

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

Biodegradazione di Acido Polilattico

Relatore: Prof. Edmondo Maria Benetti

Laureando: Anna Pandolfo
2033694

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
2. LA DEGRADAZIONE DEI POLIMERI	7
2.1 <i>Degradazione abiotica</i>	7
2.2 <i>Degradazione biotica o biodegradazione</i>	9
3. LA DEGRADAZIONE DEI POLIESTERI	12
3.1 <i>Sintesi dei poliesteri</i>	12
3.2 <i>Meccanismo di degradazione</i>	13
3.3 <i>Meccanismo di (bio)degradazione enzimatica</i>	14
4. ACIDO POLILATTICO (PLA)	16
4.1 <i>Sintesi e caratteristiche</i>	16
4.2 <i>(Bio)degradazione dell'acido polilattico</i>	18
4.3 <i>Determinazione del tasso di biodegradazione</i>	21
5. CONCLUSIONI	23

Abstract

A causa del suo impatto ecologico e del massiccio accumularsi dei rifiuti di plastica sulla terra, la plastica ha causato numerosi problemi all'ambiente che hanno catturato l'attenzione di tutto il mondo. I prodotti in plastica sono utili e portano comodità nelle nostre vite, tuttavia, in quanto inquinanti persistenti, possono permanere in un ecosistema per centinaia di anni o più.

Da anni si cerca di trovare delle alternative "green" a questi materiali dalle proprietà inimitabili, ma risulta fondamentale anche cercare una soluzione al loro smaltimento, il quale nella maggior parte dei casi porta a prodotti ecotossici. Uno dei materiali risultati promettenti è l'acido polilattico (PLA), un poliestere alifatico sintetizzato a partire dall'acido lattico e ottenibile da risorse totalmente rinnovabili, quali mais e canna da zucchero.

Questo elaborato prende in esame la biodegradabilità dei poliesteri, ponendo particolare attenzione al PLA, analizzando i processi biochimici e le condizioni di reazione che ne governano i differenti meccanismi di biodegradazione.

1. INTRODUZIONE

La plastica è un materiale polimerico plastico e artificiale, costituito da unità, dette *monomeri*, legate insieme in lunghe catene lineari o ramificate, distinti da una grande varietà di composizione, dimensione e struttura. Grazie alle loro molteplici proprietà che le rendono molto versatili, in pochissimo tempo le plastiche sono divenute un materiale insostituibile, rivoluzionando molti settori industriali e migliorando numerosi aspetti della vita quotidiana [1].

Proprio a causa di quelle caratteristiche che ne hanno permesso una rapida ascesa, tanto che oggi si parla “dell’Era della Plastica”, esse hanno generato un impatto rilevante sull’ambiente naturale.

L’elevata durabilità e la resistenza alla degradazione che le contraddistinguono hanno portato al loro rapido accumulo e ne consentono la persistenza nell’ecosistema, causando danni significativi agli habitat terrestri e marini. Ne sono state trovate in grandi quantità ovunque sul pianeta, dalla cima delle montagne più alte ai fondali degli oceani, dai luoghi antropizzati ai poli remoti. La problematica dei rifiuti di plastica nell’ambiente è ormai evidente e nota, mentre l’entità degli effetti sulla salute, che si sviluppano in seguito all’esposizione umana prolungata a micro- (da 0,1 μm a 5 mm) e nano-plastiche (<0,1 μm) oramai ubiquitarie, è ancora oggi incerta [2].

Uno dei problemi principali è la produzione di massa, che porta ad un accumulo di materie plastiche, le quali molto spesso provengono da fonti fossili e presentano un comportamento non biodegradabile [3]. La produzione di plastica è raddoppiata da circa 200 milioni di tonnellate (Mt) di produzione totale nel 2000 a >400 Mt nel 2019. Abbinato all’aumento nella produzione di plastica vi è un imponente aumento dei rifiuti e sostanze chimiche, con sottoprodotti associati, che vengono rilasciati nell’ambiente durante tutto il ciclo di vita della plastica [4].

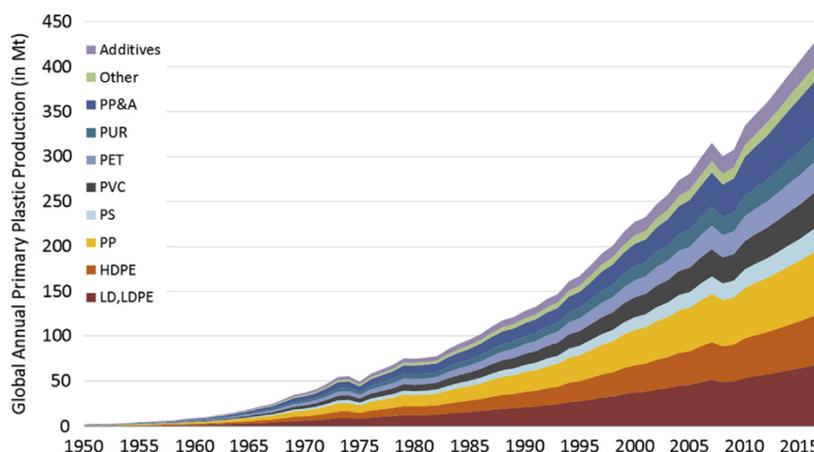


Figura 1. Produzione annuale mondiale di materie plastiche primarie (in Mt) per tipo di materiale dal 1950 al 2017 [5].

Proprio per limitarne gli effetti associati, negli ultimi decenni la ricerca si è focalizzata sulla produzione di alternative sostenibili ai polimeri sintetici tradizionali, studiando anche dei metodi che possano portare al loro smaltimento senza arrecare danni all'ambiente. Tra le numerose opzioni vagliate, i poliesteri biodegradabili si sono distinti come promettenti sostituti grazie alla loro capacità di degradarsi in condizioni ambientali controllate. Questi materiali possono essere processati e convertiti in acqua, anidride carbonica e biomassa attraverso meccanismi di biodegradazione mediati da microrganismi presenti nell'ambiente. Questa caratteristica non solo permette la riduzione del volume di rifiuti plastici a lungo termine, ma anche il contenimento dell'impatto ecologico complessivo [6].

Lo scopo di questa tesi è quello di illustrare in modo generale i meccanismi di degradazione e biodegradazione dei poliesteri, ovvero meccanismi che comportano il deterioramento del materiale per azione di agenti ambientali o microrganismi, i cui prodotti risultano innocui per l'uomo e per l'ambiente. Particolare attenzione sarà posta sull'acido polilattico (PLA), un poliestere alifatico altamente poliedrico e biodegradabile, derivato da risorse rinnovabili al 100%, come mais e barbabietole da zucchero [7].

2. LA DEGRADAZIONE DEI POLIMERI

Per degradazione dei polimeri si intende qualsiasi cambiamento fisico o chimico che avviene a carico del polimero, causata da fattori ambientali, come luce, calore, umidità, condizioni chimiche o attività biologica [8]. Essa consiste nella rottura della complessa matrice strutturale del materiale che avviene in seguito a reazioni chimiche, fisiche o biochimiche che comportano la rottura dei legami covalenti che ne determinano la struttura, risultando in una variazione delle loro proprietà chimico-fisiche.

