



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRENTO

Dipartimento di Ingegneria Civile Ambientale Meccanica

Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria per l'ambiente e il territorio

Rimozione di farmaci dai reflui:
trattamenti biologici a basso consumo energetico
ed impatto ambientale

Relatore
Prof.ssa Paola Foladori

Laureando
Giorgio Gallerani

Correlatori
Ing. Serena Petrini
Ing. Marco Palmitano

Anno Accademico 2016-2017

*« Noi non doviamo desiderare che la natura si accomodi
a quello che parrebbe meglio disposto et ordinato a noi,
ma conviene che noi accomodiamo l'intelletto nostro
a quello che ella ha fatto, sicuri tale esser l'ottimo
et non altro. »*

GALILEO GALILEI
Lettere copernicane, 1612-1615

A mia nonna Lucia.

Indice

1	Introduzione	1
1.1	I micro-inquinanti	2
1.2	Il destino dei farmaci	3
1.3	Normativa e Direttive Europee	4
1.4	Progetto <i>Pro Acqua</i>	5
1.4.1	I farmaci nei <i>CASTP</i> dell'Alto Adige	8
2	Stato dell'arte	11
2.1	Farmaci selezionati	12
2.1.1	Atenololo (ATE)	14
2.1.2	Bezafibrato (BZF)	15
2.1.3	Caffeina (CAF)	16
2.1.4	Carbamazepina (CBZ)	17
2.1.5	Diclofenac (DCF)	20
2.1.6	Ketoprofene (KET)	22
2.1.7	Ranitidina (RAN)	23
2.1.8	Salbutamolo (SAL)	24
2.2	Impatto ambientale	28
2.3	Fanghi attivi	31
2.3.1	Rimozione di DCF	31
2.3.2	Rimozione di CBZ	32
2.3.3	Rimozione degli altri farmaci	33
2.4	Filtrazione	34
2.5	Fitodepurazione	35
2.5.1	Rimozione di DCF	35
2.5.2	Rimozione di CBZ	36
2.5.3	Rimozione degli altri farmaci	37
2.6	Fotodegradazione	38
2.7	Tabelle riassuntive	40

2.7.1	Rimozione atenololo (ATE)	40
2.7.2	Rimozione bezafibrato (BZF)	43
2.7.3	Rimozione caffeina (CAF)	46
2.7.4	Rimozione carbamazepina (CBZ)	50
2.7.5	Rimozione diclofenac (DCF)	59
2.7.6	Rimozione ketoprofene (KET)	67
2.7.7	Rimozione ranitidina (RAN)	71
2.7.8	Rimozione salbutamolo (SAL)	72
2.8	Discussione	73
2.9	Indagine approfondita	78
2.9.1	Esperimenti con alghe unicellulari	78
2.9.2	Esperimenti di sola fotodegradazione	81
2.9.3	Test di eco-tossicità specifici	85
2.9.4	Discussione	89
3	Monitoraggio	93
3.1	La fitodepurazione	93
3.2	Impianti considerati	97
3.2.1	Impianto di Monticolo	97
3.2.2	Impianto di Verano	101
3.3	Materiali e metodi	103
3.3.1	Calcolo dei tempi di ritenzione idraulica (<i>HRT</i>)	103
3.3.2	Programmazione temporale dei campionamenti	105
3.3.3	Calcolo delle efficienze di rimozione dei farmaci	107
3.3.4	Analisi chimiche	107
3.3.5	Metodo d'indagine e strumentazione	108
3.4	Risultati della campagna	110
3.4.1	Dati rilevati	110
3.4.2	Elaborazione dati	115
3.4.3	Discussione sui risultati della campagna	119
4	Indagine sperimentale	129
4.1	Materiali e metodi	130
4.1.1	Scelta della biomassa	130
4.1.2	Scelta dei tempi e delle concentrazioni	132
4.1.3	Allestimento dei reattori	135
4.1.4	Farmaci impiegati	137
4.1.5	Strategia di campionamento	137

4.1.6	Metodologie analitiche	138
4.1.7	Analisi dei dati	139
4.2	Risultati	140
4.2.1	Test chimici	140
4.2.2	Concentrazioni dei farmaci e dei loro metaboliti	153
4.2.3	Elaborazione dati	155
4.3	Discussione	159
5	Discussione critica	161
5.1	Monitoraggio	161
5.1.1	Destino della carbamazepina e possibili percorsi degradativi . . .	163
5.1.2	Destino del diclofenac e possibili percorsi degradativi	165
5.2	Indagine sperimentale	167
5.3	Vie di degradazione	168
6	Conclusioni e prospettive future	171
	Appendice A	195
	Appendice B	211

Abbreviazioni e acronimi

4'-OH-DCF	4'-idrossidiclofenac
AnBW	<i>Anaerobically Treated Wastewater</i>
AP	<i>Anaerobic Pond</i>
APAT	Agenzia per la protezione dell'ambiente
APPA	Agenzia Provinciale Per l' Ambiente
ATE	Atenololo
BFR	<i>BioFilm Reactor</i>
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
BZF	Bezafibrato
CAF	Caffeina
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CASTP	<i>Conventional Activated Sludge Treatment Plant</i>
Cav.	Antonio José Cavanilles (botanico, 1745-1804)
CBZ	Carbamazepina
CBZ-G	Glucuronide della carbamazepina
CNR-IRSA	Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque
COD	<i>Chemical Oxygen Demand</i>
CW	<i>Constructed Wetland</i>
DCF	Diclofenac
DCF-G	Glucuronide del diclofenac
(de)nitr.	Refluo sottoposto a nitrificazione e denitrificazione
DH-KET	Diidro-ketopofene
DHDH-CBZ	10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina
DHDH-CBZ-G	Glucuronide della 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina
DO	<i>Dissolved Oxygen</i>
DOC	<i>Dissolved Organic Carbon</i>
EC	<i>Effective Concentration</i>
EDR	<i>ElectroDialysis Reversal</i>
EEA	<i>European Environment Agency</i>
EP-CBZ	10,11-diidro-10,11-epossicarbamazepina
EQS	<i>Environmental Quality Standard</i>
ErC	<i>Effective reduction [of growth rate] Concentration</i>
FBR	<i>Fixed-Bed Reactor</i>
FP	<i>Facultative Pond</i>
FS-CW	<i>Free Surface Constructed Wetland</i>

GAC	<i>Granular Activated Carbon</i>
HRAP	<i>High Rate Algal Pond</i>
HRT	<i>Hydraulic Retention Time</i>
HSSF	<i>Horizontal Sub-Superficial Flow</i>
KET	Ketoprofene
ISPRA	Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
lampada UV HP	Lampada a luce ultravioletta ad alta pressione
lampada UV LP	Lampada a luce ultravioletta a bassa pressione
lampada UV MP	Lampada a luce ultravioletta a media pressione
LC	<i>Lethal Concentration</i>
LOD	<i>Limit Of Detection</i>
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i>
LOQ	<i>Limit Of Quantification</i>
MBR	<i>Membrane BioReactor</i>
MF	Microfiltrazione
MP	<i>Maturation Pond</i>
n/d	non disponibile
NAS	<i>Nitrifying Activated Sludge</i>
NF	Nanofiltrazione
NOEC	<i>No-Observed Effect Concentration</i>
NSAID	<i>Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug</i>
PAC	<i>Powdered Activated Carbon</i>
PFASs	<i>Per- and Poly-Fluoroalkyl Substances</i>
PNEC	<i>Predicted No-Effect Concentration</i>
PPCP	<i>Pharmaceuticals and Personal Care Product</i>
RAN	Ranitidina
RO	<i>Reverse Osmosis</i>
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i>
SAL	Salbutamolo
SF-CW	<i>Superficial Flow Constructed Wetland</i>
sp. / spp.	specie
SRT	<i>Sludge Retention Time</i>
SSF-CW	<i>Sub-Superficial Flow Constructed Wetland</i>
SST	Solidi Sospesi Totali
SWM	<i>Shallow Water Mesocosm</i>
TKN	<i>Total Kjeldahl Nitrogen</i>
TOC	<i>Total Organic Carbon</i>
UF	Ultrafiltrazione
UHPLC-MS/MS	<i>Ultra High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry</i>
UV	Ultravioletto
VSSF	<i>Vertical Sub-Superficial Flow</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
WWTP	<i>Wastewater Treatment Plant</i>

Elenco dei simboli

Simbolo usato	Analisi dimensionale	Significato
$[x]$	$[M L^{-3}]$	concentrazione della sostanza x
$[x]_0$	$[M L^{-3}]$	concentrazione iniziale della sostanza x
$[x]_{M,chl}$	$[M L^{-3}]$	concentrazione del farmaco x presente nella soluzione "madre" allestita per l'esperimento con l'inoculo puro
$[x]_{M,mix}$	$[M L^{-3}]$	concentrazione del farmaco x presente nella soluzione "madre" allestita per l'esperimento con il mix alghe-batteri
BOD_5	$[M L^{-3}]$	domanda biochimica di ossigeno dopo 5 giorni
C_{fin}	$[M L^{-3}]$	concentrazione finale del composto
C_{iniz}	$[M L^{-3}]$	concentrazione iniziale del composto
COD	$[M L^{-3}]$	domanda chimica di ossigeno
EC_{50}	$[M L^{-3}]$	concentrazione efficace sul 50% degli individui
ErC_{50}	$[M L^{-3}]$	concentrazione che induce una riduzione della crescita sul 50% degli individui
HRT	$[T]$	tempo di ritenzione idraulica
HRT_{TOT}	$[T]$	tempo di ritenzione idraulica in tutto il comparto di fitodepuraz.
K_{OW}	$[-]$	costante di ripartizione ottanolo-acqua
LC_{50}	$[M L^{-3}]$	concentrazione letale per il 50% degli individui
$NOEC$	$[M L^{-3}]$	concentrazione per la quale non si osserva alcun effetto
M	$[M n^{-1}]$	massa molare
n	$[n L^{-3}]$	molarità
PE	$[AE]$	popolazione equivalente (in abitanti equivalenti)
P-orto	$[M L^{-3}]$	fosforo ortofosfato
$PNEC$	$[M L^{-3}]$	concentraz. per la quale ci si aspetta di non osservare alcun effetto
p	$[-]$	P -value, ossia il risultato del test di significatività (T -Test)
pK_a	$[-]$	costante di dissociazione acida (opposto del suo \log_{10})
Q_{IN}	$[L^3 T^{-1}]$	portata volumetrica entrante
\bar{Q}_{OUT}	$[L^3 T^{-1}]$	portata volumetrica media uscente da una vasca (fitodepurazione)
R	$[-]$	efficienza di rimozione
S	$[L^2]$	superficie dello specchio d'acqua (lagunaggio)
SST	$[M L^{-3}]$	concentrazione dei solidi sospesi totali
$t_{1/2}$	$[-]$	half-life time
TKN	$[M L^{-3}]$	concentrazione dell'azoto totale secondo Kjeldahl
TOC	$[M L^{-3}]$	carbonio organico totale
V	$[L^3]$	volume

V_a	$[L^3]$	volume d'acqua coinvolto nel flusso attivo (fitodepurazione)
V_V	$[L^3]$	volume di una vasca (fitodepurazione)
\bar{x}		media aritmetica di x
$\Delta[x]_M$	$[-]$	concentrazione normalizzata del farmaco x contenuto nelle soluzioni "madre"
$\Delta R_{x; (i+5), i}$	$[-]$	differenza di rimozione tra il reattore $i + 5$ ed il reattore i contenenti entrambi il farmaco x
λ	$[L]$	lunghezza d'onda
σ	$[T^3 I^2 M^{-1} L^{-3}]$	conducibilità elettrica specifica
σ_x		scarto quadratico medio (o deviazione standard) di x

Capitolo 1

Introduzione

Il presente lavoro si propone come indagine preliminare riguardo la presenza e la possibile rimozione di alcuni micro-inquinanti dalle acque reflue civili.

L'emergente problema dei micro-inquinanti, primi fra tutti i farmaci, è una tematica che non è attualmente affrontata da alcuna normativa e per la quale non si dispone ancora di tecnologie e trattamenti progettati ad hoc.

L'interesse per la tematica nasce dai risultati del progetto *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016). Dallo studio è emersa la presenza di farmaci in quantità non indifferenti ed è stato mostrato come gli impianti di fitodepurazione siano molto efficienti nel rimuovere la maggior parte dei composti analizzati. Le rimozioni rilevate sono in media superiori a quelle degli impianti di depurazione a fanghi attivi.

