

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

CESARE BONINO

## Sulla degradazione dello Stilbestrolo da parte dei micro-organismi del suolo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.1, p. 80-82.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1962\\_8\\_32\\_1\\_80\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_1_80_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

*SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Chimica.** — *Sulla degradazione dello Stilbestrolo da parte dei microorganismi del suolo*<sup>(\*)</sup>. Nota di CESARE BONINO, presentata<sup>(\*\*)</sup> dal Corrisp. C. ARNAUDI.

Fra i problemi creati dal diffuso impiego dello Stilbestrolo come additivo nell'alimentazione del bestiame si era recentemente posto quello del suo destino ultimo dopo la sua somministrazione [1].

È noto infatti che l'estrogeno viene in gran parte escreto inalterato con le feci dagli animali cui era stato somministrato [2] e depositato quindi sul terreno dei pascoli. Se l'estrogeno, stabile dal punto di vista chimico, non venisse qui in qualche modo distrutto o modificato, è chiaro che, con l'andare del tempo, verrebbe ad accumularsi e potrebbe nuocere gravemente agli armenti (come è già accaduto per estrogeni naturali) e alle persone.

Anche se tale impiego dell'estrogeno è oggi vietato, sia le quantità già depositate, sia quelle eventualmente derivanti da un impiego illegale, rendono sempre attuale il problema, che in ogni caso continua ad esserlo dal punto di vista scientifico.

Per le sostanze organiche naturali, anche insolubili, la loro degradazione ad opera dei microorganismi del terreno costituisce un fondamentale stadio del ciclo naturale del carbonio. Ma per lo Stilbestrolo, sostanza sintetica, benché in natura siano presenti altri polioidrossi-derivati dello Stilbene quali la pinosilvina e il resveratrolo, è da provarsi che i microorganismi del suolo possano operare la sua degradazione.

Contro questa possibilità sarebbe l'azione inibitrice dello Stilbestrolo sullo sviluppo di batteri e di muffe, ampiamente dimostrata in laboratorio [3-6]; va tuttavia ricordato che i batteri Gram-negativi (che hanno un importante ruolo nei processi sopra accennati) sono poco sensibili allo Stilbestrolo stesso [6].

Ci siamo quindi proposti di indagare la possibilità o meno di degradazione biologica dello Stilbestrolo nel suolo.

#### PARTE SPERIMENTALE.

Si sono inoculate con una piccola quantità di terreno (1 : 10000) delle sospensioni di Stilbestrolo U.S.P. di varia concentrazione in una soluzione minerale in cui l'estrogeno veniva ad essere l'unica fonte di carbonio per i

(\*) Lavoro eseguito negli Istituti di Chimica Farmaceutica e Tossicologica e di Microbiologia Agraria e Tecnica della Università di Bologna.

(\*\*) Nella seduta del 13 gennaio 1962.

microorganismi eventualmente capaci di utilizzarlo come tale ed operare quindi la sua degradazione. Esse venivano poi conservate a 30°C.

La composizione della soluzione minerale era la seguente:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,02%;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,08%;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,1%;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0,025%;  $\text{NaCl}$ , 0,025%;  $\text{CaCl}_2$ ,  $6 \text{H}_2\text{O}$ , 0,005%;  $\text{FeCl}_3$ , 0,0001%;  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$  tracce; in acqua distillata. Il pH fu aggiustato a 7.

Con basse concentrazioni di Stilbestrolo (dell'ordine di  $10^{-4}$  g/cc) si è potuto osservare dopo diversi giorni uno sviluppo microbico di una certa entità ( $10^7$ – $10^8$  cellule/cc), misurata mediante conteggi in piastre di agar nutritivo, che si verificava anche dopo successivi trapianti in nuovo substrato.

Questo sviluppo, in tali condizioni, di microorganismi eterotrofi è già una prova della utilizzazione da parte loro dello Stilbestrolo.