La rottura dei legami genera delle specie radicaliche molto reattive che permettono la propagazione del processo lungo tutta la catena polimerica, senza la necessità di catalizzatori, come avviene, invece, per lo stadio di iniziazione, il quale richiede la presenza di fattori esterni, quali luce, calore, radiazioni, ecc., per consentire il superamento della barriera energetica necessaria alla scissione dei legami [3]. In base al tipo di forza che spinge la reazione, la degradazione può essere classificata come degradazione abiotica o degradazione biotica, a seconda che si tratti di un processo causato dall'intervento di fattori esterni come temperatura, acqua o ossigeno, o che sia il risultato dell'azione di microrganismi e quindi avvenga attraverso una reazione biochimica [9].

2.1 Degradazione abiotica

La degradazione abiotica è solitamente la prima fase successiva alla fine della vita utile della plastica, durante la quale si verificano cambiamenti fisici e chimici, ma non azioni biologiche, che determinano la modifica di almeno una proprietà o caratteristica del materiale. Tramite differenti processi, il polimero viene scisso a formare dei frammenti di dimensioni inferiori, come oligomeri o i monomeri costituenti, i quali possiedono le dimensioni adatte per, eventualmente, attraversare le membrane cellulari ed essere, quindi, biodegradati all'interno delle cellule microbiche dagli enzimi cellulari, agendo come una sorta di catalizzatore per la fase biologica della biodegradazione [3].

Di seguito, sono descritti brevemente due dei metodi di degradazione abiotica più rilevanti.

Idrolisi

L'idrolisi è un meccanismo di degradazione chimica che comporta la rottura di un legame per azione dell'acqua, in ambiente neutro, acido o basico. Come risultato si ha la divisione del polimero in due frammenti, uno che presenterà un'estremità arricchita da un atomo di idrogeno (H^+), l'altra da un gruppo idrossilico (OH^-), derivanti dalla molecola d'acqua responsabile. Nel caso dei poliesteri:

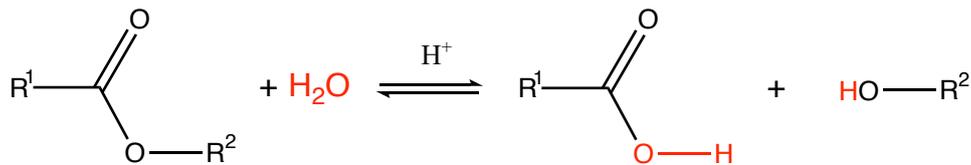


Figura 2. Schema di reazione di idrolisi (in ambiente acido) di un generico estere. I frammenti risultanti contengono un'estremità carbossilica o alcolica.

Temperature elevate e condizioni critiche sono solitamente necessarie per raggiungere elevate velocità di reazione durante il processo di idrolisi che porta alla formazione dei corrispondenti monomeri e oligomeri.

In generale, l'assorbimento di acqua da parte della molecola porta ad una modifica delle proprietà del materiale. Ad esempio, la temperatura di decomposizione e di transizione vetrosa¹ diminuiscono, risultando in un aumento delle proprietà plastiche del prodotto. Ciò avviene a causa della diminuzione delle interconnessioni tra le catene del polimero, dovuta all'azione dell'acqua, che porta ad ottenere un polimero caratterizzato da minor rigidità, minore resistenza alla trazione e da una temperatura di decomposizione relativamente bassa, in quanto sarà necessaria una quantità di energia inferiore per romperne la struttura ormai già indebolita [3].

Termolisi e termo-ossidazione

La termolisi è un processo di degradazione termica in cui la sostanza sottoposta a riscaldamento si decompone, formando delle nuove sostanze. Ad alte temperature, infatti, i componenti della lunga catena principale del polimero iniziano a distaccarsi e a reagire tra loro, modificando le proprietà del polimero [8].

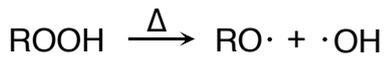
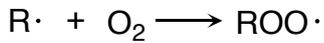
Se la degradazione termica avviene in presenza di ossigeno, è chiamata degradazione termo-ossidativa. Il primo passaggio della degradazione termica è la rottura dei legami intermolecolari, con conseguente formazione di unità monomeriche o radicali che possono reagire con O₂ per produrre radicali idroperossidi. Questi successivamente si decompongono per formare ulteriori radicali, portando a un aumento della velocità di ossidazione e alla formazione di nuove specie [3].

¹ *Temperatura di transizione vetrosa* = temperatura alla quale la viscosità del vetro è 10¹³ dPa s [10].

Iniziazione



Propagazione



Ramificazione



Terminazione

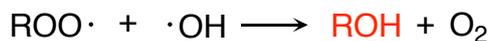
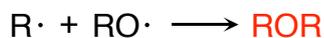
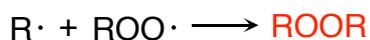


Figura 3. Schema generale di reazione di una termo-ossidazione a carico di una generica specie R-H [3].

In base ai tempi di esposizione e alla quantità di energia fornita, la struttura del polimero può subire differenti cambiamenti. In particolare per quanto riguarda le proprietà fisiche del materiale si nota che: a) per temperature inferiori alla temperatura di transizione vetrosa (T_g), la degradazione termica provoca invecchiamento fisico, che influenza proprietà come la resistenza alla trazione e la flessibilità; b) per temperature comprese tra T_g e la temperatura di fusione (T_m), si osservano, ad esempio, una diminuzione delle dimensioni e cambiamenti nella forma originale; c) per temperature superiori a T_m , si osserva perdita di struttura e una fusione disordinata causata dalla perdita di struttura cristallina; e infine, d) per temperature molto più elevate rispetto alla temperatura di decomposizione, il materiale brucia e l'energia dal materiale può essere recuperata [11].

2.2 Degradazione biotica o biodegradazione

La biodegradazione è un processo di degradazione in cui delle sostanze organiche vengono scisse per azione di microrganismi, quali batteri, funghi o alghe [12]. La biodegradazione delle materie plastiche

avviene attivamente in diverse condizioni e in base alle loro proprietà. Durante la degradazione, il polimero viene prima convertito nei suoi monomeri, in quanto la maggior parte dei polimeri presenta dimensioni eccessive che non gli permettono il passaggio attraverso le membrane cellulari. Necessitano, quindi, di essere depolimerizzati in monomeri più piccoli prima di poter essere assorbiti e infine biodegradati all'interno delle cellule microbiche. Solitamente meccanismi biotici e abiotici lavorano insieme per portare al prodotto finale: l'idrolisi abiotica è una delle reazioni principali che dà il via alla biodegradazione dei polimeri sintetici [8].

La IUPAC, ovvero l'Unione Internazionale di Chimica Pura e Applicata, definisce un polimero biodegradabile come "polimero suscettibile alla degradazione in seguito ad un'attività biologica, con tale degradazione accompagnata da una diminuzione della sua massa molare" [10]. Solitamente, tale reazione porta alla conversione di questi materiali in prodotti quali acqua, anidride carbonica, metano e biomassa, a seconda del fatto che l'ossigeno intervenga o meno nella reazione [12]. Il processo di biodegradazione, infatti, si può distinguere in (bio)degradazione aerobica e (bio)degradazione anaerobica:

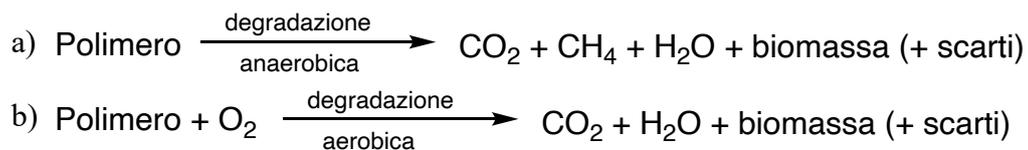


Figura 4. Prodotti di reazione della degradazione anaerobica (a) e aerobica (b).