È stata dunque condotta una ricerca sullo stato dell'arte nella rimozione di 8 farmaci dai reflui civili. L'attenzione è stata focalizzata principalmente su carbamazepina e diclofenac, poiché molto indagati in letteratura a causa delle interazioni che possono avere con i rispettivi metaboliti. L'intento è quello di confermare i risultati di *Pro Acqua*.

Sono stati analizzati in maniera approfondita alcuni sistemi di fitodepurazione già indagati con *Pro Acqua*. L'indagine ha avuto luogo con un monitoraggio di dieci giorni con lo scopo di capire l'entità e le possibili cause della rimozione dei farmaci in ogni comparto della filiera di trattamento.

A causa dei vari processi che possono concorrere nell'abbattimento dei farmaci durante la fitodepurazione, si è condotto uno studio pratico focalizzato su una specifica via di degradazione biologica di carbamazepina e diclofenac, ossia il ruolo coperto da microalghe e batteri. Sono stati realizzati dei reattori pilota per studiare gli effetti di *Chlorella vulgaris* e di un mix composto di alghe e batteri. L'obiettivo degli esperimenti è stato quello di quantificare la capacità di rimozione dei due farmaci e valutare eventuali differenze tra le efficienze delle due configurazioni.

L'obiettivo generale è quello di comprendere il destino dei farmaci all'interno dei sistemi di depurazione, focalizzando l'attenzione sulla fitodepurazione ed in particolare sulla rimozione da parte di microalghe e batteri, contribuendo così alla conoscenza dei meccanismi di rimozione biologica dei farmaci.

1.1 I micro-inquinanti

I micro-inquinanti sono sostanze di natura organica e minerale che possono avere effetti negativi sugli esseri viventi a causa della loro tossicità e della persistenza nell'ambiente. All'interno di questa categoria rientrano numerosi composti naturali e di sintesi come pesticidi, idrocarburi, detersivi, cosmetici, ormoni, interferenti endocrini, farmaci e prodotti per la cura della persona (spesso identificati dall'acronimo *PPCPs* - *Pharmaceuticals and Personal Care Products*).

Gli impianti di trattamento dei reflui civili attualmente in opera sono progettati principalmente con il fine di limitare l'apporto di sostanze nutritive (azoto e fosforo) ai corpi idrici recettori ed evitare così i naturali processi di eutrofizzazione. Solamente alcuni micro-inquinanti sono trattenuti dagli impianti di depurazione e una minima parte di essi viene degradata. La rimanenza viene restituita ai corpi idrici, oppure si concentra all'interno dei fanghi.

Tra tutte le sostanze micro-inquinanti quelle prodotte dalle industrie farmaceutiche sono specificamente ideate per interagire a livello biochimico con l'organismo umano, e con quello animale nel caso dei medicinali veterinari. Talvolta però si sono riscontrati effetti anche su specie ittiche e avifauna, rivelando quindi che questi composti costituiscono una reale e grave minaccia per gli ecosistemi se non adeguatamente smaltiti.

Inoltre, complice la progressiva diminuzione dei prezzi dei farmaci, negli ultimi decenni il consumo pro capite dei cittadini europei è aumentato in ogni Paese (OECD/EU, 2014) facendo così diventare questo aspetto una tematica che richiede ancor più attenzione.

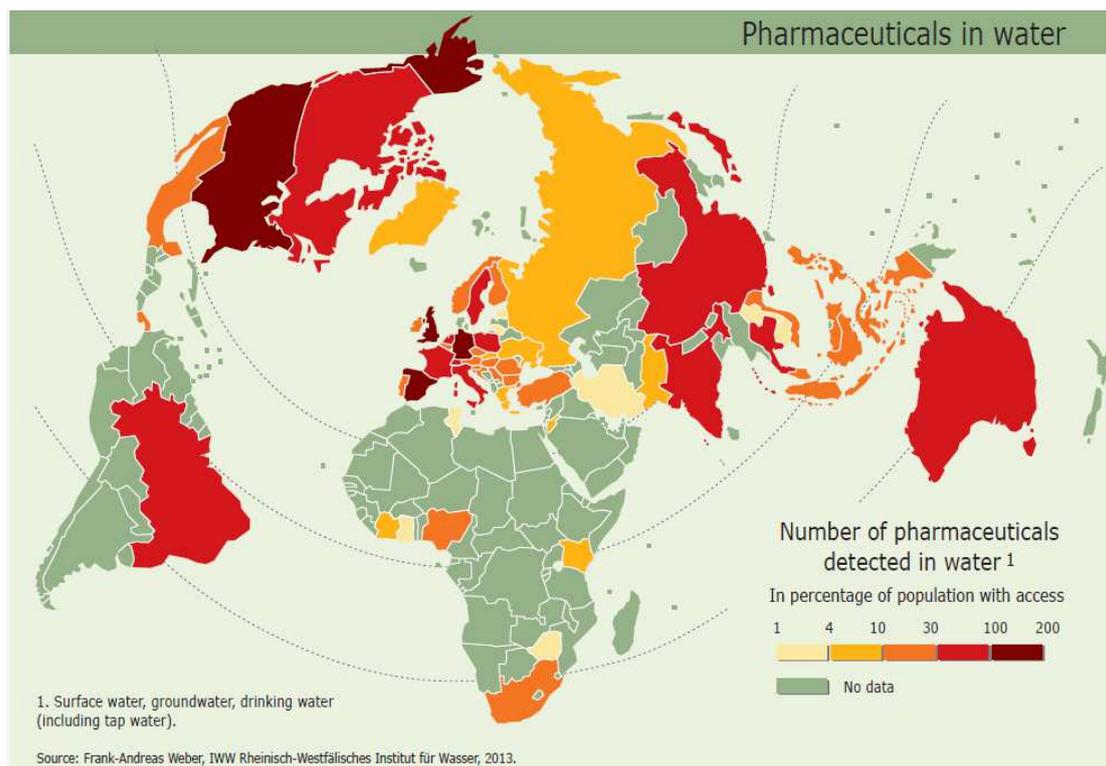


Figura 1.1: una stima della distribuzione dei farmaci rilevati nei corpi idrici di vari Stati del mondo (tratto da Velkravrh et al., 2015)

1.2 Il destino dei farmaci

Soltanto un'esigua percentuale dei principi attivi viene metabolizzata ed entra nel flusso sanguigno; la restante parte è escreta tale e quale (si stima che negli ospedali l'aliquota media di farmaci non metabolizzati ammonti a circa il 70% del totale somministrato; Adamczak et al., 2012). Alle emissioni provenienti da questi *hotspot* si devono anche aggiungere quelle provenienti dagli scarichi delle utenze domestiche, dove viene consumata un'ampia gamma di farmaci ed interferenti endocrini, il 50% dei quali vengono scaricati direttamente in fognatura piuttosto che essere recapitati alle farmacie (Vollmer, 2010). Non da ultimi, anche i farmaci somministrati al bestiame concorrono (soprattutto in modo diretto tramite le deiezioni durante il pascolo) all'immissione di principi attivi e metaboliti in ambiente. In figura 1.1 è mostrata la distribuzione dei farmaci rilevati nelle acque di vari Stati del mondo.

Con i tradizionali sistemi di depurazione viene abbattuto soltanto il 20% del carico totale di farmaci in arrivo (Velkravrh et al., 2015); l'80% è disperso all'interno dei corpi idrici recettori. Sebbene alcuni composti vengano successivamente degradati biologicamente o fotodegradati, la maggior parte si accumula all'interno di organismi acquatici e vegetali e, attraverso i meccanismi di magnificazione biologica che avvengono all'interno delle reti trofiche, si può giungere ad alti livelli di concentrazione anche in esseri viventi.

ti che non siano entrati in contatto diretto con le acque contaminate. L'essere umano è l'anello che chiude questo ciclo, vedendosi recettore finale degli stessi farmaci scaricati nell'ambiente.

Il primo studio sul contenuto di farmaci nelle acque risale al 1976 (Hignite e Azarnoff, 1977) con il rilevamento di acido acetil salicilico nelle acque di scarico di un impianto di depurazione a Kansas City (Missouri). Si dovranno attendere gli anni '90 per i primi monitoraggi sistematici.

Le concentrazioni attualmente presenti nelle acque superficiali e sotterranee, nonché nei suoli, non sono sufficientemente alte da costituire una minaccia immediata agli ecosistemi: le concentrazioni sono dell'ordine dei nanogrammi. Tuttavia l'accumulo biologico potrà costituire un problema nei decenni a venire; la ricerca scientifica, spinta da politiche comunitarie che virano verso pratiche sempre più sostenibili, sta cercando delle soluzioni al problema per diminuire così il carico di questo tipo di micro-inquinanti tramite sistemi ingegnerizzati.

1.3 Normativa e Direttive Europee

La normativa italiana non contiene indicazioni sulla presenza di farmaci nelle acque o nei suoli. A livello europeo invece l'Annesso II della Direttiva 2008/105/EC riporta una lista di 33 sostanze micro-inquinanti da monitorare affinché siano rispettati dei limiti di concentrazione (*EQS - Environmental Quality Standard*); nella lista non sono però presenti farmaci destinati all'uso umano.

Nell'ultimo decennio è stato fatto qualche passo avanti ed i *PPCP* sono stati categorizzati come "contaminanti emergenti" (*ECs - Emerging Contaminants*). Quest'espressione si riferisce a varie categorie di composti: antibatterici, dolcificanti artificiali, droghe d'abuso, nanomateriali, ormoni, perclorati, pesticidi, ritardanti di fiamma, i *PPCP*, sostanze per- e poli-fluoroalchiliche (*PFASs - Per- and Poly-fluoroalkyl Substances*), sottoprodotti della disinfezione e tossine algali (Richardson e Kimura, 2017).

Di seguito si riportano le proposte e le delibere del Consiglio Europeo riguardo alcune di queste nuove sostanze inquinanti:

Proposta di emendamento delle Direttive 2000/60/EC e 2008/105/EC ¹ Viene proposta una Direttiva per introdurre 15 nuove sostanze alla lista di micro-inquinanti da monitorare con i rispettivi *EQS*. Tra queste vi sono tre principi attivi di comune utilizzo: il

¹Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy (Text with EEA relevance); gennaio e dicembre 2012, Bruxelles.

diclofenac (un anti-infiammatori non-steroidale), il 17- β -estradiolo (un estrogeno biologicamente attivo) ed il 17- α -etinilestradiolo (contenuto nelle pillole anticoncezionali). La scelta di questi tre composti si deve alle importanti interferenze che hanno avuto a livello ambientale, in particolare la moria degli avvoltoi in India e la femminilizzazione di alcune specie ittiche (Sumpter, 2010).

La maggioranza delle Delegazioni degli Stati Membri si oppone all'inclusione dei nuovi composti e la Presidenza propone come compromesso l'obbligo di monitorare comunque le nuove sostanze all'interno delle acque di fiumi e torrenti, senza però fissare dei limiti di concentrazione da rispettare.

Direttiva 2013/39/EU² I tre principi attivi sono inseriti nell'Art. 8b della Direttiva Comunitaria, che riporta l'elenco delle sostanze da monitorare denominato *Watch List*. Lo scopo è quello di raccogliere dati e facilitare così la determinazione di misure appropriate per far fronte ai rischi ambientali che possono porre queste sostanze.

Per avere un indicatore della rilevanza di questa tematica si può prendere come riferimento la quantità di principio attivo di diclofenac consumato a scala globale, stimato in 940 t/y (Zhang et al., 2008). Benché possa essere degradato, il carico micro-inquinante cui sono sottoposti gli ecosistemi acquatici è certamente rilevante.

1.4 Progetto *Pro Acqua*

Gli impianti di depurazione presenti in Provincia di Bolzano (figura 1.2) scaricano nei corsi d'acqua i reflui trattati. Tutto il territorio provinciale fa parte del bacino imbrifero drenante nell'Adige (ad esclusione di alcune piccole porzioni di versanti che convogliano le acque nel Danubio e nel Piave), il quale sfocia in un'area del Mare Adriatico nord-occidentale classificata come sensibile.³

Ecoresearch s.r.l. è un laboratorio di analisi che opera sul territorio altoatesino ed annovera progetti di ricerca ambientale su scala nazionale ed internazionale, in particolare nello studio dei micro-inquinanti organici e inorganici. Tra il 2012 ed il 2015 il Ecoresearch, in collaborazione con l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri e l'Università degli Studi di Padova, ha condotto una campagna di raccolta dati (Ecoresearch et al., 2016) presso vari impianti di depurazione dei reflui civili siti in provincia di Bolzano. Il progetto, denominato *Pro Acqua* e cofinanziato dall'Unione Europea, si è focalizzato

²Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy (Text with EEA relevance); agosto 2013, Bruxelles.

