SIDISA 2024
XII International Symposium on Environmental Engineering
Palermo, Italy, October 1 – 4, 2024

Treatment of hydrocarbon-contaminated soil with biosurfactants obtained from agricultural waste

Teklit Ambaye[1], Adriana Bava[2], Fabrizio Beltrametti[2], Andrea Franzetti[3], Mentore Vaccari[1]

[1] University of Brescia, Dep. of Civil, Environmental, Architectural Engineering and of Mathematics, Via Branze 43, 25123 Brescia, Italy
[2] BioC-CheM Solutions Srl, Via R. Lepetit, 34, 21040 Gerenzano (VA), Italy
[3] University of Milano-Bicocca, Dept. of Earth, and Environmental Sciences - DISAT, Piazza della Scienza 1, 20126 Milano, Italy

Palermo - October 3, 2024

Speaker:
Teklit Ambaye

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

GITISA
Gruppo Italiano di Ingegneria Sanitaria Ambientale

ANDIS ASSOCIAZIONE NAZIONALE DI INGEGNERIA SANITARIA AMBIENTALE

RICREA project

Cereal waste for bioremediation (RICREA)

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BRESCIA

QUADRIFOGLIO soc. coop. agricola

BioChemSolutions

SISTEMI AMBIENTALI

PROMOCOOP LOMBARDIA

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

Duration: 33 months

Beginning: March 2022

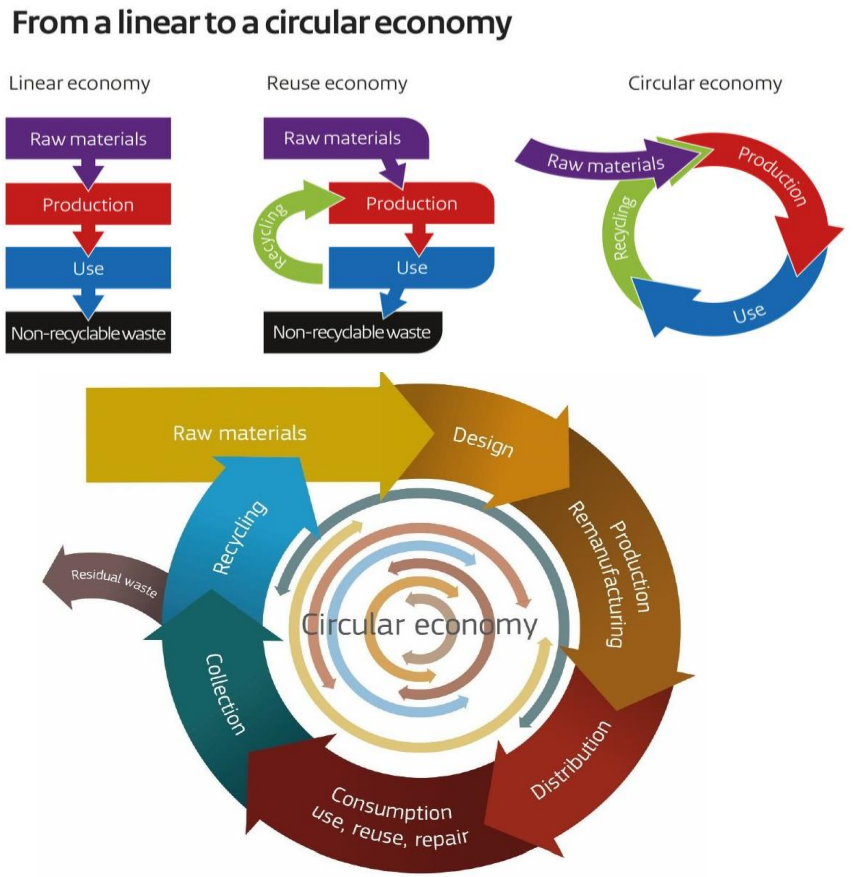
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

Circular Economy

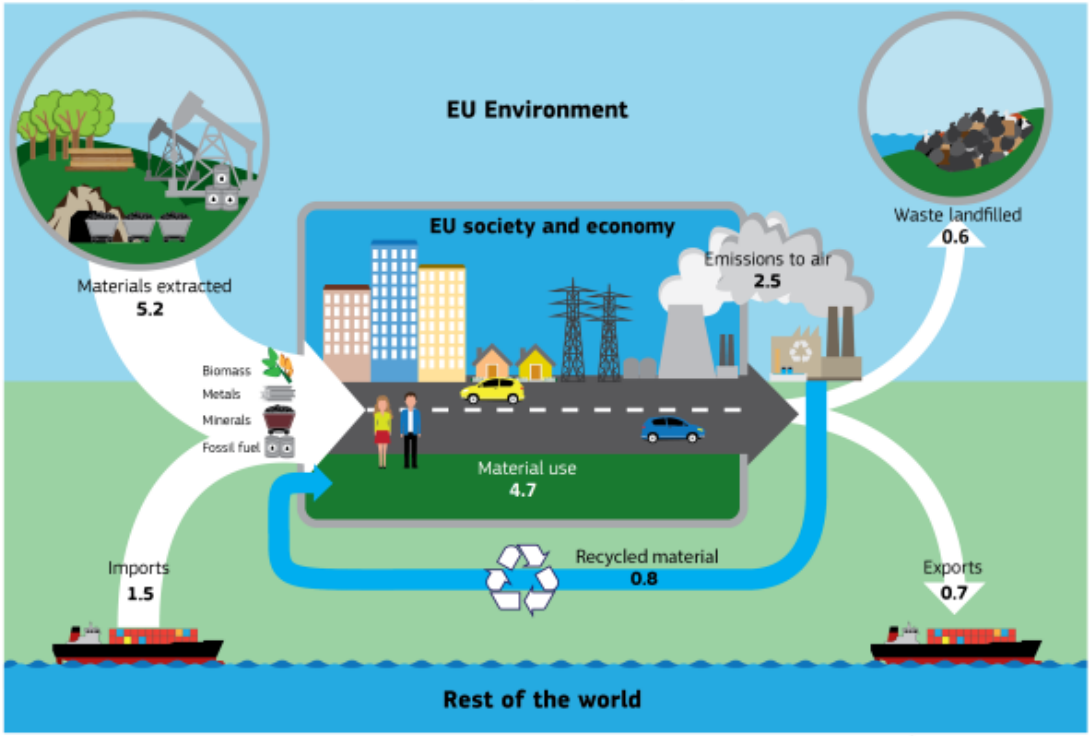
- The **circular economy** is an economic model designed to optimize the use of natural resources, reducing the production of waste and fostering material reuse/recycling in other production chains
- It involves **sharing, lending, reusing, repairing, reconditioning and recycling** existing materials and products as long as possible
- It is an **alternative to the traditional linear economic model** 'take-make-dispose', which is based on the accessibility of large amounts of resources and energy



Source: https://www.government.nl

Circular Economy

Material flows in the EU, 2021, billion tonnes per year (GT/year)



