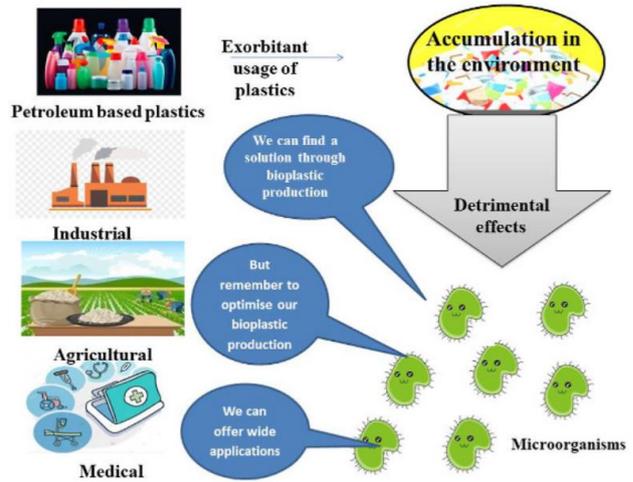


Microrganismi e Sostenibilità

Il Ciclo dei (Bio)polimeri

1. Introduzione

L'uso indiscriminato, lo smaltimento e la recalcitranza delle plastiche a base di petrolio ne hanno determinato l'accumulo lasciando un impatto negativo sull'ambiente. Le bioplastiche, in particolare quelle microbiche, rappresentano una soluzione ecologicamente sostenibile per annullare gli impatti negativi della plastica.



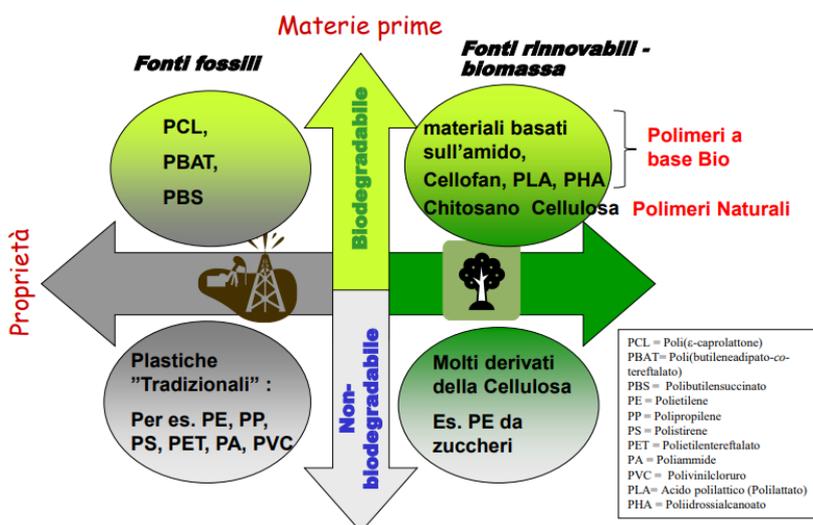
Cosa si intende per biopolimeri?

Viene definito biopolimero quella macromolecola ad elevato peso molecolare prodotta attraverso processi biologici. Tra i polimeri naturali rientrano i polinucleotidi, i polipeptidi (proteine) e i polisaccaridi (amido e cellulosa).

Tuttavia, viene anche definito biopolimero quella macromolecola sintetizzata dall'uomo a partire da materie prime biologiche, anche definiti "polimeri bio derivati" o "polimeri a base bio". Le trasformazione di queste macromolecole possono essere di tipo chimico ma anche mediate da batteri: infatti, esistono numerosi microrganismi in grado di sintetizzare particolari composti che a seguito di trattamenti possono essere "ingegnerizzati" a diventare biopolimeri.

La produzione microbica di biopolimeri come i poliidrossialcanoati (PHA), i poliidrossibutirati (PHB) e l'acido polilattico (PLA), viene effettuata utilizzando materie prime rinnovabili e rifiuti industriali.

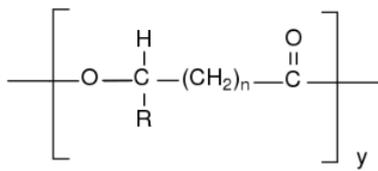
Il presente studio illustra i tipi di bioplastiche, le loro fonti microbiche e le applicazioni in vari campi. Le prove scientifiche sulle bioplastiche hanno suggerito una gamma unica di applicazioni, come quelle industriali, agricole e mediche.



È bene specificare che non sempre un biopolimero (derivante da processi biologici o sintetizzato a partire da fonti rinnovabili) è dotato di caratteristiche di degradabilità elevate in ambiente. Esistono infatti dei polimeri sintetici derivanti da fonti fossili che sono tuttavia biodegradabili, come ad esempio il polietilensuccinato (PBS).

2. Principali Bio Polimeri

PHA – Poli Idrossi Alcanoati

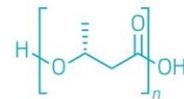


Il poliidrossialcanoato (PHA) è un polimero poliesteri termoplastico, un gruppo unico di bioplastiche interamente prodotte da microrganismi a partire da granoturco, zuccheri di canna e oli vegetali.

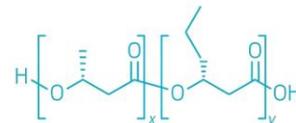
I PHA sono poliesteri naturali biodegradabili prodotti da numerosi microrganismi procarioti principalmente come riserva di carbonio ed energia.