³Decreto Legislativo 11 maggio 1999, n. 152.

sul rilevamento di una ventina di farmaci ed altri xenobiotici nelle acque in ingresso e in uscita da vari depuratori: la maggior parte impianti convenzionali a fanghi attivi (32 in totale, con dimensionamento da 500 *AE* a 374 000 *AE*) e 3 impianti a fitodepurazione (100 *AE* – 1000 *AE*).

In generale per alcune sostanze di comune utilizzo si sono osservati abbattimenti ottimi (e.g. la caffeina ha presentato quasi sempre rimozioni superiori al 99%), mentre in altri casi si sono registrati abbattimenti quasi nulli (e.g. il diclofenac) se non addirittura degli aumenti di concentrazione (come nel caso della carbamazepina che ha aumentato la sua concentrazione anche del 30% - 50%).

Nel caso della fitodepurazione, quando confrontata con gli impianti a fanghi attivi, si è notata una rimozione molto superiore di alcuni farmaci (e.g. diclofenac), mentre altri si sono confermati altamente recalcitranti (e.g. carbamazepina). Si è quindi proposto uno studio mirato su un insieme ristretto dei farmaci indagati, per capire grazie a quali meccanismi la fitodepurazione ne garantisca una rimozione così elevata; inoltre si sono cercati i motivi della mancata degradazione della carbamazepina, riscontrata con entrambi i sistemi di depurazione.

Per quanto riguarda la fitodepurazione si sono registrate concentrazioni in ingresso con ordini di grandezza paragonabili a quelli degli impianti più capienti. Le notevoli oscillazioni attorno alla media si riconducono al ridotto numero di abitazioni servite: la qualità delle acque in arrivo all'impianto è più soggetta alle abitudini dei singoli individui. Giacché le sostanze analizzate vengono largamente utilizzate anche al di fuori dell'ambiente ospedaliero, la presenza di strutture come cliniche ed ospedali non ha influito sulla concentrazione dei vari farmaci nei reflui. A conferma di ciò in ingresso ai depuratori la maggior parte di essi presentava concentrazioni molto simili a quelle rilevate in uscita dagli ospedali (Ecoresearch et al., 2016). Nonostante i campionamenti in uscita dagli ospedali ed in ingresso ai relativi depuratori non fossero stati eseguiti lo stesso giorno, si può comunque assumere una buona correlazione tra i dati grazie alla grandezza dei bacini d'utenza serviti.

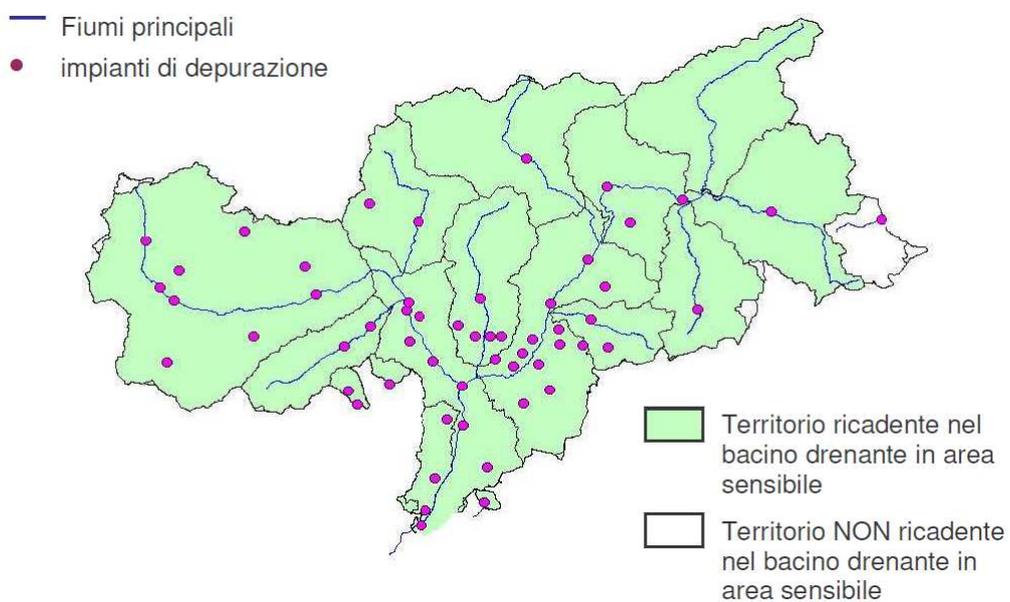


Figura 1.2: impianti di depurazione dei reflui civili presenti in Alto Adige (APPA-BZ, 2004)

1.4.1 I farmaci nei CASTP dell'Alto Adige

La popolazione equivalente servita dai depuratori in Provincia di Bolzano è molto variabile e di conseguenza lo è anche la complessità degli impianti. Lo stadio di ossidazione biologica dei fanghi però è sempre presente (eccezion fatta per gli impianti di fitodepurazione). Nel corso della campagna *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016) sono state campionate le acque in ingresso e in uscita da vari impianti e sono state eseguite delle analisi sulle concentrazioni dei farmaci presenti, di seguito riportate (tabelle 1.1, 1.2 e 1.3). Nelle tabelle il simbolo ”-” indica che il composto non è stato cercato; ”NF” indica che il composto non è stato trovato (poiché inferiore al *LOD*), i valori negativi indicano un aumento della concentrazione del composto, mentre il numero degli *AE* degli impianti è tratto da Eco center S.p.A. (2017).

Per ogni farmaco si sono riportate solamente le percentuali rimosse; per le concentrazioni misurate in ingresso e in uscita si veda Ecoresearch et al. (2016).

Data	Impianto di Bolzano (374 000 AE)			
	3.3.2015	3.3.2015	23.3.2015	11.5.2015
Atenololo	80,2%	68,5%	81,2%	75,6%
Bezafibrato	86,4%	86,3%	87,0%	84,3%
Caffeina	99,9%	99,9%	99,8%	99,7%
Carbamazepina	-29,5%	12,7%	-54,8%	-159,3%
Epossicarbamazepina	-	-	-	-54,8%
Diclofenac	-10,0%	1,3%	4,6%	-65,2%
4'-idrossidiclofenac	-	-	-	-50,9%
Ketoprofene	96,8%	95,4%	95,9%	88,8%

Tabella 1.1: percentuali di rimozione dei farmaci presso il depuratore di Bolzano

Data	Merano (360 000 AE)		Bronzolo (280 000 AE)	
	3.3.2015	23.3.2015	3.3.2015	23.3.2015
Atenololo	70,9%	71,4%	65,0%	61,9%
Bezafibrato	82,9%	72,7%	88,9%	89,1%
Caffeina	99,9%	99,9%	99,4%	99,7%
Carbamazepina	-53,6%	-47,3%	37,0%	-37,0%
Epossicarbamazepina	-	-	-	-
Diclofenac	2,7%	-3,9%	32,7%	34,8%
4'-idrossidiclofenac	-	-	-	-
Ketoprofene	94,6%	97,1%	94,4%	94,1%

Tabella 1.2: percentuali di rimozione dei farmaci presso i depuratori di Merano e Bronzolo

Data	Termeno (138 000 AE)		Luson (2400 AE)
	3.3.2015	23.3.2015	19.8.2015
Atenololo	11,6%	39,0%	80,1%
Bezafibrato	36,7%	68,0%	NF
Caffeina	99,9%	99,9%	-
Carbamazepina	2,2%	-34,6%	-863,5%
Epossicarbamazepina	-	-	-
Diclofenac	2,8%	33,6%	95,0%
4'-idrossidiclofenac	-	-	-
Ketoprofene	71,6%	91,0%	79,2%

Tabella 1.3: percentuali di rimozione dei farmaci presso i depuratori di Termeno e Luson

Data	Avigna (500 AE)		Valas (500 AE)	
	11.5.2015	5.11.2015	8.5.2015	11.11.2015
Atenololo	96,9%	96,9%	91,3%	92,5%
Bezafibrato	NF	NF	-	NF
Caffeina	99,5%	-	-	-
Carbamazepina	-53,8%	-80,0%	-	NF
Epossicarbamazepina	-	-	-	-
Diclofenac	88,0%	88,0%	84,0%	95,2%
4'-idrossidiclofenac	-	-	-	-
Ketoprofene	90,9%	90,9%	26,4%	99,5%

Tabella 1.4: percentuali di rimozione dei farmaci presso i depuratori di Avigna e Valas

Capitolo 2

Stato dell'arte

Si è condotta una ricerca bibliografica ad ampio spettro che riguardasse tutti i metodi di depurazione conosciuti (compresi quelli a scala di laboratorio) per la rimozione di prodotti farmaceutici. Sono stati considerati gli articoli che trattano la rimozione di alcuni farmaci specifici, ossia quelli che saranno oggetto di studio anche della Campagna di analisi riportata in questa tesi: atenololo (ATE), bezafibrato (BZF), caffeina (CAF), carbamazepina (CBZ), diclofenac (DCF), ketoprofene (KET), ranitidina (RAN) e salbutamolo (SAL).

Dopo un elenco delle principali proprietà chimico-fisiche di queste molecole e una breve considerazione sull'impatto ambientale, si riporta di seguito una sintesi delle informazioni raccolte durante la ricerca bibliografica, operando una suddivisione tematica per ogni tecnologia depurativa indagata dagli autori; è stata dedicata una sezione apposita ai farmaci che presentino studi particolarmente approfonditi.

L'obiettivo ideale della depurazione delle acque dai farmaci è la loro totale mineralizzazione o quanto meno una rimozione meccanica (e.g. per adesione ai fanghi). Un'altra via di rimozione (solo apparente) è la conversione della molecola di partenza in metaboliti o altri prodotti di trasformazione; questo processo però non corrisponde sempre ad una diminuzione dell'impatto ambientale del farmaco, come ad esempio il metabolita del diclofenac, 4'-OH-DCF, che ha un'elevata tossicità. Negli articoli di seguito citati gli autori hanno spesso considerato solamente la rimozione del composto parentale (la molecola di partenza). La mancata indagine sulla rimozione dei metaboliti o la conversione in altri prodotti è dovuta alla complessità di questa tematica, peraltro molto attuale, ed ai costi delle analisi di laboratorio; è un aspetto però molto importante e non va sottovalutato.

2.1 Farmaci selezionati

Dal punto di vista chimico i farmaci, contrariamente ad altre categorie di composti, non possono essere considerati come appartenenti ad un medesimo gruppo. Le differenze sono molteplici in quanto a struttura (presenza di gruppi amminici e anelli aromatici, anche legati in catene policicliche), peso molecolare ed elementi presenti in aggiunta a C, O, H (e.g. azoto, cloro e zolfo) a seconda del meccanismo d'azione all'interno del corpo umano. Di conseguenza sono molteplici anche i meccanismi di rimozione che possono avvenire, specialmente a livello biochimico.

La scelta dei farmaci da indagare è ricaduta in primo luogo sulla carbamazepina, per via delle ambiguità mostrate in *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016), e sul diclofenac; sempre dal progetto *Pro Acqua* è emerso che viene rimosso molto bene con la fitodepurazione ma inefficacemente negli impianti a fanghi attivi. Si è inoltre indagata la presenza di atenololo, bezafibrato, caffeina, ketoprofene, ranitidina e salbutamolo, poiché spesso presenti in concentrazioni elevate. Si è quantificata anche la presenza di alcuni metaboliti: due per la carbamazepina e uno per il diclofenac. Infatti quando si ingerisce un farmaco (o quando si applica una pomata) i principi attivi contenuti, dopo essere stati assorbiti dall'organismo, vengono in parte escreti tali e quali, mentre una certa aliquota viene metabolizzata. I metaboliti possono essere molto simili alla molecola parentale (degli altri composti -come OH- si legano ad essa) oppure possono costituire uno stadio intermedio della sua biodegradazione (Zwiener e Frimmel, 2003). Queste nuove sostanze possono interagire in maniera differente con gli altri composti presenti nel refluo e non si possono escludere loro interazioni con la molecola di partenza o con altri metaboliti.

Si elencano di seguito le proprietà dei composti analizzati e alcuni parametri di ecotossicità:

- EC_{50} : la concentrazione di sostanza che nel 50% degli individui produce un effetto diverso dalla morte per un determinato intervallo temporale;
- ErC_{50} , dove l'effetto in questione è la riduzione del tasso di crescita;
- LC_{50} : la concentrazione che si rivela letale per il 50% degli individui dopo un certo periodo di esposizione;
- $NOEC$: la concentrazione per la quale non si osserva alcun effetto durante tutto il periodo di esposizione;
- $PNEC$: la concentrazione sotto la quale ci si aspetta che la sostanza in questione non sortisca alcun effetto.