ec.europa.eu/eurostat

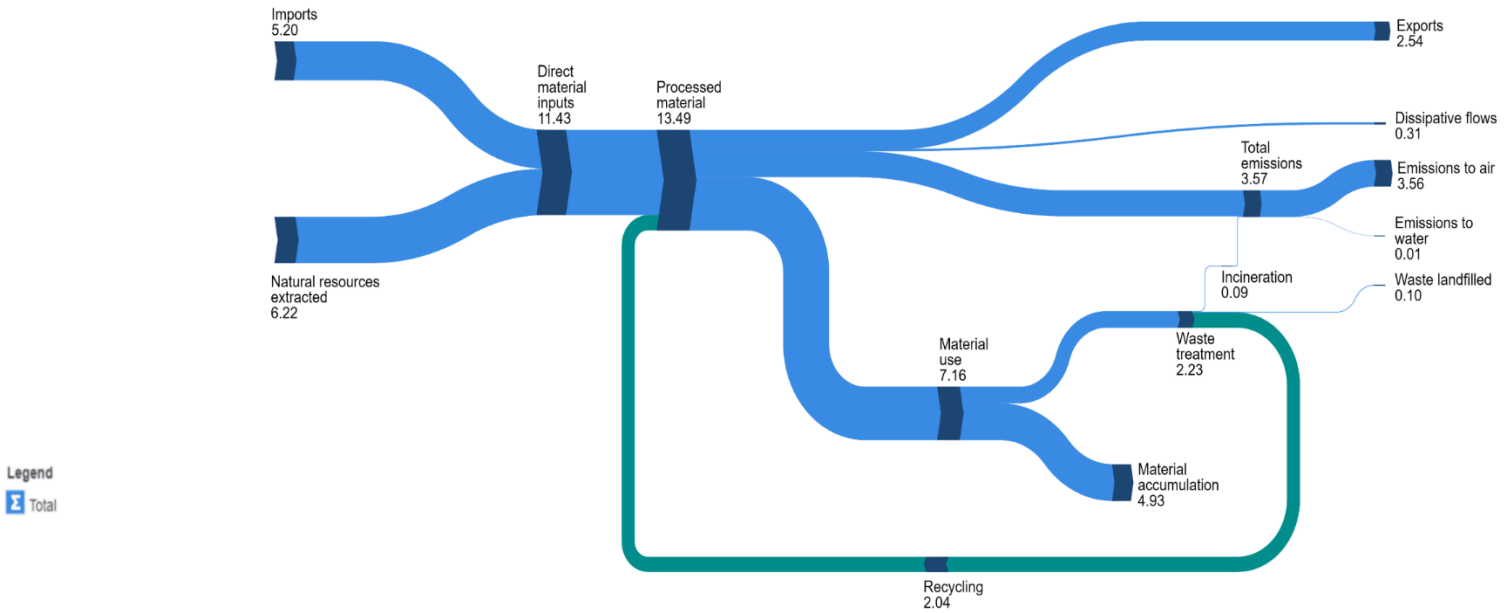
The circularity rate of the use of material in the EU was 11.7%

Circular Economy

Material flow diagrams

Italy - year 2021

Tonnes per capita



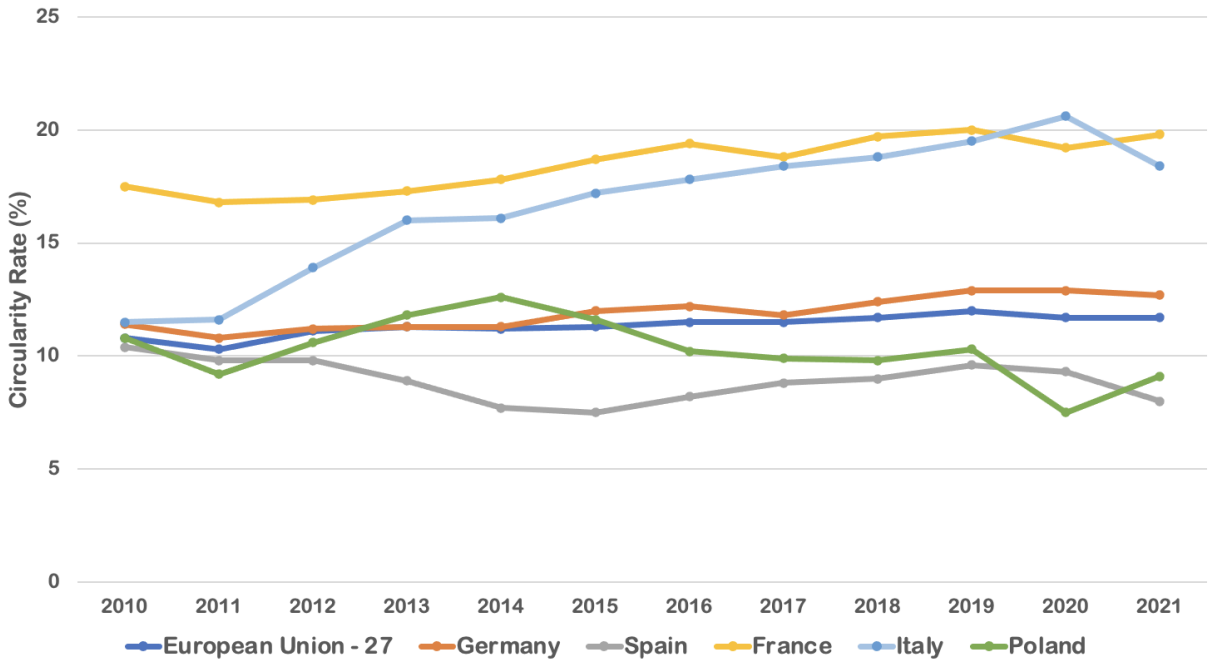
Source: Eurostat (env_ac_mfa; env_ac_sd; env_wassd)

(Source: https://ec.europa.eu/eurostat/)

eurostat

Circular Economy

Circularity rate of materials in the 5 biggest European countries



(source: Eurostat, 2023)

Agricultural economy and cereal sector in Italy

- In 2022, the **value of agriculture in Italy** was **65.3 billion euros**
- Agriculture accounted for **2.2 % of total economic activity**
- Italy was **second in Europe** for added value of agriculture after France and ahead of Germany
- Compared to 2021, **production decreased** in volume (-1.4%) and value (-1.0%)

- **Cereal sector** accounts for **16.3% of the total value of agricultural crops**
- **Cereal production in Italy** in 2022:
  - Soft wheat: 2.8 Mton
  - Durum wheat: 3.7 Mton
  - Barley: 1.1 Mton
  - Corn: 4.7 Mton
- In **Lombardy** region in 2022:
  - 10.6% of national soft wheat production
  - 22.7% of national corn production
- **Solid cereal waste produced during the cleaning grain process** = 2-4% (up to 30% with mycotoxins)
  - livestock bedding, composting, biogas production, paper production

(Source: Istat, 2023)

In collaborazione con

RICREA project

GENERAL OBJECTIVE

The general aim of the project is the **valorization of cereal waste** for producing biosurfactants to **treat soil contaminated** with petroleum hydrocarbons by a **bioelectrochemical system (BES)**

SPECIFIC OBJECTIVES

- Development of a new biological strategy to **produce biosurfactants** using cereal waste
- Definition of the best operating conditions of the biosurfactant-assisted **BES** to treat **soil contaminated with petroleum hydrocarbons** (PH)
- Assessment of the impact of the processes and products through **LCA and LCC**
- **Promotion of cross-sectorial synergies** among the companies working in the cereal, biotechnological and remediation sectors

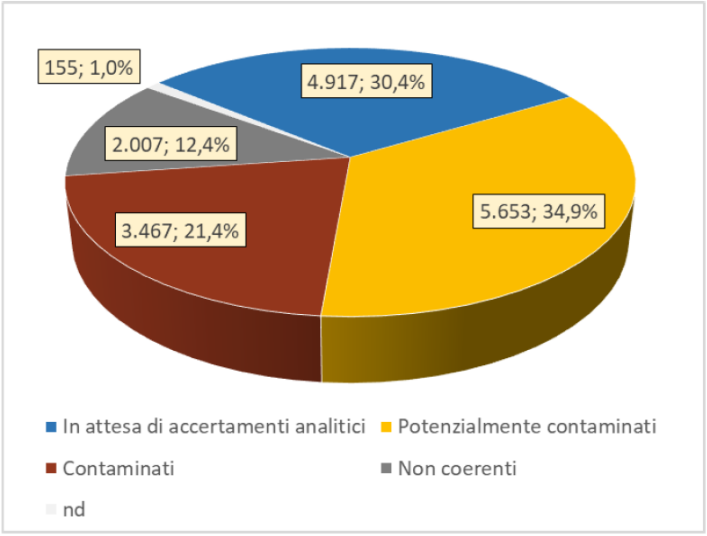
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