La classificazione dei PHA si basa sul diverso numero di carboni presenti nelle unità ripetitive. I PHA a catena corta contengono 4 o 5 carboni e quelli a catena media contengono 6 o più carboni. Il poli-3-idrossibutirrato (P3HB) e il poli-4-idrossibutirrato (P4HB) sono esempi di PHA a catena corta, mentre il poli-3-idrossibutirrato-co-3-idrossiesanoato (PHBH) e il poli-3-idrossibutirrato-co-3-idrossivalerato (PHBV) sono esempi di PHA a catena media. Idealmente, i PHA a catena corta (4-5 atomi di C) hanno caratteristiche simili ai polimeri tradizionali come il polipropilene, mentre i PHA più estesi presentano proprietà più elastiche.

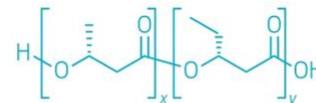
R = alkyl



Poly-(R)-3-hydroxybutyrate (PHB)



Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH)



Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)

Microrganismi e sintesi del PHA

L'enzima PhaC catalizza l'ultima fase del percorso di biosintesi dei PHA e sintetizza i polimeri PHA dagli acidi idrossialcanoici.

È stato riportato che diversi tipi di rifiuti agiscono come substrati eccellenti per la sintesi di PHA. Le principali materie prime sono i rifiuti a base di lignina, i fanghi delle acque reflue, le acque reflue dell'industria della carta, della cellulosa e del cartone, il glicerolo e l'anidride carbonica. I fanghi di trattamento delle acque reflue possono essere considerati come una delle potenziali materie prime in quanto contengono consorzi di vari microrganismi.

Questi microbi sono in grado di produrre PHA in presenza di una fonte di carbonio in eccesso.

Table 1

An overview on various microorganisms producing different types of bioplastics.

Sl No.	Microorganisms used	Bioplastics Produced	Reference
1.	<i>Pseudomonas</i> spp.	PHA	Davis et al. (2013)
2.	<i>Burkholderia sacchari</i>	PHB	Cesario et al. (2014)
3.	<i>Burkholderia cepacia</i>	PHB	Pan et al. (2012)
4.	<i>Bacillus firmus</i>	PHB	Sindhu et al. (2013)
5.	<i>Comamonas</i> spp.	PHB	Sindhu et al. (2014)
6.	<i>Lactobacillus pentosus</i>	PLA	Wischnal et al. (2019)
7.	Recombinant <i>Lactobacillus plantarum</i>	PLA	Zhang et al. (2016)
8.	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Bio-ethylene	Moreno-Bayona et al. (2019)
9.	<i>Alicycigenes latus</i>	PHA	Shettar et al. (2016)
10.	<i>Bacillus megaterium</i>	PHA	Kumar et al. (2015)
11.	<i>Bacillus cereus</i>	PHA	Singh et al. (2009)
12.	<i>Bacillus megaterium R11 Serratia ureilytic</i>	PHA	Tsang et al. (2015)
13.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PHA	Israni, 2016
14.	<i>Comamonas testosteroni</i>	PHA	Chen and Tan, 2014
15.	<i>Pseudomonas gusevskii</i>	PHA	
16.	<i>Enterococcus</i> sp.	PHA	Chozhavendhan et al. (2020)
17.	<i>Brevundimonas</i> sp.	PHA	
18.	<i>Bacillus subtilis</i>	PHA	Chozhavendhan et al. (2020)
19.	<i>Micrococcus</i> sp.	PHB	
20.	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	PHB	Patel and Parsania, 2018
21.	<i>Azotobacter beijerinckii</i>	PHB	Albuquerque et al. (2011)
22.	<i>Cupriavidus necator</i>	PHA	
23.	<i>Protomonas extorquens</i> ,	PHA	Soto et al. (2019)
24.	<i>P. oleovorans</i>	PHA	Portugal-Nunes et al. (2017)
25.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PHB	Moreno-Bayona et al. (2019)
26.	<i>S. diastaticus</i>	PHB	
27.	<i>Candida krusei</i>	PHB	
28.	<i>C. tropicalis</i>	PHB	Simó-Cabrera et al. (2021)
29.	<i>Kloeckera apiculata</i>	PHB	
30.	<i>Kluyveromyces africanus</i>	PHB	

La glicerina, come materia prima, fornisce una resa massima dell'85,19% del peso secco cellulare (CDW) di PHA utilizzando *Bacillus sp.* in condizioni ottimizzate. I rifiuti lignocellulosici generati da piante, industrie della carta e della cellulosa, ecc. possono essere utilizzati efficacemente da batteri come *Pseudomonas sp.* e sintetizzare PHA. In condizioni ottimizzate, i batteri oleaginosi *Serratia sp.* hanno mostrato una produzione di PHA due volte superiore utilizzando la CO₂.

Affinché avvenga la sintesi di PHA, è necessario disporre di un microrganismo in grado di produrlo e delle condizioni controllate che ne consentano la produzione.

Il *R. sulfidophilum* marino è stato coltivato in fotoeterotrofia con lattato. L'inoculo iniziale di *R. sulfidophilum* è stato preparato in condizioni di anaerobiosi e luce continua..

L'esperimento è stato eseguito mettendo in coltura *R. sulfidophilum* in un fotobioreattore (PBR) costituito

da una camera di coltura e da un dispositivo cilindrico dotato di un'asta magnetica sul fondo del dispositivo e di quattro pale per mescolare la coltura. Sulla parte superiore del bioreattore era presente una copertura in acciaio inox con uno scambiatore di calore collegato a un termostato di raffreddamento-riscaldamento-circolazione per controllare la temperatura della coltura.

