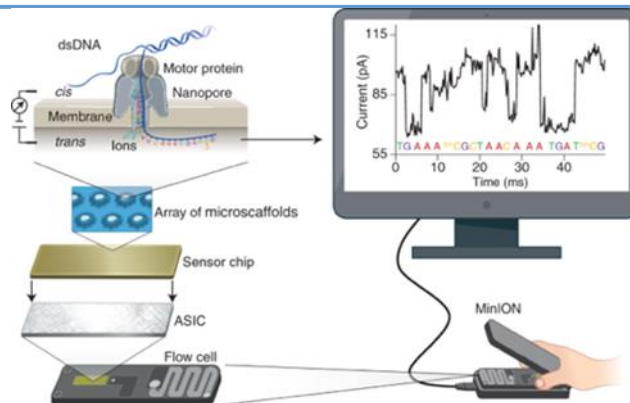
Le piattaforme di sequenziamento *long-reads*, tra cui quelle basate su nanopori, consentono di generare letture (*reads*) di lunghezza superiore a 1 kb, fino ad un massimo teorico > 1 Mb, includendo quindi anche l'intera sequenza del gene 16S rRNA (~1550 bp).

Questa caratteristica rappresenta un avanzamento metodologico rilevante per la caratterizzazione delle comunità microbiche in ambito ambientale, poiché permette di superare alcune limitazioni intrinseche degli approcci *short-reads* basati sul sequenziamento di regioni ipervariabili del 16S rRNA<sup>(1)</sup>.

I principali vantaggi delle tecnologie *long-reads*, in particolare nel biomonitoraggio microbiologico, includono:

- maggiore risoluzione tassonomica fino al livello di specie;
- migliore discriminazione tra taxa strettamente correlati;
- riduzione delle ambiguità filogenetiche;
- maggiore robustezza delle inferenze funzionali indirette, grazie a un collegamento più affidabile tra identificazione tassonomica e genomi di riferimento.

<sup>(1)</sup> Sequenze specifiche utilizzate come marcatori tassonomici per l'identificazione di taxa microbici.



**Figura 2.** Principio di funzionamento del sequenziamento ONT mediante passaggio del DNA nei nanopori presenti sulle *flow cell* (Wang et al., 2021).

Sebbene le tecnologie basate su nanopori abbiano storicamente mostrato tassi di errore superiori rispetto alle piattaforme *short-reads*, i progressi nelle chimiche dei kit di preparazione delle librerie e negli algoritmi di *basecalling*<sup>(2)</sup> hanno incrementato significativamente l'accuratezza (Zhang et al., 2023).

Parallelamente, l'aumento del *throughput* (produttività o capacità di elaborazione; quantità massiva di dati genetici che possono essere generati e analizzati simultaneamente da un campione ambientale complesso) e delle prestazioni complessive ha contribuito a ridurre il divario storico con le tecnologie *short-reads* (Buetas et al., 2024).

### 2.1 Principio di funzionamento di Oxford Nanopore Technologies

Il principio di funzionamento dei sistemi ONT prevede la translocazione di una molecola di DNA attraverso un nanoporo inserito in una membrana: il passaggio dei nucleotidi determina variazioni di corrente ionica, che vengono registrate e successivamente convertite in sequenza nucleotidica mediante algoritmi di *basecalling* (Figura 2).

Oltre agli aspetti tecnologici, ONT presenta un rilevante vantaggio applicativo per il biomonitoraggio ambientale: la portabilità della strumentazione consente analisi rapide e anche potenzialmente on-site, riducendo il tempo tra campionamento e ottenimento dei risultati. L'elevata lunghezza delle *reads* permette inoltre, in determinati contesti, di discriminare non solo a livello di specie ma anche a livello sub-specifico (*strain*), aspetto particolarmente rilevante quando la funzione biodegradativa è associata a varianti genetiche specifiche.

### 2.2 Confronto tra *short-reads* e *long-reads*: implicazioni per il 16S rRNA

Le differenze tra tecnologie *short-reads* e *long-reads* riguardano principalmente:

- la lunghezza delle sequenze generate;

<sup>(2)</sup> Procedure computazionali che convertono i segnali grezzi (corrente elettrica o fluorescenza) in sequenze nucleotidiche.

- il principio di lettura;
- il *throughput*.

Nel sequenziamento *short-reads* si generano generalmente *reads* di circa 300 nt in modalità *single-end* <sup>(3)</sup>, estendibili a ~500 nt in *paired-end*. Questo consente l'analisi di sole porzioni del gene 16S rRNA (V1–V3, V3–V4, V4–V5, ecc.), con classificazione spesso limitata ai livelli superiori alla specie. Nel caso delle tecnologie *long-reads* applicate a genomi interi, si possono ottenere sequenze tipicamente comprese tra 10 e 25 kb, con lunghezze massime teoriche fino a 1 Mb per ONT (Sereika et al., 2022) e 50 kb per PacBio (Han et al., 2024). Per il sequenziamento mirato del 16S, la disponibilità di *reads* di tipo *full-length* (~1550 bp) consente un incremento significativo della risoluzione tassonomica (Biada et al., 2025; Szoboszlai et al., 2023). Inoltre, un ulteriore possibile limite degli approcci *short-reads* riguarda la scelta della regione ipervariabile: regioni differenti possono introdurre bias di rappresentazione e produrre risultati divergenti anche a livelli tassonomici elevati (Jones et al., 2022).

### 2.3 Evidenze di miglioramento nella classificazione: *full-length* vs regioni parziali

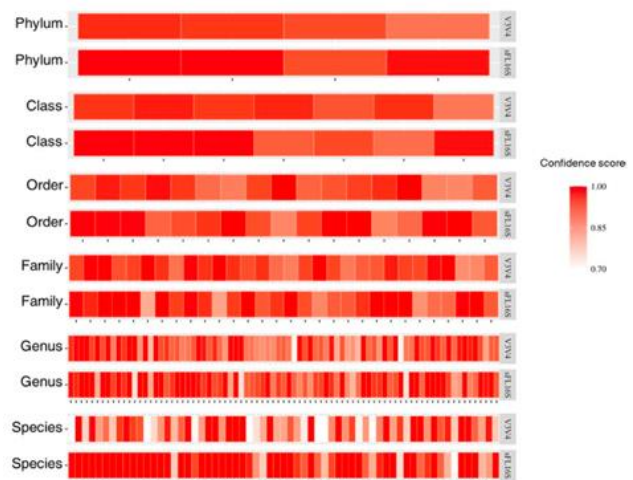
Diversi studi comparativi dimostrano che il sequenziamento *full-length* del gene 16S rRNA aumenta la percentuale di assegnazioni tassonomiche ad alta confidenza, in particolare a livello di specie. Infatti, anche in studi su comunità batteriche a composizione nota (*mock community*<sup>(4)</sup>), i confronti tra *long-reads* e *short-reads* hanno mostrato che il sequenziamento *long-reads* può rilevare taxa non individuati con *short-reads* (Biada et al., 2025).

Nell'articolo di Jeong et al. (2021), il confronto tra 16S parziale e 16S *full-length* evidenzia un incremento sistematico dei *confidence score* lungo tutti i livelli tassonomici, con un vantaggio particolarmente marcato a livello di genere e specie (Figura 3).

Sebbene alcuni confronti siano stati condotti su microbiomi non ambientali, il principio metodologico è generalizzabile ai sistemi contaminati: quando la funzione di interesse non è uniformemente distribuita all'interno di un genere, la distinzione tra specie strettamente correlate diventa un requisito interpretativo essenziale.

### 2.4 *Long-reads* in microbiologia ambientale e razionale specifico per il biorisanamento

Le applicazioni del *long-read sequencing* in microbiologia ambientale sono in crescita, in particolare nel settore del monitoraggio per gli impianti di trattamento delle acque e negli studi sull'antibiotico-resistenza (Nielsen et al. 2017; Dueholm et al., 2023; Sauer-



**Figura 3.** Confronto tra sequenziamento 16S parziale e *full-length* (Jeong et al., 2021) con distribuzione dei punteggi di confidenza.

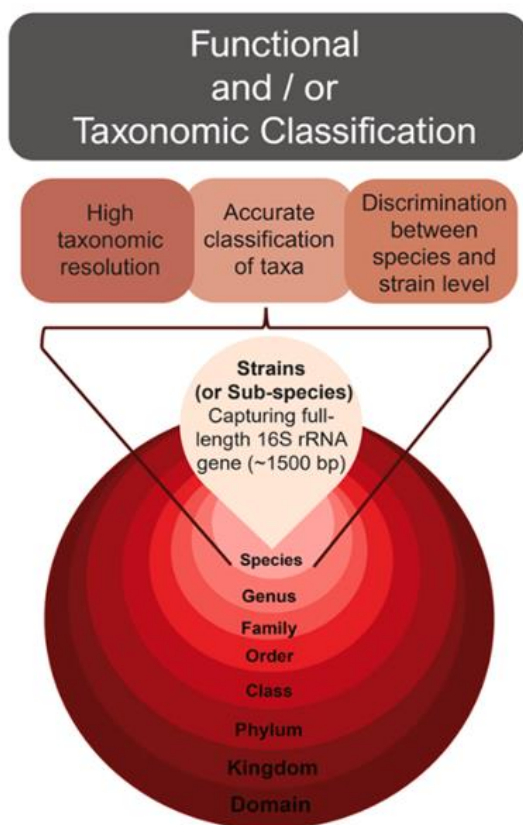
born et al., 2023).

Nel settore del biorisanamento e di studio di processi biotecnologici ambientali innovativi, l'adozione di approcci di indagine basati su *long-reads sequencing* sono ancora limitati (Abruzzese et al., 2025; Resitano et al., 2025; Matturro et al., 2026), nonostante la forte coerenza tra le potenzialità della tecnologia e le esigenze interpretative tipiche dei sistemi contaminati, e più in generale quando i processi in gioco sono complessi e/o dominati da dinamiche metaboliche.

In ambito di bonifica biologica, infatti, l'interesse non è soltanto descrittivo (chi c'è nella comunità), ma soprattutto interpretativo e applicativo (quali microrganismi possono contribuire positivamente o negativamente ai processi di trasformazione/degradazione e in quali condizioni). In questo contesto, il *long-reads sequencing* è particolarmente rilevante perché consente un collegamento più robusto tra struttura e funzione, riducendo il rischio di "*functional overgeneralization*": a livello di genere possono infatti coesistere specie con ruoli funzionali diversi, non comparabili o non direttamente riconducibili a capacità degradative. Questo punto è sintetizzato concettualmente in Figura 4, che evidenzia come, arrestando la classificazione a livelli tassonomici elevati, aumenti il rischio di inferenze funzionali non corrette. Questa criticità è resa anche dagli esempi riportati in Tabella 1, che illustra, in modo certamente non esaustivo, alcuni casi di eterogeneità funzionale intra-genere rilevante per contaminanti di interesse ambientale. L'obiettivo della tabella non è fornire un elenco esaustivo, ma mostrare perché, in contesti applicativi, la risoluzione a livello di specie rappresenta spesso un requisito interpretativo, più che un semplice "plus" descrittivo. Ad esempio, all'interno del genere *Pseudomonas* coesistono specie con capacità di mineralizzazione di idrocarburi aromatici (es. *P. putida*) e specie che possono contribuire solo a trasformazioni parziali o metaboliche (es. *P. fluorescens*). Analogamente, il genere *Geobacter* include specie con ruoli differenti rispetto a solventi clorurati e processi redox (es. *G. metallireducens* vs *G. sulfurreducens*), con implicazioni dirette nella scelta delle strategie operative e nella

<sup>(3)</sup> Modalità *single-end* Consiste nel sequenziare i frammenti di DNA provenienti da una sola estremità. A differenza del *paired-end*, dove il frammento è letto da entrambe le direzioni, la modalità *single-end* produce una singola "read" per frammento.

<sup>(4)</sup> *Mock community*: comunità microbiche a composizione nota.



**Figura 4.** Schema concettuale che illustra il rischio di sovrageralizzazione funzionale quando la classificazione tassonomica si arresta al livello di genere: specie diverse all'interno dello stesso genere possono differire per pre-

valutazione dell'efficacia degli interventi. In sintesi, Tabella 1 e Figura 4 convergono nello stesso razionale applicativo: quando il genere comprende specie con funzioni divergenti, la tassonomia di alto livello non è sufficiente per inferire funzione, e la risoluzione specie-specifica diventa determinante per collegare composizione microbica e processi di degradazione.

Alla luce di quanto sopra, l'impiego di ONT per il biomonitoraggio è sostanzialmente motivato da quattro aspetti chiave:

- **Profilazione specie-specifica:** il *targeting* del 16S *full-length* permette un'identificazione più affidabile a livello di specie delle comunità coinvolte nei processi di bonifica.
- **Evidenze più solide sul ruolo biologico:** specie ben caratterizzate forniscono maggiore robustezza nell'associare presenza microbica e trasformazione/degradazione, soprattutto nei processi cometabolici.
- **Identificazione di specie rare o a bassa abbondanza:** ONT può favorire l'individuazione di taxa meno rappresentati che potrebbero possedere capacità biodegradative peculiari, come anche evidenziato da studi su *mock community*.
- **Predizione funzionale più robusta:** una risoluzione tassonomica più fine supporta l'inferenza funzionale tramite strumenti bioinformatici dedicati.

In questo quadro, nel contesto del biorisanamento e nello studio dei processi biotecnologici ambientali, l'adozione di approcci *long-reads* non rappresenta soltanto un avanzamento tecnologico, ma configura

un passaggio interpretativo cruciale. L'integrazione tra assegnazione tassonomica specie-specifica e predizione funzionale consente infatti di rafforzare in modo sostanziale il collegamento tra struttura della comunità microbica e potenziale metabolico, superando le ambiguità associate a classificazioni limitate a livelli tassonomici superiori.

In termini applicativi, tale integrazione permette di:

- identificare con maggiore affidabilità specie dotate di specifiche capacità degradative e distinguere taxa con ruoli funzionalmente divergenti all'interno dello stesso genere (come riportato in Tabella 1);
- contenere il rischio di sovrageralizzazione funzionale nelle inferenze ecologiche e operative (Figura 4);
- supportare il monitoraggio dinamico delle comunità microbiche nelle diverse fasi delle strategie di biorisanamento, inclusi attenuazione naturale monitorata, biostimolazione e *bioaugmentation*;
- fornire un supporto decisionale più robusto nelle fasi di caratterizzazione preliminare, nella selezione delle strategie di intervento e nella valutazione dell'efficacia degli interventi.