Contaminated sites in Italy

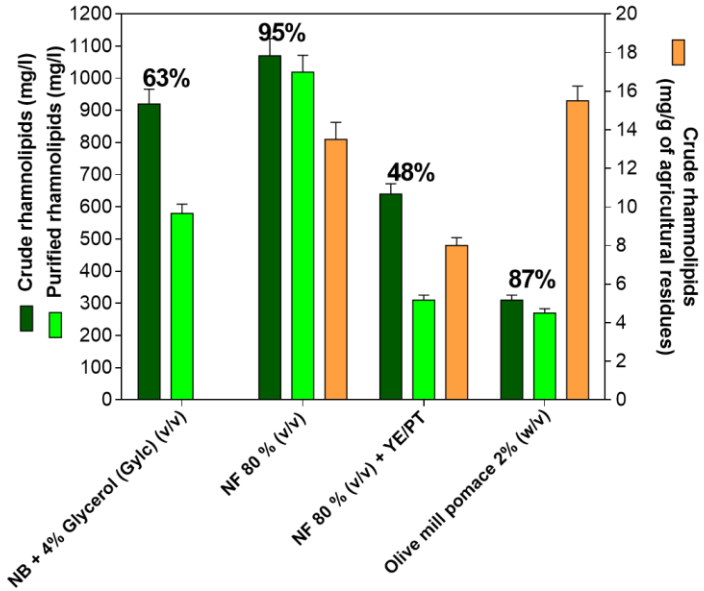
Figura 5-13: distribuzione dello stato della contaminazione per i procedimenti in corso



(Source: ISPRA, 2023)

Previous experience: CREIAMO project

Rhamnolipid production using nonfermented grape marcs and Burkholderia thailandensis E264



Waste and Biomass Valorization (2021) 12:4733–4743
https://doi.org/10.1007/s12649-020-01315-8

SHORT COMMUNICATION

Potentials of Winery and Olive Oil Residues for the Production of Rhamnolipids and Other Biosurfactants: A Step Towards Achieving a Circular Economy Model

Alif Chebbi[2] · Andrea Franzetti[2] · Francine Duarte Castro[1] · Franco Hernan Gomez Tovar[1] · Massimiliano Tazzari[2] · Silvia Sbaffoni[3] · Mentore Vaccari[1]

Received: 14 March 2020 / Accepted: 28 November 2020 / Published online: 2 January 2021

Applied Microbiology and Biotechnology (2021) 105:3825–3842
https://doi.org/10.1007/s00253-021-11292-0

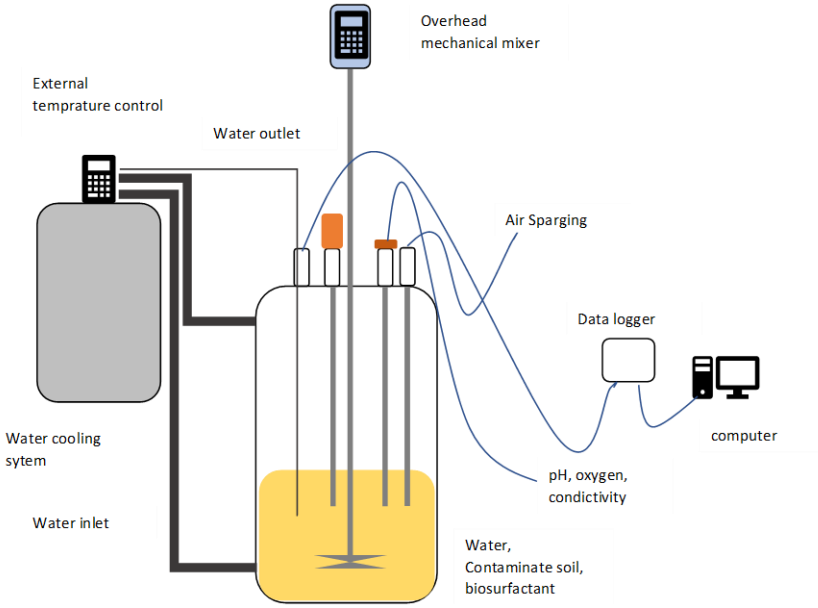
ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY

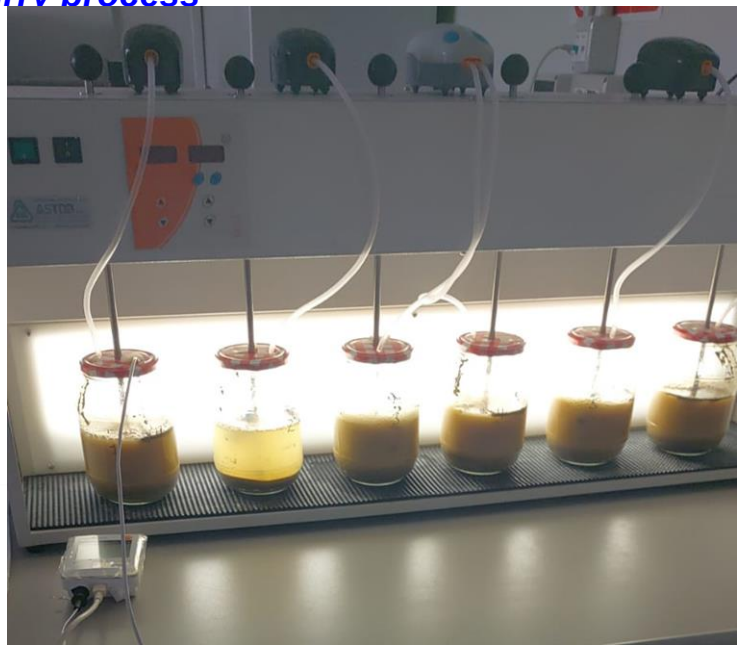
Burkholderia thailandensis E264 as a promising safe rhamnolipids' producer towards a sustainable valorization of grape marcs and olive mill pomace

Alif Chebbi[1] · Massimiliano Tazzari[1] · Cristiana Rizzi[1] · Franco Hernan Gomez Tovar[2] · Sara Villa[1] · Silvia Sbaffoni[3] · Mentore Vaccari[2] · Andrea Franzetti[1]

Previous experience: CREIAMO project

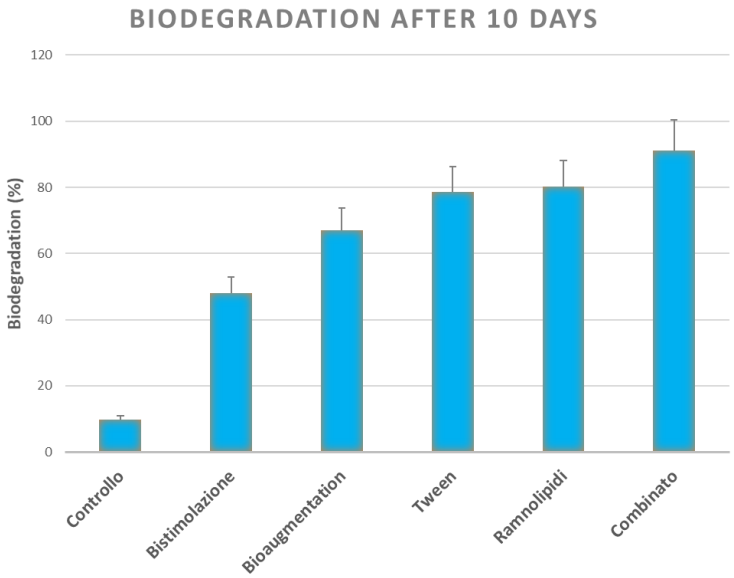
Rhamnolipid biosurfactant assisted bioremediation of soil contaminated with hydrocarbons by using bioslurry process

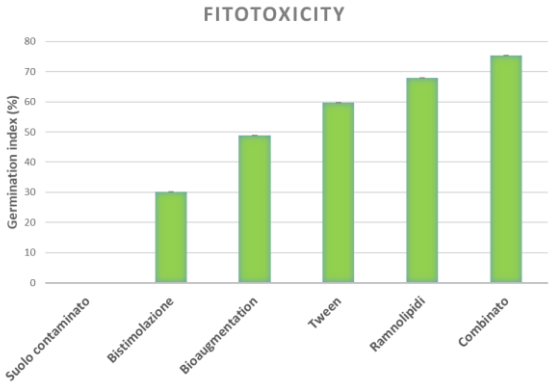




Previous experience: CREIAMO project

Rhamnolipid biosurfactant assisted bioremediation of soil contaminated with hydrocarbons by using bioslurry process