Tra le varie caratteristiche fisico-chimiche di seguito elencate per ogni farmaco il coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$) è forse la più importante. Con esso si può risalire all'idrofilicità o idrofobicità di ogni composto e presumere se sarà maggiormente presente nell'acqua depurata o nei fanghi in uscita dall'impianto, rispettivamente. Un altro parametro notevole è la costante di dissociazione acida (pK_a): quando il sistema presenta $pH = pK_a$, il 50% del composto presente in soluzione sarà in forma ionizzata mentre la rimanenza sarà presente in forma non ionizzata. In alcuni casi le molecole parentali e i metaboliti possono avere differenti gruppi funzionali ionizzabili e dovranno quindi essere valutati vari valori di pK_a . Questo valore è importante, poiché in base ad esso il pH del refluo inciderà sulla sua disponibilità per gli organismi biologici, sulla reattività chimico-fisica, quindi sul suo destino in ambiente (Cunningham, 2004). La costante di dissociazione acida implica delle conseguenze sulla ripartizione ottanolo-acqua: anche con alti valori di $\log K_{OW}$ le specie ionizzate tendono a restare prevalentemente disciolte nella fase acquosa, complicando così le valutazioni al riguardo.

Qualora presenti, infine, si sono specificate anche le varie indicazioni di pericolo nei confronti dell'ambiente, i.e. inquinamento e tossicità per flora e fauna ittica.

2.1.1 Atenololo (ATE)

Appartiene al gruppo dei beta-bloccanti (usati nel campo delle malattie cardiovascolari). In particolare è utilizzato per prevenire le aritmie e la tachicardia, agendo da antipertensivo (WHO, 2015).

La struttura prevalentemente lineare di questo alcole presenta un anello aromatico (figura 2.3(a)); in tabella 2.1 se ne elencano le principali caratteristiche chimico-fisiche. Si nota come il composto sia altamente idrofilo (basso valore di $\log K_{OW}$), con un'alta solubilità in acqua.

Nr. CAS	29122-68-7
Nome IUPAC	2-[4-[2-idrossi-3-(propan-2-ylamino)propossi]fenil]-acetammide
Nomi alternativi più utilizzati	Atehexal Blokium Normiten Tenormin
Formula molecolare	$C_{14}H_{22}N_2O_3$
Massa molare (M)	266,34 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	9,6
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	0,16
Solubilità in acqua	13 300 mg/l a 25 °C

Tabella 2.1: principali caratteristiche chimico-fisiche dell'atenololo (NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016):

- $EC_{50}(72 h) = 620 \text{ mg/l}$ e $NOEC(96 h) = 10 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 313 \text{ mg/l}$ e $NOEC(21 d) = 1,48 \text{ mg/l}$ entrambi su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) > 100 \text{ mg/l}$ su pesci, con effetti cronici a concentrazioni $> 3,2 \text{ mg/l}$
- $PNEC = 148 \text{ } \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.

2.1.2 Bezafibrato (BZF)

È un farmaco antilipemico usato per il trattamento dell'ipercolesterolemia (diminuisce la concentrazione dei lipidi nel sangue), quando la dieta e l'attività fisica non portano ad un'adeguata risposta da parte dell'organismo. In seguito alla somministrazione per via orale è quasi totalmente assorbito dall'organismo (NCBI, 2016).

In figura 2.3(b) ne è riportata la struttura molecolare, contenente due anelli aromatici, mentre in tabella 2.2 se ne elencano le principali caratteristiche chimico-fisiche. Si sottolinea che il composto è idrofobico.

Nr. CAS	41859-67-0
Nome IUPAC	acido 2-[4-[2-[(4-clorobenzoil)ammino]etil]fenossi]-2-metilpropanoico
Nomi alternativi più utilizzati	Befizal Bezalip Cedur Difaterol
Formula molecolare	$C_{19}H_{20}ClNO_4$
Massa molare (M)	361,82 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	3,83
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	4,25
Solubilità in acqua	> 54300 mg/l

Tabella 2.2: principali caratteristiche chimico-fisiche del bezafibrato (DrugBank, 2017; NCBI, 2016; TOXNET, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016):

- $EC_{50}(72 h) = 1,36 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 240 \text{ mg/l}$ su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) > 1,2 \text{ mg/l}$ su pesci, con effetti cronici a concentrazioni $> 3,2 \text{ mg/l}$
- $PNEC = 1,2 \text{ } \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.

2.1.3 Caffaina (CAF)

La caffeina (alcaloide metilxantinico, figura 2.3(c)) è una sostanza stimolante del sistema nervoso centrale, del muscolo cardiaco e della diuresi. È naturalmente contenuta in varie piante originarie del Sud America e dell'Asia orientale e presente nei prodotti da esse ricavati. In concentrazioni opportune viene utilizzata in campo medico, soprattutto sotto forma di caffeina citrato per le cure neonatali (WHO, 2015). In tabella 2.3 se ne riportano alcune caratteristiche chimico-fisiche: la molecola è di tipo non ionico in acqua e estremamente idrofila.

In Italia la caffeina è regolarmente assunta dalla maggior parte della popolazione e, dato che l'essere umano ne è l'unico consumatore, può essere usata come indicatore demografico (nelle acque reflue non trattate) e come tracciante della contaminazione antropica di acque superficiali e sotterranee (Bazzoli et al., 2005). In seguito all'assunzione la molecola viene escreta con le urine quasi totalmente metabolizzata (solamente l'1% è costituito dalla molecola pura); nel caso di somministrazione a neonati (uso medico) circa l'86% della caffeina escreta è nella sua forma non metabolizzata (NCBI, 2016).

Nr. CAS	58-08-2
Nome IUPAC	1,3,7-trimetilpurina-2,6-dione
Nomi alternativi più utilizzati	1,3,7-trimetilxantina Guaranina Mateina Teina
Formula molecolare	$C_8H_{10}N_4O_2$
Massa molare (M)	194,19 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	14,0 a 25 °C
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	-0,07
Solubilità in acqua	21 600 mg/l a 25 °C

Tabella 2.3: principali caratteristiche chimico-fisiche della caffeina (NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Carl Roth GmbH, 2016):

- $ErC_{50}(72 h) > 100 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 182 \text{ mg/l}$ su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 87 \text{ mg/l}$ su *Leuciscus idus*;
- $PNEC = 87 \text{ } \mu\text{g/l}$ in acque dolci sul breve termine;
- indicazioni di pericolo per l'ambiente: H412 (nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata) (NCBI, 2016).

2.1.4 Carbamazepina (CBZ)

È un farmaco antiepilettico indicato per trattare disturbi bipolari e dolori di origine neurologica. La CBZ è presente anche in molti analgesici di uso comune e compare nella lista dei farmaci essenziali per un sistema sanitario di base (WHO, 2015).

La struttura tricyclica non ionica (figura 2.3(d)) rende questa molecola molto stabile e resistente alla degradazione. In tabella 2.4 se ne elencano le principali caratteristiche chimico-fisiche: il valore di $\log K_{OW}$ relativamente basso indica che il composto non è idrofobico e si può quindi trovare in maggiori concentrazioni nel liquido piuttosto che adsorbito ai fanghi di depurazione.

Nr. CAS	298-46-4
Nome IUPAC	benzo[b][1]benzazepine-11-carbossammide
Nomi alternativi più utilizzati	5H-dibenzo[b,f]azepin-5-carbossammide Carbamazepen Carbazepina Tegretol
Formula molecolare	$C_{15}H_{12}N_2O$
Massa molare (M)	236,27 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	13,9
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	2,45
Solubilità in acqua	18 mg/l a 25 °C

Tabella 2.4: principali caratteristiche chimico-fisiche della carbamazepina (TOXNET, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016):

- $EC_{50}(72 h) = 89,1 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 97,8 \text{ mg/l}$ e $NOEC(21 d) > 100 \text{ mg/l}$ entrambi su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 19,9 \text{ mg/l}$ su pesci;
- $PNEC = 19,9 \text{ } \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.

2.1.4.1 Metaboliti della carbamazepina

Per meglio comprendere il destino della carbamazepina all'interno degli impianti di depurazione, si è studiata la presenza di due suoi metaboliti umani. Nell'urina umana e di ratto sono stati trovati in totale 33 metaboliti di carbamazepina (Lertratanangkoon e Horning, 1982). Tra quelli presenti in maggior quantità vi sono la 10,11-diidro-10,11-epossicarbamazepina e la 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina (Zhang et al., 2008). Soltanto l'1% del principio attivo viene escreto in forma invariata con le urine (Plósz et al., 2012) e anche se lo si somma alla quantità contenuta nelle feci umane, non si supera in media il 30% della quantità totale di CBZ e derivati. In figura 2.1 sono riportate le percentuali dei principali metaboliti riscontrate nelle urine e nelle feci umane; a seguire è illustrata la struttura molecolare dei due metaboliti considerati (figura 2.4(e) e 2.4(f)).

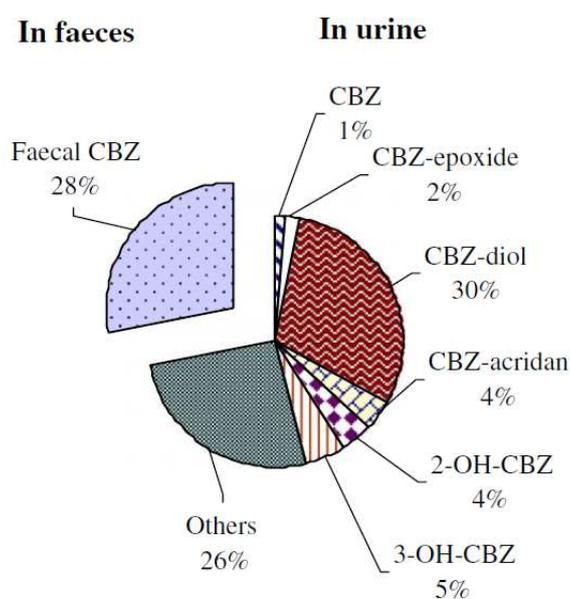


Figura 2.1: principali metaboliti della carbamazepina presenti rispettivamente nell'urina e nelle feci umane; «CBZ-diol» si riferisce alla 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina, mentre «CBZ-epoxide» è la 10,11-diidro-10,11-eossicarbamazepina (tratto da Zhang et al., 2008)

10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina (DHDH-CBZ) È il metabolita della carbamazepina che si trova in maggior concentrazione nelle urine umane (circa 30%); in tabella 2.5 si elencano alcune delle sue caratteristiche e la nomenclatura più utilizzata.

Nome IUPAC	5,6-diidrossi-5,6-diidrobenzo[b][1]benzazepine-11-carbossamide
Nomi alternativi più utilizzati	10,11-diidrossicarbamazepina Carbamazepina 10,11-diolo CBZ-diolo Diidrossicarbamazepina
Formula molecolare	$C_{15}H_{14}N_2O_3$
Massa molare (M)	270,29 g/mol

Tabella 2.5: principali caratteristiche chimico-fisiche di DHDH-CBZ (TOXNET, 2016)

10,11-diidro-10,11-eossicarbamazepina (EP-CBZ) La EP-CBZ è un metabolita umano della carbamazepina escreto con le urine. Nonostante sia presente in media per il 2%, assieme a DHDH-CBZ è il metabolita più importante di questo farmaco (Reith et al., 2000) per i suoi *pathway* degradativi. In tabella 2.6 se ne elencano alcune caratteristiche chimico-fisiche.

Nome IUPAC	n/d
Nomi alternativi più utilizzati	10,11-eossicarbamazepina Carbamazepina 10,11-eossido CBZ-eossido Eossicarbamazepina
Formula molecolare	$C_{15}H_{12}N_2O_2$
Massa molare (M)	252,27 g/mol

Tabella 2.6: principali caratteristiche chimico-fisiche di EP-CBZ (TOXNET, 2016)

2.1.5 Diclofenac (DCF)

Appartiene alla categoria dei farmaci antiinfiammatori non steroidei (*NSAIDs - Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*) e svolge un'azione antipiretica ed analgesica. Viene usato in ambito ospedaliero per trattare le artriti reumatoidi e le osteoartriti; il suo consumo più frequente è però quello domestico, come farmaco di automedicazione (in gel per uso topico o compresse orali). Nel 2015 in Italia ha registrato una spesa totale di 149,5 milioni di Euro, la più alta tra i principi attivi di automedicazione (AIFA, 2016).