Un sensore di temperatura e una sonda di pH posizionati negli appositi fori del coperchio in acciaio inox sono stati collegati a un'unità di controllo per monitorare i parametri della coltura. La miscelazione della coltura di è stata effettuata con un agitatore magnetico posto sotto il fondo del PBR.

La procedura di estrazione del PHA è stata eseguita successivamente al lavaggio del campione (necessario alla separazione delle cellule dal brodo di coltura) che è stato poi congelato e liofilizzato. Il solvente utilizzato per l'estrazione è il cloroformio (CHCl₃), a cui sono state aggiunte le cellule liofilizzate con un rapporto 1L:1g.

La sospensione è stata mantenuta a temperatura ambiente e agitata per 6 giorni, è stata poi filtrata sotto vuoto con un filtro di carta per rimuovere i detriti. Il filtrato è stato quindi concentrato con un rotavapor e il PHA è stato precipitato aggiungendo metanolo (CH₃OH) freddo con una vigorosa agitazione. Il PHA è stato quindi raccolto per centrifugazione, essiccato all'aria, pesato e utilizzato per le analisi.

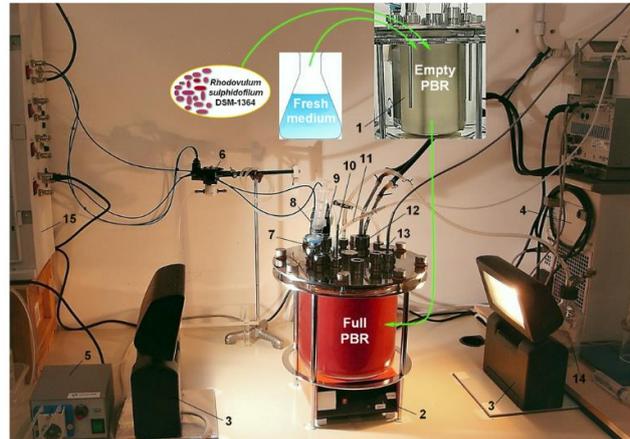
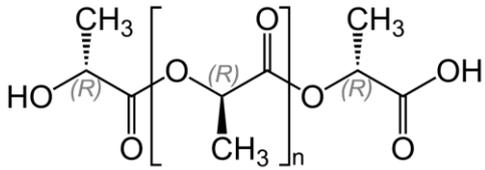
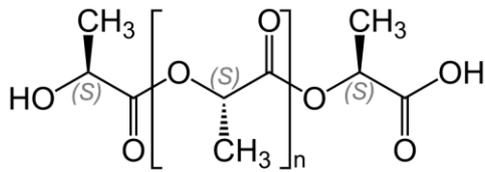


Fig. 2. General view of the cultivation system: empty PBR; bacterial inoculum; fresh medium and full PBR. Cylindrical device with 4 paddles (1); magnetic stirrer (2); lamps (3); cooling-heating-circulating pump (4); pump for automatic pH control (5); electrovalve (6); distilled water inlet (7); pH probe (8); redox probe (9) sample port (10); gas outlet (11); heating/cooling finger (12); Pt 100 thermoresistance (13); culture overflow bottle (14); control unit (15).

PLA – Acido Polilattico



Il PLA è un polimero dell'acido lattico, ottenuto dalla fermentazione dell'amido di mais.

Il mais è la migliore fonte di acido lattico di elevata purezza. Se utilizzate come materiale di partenza, le piante e altre biomasse legnose possono ottenere costi di produzione inferiori.

Queste bioplastiche sono poliesteri biodegradabili e biobased sintetizzati tramite polimerizzazione di condensazione dell'acido lattico, sviluppo della catena lattidica o ring-opening.

Il PLA è una termoplastica biodegradabile che può essere modellata in vari prodotti a base biologica. È stato dimostrato che il PLA può essere utilizzato per applicazioni di imballaggio rinforzato con fibrille di nanocellulosa. La microcellulosa e la nanocellulosa sono materiali di rinforzo adatti per i biocompositi a base di PLA.

Microrganismi e Sintesi

Table 1. Lactic acid production in microorganisms.