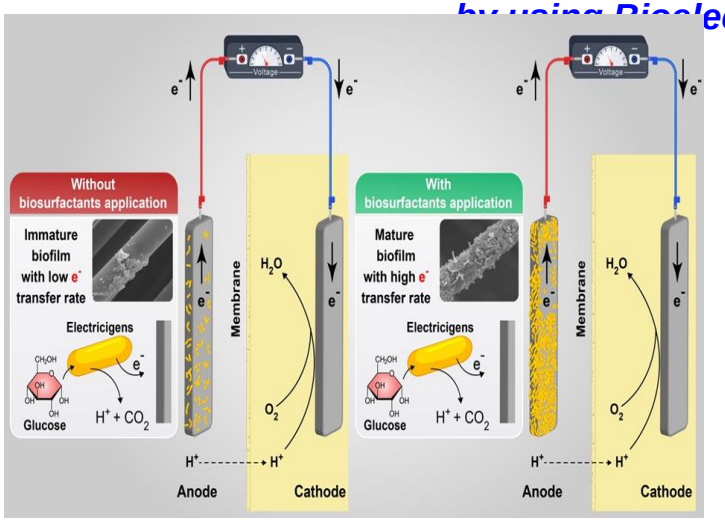
Journal of Environmental Chemical Engineering
Available online 19 October 2022, 108814
In Press, Journal Pre-proof

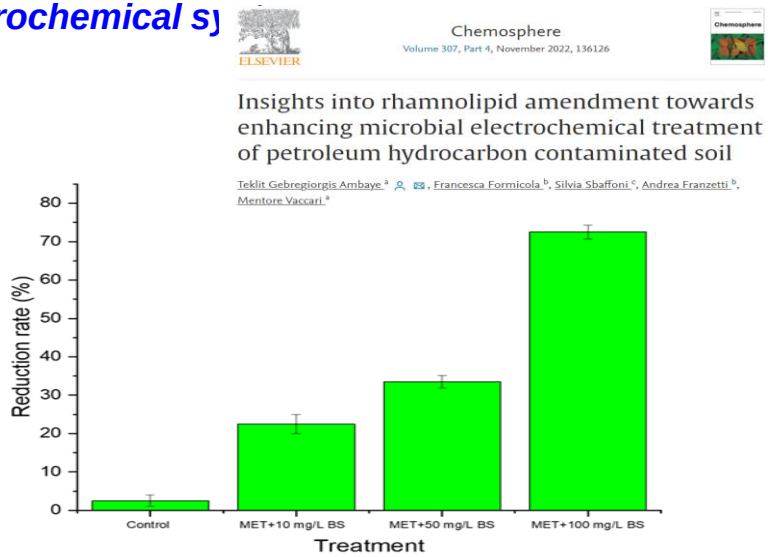
Ex-situ bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil using mixed stimulants: Response and dynamics of bacterial community and phytotoxicity

Teklit Gebregiorgis Ambaye [a], Alif Chebbi [b], Francesca Formicola [c], Asia Rosatelli [c], Shiv Prasad [d], Franco Hernan Gomez [a], Silvia Sbaffoni [e], Andrea Franzetti [b], Mentore Vaccari [a]

Previous experience: CREIAMO project

Rhamnolipid biosurfactant assisted bioremediation of soil contaminated with hydrocarbons
by using Bioelectrochemical s





- **Bioelectrochemical remediation** couple bioremediation with electrochemical remediation, in which bioremediation is enhanced by **electrochemically active bacteria (EAB)** exchanging electrons with the electrodes and generating a bioelectricity.
- When electrodes serve as the electron acceptor, **electrons** produced from contaminant degradation by EAB are **transferred to the anode**, and, by an external circuit to the **cathode**, where a final **electron acceptor (e.g., O_2) is reduced**.

Previous experience: CREIAMO project

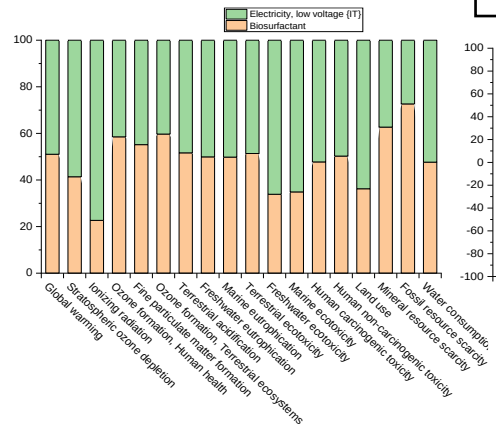
Rhamnolipid biosurfactant assisted bioremediation of soil contaminated with hydrocarbons by using Bioelectrochemical systems

Type of pollutant C	Initial concentration	Predominant species of bacteria	Conditions	Max. current	Ref.
Petroleum	11.340 ± 3.260 mg/kg	-	Tubular BES consists of a Carbon felt anode and carbon cloth cathode at a temperature of 22 °C under an anodic moisture retention layer of unsaturated soil in 120 d	141 mA/m^2	Wang et al. (2020)
TPH	103 mg/kg	Proteobacteria as dominant phylum)	In SMFC with activated carbon fiber felt as anode and cathode at temperature 30 ℃, pH = 7.92 for Soil for 180 d	12,1 mA/m^2	Yu et al. (2017)
Petroleum hydrocarbon	7.258 mg/kg	Proteobacteria Desulfobacterota and Firmicutes	soil microbial electrochemical system with carbon felt combined with titanium wiring as anode and cathode stimulated with iron minerals incubated at a temperature of (30 °C), pH to 7–8 for 148 d	164 mA/m^2	Chen et al. (2022)
Petroleum hydrocarbon	7.942 mg/kg	-	soil microbial fuel cell with an anode of graphite rod and an activated carbon air-cathode stimulated with carbon fiber operated in a 30 °C, pH 8.3 for 144 d	203 mA/m^2	Li et al. (2016)
Petroleum hydrocarbon	11.460 mg/kg	Comamonas testosteroni, Pseudomonas putida, and Ochrobactrum anthropi	A tubular bioelectrochemical system with carbon cloth anode or biochar anode and activated carbon air-cathode were inserted into raw water-saturated soils containing petroleum hydrocarbons for enhancing in situ remediations, pH 6.1 for 64 d	86 mA/m^2	Li et al. (2014)
Total petroleum hydrocarbon	**4.500 mg/kg**	**Geobacter, Desulfovibrio, Klebsiella, and Comamona Pseudomonas, Acinetobacter, and Franconibacter**	**Soil microbial electrochemical system with granular graphite as anode and titanium net/mesh as cathode stimulated with rhamnolipid incubated at a temperature of (20 °C), initial pH = 7, duration = 20 d**	**9500 mA/m^2**	**Our study**

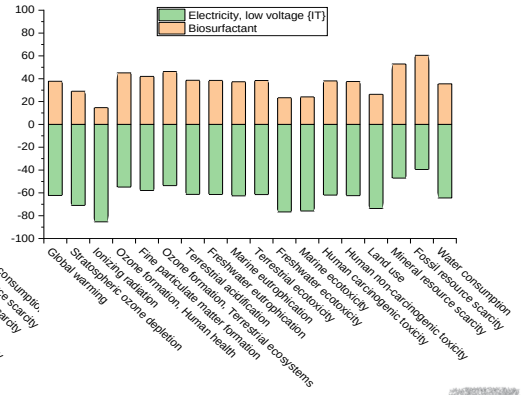
Previous experience: CREIAMO project

Evaluating the environmental impact of using LCA for the developed process used for the remediation of petroleum hydrocarbons via bioelectrochemical system and bioslurry reactor