Quando assunto il DCF va incontro ad una trasformazione pressoché totale all'interno del corpo umano. Nel caso del formato in gel topico l'assorbimento è del 6% - 7% (Davies e Anderson, 1997), mentre la restante parte viene dilavata o asportata per sfregamento. La dose contenuta nelle compresse orali invece viene metabolizzata ed escreta per il 65% - 70% con le urine e la rimanenza tramite le feci (Davies e Anderson, 1997; Stierlin e Faigle, 1979).

In figura 2.4(g) e in tabella 2.7 si riportano le principali caratteristiche della molecola di diclofenac.

Nr. CAS	15307-86-5
Nome IUPAC	acido 2-[2-(2,6-dicloroanilino)fenil]acetico
Nomi alternativi più utilizzati	Diclofenac potassium Diclofenac sodium Diclofenacum Voltaren
Formula molecolare	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$
Massa molare (M)	296,15 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	4,15
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	4,51
Solubilità in acqua	2,37 mg/l a 25 °C

Tabella 2.7: principali caratteristiche chimico-fisiche del diclofenac (NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016)::

- $EC_{50}(72 h) = 71,9 \text{ mg/l}$ e $NOEC(96 h) = 10 \text{ mg/l}$ entrambi su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 80,1 \text{ mg/l}$ e $NOEC(21 d) = 10 \text{ mg/l}$ entrambi su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 0,63 \text{ mg/l}$ su pesci;
- $PNEC = 0,63 \text{ } \mu\text{g/l}$

- indicazioni di pericolo per l'ambiente: H411 (tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata) (NCBI, 2016).

2.1.5.1 4'-idrossidiclofenac (4'-OH-DCF)

Circa il 10% - 30% dell'aliquota di DCF contenuta nelle urine è composto dal 4'-idrossidiclofenac (il suo metabolita principale) (NCBI, 2016), mentre il 6% è in media costituito dalla molecola parentale (Plósz et al., 2012).

In figura 2.2 sono riportate le percentuali dei principali metaboliti riscontrate nelle urine e nelle feci umane. A seguire in tabella 2.8 si elencano alcune caratteristiche di 4'-OH-DCF e se ne illustra infine la struttura molecolare (figura 2.4(h)).

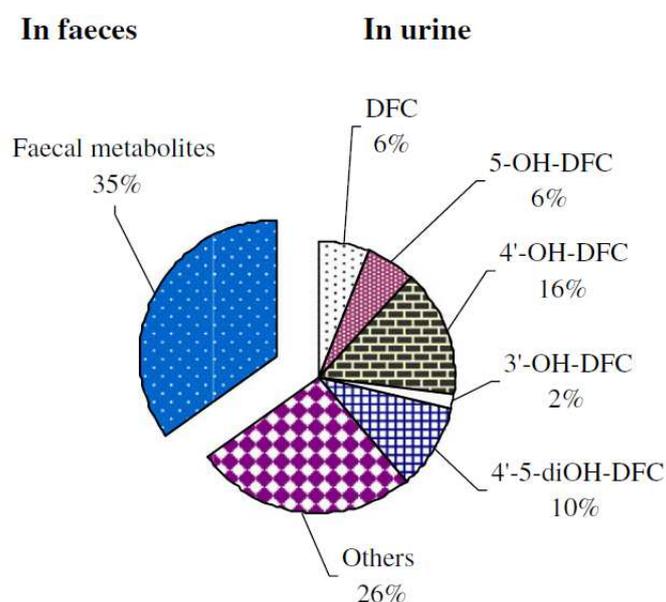


Figura 2.2: i principali metaboliti del diclofenac presenti rispettivamente nell'urina e nelle feci umane (tratto da Zhang et al., 2008)

Nome IUPAC	acido 2-[2-(2,6-dicloro-4-idrossianilino)fenil]acetico
Nomi alternativi più utilizzati	4-idrossi diclofenac 4'-OHD acido (o-(2,6-dicloro-4-idrossianilino)fenil)acetico acido benzeneacetico, 2-((2,6-dicloro-4-idrossifenil)ammino)
Formula molecolare	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₃
Massa molare (M)	312,15 g/mol

Tabella 2.8: principali caratteristiche chimico-fisiche di 4'-OH-DCF (NCBI, 2016)

Indicazioni di pericolo per l'ambiente (NCBI, 2016):

- H400 (molto tossico per gli organismi acquatici);
- H410 (molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata).

2.1.6 Ketoprofene (KET)

È un farmaco antiinfiammatorio analgesico ed antipiretico, molto simile all'ibuprofene. Il ketoprofene (figura 2.5(i)) appartiene alla categoria dei farmaci antiinfiammatori non steroidei (*NSAIDs*) ed è utilizzato anche per trattare l'artrite reumatoide e l'osteoartrite, nonché i dolori postoperatori e post partum. La tabella 2.9 riassume alcune informazioni relative a questa molecola.

Nr. CAS	22071-15-4
Nome IUPAC	acido 2-(3-benzoilfenil)propanoico
Nomi alternativi più utilizzati	2-(3-benzoilfenil)propionico Acido benzoil-idratropico Alrheumat Profenid
Formula molecolare	$C_{16}H_{14}O_3$
Massa molare (M)	254,29 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	4,45
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	3,12
Solubilità in acqua	51 mg/l a 22 °C

Tabella 2.9: principali caratteristiche chimico-fisiche del ketoprofene (NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016)::

- $EC_{50}(72 h) = 179,46 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 16,65 \text{ mg/l}$ su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 2,04 \text{ mg/l}$ su pesci;
- $PNEC = 2,04 \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.

2.1.7 Ranitidina (RAN)

La ranitidina è usata per trattare le ulcere gastrointestinali (WHO, 2015) inibendo la secrezione di acidi dalle pareti dello stomaco. In figura 2.5(j) e in tabella 2.10 si mostrano rispettivamente la struttura molecolare e le caratteristiche principali del composto.

Nr. CAS	66357-35-5
Nome IUPAC	(E)-1-N'-[2-[[5-[(dimetilammino)metil]furan-2-il]metil-sulfanil]etil]-1-N-metil-2-nitroetene-1,1-diammina
Nomi alternativi più utilizzati	Gastrosedol Ptinolin Rantacid Zantac
Formula molecolare	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₃ S
Massa molare (M)	314,40 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK _a)	8,08
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua (log K _{OW})	0,27
Solubilità in acqua	24 700 mg/l

Tabella 2.10: principali caratteristiche chimico-fisiche della ranitidina (DrugBank, 2017 ; NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016):

- $EC_{50}(72 h) = 99,05 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) > 100 \text{ mg/l}$ su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 449,36 \text{ mg/l}$ su pesci;
- $PNEC = 99,05 \text{ } \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.

2.1.8 Salbutamolo (SAL)

Questo farmaco è usato soprattutto per la cura dell'asma bronchiale ed altri disordini broncopulmonari ostruttivi cronici. È inoltre elencato come medicinale essenziale per un sistema sanitario di base (WHO, 2015) e nel 2015 è stato il quarto principio attivo più consumato in età pediatrica in Italia (AIFA, 2016).

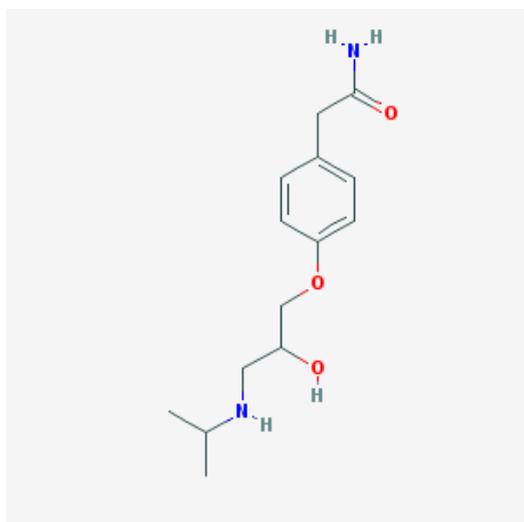
Il 28% della dose assunta viene escreto tale e quale. Per la struttura molecolare del composto e alcune caratteristiche salienti si rimanda alla figura 2.5(k) e alla tabella 2.11.

Nr. CAS	18559-94-9
Nome IUPAC	4-[2-(tert-butilammino)-1-idrossietil]-2-(irdossimetil)-fenolo
Nomi alternativi più utilizzati	Aerolin Albuterolo Proventil Sultanolo
Formula molecolare	$C_{13}H_{21}NO_3$
Massa molare (M)	239,32 g/mol
Costante di dissociazione acida (pK_a)	10,3
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ($\log K_{OW}$)	0,64
Solubilità in acqua	14 300 mg/l

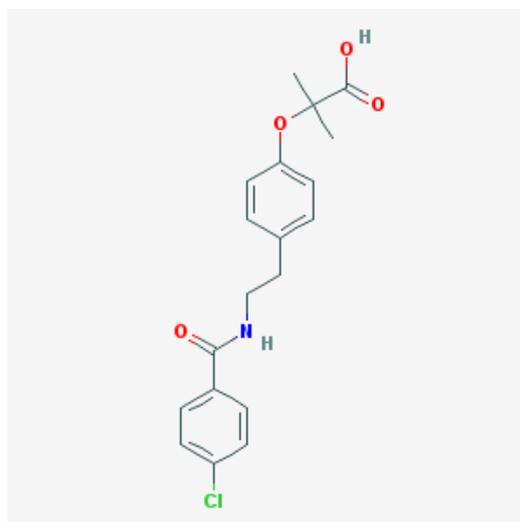
Tabella 2.11: principali caratteristiche chimico-fisiche del salbutamolo (NCBI, 2016)

Parametri di eco-tossicità (Ecoresearch et al., 2016)::

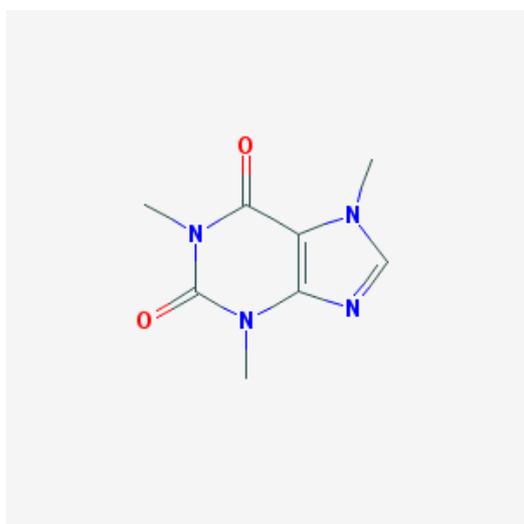
- $EC_{50}(72 h) = 41,30 \text{ mg/l}$ su alghe;
- $EC_{50}(48 h) = 201,6 \text{ mg/l}$ su *Daphnia magna*;
- $LC_{50}(96 h) = 33,01 \text{ mg/l}$ su pesci;
- $PNEC = 33,01 \mu\text{g/l}$
- nessuna indicazione di pericolo per l'ambiente.



