



ITALIA
EXPO MILANO 2015



**Ordine
Nazionale
Biologi**

IL BIOLOGO: UNA PROFESSIONE PREMINENTE NELLA NUTRIZIONE E NELLASICUREZZA ALIMENTARE

Auditorium del Padiglione Italia - EXPO Milano 2015
27-28 giugno 2015

INQUINAMENTO DA FARMACI NELLE ACQUE REFLUE URBANE



Valeria Di Onofrio
Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Tel. 081.5476542
valeria.dionofrio@uniparthenope.it

Marco Guida
Dipartimento di Biologia
Tel. 081.679183
marco.guida@unina.it

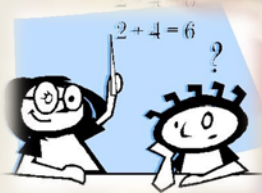


AGENDA



✓ i farmaci nell'ambiente

✓ inquinamento delle acque reflue



✓ evidenze scientifiche

✓ danno ecologico e saggi ecotossicologici



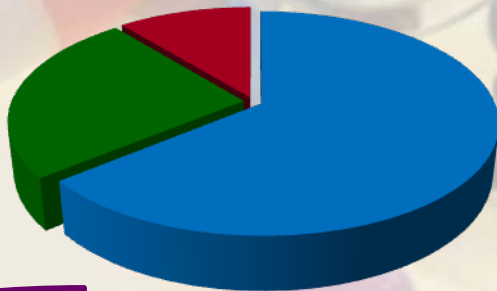
✓ prospettive future

FARMACO

«ogni sostanza, o associazione di sostanze, presentata come aventi proprietà curative o profilattiche delle malattie umane; ogni sostanza o associazione di sostanze che può essere utilizzata sull'uomo o somministrata all'uomo allo scopo di ripristinare, correggere o modificare funzioni fisiologiche, esercitando un'azione fisiologica, immunologica o metabolica, ovvero di stabilire una diagnosi medica» (art. 1 D. Lgs. 219/2006)

- ❑ Consumo medio annuale mondiale farmaci: **100.000 ton**
- ❑ Migliaia di farmaci diversi dispensati in Italia e nel mondo
- ❑ Centinaia di nuove molecole sintetizzate ogni anno

Produzione annua di antibiotici (10.500 ton)
EU e Svizzera, (FEDESA, 2007)



- 52% **Uso umano** (prescrizioni e uso ospedaliero)
- 33% **Uso animale** (uso auxinico)
- 15% **Uso animale** (uso terapeutico)

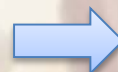
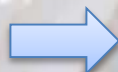


**INQUINAMENTO AMBIENTALE
DA FARMACI**

INQUINANTI EMERGENTI ED IL LORO IMPATTO SULL'AMBIENTE

- ✓ riconducibili ai composti indicati come PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) che includono prodotti farmaceutici e quelli utilizzati per l'igiene e la cura personale (detergenti, fragranze...)
- ✓ comunemente presenti nei reflui civili con caratteristiche molto diverse tra loro in termini di biodegradabilità e volatilità
- ✓ spesso persistenti nell'ambiente acquatico e bioaccumulabili
- ✓ attivi specificamente per suscitare risposte nell'uomo ai bassi dosaggi. rappresentano potenziali pericoli per la catena trofica e l'uomo
- ✓ prima evidenza di contaminazione nel 1976 nelle acque di un lago del Nevada
- ✓ nel 1992 tracce dell'acido clofibrico e farmaci contro il colesterolo nelle acque potabili di Berlino