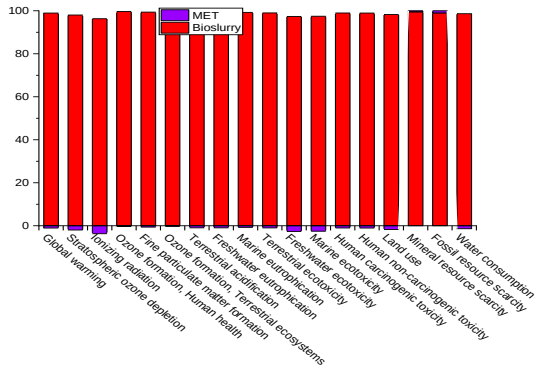
Hot spot analysis of bioslurry



Hot spot analysis of Bioelectrochemical system



Comparison between Bioslurry and Bioelectrochemical system



Sustainable Production and Consumption

Available online 3 February 2023

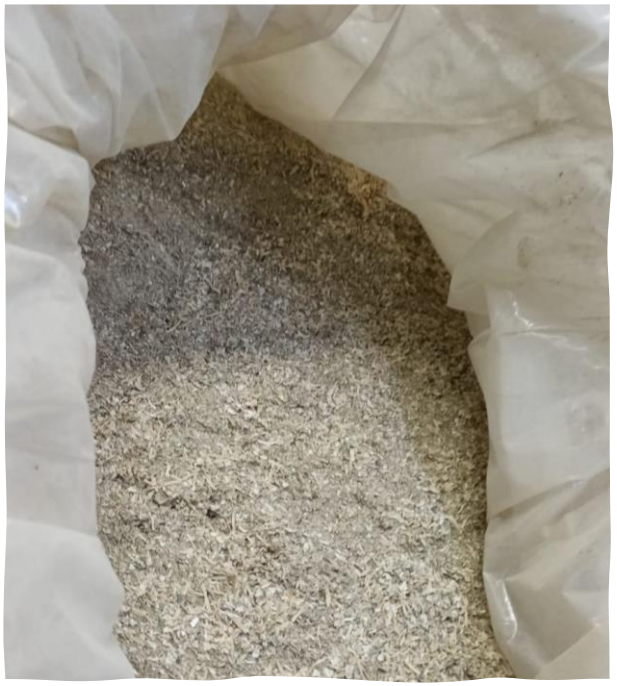
In Press, Journal Pre-proof ⓘ What's this?

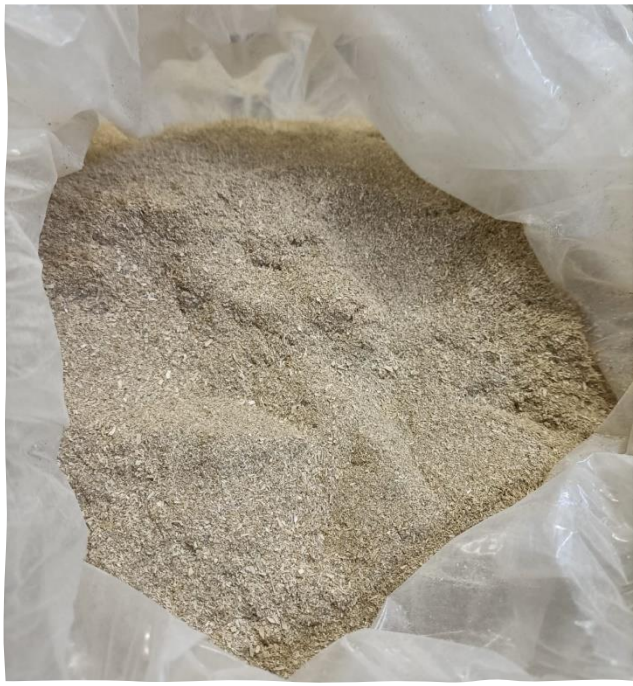
Life cycle assessment of bioslurry and bioelectrochemical processes for sustainable remediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons: An experimental study

Teklit Gebregiorgis Ambaye [a], Francesca Formicola [b], Silvia Sbaffoni [c], Andrea Franzetti [b], Mentore Vaccari [a]

In collaborazione con

Ricrea – Raw materials



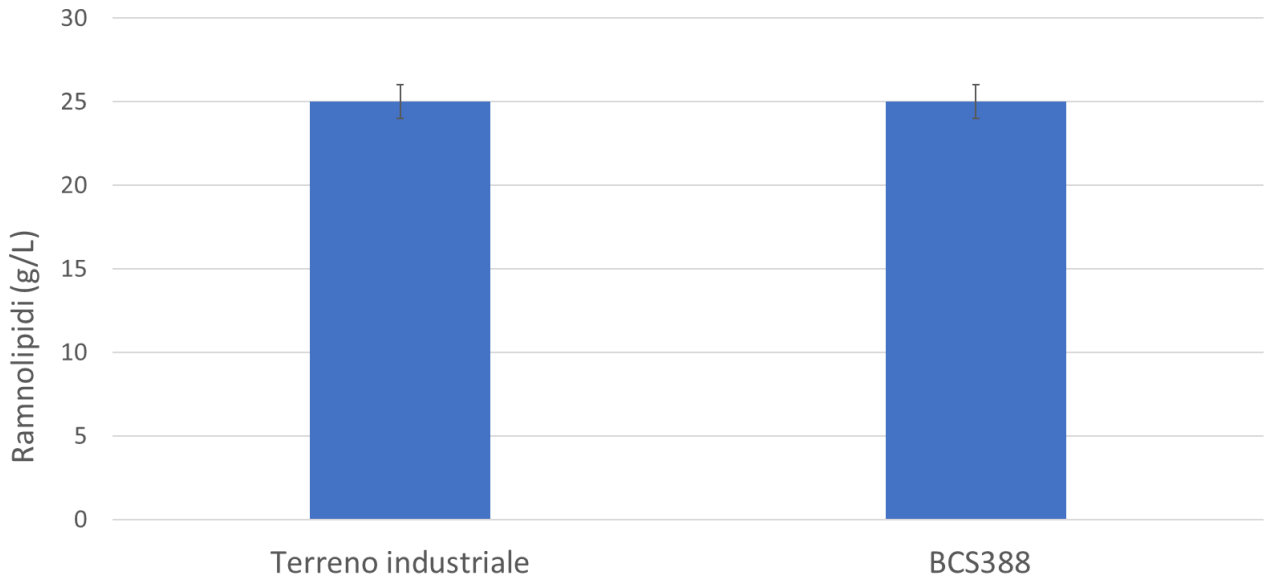


PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

In collaborazione con

Production of biosurfactant



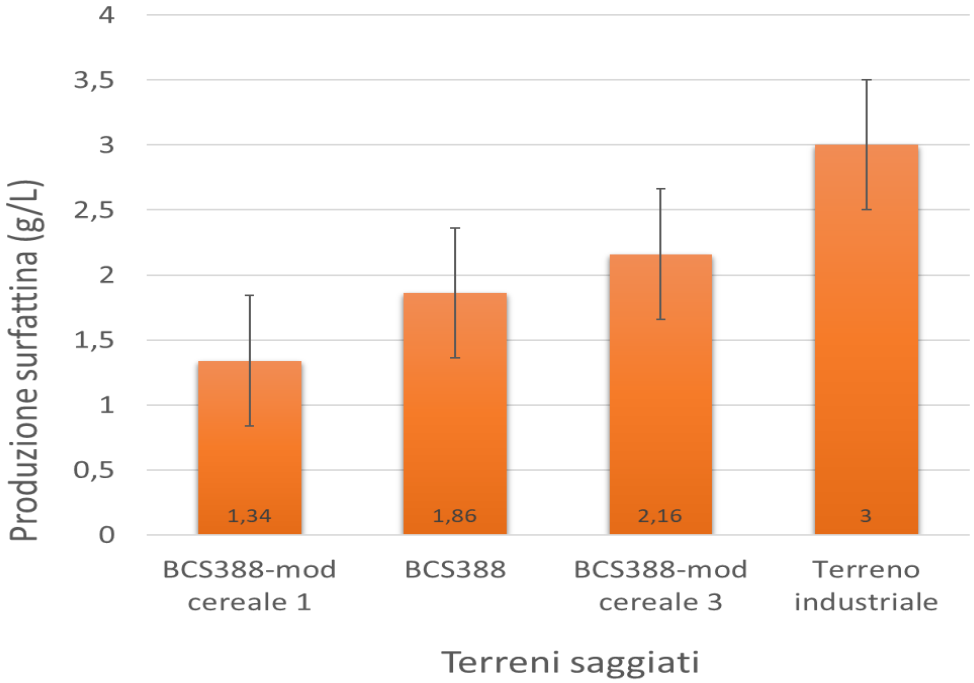
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

In collaborazione con

Production of biosurfactant



PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

1st Microcosm tests - Contaminated soil

The soil contaminated with PH used in the experiment was taken from a polluted site in northern Italy.