Vi sono diversi studi che forniscono descrizioni leggermente differenti in merito agli stadi che compongono il meccanismo di biodegradazione. Tuttavia, in generale è possibile affermare che la biodegradazione segue quattro stadi principali [13]:

Colonizzazione: i microrganismi secernono sostanze polimeriche extracellulari, ad esempio enzimi, che legano la superficie del polimero a formare un film sottile attraverso un sito di riconoscimento specifico per il substrato [9].

Frantumazione: i polimeri vengono frammentati a dare delle molecole di dimensioni inferiori, a causa di una combinazione di forze indipendenti che comportano sia meccanismi abiotici che biotici. Durante questa fase si hanno delle modifiche relative alle proprietà del polimero, di natura fisica, come diminuzione della massa molecolare, e meccaniche, diminuzione della duttilità e della resistenza. Durante questo stadio si formano le micro- e nano-plastiche (MNPs) [13].

Depolimerizzazione: gli enzimi rilasciati dai microrganismi attaccano la struttura più interna del polimero, scindendone i legami e portando alla formazione di oligomeri e monomeri, quindi

riducendo drasticamente il peso. Questo si rivela essere un passaggio fondamentale per permettere la successiva assimilazione delle molecole da parte degli organismi, in quanto i frammenti ottenuti in seguito alla depolimerizzazione possiedono le dimensioni adatte per penetrare nella cellula.

Assimilazione e mineralizzazione: i prodotti derivanti dal punto precedente possono ora essere assorbiti dalle cellule microbiche coinvolte. Essi vengono quindi utilizzati come nutrimento per l'organismo, passando attraverso il ciclo di Krebs², producendo l'ATP³, e quindi permettendo la crescita e la proliferazione dei microrganismi [9]. In questa fase, il carbonio polimerico viene convertito nei prodotti riportati in Figura 4, secondo reazioni aerobiche o anaerobiche.

In genere, i prodotti finali derivanti dalla completa biodegradazione non rappresentano un rischio di tossicità ecologica, al contrario dei prodotti depolimerizzati, i quali non possono essere completamente assimilati o mineralizzati, e che in alcune situazioni possono presentare un rischio ecotossico [13].

² *Ciclo di Krebs* = processo, ciclico e composto da diverse fasi, in cui i nutrienti vengono convertiti in altre molecole con una grande quantità di energia chimica [14].

³ *ATP* = adenosina trifosfato, fornisce energia chimica per facilitare altri processi biochimici nella cellula [14].

3. LA DEGRADAZIONE DEI POLIESTERI

Con l'attuale crescente interesse per l'economia circolare e la gestione dei rifiuti, si prevede che il mercato della plastica biodegradabile crescerà costantemente nei prossimi anni.

I poliesteri sono una classe di polimeri che recentemente hanno attirato notevole attenzione grazie alle numerose proprietà che li rendono un materiale eccellente agli occhi delle industrie biomedica, farmaceutica e agricola. Tra queste particolarità, oltre alla biodegradabilità che permette loro di non avere un impatto negativo sull'ambiente, ciò che li rende particolarmente interessanti per diversi scopi è il fatto che molti monomeri che li costituiscono sono ottenibili da risorse totalmente rinnovabili [15]. Per esempio, tra i poliesteri alifatici vi è l'acido polilattico (PLA) che si può produrre a partire da mais e canna da zucchero.

3.1 Sintesi dei poliesteri

I poliesteri sono macromolecole sintetiche la cui catena principale è formata da unità monomeriche collegate tra loro attraverso legami esterei.

Il metodo più comune per la produzione di poliesteri è la polimerizzazione a stadi, nello specifico, secondo la classificazione di Carothers, per condensazione. In questo genere di reazioni due molecole reagiscono formando dimeri, che a loro volta reagiscono con più molecole per formare trimeri, tetrameri e così via, formando infine strutture molto estese. Nel caso delle condensazioni, ciò avviene con il rilascio di piccole molecole come sottoprodotti, il condensato.

Nello specifico, per la sintesi dei poliesteri intervengono due monomeri bifunzionali AA e BB, spesso un diacido e un diolo, i quali, reagendo insieme in una policondensazione, formano un polimero di tipo AABB rilasciando una molecola di acqua. In alternativa, è anche possibile sfruttare l'autocondensazione, ovvero una reazione che avviene tra monomeri uguali contenenti due funzionalità, una alcolica e una acida, che formano un polimero ABAB liberando sempre una molecola d'acqua [16] (Figura 5).

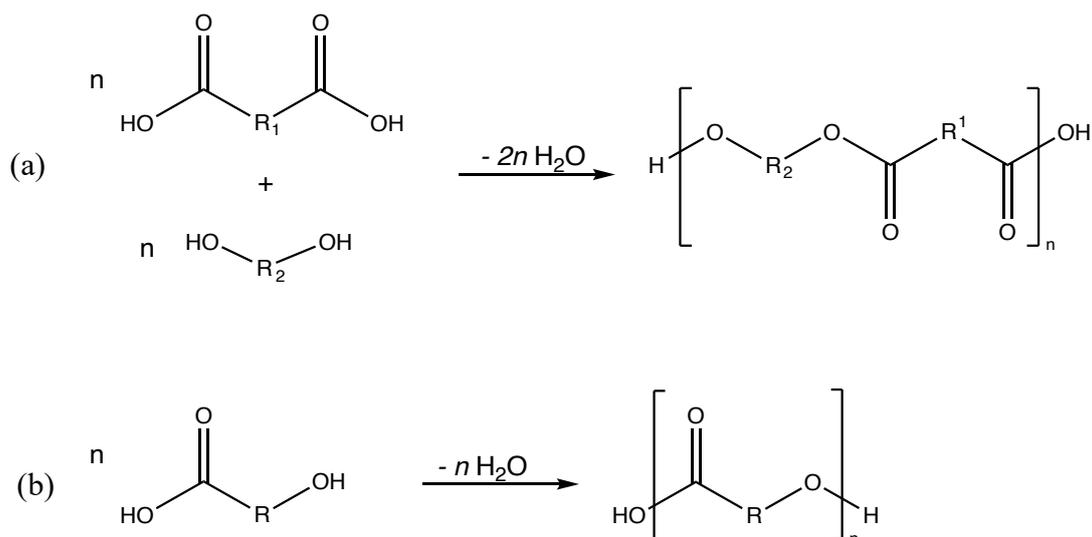


Figura 5. Schema di reazione dei due differenti metodi di sintesi dei poliesteri: policondensazione (a) e autocondensazione (b).

3.2 Meccanismo di degradazione

Come precedentemente riportato, la reazione di idrolisi di un polimero, porta alla scissione delle catene principali o laterali tramite assorbimento di acqua. Questo meccanismo può essere catalizzato da un acido o da una base, prevedendo comunque, l'attacco nucleofilo al carbonio carbonilico.