Microorganisms	Substrates	Fermentation Mode	Yield (g/L)	Productivity (g/L·h)	Reference
L-lactic acid producers					
<i>Rhizopus oryzae</i>	Glucose	One-step fermentation with fed-batch strategy	162	6.23	[22]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	fed-batch fermentation	142	3.55	[24]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Starchy biomass	liquefaction, saccharification and fermentation	108	3.40	[25]
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Glucose	Non-sterilized fermentation	221	7.50	[26]
<i>Bacillus</i> sp. 2-6	Glucose	Non-sterilized repeated batch fermentation	107	3.06	[27]
<i>Bacillus</i> sp. strain XZL9	Corn cob molasses	Fed-batch fermentation	75	0.38	[28]
<i>Bacillus</i> sp. strain P38	Cellulosic hydrolysate	Fed-batch fermentation	180	2.40	[29]
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Non-detoxified wood hydrolysate	Fed-batch fermentation	99	2.25~3.23	[30]
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Rice straw hydrolysate	Batch fermentation	67	5.27	[30]
<i>Bacillus coagulans</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Cassava bagasse	Simultaneous saccharification and co-fermentation	113	2.74	[31]
<i>Bacillus coagulans</i>	Bakery waste and lucerne green juice	Batch fermentation	62	2.59	[32]
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2	Food waste	Batch fermentation	34	0.55	[33]
Indigenous microbiota	Food waste and waste activated sludge	Batch fermentation	30	0.63	[34]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Raw corn starch	Batch fermentation	50	—	[35]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Cassava powder	Simultaneous saccharification and fermentation	175	3.40	[36]
<i>Bacillus coagulans</i>	Jerusalem artichoke powder	Fed-batch fermentation	134	2.50	[37]
D-lactic acid producers					
<i>Bacillus coagulans</i>	Glucose	Fed-batch fermentation	145	1.50	[5]
<i>Sporolactobacillus</i> sp. <i>CASD</i>	Glucose	Fed-batch fermentation	207	3.80	[38]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	Fed-batch fermentation	40	0.83	[39]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	Semi-neutralizing fermentation	52	2.17	[40]
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Glucose	Fed-batch fermentation	264	3.30	[41]
<i>Escherichia coli</i>	Glucose	Shake flask experiment	123	4.39	[42]
<i>Escherichia coli</i>	Glycerol	Batch fermentation	115	3.29	[43]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Orange peel waste	Separate hydrolysis and fermentation	45	0.63	[44]
<i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i>	Dried distiller's grains with solubles hydrolysate	Simultaneous saccharification and fermentation	38	0.80	[45]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Molasses and corn steep liquor	Fed-batch fermentation	162	3.37	[46]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Sugarcane molasses and soybean meal	Fed-batch fermentation	112	2.40	[47]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> + <i>engineered Lactococcus lactis</i>	Whey permeate	Fed-batch co-culture process	~45	0.63	[48]

Nel caso dei microbi, la produzione su larga scala di PLA è preferita dai metodi omofermentativi perché fornisce una maggiore resa di acido lattico con meno sottoprodotti. I microbi che attuano la fermentazione lattica appartengono principalmente al genere *Lactobacillus sp.* come *Lactobacillus amylophilus*, *L. delbrueckii*, *L. leichmannii* e *L. bulgaricus*. Tuttavia, come mostrato in Table 1, esistono numerose specie microbiche in grado di attuare la fermentazione lattica a partire da diverse matrici naturali. La fermentazione microbica produce monomeri di PLA di isomeri L o D, poi polimerizzati chimicamente per ottenere il PLA.

Il contenuto di enantiomeri contribuisce alle proprietà fisiche del PLA, indipendentemente dal fatto che si tratti di omopolimeri o eteropolimeri.

Gli omopolimeri di PLA contenenti poliesteri di monomeri di acido lattico L o D otticamente puri saranno semicristallini, mentre gli eteropolimeri di PLA come l'acido DL-lattico sono amorfi.

La maggior parte dell'acido lattico (precursore dell'acido polilattico) è stato prodotto per fermentazione microbica. I PLA sono stati finora sintetizzati principalmente attraverso il processo di polimerizzazione chimica dell'acido lattico (ROP del lattide). Recentemente, sono stati sviluppati processi fermentativi diretti in un'unica fase per la produzione di PLA e di diversi poliesteri contenenti acido lattico, utilizzando microrganismi ingegnerizzati dal punto di vista metabolico.

Il processo di polimerizzazione dell'acido lattico a PLA prevede la disidratazione dell'acido lattico e polimerizzazione ottenendo un PLA a basso peso molecolare che viene poi depolimerizzato a lattide, un intermedio ciclico che viene separato tramite distillazione per poi essere sottoposta all'apertura catalitica dell'anello (ROP) a formare il PLA ad alto peso molecolare.

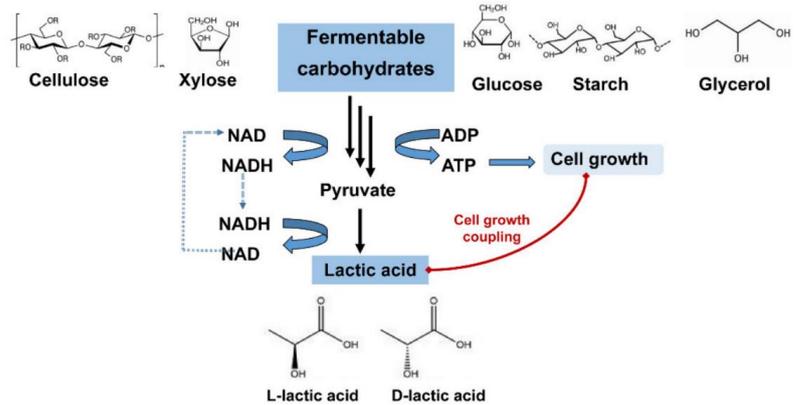
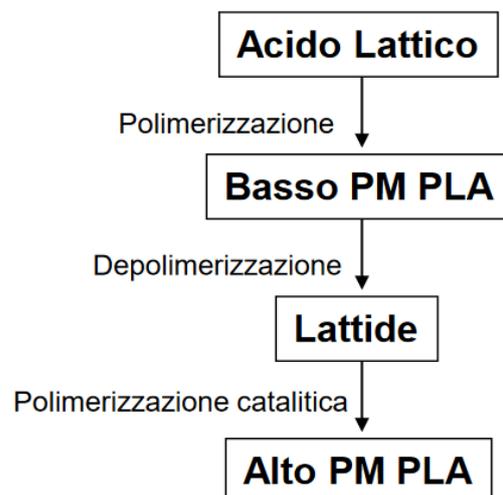
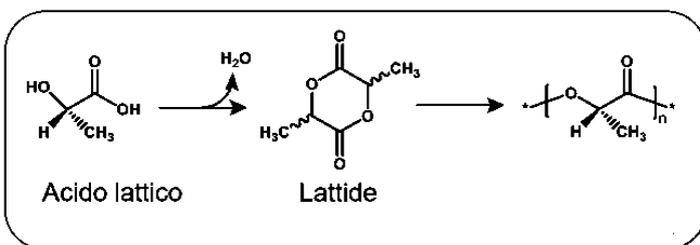