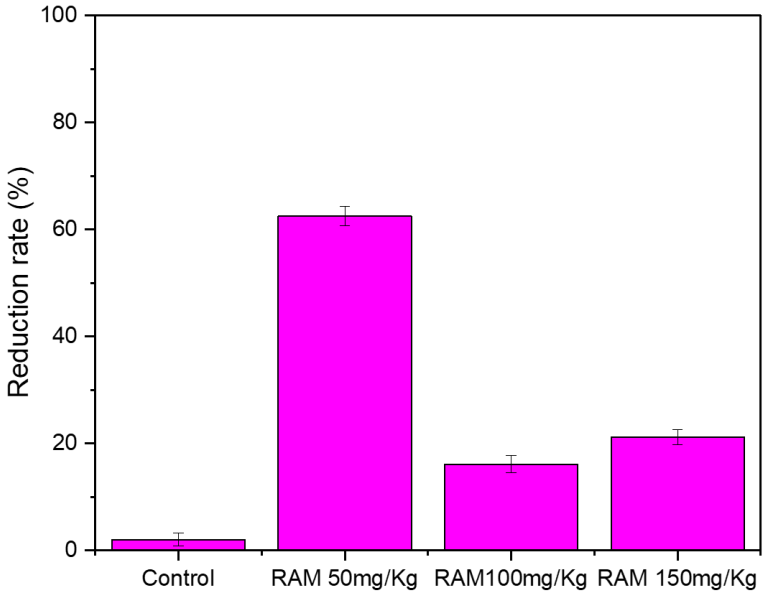
Parameter	Value
pH	7.6 ± 0.1
Organic C(g/kg)	12 ± 1.1
Total N (g/kg)	0.25 ± 0.3
C/N (g/kg)	48 ± 0.3
Sand (g/kg)	801 ± 0.5
Silt (g/kg)	113 ± 0.4
Clay (g/kg)	87 ± 0.2
Conductivity (µS/Cm)	113.2 ± 0.1
Moisture (%)	8.14 ± 1.2
Total petroleum hydrocarbon	4500 mg/kg

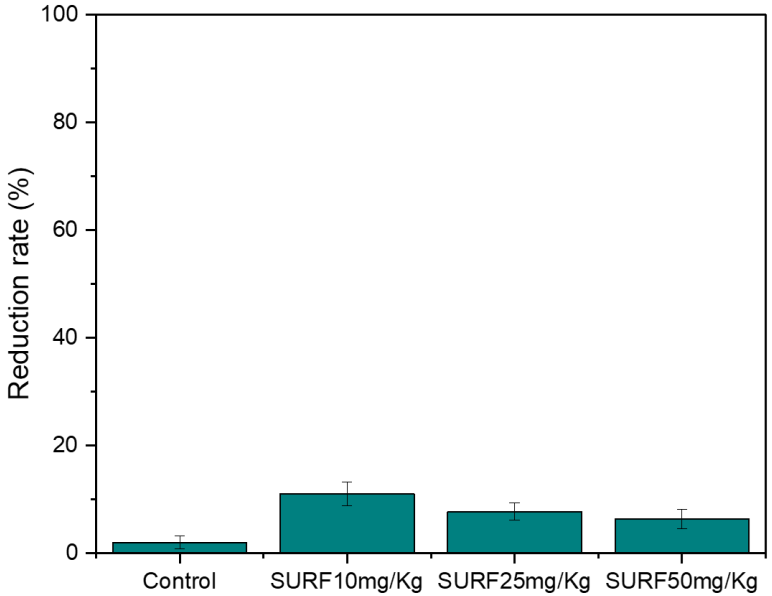
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

1st Microcosm tests - Landfarming



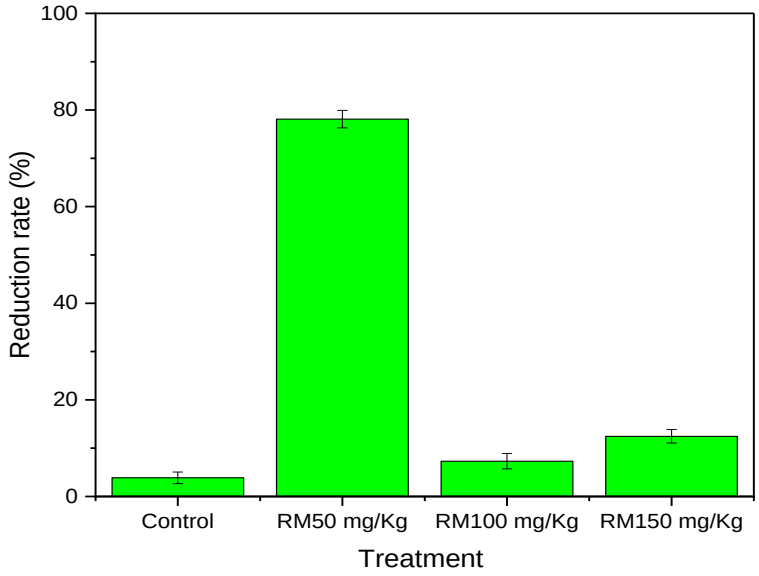


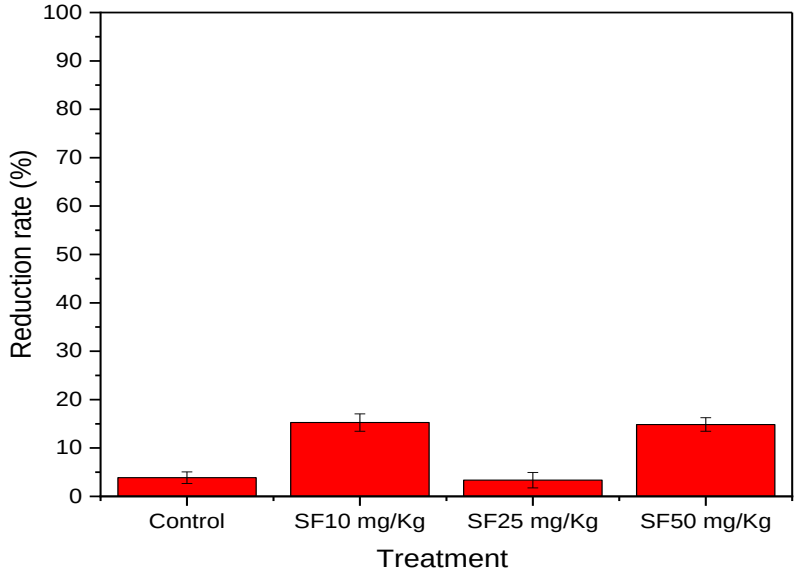
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