Idrolisi basica

Il primo passaggio della degradazione in condizioni alcaline di un estere è l'attacco dell'anione idrossido (OH^-) al carbonio carbonilico del gruppo estereo che porta alla formazione di un intermedio tetraedrico. Questo passaggio è reversibile, infatti il gruppo OH dell'intermedio può uscire, rigenerando l'estere. Tuttavia, il distacco del gruppo $-\text{RO}$ è favorito in quanto, l'alcol uscente ROH ha maggiore capacità nello stabilizzare la carica negativa. La reazione diretta di idrolisi è perciò favorita e porta alla formazione di un alcol e un acido carbossilico [17].

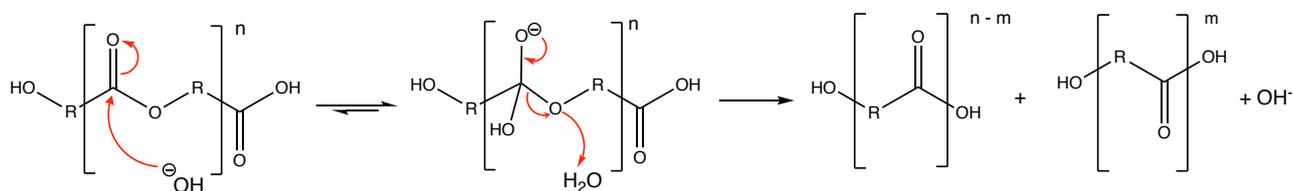


Figura 6. Meccanismo di reazione di idrolisi catalizzata da acidi.

Idrolisi acida

In condizioni acide la degradazione dei poliesteri inizia con la protonazione dell'ossigeno carbonilico dell'estere da parte di uno ione H^+ che rende il carbonio elettrofilo, favorendo l'attacco nucleofilo

dell'acqua. Questo genera un intermedio tetraedrico, simile a quello generato in condizioni basiche, che può decomporre in acido carbossilico e alcol, oppure può rigenerare l'estere iniziale. La protonazione dell'atomo di ossigeno della catena esterea, seguita dalla reazione con acqua, produce un gruppo terminale idrossilico e uno carbossilico [17].

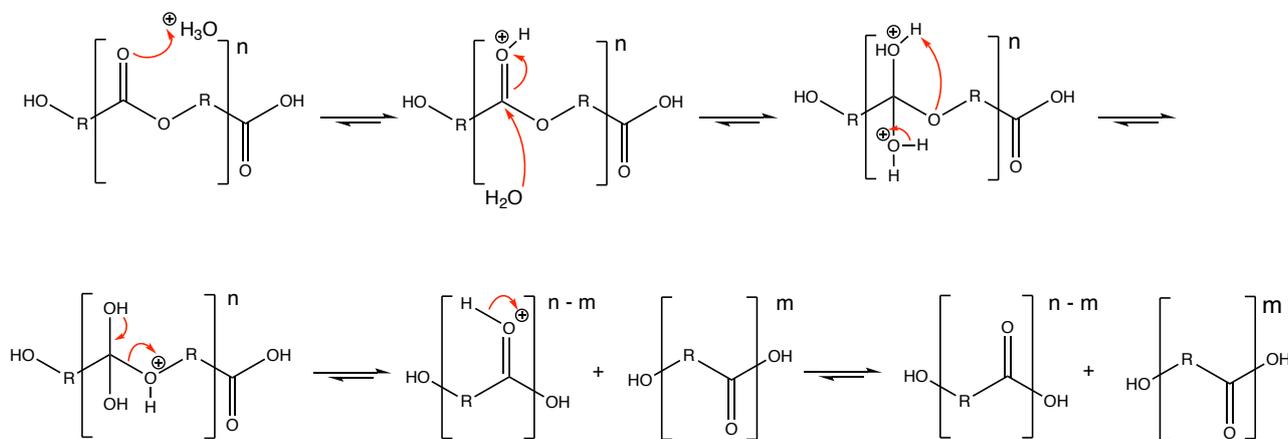


Figura 7. Meccanismo di reazione di idrolisi in ambiente acido.

La degradazione idrolitica può avvenire secondo due diverse modalità, e per questo si può parlare di degradazione in massa ed erosione superficiale. Nel primo meccanismo, l'acqua penetra nella struttura del polimero e, diffondendosi, scinde i legami esterei uniformemente lungo tutta la sua massa. Al contrario, l'altro tipo di degradazione avviene solo in superficie: solo le catene macromolecolari più esterne vengono interessate dall'idrolisi. Ciò indica che la diffusione di acqua nel polimero possiede una cinetica più lenta della cinetica dell'idrolisi.

Quale dei due meccanismi sia favorito, lo determinano le caratteristiche chimico-fisiche del polimero. È noto, infatti, che il grado di diffusione dipende da diversi fattori, come l'idrofilicità, la cristallinità e la geometria (spessore, area superficiale, porosità) del polimero [16].

3.3 Meccanismo di (bio)degradazione enzimatica

In generale, la biodegradazione dei polimeri si ottiene mediante scissione della catena principale in segmenti progressivamente più piccoli e alla fine subendo la decomposizione in anidride carbonica, acqua, metano e composti inorganici, in presenza di acqua, microrganismi e dei loro enzimi. Questo tipo di degradazione avviene in condizioni leggermente più severe rispetto a quelle richieste per l'idrolisi, per la quale è sufficiente un ambiente acido o basico [16].

Affinché il polimero possa essere completamente biodegradato è necessario che avvenga una reazione di idrolisi, in modo tale da produrre molecole più piccole in grado di essere assorbite nella cellula. Questa reazione può avvenire in modo enzimatico o non, a seconda delle caratteristiche del polimero

e delle condizioni ambientali: ad esempio, in condizioni in cui la biodegradazione è sfavorita ma dove è presente acqua, come nelle profondità marine in cui si ha bassa attività biologica, i poliesteri idrolizzabili per via non enzimatica sono adatti per ridurre al minimo l'accumulo di plastica nell'ambiente [13].

Date le grandi dimensioni degli enzimi extracellulari, questi ultimi non sono in grado di entrare nella struttura del poliestere. Proprio per questo motivo, il processo che avviene principalmente è quello di erosione superficiale, che porta alla rottura dei legami esterei terminali, depolimerizzando la macromolecola e portando ad ottenere oligomeri o monomeri (acido carbossilico e alcol). La degradazione, quindi, procede dalla superficie all'interno, portando ad una lenta diminuzione di massa molecolare e risultando il fattore limitante per la velocità. Quando la massa dei frammenti è sufficientemente ridotta, questi possono essere trasportati all'interno delle cellule microbiche o fungine e essere introdotti nelle vie metaboliche. Come risultato finale del processo si ottengono i prodotti del metabolismo microbico: acqua, anidride carbonica, metano (nel caso di degradazione anaerobica), ecc. e nuova biomassa [16, 18].

4. ACIDO POLILATTICO (PLA)

Tra le alternative biologiche alle plastiche tradizionali che negli ultimi anni sono state ampiamente studiate dagli scienziati vi è l'acido polilattico (Figura 8), un poliesteri alifatico sintetico di origine biologica. Esso deriva da materie prime amidacee, come mais e canna da zucchero, e possiede una struttura idrolizzabile e suscettibile alla biodegradazione [19].

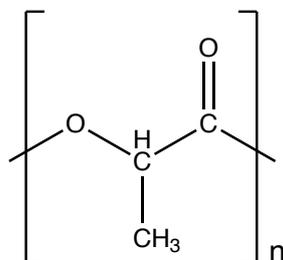


Figura 8. Struttura dell'unità monomerica dell'acido polilattico.