In sistemi ambientali complessi, caratterizzati da interazioni sintrofiche e processi cometabolici, l'analisi *full-length* del gene 16S rRNA consente di attribuire con maggiore solidità specifiche capacità metaboliche a taxa definiti a livello di specie, riducendo il rischio di interpretazioni fuorvianti associate a classificazioni limitate al livello di genere. Rispetto agli approcci basati su regioni ipervariabili parziali, ciò rappresenta un avanzamento metodologico sostanziale per un biomonitoraggio realmente informativo e orientato all'applicazione.

## 2.5 Sequenziamento Long-reads: aspetti bioinformatici

Nel sequenziamento ONT mirato al gene 16S rRNA (approccio *targeted*), così come negli approcci *untargeted* di *Whole Genome Sequencing* (WGS)<sup>(5)</sup>, la fase bioinformatica rappresenta il passaggio attraverso cui il segnale elettrico generato dal nanoporo viene convertito in informazione biologicamente interpretabile. A differenza delle tecnologie basate su *sequencing-by-synthesis*, che restituiscono direttamente la sequenza nucleotidica, ONT produce inizialmente un segnale elettrico grezzo, derivante dalle variazioni di corrente ionica registrate durante la translocazione della molecola di DNA nel nanoporo. La conversione di questo segnale in sequenza nucleotidica costituisce il primo step critico dell'analisi ed è definita come *basecalling*, seguita poi dalla fase di filtrazione per qualità e lunghezza.

A seguito di queste fasi di *pre-processing*, l'analisi può seguire due strategie principali, tra loro integrabi-

<sup>(5)</sup> L'approccio *targeted* consente un sequenziamento mirato a specifiche sequenze geniche (ad es. geni marcatori filogenetici, specifici geni funzionali). L'approccio *untargeted* consente un sequenziamento degli interi genomi dei componenti della comunità microbiche, o di isolati microbici.



**Tabella 1.** Alcuni esempi di specie appartenenti allo stesso genere con ruoli funzionali diversi rispetto ai contaminanti nel contesto di processi di biodegradazione o biotrasformazione.

| Genus                | Specie con funzioni Biodegradative e relativi composti                   | Specie con ruolo ambiguo o co-metabolico                                                                 | Tipo di contaminante                     | Funzioni chiave                                                                                                      |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Pseudomonas</i>   | <i>P. putida</i><br>Toluene, xylene, benzene                             | <i>P. fluorescens</i><br>Co-metabolizza intermedi aromatici durante la degradazione di toluene o xylene. | Idrocarburi del petrolio                 | Genere versatile; solo alcune specie mineralizzano gli inquinanti                                                    |
| <i>Acinetobacter</i> | <i>A. baylyi</i><br>Fenolo, benzoato                                     | <i>A. johnsonii</i><br>Batterio diffuso ma non confermato funzionalmente come degradatore                | Composti aromatici, solventi             | Eterogeneità funzionale all'interno del genere                                                                       |
| <i>Sphingomonas</i>  | <i>S. yanoikuyae</i><br>Fenantrene, naftalene, bifenile                  | <i>S. paucimobilis</i><br>Capacità di degradazione limitata                                              | IPA, composti aromatici                  | La risoluzione a livello di specie è importante a causa delle forti differenze metaboliche                           |
| <i>Mycobacterium</i> | <i>M. vanbaalenii</i><br>IPA (pirene, fluorantene)                       | <i>M. smegmatis</i><br>modifica cometabolicamente gli IPA                                                | IPA                                      | Non tutti i membri degradano efficacemente gli IPA                                                                   |
| <i>Rhodococcus</i>   | <i>R. erythropolis</i><br>Alcani, IPA                                    | <i>R. equi</i><br>Meglio conosciuto come agente patogeno opportunistico                                  | Idrocarburi, composti aromatici          | Alcune specie utilizzate nel biorisanamento, altre non metabolicamente attive in questo contesto                     |
| <i>Alcanivorax</i>   | <i>A. borkumensis</i><br>Batterio marino degradatore obbligato di alcani | Altre specie<br>Meno caratterizzate                                                                      | Alcani (sversamenti di petrolio in mare) | Indicatore robusto a livello di genere; tuttavia, si osserva una significativa variabilità funzionale tra le specie. |
| <i>Geobacter</i>     | <i>G. metallireducens</i><br>TCE, U(VI), Fe(III)                         | <i>G. sulfurreducens</i><br>Principalmente coinvolto nella riduzione del ferro                           | Solventi clorurati, metalli              | Differenze tra le specie nelle loro preferenze in termini di contaminanti e accettori di elettroni                   |
| <i>Polaromonas</i>   | <i>P. naphthalenivorans</i><br>Naftalene, composti aromatici             | <i>P. glacialis</i><br>Meno caratterizzato                                                               | Idrocarburi aromatici                    | Degradatori adattati ad ambienti estremi; nicchia ecologica importante                                               |

IPA: Idrocarburi Policiclici Aromatici; TCE: Tricloroetilene

li, che comprendono la ricostruzione del profilo tassonomico specie-specifico (o al livello tassonomico desiderato) e la ricostruzione del profilo funzionale predetto.

### 2.5.1 Basecalling, qualità del dato e demultiplexing

Il *basecalling* traduce le variazioni di corrente in basi nucleotidiche mediante modelli computazionali addestrati su un *dataset* di riferimento. L'accuratezza di questa fase influenza direttamente l'affidabilità delle analisi successive. Le sequenze generate vengono salvate in formato FASTQ, che include sia la sequenza nucleotidica sia una stringa di punteggi di qualità associati a ciascuna base. Il punteggio di qualità (Q) è definito dalla relazione di seguito:

$$Q = -10 \log_{10} P$$

dove P rappresenta la probabilità di errore nell'assegnazione della base. La natura logaritmica della relazione implica che un incremento di 10 unità nel valo-

re di Q corrisponde a una riduzione di un ordine di grandezza nella probabilità di errore. Questo parametro consente di applicare filtri di qualità stringenti, migliorando la robustezza delle analisi a valle. Nel caso di sequenziamento multiplexato, che consente di sequenziare contemporaneamente più campioni, le librerie includono *barcode* specifici per ciascun campione. Dopo il *basecalling*, le *reads* vengono suddivise nei rispettivi campioni mediante *demultiplexing*<sup>(6)</sup>, che identifica le sequenze *barcode* e assegna correttamente ogni *read* al campione di origine.

### 2.5.2 Filtrazione per qualità e lunghezza

Le *reads* vengono successivamente filtrate sulla base di:

- un punteggio minimo di qualità,

<sup>(6)</sup> Il *demultiplexing* è il processo bioinformatico che separa le sequenze grezze miste provenienti da diversi campioni biologici in file specifici per campione.



- un intervallo di lunghezza coerente con il target sequenziato.

Nel sequenziamento *full-length* del 16S rRNA, l'utilizzo di un range di lunghezza definito (ad esempio 1200–1800 nucleotidi) consente di escludere sequenze incomplete, frammenti artefatti o prodotti di amplificazione non specifici. Questa fase è particolarmente rilevante nei campioni ambientali complessi, nei quali DNA degradato, inibitori o contaminanti possono influenzare la qualità delle letture.

### 2.5.3 Ricostruzione del profilo tassonomico specie-specifico

Le *reads* filtrate vengono allineate contro un database di riferimento del gene 16S rRNA (es. SILVA: <https://www.arb-silva.de>; Greengenes: <https://greengenes2.ucsd.edu>) tramite *mapping*. Strumenti come l'EMU approach (*Expectation-Maximization*, Curry et al., 2022) applicano un algoritmo avanzato di *expectation-maximization*, progettato specificamente per l'analisi di sequenze a lunghezza intera del gene 16S rRNA generate da tecnologie di sequenziamento long-read. EMU stima iterativamente la probabilità di appartenenza di ciascuna *read* alle sequenze di riferimento presenti nel database. Ogni *read* viene assegnata alla specie con probabilità maggiore e, a partire dall'insieme delle assegnazioni, viene calcolata l'abbondanza relativa di ciascun *taxon* nel campione. La disponibilità dell'intera sequenza del gene 16S rRNA favorisce una maggiore stabilità delle assegnazioni a livello specie-specifico rispetto agli approcci basati su regioni parziali, grazie alla maggiore quantità di informazione filogenetica utilizzata nel processo di allineamento.

### 2.5.4 Ricostruzione del profilo funzionale predetto

In alternativa, o in integrazione con la classificazione specie-specifica, le *reads* possono essere raggruppate in cluster in base all'identità delle sequenze. Per ciascun cluster viene scelta la sequenza rappresentativa (OTU), successivamente sottoposta a operazioni di *polishing* per eliminare eventuali errori residui. Il risultato è la costruzione di una tabella di abbondanze, nella quale:

- le righe rappresentano le OTU,
- le colonne rappresentano i campioni,
- le celle riportano il numero di occorrenze delle OTU nei vari campioni.

Alle OTU viene poi associata un'assegnazione tassonomica mediante tool dedicati, integrando informazioni filogenetiche e quantitative. L'uso di *reads full-length* contribuisce a una maggiore coerenza *intra-cluster* e a una migliore definizione delle unità tassonomiche rispetto agli approcci basati su regioni par-

ziali.

Le OTU possono essere utilizzate come *input* per strumenti di predizione funzionale come ad esempio *PICRUSt2* e *FAPROTAX*.

Nello specifico, *PICRUSt2* (Douglas et al., 2020) posiziona le sequenze in un albero filogenetico del 16S e predice il contenuto genico associato, stimando il numero di copie di famiglie geniche per ciascun *taxon*. L'*output* può includere:

- *Enzyme Commission numbers* (EC)<sup>(7)</sup>,
- *KEGG Orthology* (KO)<sup>(8)</sup>,
- *pathway* metabolici.

I risultati possono essere espressi sia come conteggio complessivo delle funzioni per campione sia come contributo dei singoli *taxa* alle funzioni predette.

È importante sottolineare che tali strumenti forniscono una stima indiretta del potenziale metabolico e non una misura diretta dell'attività enzimatica. Tuttavia, una classificazione tassonomica più accurata migliora la coerenza tra sequenze 16S e genomi di riferimento, rendendo l'inferenza funzionale più robusta.

*FAPROTAX* (Louca et al., 2016) rappresenta un'alternativa a minore costo computazionale, basata su associazioni tassonomiche-funzionali derivate da specie coltivate. L'approccio assume che i *taxa* appartenenti allo stesso gruppo tassonomico condividano determinate funzioni, ma può essere limitato dalla rappresentatività del database e dalla non conservazione universale dei *pathway* all'interno dello stesso genere.

## 3. METODOLOGIA

La qualità e l'interpretabilità dei dati di sequenziamento long-reads dipendono in modo determinante dalle fasi pre-analitiche. Il workflow sperimentale comprende:

- estrazione e controllo qualità del DNA;
- amplificazione del gene 16S rRNA *full-length* (in questo articolo tratteremo solo l'approccio *targeted*);
- preparazione della libreria genica;
- controlli finali prima del caricamento in *flow cell*;
- analisi bioinformatica.

### 3.1 Preparazione delle librerie genomiche per sequenziamento long-reads

#### 3.1.1 Estrazione del DNA da matrici ambientali

L'analisi si può eseguire su tutte le matrici ambientali (suoli, sedimenti, acque filtrate), anche se caratterizzate dalla presenza di inibitori (es. acidi umici, composti fenolici, sali) che possono interferire con la PCR e con la preparazione delle librerie. Per massimizzare resa e purezza in DNA e limitare inibizioni si utilizzano kit ottimizzati per matrici ambientali e dotati di *step* di rimozione di inibitori (ad es. kit basati su *bead-beating*, colonne di purificazione, o *step* aggiuntivi), selezionando il protocollo in funzione della matrice e

<sup>(7)</sup> Sistema di classificazione numerica degli enzimi basato sulle reazioni chimiche specifiche che essi catalizzano. Sviluppato dalla *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB), questo codice standardizzato permette di identificare le funzioni enzimatiche in modo univoco, indipendentemente dal nome comune dell'enzima o dall'organismo di provenienza.

<sup>(8)</sup> Risorsa fondamentale del database KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) per classificare i geni in base alle loro funzioni molecolari e a collegarli a sistemi biologici di alto livello.

dal contenuto di biomassa. La qualità del DNA estratto viene valutata sia quantitativamente sia qualitativamente, includendo almeno: concentrazione (approccio di quantificazione fluorimetrica), rapporto di assorbanza A260/A280 e, ove necessario, verifica dell'integrità (mediante gel elettroforetico o strumenti equivalenti quali elettroforesi capillare, quest'ultima particolarmente raccomandata nei casi di sequenziamento WGS *shotgun*). Un DNA ad elevata purezza è essenziale per ridurre *bias* di amplificazione e migliorare la rappresentatività della comunità microbica analizzata

### 3.1.2 Amplificazione del gene 16S rRNA full-length (approccio targeted) e preparazione librerie

Per l'analisi microbiologica basata su marker filogenetici viene amplificata l'intera sequenza del gene (ad es. per il 16S rRNA ~1550 bp) mediante primer universali *barcoded*<sup>(9)</sup> in grado di coprire l'intera regione. Le condizioni PCR sono ottimizzate al fine di: (i) minimizzare *bias* di amplificazione; (ii) limitare la formazione di prodotti aspecifici; (iii) ridurre la probabilità di formazione di chimere, che potrebbero alterare la stima della composizione della comunità microbica.

La preparazione della libreria per il sequenziamento su piattaforma Oxford Nanopore Technologies (ONT) comprende tipicamente le seguenti fasi, in funzione del protocollo e del kit adottato:

- *end-repair* e *da-tailing* (quando previsti dal protocollo/kit);
- ligazione degli adattatori specifici per il sequenziamento su nanopori;
- eventuale *multiplexing* mediante *barcode* (quando si analizzano più campioni nella stessa corsa);
- purificazione e quantificazione finale della libreria.