1st Microcosm tests - BES treatment



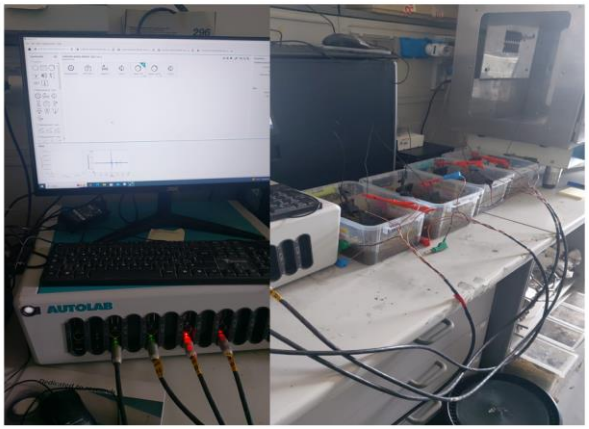


PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

2nd Microcosm tests - Contaminated soil



Terreno contaminato da idrocarburi pesanti prelevato da sito reale

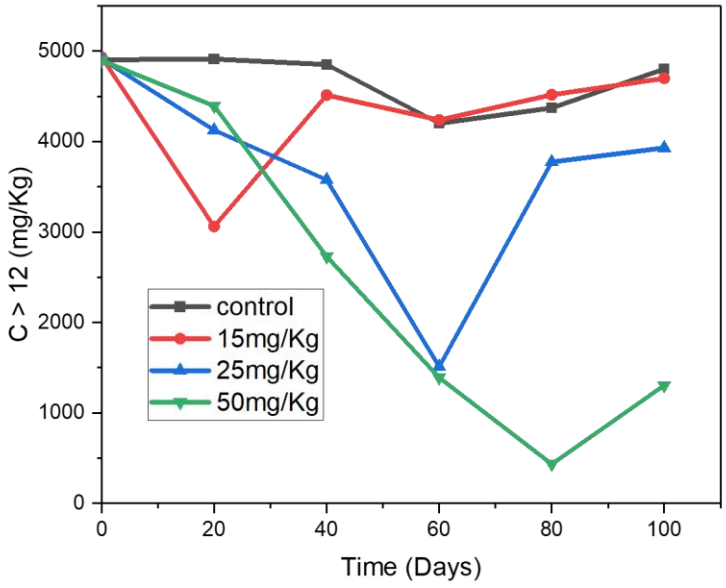
Parameter	Value
pH	7.6 ± 0.1
Total carbonates (g/kg)	200± 0.1
Organic C(g/kg)	37.4 ± 0.2
Total N (g/kg)	1.8 ± 0.14
C/N (g/kg)	20.7± 0.17
Sand (g/kg)	518± 3.1
Silt (g/kg)	310± 2.1
Clay (g/kg)	172± 1.2
Conductivity (µS/Cm)	1767 ± 0.3
Moisture (%)	54.36
Total petroleum hydrocarbon (TPH)	4917

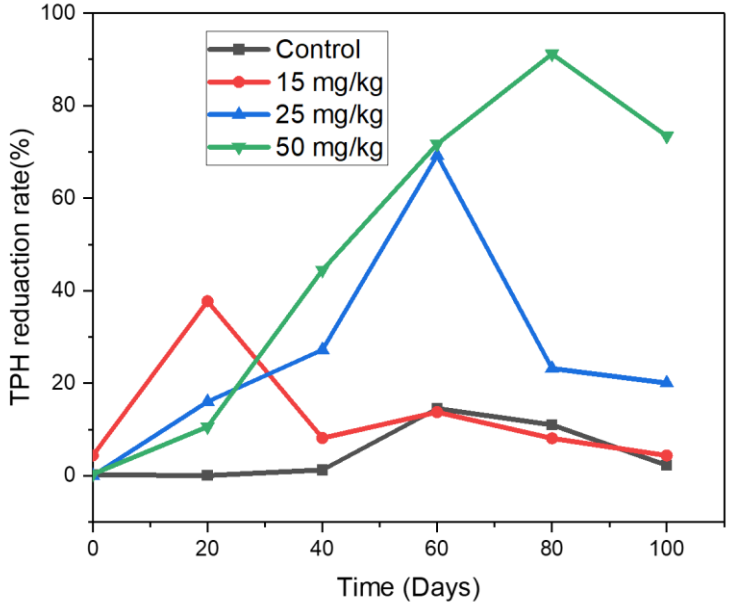
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

2nd Microcosm tests – BES treatment

Prove di laboratorio





PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

1st Pilot test preparation

Contaminated soil and biosurfactants

PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

In collaborazione con

1st Pilot test preparation

Landfarming

PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE
E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

In collaborazione con

1st Pilot test preparation

BES treatment

PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

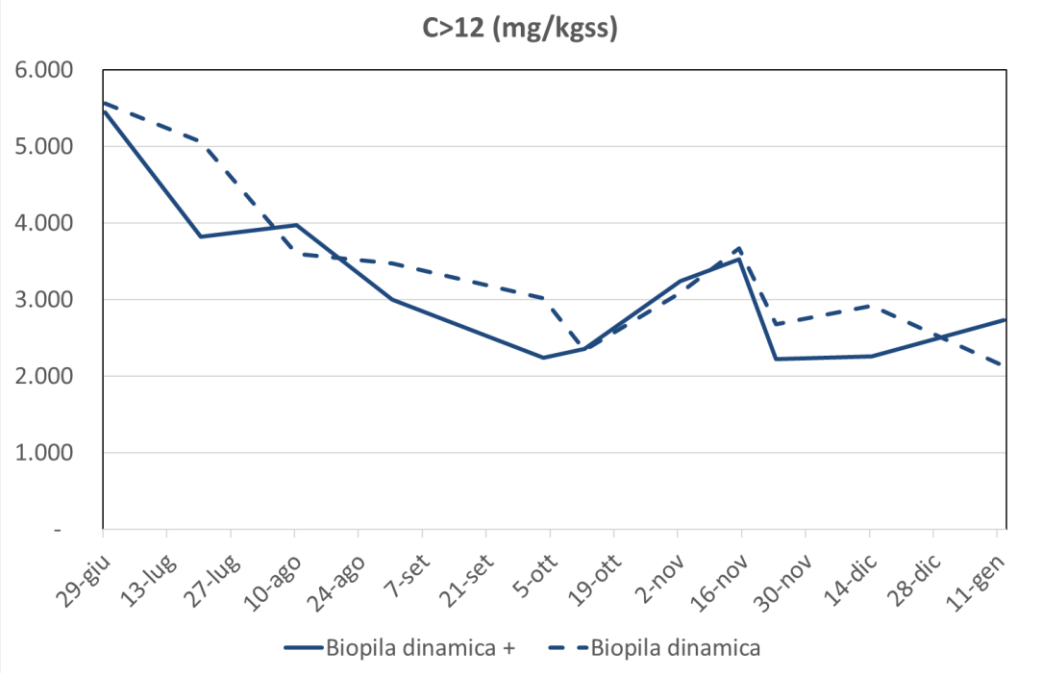
Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

SIDISA 2024 XII International Symposium on Environmental Engineering PALERMO October 1st - 4th

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BRESCIA | SISTEMI AMBIENTALI | QUADRIFOGLIO soc. coop. agricola | BioChemM SOLUTIONS | PROMOCOOP LOMBARDIA

In collaborazione con CONFCOOPERATIVE LOMBARDIA

1st Pilot test



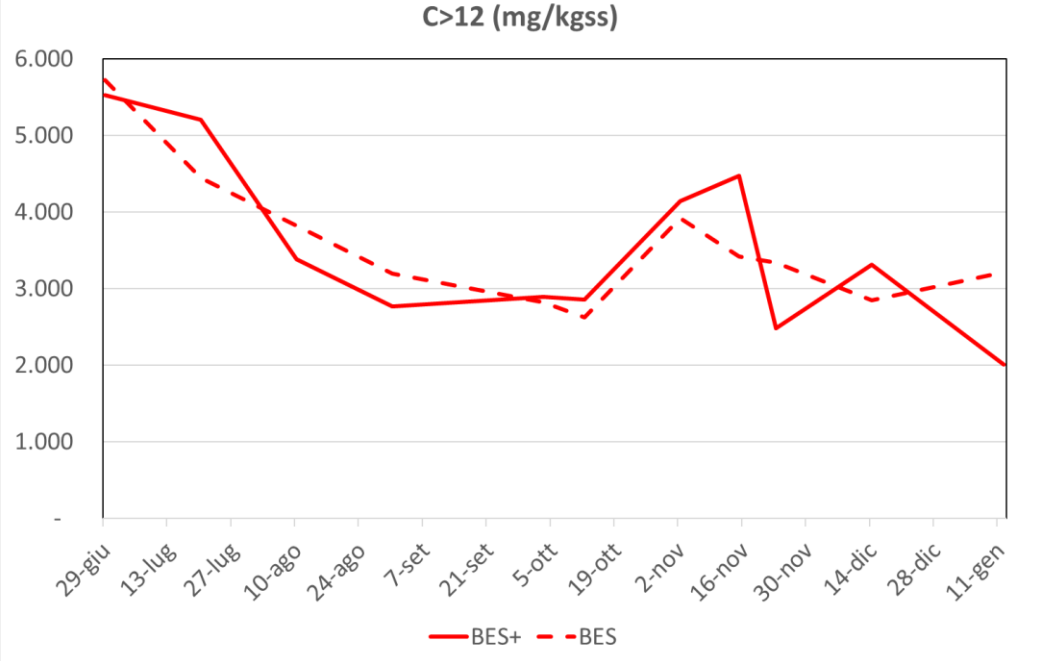
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