COMPOSTI FARMACEUTICI NELLE ACQUE



**INQUINAMENTO
DIFFUSO**



FONTI DELL'INQUINAMENTO DA FARMACI

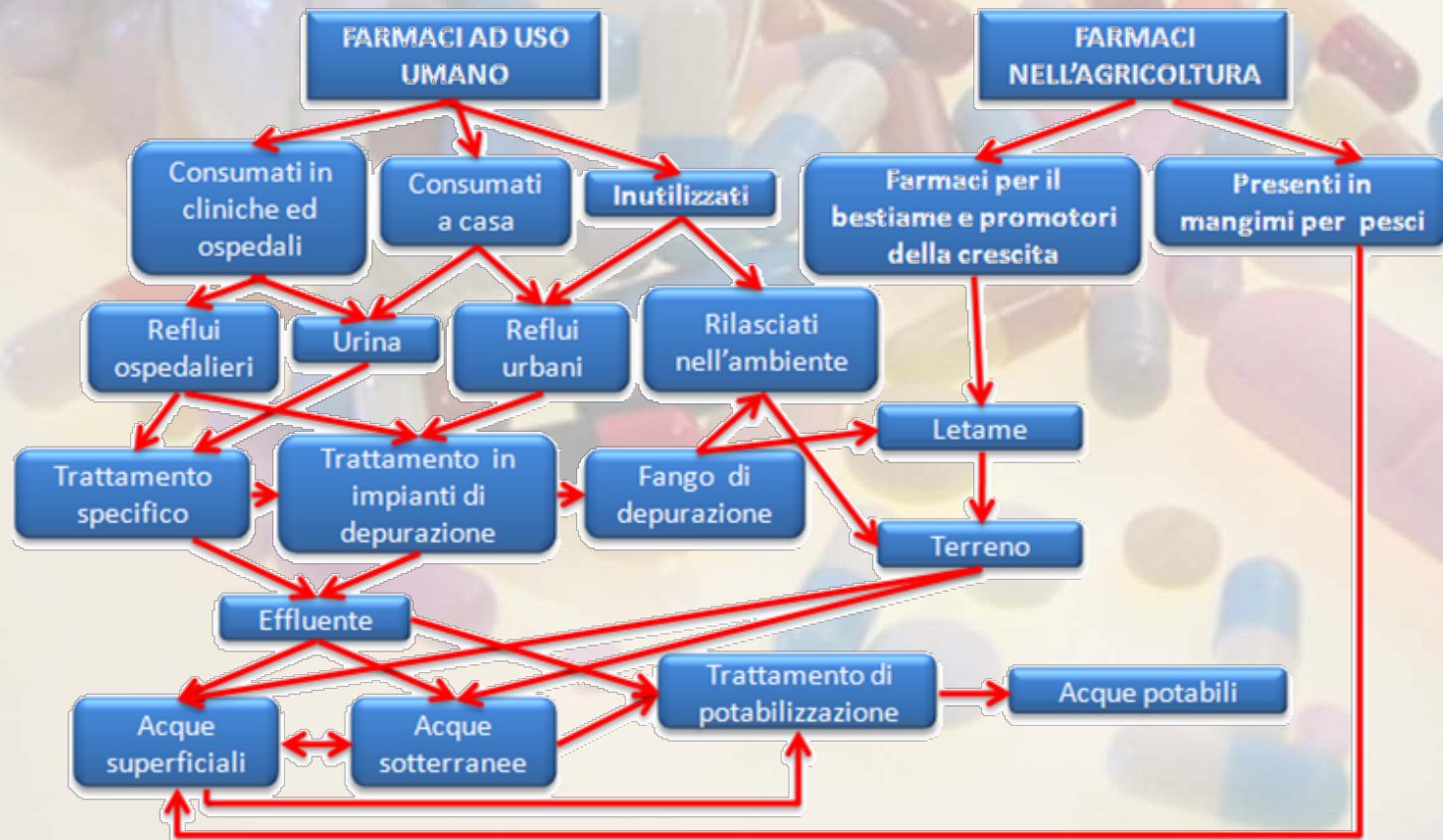
Industrie farmaceutiche

Ospedali, strutture sanitarie

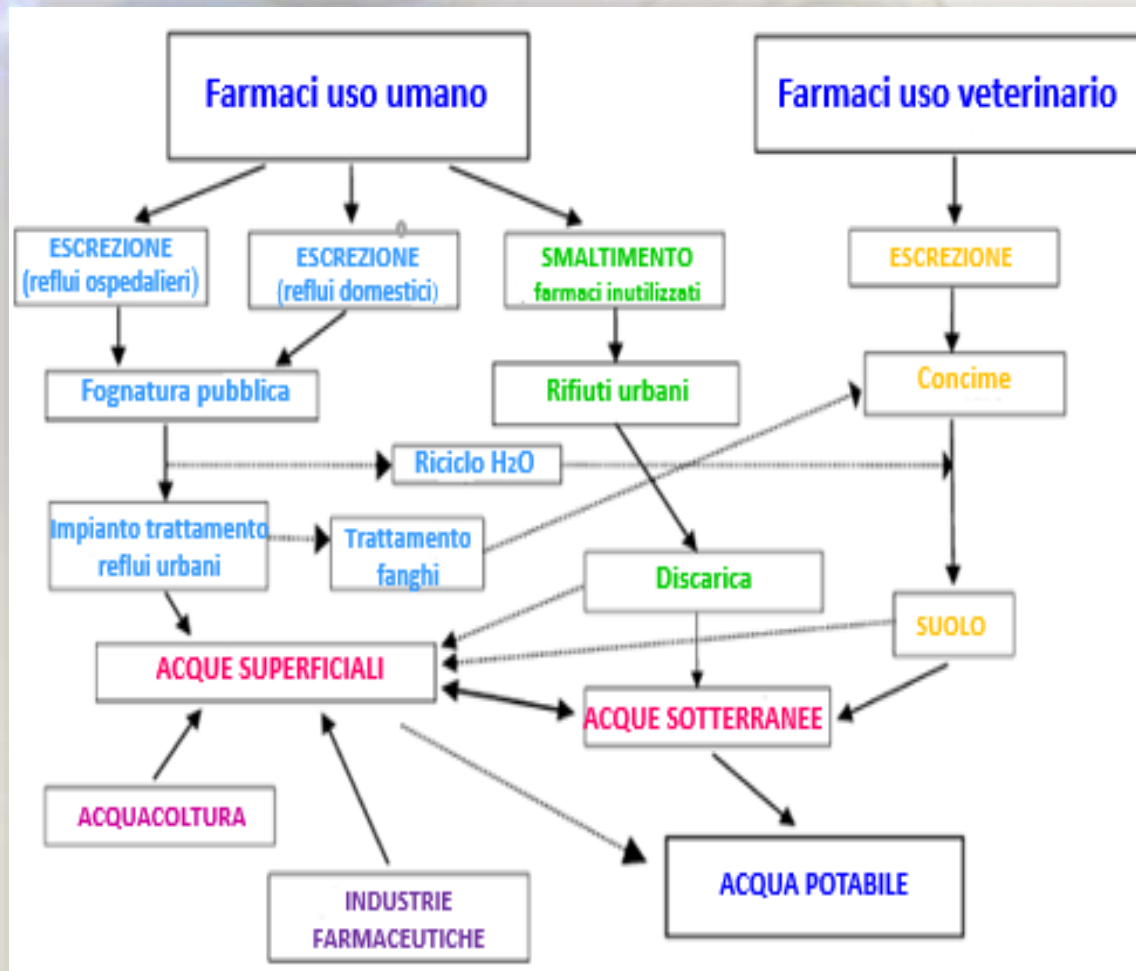
Prodotti per la
cura personale

Medicinali per
uso domestico

Allevamento



VIE DI DIFFUSIONE DEI FARMACI NELL'AMBIENTE



- ❖ Scarichi domestici
- ❖ Scarichi urbani
- ❖ Scarichi ospedalieri
- ❖ Scarichi industriali
- ❖ Effluenti di impianti di depurazione
- ❖ Impianti di acquacoltura
- ❖ Allevamenti zootecnici intensivi

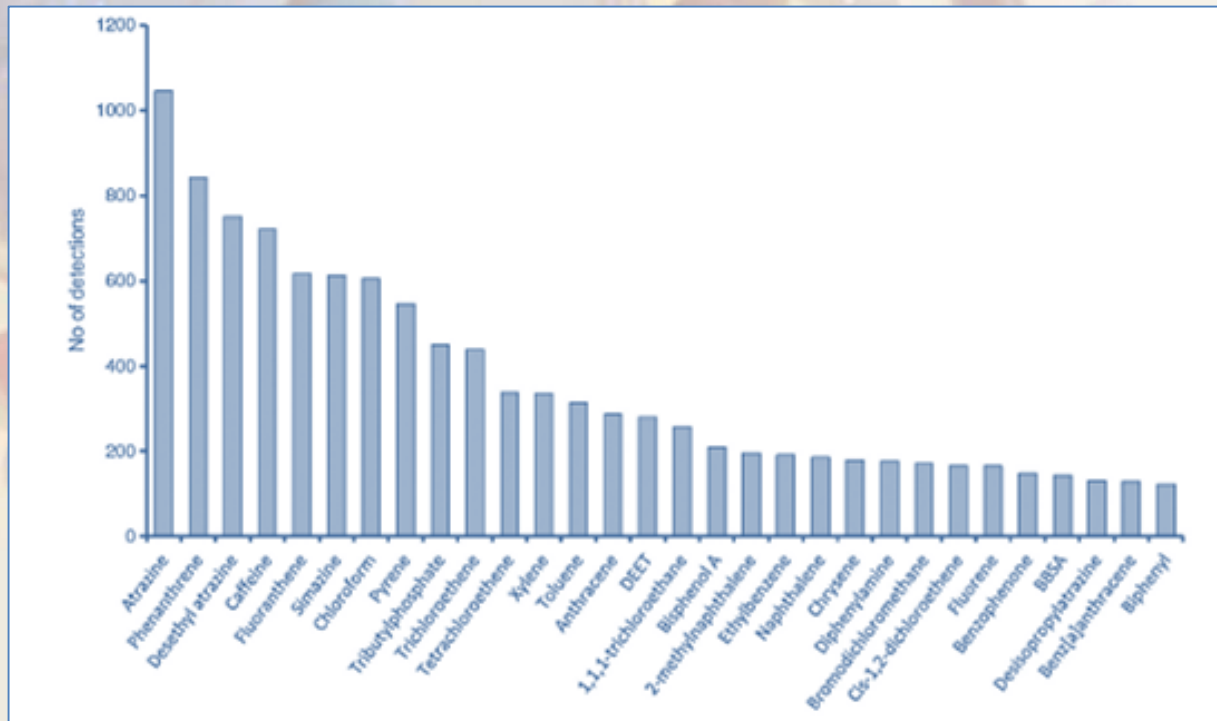


EVIDENZA DEI FARMACI NELL' AMBIENTE

- ❑ trovati nell'ambiente per la prima volta in Europa nel 1980
- ❑ 20 anni fa: aspirina, caffeina e nicotina rilevati in impianti di depurazione negli Stati Uniti
- ❑ ricercatori dell'USDA (United States Department of Agriculture) trovarono l'acido clofibrico (farmaco per ridurre il colesterolo) nelle acque sotterranee bacini di infiltrazione
- ❑ con l'avvento del monitoraggio e della ricerca negli Stati Uniti, la letteratura è cresciuta esponenzialmente dal 2000

RISULTATI GENERALI

- ✓ farmaci ritrovati in acque di scarico trattate, acque superficiali, suolo e acqua del rubinetto
- ✓ fino al 90% dei farmaci per via orale può passare attraverso gli esseri umani immutato
- ✓ molti non sono biodegradabili e persistono nelle acque sotterranee per anni



I composti più frequentemente rilevati nelle acque sotterranee europee inclusi nella banca dati dell'Agenzia Ambientale (DEET = N, N-dimetil-toluamide; BASA = Nbutilbenzene sulfonamide; BBSA = N-butilbenzene sulfonamide) (Gavrilescu et al. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. N Biotechnol 2015; 25; 32 (1): 147-56)

IMPATTI

- per lo più sconosciuti
- le concentrazioni sono in parti per trilione (ben al di sotto delle dosi terapeutiche)
- la preoccupazione è per l'esposizione cronica a tali sostanze:
 - distruzione endocrina
 - resistenza agli antibiotici
- farmaci antitumorali (di minor uso) ma con attività citotossiche, genotossiche e mutagene



I FARMACI POSSONO RAPPRESENTARE UN DANNO ECOLOGICO?

Evidenze:

- ✓ Norris D et al. 2006: il pesce maschio nativo del fiume Boulder Creek diminuiva di numero rispetto alle femmine. Inoltre erano stati trovati numerosi pesci ermafroditi a valle dell'impianto di depurazione (presenza massiccia di etinilestradiolo)
- ✓ Pomati F et al. 2006: uno studio italiano ha evidenziato che una miscela di farmaci comuni in ambienti acquatici (ng/L) inibisce la crescita delle cellule embrionali umane
- ✓ Blazer VS et al. 2007: pesci di sesso maschile producono uova nel fiume Potomac (presenza di composti estrogenici)

I FARMACI POSSONO RAPPRESENTARE UN DANNO ECOLOGICO?