Per librerie basate su ligazione (gDNA o ampliconi), un riferimento standard è il *Ligation Sequencing Kit V14* (SQK-LSK114, ONT). Per *barcoding "native"* (PCR-free per il *barcoding*, quando applicabile al tipo di libreria), sono disponibili kit/espansioni quali *Native Barcoding Expansion EXP-NBD104/EXP-NBD114*, storicamente utilizzati in combinazione con kit di ligazione, e, nelle versioni più recenti, i *Native Barcoding Kit 24-V14*. Per il sequenziamento del 16S in modalità *amplicon barcoding* sono disponibili kit dedicati, incluse versioni aggiornate per 16S/ITS (*Microbial Amplicon Barcoding Kit*).

Nel presente articolo viene descritto un workflow tipico di sequenziamento long-reads per il 16S rRNA basato su kit dedicato (SQK-16S024, ONT), il cui protocollo di amplificazione è riportato di seguito.

| Mix di reazione                           |       |
|-------------------------------------------|-------|
| Nuclease-free water                       | 5 µl  |
| Input DNA (10 ng)                         | 10 µl |
| LongAmp Hot Start Taq 2X Master Mix (NEB) | 25 µl |
| 16S Barcode                               | 10 µl |

<sup>(9)</sup> Primer a cui si aggiunge una specifica sequenza di nucleotidi nota, al fine di identificare il singolo campione.

| Cicli di amplificazione |                            |
|-------------------------|----------------------------|
| Initial denaturation    | 95 °C per 1 min            |
| Denaturation            | 95 °C per 20 secs/25 cicli |
| Annealing               | 55 °C per 30 secs/25 cicli |
| Extension               | 65 °C per 2 mins/25 cicli  |
| Final extension         | 65 °C per 5 mins           |
| Hold                    | 4 °C                       |

La verifica dell'amplicone (dimensione attesa per 16S rRNA ~1550 bp e assenza di bande aspecifiche) costituisce un controllo intermedio fondamentale prima delle fasi successive di preparazione della libreria. A questo seguono poi:

- purificazione dell'amplicone mediante *beads* magnetiche;
- quantificazione degli ampliconi purificati mediante spettrofluorimetria o elettroforesi capillare dedicata;
- *pooling* delle librerie al fine di ottenere equimolarità dei campioni (secondo SQK-LSK114, 50–100 fmoli in 10 µl di 10 mM Tris-HCl pH 8.0 con 50 mM NaCl);
- caricamento della libreria nella *flow cell* tramite la strumentazione ONT dedicata (ad es. MinION), secondo le indicazioni del produttore.

L'ottimizzazione di ciascuno di questi passaggi, dalla qualità dell'amplicone alla corretta quantificazione e al caricamento in *flow cell*, è essenziale per garantire uniformità di copertura, ridurre perdite di materiale e preservare la rappresentatività delle comunità microbiche analizzate.

### 3.2 Analisi bioinformatica

L'elaborazione bioinformatica dei dati di sequenziamento *long-reads* costituisce una fase determinante per trasformare le *reads* grezze generate dalla piattaforma ONT in informazioni biologicamente interpretabili. Nel caso del sequenziamento *full-length* del gene 16S rRNA, la pipeline non si limita a una successione di passaggi tecnici, ma rappresenta un passaggio chiave di integrazione tra dato molecolare, interpretazione ecologica e microbiologica, ed implicazioni per i processi di biorisanamento.

Infatti, nel contesto del biomonitoraggio di siti contaminati e di sistemi ingegnerizzati per la bonifica, l'analisi bioinformatica deve consentire non solo la descrizione della composizione microbica, ma anche il collegamento tra struttura tassonomica e potenziale metabolico della comunità. Per questo motivo, nel presente lavoro viene adottata una pipeline articolata in due percorsi complementari:

- ricostruzione del profilo tassonomico fino a livello di specie;
- ricostruzione del profilo funzionale predetto a partire dall'informazione tassonomica.

Entrambi i percorsi condividono una fase iniziale di *pre-processing*, per poi divergere nei passaggi specifici di classificazione e inferenza funzionale.

L'integrazione tra assegnazione specie-specifica (EMU), *clustering* con generazione di sequenze *consensus* (LACA) e strumenti di predizione funzionale

(PICRUSt2 e/o FAPROTAX) consente di ridurre il rischio di sovrageralizzazione funzionale e di rafforzare l'interpretazione dei processi biodegradativi. Questo aspetto assume particolare rilevanza in ambienti caratterizzati da interazioni sintrofiche o processi co-metabolici, nei quali, ad esempio le funzioni a carico dei contaminanti, non sono sempre uniformemente distribuite all'interno di uno stesso genere e una classificazione limitata a livelli tassonomici superiori potrebbe risultare fuorviante.

### 3.2.1 Pre-processing dei dati: Basecalling, demultiplexing e filtrazione

Le *reads* di sequenziamento ONT del gene 16S rRNA vengono sottoposte a *basecalling* e *demultiplexing* mediante il software *Dorado* v7.6.7, generando file in formato ".fastq". (<https://github.com/nanoporetech/dorado>). Successivamente, le sequenze contenute nei file ".fastq" vengono filtrate utilizzando *Chopper* v0.8.0 (De Coster & Rademakers, 2023) ed imponendo:

- un limite inferiore di *quality score*;
- una lunghezza compresa tra 1200 e 1800 nucleotidi (gene 16S rRNA ~1550 nt).

Le *reads* che ricadono al di fuori di tale intervallo vengono scartate. La selezione di un intervallo di lunghezza coerente con il 16S *full-length* consente di escludere sequenze incomplete, frammenti artefatti o prodotti di amplificazione non specifici. Questa fase assume particolare rilevanza nei campioni ambientali complessi, dove la presenza di DNA degradato o inibitori può influenzare la qualità del dato.

### 3.2.2 Pipeline per il profilo tassonomico: mapping su database di riferimento e assegnazione tassonomica

Le sequenze filtrate vengono allineate e mappate sul database SILVA v183.2 (Quast et al., 2013; Yilmaz et al., 2014) utilizzando *Emu* v3.5.0 (Curry et al., 2022). In particolare, viene utilizzata la funzione "*emu abundance-map-ont*".

Il tool impiega *Minimap2* v2.28 (Li, 2018) per l'allineamento contro il database di riferimento. Come file di *output* si ottengono:

- un file ".tsv" con le abbondanze relative;
- un file ".bam" con le coordinate di *mapping*;
- un file intermedio in formato ".tsv".

L'algoritmo di *EMU* supera i limiti delle analisi su regioni parziali (come V3-V4) utilizzando un modello probabilistico di *Expectation-Maximization* (EM). L'algoritmo esamina l'intera sequenza, pesando il contributo informativo delle diverse regioni geniche per distinguere specie correlate che risulterebbero indistinguibili se analizzate solo su brevi frammenti.

### 3.2.3 Creazione delle tabelle di abbondanza per livello tassonomico

I file ".tsv" contenenti le abbondanze relative vengono

organizzati in cartelle distinte per ciascun livello tassonomico (specie, genere, famiglia, fino a phylum). Mediante il comando: "*emu combine-output*" le *reads* afferenti a uno specifico livello tassonomico (*species*, *genus*, ecc.) dei diversi campioni vengono combinate in un'unica tabella, nella quale:

- le righe riportano i *taxa* corrispondenti al livello selezionato;
- le colonne rappresentano i campioni;
- le celle contengono i valori di abbondanza relativa.

Questa organizzazione consente analisi comparative multi-campione e rappresenta la base per eventuali correlazioni con parametri chimico-fisici o performance di processo. Questa pipeline consente di ottenere un profilo tassonomico ad alta risoluzione, sfruttando la lunghezza completa del gene 16S rRNA e migliorando l'affidabilità dell'assegnazione a livello di specie.

### 3.2.4 Pipeline per la ricostruzione del profilo funzionale predetto

Sebbene l'analisi metagenomica *untargeted* rappresenti l'approccio più diretto per caratterizzare il potenziale funzionale, essa può risultare poco applicabile in contesti di biomonitoraggio routinario nel contesto del biorisanamento a causa di:

- costi più elevati rispetto all'indagine *targeted*;
- limitata quantità di DNA disponibile;
- complessità computazionale;
- necessità di tempi di risposta rapidi.

In questi casi, strumenti di predizione funzionale indiretta a partire dal 16S rRNA costituiscono un compromesso metodologico efficace, soprattutto se riferiti ad una classificazione specie-specifica ad alta risoluzione, ed integrati con il contesto geo-chimico-fisico di riferimento.

### 3.2.5 Clustering de novo delle reads long-reads (LACA)

LACA (*Long Amplicon Consensus Analysis*), è una pipeline bioinformatica integrata che coordina diversi software mediante uno script .sh personalizzabile dall'utente. È progettata per l'analisi di dati di sequenziamento *long-read* in assenza di un genoma di riferimento (approccio *de novo*). Questo metodo è particolarmente adatto allo studio dei microbiomi, poiché l'utilizzo di ampliconi lunghi consente una maggiore risoluzione tassonomica e una ricostruzione filogenetica più robusta rispetto ai tradizionali approcci basati su sequenze corte del gene 16S rRNA ([https://github.com/yanhui09/laca\\_archive](https://github.com/yanhui09/laca_archive)). Le

<sup>(10)</sup> Sviluppato per dati ottenuti da tecnologie di sequenziamento *long-reads*, e progettato per gestire l'elevato tasso di errore tipico di queste piattaforme e per raggruppare *reads* appartenenti allo stesso gene o trascritto, senza l'uso di un genoma di riferimento.

<sup>(11)</sup> Strumento bioinformatico per il clustering di sequenze DNA basato sull'algoritmo mean shift, un metodo di apprendimento non supervisionato che consente l'identificazione automatica dei centri di cluster. È impiegato nell'analisi di genomi batterici per ottenere raggruppamenti ad alta qualità senza l'uso di un riferimento.

reads vengono inizialmente raggruppate sulla base di una soglia di similarità del 99% mediante un processo di *global read clustering*, utilizzando

- isONclust<sup>(10)</sup> (Sahlin & Medvedev, 2020)
- Meshclust<sup>(11)</sup> (James et al., 2018).

Per ciascun cluster vengono generate le sequenze *consensus* mediante *kmerCon* (<https://arxiv.org/abs/2305.07545>), salvate in formato FASTA (*study\_seqs.fna*), dove nella prima colonna sono riportati gli identificativi delle OTU, nella seconda colonna sono riportate le sequenze nucleotidiche.

LACA restituisce:

- una tabella OTU con abbondanze assolute;
- una tabella di assegnazione tassonomica (*taxonomy.tsv*), ottenuta mediante *classifier* di qiime2 customizzato e sottoposto a *training* su SILVA v138.2.

### 3.2.6 Ricostruzione del profilo funzionale - PICRUST2

PICRUST2 (Douglas et al., 2020) è uno strumento di predizione funzionale basato su approccio filogenetico. Il principio consiste nel posizionare le sequenze 16S (*consensus*) in un albero filogenetico di riferimento e inferire il contenuto genico potenziale sulla base della prossimità evolutiva con genomi annotati. Questo processo, noto come phylogenetic placement, consente di stimare il numero di copie di famiglie geniche associate a ciascuna OTU.

Per la ricostruzione del profilo funzionale viene utilizzato il seguente comando:

```
"picrust2_pipeline.py -s study_seqs.fna -i study_seqs.biom -o picrust2_out_pipeline -p 1".
```

Il file .py contiene lo script che esegue l'intera pipeline, inclusa l'indicazione del database genomico di riferimento e l'integrazione dei tool necessari alle varie fasi del processo. Come file di input vengono forniti:

- OTU (*study\_seqs.biom*)
- *consensus sequences* (*study\_seqs.fna*).

La pipeline canonica di PICRUST2 restituisce come output:

- EC\_predicted.tsv
- KO\_predicted.tsv

contenenti le OTU nella prima colonna e, nelle colonne successive, rispettivamente EC e KO con il conteggio delle funzioni nelle celle. Vengono così generate le cartelle:

- EC\_metagenome\_out
- KO\_metagenome\_out
- pathways\_out

contenenti i file:

- pred\_metagenome\_contrib.tsv
- pred\_metagenome\_unstrat.tsv.

Nel file "\_contrib" sono riportati i contributi delle singole OTU alle funzioni per ciascun campione; nel file "\_unstrat" è riportato il contributo complessivo per funzione e campione.

È importante sottolineare che PICRUST2 fornisce una predizione del potenziale metabolico e non una misura diretta dell'attività enzimatica. Tuttavia, nel caso

del 16S *full-length*, la maggiore coerenza tra sequenza e genoma di riferimento aumenta l'affidabilità dell'inferenza rispetto agli approcci basati su regioni ipervariabili parziali.

### 3.2.7 Ricostruzione del profilo funzionale - FAPROTAX

In alternativa, il profilo funzionale può essere ricostruito mediante FAPROTAX, database manualmente curato che associa taxa coltivati a specifiche funzioni metaboliche documentate in letteratura. Il profilo funzionale può essere ricostruito mediante il seguente comando:

```
collapse_table.py -i otu_table.tsv -o functional_table.tsv -
```

```
g FAPROTAX.txt -c "#" -d "taxonomy" --omit_columns 0 --column_names_are_in_last_comment_line -r report.txt -n columns_after_collapsing -v
```

Il file di input "otu\_table.tsv" contiene:

- nella prima colonna le OTU;
- nelle colonne successive i campioni con il conteggio delle OTU;
- nell'ultima colonna l'assegnazione tassonomica (indicata con -d taxonomy).

Il file "FAPROTAX.txt" rappresenta il database di riferimento, nel quale per ciascun *pathway* annotato sono riportate specie batteriche coltivate e caratterizzate per quel *pathway*.

Il flag "-n columns\_after\_collapsing" consente di generare una *function table* come file di output, con:

- colonne corrispondenti ai campioni;
- righe corrispondenti ai *pathway* identificati.

Anche in questo caso è possibile ottenere tabelle che specificano il contributo dei singoli taxa per ciascun *pathway* e rappresentare i risultati mediante grafici a barre o *Heatmap*, analogamente a quanto descritto per PICRUST2. Diversamente, FAPROTAX si basa su un'associazione tassonomia-funzione diretta. Questo approccio è computazionalmente leggero e particolarmente utile per:

- screening preliminari;
- monitoraggi rapidi;
- funzioni ampiamente conservate (es. nitrificazione, denitrificazione, metanogenesi).