Figure 1. LA exists in two enantiomeric forms of L-lactic acid and D-lactic acid.



3. Microrganismi e Degradazione dei Polimeri

PHA → La capacità del PHA di degradarsi nell'ambiente acquatico, lo rende un materiale superiore per quanto riguarda la riduzione dell'impatto ambientale.

Il PHB è un materiale biologico di riserva che batteri e funghi usano come fonte alimentare. I materiali fatti con tale polimero sono fonte di cibo per microrganismi che così li biodegradano. Serve come nutriente solo quando fosfati, azoto, sali, umidità e calore consentono ai microrganismi di crescere.

Tali condizioni sono presenti in ambienti controllati, nel compost e, in parte, nel suolo, ma non nelle condizioni ambientali. Perciò tali materiali sono stabili all'uso per anni.

PLA → L'acido PLA è idrolizzato autocataliticamente in ambienti umidi a temperature sopra la transizione vetrosa (55°C). Si libera la subunità di acido lattico. Che viene usata dai microrganismi come cibo.

Manufatti ottenuti con PLA si degradano bene solo in strutture professionali di compostaggio (con controllo della temperatura).

Moraxella sp.

Studiando il batterio antratico *Moraxella sp.* è stato scoperto un enzima psicrofilo (MoPE) che è stato espresso eterologicamente, caratterizzato e il suo potenziale nella degradazione dei polimeri è stato ulteriormente indagato. In base alla sua composizione aminoacidica e alla sua struttura, il MoPE assomiglia agli enzimi che degradano il PET, condividendo le caratteristiche degli omologhi mesofili e termofili.

Il MoPE idrolizza plastiche non biodegradabili, come il polietilene tereftalato (PET) e il poliuretano (PU), nonché poliesteri sintetici biodegradabili, come il policaprolattone (PCL), il poliidrossibutirato (PHB), il polibutilene succinato (PBS) e l'acido polilattico (PLA).

L'attività del MoPE è stata dapprima testata su vari composti modello di PET oligomerico, per vedere il suo potenziale di degradazione del PET, ma anche per cercare di capire la sua modalità d'azione. Come mostrato nella Fig. 6, il MoPE è risultato in grado di scindere gli esteri mono- e di-sostituiti dell'acido tereftalico.

L'enzima non è in grado di distinguere chiaramente tra le sostituzioni metiliche ed etiliche, anche se ha mostrato una certa preferenza per la scissione del gruppo etilico.

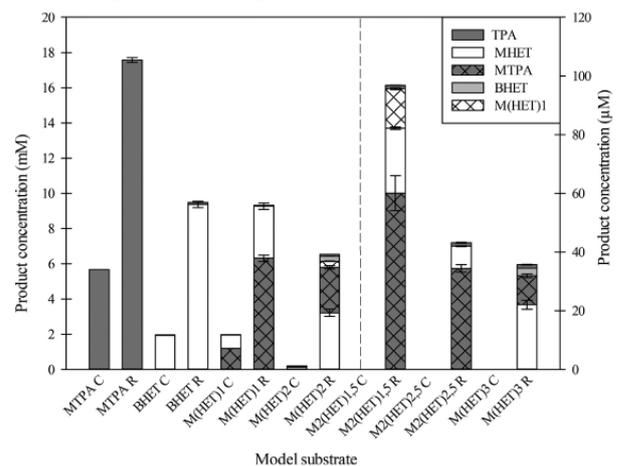


Fig. 6. Concentration of water-soluble products detected after the treatment of different PET model compounds with MoPE. Reactions took place at 30 °C for 24 h. Abbreviations of compounds: TPA, terephthalic acid; MTPA, monomethyl terephthalate; BHET, bis(2-hydroxyethyl) terephthalate; MHET, mono-(2-hydroxyethyl) terephthalate; M(HET)1, 1-(2-hydroxyethyl)-4-methylterephthalate; M(HET)2, monomethyl bis(2-hydroxyethyl terephthalate); M2(HET)1,5, ethylene glycol bis(methyl terephthalate); M2(HET)2,5, 1,4-benzenedicarboxylic acid, 1,4-bis[2-[[4-(methoxycarbonyl)benzoyl]oxy]ethyl] ester; M(HET)3, monomethyl tris(2-hydroxyethyl terephthalate). Dashed line; left part at mM and right part at µM Y-axis scale.