Adottando la concentrazione di 200  $\gamma$ /cc di Stilbestrolo, si è inoculato, dopo tre successivi trapianti di una coltura di arricchimento, un pallone con 1 litro di sospensione di Stilbestrolo nella soluzione minerale e lo si è incubato per 30 giorni a 30°C in agitazione forzata.

*Analisi.* – Periodicamente furono effettuati prelievi e lo Stilbestrolo analizzato secondo il metodo ufficiale dell'AOAC [7].

I risultati sono esposti nella seguente Tabella I, in cui sono indicati gli assorbimenti presentati a 418 m $\mu$  dagli estratti secondo [7], dopo irradiazione U. V.

TABELLA I.

Giorno	D (a 418 m $\mu$ )	Stilbestrolo residuo ( $\gamma$ /cc)
0	0,70	200
10	0,65	185
20	0,61	174
30	0,55	157

Benché non molto rilevante, la diminuzione della concentrazione dello Stilbestrolo nella sospensione è pur sempre significativa e conferma la sua avvenuta parziale degradazione ad opera dei microorganismi.

*Cromatografia.* – Nel liquido colturale si erano andati accumulando, col procedere della degradazione dello Stilbestrolo, nuovi prodotti, come ha potuto mettere in evidenza la cromatografia su carta di estratti cloroformici del liquido di fermentazione. Essi furono evaporati a 30°C in corrente di azoto e quindi cromatografati in diversi sistemi di solventi. Riportiamo qui

(Tav. I) i risultati ottenuti con glicole propilenico/toluolo [8]. Colture dello stesso microorganismo in brodo nutritivo furono estratte e cromatografate nello stesso modo.

Dopo irradiazione del cromatogramma con luce U. V. per evidenziare lo Stilbestrolo (che, alterandosi, sviluppa una colorazione gialla e intensa fluorescenza) esso venne osservato in luce di Wood (sensibilità:  $1 \gamma$  Stilbestrolo/cm<sup>2</sup>).

Il fatto che nelle colture in un substrato completo (I) non siano presenti i prodotti osservabili in quelle sviluppatesi su Stilbestrolo (II) fa ritenere che questi siano, dello Stilbestrolo stesso (III), prodotti di degradazione.

Si stanno ora studiando i prodotti ottenuti nel corso di questa e di altre fermentazioni.

*Isolamento dei microorganismi.* - Su di un substrato nutritivo agarrizzato, addizionato di Stilbestrolo, si è potuto isolare il microorganismo (aerobio, Gram-negativo) responsabile della degradazione dello Stilbestrolo, che è ancora allo studio per l'identificazione.

Ringrazio la prof. Elisa Ghigi ed il prof. Mario Sacchetti per l'interessamento ed i preziosi suggerimenti.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] C. DODDS, *Sostanze sintetiche analoghe agli ormoni. Una nuova tappa*, « Gazz. Chim. Ital. », 88, 976 (1958).
- [2] M. STOB, *Fecal elimination of hormones in sheep and cattle treated with synthetic estrogens*, « J. Animal Sci. », 15, 990 (1956).
- [3] G. H. FAULKNER, *Bactericidal action of estrogens*, « Lancet », 245, 38 (1943).
- [4] C. L. S. CLEMENTE, R. D. MACKENZIE, *The bacteriostatic effect of diethylstilbestrol* « Mich. State Univ., Agr. Expt. Sta. Quart. Bull. », 39, 438 (1957).
- [5] B. BROWNLEE, F. C. COPP, W. M. DUFFIN, S. M. TONKIN, *The antibacterial action of some Stilbene derivatives*, « Biochem. J. », 37, 572 (1943).
- [6] L. J. HANKA, W. R. LOCKHART, *Antimicrobial action as a basis for measurement of diethylstilbestrol*, « J. Bacteriol. », 75, 471 (1958).
- [7] *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. IX ed. (1960).
- [8] P. H. JELLINECK, *Paper chromatography of estrogens*, « Nature », 171, 750 (1953).