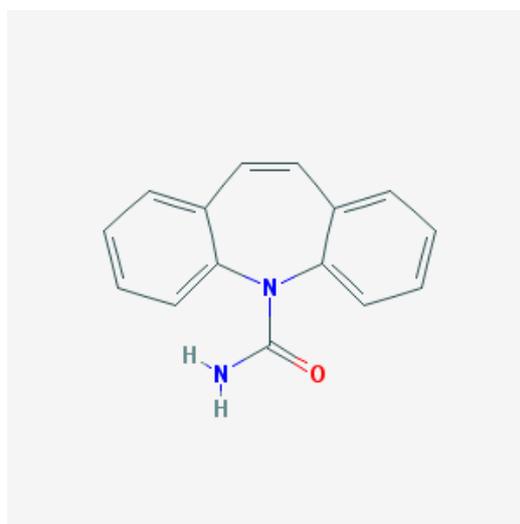
(a) atenololo



(b) bezafibrato

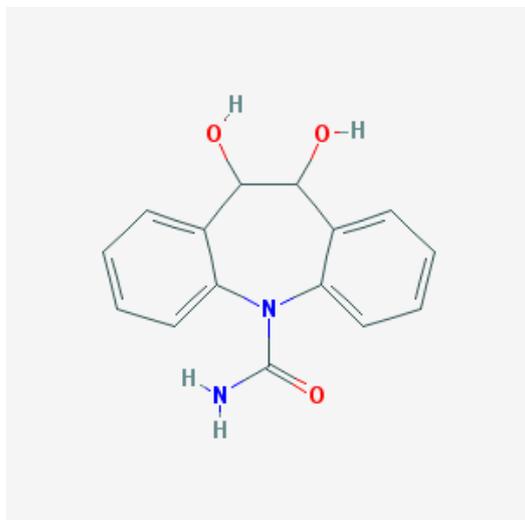


(c) caffeina

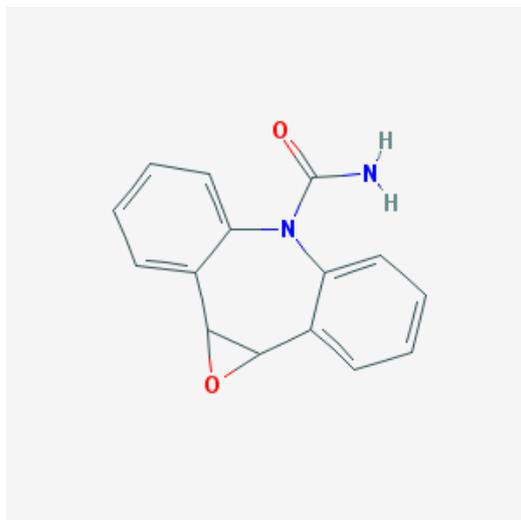


(d) carbamazepina

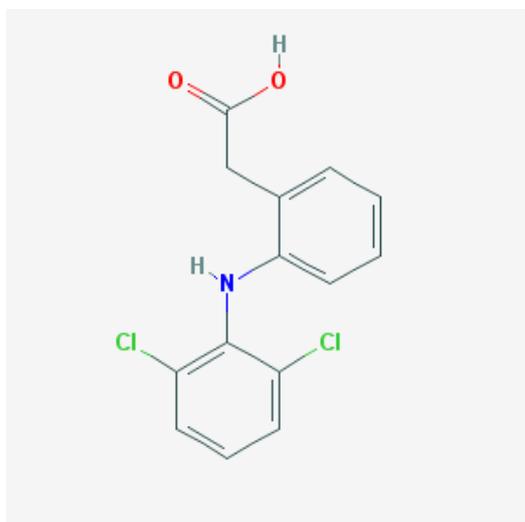
Figura 2.3: strutture molecolari dei composti studiati (tratte da NCBI, 2016)
(1 di 3)



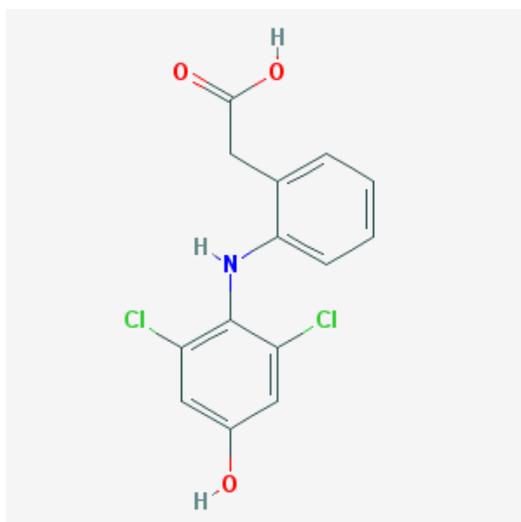
(e) 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina



(f) 10,11-diidro-10,11-epossicarbamazepina

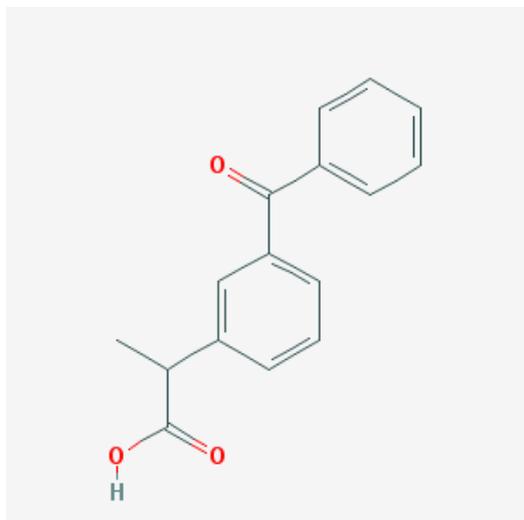


(g) diclofenac

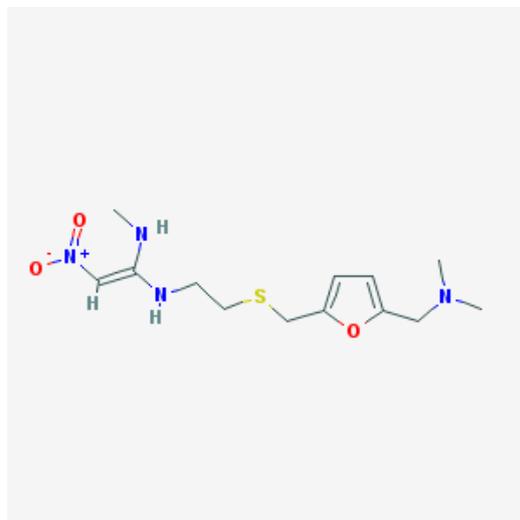


(h) 4'-idrossidiclofenac

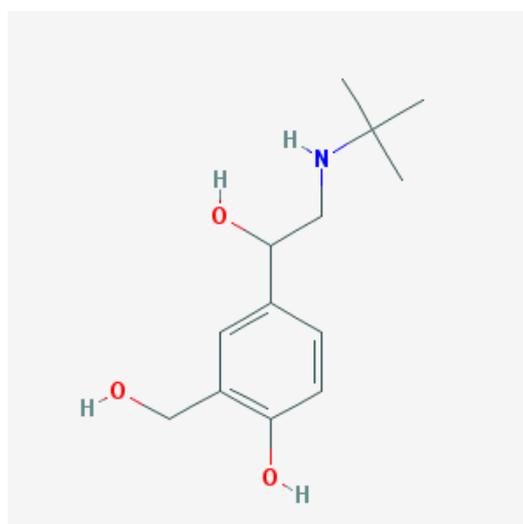
Figura 2.4: strutture molecolari dei composti studiati (tratte da NCBI, 2016)
(2 di 3)



(i) ketoprofene



(j) ranitidina



(k) salbutamolo

Figura 2.5: strutture molecolari dei composti studiati (tratte da NCBI, 2016)
(3 di 3)

2.2 Impatto ambientale

A partire dagli anni '90 del secolo scorso si è cominciata a ricercare sistematicamente la presenza dei farmaci all'interno dei corpi idrici; in figura 2.6 sono illustrate le classi terapeutiche rilevate durante vari studi. Nello specifico in Italia durante delle campagne di misurazione sui fiumi Po e Lambro (Calamari et al., 2003) è stata evidenziata la presenza di antibiotici e farmaci nelle acque; per l'atenololo si è avuto il valore più alto, superiore ai 100 ng/l. Partendo dai quantitativi e dalla pericolosità dei PPCP rilevati nei corsi d'acqua, sono stati prodotti numerosi articoli riguardanti la presenza e la rimozione di questi contaminanti emergenti tramite la depurazione convenzionale; Miège et al. (2009) hanno realizzato una base dati che raggruppa molti articoli scientifici sul tema (tabella 2.12 e 2.13).

Oltre alle acque reflue e quelle superficiali sono state analizzate anche le acque di falda e quelle potabili (Zuccato et al., 2000), trovando anche in questo caso tracce di contaminanti emergenti. Pertanto il consumo di farmaci (anche se in dosi inferiori a quelle prescritte), ormoni e sostanze d'abuso potrebbe rappresentare in futuro una minaccia per la salute pubblica (Santos et al., 2010). Se a ciò si aggiunge che il consumo di farmaci da parte dei cittadini europei è in continuo aumento (OECD/EU, 2014), si può facilmente ipotizzare che in assenza di nuove e adeguate tecnologie per il trattamento dei reflui la capacità autodepurativa degli ecosistemi coinvolti (prevalentemente acquatici) potrebbe un giorno non bastare.

In aggiunta al potenziale accumulo in ambiente, sussiste il fatto che molti organismi posseggono vie metaboliche simili a quelle umane e sono quindi attivamente esposti alle sostanze rilasciate in ambiente (Daughton e Ternes, 1999; Fent et al., 2006). Per quantificare la tossicità dei composti ritenuti pericolosi si eseguono test specifici su organismi bersaglio appartenenti allo stesso ecosistema. Gli studi però si concentrano sui più alti livelli trofici (quelli più vicini all'uomo, come i pesci), mentre si hanno poche informazioni sull'assorbimento dei PPCP da parte degli organismi planctonici, che sono alla base della rete trofica (Bai e Acharya, 2017).

I test eco-tossicologici che vengono effettuati sono di due tipi: sugli effetti acuti (tipicamente la morte degli individui) e sugli effetti cronici (si indaga ad esempio l'indice di crescita o il tasso di riproduzione). Quelli su effetti cronici e bioaccumulazione sarebbero i più indicati per osservare gli effetti dei farmaci, ma sono i meno frequenti (Santos et al., 2010; figura 2.7) e sono relativamente brevi se comparati all'intero ciclo di vita degli organismi. Per poter quantificare al meglio la tossicità dei farmaci si dovrebbero eseguire dei test della durata di almeno due terzi della vita dell'organismo, considerando anche gli effetti sulla generazione futura (Lakowski, 2001; Villarroel et al., 2000).

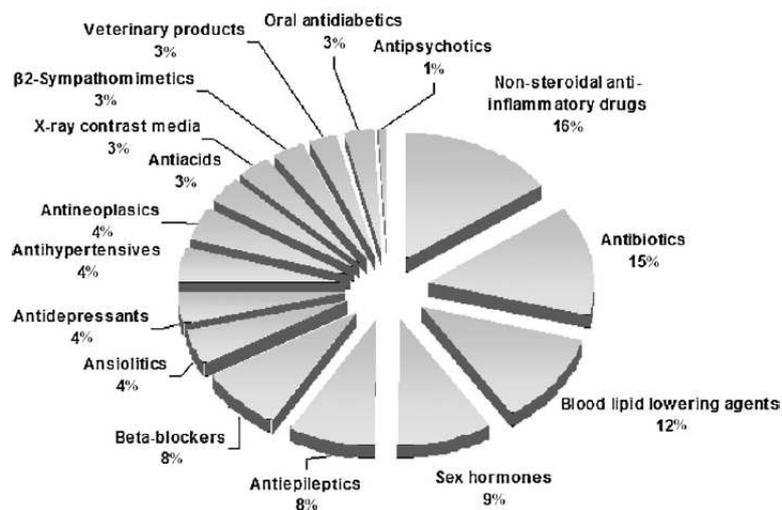


Figura 2.6: le classi terapeutiche rilevate nell'ambiente, espresse in percentuale relativa; dati raccolti da 134 articoli pubblicati tra il 1999 ed il 2009 (tratto da Santos et al., 2010)

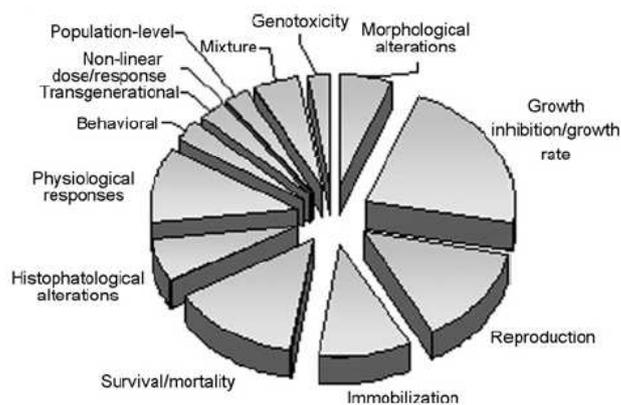


Figura 2.7: i principali campi considerati negli studi eco-tossicologici, espresse in percentuale relativa; dati raccolti da 94 articoli pubblicati tra il 1996 ed il 2009 (tratto da Santos et al., 2010)

Classe terapeutica	Molecole	Frequenza
Ormoni	Estrone, 17 β -estradiolo, 17 α -etinilestradiolo, estriolo, 17 α -estradiolo, testosterone, progesterone	30%
Analgesici ed antiinfiammatori	Ibuprofene, diclofenac , naproxen, ketoprofene , acido mefenamico	20%
Antibiotici	Sulfametoxazolo, trimetoprim, ciprofloxacina, roxitromicina, norfloxacina, claritromicina, eritromicina	8,7%
Regolatori lipidici	Bezafibrato , gemfibrozil	4,4%
Antiepilettici	Carbamazepina	4,0%
Metaboliti	Acido clofibrico, acido salicilico	3,9%
Beta-bloccanti	Metoprololo, propanololo, atenololo	2,8%
Prodotti per la cura della persona	Galaxolide, Tonalide	2,7%
Prodotti di contrasto	Iopromide	1,1%
Disinfettanti	Triclosan	0,8%
Vasodilatatori	Pentoxifillina	0,7%
Antidepressivi	Diazepan	0,6%
Tutti gli altri <i>PPCP</i>		20%