L' esposizione continua potrebbe causare:

- ✓ effetti sub-letali (ad esempio, il cambiamento neurocomportamentale), anche a livelli di ppb (microgrammi/L)
- ✓ inibizione di meccanismi difensivi acquatici
- ✓ l'esposizione a complesse miscele può porre numerose incognite connesse agli effetti additivi (cumulativo) e sinergici da esposizione multipla

IMPATTO ECOLOGICO DELLE SOSTANZE CHIMICHE PSEUDO-PERSISTENTI

- la maggior parte dei farmaci tendono ad avere emivita più brevi rispetto inquinanti convenzionali
- tuttavia, anche se in piccole quantità, farmaci vengono introdotti continuamente all'ambiente
- questo può rendere l'esposizione dei farmaci agli ecosistemi acquatici simile a quella da contaminanti convenzionali

IMPATTO ECOLOGICO DELLE SOSTANZE CHIMICHE PSEUDO-PERSISTENTI

Molti farmaci possono rappresentare un pericolo in organismi diversi dai loro target ed in ambienti diversi (es. punti di immissione o piccoli corpi idrici) con gravi conseguenze a livello ecosistemico

Queste sostanze resistono alla degradazione batterica naturale e al processo di trattamento dei liquami e permangono per lungo tempo, accumulandosi nell'ambiente, negli organismi (bioaccumulo) e lungo le catene alimentari nei processi di magnificazione biologica



COSA FARE?

Buone notizie...

Le sostanze chimiche con proprietà simili probabilmente risponderanno allo stesso modo ad un trattamento



Ma ...

La depurazione convenzionale è relativamente inefficace e il trattamento dell'acqua potabile è variabile



INFATTI....

Pharmaceuticals compounds	Molecules	Influent					n	Effluent					n	Removal rate (%)
		Means	RSD	Median	Min	Max		Means	RSD	Median	Min	Max		
Antibiotics	Clarithromycin	0.344					2	0.15					2	56.4
	Ciprofloxacin	0.62	1.48	0.157	0.09	5.524	13	0.234	0.649	0.021	0.007	2.378	13	62.3
	Doxycyclin	0.65	0.94	0.098	0.067	2.48	10	0.420	0.426	0.227	0.038	1.09	9	35.4
	Erythromycin	0.58	0.242	0.56	0.346	0.83	3	0.297	0.237	0.2305	0.109	0.62	4	48.8
	Erythromycin-H ₂ O	2.025					2	0.59					2	70.9
	Methronidazole	0.09					1	0.055					1	38.9
	Norfloxacin	0.115	0.056	0.0905	0.066	0.25	12	0.0526	0.0985	0.0195	0.007	0.33	10	54.3
	Ofloxacin	0.482	0.884	0.156	0.007	2.275	6	0.171	0.317	0.0485	0.007	0.816	6	64.5
	Roxithromycin	0.78	0.737	0.81	0.0272	1.5	3	0.472	0.435	0.54	0.008	0.87	3	39.5
	Sulfamethoxazole	0.32	0.248	0.2905	0.02	0.674	10	0.264	0.150	0.243	0.07	0.62	11	17.5
	Sulfapyridin	0.492					1	0.081					1	83.5
	Tetracyclin	48					1	2.375					2	95.1
	Trimethoprim	0.43	0.401	0.251	0.0535	1.3	15	0.424	0.363	0.32	0.04	1.34	17	1.4
	Antiepileptics	Carbamazepine	0.732	0.869	0.25	0.0819	1.68	6	0.774	0.789	0.37	0.042	2.1	13
4-Aminoantipyrine		1.517					1	0.676				1	55.4	
Antipyrin		0.04					1	0.027				1	32.5	
Codein		2.8605					2	1.93				2	32.5	
Diclofenac		1.039	1.283	0.232	0.16	3.1	6	0.679	0.701	0.55	0.04	2.448	11	34.6
Analgesics and anti-inflammatories	Ibuprofen	13.482	25.639	3.495	0.0143	22.7	10	3.480	1.489	0.56	0.03	12.6	17	74.2
	Indomethacine	0.136												
	Ketoprofen	0.483	0.286	0.441	0.146	0.94	5	0.333	0.148	0.34	0.125	0.63	9	31.1
	Ketorolac	0.407	0.407				1	0.228					1	44.0
	Naproxen	5.077	8.251	2.363	0.206	23.21	7	0.934	0.873	0.452	0.017	2.62	13	81.6
	Clofibrac acid	0.215	0.251	0.12	0.026	0.5	3	0.131	0.136	0.12	0.012	0.36	5	39.1
Lipid regulators	Fenofibrac acid	0.079					1	0.196	0.161	0.13	0.078	0.38	3	-148.1
	Bezafibrate	1.948	2.320	1.4205	0.05	4.9	4	0.763	0.963	0.13	0.035	2.2	5	60.8
	Gemfibrozil	1.562	1.704	0.71	0.453	3.525	3	0.757	1.068	0.323	0.0112	2.86	6	51.5
	Acetubolol	0.335												
	Atenolol	1.080	0.946	0.996	0.03	1.197	4	0.468	0.381	0.345	0.16	1.025	4	56.7
Betablockers	Celliprolol	0.44					1	0.28				1	36.4	
	Metoprolol	1.535	2.290	0.61	0.02	4.9	4	0.679	0.657	0.73	0.019	1.7	5	55.8
	Propanolol	0.198	0.269	0.005	0.036	0.51	3	0.102	0.0712	0.093	0.03	0.18	5	48.5
	Sotalol	1.667					2	0.79					2	52.6
Diuretics	Furosemide	0.413					1	0.166				1	59.8	
	Hydrochlorothiazide	2.514					1	1.176				1	53.2	
	Amidotrizoic acid	2.5					1	2.494				1	0.2	
	Diatrizoate	3.3					1	3.3				1	0.0	
	Iotalamic acid	1.8					1	1.820				1	-1.1	
Contrast media	Iopromide	9.205					2	2.014	1.40	2.63	0.411	3	3	78.1
	Iomeprol	6.05					2	1.606				2	73.5	
	Iohexol	6.7					2	2.706				2	59.6	
	Iopamidol	2.3					1	1.9				1	17.4	
Cosmetics	Galaxolide	4.281	5.01	2.031	0.79	10.02	3	1.019	0.243	1.08	0.751	1.225	3	76.2
	Tonalide	0.878					2	0.21				2	76.1	
Psycho-stimulants	Caffeine	56.634	52.769	52.424	3.69	118	4	1.771	3.620	0.64	0.174	12	10	96.9
	Paraxanthin	26.722					1	0.836				1	96.9	
Desinfectant	Triclosan	0.852	0.659	0.317	0.3	1.93	8	0.198	0.161	0.18	0.012	0.219	6	76.8
Antidepressants	Fluoxetin	5.85					1	0.112				2	98.1	
Plasticisers	Molecules													
	DEP	19.64	19.64	14.8	0.19	50.7	5	0.68	1.11	0.02	0.0002	2.58	5	96.5
	DBP	12.44	17.59	5.27	0.15	46.8	6	0.52	1.04	0.34	0.0005	2.38	5	95.8
	BBP	9.17	16.1	3	0.01	37.87	5	0.7	1.36	0.076	0.0003	3.13	5	92.4
Phthalates	DEHP	39.68	44.81	23.6	0.13	122	7	3.87	4.91	2.75	0.0016	14.2	8	90.2
	DMP	1.51	1.39	1.24	0.26	3.32	4	0.038	0.066	0.00019	0.00006	0.115	3	97.5
	DIBP	5.98	9.75	1.7	0.04	20.48	4	5.24				2	12.4	
	Bisphenol A	2.07	3.1	0.563	0.088	11.8	14	0.6	1.09	0.05	0.006	4.09	15	71.0



Tab.: Le concentrazioni di alcuni inquinanti emergenti (mg/L) in affluenti ed effluenti di impianti di trattamento delle acque reflue (Deblonde et al, 2011)

ECOTOSSICOLOGIA



Valuta gli effetti tossici degli agenti chimici e fisici sugli organismi viventi
I parametri osservati e misurati (endpoint: VITALI, COMPORTAMENTALI, BIOCHIMICI) nei differenti gruppi di organismi sono differenti a seconda dell'organismo test e consentono di stabilire quale tipo di relazione esista con concentrazione della sostanza di prova o del campione

PRINCIPI GENERALI

Misurare l'ecotossicità di campioni ambientali, tramite batterie di test che utilizzano una serie di organismi bersaglio, con lo scopo di verificare eventuali superamenti dei limiti imposti dalle norme di legge