Tuttavia, la sua affidabilità dipende dalla conservazione funzionale intra-genere e dalla rappresentatività del database. Nei casi in cui specie appartenenti allo stesso genere presentino ruoli metabolici divergenti, l'interpretazione deve essere effettuata con cautela.

## 4. APPARECHIATURE

Le strumentazioni attualmente disponibili per il sequenziamento basato su nanopori includono i dispositivi MinION, GridION e PromethION, forniti da Oxford Nanopore Technologies (ONT), che differiscono principalmente per scalabilità e *throughput*. Nel contesto di *workflow* di biomonitoraggio e/o applicazioni in biorisanamento, MinION rappresenta spesso una soluzione flessibile e portatile, mentre GridION e PromethION sono maggiormente orientati a volumi di dati elevati e analisi multi-campione.

Gli strumenti *software* e *hardware* impiegati per lo



svolgimento delle analisi bioinformatiche prevedono l'utilizzo di un Server con sistema operativo Ubuntu (Linux) versione 20.04.6 LTS (<https://releases.ubuntu.com/focal/>) sul quale viene installato un *manager* di programmi e pacchetti chiamato Anaconda versione 24.11.0 (<https://docs.conda.io/projects/conda/en/stable/user-guide/install/linux.html>).

Per l'applicazione di LACA viene scaricata una versione in locale con docker (<https://github.com/yanhui09/laca/blob/master/README.md#docker-image>).

Il pacchetto software EMU per l'analisi bioinformatica viene installato mediante conda (<https://github.com/treangenlab/emu?tab=readme-ov-file#installation>), un sistema open source di gestione dei pacchetti e degli ambienti virtuali. Conda è particolarmente diffuso nella data science, nel machine learning e nel calcolo scientifico perché supporta diversi linguaggi di programmazione (Python, R, C/C++, ecc.) su Windows, macOS e Linux.

Per lo svolgimento di Picrust2, al fine di soddisfare l'elevata richiesta computazionale, è previsto l'ausilio di Cineca (<https://www.hpc.cineca.it>), come sistema di *high-performance computing* (HPC) e in particolare del cluster Galileo-G100 (<https://www.hpc.cineca.it/systems/hardware/galileo100>).

## 5. CONCLUSIONI

Il sequenziamento *long-reads* del gene 16S rRNA rappresenta un avanzamento metodologico significativo per il biomonitoraggio microbiologico applicato al biorisanamento. La possibilità di ottenere una risoluzione specie-specifica, integrata con strumenti di predizione funzionale, consente di ridurre il rischio di sovrageralizzazione funzionale e di rafforzare il collegamento tra struttura della comunità microbica e potenziale degradativo. Nel contesto di matrici contaminate complesse, caratterizzate da interazioni microbiche quali simbiosi, competizione e co-metabolismo, tale approccio fornisce un supporto interpretativo più robusto rispetto alle metodiche basate sull'analisi di regioni ipervariabili parziali, grazie alla maggiore risoluzione tassonomica e filogenetica. Inoltre, l'integrazione tra *workflow* sperimentale, pipeline bioinformatica e applicazioni operative dimostra la maturità tecnologica di queste piattaforme anche per contesti di biomonitoraggio routinario concretamente trasferibile alla pratica del biorisanamento ambientale e di biomonitoraggio di sistemi biotecnologici di interesse ambientale.

## RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato svolto nell'ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR), Missione 4, Componente 2, Investimento 1.1, Avviso n. 104 pubblicato il 2 febbraio 2022 dal Ministero dell'Università e della Ricerca (MUR), finanziato dall'Unione Europea – NextGenerationEU – Titolo del progetto Biotechnologies for SUsustainable REmediation (BISURE) – CUP: B53D23017420006 – Decreto di Concessione n. 976 adottato il 3 luglio 2023 dal Ministero dell'Università e della Ricerca (MUR).

## BIBLIOGRAFIA

ABRUZZESE M., LORINI L., GARCIA CERVILLA R., SANTOS A., LORENZO D., NICCOLINI L., MATTURRO B., PETRANGELI PAPINI M. (2025): "Coupled adsorption-biodegradation of trichloroethylene in groundwater using food waste-derived Polyhydroxyalkanoates (PHA) and pine wood biochar", *Journal of Water Process Engineering*, 79, 108972. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2025.108972>

AKAÇIN İ., ERSOY Ş., DOLUCA O., GÜNGÖRMÜŞLER M. (2022): "Comparing the significance of the utilization of next generation and third generation sequencing technologies in microbial metagenomics", *Microbiological Research*, 264, 127154. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127154>

BIADA I., SANTACREU M.A., GONZÁLEZ-RECIO O., IBÁÑEZ-ESCRICHE N. (2025): "Comparative analysis of Illumina, PacBio, and nanopore for 16S rRNA gene sequencing of rabbit's gut microbiota", *Frontiers in Microbiomes*, 4. <https://doi.org/10.3389/frmbi.2025.1587712>

BIER R.L., BERNHARDT E.S., BOOT C.M., GRAHAM E.B., HALL E.K., LENNON J.T., NEMERGUT D.R., OSBORNE B.B., RUIZ-GONZÁLEZ C., SCHIMEL J.P., WALDROP M.P., WALLENSTEIN M.D. (2015): "Linking microbial community structure and microbial processes: an empirical and conceptual overview", *FEMS Microbiology Ecology*, 91(10), fiv113. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv113>

BUETAS E., JORDÁN-LÓPEZ M., LÓPEZ-ROLDÁN A., D'AURIA G., MARTÍNEZ-PRIEGO L., DE MARCO G., CARDA-DIÉGUEZ M., MIRA A. (2024): "Full-length 16S rRNA gene sequencing by PacBio improves taxonomic resolution in human microbiome samples", *BMC Genomics*, 25(1), 310. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10213-5>

CURRY K.D., WANG Q., NUTE M.G., TYSHAIEVA A., REEVES E., SORIANO S., WU Q., GRAEBER E., FINZER P., MENDELING W., SAVIDGE T., VILLAPOL S., DILTHEY A., TREANGEN T.J. (2022): "Emu: Species-level microbial community profiling of full-length 16S rRNA Oxford Nanopore sequencing data", *Nature Methods*, 19 (7), 845–853. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01520-4>

DE COSTER W., RADEMAKERS R. (2023): "NanoPack2: Population-scale evaluation of long-read sequencing data", *Bioinformatics*, 39(5), btad311. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad311>

DOUGLAS G.M., MAFFEI V.J., ZANEVELD J.R., YURGEL S.N., BROWN J.R., TAYLOR C.M., HUTTENHOWER C., LANGILLE M.G.I. (2020): "PICRUST2 for prediction of metagenome functions", *Nature Biotechnology*, 38(6), 685–688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>

DUEHOLM M.K.D., ANDERSEN K.S., KORNTVED A.K.C., et al. (2024): "MiDAS 5: Global diversity of bacteria and archaea in anaerobic digesters", *Nature Communications*, 15, 5361. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49641-y>

- GARCÍA-LÓPEZ R., CORNEJO-GRANADOS F., LOPEZ-ZAVALA A.A., SÁNCHEZ-LÓPEZ F., COTA-HUÍZAR A., SOTELO-MUNDO R.R., GUERRERO A., MENDOZA-VARGAS A., GÓMEZ-GIL B., OCHOA-LEYVA A. (2020): "Doing More with Less: A Comparison of 16S Hypervariable Regions in Search of Defining the Shrimp Microbiota", *Microorganisms*, 8(1), 134. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010134>
- HAN H., CHOI Y.H., KIM S.Y., PARK J.H., CHUNG J., NA H.S. (2024): "Optimizing microbiome reference databases with PacBio full-length 16S rRNA sequencing for enhanced taxonomic classification and biomarker discovery", *Frontiers in Microbiology*, 15, 1485073. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1485073>
- JAMES B.T., LUCZAK B.B., GIRGIS H.Z. (2018): "MeShClust: An intelligent tool for clustering DNA sequences", *Nucleic Acids Research*, 46(14), e83. <https://doi.org/10.1093/nar/gky315>
- JEONG J., YUN K., MUN S., et al. (2021): "The effect of taxonomic classification by full-length 16S rRNA sequencing with a synthetic long-read technology", *Scientific Reports*, 11, 1727. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80826-9>
- JONES C.B., WHITE J.R., ERNST S.E., SFANOS K.S., PEIFFER L.B. (2022): "Incorporation of Data From Multiple Hypervariable Regions when Analyzing Bacterial 16S rRNA Gene Sequencing Data", *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.799615>
- LI H. (2018): "Minimap2: Pairwise alignment for nucleotide sequences", *Bioinformatics*, 34(18), 3094–3100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
- LOUCA S., PARFREY L.W., DOEBELI M. (2016): "Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome", *Science*, 353(6305), 1272–1277. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>
- MATTURRO B., DI FRANCA M.L., ROSSETTI S. (2025): "Metodo Digital Droplet PCR (ddPCR) per il biomonitoraggio di biomarcatori coinvolti in processi di degradazione biologica in matrici contaminate da composti organoclorurati". *Notiziario dei Metodi Analitici dell'Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA-CNR)*, 1, 25. <https://doi.org/10.3274/NOTIZIRSA-2025-01>
- MATTURRO B., TUCCI M., FIRRINCIELI A., NICCOLINI L., PEÑA-ÁLVAREZ V., RESITANO M., TRINCHILLO M., PELÁEZ AI, ROSSETTI S., PETRUCCIOLI M., VIGGI CC AND AULENTA F (2026): Multi-guild microbial cooperation sustains long-term anaerobic toluene degradation through sulfur cycling. *Front. Microbiol.* 17:1773863. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1773863>
- NIELSEN P.H. (2017): "Microbial biotechnology and circular economy in wastewater treatment", *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1102–1105. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12821>
- QUAST C., PRUESSE E., YILMAZ P., GERKEN J., SCHWEER T., YARZA P., PEPLIES J., GLÖCKNER F.O. (2013): "The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools", *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- RESITANO M., TUCCI M., SELLAMI G., CHOUCANE H., CRUZ VIGGI C., NICCOLINI L., MATTURRO B., MARZOCCHI U., AULENTA F. (2025): "Magnetite-enabled self-assembled microbial networks for centimeter-scale electron transfer in a soil bioelectrochemical system", *Chemical Engineering Journal Advances*, 24, 100945. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2025.100945>
- SAHLIN K., MEDVEDEV P. (2020): "De Novo Clustering of Long-Read Transcriptome Data Using a Greedy, Quality Value-Based Algorithm", *Journal of Computational Biology*, 27(4), 472–484. <https://doi.org/10.1089/cmb.2019.0299>
- SAUERBORN E., CORREDOR N.C., RESKA T., et al. (2024): "Detection of hidden antibiotic resistance through real-time genomics", *Nature Communications*, 15, 5494. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49851-4>
- SEREIKA M., KIRKEGAARD R.H., KARST S.M., MICHAELSEN T.Y., SØRENSEN E.A., WOLLENBERG R.D., ALBERTSEN M. (2022): "Oxford Nanopore R10.4 long-read sequencing enables the generation of near-finished bacterial genomes from pure cultures and metagenomes without short-read polishing", *Nature Methods*, 19(7), 823–826. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01539-7>
- SZOBOSZLAY M., SCHRAMM L., PINZAUTI D., SCERRI J., SANDIONIGI A., BIAZZO M. (2023): "Nanopore Is Preferable over Illumina for 16S Amplicon Sequencing of the Gut Microbiota", *Microorganisms*, 11(3), 804. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030804>
- TIMMIS K., DE VOS W.M., RAMOS J.L., VLAEMINCK S.E., PRIETO A., DANCHIN A., VERSTRAETE W., DE LORENZO V., LEE S.Y., BRÜSSOW H., TIMMIS J.K., SINGH B.K. (2017): "The contribution of microbial biotechnology to sustainable development goals", *Microbial Biotechnology*, 10(5), 984–987. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12818>
- WANG Y., ZHAO Y., BOLLAS A., WANG Y., AU K.F. (2021): "Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications", *Nature Biotechnology*, 39, 1348–1365. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01108-x>
- YILMAZ P., PARFREY L.W., YARZA P., GERKEN J., PRUESSE E., QUAST C., SCHWEER T., PEPLIES J., LUDWIG W., GLÖCKNER F.O. (2014): "The SILVA and 'All-species Living Tree Project (LTP)' taxonomic frameworks", *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D643–D648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>
- ZHANG T., LI H., MA S., CAO J., LIAO H., HUANG Q., CHEN W. (2023): "The newest Oxford Nanopore R10.4.1 full-length 16S rRNA sequencing enables accurate species-level microbial profiling", *Applied and Environmental Microbiology*, 89(10), e00605-23. <https://doi.org/10.1128/aem.00605-23>

La gestione sostenibile della risorsa idrica è oggi una priorità, al centro del dibattito scientifico, tecnico e politico a livello globale. I cambiamenti climatici, l'incremento della domanda, innovazione tecnologica e nuove istanze sociali impongono una profonda revisione dei modelli di *governance*, delle infrastrutture e delle soluzioni lungo l'intero ciclo dell'acqua.

Questa edizione della newsletter propone una selezione dei principali eventi internazionali in programma nei prossimi mesi. Tali appuntamenti costituiranno occasioni fondamentali di confronto, aggiornamento e collaborazione tra ricerca, istituzioni, industria e società civile, per affrontare le sfide e le opportunità cruciali per il futuro dell'acqua.

## ASIAWATER Expo & Forum 2026

Dal 7 al 9 aprile 2026 si terrà a Kuala Lumpur ASIAWATER Expo & Forum 2026, ospitato presso il prestigioso Kuala Lumpur Convention Centre (KLCC). Giunto alla sua 14<sup>a</sup> edizione, l'evento si conferma come uno dei principali appuntamenti di riferimento per il settore idrico nei Paesi asiatici in via di sviluppo.



ASIAWATER 2026 riunirà oltre 20.000 operatori qualificati tra professionisti, ricercatori, imprenditori e decisori del settore acqua e acque reflue provenienti da tutto il mondo, offrendo una piattaforma unica per il confronto sulle più recenti innovazioni in ambito di gestione delle risorse idriche, trattamento delle acque reflue e tecnologie sostenibili.