Tabella 2.12: i *PPCP* più investigati negli impianti di trattamento di acque reflue, in ordine di frequenza; 6641 dati su 184 molecole differenti, raccolti da 117 articoli pubblicati tra il 1997 ed il 2006 (Miège et al., 2009)

Molecola	Influente			Effluente		
	Conc. media [ng/l]	n	Frequenza	Conc. media [ng/l]	n	Frequenza
BZF	2440	25	100%	816	21	78%
CBZ	968	64	100%	674	63	100%
EP-CBZ	39	3	100%	19	3	100%
DHDH-CBZ	1001	3	100%	1080	3	100%
DCF	1340	91	81%	680	101	85%
KET	1030	55	73%	325	53	73%

Tabella 2.13: concentrazione di alcuni farmaci nelle acque influenti ed effluenti da vari *CASTP*; 6641 dati su 184 molecole differenti, raccolti da 117 articoli pubblicati tra il 1997 ed il 2006; *n* indica la molteplicità del dato, mentre con "frequenza" si identifica la percentuale dei campionamenti in cui è stata rilevata la molecola (Miège et al., 2009; modificato)

2.3 Fanghi attivi

In questa parte si includono anche i risultati ottenuti nei sistemi *MBR* (*Membrane Bio-reactor*) per quanto riguarda la rimozione dei farmaci dovuta a processi biologici. Questo perché un sistema *MBR* lavora con biomassa sospesa e si differenzia da un tradizionale sistema a fanghi attivi per la concentrazione della biomassa in vasca e la presenza di una filtrazione su membrana al posto della sedimentazione secondaria. Tutto ciò che riguarda la rimozione dei farmaci dovuta al processo di filtrazione su membrana viene riportata nella Sezione 2.4.

La vasca di aerazione a fanghi attivi costituisce lo stadio più importante all'interno dei *CASTP* (depurazione convenzionale). Il tempo di residenza idraulica (*HRT - Hydraulic Retention Time*) è molto inferiore a quello del fango attivo (*SRT - Sludge Retention Time*); quest'ultimo dipende dal livello di rimozione con cui è stata progettata la vasca (se per rimuovere solo il COD o anche azoto e fosforo). In letteratura, lo *SRT* è un parametro molto indagato specialmente per quello che riguarda i farmaci idrofobi, infatti impianti con *SRT* alti promuovono l'adsorbimento del farmaco agli aggregati fioccosi del fango e la degradazione aerobica operata dai batteri (Clara et al., 2004; Clara et al., 2005b).

Altri parametri studiati che possono influenzare la rimozione dei farmaci sono il pH, l'ossigeno disciolto e la temperatura. In particolare si è visto che in funzione del pH la rimozione dei composti ionizzabili (come il diclofenac) è molto variabile (Tadkaew et al., 2010): quando $\text{pH} = 5$ prevalgono le forme più idrofobiche e l'adsorbimento ai fanghi è nettamente superiore al caso in cui si abbia pH neutro. In un impianto di depurazione convenzionale, qualora si abbia rimozione di queste tipologie di molecole, i principali processi coinvolti sono di tipo meccanico (in seguito all'adsorbimento agli aggregati fioccosi del fango) e aerobico, tipicamente da parte di batteri essendo la miscela continuamente aerata all'interno della vasca.

2.3.1 Rimozione di DCF

Qualora il fango contenga microrganismi in grado di assorbire e degradare i composti meno idrofili, la loro rimozione è verosimilmente maggiore nel caso di *SRT* lunghi, come evidenziato da Clara et al. (2004) e Clara et al. (2005b). Gli autori sottolineano come la rimozione biologica di DCF sia dipendente dallo *SRT*, avendo trovato valori di rimozione di 47%, 53% e 63% in un impianto convenzionale da 3000 *AE* operante rispettivamente con *SRT* di 52, 114 e 237 giorni. La dipendenza della rimozione di DCF da *SRT* è stata messa in evidenza anche in altri casi (Kreuzinger et al., 2004; Weiss e Reemtsma, 2008), dove la maggiore efficienza depurativa è stata spiegata con il possibile sviluppo di comunità di microrganismi caratterizzate da tassi di crescita molto bassi. Al contrario

l'*HRT* non influisce significativamente sulla rimozione della molecola (Bernhard et al., 2006).

Anche la presenza di ossigeno disciolto si rivela essere una discriminante per la biodegradazione del diclofenac, che è persistente in condizioni anossiche (Suárez et al., 2010). In condizioni aerobiche invece, analizzando la sola vasca di aerazione di un impianto a scala reale, Salgado et al. (2012) hanno rilevato una bassa biodegradazione della molecola (< 25%), ma buoni livelli di adsorbimento ai fanghi (25% - 75%). Ciò nonostante la concentrazione di DCF nella frazione liquida del refluo è aumentata; questo fenomeno sembra essere dovuto a meccanismi di trasformazione retrograda di 4'-OH-DCF, di cui sarebbero responsabili i processi di trattamento biologico (Plósz et al., 2012): i microrganismi presenti deidrossilano 4'-OH-DCF ad ottenere di nuovo DCF.

In generale l'efficienza depurativa dei *CASTP* nei confronti di questa molecola è molto varia e talvolta appare contraddittoria, come peraltro messo in evidenza da Clara et al. (2005b).

2.3.2 Rimozione di CBZ

Nella quasi totalità dei casi trovati in letteratura (Sezione 2.7.4) la carbamazepina si mostra molto recalcitrante e i *CASTP* considerati si sono rivelati inefficienti nel rimuoverla. Si registrano anche molti casi in cui la concentrazione di CBZ aumenta in seguito alla depurazione convenzionale. Vari autori hanno attribuito quest'effetto alla rottura dei coniugati glucuronici di CBZ (Jelic et al., 2011; Joss et al., 2005; Miao et al., 2005; Nakada et al., 2006; Wick et al., 2009); questi composti, naturalmente prodotti dal metabolismo umano, subirebbero un clivaggio catalizzato da enzimi (Plósz et al., 2012) portando così alla ricomparsa della carbamazepina pura. Ulteriori analisi eseguite sui fanghi di depurazione hanno evidenziato l'assenza di CBZ nel solido asportato (Hai et al., 2011a; Joss et al., 2005; Wick et al., 2009), dando così un'ulteriore spiegazione all'inefficacia dei *CASTP* nei confronti di questa molecola, che resta disciolta nella frazione liquida del refluo.

L'unica condizione in cui sembra possa avvenire la biodegradazione della carbamazepina è la quasi assenza di ossigeno disciolto: con $DO = 0,5 \text{ mg/l}$ si è osservata una rimozione di circa 15% in 20 giorni e dopo ulteriori 5 giorni la rimozione biologica è salita a circa 60%; al contrario, con $DO \geq 2,0 \text{ mg/l}$ l'abbattimento non ha superato il 20% per tutta la durata della sperimentazione (circa 50 giorni) (Hai et al., 2011a). Questo fenomeno è spiegabile con meccanismi metabolici: i batteri aerobici producono l'ossigenasi per assimilare i composti organici presenti nel refluo. Questo enzima ha la funzione di trasferire sulla molecola da degradare uno o entrambi gli atomi dell'ossigeno molecolare (O_2) disciolto. Anche le molecole di carbamazepina vengono coinvolte nel processo e la

presenza di gruppi funzionali sottrattori di elettroni (legatisi all'ossigeno trasferito sulle molecole) genera una deficienza di elettroni nella CBZ, rendendola meno suscettibile al catabolismo ossidativo dei microrganismi presenti (Knackmuss, 1996).

2.3.3 Rimozione degli altri farmaci

I restanti farmaci sono stati indagati con minor frequenza nei *CASTP*:

- **ATE**: la rimozione di questo farmaco non mostra una significativa dipendenza da *HRT* (Vieno et al., 2007). La molecola è tendenzialmente idrofila ($\log K_{OW} = 0,16$), infatti adsorbe in minima parte ai fanghi (< 25%) e le buone efficienze di rimozione talvolta riscontrate sono attribuite alla biodegradazione (> 75%) (Salgado et al., 2012);
- **BZF**: nonostante sia poco idrofilo ($\log K_{OW} = 4,25$) sembra non adsorbire ai fanghi (Clara et al., 2005b) e lo *SRT* è un parametro di progetto che non influisce sul suo abbattimento (Clara et al., 2004). Come nel caso di CBZ, alcuni autori attribuiscono la mancata rimozione del bezafibrato alla deconiugazione dei suoi glucuronidi umani, abbondanti nei reflui dal momento che il 22% del farmaco è escreto in questa forma (Ternes, 1998). Altri autori (Quintana et al., 2005) hanno operato una distinzione tra totale mineralizzazione del composto e sua trasformazione in sottoprodotti organici: a distanza di 5 giorni dall'inizio dell'esperimento (un impianto pilota) la rimozione di BZF ammontava a $91\% \pm 4\%$ ed era tutta imputabile alla sola trasformazione in metaboliti per via cometabolica (ossia una degradazione microbica di sostanze organiche, che avviene in presenza di un substrato organico ulteriore). La molecola parentale ha subito il clivaggio del gruppo ammidico (per idrolisi microbica cometabolica) generando un metabolita clorurato (l'acido 4-clorobenzoico) e dopo i primi 5 giorni entrambe le molecole sono diminuite di concentrazione molto rapidamente. Già in altri studi questo metabolita si era mostrato facilmente degradabile in condizioni aerobiche, fino alla completa mineralizzazione (Wellens, 1990). In Quintana et al. (2005) la mineralizzazione complessiva del bezafibrato non ha però superato il 13%;
- **KET**: è tendenzialmente poco idrofilo, ma non si accumula facilmente nei fanghi (Jelic et al., 2011; Salgado et al., 2012); la biodegradazione si è rivelata poco efficace nel rimuoverlo dai reflui (Matamoros e Salvadó, 2013). Tadkaew et al. (2010) hanno mostrato come la rimozione di KET per adsorbimento ai fanghi sia fortemente influenzata dal pH: con valori neutri il farmaco non viene rimosso (efficienze di 3,7% e 15% a pH=6 e pH=7 rispettivamente), mentre con pH prossimi alla sua pK_a

(pari a 4,45) si raggiungono rimozioni del 90%. Ciononostante solamente un'aliquota del ketoprofene rimosso viene mineralizzato: a fronte di una rimozione totale di $62\% \pm 21\%$ Quintana et al. (2005) hanno stimato che viene mineralizzato solo il 30% del *DOC* (*Dissolved Organic Carbon*) della molecola; la restante parte si trasforma in metaboliti microbici. Gli autori hanno inoltre evidenziato come la biodegradazione non sia cominciata immediatamente dopo l'inizio dell'esperimento, ma a distanza di 10 giorni con la formazione di almeno due metaboliti.

2.4 Filtrazione

Questa categoria raggruppa tutte le tecnologie che fanno uso di metodi di filtrazione. Gli studi più numerosi in letteratura riguardano sistemi a membrana (*MBR*), in particolare a scala pilota.

Gli *MBR* sono sistemi a biomassa sospesa e per depurare l'acqua sfruttano lo stesso principio dei fanghi attivi. Grazie alla presenza delle membrane però, nelle vasche biologiche si possono utilizzare concentrazioni di fango più alte. Inoltre la presenza delle membrane svincola dalla necessità di una sedimentazione secondaria; il tutto si traduce in un sistema più compatto.

I sistemi *MBR* sono solitamente costituiti da membrane tali da essere nel campo della microfiltrazione (*MF*) o dell'ultrafiltrazione (*UF*). Talvolta si possono avere trattamenti terziari di affinamento costituiti da filtrazioni su membrana più spinte, come la nanofiltrazione (*NF*) e l'osmosi inversa (*RO*). In generale le percentuali di farmaco rimosse dalle acque sono molto elevate con tutti i sistemi *MBR*. L'osmosi inversa ha confermato efficienze quasi sempre $> 99\%$ (Snyder et al., 2007).

Per gli aspetti bio-chimici della rimozione che possono avvenire in un sistema *MBR* si rimanda alla Sezione 2.3.