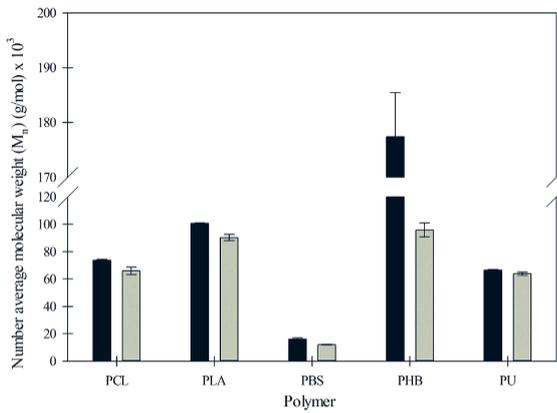
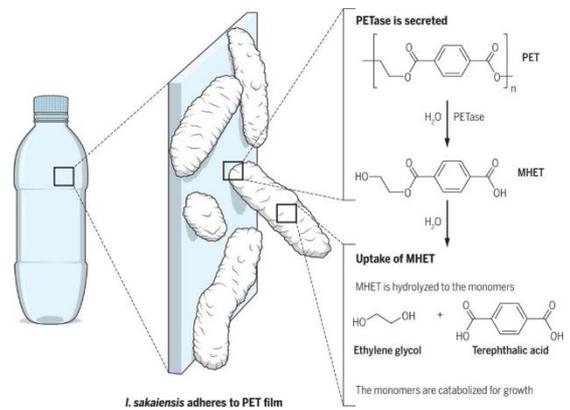


Fig. 8. Number average molecular weight of polymers before (black bars) and after (grey bars) treatment with MoPE at 30 °C after 3 days. M_n was determined by Gel Permeation Chromatography (GPC). Enzymatic reactions were performed in triplicates.

L'attività enzimatica di MoPE è stata anche testata su altri polimeri indicati in Fig. 8. Il focus dell'esperimento è rappresentato dal peso molecolare dei vari polimeri prima e dopo essere stati sottoposti all'attività enzimatica di MoPE e sulla distribuzione del peso molecolare nel polimero risultante. La percentuale di decremento del peso molecolare viene indicato con M_n . Tra i polimeri testati, quello che presenta una maggiore riduzione è il PHB ($M_n \approx 50\%$).

Ideonella sakaiensis

La degradazione enzimatica del PET utilizzando, ad esempio, *Ideonella sakaiensis* PETase (IsPETase) può essere un'alternativa più ecologica e a risparmio energetico rispetto al riciclo chimico del PET. Tuttavia, l'IsPETasi è un enzima mesofilo con una temperatura di reazione ottimale inferiore alla temperatura di transizione vetrosa (T_g) del PET, dove i polimeri amorfi possono essere facilmente accessibili per la degradazione enzimatica.



Lo studio ha ingegnerizzato diverse varianti dell'IsPETasi al fine di individuare quella più efficiente nella biodegradazione del PET. I risultati indicano che la termostabilità è una delle caratteristiche più importanti di un'efficace idrolasi del PET. L'idrolisi delle nanoparticelle di PET con le varianti di IsPETasi sopra menzionate è stata studiata a diverse temperature, da 30°C a 60°C per 24h. Con l'aumento della temperatura, per ciascuna variante è stato osservato un aumento del tasso di degradazione delle nanoparticelle di PET in termini di maggiore rilascio di prodotto.

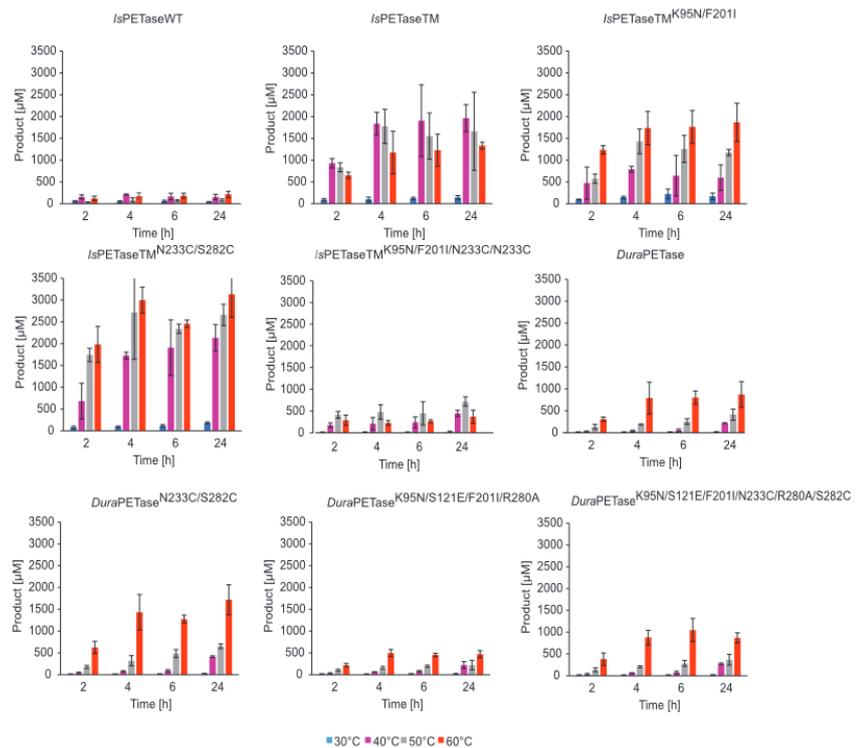


FIGURE 2 Time course of total product release at different incubation temperatures. The total product released refers to the sum of released MHET, TA, and BHET. Biocatalysis with PET nanoparticles was performed with 30 nM IsPETase variant in 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.5) at the respective incubation temperatures and a constant agitation of 1000 rpm for 24 h. A final PET nanoparticle concentration of 0.2 mg mL⁻¹ was used. The measurements were performed in triplicates and the mean values and standard deviations are given