Prevedere l'eventuale impatto del campione ambientale sull'ecosistema

Ricerca e rimuovere le eventuali cause di tossicità

VANTAGGI

Permettono valutazioni globali dell'impatto di tutti gli agenti inquinanti sull'ambiente naturale

Accertano e quantificano gli effetti tossici sugli organismi viventi, utilizzando specie indicatrici sensibili

Sono semplici, poco costosi e danno risposte facilmente comprensibili

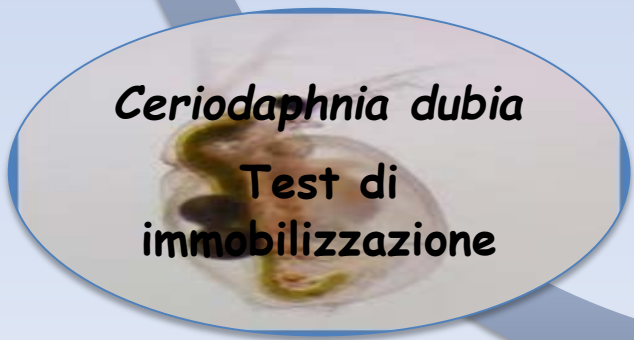
Sono condotti in laboratorio in condizioni controllate e standardizzate



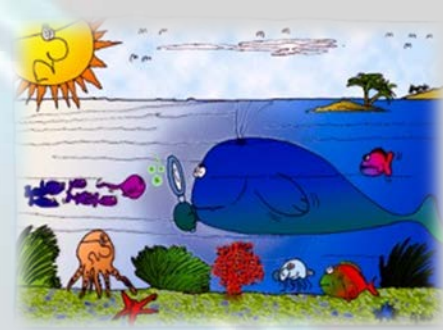
ECOTOSSICOLOGIA



ECOTOSSICOLOGIA
ACQUE DOLCI



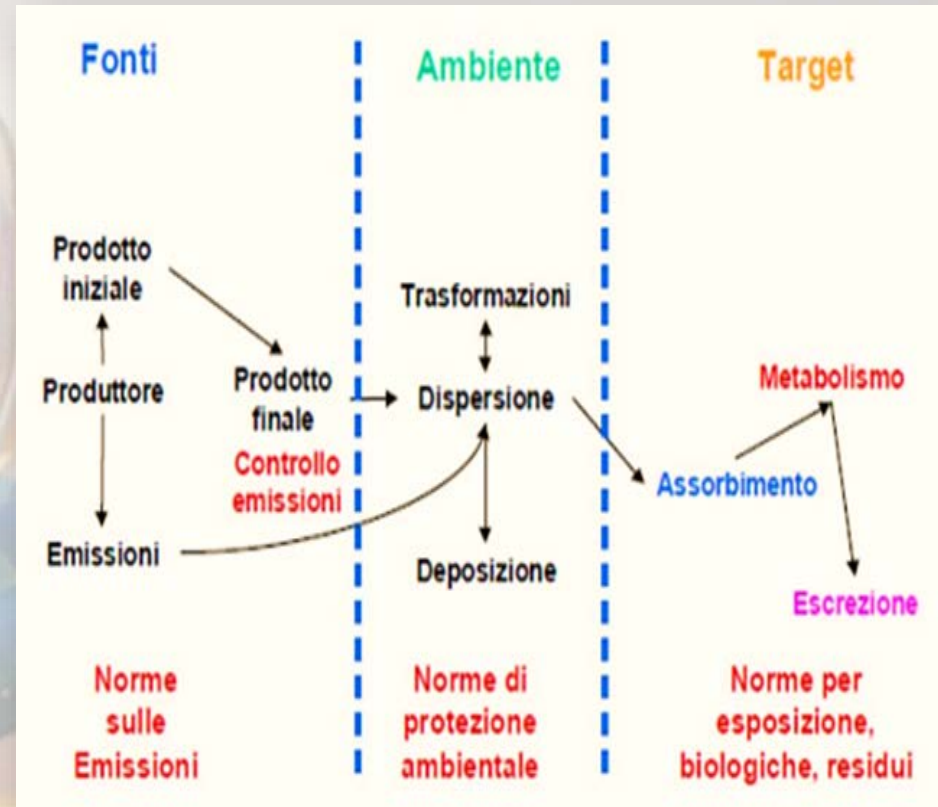
I SAGGI ECOTOSSICOLOGICI SI SONO MOSTRATI UN VALIDO STRUMENTO PER VALUTARE LA TOSSICITÀ DI SOSTANZE ORGANICHE ED INORGANICHE SUGLI ORGANISMI. SONO AMPIAMENTE UTILIZZATI ANCHE PER VALUTARE L'EFFICACIA DEI PROCESSI DI RISANAMENTO DELLE ACQUE REFLUE, DI SMALTIMENTO DEI RIFIUTI E PER REGOLAMENTARE LO SCARICO DI SOSTANZE NEI VARI COMPARTI AMBIENTALI



NORMATIVA

TRE CAMPI DI APPLICAZIONE

1. fonti
2. ambiente
3. effetti a livello di individuo, popolazione e comunità



Una delle funzioni principali dell'ecotossicologia è di **stabilire delle norme** che garantiscano che l'eventuale rilascio nell'ambiente di un composto non comporti nessun danno osservabile e irreversibile

QUADRO LEGISLATIVO

- ✓ **D. lgs 194** del 17 marzo 1995: prevede una **classificazione dei prodotti fitosanitari** basata anche sui risultati di test di tipo ecotossicologico
- ✓ **D. lgs 152** dell'11 maggio 1999 e successive modifiche e integrazioni: **tutela delle acque superficiali** sotterranee e marine dall'inquinamento



Recepisce:

- Direttiva 91/271/CE
- Direttiva 91/676/CE



Modifica e integra:

- R.D.1775
- L. 236/88
- L. 183/89
- L. 36/94 (Legge Galli)



Abroga:

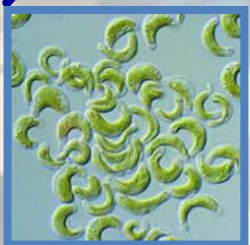
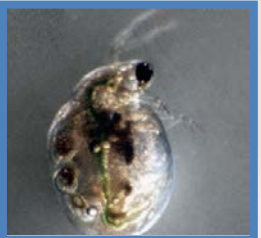
- L.319/76 (Legge Merli)
- L.650/81

- ✓ **Direttiva 2000/60/CE** (Direttiva Quadro sulle Acque) che ha i seguenti obiettivi: prevenire il deterioramento qualitativo e quantitativo, migliorare lo stato delle acque e assicurare un utilizzo sostenibile
- ✓ **DM 367/2003**: stabilisce **standard di qualità per l'ambiente** fondati su criteri ecotossicologici
- ✓ **Direttiva comunitaria 1907/2006 – regolamento REACH** *Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals* norma la circolazione delle sostanze chimiche all'interno della UE; istituisce inoltre un'Agenzia europea per le sostanze chimiche.

PERCHÉ L'ECOTOSSICOLOGIA?