Con la partecipazione di più di 1.000 aziende e marchi espositrici, l'evento favorirà l'incontro tra domanda e offerta di soluzioni tecnologiche avanzate, promuovendo al contempo il dialogo su politiche trasformative e strategie per il futuro dei servizi idrici e di depurazione nella regione. Il programma sarà arricchito da conferenze e seminari di alto livello, durante i quali esperti e leader di settore discuteranno le principali sfide attuali e le possibili soluzioni per uno sviluppo idrico più efficiente e sostenibile.

## IWA Young Water Professionals European Conference (YWPEU) 2026

Dal 14 al 17 giugno 2026 il Politecnico di Milano ospiterà la YWPEU 2026, un appuntamento di rilievo dedicato alle nuove generazioni di professionisti del settore idrico.

L'evento riunirà oltre 250 giovani e *senior water professionals* provenienti da tutta Europa e da altri Paesi, offrendo una piattaforma dinamica di confronto tra ricerca, industria, servizi idrici e decisori politici. La conferenza rappresenta un'occasione privilegiata per condividere conoscenze, presentare soluzioni innovative e rafforzare collaborazioni a livello internazionale.

YWPEU 2026 si rivolge a ricercatori, tecnici, policymaker e innovatori interessati a entrare in contatto con la nuova generazione di leader europei del settore acqua. Il programma scientifico affronterà temi chiave quali le innovazioni nel trattamento delle acque e delle acque reflue, l'uso di strumenti digitali, intelligen-

# Newsletter

1/2026

za artificiale e cybersecurity per sistemi idrici più intelligenti, la *governance* e la valutazione del rischio, la resilienza climatica e la gestione integrata del ciclo idrico, fino ai modelli di economia circolare dell'acqua, con focus su riuso, recupero e approcci “nexus”

## Acqua Summit 2026



In un contesto segnato da eventi climatici sempre più estremi e da infrastrutture idriche spesso obsolete o inefficienti, l'Italia si trova ad affrontare il rischio concreto di una crisi idrica di crescente gravità. In questo scenario si inserisce l'*Acqua Summit*, un appuntamento di rilievo organizzato da *Il Sole 24 ORE* dedicato al confronto sulle strategie per una gestione sostenibile della risorsa idrica.

L'evento riunirà rappresentanti istituzionali, tecnici ed esperti del settore idrico, offrendo un'occasione di dialogo a livello nazionale ed europeo sulle politiche da adottare per tutelare l'acqua come bene prezioso. Al centro del dibattito vi saranno approcci lungimiranti fondati su efficienza, risparmio, recupero e riutilizzo della risorsa.

Nel corso dell'incontro si discuterà di investimenti infrastrutturali e finanziari per il rinnovo delle reti e degli impianti, di strategie di adattamento ai cambiamenti climatici, di digitalizzazione del servizio idrico integrato e dell'impiego di strumenti avanzati di monitoraggio.

L'evento si terrà a Roma il 17 giugno, dalle 10:00 alle 13:00. L'evento sarà ibrido, con possibilità di partecipazione sia in presenza che online, previa registrazione.

## 4<sup>th</sup> International Aquatic Biotechnology Symposium

Dal 9 all'11 settembre 2026 Napoli ospiterà il 4<sup>th</sup> *International Aquatic Biotechnology Symposium*, che si terrà presso il Centro di Servizio di Ateneo per le Scienze e Tecnologie per la Vita (CESTEV) dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Giunto alla sua quarta edizione, il Simposio rappresenta un appuntamento scientifico di rilievo internazionale, riunendo ricercatori, studenti e professionisti provenienti da tutto il mondo, impegnati nello studio e nella valorizzazione sostenibile delle risorse acquatiche.

Il programma scientifico affronterà un ampio ventaglio di tematiche, che includono l'esplorazione della biodiversità acquatica, l'isolamento di composti bioattivi da organismi marini e d'acqua dolce, lo sviluppo di tecnologie





# Newsletter

1/2026



per la *bioremediation* e l'acquacoltura sostenibile, fino ai biosensori ambientali, alle applicazioni energetiche e industriali delle biotecnologie acquatiche e alle innovazioni in ambito salute. Particolare attenzione sarà dedicata al dialogo tra mondo accademico e industria, con l'obiettivo di promuovere soluzioni innovative alle sfide ambientali ed energetiche globali.

L'evento prevede *lectures* plenarie, comunicazioni orali e sessioni poster, oltre a numerose opportunità di networking per favorire collaborazioni scientifiche e scambi professionali.

Vi invitiamo a segnare in agenda le date del Simposio, a sottoporre i vostri abstract entro il 20 giugno 2026 e a usufruire della registrazione anticipata (*early bird*) entro il 1° maggio 2026.

**Per maggiori informazioni e aggiornamenti è possibile consultare il sito ufficiale: [www.aquabiotech2026.it](http://www.aquabiotech2026.it).**

## Forum Euromediterraneo dell'Acqua

Dal 29 settembre al 2 ottobre 2026, Roma ospiterà il Forum Euromediterraneo dell'Acqua, grande evento internazionale promosso dal Comitato "One Water" e co-organizzato con l'Istituto Mediterraneo dell'Acqua di Marsiglia, in partnership con l'Unione per il Mediterraneo.

Il Forum rappresenterà una piattaforma di dialogo tra decisori politici, mondo accademico, società civile e imprese, con l'obiettivo di affrontare le principali sfide della sicurezza idrica nel Mediterraneo e nelle aree limitrofe, estendendo il confronto anche all'Unione europea, ai Balcani, alla penisola arabica e all'Africa subsahariana.

Al centro del dibattito temi cruciali come siccità, scarsità della risorsa, gestione degli eventi estremi, ma anche il nesso acqua-energia, l'innovazione tecnologica e la tutela della qualità delle acque. L'evento sarà affiancato da una fiera espositiva e preceduto da un percorso preparatorio internazionale con *workshop* ed eventi in Italia e all'estero.





## IL PROGETTO EUROPEO BORN: BiObased theRmal-resistaNt food packaging

Il 27 Ottobre 2025, presso l'Aula Conferenze del CNR di Pozzuoli (NA), si è tenuto il Kick-off Meeting del progetto europeo BORN - *BiObased theRmal-resistaNt food packaging*.

Finanziato nell'ambito del programma Horizon Europe – EIC Pathfinder Challenges, nella Challenge 3 “*Nature inspired alternatives for food packaging and films for agriculture*”, BORN è un progetto di ricerca coordinato dall'Istituto per i Polimeri, Compositi e Biomateriali del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-IPCB) insieme all'Istituto di Ricerca sulle Acque (CNR-IRSA).

Il progetto ha durata triennale (Ottobre 2025 – Settembre 2028) e coinvolge 8 partners di 5 diversi Paesi Europei: oltre al CNR, fanno parte del consorzio anche Fraunhofer Gesellschaft (Germania), Kungliga Tekniska Hogskolan (Svezia), Tecnopackaging (Spagna), Politechnika Poznanska (Polonia), Università degli Studi di Napoli Federico II (Italia), Innoexc Hub e Quantis (Svizzera).

### Il progetto in breve

Sebbene i materiali *bio-based* e compostabili attualmente sul mercato rappresentino un'alternativa sostenibile alle plastiche convenzionali di origine fossile, la loro stabilità termica è limitata a circa 50 °C. Il progetto BORN si pone l'obiettivo di superare tale barriera tecnologica sviluppando una nuova formulazione polimerica più stabile termicamente attraverso l'integrazione di additivi ispirati alla natura e processi produttivi sostenibili. Il materiale *bio-based* di BORN garantirà pertanto elevate prestazioni termiche senza compromettere i requisiti di sostenibilità ambientale lungo l'intero ciclo di vita, dalla progettazione alla produzione fino allo smaltimento.

Cuore del progetto è lo sviluppo di un nuovo agente nucleante in grado di promuovere la cristallizzazione di polimeri normalmente amorfi o semi-cristallini durante il processo di lavorazione industriale. Il risultato sarà un materiale in grado di resistere fino a 100 °C, aprendo la strada a numerose applicazioni finora impossibili. Grazie a questa tecnologia, BORN consentirà di creare imballaggi alimentari in PLA (acido polilattico) resistenti al calore, con proprietà termiche, meccaniche e di barriera modulabili semplicemente regolando la chimica e la quantità di agente nucleante. Nel settore del food packaging, il materiale di BORN potrà quindi essere impiegato per realizzare contenitori compostabili adatti al microonde, vaschette per pasti pronti e bicchieri economici per bevande calde. Il nuovo materiale dovrà quindi possedere un insieme di caratteristiche che oggi non risulta disponibile in nessun prodotto sul mercato: sarà circolare, *biobased*, biodegradabile, compostabile, idoneo al contatto alimentare, riciclabile e a basso costo. Una combinazione di proprietà che potrebbe rappre-



Il Consorzio BORN

# Progetti

Kick-off meeting del progetto, Aula  
Conferenze CNR, Pozzuoli (NA),  
27 Ottobre 2025



sentare un vero e proprio punto di svolta nella produzione e trasformazione delle plastiche sostenibili, con un impatto significativo sul mercato degli imballaggi alimentari.

La nuova classe di agenti nucleanti potrà poi accelerare la cristallizzazione anche di altri polimeri *biobased* quali PHB (poli-3-idrossibutirrato), PHBV (poli(3-idrossibutirrato-co-3-idrossivalerato)) o PEF (polietilene furanoato), quest'ultimo considerato uno dei candidati più promettenti per sostituire il PET nelle applicazioni di packaging rigido, in particolare nella produzione di bottiglie destinate all'industria alimentare.

Le potenzialità del materiale sviluppato non si fermano qui: le sue proprietà lo rendono infatti ideale per il settore agricolo, per lo sviluppo di beni di consumo durevoli e riutilizzabili e, più in generale, per tutte le applicazioni industriali che richiedono un'elevata stabilità termica.

Il progetto coprirà l'intero ciclo di vita del materiale: dalla progettazione degli additivi sostenibili alla formulazione dei nuovi polimeri, fino alla produzione di prototipi in laboratorio e alla verifica della loro idoneità per il packaging alimentare. Particolare attenzione sarà dedicata anche alla fase di fine vita, con test di riciclabilità e biodegradazione in ambienti naturali (suolo, acqua), controllati (digestione anaerobica e compostaggio) ed estremi, oltre alla valutazione dei potenziali rischi ambientali.

## Info e contatti:

<https://www.born-project.eu/>, LinkedIn e Facebook  
marialaura.dilorenzo@cnr.it (CNR-IPCB)  
camilla.braguglia@irsa.cnr.it (CNR-IRSA)

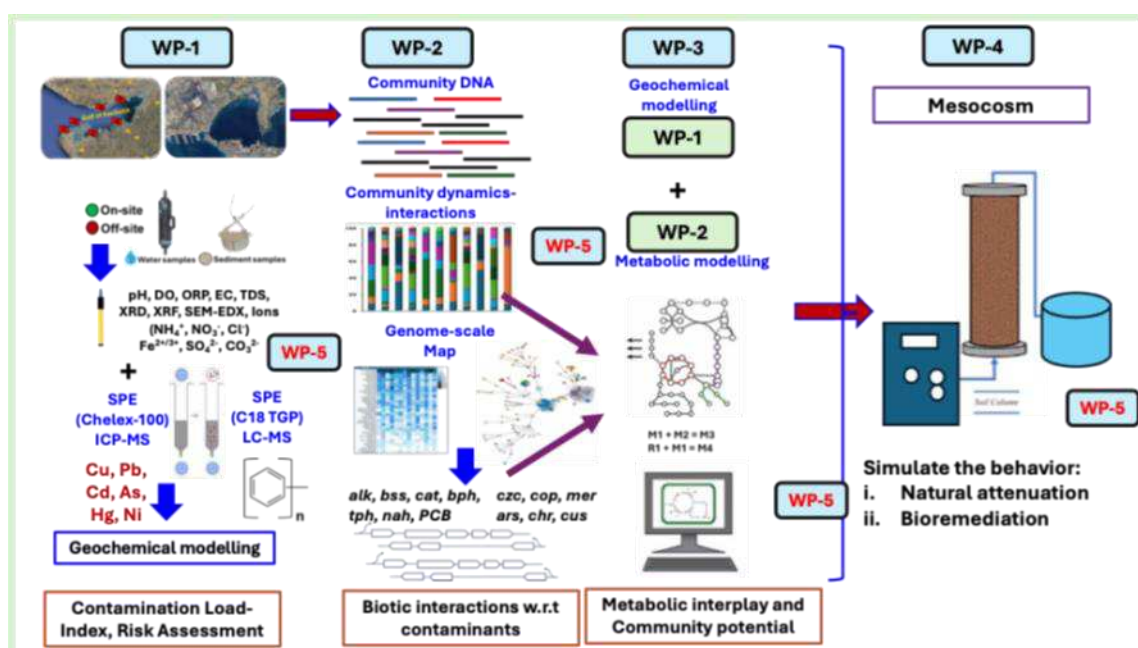




## Progetto di ricerca MAECI Italia-India 2025-2027 “Comprensione del destino biogeochimico dei contaminanti in ecosistemi marini: prospettive di ripristino mediante modelli su scala genomica e strategie di biorisanamento”

Il passaggio ad una economia blu sostenibile richiede l'adozione di misure efficaci per ripristinare, proteggere o mantenere la biodiversità, la resilienza, le funzioni fondamentali e la salute generale degli ambienti marino-costieri. Nonostante il contributo significativo degli ecosistemi marini al sequestro del carbonio, alla biodiversità globale e alla regolazione climatica, molti habitat produttivi sono minacciati da inquinanti antropogenici tossici che causano il degrado ecosistemico e un costante squilibrio biogeochimico. Nel progetto di ricerca di grande rilevanza MAECI Italia-India denominato EcoModeB (*“Understanding biogeochemical fate of contaminants in marine Ecosystems: Prospects of restoration by genome-scale Models and Bioremediation strategies”*) le attività sono effettuate su due importanti ecosistemi marini costieri: il Mar Piccolo di Taranto ed il Golfo di Kachchh, situato nel Mar Arabico lungo la costa occidentale dell'India. Quest'ultimo ospita il primo parco nazionale marino e comprende isole con barriere coralline e mangrovie. Entrambi gli ecosistemi sono caratterizzati da una elevata biodiversità e produttività biologica ma allo stesso tempo sono fortemente vulnerabili alla contaminazione derivata da consistenti insediamenti industriali, attività portuali e traffico marittimo.