4. Conclusioni

Diversi microrganismi, come *Alcaligenes latus*, *Burkholderia sacchari*, *Micrococcus species*, *Lactobacillus pentosus*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *Rhizobium sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia sp.*, *Azotobacter sp.*, *Protomonas sp.*, *Cupriavidus sp.*, *Halomonas sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Kluyveromyces sp.* e *Ralstonia sp.* sono noti per produrre bioplastiche, tuttavia la produzione industriale di bioplastiche è ancora impegnativa. La seguente tabella mostra tuttavia, la produttività di alcuni microrganismi nella produzione di biopolimeri anche a scala pre-industriale.

Table 3
Productivity of bioplastics by mixed cultures at the laboratory and pilot scale.

Sl. No.	Microorganisms	Carbon source	Type of Bioplastics	Content (%)	References
1	<i>Bacillus megaterium</i> UMTKB-1	Medical plastic waste + Waste frying oil (800 W)	P(3HB)	1.54 ± 0.13	Mahari et al. (2022)
2	<i>B. gladioli</i> 2S4R1	Glucose + Xylose + Arabinose	PHB	52.06	Naitam et al. (2022)
3	<i>B. cereus</i> LB7	Glucose + Xylose + Arabinose	PHB	50.71	Naitam et al. (2022)
4	<i>L. mesenteroides</i>	Cheese whey	PHA	36	Bosco et al. (2021)
5	<i>Cupriavidus necator</i>	Volatile fatty acids from paper wastes	PHA	60.71	Al Battashi et al., (2021)
6	<i>Cupriavidus necator</i>	Cheese whey	3HB 3HV	71	Domingos et al. (2018)
7	<i>Cupriavidus necator</i>	Waste rapeseed oil	3HB 3HV	76	Obruca et al. (2010)
8	<i>Bacillus megaterium</i>	Sucrose	3HB	62	Faccin et al. (2013)
9	<i>Pandoraea sp.</i> MA03	Crude glycerol	3HB	49	de Paula et al. (2017)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Long odd chain fatty acids (heptadecanoic acid, nonadecanoic acid, heneicosanoic acid)	3HB 3HV	13.4	Impallomeni et al. (2018)
11	<i>Pseudomonas putida</i>	Glucose + glycerol + octanoate	HHx, HO, HD	57	Fontaine et al. (2017)
12	Recombinant <i>Pseudomonas putida</i>	Waste vegetable oil	HHx, HO, HD	38.3 ± 3.1	Borrero-de Acuña et al. (2019)
13	<i>Burkholderia sacchari</i>	Waste paper	PHB	44.2	Al-Battashi et al. (2019)
14	<i>Burkholderia sacchari</i>	Glucose + different co-substrates	PHB	2.7–73.7	Mendonça et al. (2014)
15	<i>Bacillus sp.</i> ISTVK1	Pure glycerol	PHV	85.19	Morya et al. (2018)

Anche le microalghe risultano coinvolte nella produzione di PHA, il punto forte del loro utilizzo per la produzione di bioplastiche è la sua economicità.

La produzione microbica di bioplastiche necessita di grandi quantità di substrati rispetto alla produzione con microalghe che al contrario sono autotrofe: utilizzano la CO₂ e la luce per alimentarsi, riducendo così il costo della fornitura di substrati.

Inoltre, l'utilizzo delle alghe per la produzione di bioplastiche mostra una maggiore inclinazione verso una bioeconomia circolare, in quanto presenta caratteristiche quali il basso costo, la bassa generazione di CO₂ e la bassa emissione di gas serra.

Attualmente, le forme commerciali di PHA consistono in polimeri prodotti da monomeri a catena corta, che danno origine a polimeri come il poliidrossibutirrato (PHB). Il PHB può essere utilizzato per produrre eteropolimeri mediante stampaggio, estrusione, filatura in fibre e trasformazione in film per l'imballaggio alimentare. Rispetto ai materiali da imballaggio convenzionali, questi film si sono distinti per un'eccellente permeabilità all'ossigeno (OP), una notevole resistenza alla trazione, un'elevata attività antiossidante, un alto tasso di trasmissione del vapore acqueo (WVTR) e una significativa azione antimicrobica.

I PHA sono relativamente costosi da produrre; le plastiche sono incorporate con riempitivi o additivi inerti, come minerali argillosi e farina di legno, per ridurre i costi di produzione. L'uso di residui di lignina di bioraffineria estratti da stocchi di mais mescolati con P(3HB-co-4HB). Recentemente sono state dimostrate le variazioni delle proprietà dei compositi PHB-lignina durante la stampa 3D.

Il PLA è la plastica biodegradabile più prodotta. Nel 2019 ha rappresentato il 13,9% della produzione mondiale di bioplastiche. Considerato un'alternativa ecologica alla plastica a base di petrolio con un'ampia gamma di applicazioni, l'acido polilattico ha suscitato un grande interesse e quindi la domanda di acido L o D-lattico otticamente puro è aumentata. Di conseguenza, il costo del materiale è diminuito grazie ai progressi della tecnologia di produzione e ha trovato molte applicazioni, tra cui gli indumenti, gli imballaggi alimentari, le tazze da caffè e le fibre.