Grazie alle sue eccellenti proprietà, il PLA mostra potenziali applicazioni in molti campi, come in ambito agricolo, biomedico, negli imballaggi e nell'industria automobilistica.

4.1 Sintesi e caratteristiche

Il monomero dell'acido polilattico è l'acido lattico, o acido 2-idrossipropanoico, ottenibile dalla fermentazione di amido e zucchero. Dalla fotosintesi della pianta si ottengono degli zuccheri, prevalentemente saccarosio e amido, che vengono successivamente lavorati a dare glucosio, il quale, in seguito a fermentazione, produce acido lattico.

Esistono due percorsi principali utilizzati per la produzione del PLA: la diretta policondensazione dell'acido lattico e la polimerizzazione ad apertura d'anello (ROP, ring opening polymerization) (Figura 9). Con il primo metodo vengono prodotti polimeri a basso peso molecolare, a causa della presenza di impurità e acqua; con la polimerizzazione ad apertura d'anello, invece, è possibile ottenere delle macromolecole più estese, passando per un dimero intermedio ciclico, detto lattide, che successivamente viene polimerizzato a dare il PLA [20].

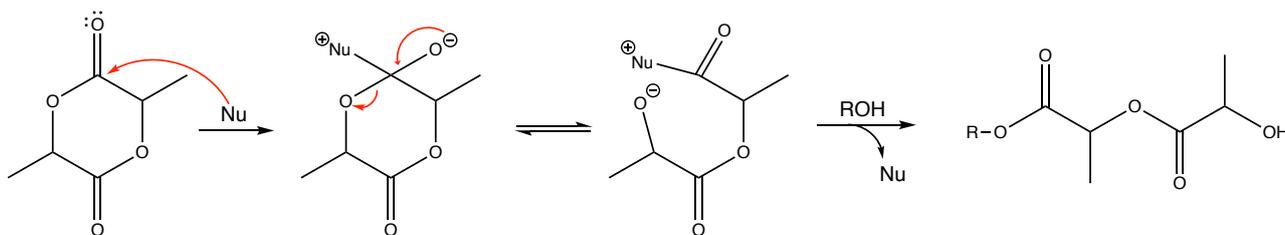


Figura 9. Meccanismo di polimerizzazione ad apertura d'anello (ROP) del lattide. Percorso nucleofilico/basico (Nu = ammina, carbene N-eterociclico o piridine; ROH = agente protico o catena polimerica in crescita) [21].

L'acido lattico possiede un carbonio chirale, per questo motivo ne esistono due forme otticamente attive identificate come acido L-lattico e acido D-lattico. Quando si produce PLA a partire dal lattide, quindi via ROP, sono possibili tre forme: il LL-lattide derivante da due L-lattati, il DD-lattide da due D-lattati e il meso-lattide da una combinazione di un L- e un D-lattato. Il PLA, perciò, può esistere in tre forme stereochimiche: acido poli(L-lattico) (PLLA), acido poli(DL-lattico) (PDLLA) e acido poli(D-lattico) (PDLA) (Figura 10) [22].

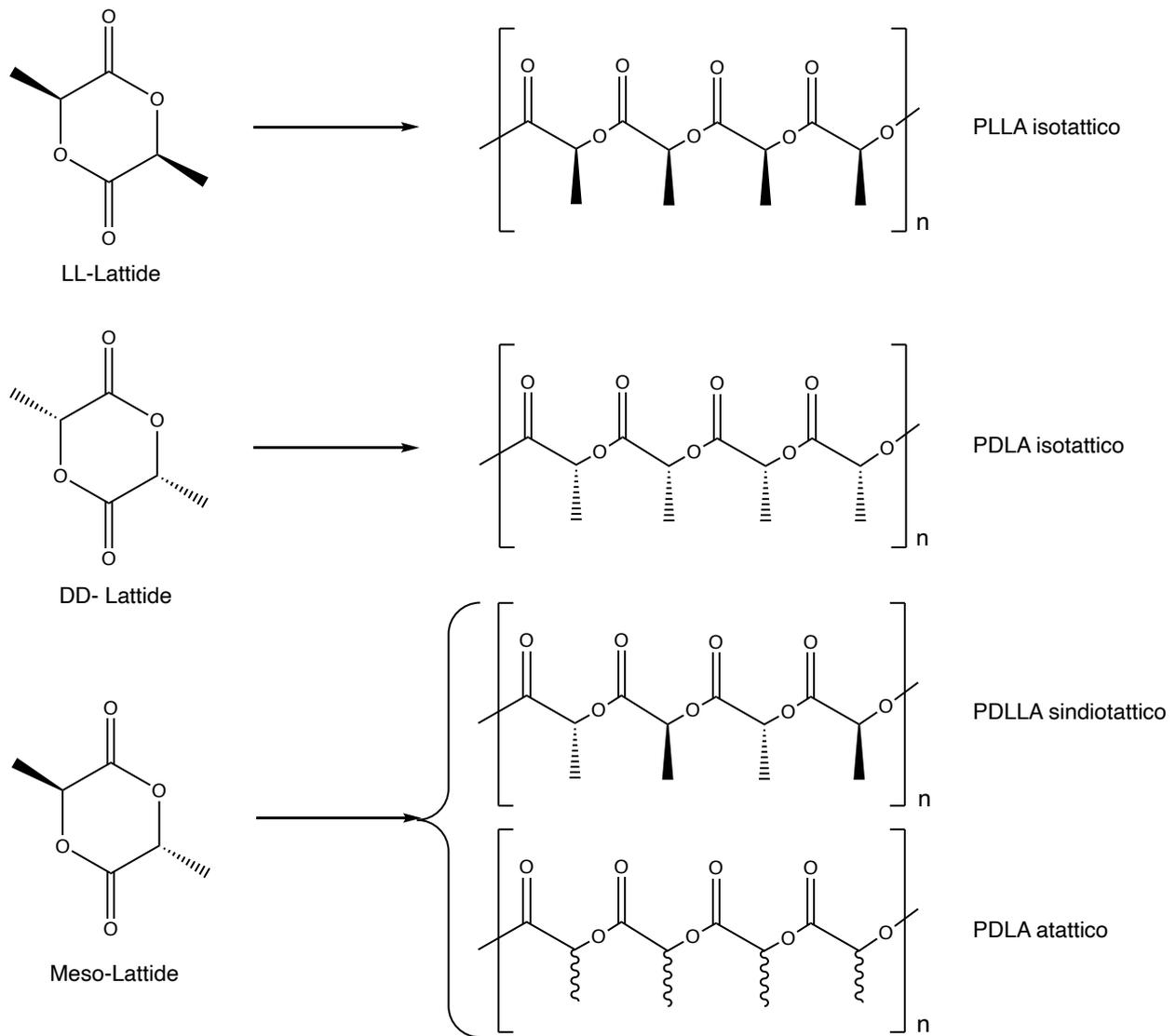


Figura 10. Isomeri del lattide e forme stereochimiche dell'acido polilattico.

Il PLA allo stato solido può essere amorfo o semicristallino a seconda degli enantiomeri da cui è formato e dalla sua storia termica. I polimeri contenenti prevalentemente l'isomero L, con una percentuale di D-Lattide inferiore al 6%, sono semicristallini, ovvero presentano sia regioni cristalline che amorfie; al contrario, per percentuali di isomero D superiori al 6% il PLA è amorfo [19].