Nel corso del progetto, i sedimenti e l'acqua prelevati da aree caratterizzate da diverso impatto antropico, sono analizzati per definire il carico della contaminazione, i fattori di rischio ecologico, le dinamiche e le interazioni





# Progetti

della comunità microbica utilizzando modelli geochimici e modelli metabolici a scala genomica. I risultati della caratterizzazione biogeochimica, inclusi quelli derivanti da studi di mesocosmo, condotti per simulare e prevedere il comportamento in condizioni di attenuazione naturale e di biorisanamento, saranno utilizzati per migliorare e potenziare i modelli ecologici a supporto della gestione ambientale degli habitat marino-costieri inquinati

## Team di ricerca Italiano:



Bruna Matturro, Simona Rossetti, *CNR-IRSA Montelibretti (RM)*  
Magda Di Leo, Marcella Narracci, *CNR-IRSA Taranto*

## Team di ricerca Indiano:



Balaram Mohapatra, *Gujarat Biotechnology University*



Boddepalli Govindarao, *Indian Institute of Technology*





## Il progetto BioSpell - FIS3 Starting Grant: studio dei campi elettrici spontanei nei biofilms e possibili applicazioni nella produzione di bioenergia e trattamento acque

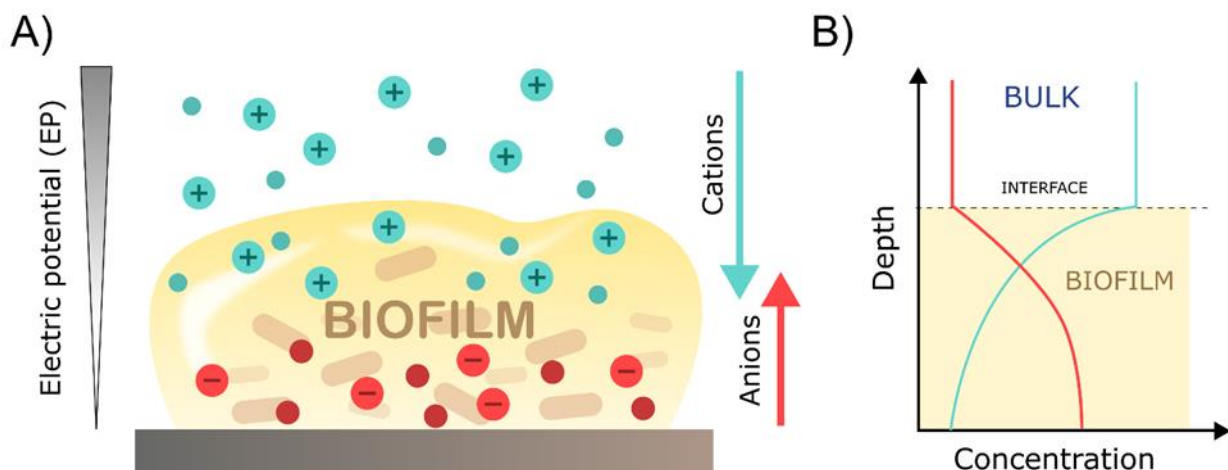
I biofilm sono aggregati di cellule microbiche tenuti insieme in una matrice polimerica autoprodotta (EPS). Essi svolgono un ruolo centrale in numerosi processi naturali e tecnologici: in ambito ambientale regolano importanti cicli biogeochimici, mentre nei sistemi ingegnerizzati sono alla base di processi quali la depurazione delle acque reflue, la produzione di bioenergia e altre applicazioni biotecnologiche. Recenti evidenze sperimentali suggeriscono la presenza di **campi elettrici spontanei all'interno dei biofilm**, generati da squilibri nel trasporto di specie ioniche legati all'attività metabolica microbica. Si tratta di un fenomeno finora poco esplorato, ma potenzialmente determinante nel regolare il trasporto di nutrienti e substrati e, di conseguenza, l'efficienza dei processi biologici.

Il progetto **BioSpell**, coordinato dal Dott. Matteo Tucci, si propone di studiare in modo sistematico la presenza, l'origine e l'influenza dei campi elettrici nei biofilm, con l'obiettivo di chiarirne il ruolo nei meccanismi di trasporto di massa e nella regolazione del metabolismo microbico. Il progetto è stato finanziato con 1,2 milioni di euro nell'ambito del **Fondo Italiano per la Scienza (FIS)**, il programma del Ministero dell'Università e della Ricerca (MUR) dedicato al sostegno della ricerca di frontiera ad alto contenuto scientifico, nel settore Life Sciences (LS9).

### Gli obiettivi del progetto

Gli obiettivi principali includono:

1. Identificare i fattori fisico-chimici e biologici che determinano la formazione dei campi elettrici;



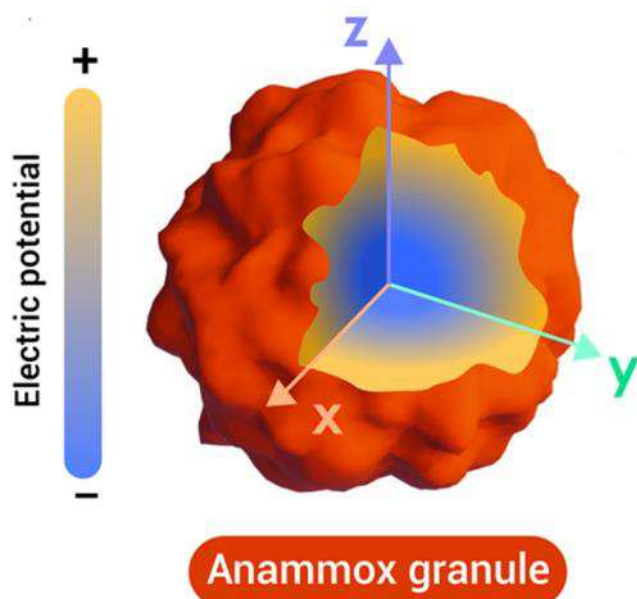
# Progetti

2. Quantificarne l'impatto sui flussi di substrati, nutrienti e metaboliti;
3. Sviluppare strumenti modellistici avanzati per descrivere il fenomeno;
4. Esplorare l'applicazione di campi elettrici esterni per modulare e ottimizzare bioprocessi basati su biofilm.

Il progetto prenderà in esame diversi sistemi modello di rilevanza ambientale e industriale, tra cui biofilm anammox per la rimozione dell'azoto, biofilm fototrofi per la produzione di bioidrogeno e biofilm nitrificanti impiegati nei processi di trattamento delle acque.

## Metodologia

L'approccio adottato integrerà attività sperimentali e sviluppo modellistico. Verranno utilizzati microsensori elettrochimici micrometrici per misurare gradienti di potenziale elettrico, pH e ossigeno direttamente all'interno del biofilm, preservandone l'integrità. I sistemi studiati saranno caratterizzati anche dal punto di vista strutturale e microbiologico, mediante tecniche di analisi della composizione microbica, valutazione della densità cellulare e caratterizzazione delle sostanze polimeriche extracellulari. Parallelamente, sarà sviluppato un modello matematico bidimensionale di reazione-diffusione-migrazione ionica in grado di descrivere l'influenza dei campi elettrici sul trasporto delle specie cariche. Una componente innovativa del progetto riguarderà la progettazione di sistemi bioelettrochimici dedicati per applicare campi elettrici esterni, continui o pulsati, al fine di valutare la possibilità di controllare il metabolismo microbico e potenziare specifici bioprocessi. Le soluzioni più promettenti saranno infine validate fino a scala pilota (TRL 5-6).



## Impatti attesi

BioSpell potrà contribuire in modo significativo alla comprensione dei meccanismi che regolano i sistemi microbici complessi, introducendo la migrazione ionica come elemento chiave nei modelli di trasporto di massa nei biofilm. Le ricadute applicative riguardano in particolare l'innovazione nei settori della depurazione delle acque, della produzione di bioenergia e, più in generale, l'ottimizzazione di processi biotecnologici basati su biofilm. Il progetto potrà fornire strumenti concettuali e operativi per rendere tali processi più efficienti, controllabili e sostenibili. Il finanziamento rappresenta un risultato di rilievo per il CNR-IRSA e rafforza il ruolo dell'Istituto nella ricerca di frontiera nel campo delle scienze ambientali e delle biotecnologie.

Info e contatti: [matteo.tucci@cnr.it](mailto:matteo.tucci@cnr.it) (CNR-IRSA)

## **Sviluppo di un modello idrologico semplificato per lo studio dei regimi idrici delle zone umide finalizzato alla conservazione e al ripristino**

Dottorato di Ricerca in Rischio e Sviluppo Ambientale, Territoriale  
ed Edilizio del Politecnico di Bari (Ciclo XXXVIII)

a cura di

**Claudia Panciera**

Relatori: Prof. **Vito Iacobellis** e **Alessandro Pagano**, *Dip.to di  
Ingegneria Civile, Ambientale, del Territorio, Edile e di Chimica,  
Politecnico di Bari*

Relatore esterno: Ing. **Ivan Portoghese**  
CNR-IRSA, Sede di Bari

L'urgenza della conservazione delle zone umide risiede oggi nel superamento della visione storica di queste aree come territori marginali e inutilizzabili, riconoscendole invece quali pilastri della resilienza climatica e di molteplici altre funzioni ecosistemiche fondamentali per l'equilibrio del pianeta. Nonostante tale valore, questi ambienti subiscono, da circa due secoli a questa parte, una perdita sistematica e spesso irreversibile, venendo frequentemente sacrificati per necessità socioeconomiche o risultando compromessi da mutamenti climatici che li espongono a modifiche idrauliche, sovrasfruttamento delle acque, interventi per il cambio d'uso del suolo e inquinamento diffuso (Wang & Hu, 2025). A tale proposito, al fine di sviluppare politiche e indicazioni per una corretta salvaguardia delle zone umide ancora esistenti e un concreto ripristino di quelle già degradate, la ricerca scientifica ricorre sempre più spesso ad approcci modellistici avanzati per l'allocatione delle risorse idriche e all'implementazione di scenari per una valutazione multi-strategica nel breve e lungo periodo (Twomey et al., 2024). Una barriera critica a una tutela realmente efficace per le zone umide è però rappresentata dalla difficoltà intrinseca nel quantificarne i fabbisogni idrici ambientali in termini numerici. Senza dati quantitativi affidabili, la componente ecosistemica del paradigma WEFE Nexus, approccio cardine ormai per lo studio di sistemi complessi in cui coesistono interessi antropici e di conservazione naturale, rimane inevitabilmente subordinata alle sole richieste antropiche (Acreman et al., 2014). Pertanto, qualsiasi tipo di modello gestionale moderno per l'allocatione delle risorse necessita di tale integrazione per poter rappresentare la realtà in tutti i suoi principali aspetti e per garantire una distribuzione equa della risorsa idrica tra natura e uomo.

Un'analisi della letteratura scientifica evidenzia come la modellistica tradizionale idrologica fatichi a colmare questa lacuna poiché i modelli fisicamente basati presentano frequentemente una "iper-parametrizzazione" che li rende rigidi e difficili da calibrare correttamente in contesti naturali



poco monitorati, mentre gli approcci empirici mancano della sensibilità necessaria per simulare dinamiche complesse come la variabilità idrologica tipica delle zone umide, in particolare di quelle costiere soggette a pressioni sinergiche sia da mare che da terra e quindi maggiormente a rischio.

E' questo il contesto in cui ha origine il lavoro di tesi dal titolo "*Sviluppo di un modello idrologico semplificato per lo studio dei regimi idrici delle zone umide finalizzato alla conservazione e al ripristino*" sviluppato nell'ambito del Dottorato di Ricerca in Rischio e Sviluppo Ambientale, Territoriale ed Edilizio (DRSATE) del Politecnico di Bari (Ciclo XXXVIII; CEAR01/B) dalla dottoranda Claudia Panciera con la supervisione del Dott. Ing. Ivan Portoghese e dei Proff. Vito Iacobellis e Alessandro Pagano (Panciera, 2006). Il lavoro si basa sulle seguenti domande di ricerca:

- è possibile sviluppare uno strumento che sia al contempo semplice nel numero di parametri ma rigoroso nel rappresentare le dinamiche idrologiche e nel fornire risposte quantitative sulla stima dei fabbisogni idrici delle zone umide?
- È possibile garantire la trasferibilità di un modello tra siti diversi per estensione, caratteristiche idrologiche e problematiche da affrontare, in virtù di una semplice struttura modellistica?
- e soprattutto, come può il dato idrologico diventare un input operativo per la pianificazione integrata delle risorse?

In risposta a tali quesiti, è stato sviluppato WetMAT (*Wetland Management Tool*), un modello idrologico per zone umide che abbraccia la filosofia della parsimonia (Lee et al., 2020) e della versatilità. Attraverso il calcolo del bilancio idrologico sviluppato tramite una struttura a moduli interconnessi, WetMAT traduce la complessità idro-geomorfologica del caso studio in variabili chiave, come ad esempio l'estensione degli allagamenti o il gradiente salino della zona umida. Riducendo la dipendenza da serie storiche esaustive, il modello trasforma la simulazione idrologica in uno strumento di supporto decisionale (*Decision Support System*) attraverso i suoi output, capaci di fornire scenari predittivi essenziali per una gestione olistica e per la conservazione nel lungo periodo di questi fragili ecosistemi (Panciera et al., 2025).

L'implementazione e i risultati del modello WetMAT sono stati testati su due casi studio estremamente diversi tra loro per scala e dinamiche, ma caratterizzati dal medesimo conflitto tra interesse antropico e conservazione naturale: la zona umida di Doñana in Spagna e quella di Torre Guaceto in Italia.