Il PLA è vantaggioso per diversi aspetti, come la compatibilità con varie fibre, l'eccellente resistenza meccanica, le basse temperature di lavorazione e la biocompatibilità rispetto ai termoplastici tradizionali. Il PLA è applicabile in diversi settori industriali, come l'imballaggio, i geotessili, la stampa 3D, la fibra legante non tessuta, i dispositivi protesici, le suture biomediche assorbibili, i bio-sorbenti, ecc.

Lo smaltimento incontrollato dei rifiuti di plastica ha destato preoccupazione a livello globale, poiché le conseguenze dell'accumulo di plastica sono ormai evidenti. Il riciclaggio e l'incenerimento tradizionali non sono in grado di risolvere efficacemente il problema, ma sono le uniche alternative di gestione dei rifiuti al posto della discarica. Tuttavia, la scoperta dei meccanismi naturali di scomposizione dei rifiuti plastici può portare a una tecnologia di riciclaggio verde e a basso costo. In particolare, i nuovi enzimi, con un grande potenziale nella degradazione dei polimeri, possono essere una soluzione promettente per l'upcycling dei rifiuti urbani in plastica. Un arsenale enzimatico efficace può aiutare a riutilizzare e rivalorizzare la plastica, il cui impatto ha ripercussioni sull'ecosistema e sulla salute umana.

In quest'ottica, è stato studiato il potenziale di un'esterasi psicrofila di *Moraxella sp.* per la degradazione di materiali polimerici non biodegradabili, come PET e PU, e di poliesteri sintetici biodegradabili, come PCL, PHB, PBS e PLA.

La capacità dell'enzima MoPE di idrolizzare la natura recalcitrante delle plastiche, di utilizzare polimeri sintetici altamente cristallini e la sua ampia gamma di substrati la rendono un eccellente modello per l'ingegneria enzimatica per lo sviluppo di un robusto biocatalizzatore per la degradazione della plastica.

Per quanto riguarda l'enzima IsPETasi di *Ideonella sakiensis*, sono state scoperte diverse varianti di IsPETasi più termostabili.

Per un'efficace degradazione del PET da parte degli enzimi, è essenziale il giusto equilibrio tra attività idrolitica e termostabilità. Tuttavia, un aumento della termostabilità è probabilmente accompagnato da un aumento della rigidità che può causare una riduzione dell'attività. In particolare, per la degradazione del PET, la perdita di attività enzimatica può essere compensata dalla maggiore accessibilità del substrato polimerico a temperature più elevate.

Bibliografia

- Al-Kaddo, K. B., Sudesh, K., Samian, M. R., 2016. Screening of bacteria for PHA production using waste glycerol as carbon source and the ability of new strain to produce P(3HB-co-3HV) copolymer. *MJM*. <https://doi.org/10.21161/mjm.82016>
- Assefa, N.G., Hansen, H., Altermark, B., 2022. A unique class I polyhydroxyalkanoate synthase (PhaC) from *Brevundimonas* sp. KH11J01 exists as a functional trimer: A comparative study with PhaC from *Cupriavidus necator* H16. *New Biotechnology* 70, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2022.05.003>
- Brott, S., Pfaff, L., Schuricht, J., Schwarz, J.-N., Böttcher, D., Badenhorst, C.P.S., Wei, R., Bornscheuer, U.T., 2022. Engineering and evaluation of thermostable IsPETase variants for PET degradation. *Engineering in Life Sciences* 22, 192–203. <https://doi.org/10.1002/elsc.202100105>
- Carlozzi, P., Touloupakis, E., Filippi, S., Cinelli, P., Mezzetta, A., Seggiani, M., 2022. Purple non-sulfur bacteria as cell factories to produce a copolymer as PHBV under light/dark cycle in a 4-L photobioreactor. *Journal of Biotechnology* 356, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.07.008>
- Citterio, A., n.d. *Polimeri Naturali e Biopolimeri, Introduction to Green and Sustainable Chemistry*.
- Dechy-Cabaret, O., Martin-Vaca, B., Bourissou, D., 2004. Controlled Ring-Opening Polymerization of Lactide and Glycolide. *Chem. Rev.* 104, 6147–6176. <https://doi.org/10.1021/cr040002s>
- Huang, S., Xue, Y., Yu, B., Wang, L., Zhou, C., Ma, Y., 2021. A review of the recent developments in the bioproduction of polylactic acid and its precursors optically pure lactic acids. *Molecules* 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26216446>
- Nabels-Sneiders, M., Platnieks, O., Grase, L., Gaidukovs, S., 2022. Lamination of Cast Hemp Paper with Bio-Based Plastics for Sustainable Packaging: Structure-Thermomechanical Properties Relationship and Biodegradation Studies. *Journal of Composites Science* 6. <https://doi.org/10.3390/jcs6090246>
- Nikolaivits, E., Taxeidis, G., Gkountela, C., Vouyiouka, S., Maslak, V., Nikodinovic-Runic, J., Topakas, E., 2022. A polyesterase from the Antarctic bacterium *Moraxella* sp. degrades highly crystalline synthetic polymers. *Journal of Hazardous Materials* 434, 128900. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128900>
- Varghese, S., Dhanraj, N.D., Rebello, S., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Jisha, M.S., Awasthi, M.K., 2022. Leads and hurdles to sustainable microbial bioplastic production. *Chemosphere* 305, 135390. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135390>