4.2 (Bio)degradazione dell'acido polilattico

Fattori che influenzano la degradabilità del PLA

La degradabilità del PLA è influenzata da numerosi aspetti ambientali e strutturali del polimero stesso. Questi possono essere associati alle proprietà strutturali (proprietà ottiche, peso molecolare e caratteristiche chimiche), alla struttura di ordine superiore (grado di cristallinità, temperature di fusione e di transizione vetrosa) e anche dall'intorno (umidità, temperatura e pH) [19, 23].

Diversi studi hanno dimostrato che la zona cristallina del PLA è molto più resistente alla degradazione rispetto alle zone amorfe; perciò, un alto grado di cristallinità diminuisce la velocità della degradazione. Le regioni cristalline infatti, idrolizzano più lentamente, in quanto l'acqua diffonde con più difficoltà tra i reticoli più organizzati, mentre nelle regioni amorse meno ordinate si hanno tassi di idrolisi maggiori e quindi una maggiore suscettibilità nei confronti della biodegradazione. Un'elevata concentrazione di unità D nel PLA riduce la purezza ottica e la regolarità, rendendo il materiale amorfo e quindi accelerando l'idrolisi. Il comportamento di degradazione dei polimeri dipende anche dal loro peso molecolare (M_n): i poliesteri ad alto peso molecolare si degradano a una velocità inferiore rispetto a quelli con basso peso molecolare, a causa della minore accessibilità ai gruppi terminali della catena [6].

Al di sopra della temperatura di transizione vetrosa (T_g , compresa tra 55°C e 62°C), la velocità di degradazione del PLA è molto maggiore poiché a queste temperature le catene polimeriche diventano più flessibili, aumentando l'assorbimento dell'acqua e perciò favorendo sia l'idrolisi che l'attacco enzimatico.

Oltre alla temperatura, anche il pH gioca un ruolo fondamentale nel determinare i tempi di reazione: infatti, il PLA si degrada più velocemente in condizioni alcaline perché, durante l'idrolisi, gli ioni idrossido catalizzano la scissione dei gruppi esterei, velocizzando la degradazione del polimero [19].

Degradazione dell'acido polilattico

La degradazione del PLA è generalmente accettata come un meccanismo in due fasi che coinvolge prima fattori abiotici e, successivamente, fattori biotici. Il processo abiotico, l'idrolisi chimica del PLA, è seguito dalla degradazione microbica (biotica) in cui i microrganismi decompongono il polimero nei corrispondenti prodotti di degradazione [19].

La degradazione microbica del PLA inizia con la secrezione delle depolimerasi extracellulari del PLA da parte del microrganismo. L'enzima lega la superficie del polimero attraverso il suo sito superficiale di legame e, nel passaggio successivo, attacca i legami esterei intramolecolari nel PLA. Questo processo determina la produzione di oligomeri, dimeri e monomeri, dei quali, i composti a basso peso

molecolare, vengono poi assimilati dai microrganismi e infine convertiti in anidride carbonica, acqua o metano dagli enzimi intracellulari [9].

Nel corso degli anni, diversi enzimi che degradano il PLA, solitamente α/β idrolasi, sono stati isolati da vari microrganismi; tra questi: proteasi, lipasi, cutinasi ed esterasi.

Nonostante il PLA contenga legami esterei, nella sua degradazione possono partecipare anche le proteasi, enzimi che idrolizzano i legami peptidici. Le proteasi a serina⁴ che degradano il PLA sono in grado di attaccare il polimero a causa della somiglianza tra la struttura del loro substrato originale, la fibroina, e quella del PLA. La fibroina, infatti, è ricca di L-alanina, un amminoacido con una conformazione analoga all'acido L-lattico (Figura 11). Proprio a causa delle differenze strutturali degli stereoisomeri del PLA, le proteasi a serina mostrano tendenze diverse a seconda della stereochimica del polimero [6].

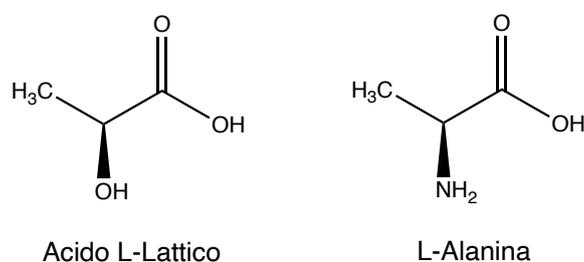


Figura 11. Strutture dall'acido L-Lattico e dell'amminoacido L-Alanina.

Meccanismo di degradazione enzimatica

Il processo di degradazione enzimatica del PLA, compiuto dalla proteasi K⁵, avviene generalmente in quattro fasi: (a) legame del substrato, (b) attacco nucleofilo, (c) protonazione, (d) idrolisi dell'estere.

- a) L'enzima interagisce con la catena laterale del substrato attraverso il suo sito di riconoscimento.
- b) Il residuo enzimatico serina attacca il carbonile del PLA, mediato dall'istidina che agisce come base. Da questa reazione si produce un intermedio tetraedrico, in cui l'ossianione è stabilizzato dai gruppi -NH della catena principale dell'enzima.
- c) L'istidina protonata (+His-H) facilita il collasso dell'intermedio tetraedrico donando il proprio protone e producendo un oligomero del PLA con un gruppo alcolico.

⁴ *Proteasi a serina* = classe di proteasi che basano il loro meccanismo di catalisi sulla presenza della serina.

⁵ *Proteasi K* = una specifica proteasi a serina

d) L'acqua rimuove il prodotto ottenuto e attacca il legame enzima-substrato (legame estereo), formando il secondo prodotto con un gruppo carbossilico e rigenerando il residuo serina dell'enzima [9, 22].