La zona umida temporanea di Doñana, situata nella parte sud-occidentale della Spagna, rappresenta una delle più grandi e tutelate aree umide in Europa, fungendo da ponte strategico tra il continente europeo e quello africano per i processi migratori. Durante il XX secolo, tuttavia, ha subito molteplici interventi di cambio di uso del suolo e un sovrasfruttamento delle acque per fini agricoli che hanno portato a una sua disconnessione idraulica dalla falda idrica sottostante e dai corsi d'acqua superficiali che storicamente la alimentavano. WetMAT si inserisce in questo contesto con l'obiettivo di calcolare il bilancio idrologico della zona umida per fornire una stima delle sue aree allagate, che risultano estremamente variabili

nel corso degli anni anche a causa della posizione climatica mediterranea, e ricavare annualmente il fabbisogno idrico necessario al raggiungimento delle sue condizioni medie di allagamento. WetMAT consta di soli nove parametri relativi alle caratteristiche del suolo e all'idrogeomorfologia, risultando leggero nella domanda computazionale grazie alla larga scala spaziale considerata (300 km<sup>2</sup>).

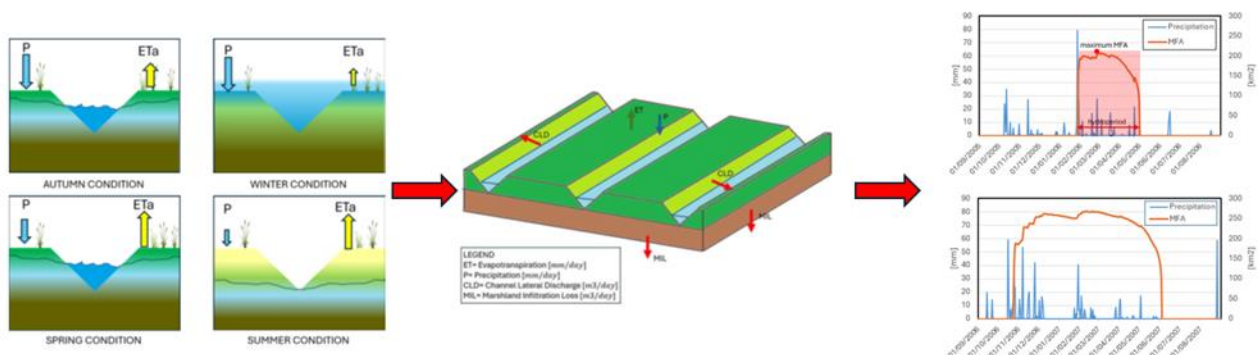
Un'analisi di sensitività univariata condotta su tutti i parametri ha permesso di constatare che le caratteristiche idrologiche del suolo, come le soglie di umidità, sono estremamente sensibili e necessitano di calibrazione accurata. Per validare il modello su Doñana, gli output sono stati confrontati con serie storiche relative alle massime aree allagate annuali (Green et al., 2024), ottenendo risultati soddisfacenti secondo la metrica di performance comunemente utilizzata in idrologia del *Kling Gupta Efficiency* (Gupta et al., 2009), con valori di 0,85 in calibrazione e 0,73 in validazione. In seguito, partendo da dati di precipitazione ed evapotraspirazione annuale come unici input del modello si è potuta sintetizzare la risposta idrologica della zona umida attraverso una variabile ausiliaria, *Inundation Persistence Index* [km<sup>2</sup>\*giorni], generata dall'involuppo del principale output spaziale (massime aree allagate annuali) e di quello temporale (idroperiodo, numero dei giorni dell'anno in cui si osserva allagamento), e tramite questa sviluppare considerazioni basate sulla frequenza degli allagamenti (Yu et al., 2021), sul loro tempo di ritorno, per quantificare i volumi idrici necessari a mantenere l'equilibrio del sistema, offrendo una base scientifica per la pianificazione delle risorse idriche basata non solo sul dato di pioggia ma sulla risposta idrologica reale.

I risultati incoraggianti ottenuti dalla modellazione di Doñana hanno incentivato l'implementazione del modello WetMAT in un contesto totalmente differente, in modo da esplorarne la scalabilità e la possibilità di fornire output utili allo studio di ulteriori problematiche oltre ai fabbisogni idrici ambientali valutati in termini puramente quantitativi come nel caso precedente. Il caso studio analizzato è quello della zona umida di Torre Guaceto, Riserva Naturale dello Stato sita nel sud est della Puglia (BR), che ha una estensione di 1.1 km<sup>2</sup> e mostra carattere permanente in quanto alimentata non solo da piogge ma anche da falda sotterranea. È proprio questa falda, che sostiene anche l'agricoltura circostante, a generare il conflitto tra sfruttamento antropico e conservazione naturale (Passarella et al., 2025): le estrazioni durante la stagione irrigua danno luogo al fenomeno dell'intrusione marina, trattandosi di falda costiera, e la ricarica stessa del sistema contribuisce alla sua ulteriore salinizzazione in quanto i suoli vengono irrigati con acque sempre più saline. A questo circolo vizioso di aumento della salinità si aggiunge una componente diretta di aerosol marino sulla zona umida, e tali fenomeni sono accentuati nella stagione estiva a causa della forte evapotraspirazione, con picchi che tendono a calare durante la stagione invernale.

La struttura del modello idrologico, anche se formalmente identica a quella del caso precedente, necessita di maggior dettaglio nella scelta delle equazioni che lo costituiscono, dovuto alla piccola scala dei processi da descrivere e a tale scopo si è fatto ricorso alla geomorfologia del sistema, studiando le cause di formazione della zona umida stessa. La zona umida di Torre Guaceto sorge in un contesto di canali di bonifica, realizzati durante il XX secolo per il drenaggio diretto della falda nel mare, ma proba-

bilmente a causa di una occlusione naturale di una foce del sistema, si è ricreata una condizione di allagamento permanente, un piccolo lago, che costituisce il fulcro ecologico della zona umida stessa, insieme ai canali di drenaggio che lo alimentano. L'implementazione del modello ha previsto lo studio del sistema di bonifica esistente attraverso la teoria idraulica del drenaggio, da cui però non si desiderava ottenere caratteristiche geometriche, già facilmente misurabili, ma in maniera inversa ricavare le caratteristiche di portata giornalmente drenata dalla falda nei canali e successivamente al loro recapito finale (Štibinger, 2009). A questo scopo si è rivelato indispensabile il calcolo di semplici caratteristiche, come in questo caso la densità di drenaggio misurabile nel caso reale e che ha permesso di riprodurre il caso in maniera schematica nel modello. Individuata la problematica principale per la conservazione naturale della zona umida, ovvero l'aumento della salinità nel sistema (Blanco- Coronas et al., 2022), si è selezionata questa variabile come punto di giunzione tra output ricavabile tramite modellistica idrologica, nell'ambito della quale è stato necessario dotare WetMAT di un ulteriore modulo relativo al bilancio del sale, e output utili nell'implementazione di scenari di gestione della risorsa idrica.

Nel lavoro si affronta anche un problema tipico della modellazione in aree naturali non strumentate, ovvero quello della mancanza di serie storiche sufficientemente lunghe da poter supportare i processi di calibrazione e validazione del modello: a questo scopo si è fatto ricorso, per le due fasi modellistiche, a due variabili ovvero il livello idrico del laghetto per la calibrazione e la sua salinità in fase di validazione. I risultati, ritenuti soddisfacenti ( $KGE = 0.87$  in calibrazione e  $KGE = 0.8$  in validazione) hanno consentito di utilizzare gli output di WetMAT relativi alla salinità per l'implementazione di scenari di gestione mirati all'abbassamento della salinità nel laghetto, in particolare relativamente ai suoi picchi estivi. Una prima valutazione ha previsto lo scarico di acque reflue trattate durante la stagione non irrigua nel sistema di drenaggio, o direttamente nel lago, al fine di abbassarne la salinità mediante diluizione: i risultati hanno prodotto miglioramenti rispetto alla situazione attuale durante i periodi di sversamento delle acque reflue ma non durante la stagione estiva in cui la concomitanza di fattori come la diminuzione dei volumi d'acqua e una più alta evapotraspirazione hanno esacerbato il fenomeno di aumento di salinità nella zona umida. Si tratta di un fenomeno tipico di questi ambienti, assi-



milabili a sistemi chiusi e fortemente dominati dall' evapotraspirazione (Nourein Mohammed & Tarboton, 2012). Si sono in seguito analizzati scenari relativi all'uso delle acque reflue trattate per il soddisfacimento dei bisogni agricoli, con relativo abbassamento della pressione sulla falda, e in questo caso i risultati hanno rivelato un maggior impatto proprio sui picchi di salinità estivi: a una riduzione del 40% dei prelievi di falda per l'agricoltura può corrispondere un abbassamento nei picchi estivi anche del 19%.

L'onere computazionale modesto e il numero ridotto di dati di input utili al modello idrologico rendono possibile l'uso dello stesso anche nello studio di scenari intermedi partendo da quelli già analizzati, per una ottimizzazione delle soluzioni al problema. Pur affrontando il problema sempre da un punto di vista quantitativo, l'estensione del modello riguardante la salinità permette di affrontare la tematica della conservazione della zona umida considerando anche la qualità delle acque. Il lavoro di tesi qui descritto si è concentrato sullo sviluppo di un modello idrologico semplificato, parsimonioso e versatile. WetMAT si è posto come sperimentazione nell'uso di uno strumento matematico per la fornitura di risultati quantitativi per l'analisi di problematiche complesse, che si prova a studiare in maniera olistica come attraverso la filosofia del WEF Nexus. L'implementazione del modello su differenti scale spaziali, e su casi studio differenti per caratteristiche idrogeomorfologiche ha permesso di comprendere che l'individuazione e la successiva sintesi di una problematica in parametri sintetici possono risultare mosse efficaci per la risoluzione del problema stesso rispetto a schemi più rigorosi e all'uso di modelli più onerosi che rischiano di richiedere più risorse per generare risultati anche meno condivisibili con stakeholders ed esperti della pianificazione. Tra gli obiettivi futuri della ricerca svolta c'è quello di implementare il modello WetMAT su un ulteriore caso studio di zona umida costiera mediterranea, di dimensioni intermedie rispetto agli estremi trattati in questo lavoro e possibilmente con problematiche differenti, al fine di validare le caratteristiche del modello su un campione rappresentativo dell'intero spettro di possibilità. A questo si aggiunge l'intenzione di valutare l'utilità e l'efficacia dei risultati quantitativi ottenuti da WetMAT in modelli integrati per il supporto alle decisioni, legittimando metodologicamente l'uso della modellistica idrologica come strumento efficace in questo settore.

## BIBLIOGRAFIA

Acreman, M., Arthington, A.H., Colloff, M.J., Couch, C., Crossman, N.D., Dyer, F., Overton, I., Pollino, C.A., Stewardson, M.J., Young, W. (2014): "Environmental flows for natural, hybrid and novel riverine ecosystems in a changing world". *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12(8), pp.466-473

Blanco-Coronas, A.M., Calvache, M.L., López-Chicano, M., Martín-Montañés, C., Jiménez-Sánchez, J., Duque, C. (2022): "Salinity and Temperature Variations near the freshwater-Saltwater Interface in Coastal Aquifers Induced by Ocean Tides and Changes in Recharge". *Water*, 14 (18)

Green, A.J., Guardiola-Albert, C., Bravo-Utrera, M., Bustamante, J., Ca-



macho, A., Camacho, C. et al. (2024): "Groundwater Abstraction has Caused Extensive Ecological Damage to the Doñana World Heritage Site, Spain" *Wetlands*, 44(2)

Gupta, H.V., Kling, H., Yilmaz, K.K., Martinez, G.F. (2009): "Decomposition of the mean squared error and NSE performance criteria: Implications for improving hydrological modelling". *Journal of Hydrology*, 377(1:2), pp. 80-91

Lee, O., Kim, H.S., Kim, S. (2020): "Hydrological simple water balance modelling for increasing geographically isolated doline wetland functions and its application to climate change". *Ecological Engineering*, 149

Nourein Mohammed, I., Tarboton, D.G. (2012): "An examination of the sensitivity of the Great Salt Lake to changes in inputs". *Water Resources Research*, 48(11)

Panciera, C. (2026): "Development of a simplified hydrological model to investigate wetland regimes for conservation and restoration purposes", *Tesi di Dottorato, DRSATE XVIII ciclo, Politecnico di Bari*.

Panciera, C., Pagano, A., Iacobellis, V., Bea Martinez, M., and Portoghese, I. (2025): "A simplified model to investigate the hydrological regimes of temporary wetlands: the case study of Doñana marshland (Spain)". *EGUsphere* [preprint], <https://doi.org/10.5194/egusphere-2025-2931>, 2025.

Passarella, G., Masciale, R., Menichini, M., Doveri, M., Portoghese, I. (2025): "Decoding Salinization Dynamics in Mediterranean Coastal Aquifers: A Case Study from a Wetland in Southern Italy". *Environments*, 12(7), 227

Štibinger, J. (2009): "Approximation of subsurface drainage discharge by De Zeeuw-Hellinga theory and its verification in heavy soils of fluvial landscape of the Cerhovice brook". *Soil and Water Research, Czech Academy of Agricultural Sciences*, 4(1), pp.28-38

Twomey, A.J., Nunez, K., Carr, J.A., Crooks, S., Friess, D.A., Glamore, W., Orr, M., Reef, R., Rogers, K., Waltham, N.J., Lovelock, C.E. (2024): "Planning hydrological restoration of coastal wetlands: Key model considerations and solutions". *Science of The Total Environment*, 915.