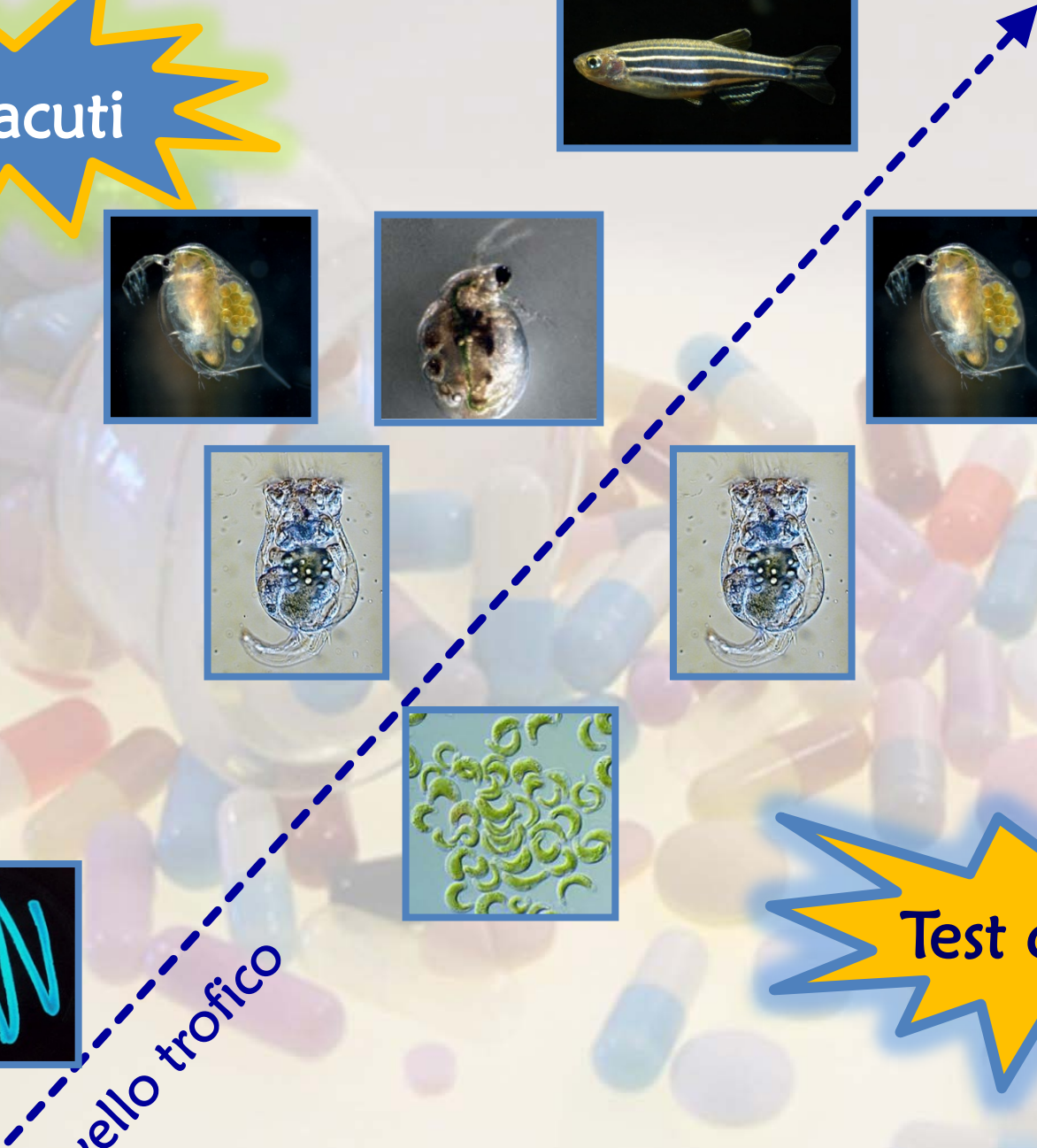
- valutare il livello (dose, concentrazione) che non produce effetti dannosi
- stimare la PNEC (Predicted No Effect Concentration)
- verificare la possibilità che le sostanze producano effetti tossici

Test acuti



Livello trofico

Test cronici



TECNOLOGIE DI TRATTAMENTO DELLE ACQUE

Tecniche altamente efficaci:

- ✓ Ossidazione avanzata rimuove molti composti
- ✓ La filtrazione a membrana e filtrazione con carbone attivo granulare
- ✓ Nano-filtrazione e osmosi inversa (eliminati tutti i farmaci)

Abbastanza efficaci:

- ✓ Ossidazione (es. ozono convenzionale) efficace nel trasformare farmaceutici selezionati

Tecniche meno efficaci :

- ✓ Disinfezione con cloro (più comune)

DEGRADAZIONE ED ELIMINAZIONE DI CONTAMINANTI AMBIENTALI

Il largo impiego di farmaci e l'utilizzo di prodotti di nuova sintesi hanno posto le basi per la sperimentazione di nuove metodologie analitiche volte al trattamento delle acque reflue per l'abbattimento dei pericoli e dei rischi per la salute umana. Sostanze ad uso alimentare (caffeina) e farmaci (vancomicina e diclofenac) sono tossici per la salute umana e possono dar luogo a fenomeni di bioaccumulo

I fenomeni di fotocatalisi in presenza di TiO_2 determinano mineralizzazione delle sostanze investigate a determinate concentrazioni sperimentali

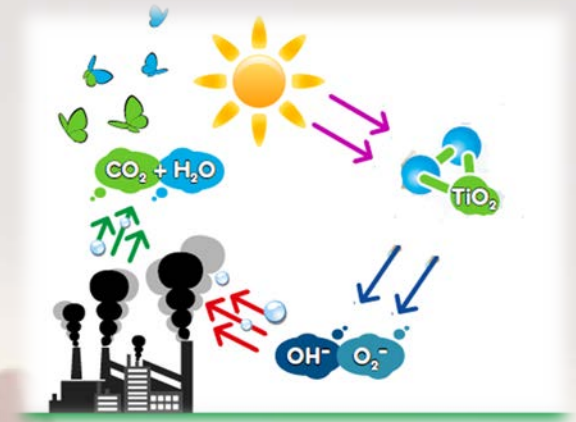


Analogamente gli ultrasuoni rappresentano una metodologia alternativa per il trattamento depurativo delle acque reflue

FOTOCATALISI

Processo di degradazione principalmente di natura ossidativa attuata da particolari “fotocatalizzatori” delle sostanze inquinanti e microbiche più diffuse nell’acqua. L’agente attivante delle reazioni è la luce solare o artificiale

Le reazioni di fotodegradazione avvengono in presenza di semiconduttori nanodimensionati: i fotocatalizzatori più diffusi sono a base di biossido di titanio TiO_2 policristallino

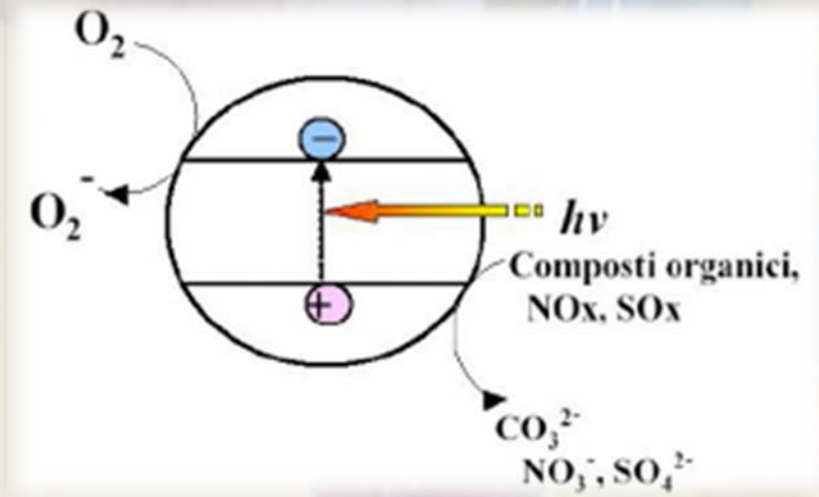


Le **sostanze inquinanti e tossiche**, vengono trasformate, attraverso il processo di fotocatalisi, in:

- nitrato di sodio (NaNO_3),
- carbonati di sodio (Na_2CO_3)
- calcare (CaCO_3),

innocui e misurabili in ppb (parti per miliardo)

Il risultato è una sensibile riduzione degli inquinanti tossici prodotti dalle automobili, dalle fabbriche, dal riscaldamento domestico e da altre fonti



Caratteristica del processo è il mantenimento da parte del biossido di titanio delle sue caratteristiche: il processo di fotocatalisi avviene senza che il supporto sia degradato, ed è garantita una efficacia continua e costante nel tempo. La molecola di TiO_2 infatti partecipa come catalizzatore, e non direttamente ai processi di trasformazione chimica

RIZZO L, MERIC S, GUIDA M, KASSINOS D, BELGIORNO V.
HETEROGENOUS PHOTOCATALYTIC DEGRADATION KINETICS AND DETOXIFICATION OF
AN URBAN WATSEWATER TREATMENT PLANT EFFLUENT CONTAMINATED WITH
PHARMACUTICALS *Water Res* 2009; 43 (16): 4070-8

La contaminazione ambientale da parte di composti farmaceutici rappresenta un rischio per la salute umana