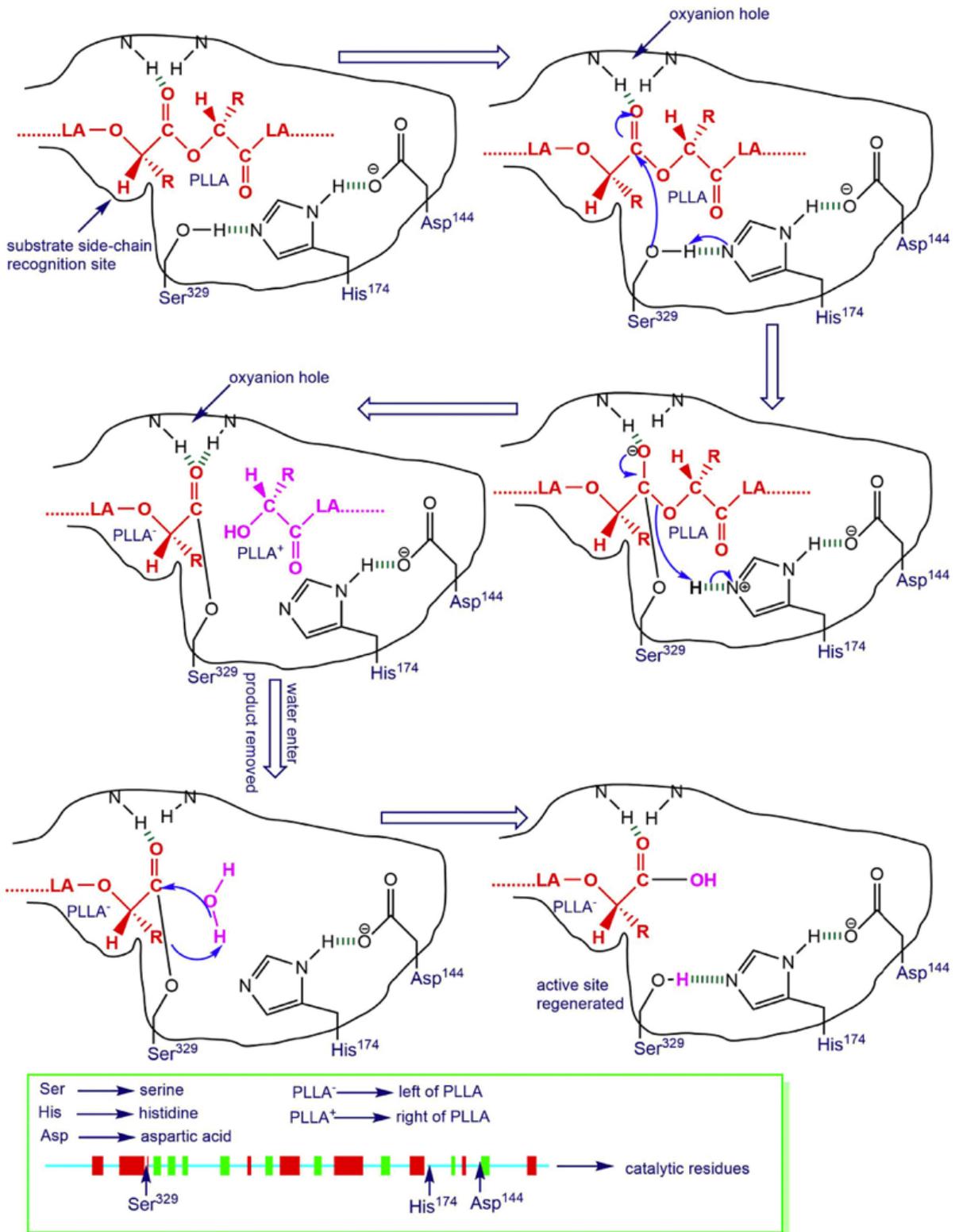


Figura 12. Meccanismo di degradazione enzimatica del PLLA per mezzo della proteinasi K [22].

4.3 Determinazione del tasso di biodegradazione

Esistono molteplici protocolli che vengono utilizzati per indagare il processo di biodegradazione nei polimeri. I test condotti in diverse condizioni, come terreno, compost e sistemi acquatici, nonché a diverse temperature e pH [3]. La degradazione del PLA viene solitamente valutata analizzando i prodotti della reazione, classificati in frazioni insolubili, costituite da residui di PLA, e prodotti solubili, comprendenti oligomeri o monomeri di acido lattico [6].

Tecnica basata sulla valutazione del peso

Uno dei metodi diretti per la valutazione del tasso di biodegradazione del PLA, consiste nell'analisi della perdita di peso che consegue all'incubazione con l'enzima testato, effettuata sulla frazione insolubile. Per questo scopo viene utilizzata la cromatografia a permeazione su gel (GPC), la quale permette di ricavare il peso molecolare medio ponderale ($M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i}$)⁶, il peso molecolare medio numerico ($M_n = \frac{\sum W_i}{\sum N_i}$)⁷, e la polidispersione ($\mathcal{D} = \frac{M_w}{M_n}$), che indica l'omogeneità dei pesi molecolari delle catene polimeriche [6]. Il campione, infatti, diventa più sottile, si alleggerisce a causa del processo di erosione superficiale; la parte interna del materiale non è interessata dal processo di degradazione microbica, come precedentemente precisato [8].

Tecniche basate sulla valutazione delle proprietà termiche

Il confronto tra i valori dei parametri termici correlati alla cristallinità dei polimeri, quali temperatura di fusione, entalpia di fusione ed entalpia di cristallizzazione, ottenuti prima e dopo aver sottoposto il materiale alle condizioni di biodegradazione, è un metodo interessante per valutare il verificarsi del fenomeno [3]. La degradazione delle regioni amorfe è solitamente preferibile, pertanto è la prima ad essere interessata quando si verifica il processo. Se la regione amorfa è degradata è quindi previsto inizialmente un aumento della cristallinità del polimero e, successivamente, una diminuzione a causa della degradazione più lenta e avanzata delle regioni cristalline. Inoltre, i cambiamenti nel grado di cristallinità del polimero possono essere utilizzati come indicatori delle aree degradabili del PLA [6].

Tecniche basate sulla valutazione delle proprietà meccaniche

Poiché le proprietà meccaniche (resistenza, durezza, rigidità e tenacità) dipendono dalla configurazione delle catene polimeriche e dalle forze intermolecolari, il processo di degradazione influenzerà questi attributi. Ad esempio, il contatto prolungato con le molecole d'acqua modifica la matrice polimerica, a causa dell'avvenimento dell'idrolisi che porta alla scissione dei legami esterei

⁶ Dove N_i è il numero di molecole di peso molecolare M_i .

⁷ Dove N_i è il numero di molecole di massa W_i .

e, quindi, alla diminuzione delle interconnessioni tra le catene, influenzando negativamente le proprietà meccaniche. In questo senso, queste proprietà sono comunemente utilizzate per valutare il tasso di biodegradazione nei polimeri [3].

Tecniche basate sulla valutazione dell'evoluzione dei gas

La biodegradazione aerobica dei polimeri avviene attraverso l'azione di microrganismi, che scompongono i componenti organici in biomassa e CO₂. Per misurare la velocità di biodegradazione, è possibile utilizzare metodi basati sulla misura dell'aumento di CO₂ o del consumo/richiesta di O₂ da parte dei microrganismi coinvolti. I rilevatori di anidride carbonica possono essere utilizzati per misurare l'accumulo di CO₂ nel tempo, un indice della percentuale dell'avvenuta biodegradazione. Un metodo utilizzato a questo scopo è la gas cromatografia (GC). È possibile, altrimenti, quantificare la CO₂ mediante titolazione con NaOH utilizzando metilarancio e fenolftaleina come indicatori [3].

Risultati sperimentali della degradazione del PLA

Il compost è un ambiente biologico unico, ricco di sostanze organiche, in cui avviene la degradazione ambientale della materia organica. In esso abitano diverse popolazioni microbiche grazie alla sua struttura fisica e nutrizionale unica. Per compostaggio si intende la decomposizione biologica controllata di materiali organici in humus da parte di microrganismi in condizioni aerobiche. Esso è un sistema versatile per il trattamento di rifiuti solidi biodegradabili e risulta particolarmente adatto alla lavorazione di imballaggi contaminati da alimenti, dando un prodotto prezioso per il terreno, ricco di nutrienti e simile all'humus. La degradazione avviene a un ritmo più lento rispetto alle reazioni condotte in laboratorio, e continua fino a quando tutto il carbonio disponibile non viene convertito in anidride carbonica. Per quanto riguarda il PLA, si è visto che esso, in un ambiente di compostaggio, degrada dopo 45-60 giorni a 50-60 °C [8].

È stato riportato, invece, che la degradazione del PLA nel terreno è molto più lenta rispetto al compost, in quanto il contenuto di umidità e l'intervallo di temperatura sono inferiori. Questi fattori incoraggiano l'idrolisi del PLA e la sua assimilazione da parte di microrganismi termofili, rendendo le condizioni del compost ottimali per la biodegradazione di questo materiale.