Wang, D., Hu, T. (2025): "The research progress on wetland science: Global change, biodiversity, intelligent monitoring, and ecosystem service assessment" *Resources Data Journal*, 4, pp.298-301

Yu, X., Zhu, W., Wei, J., Jia, S., Wang, A., Huang, Y., Zhao, Y. (2021): "Estimation of ecological water supplement for typical bird protection in the Yellow River Delta wetland". *Ecological Indicators*, 127

## Impatto di nanoparticelle conduttive e stimolazione bioelettrochimica sulla digestione anaerobica di matrici organiche di scarto

Corso di laurea in Chimica Industriale – Sapienza, Università di Roma

a cura di

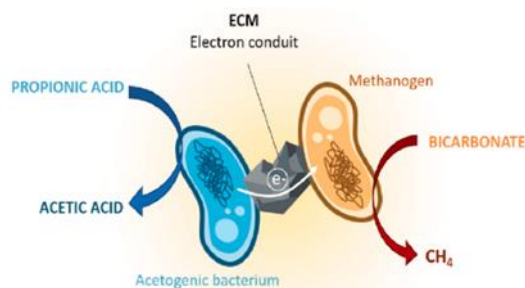
**Alessandra Scotti**

Relatore:

**Prof.ssa Marianna Villano**, Dip.to di Chimica, Sapienza Università di Roma

Relatore esterno:

**Dott.ssa Carolina Cruz Viggi**, CNR-IRSA, Sede di Roma – Montelibretti



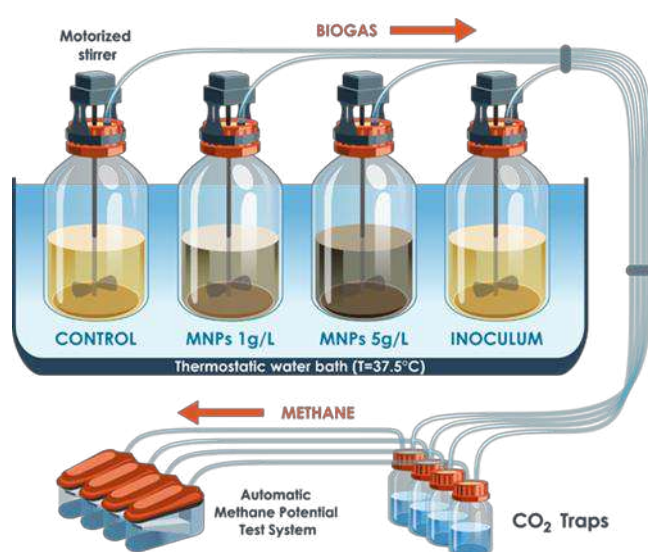
**Figura 1.** Schema DIET tra microorganismi acetogeni e microorganismi metanogeni con NP (Callegari et al., 2025)

La digestione anaerobica rappresenta una delle tecnologie più consolidate per il trattamento dei fanghi biologici prodotti dagli impianti di depurazione delle acque reflue, consentendo al contempo la stabilizzazione della matrice organica e la produzione di biogas, una risorsa energetica rinnovabile ricca in metano. Il processo si sviluppa attraverso una complessa successione di fasi biochimiche, quali idrolisi, acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi, mediate da comunità microbiche eterogenee che cooperano all'interno del digestore. Nonostante la sua ampia diffusione, la digestione anaerobica è tuttora caratterizzata da alcune limitazioni operative, tra cui lunghi tempi di avviamento, basse rese e velocità di produzione del biogas, nonché un'elevata sensibilità alle condizioni operative e alla presenza di composti inibenti (Callegari et al., 2025).

Negli ultimi anni, la ricerca scientifica si è orientata verso lo sviluppo di approcci innovativi finalizzati al miglioramento delle prestazioni della digestione anaerobica. In questo contesto, il presente lavoro di tesi si inserisce nello studio dell'integrazione di sistemi bioelettrochimici (*Bioelectrochemical Systems*, BES) e nanoparticelle (NP) conduttive di magnetite, con l'obiettivo di valutarne l'impatto sulla cinetica e sulla resa del processo applicato a matrici organiche di scarto. In particolare, i sistemi bioelettrochimici, mediante l'applicazione di una bassa tensione esterna, consentono di accelerare la degradazione della sostanza organica e di aumentare la velocità di produzione di metano, favorendo la metanogenesi idrogenofila, cineticamente più rapida rispetto a quella acetoclastica, e riducendo al contempo l'accumulo di acidi grassi volatili. L'integrazione con nanoparticelle conduttive di magnetite può ulteriormente potenziare il processo, facilitando il trasferimento diretto di elettroni (*Direct Interspecies Electron Transfer*, DIET) tra i diversi gruppi microbici coinvolti, migliorando l'efficienza delle interazioni microbiche e incrementando la produzione di CH<sub>4</sub> (Cruz Viggi et al., 2017).

La sperimentazione si è articolata in due fasi successive. Nella prima fase, l'effetto dell'aggiunta di nanoparticelle di magnetite (1 e 5 g/L) è stato valutato mediante test batch di biometanazione (BMP) su fanghi di depurazione

# Tesi



**Figura 2.** Set up sperimentale dei BMP tests

reali, sia tal quali sia sottoposti a pretrattamento termico in autoclave ( $134^{\circ}\text{C}$ , 3.2 bar, 20 min), al fine di incrementarne la biodegradabilità.

I risultati hanno evidenziato, per i fanghi non pretrattati, rese e velocità di produzione di metano complessivamente basse e comparabili tra i sistemi con e senza nanoparticelle, indicando una limitata biodegradabilità della

matrice. L'applicazione del pretrattamento termico ha invece determinato un incremento di circa l'80% sia della resa sia della velocità di produzione di metano, confermando la sua efficacia nel superare le limitazioni cinetiche associate alla fase di idrolisi. Tuttavia, anche in questo caso, l'aggiunta di magnetite non ha prodotto miglioramenti apprezzabili rispetto al sistema di controllo, suggerendo che la sola presenza di nanoparticelle non sia sufficiente a potenziare il processo di digestione anaerobica di fanghi reali.

I risultati hanno evidenziato, per i fanghi non pretrattati, rese e velocità di produzione di metano complessivamente basse e comparabili tra i sistemi con e senza nanoparticelle, indicando una limitata biodegradabilità della matrice. L'applicazione del pretrattamento termico ha invece determinato un incremento di circa l'80% sia della resa sia della velocità di produzione di metano, confermando la sua efficacia nel superare le limitazioni cinetiche associate alla fase di idrolisi. Tuttavia, anche in questo caso, l'aggiunta di magnetite

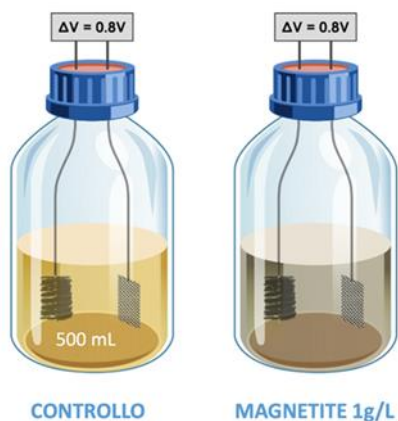
non ha prodotto miglioramenti apprezzabili rispetto al sistema di controllo, suggerendo che la sola presenza di nanoparticelle non sia sufficiente a potenziare il processo di digestione anaerobica di fanghi reali.

Nella seconda fase sperimentale è stato quindi indagato l'effetto combinato di BES e nanoparticelle conduttive di magnetite sulla digestione anaerobica di un fango sintetico. A tal fine, sono stati allestiti due reattori anaerobici da 1 L operati in modalità semi-batch, mantenuti a  $35^{\circ}\text{C}$  sotto agitazione continua e alimentati con fango sintetico a una concentrazione di 25 gCOD/L.

Entrambi i reattori erano equipaggiati con un anodo in grafite e un catodo in acciaio; in uno dei due sistemi sono state aggiunte nanoparticelle di magnetite (1 g/L), mentre l'altro ha operato come controllo. Durante i primi due cicli di alimentazione è stata applicata una differenza di potenziale di 0,8 V tra gli elettrodi, mentre il terzo ciclo è stato condotto a circuito aperto.

I risultati hanno mostrato un chiaro effetto sinergico tra BES e nanoparticelle di magnetite, con un incremento della velocità di produzione di metano compreso tra il 34% e il 51% rispetto al solo sistema BES (Figura 4). Al contrario, anche in presenza di fango sintetico, l'aggiunta di sole nanoparticelle ha avuto un impatto marginale sulla cinetica del processo. Le analisi chimiche hanno evidenziato come il miglioramento osservato nel sistema BES+NP sia associato a un minore accumulo di acidi grassi volatili, in particolare di acido acetico, suggerendo una più efficiente conversione degli intermedi metabolici. Tale comporta-

mento è verosimilmente attribuibile alla rapida ossidazione dell'acetato all'anodo, con produzione di corrente elettrica e successiva generazione di



**Figura 3.** Schema reattori bioelettrochimici

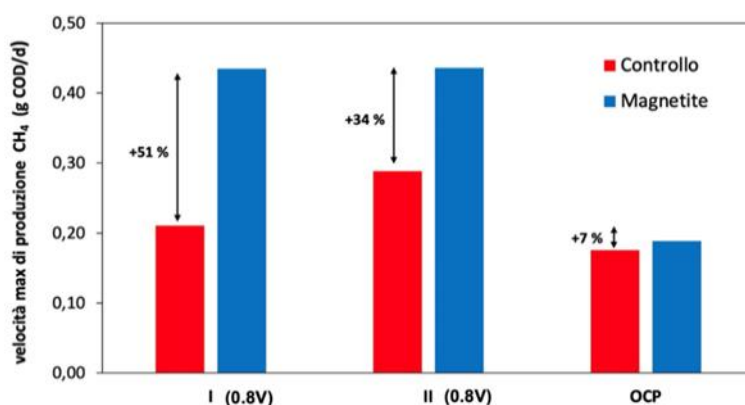
idrogeno al catodo, prontamente convertito in metano da microrganismi metanigeni idrogenofili. La presenza delle nanoparticelle di magnetite favorirebbe ulteriormente i processi di trasferimento extracellulare di elettroni tra microrganismi ed elettrodi.

Nel complesso, il lavoro ha messo in evidenza, per la prima volta, un effetto sinergico positivo derivante dalla combinazione di sistemi bioelettrochimici e nanoparticelle conduttive di magnetite, in grado di accelerare la conversione metanogenica di substrati organici complessi e di migliorare la degradazione degli acidi grassi volatili. Studi futuri saranno necessari per valutare la fattibilità tecnica ed economica di tale approccio su scala reale.

## Bibliografia

Callegari, A., Tucci, M., Aulenta, F., Cruz Viggi, C., & Capodaglio, A. G. (2025). Anaerobic sludge digestion enhancement with bioelectrochemical and electrically conductive materials augmentation: A state of the art review. *Chemosphere* 372, 144101 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144101>

Cruz Viggi, C., Simonetti, S., Palma, E., Pagliaccia, P., Braguglia, C., Fazi, S., Baronti, S., Navarra, M. A., Pettiti, I., Koch, C., Harnisch, F., & Aulenta, F. (2017). Enhancing methane production from food waste fermentate using biochar: The added value of electrochemical testing in pre-selecting the most effective type of biochar. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 303. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0994-7>



**Figura 4.** Schema Velocità di produzione di CH<sub>4</sub> durante tre cicli di alimentazione. Nel ciclo I e II i reattori erano operati applicando una differenza di potenziale di 0.8 V tra gli elettrodi, mentre nel terzo ciclo (OCP) gli stessi erano mantenuti disconnessi. In rosso è riportato il reattore di controllo, in blu il reattore con magnetite



# Eventi

1/2026

## RemTech Europe

Ferrara, 14-18 settembre 2026

Torna anche quest'anno RemTech Europe, e il CNR-IRSA è ancora una volta in prima linea nel coordinamento scientifico. La conferenza, punto di riferimento per il settore della bonifica di suoli e acque, si svolgerà in formato digitale nei primi due giorni e in modalità ibrida per le restanti tre giornate.

Perché partecipare?

- **Innovazione e networking:** Un'agenda ricca di casi di studio e nuove tecnologie sostenibili.
- **Respiro internazionale:** Un confronto interamente in inglese tra stakeholder europei e globali.
- **Accessibilità:** La partecipazione è gratuita, per garantire la massima diffusione delle competenze in tutto il mondo.

Promossa da RemTech Expo in collaborazione con il JRC della Commissione Europea, RemTech Europe non è solo un evento annuale, ma una piattaforma di discussione sempre attiva per professionisti ed esperti del settore.



Sono **aperte le iscrizioni e la Call for Abstracts** per l'edizione 2026. Vi invitiamo a consultare il sito ufficiale e a utilizzare i modelli predisposti (per abstract brevi o estesi) disponibili al seguente link: <https://remtechexpo.com/remtech-europe>

Scadenze importanti:

**Deadline:** 31 marzo 2026

**Last Call:** 30 giugno 2026

Tra gli appuntamenti più attesi, oltre alle **PLENARY SESSIONS**, RemTech Europe ospiterà:

- **"Sustainathon 2026"**: una maratona di 18 ore con relatori da tutto il mondo che presenteranno i progressi e le strategie dei rispettivi Paesi nel raggiungimento degli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile (SDGs).
- **TRAINING COURSES** su tematiche di attualità specifiche, con docenti di rilievo provenienti da tutto il mondo
- **LIVE DEMO**, sessione per osservare le soluzioni all'avanguardia in azione, consentendo ai partecipanti di interagire con una vasta gamma di tecnologie e dispositivi ambientali.

Infine, grazie alla prestigiosa collaborazione con la **SETAC** (*Society of Environmental Toxicology and Chemistry*), una selezione di abstract sarà valutata per la pubblicazione come articoli completi in un numero speciale della rivista internazionale peer-reviewed *Integrated Environmental Assessment and Management* (IEAM) dedicato all'evento.



Tutti i contenuti della Rivista sono liberamente accessibili, nei termini della licenza **Creative Commons** Attribuzione - Non commerciale - Condividi allo stesso modo 4.0 Internazionale (CC BY-NC-SA 4.0)  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



## Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News

**Pubblicazione quadrimestrale telematica dell'Istituto di Ricerca sulle Acque  
del Consiglio Nazionale delle Ricerche**

**ISSN 2465-017X**

*Autorizzazione Tribunale di Tivoli n°5/2015*

### **Direzione e Redazione**

Istituto di Ricerca sulle Acque, Area della Ricerca RM1, Montelibretti, S.P. 35d, km 0,700

✉ C.P. 10 - 00015 Monterotondo (RM)

e-mail: [redazione.notiziario@irsa.cnr.it](mailto:redazione.notiziario@irsa.cnr.it)

### **Direttore responsabile**

Giuseppe Mascolo

### **Direttore Scientifico**

Paola Grenni

### **Comitato di Redazione**

L. Campanella, M. Ciampittiello, C. Cruz Viggi, A.M. De Girolamo, P. Grenni, B. Matturro,  
D. Mosca Angelucci, I. Parlapiano, S. Polesello.

### **Segreteria di Redazione**

S. Ghergo

**<https://www.irsa.cnr.it/Notiziario>**