In collaborazione con

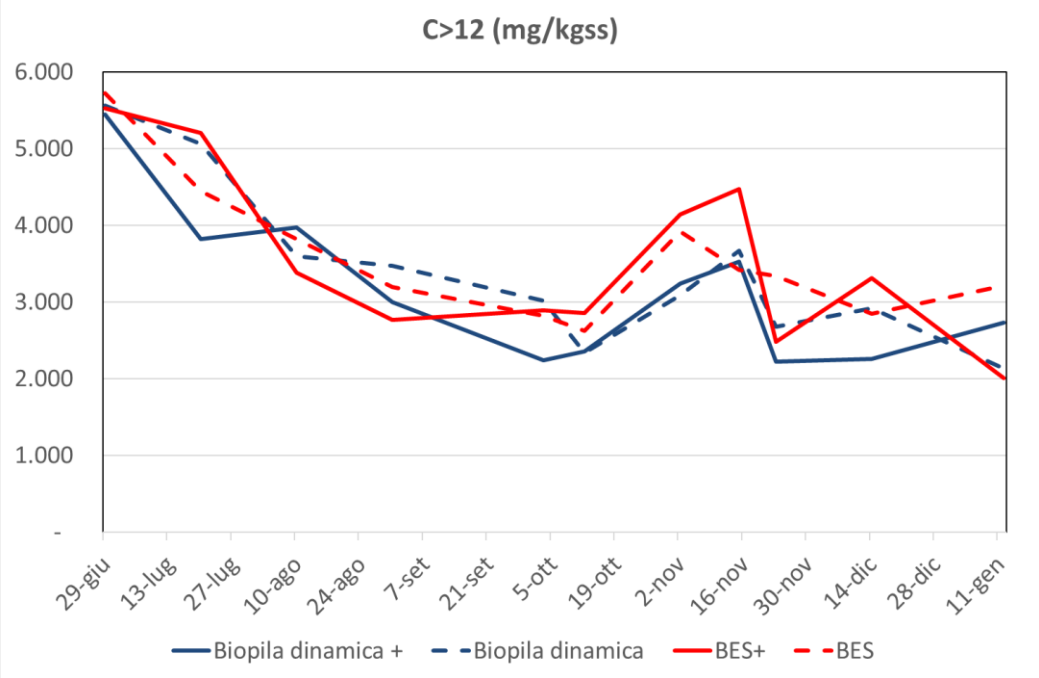
1st Pilot test



PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

1st Pilot test

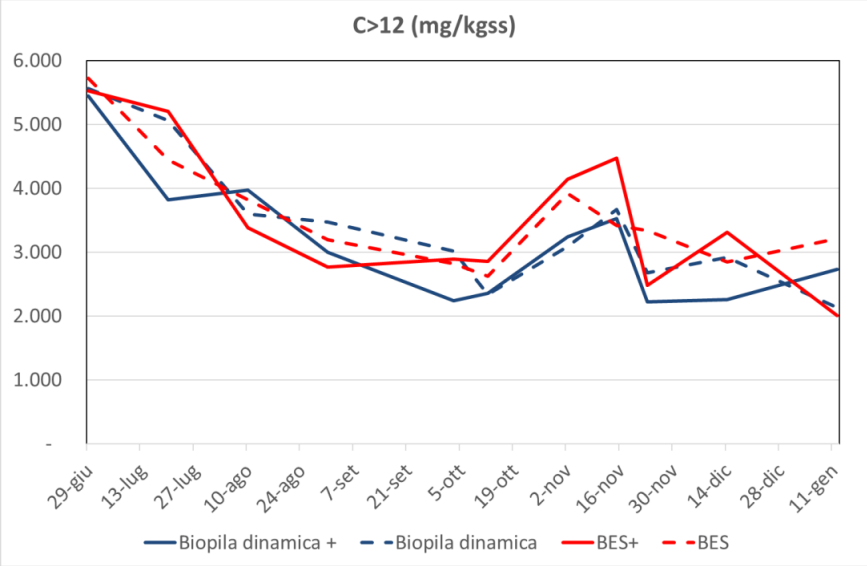


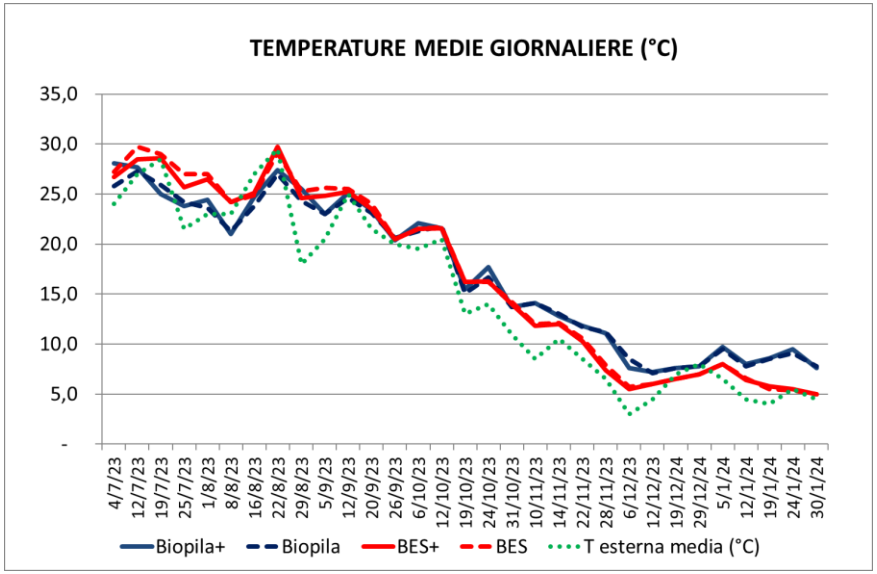
PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

In collaborazione con

1st Pilot test





PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

In collaborazione con

Preliminary conclusions

- Cereal waste is suitable to produce rhamnolipids
- Lab scale tests:
  - biosurfactant addiction implies higher TPH removal rates
  - BES+ is effective
- First pilot scale test:
  - BES and landfarming TPH removal rates are similar
  - biosurfactant addiction causes improvements in first months
  - biological process heavily decelerates at low temperature
  - operating cost and maintenance of BES are lower than landfarming
- Continuation of the activity:
  - different dosage methods of biosurfactants
  - different moisture values
  - LCA and LCC studies

PROGETTO RICREA:
https://www.progetto-ricrea.org/

Progetto presentato a valere sul bando per il cofinanziamento di progetti di ricerca volti allo sviluppo di tecnologie per la prevenzione, il recupero, il riciclaggio ed il trattamento di rifiuti non rientranti nelle categorie già servite da consorzi di filiera, all'ecodesign dei prodotti e alla corretta gestione dei relativi rifiuti. Progetto cofinanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica-Direzione Generale Economia Circolare.

MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA SICUREZZA ENERGETICA

Thank you!

progetto.ricrea@unibs.it

mentore.vaccari@unibs.it

Supported by