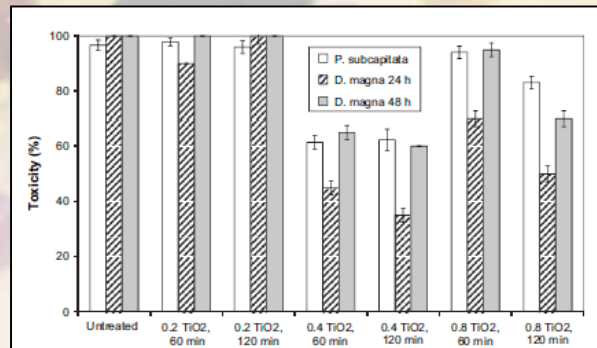
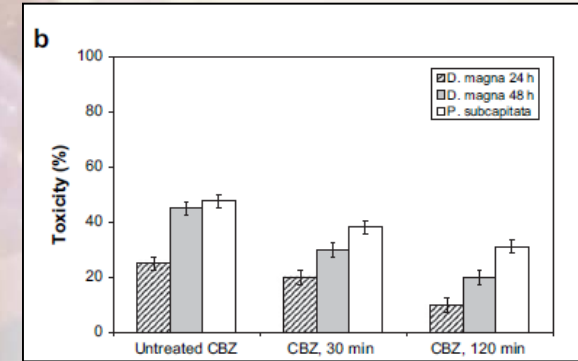
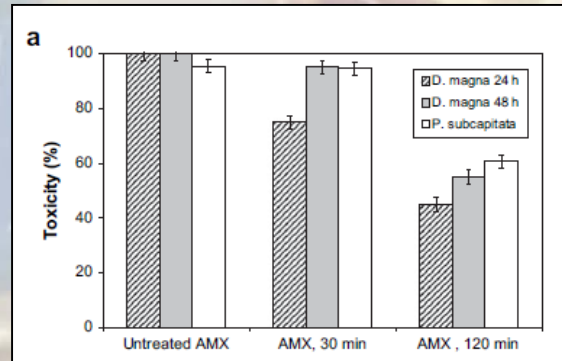
Viene valutata la capacità di degradazione di composti farmaceutici (Amoxicillina, Carbamazepina, Diclofenac) in acque reflue, tramite fotocatalisi in presenza di TiO_2 . La produzione di sottoprodotti metabolici e la loro tossicità è stata valutata utilizzando test ecotossicologici su *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Daphnia magna*

La quantità di composti aromatici degradati aumenta con il procedere del processo di fotocatalisi

L'efficacia dei processi degradativi è maggiore nel caso dell'amoxicillina

I test condotti su soluzioni acquose contaminate da una miscela dei tre composti farmaceutici hanno mostrato un rallentamento dell'intero processo degradativo

I campioni, all'inizio del processo di fotocatalisi risultano essere estremamente tossici per *D. magna*. Con il procedere del processo di fotocatalisi la tossicità tende a diminuire, a dimostrazione dell'efficienza della fotocatalisi nel processo di degradazione dei contaminanti



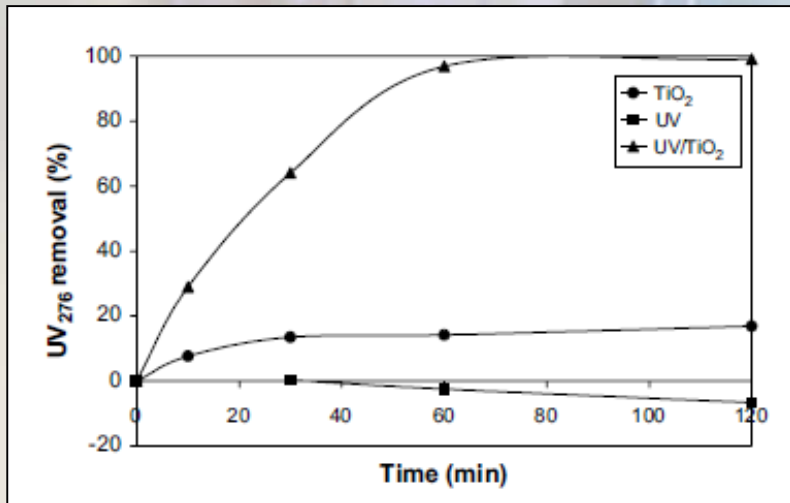
La miscela delle tre sostanze farmaceutiche fotocataliticamente trattate ha evidenziato una tossicità maggiore nei test con *D. magna*, rispetto ai risultati ottenuti dalle soluzioni dei singoli composti

L'efficienza del processo fotocatalitico varia a seconda del contaminante di partenza. Il processo può risultare rallentato se nel corso della degradazione si producono intermedi secondari ugualmente tossici.

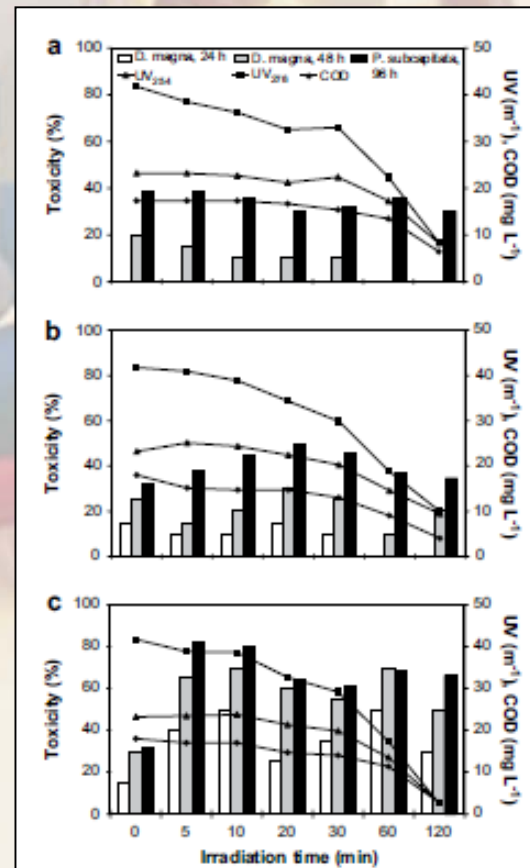
RIZZO L, MERIC E, KASSINOS D, GUIDA M, RUSSO F, BELGIORNO V.
**DEGRADATION OF DICLOFENAC BY TiO_2 PHOTOCATALYSIS: UV ABSORBANCE KINETICS
 AND PROCESS EVALUATION THROUGH A SET OF TOXICITY BIOASSAYS**
 Water Res 2009; 43(4):979-88

Il diclofenac è un antinfiammatorio non steroideo ampiamente utilizzato in campo medico ed è tra i farmaci più abbondanti nei comparti ambientali

È responsabile di fenomeni di bioaccumulo e di reazioni sinergiche con altri farmaci. La tossicità del diclofenac e l'efficacia dei processi di fotocatalisi sono stati analizzati mediante test ecotossicologici (*Daphnia magna*, *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Artemia salina*)



È stata dimostrata l'efficacia del processo di degradazione fotocatalitica in presenza di TiO_2 già dopo 15 minuti. La mineralizzazione aumenta con l'aumentare della concentrazione di TiO_2 o con l'aumento dei tempi di reazione (> luminosità)



I test condotti con *D. magna* hanno dimostrato un aumento di tossicità associato alla produzione di sottoprodotti metabolici più tossici del diclofenac

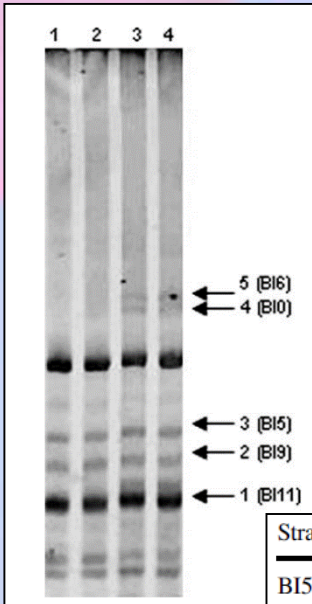
I saggi algali si sono mostrati più sensibili degli altri, mentre i test con *Artemia salina* non hanno mostrato sensibilità

L'analisi degli spettri di assorbimento UV si è rivelata uno strumento rapido ed immediato per il monitoraggio delle reazioni di fotocatalisi, per l'identificazione degli step degradativi e la produzione di prodotti tossici

DE FELICE B, ARGENZIANO C, GUIDA M, TRIFUOGGI M, RUSSO F, CONDORELLI V, INGLESE M
**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MICROBIAL POPULATION DYNAMICS DURING
 SILDENAFIL CITRATE DEGRADATION**
 Mol Biotechnol 2009; 41 (2): 123-32