I risultati di una prova di sepoltura del PLA nel terreno di 20 mesi hanno confermato sperimentalmente il fatto che la reazione di biodegradazione è favorita nei polimeri con una struttura più disordinata: 20% di degradazione per il PLA cristallino e 75% per PLA amorfo. Tuttavia, diversi esperimenti condotti in diverse zone del mondo, hanno dato risultati contrastanti, dimostrando che la posizione geografica può avere un impatto significativo sulla degradazione del PLA.

Per quanto riguarda prove di biodegradazione del PLA in ambienti acquatici, dopo 10 settimane non sono state trovate tracce di attività microbica, suggerendo che i microbi marini hanno una capacità

limitata di degradare il PLA. Altri studi, invece, riportano piccoli cambiamenti nel peso molecolare del polimero dopo 3 mesi di immersione in acqua di mare a 20 °C, mentre una riduzione del 48% quando immerso a 40 °C per 3 mesi; tuttavia, questo fenomeno è stato attribuito principalmente all'idrolisi piuttosto che alla degradazione microbica [19].

5. CONCLUSIONI

La crescente consapevolezza ambientale e la necessità di ridurre l'impatto delle plastiche convenzionali hanno portato a un interesse significativo verso materiali alternativi, come l'acido polilattico. La ricerca ha, infatti, dimostrato che il PLA può degradarsi efficacemente in condizioni di compostaggio industriale, dove temperature elevate, umidità e la presenza di specifici microrganismi accelerano il processo di biodegradazione. Tuttavia, in ambienti meno controllati, come il suolo o gli ecosistemi acquatici, la degradazione del PLA è significativamente più lenta e può richiedere anche molti anni per completarsi.

I risultati sperimentali evidenziano che, sebbene il PLA rappresenti un miglioramento rispetto alle plastiche convenzionali in termini di origine rinnovabile e compostabilità, la sua effettiva biodegradazione e il suo impatto ambientale dipendono fortemente dalle condizioni di smaltimento. La sostituzione dei materiali sintetici con polimeri biodegradabili in molti settori industriali può contribuire in modo significativo a tutelare l'ambiente naturale. Tuttavia, ciò deve essere accompagnato anche dalla consapevolezza dei loro limiti e da un cambiamento radicale della coscienza collettiva, in modo da garantire il reale raggiungimento dei benefici, ad esempio, migliorando la progettazione e l'applicazione delle plastiche monouso, favorendone il riciclaggio e quindi il riutilizzo, contrastando l'era del consumismo e dell'usa-e-getta che caratterizza i nostri giorni.

Solo attraverso un approccio integrato, basato sulla conoscenza sia delle proprietà del materiale che delle condizioni ambientali che richiede, sarà possibile mitigare efficacemente l'impatto delle plastiche sull'ambiente, diminuendo (finalmente) l'impronta dell'uomo sul pianeta.

Bibliografia

- [1] Cai, Z., Li, M., Zhu, Z., Wang, X., Huang, Y., Li, T., ... & Yan, M. (2023). Biological degradation of plastics and microplastics: a recent perspective on associated mechanisms and influencing factors. *Microorganisms*, 11(7), 1661.
- [2] Tian, L., van Putten, R. J., & Gruter, G. J. M. (2022). Plastic pollution. The role of (bio) degradable plastics and other solutions. *Biodegradable Polymers in the Circular Plastics Economy*, 59-81.
- [3] Silva, R. R. A., Marques, C. S., Arruda, T. R., Teixeira, S. C., & de Oliveira, T. V. (2023). Biodegradation of polymers: stages, measurement, standards and prospects. *Macromol*, 3(2), 371-399. <https://doi.org/10.3390/macromol3020023>
- [4] Cowger, W., Willis, K. A., Bullock, S., Conlon, K., Emmanuel, J., Erdle, L. M., ... & Wang, M. (2024). Global producer responsibility for plastic pollution. *Science Advances*, 10(17), eadj8275.
- [5] Chinthapalli, R., Skoczinski, P., Carus, M., Baltus, W., De Guzman, D., Käß, H., ... & Ravenstijn, J. (2019). Biobased building blocks and polymers—global capacities, production and trends, 2018–2023. *Industrial Biotechnology*, 15(4), 237-241.
- [6] Shalem, A., Yehezkeli, O., & Fishman, A. (2024). Enzymatic degradation of polylactic acid (PLA). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 413.
- [7] Drumright, R. E., Gruber, P. R., & Henton, D. E. (2000). Polylactic acid technology. *Advanced materials*, 12(23), 1841-1846.
- [8] Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology advances*, 26(3), 246-265.
- [9] Joseph, E., Tohidifar, P., Sarver, C. T., Mackie, R. I., & Rao, C. V. (2022). Fundamentals of polymer biodegradation mechanisms. *Biodegradable Polymers in the Circular Plastics Economy*, 17-58.
- [10] International Union of Pure and Applied Chemistry. (2005). *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*. International Union of Pure and Applied Chemistry. <https://doi.org/10.1351/goldbook.PT07144>
- [11] Bher, A., Mayekar, P. C., Auras, R. A., & Schvezov, C. E. (2022). Biodegradation of biodegradable polymers in mesophilic aerobic environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12165.

- [12] Leja, K., & Lewandowicz, G. (2010). Polymer biodegradation and biodegradable polymers-a review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19(2). <https://doi.org/10.3390/ijms232012165>
- [13] Wang, Y., van Putten, R. J., Tietema, A., Parsons, J. R., & Gruter, G. J. M. (2024). Polyester biodegradability: importance and potential for optimisation. *Green Chemistry*, 26(7), 3698-3716.
- [14] The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1953, su nobelprize.org, The Nobel Foundation.
- [15] Chesterman, J., Zhang, Z., Ortiz, O., Goyal, R., & Kohn, J. (2020). Biodegradable polymers. *Principles of Tissue Engineering*, 317-342.
- [16] Stouten, J., & Bernaerts, K. V. (2022). Condensation Polyesters. *Biodegradable Polymers in the Circular Plastics Economy*, 113-144.
- [17] Rydz, J., Sikorska, W., Kyulavska, M., & Christova, D. (2014). Polyester-based (bio) degradable polymers as environmentally friendly materials for sustainable development. *International journal of molecular sciences*, 16(1), 564-596.
- [18] Mueller, R. J. (2006). Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. *Process Biochemistry*, 41(10), 2124-2128.
- [19] Karamanlioglu, M., Preziosi, R., & Robson, G. D. (2017). Abiotic and biotic environmental degradation of the bioplastic polymer poly (lactic acid): A review. *Polymer Degradation and stability*, 137, 122-130.
- [20] Vink, E. T., Rabago, K. R., Glassner, D. A., & Gruber, P. R. (2003). Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polymer Degradation and stability*, 80(3), 403-419.
- [21] Dechy-Cabaret, O., Martin-Vaca, B., & Bourissou, D. (2009). Polyesters from dilactones. *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, 255-286.
- [22] Qi, X., Ren, Y., & Wang, X. (2017). New advances in the biodegradation of Poly (lactic) acid. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 215-223.
- [23] Tokiwa, Y., & Calabia, B. P. (2006). Biodegradability and biodegradation of poly (lactide). *Applied microbiology and biotechnology*, 72(2), 244-251.