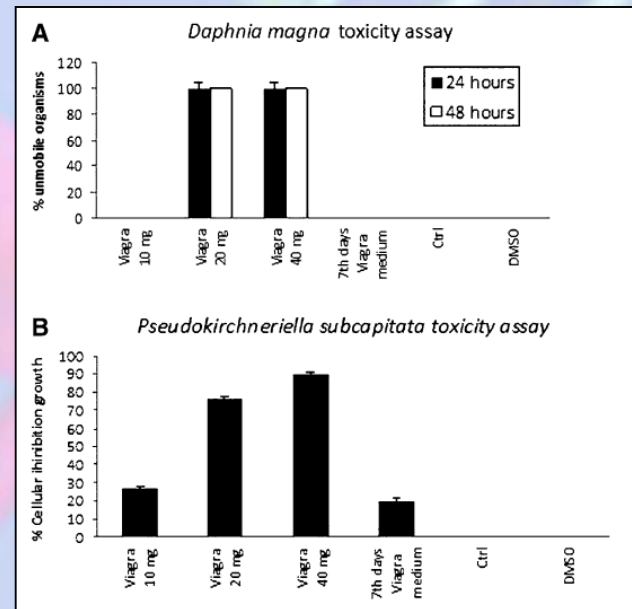
È ormai ampiamente dimostrato l'impatto negativo che farmaci ed altri prodotti per l'igiene personale hanno sull'ambiente e la salute umana. Molti composti, assunti dall'uomo, vengono secreti dall'organismo anche sotto forma di metaboliti secondari a tossicità maggiore dei composti di partenza. Attraverso le acque reflue si rinvergono nei vari comparti ambientali

Viene qui affrontato per la prima volta il problema associato all'elevato consumo di Viagra (sildenafil citrate), le cui immissioni hanno potenziali effetti tossici sull'ambiente. Vengono nello specifico valutati gli effetti tossici sulla comunità microbiche degli ecosistemi acquatici



A differenti giorni dalla contaminazione di campioni di acqua con viagra si assiste ad una modificazione del pool microbico acquatico. Alcune specie risultano fondamentali per i processi degradativi della molecola in questione e quindi tendono a persistere nel tempo

Strain number	Identification
BI5	Uncultured bacterium clone L3B_319
BI9	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain AAJ17
BI11	<i>Enterobacter hormaechei</i> strain TMPSB-T10
BI10	<i>Bacillus mycoides</i> strain L2S8
BI16	<i>Endophytic bacterium</i> CL16b
FI4	<i>Cf. Acremonium</i> sp.
FI12	<i>Fusarium proliferatum</i>
FI14	Uncultured <i>Fusarium</i> sp.

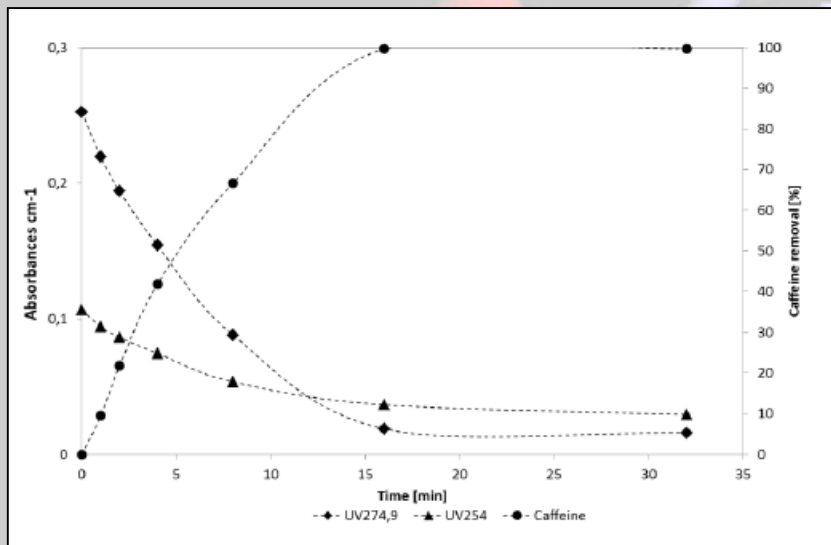


A differenti giorni dalla contaminazione di campioni di acqua i test con *D. magna* e *P. subcapitata* hanno evidenziato una riduzione della tossicità. Ciò dimostra la capacità degradative del consorzio microbico nei confronti del Viagra

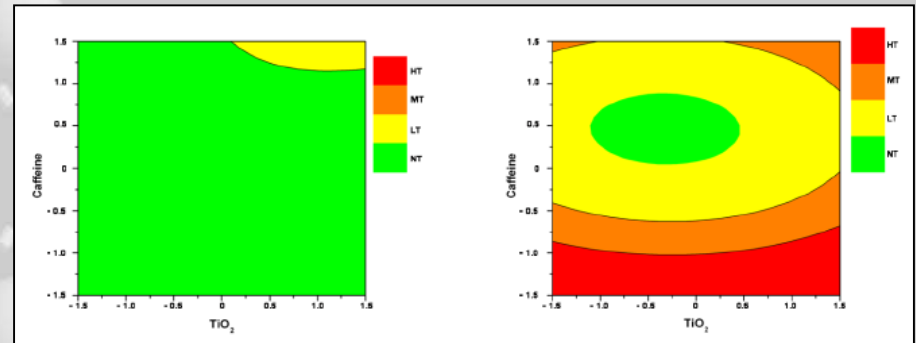
CAROTENUTO M, LOFRANO G, SICILIANO A, ALIBERTI F, GUIDA M
TiO₂ PHOTOCATALYTIC DEGRADATION OF CAFFEINE AND ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF OXIDATION BY-PRODUCTS
 Global NEST Journal 2014; 16 (3): 463-73

La caffeina è un componente molto diffuso in campo alimentare (caffè, cioccolata, tè), principio attivo di molti farmaci per le note capacità stimolanti e deterrente agricolo

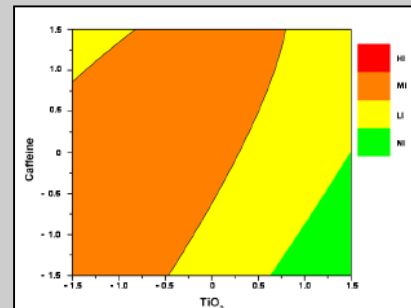
È stata ampiamente dimostrata la persistenza nelle matrici acqua e suolo a causa dell'elevata solubilità e della scarsa volatilità. Nell'uomo una dose pari a 5-10 g di caffeina può essere letale ed intossicazioni da caffeina possono essere osservate già a concentrazioni pari a 250 mg



Ad una concentrazione 5 mg/L di caffeina e 0,1 g/L di TiO₂ si ha una degradazione totale in 15 minuti. L'attività fotocatalitica è maggiore a concentrazioni elevate di TiO₂ e basse di caffeina. A concentrazioni elevate di entrambi i reagenti la reazione di degradazione procede molto lentamente



Nel test con *Daphnia magna* si osserva una bassa tossicità, dopo 24 ore, a concentrazioni elevate di caffeina e ridotte di TiO₂. Dopo 48 ore aumenta la tossicità a causa della produzione di metaboliti secondari



Nel test con *Pseudokirchneriella subcapitata* si evidenzia un'area di inibizione media in corrispondenza di basse concentrazioni di TiO₂ e alte di caffeina

LOFRANO G, CAROTENUTO M, UYGUNER-DEMIREL CS, VITAGLIANO A, SICILIANO A, GUIDA M
AN INTEGRATED CHEMICAL AND ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT FOR THE
PHOTOCATALYTIC DEGRADATION OF VANCOMYCIN

Environ Technol 2014; 35 (9-12): 1234-42

La vancomicina è uno degli antibiotici più utilizzati in campo farmaceutico e l'accumulo nei vari comparti ambientali rappresenta un rischio per la salute umana

Viene valutata la capacità di degradazione fotocatalitica della vancomicina in presenza di TiO_2 .

La tossicità dei metaboliti secondari formati durante la reazione viene valutata mediante test ecotossicologici (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Pseudokirchneriella subcapitata*).

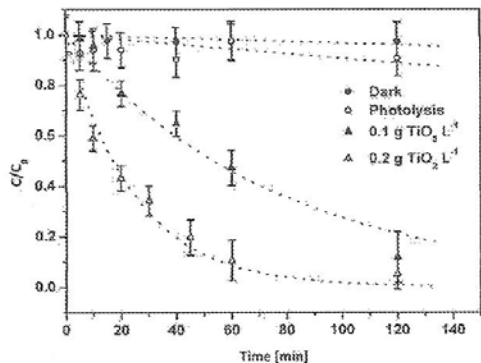


Figure 3. Photocatalytic degradation of VAN-B using 0.1 and 0.2 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$.

Le analisi spettrofotometriche hanno mostrato una velocità di degradazione maggiore a concentrazione di TiO_2 crescenti. È massima a 40' dall'inizio per poi mantenersi costante fino ai 120'

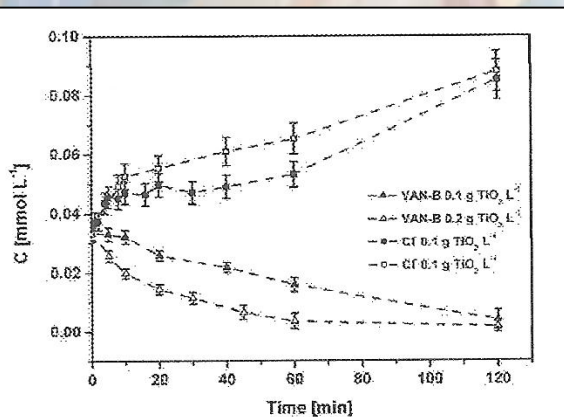


Figure 4. Chloride and VAN concentrations of untreated and treated solutions using 0.1 and 0.2 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$.

La concentrazione dei principali metaboliti secondari (Cloruro e Ammoniaca) aumenta durante la reazione in maniera proporzionale alla diminuzione di vancomicina

I test di tossicità condotti con *D. magna* e *C. dubia* hanno mostrato una tossicità elevata ad inizio reazione. I valori diminuiscono durante il processo di degradazione per poi aumentare a 120'. I valori di elevata tossicità sono da attribuire alla produzione di intermedi metabolici a tossicità superiore di quella della vancomicina. La produzione dei sottoprodotti tende ad essere maggiore in corrispondenza di elevati valori di TiO_2

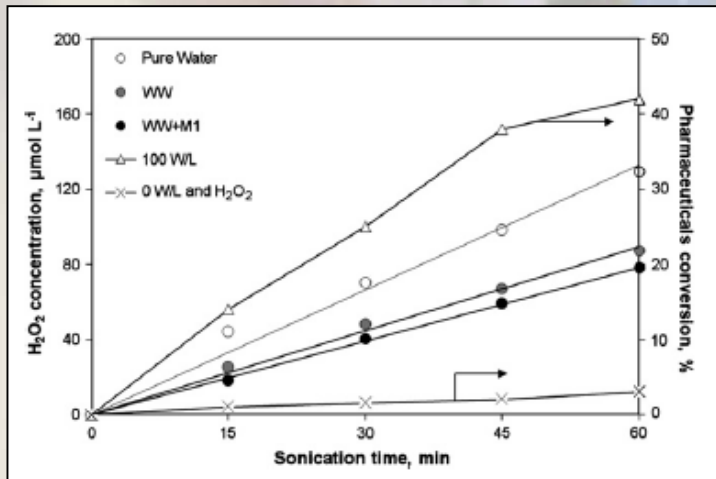
NADDEO V, MERIC S, KASSINOS D, BELGIORNO V, GUIDA M

FATE OF PHARMACEUTICALS IN CONTAMINATED URBAN WASTEWATER EFFLUENT UNDER ULTRASONIC IRRADIATION

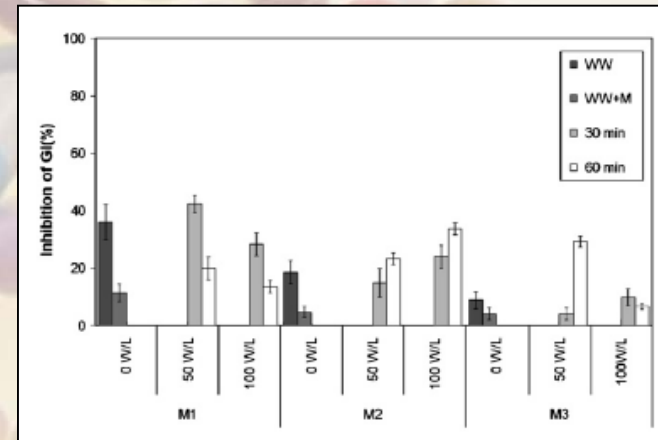
Water Res 2009; 43 (16): 4019-27

La sonolisi rappresenta una delle metodologie alternative per la depurazione delle acque reflue; è basata sulla scissione molecolare delle sostanze organiche generata dall'energia prodotta dagli ultrasuoni

Viene qui valutata l'efficienza del processo per la degradazione di composti farmaceutici (Diclofenac, Amoxicillina e Carbamezapina) e di acque reflue contaminate dalle stesse sostanze. Contemporaneamente si è valutata la produzione di radicali idrossilici, la riduzione di TOC e COD oltre che la biodegradabilità (rapporto BOD/COD). I test ecotossicologici con *Daphnia magna*, *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Lepidium sativum* sono stati utilizzati per una valutazione della tossicità iniziale e residua del processo



I risultati mostrano una percentuale di degradazione crescente con il procedere della reazione e una contemporanea produzione di perossido di idrogeno quale metabolita secondario



Le analisi condotte sulle miscele farmaceutiche, hanno evidenziato che il processo è reso più rapido in condizioni di pH acido.

La tossicità delle acque reflue prima e dopo la contaminazione con le sostanze farmaceutiche è predominante su *P. subcapitata*. Gli effetti sono meno pronunciati nei test con *D. magna*.

L'indice di germinazione in presenza del mix farmaceutico è stimolato; ciò può essere spiegato considerando che le dosi minime di farmaci rappresentano una fonte addizionale di nutrienti

PRINCIPALI RISULTATI OTTENUTI

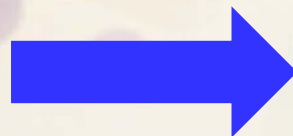
- L'efficacia dei processi degradativi in presenza di TiO_2 è elevata per l'amoxicillina. I campioni, all'inizio del processo di fotocatalisi risultano essere estremamente tossici per *D. magna*. Con il procedere del processo la tossicità tende a diminuire. Il processo può risultare rallentato se nel corso della degradazione si producono intermedi secondari ugualmente tossici
- L'analisi ecotossicologica dei processi di fotocatalisi in presenza di TiO_2 condotta con *D. magna* ha dimostrato un aumento di tossicità associato alla produzione di sottoprodotti metabolici più tossici del diclofenac. I saggi algali si sono mostrati più sensibili degli altri, mentre il test con *A. salina* non ha mostrato sensibilità
- A differenti giorni dalla contaminazione di campioni di acqua con viagra si assiste ad una modificazione del pool microbico acquatico. A differenti giorni dalla contaminazione di campioni di acqua I test con *D. magna* e *P. subcapitata* hanno evidenziato una riduzione della tossicità
- La degradazione fotocatalitica della caffeina è maggiore a concentrazioni elevate di TiO_2 . I test con *D. magna* hanno evidenziato una bassa tossicità, dopo 24 ore, a concentrazioni elevate di caffeina e ridotte di TiO_2 . Dopo 48 ore aumenta la tossicità a causa della produzione di metaboliti secondari
- La degradazione fotocatalitica della vancomicina, così come confermato dai test di tossicità condotti con *D. magna* e *C. dubia*, è associata ad un aumento della tossicità dopo 120 minuti dall'inizio della reazione. I valori di elevata tossicità sono da attribuire alla produzione di intermedi metabolici a tossicità superiore di quella della vancomicina
- Miscela farmaceutiche complesse (Diclofenac, Amoxicillina e Carbamezapina) hanno elevata tossicità su *P. subcapitata*. Gli effetti sono meno pronunciati nei test con *D. magna*. L'indice di germinazione in presenza del mix farmaceutico è stimolato

STIMA DEL RISCHIO

$$R = \frac{PEC}{PNEC}$$

- **PEC** (Predicted Environmental Concentration):
la concentrazione prevedibile della sostanza nell'ambiente, quindi l'**esposizione** dell'ambiente naturale alla sostanza
- **PNEC** (Predicted Non Effect Concentration): la più alta concentrazione della sostanza sicura per l'ambiente, quindi la **tossicità** della sostanza per l'ambiente

$R \geq 1$



**Rischio
ambientale**

CONCLUSIONI

- ✓ i dati derivati dagli esperimenti suggeriscono che vi sia una diversa sensibilità ai farmaci da parte dei bioindicatori testati
- ✓ l'uso di una batteria di saggi ecotossicologici è funzionale per valutare meglio e in modo più diretto l'entità del potenziale impatto
- ✓ i risultati relativi alla tossicità e la relativa stima del rischio suggeriscono che questi farmaci, anche nel range di concentrazioni ambientali più elevato, destano bassa preoccupazione. Ciò non esclude che questi possano avere effetti sinergici o additivi con altri farmaci presenti in ambiente o determinare un potenziale bioaccumulo, significativo per eventuali effetti a lungo termine

GRAZIE