In generale si può operare una suddivisione in base all'abbattimento mostrato:

- composti con buone efficienze di rimozione ($> 70\%$) a tutte le scale studiate: atenololo e bezafibrato;
- composti che presentano buone rimozioni solamente in certe condizioni del refluo: diclofenac e ketoprofene raggiungo abbattimenti soddisfacenti solamente a $\text{pH} \leq 5$ (Tadkaew et al., 2010; Urase et al., 2005), congruentemente con il loro valore di pK_a ;
- composti recalcitranti: caffeina (ma solo con l'impiego di microfiltrazione e ultrafiltrazione; Snyder et al., 2007), carbamazepina e diclofenac.

2.5 Fitoddepurazione e lagunaggi

I *Constructed Wetland (CW)* sono tecnologie a basso consumo energetico e a basso impatto ambientale. Comprendono una gran varietà di sistemi di trattamento, generalmente al servizio di piccole comunità; essi si sostituiscono al classico impianto di depurazione caratterizzato da vasche con fanghi attivi. La maggior parte degli studi considerati in questa Sezione di tesi sono:

- sistemi di fitodepurazione a scala reale con letti filtranti a flusso superficiale e sub-superficiale (orizzontale o verticale);
- lagunaggi: *facultative ponds* (progettati per abbattere il BOD), *maturity ponds* (usati per l'eliminazione dei patogeni dal refluo) e *high rate algal ponds* (i quali abbattano BOD e nutrienti) (Norvill et al., 2016);
- piccoli piloti a scala di laboratorio dove in alcuni casi si utilizzano specie selezionate di macrofite e microrganismi, come alghe unicellulari e funghi.

Negli articoli di seguito citati riguardanti letti filtranti e lagunaggi a scala reale non sono riportate informazioni riguardo la modalità di campionamento in riferimento al tempo di residenza idraulica del refluo all'interno del sistema. Nell'analizzare la letteratura è stato tenuto conto che, per via dei pochi abitanti equivalenti per cui sono progettati, l'*input* di farmaci nei sistemi di fitodepurazione a scala reale può essere discontinuo nel tempo e le concentrazioni possono avere delle oscillazioni importanti a seconda degli utilizzi fatti dalla popolazione.

Si riportano di seguito le possibili modalità di rimozione dei farmaci dai reflui mediante fitodepurazione e le interpretazioni date dai vari autori nel valutare gli abbattimenti osservati.

2.5.1 Rimozione di DCF

Per quanto riguarda la depurazione mediante letti filtranti il diclofenac non sembra essere trattenuto al loro interno (Matamoros e Bayona, 2006); non si trova neanche assorbito all'interno delle macrofite presenti né adsorbito ai loro rizomi (Hijosa-Valsero et al., 2016). In alcuni studi il farmaco ha avuto un comportamento idrofilo tale da non legarsi alla materia organica ritenuta dai sedimenti, inoltre si è anche mostrato recalcitrante nei confronti della biodegradazione per via del cloro presente nella sua struttura molecolare (Hijosa-Valsero et al., 2010a). In generale si è visto che in letteratura l'efficienza della fitodepurazione nel rimuovere il diclofenac è piuttosto varia, sia a scala reale sia a scala di

laboratorio. In alcuni casi si sono registrati aumenti di concentrazioni in uscita ai sistemi di fitodepurazione (Hijosa-Valsero et al., 2016).

Il 4'-OH-DCF è un metabolita idrossilato del diclofenac ed il metabolita umano prodotto in maggior quantità (NCBI, 2016). Si genera per idrossilazione della molecola: un processo chimico o biochimico che aggiunge un gruppo idrossile (-OH) ai composti organici e converte i composti tendenzialmente lipofili in composti idrofili (Die Deutsche Bibliothek, 1999) in condizioni aerobiche (Hijosa-Valsero et al., 2016), tipiche dei sistemi di fitodepurazione con flusso sub-superficiale verticale. Le reazioni di idrossilazione sono spesso coadiuvate da enzimi, come le idrossilasi (od ossigenasi), secreti dai microrganismi che colonizzano i letti granulari. Alcuni autori hanno correlato la conversione del diclofenac a 4'-OH-DCF al metabolismo di cellule eucariote come ad esempio i funghi (Gröning et al., 2007). Durante alcune sperimentazioni con delle vasche pilota in varie configurazioni Hijosa-Valsero et al. (2016) hanno osservato come questo metabolita, assente nel refluo in ingresso, fosse invece presente in uscita a tutti i sistemi di fitodepurazione studiati, seppur in piccole quantità.

Altri autori hanno infine proposto una via di degradazione diretta di DCF, affermando che la si possa ottenere con una riduzione mediata microbicamente da anaerobi obbligati: i due atomi di cloro sarebbero rimossi e rimpiazzati dagli elettroni necessari portando così alla dealogenazione della molecola (Mohn e Tiedje, 1992; Schwarzenbach et al., 2003).

2.5.2 Rimozione di CBZ

Gli studi analizzati evidenziano come nella maggior parte dei casi la CBZ sia recalcitrante quando sottoposta a fitodepurazione (Conkle et al., 2008; Rühmland et al., 2015; Hijosa-Valsero et al., 2016), ma fanno eccezione alcuni studi su impianti pilota:

- Cardinal et al. (2014) riportano una rimozione del 88% di CBZ dopo 28 giorni in un impianto pilota *shallow water mesocosm*; gli autori non hanno rilevato alcuna differenza di abbattimento tra i piloti piantumati e quelli privi di vegetazione, giungendo alla conclusione che le macrofite non contribuiscono significativamente alla rimozione della molecola. Quest'effetto potrebbe essere dominato da meccanismi quali la fotodegradazione e l'assorbimento da parte di specie di alghe e macrofite involontariamente presenti anche nei piloti non piantumati (Cardinal et al., 2014);
- Hijosa-Valsero et al. (2016) riportano una rimozione del 59% con *HRT* di 37,4 h in un pilota a superficie libera contenente macrofite galleggianti di *Typha angustifolia*; nella ricerca delle cause che possano aver concorso alla rimozione del farmaco non si esclude un'interazione con questa specie in particolare;

- Zhang et al. (2013a) mostrano che in condizioni di coltura idroponica le piante hanno presentato assorbimenti rilevanti (22% e 14%) durante i 21 giorni di sperimentazione e le alte rimozioni totali (rispettivamente 64% e 74%) sono state attribuite alla trasformazione della carbamazepina in altri prodotti per mezzo del catabolismo;
- Dordio et al. (2011) infine riportano un'alta rimozione di CBZ (pari all'82%) con *Typha* spp. coltivate idroponicamente; l'abbattimento del farmaco avviene per assorbimento da parte delle piante presenti. Non sono riportati studi riguardanti la metabolizzazione della molecola all'interno di esse. Dordio et al. (2011) hanno supposto che l'ossidazione sia uno dei possibili processi del metabolismo vegetale che converte in EP-CBZ la CBZ assorbita dalle radici, analogamente a quanto avviene nel metabolismo umano (dove però la EP-CBZ così formata può subire una reazione di idrazione con una molecola d'acqua diventando DHDH-CBZ, con successiva coniugazione ad un glucuronide).

In uno degli studi condotti da Park et al. (2009) su di un impianto di fitodepurazione a superficie libera (*FS-CW*) la carbamazepina ha mostrato buoni livelli di rimozione in condizioni anossiche. Il metabolita DHDH-CBZ si è visto invece essere degradato aerobicamente (Rühmland et al., 2015).

2.5.3 Rimozione degli altri farmaci

I restanti farmaci sono stati indagati con minor frequenza negli impianti di fitodepurazione:

- **CAF**: è altamente idrofila ed è nota per non legarsi alla materia organica ritenuta dai letti granulari degli impianti di fitodepurazione né all'interno dei lagunaggi; la biodegradazione è il principale meccanismo di rimozione (Hijosa-Valsero et al., 2010a);
- **KET**: si è mostrato piuttosto recalcitrante ad essere rimosso per via biologica con dei *constructed wetland* pilota; inoltre un suo metabolita umano, il diidro-ketoprofene (DH-KET), già presente nel refluo (effluente primario) in ingresso ai sistemi è aumentato in concentrazione (Hijosa-Valsero et al., 2016). Gli autori hanno spiegato questo fenomeno ipotizzando che, analogamente a quanto avviene nel metabolismo umano, ci sia stata una doppia idrossilazione degli anelli aromatici del ketoprofene ad opera di meccanismi metabolici analoghi portando alla formazione di DH-KET; tale reazione è più probabile in regime aerobico (Skordi et al., 2004).

2.6 Fotodegradazione

La fotodegradazione è un fenomeno che bisogna considerare in diverse tecnologie, come la fitodepurazione, i lagunaggi ed alcuni trattamenti di tipo terziario. In particolar modo bisogna tenere conto della fotodegradazione in tutti i sistemi che fanno uso di luce UV artificiale o luce solare. In generale può avere luogo come fotolisi diretta o come foto-ossidazione indiretta a seconda della struttura della molecola, della penetrazione della luce e della presenza di ioni e altre molecole nel refluo (Norvill et al., 2016).

La fotolisi diretta è possibile quando le molecole contengono dei cromofori, ossia dei gruppi di atomi che sono in grado di assorbire i fotoni e che quindi determinano una transizione elettronica, spesso associata ad una variazione del colore della sostanza (IUPAC, 2014). Nel caso della fotolisi i fotoni assorbiti forniscono alla molecola l'energia necessaria per la rottura di alcuni legami chimici; l'intensità di questo meccanismo dipende dallo spettro di assorbimento, che a sua volta può essere influenzato dal pH, dalla temperatura e dall'interazione con altri composti organici e ioni presenti in soluzione (Beliakova et al., 2003; Jiang et al., 2010).

La foto-degradazione indiretta avviene invece per ossidazione da parte dei radicali che si producono quando la luce eccita delle molecole chiamate fotosensibilizzanti (Davies-Colley et al., 2000; Kadir e Nelson, 2014); appartengono a questa categoria gli acidi umici e gli ioni nitrato (Zhao et al., 2013). Giacché la foto-ossidazione indiretta determina l'assorbimento di fotoni, questi non saranno disponibili per la fotolisi diretta; inoltre il fenomeno è meno dipendente dalla lunghezza d'onda della radiazione. Si precisa che non tutti i composti fotosensibilizzanti hanno la stessa efficienza nella produzione di radicali; ad esempio lo ione nitrato è considerato poco efficiente (Monteiro e Boxall, 2010), sebbene possa essere presente in grandi concentrazioni.

Di seguito si riportano gli aspetti salienti degli articoli consultati a tal riguardo:

- **CBZ**: presenta sempre rimozioni molto basse, eccezion fatta per i trattamenti con aggiunta di H_2O_2 (Kim et al., 2009), che si sono rivelati molto performanti (rimozione superiore al 90%). Sia il processo diretto di fotolisi sia quello indiretto non hanno contribuito all'abbattimento del farmaco (Cardinal et al., 2014; Rühmland et al., 2015); i metaboliti 2-OH-CBZ e 3-OH-CBZ (non indagati in questa tesi) sono invece stati rimossi molto bene per foto-ossidazione indiretta, rispettivamente 71% e > 90% (Rühmland et al., 2015);
- **DCF**: può subire fotolisi diretta (Matamoros et al., 2012); generalmente gli abbattimenti si mostrano molto elevati: fino al 75% (Salgado et al., 2012), 80% (Zhang et al., 2012), 75% e 90% (Matamoros e Salvadó, 2013) e 97% (Rühmland et al., 2015).

Qualora ci possano essere interazioni di tipo biologico, sono però pochi gli studi in cui, si distingue l'aliquota di rimozione dovuta alla sola fotodegradazione;

- **KET**: viene fotodegradato molto bene e rapidamente (Lin e Reinhard, 2005); a seguito della sua fotolisi diretta si formano vari prodotti di trasformazione a base di benzofenone; questo è un prodotto di trasformazione potenzialmente tossico ma di cui non si sono ancora accertati gli effetti sugli ecosistemi acquatici (Kosjek et al., 2011).

2.7 Tabelle riassuntive

Per una migliore comprensione delle efficienze depurative messe in evidenza dalla ricerca bibliografica condotta, si riporta per ogni farmaco l'efficienza di rimozione della tecnologia applicata, sulla base della grandezza del sistema studiato dagli autori (scala reale o impianto pilota e scala di laboratorio). I valori negativi (in rosso) indicano un aumento della concentrazione del farmaco dovuta a vari tipi di meccanismi (prevalentemente biologici) potenzialmente in grado di ricostituire la molecola parentale a partire da alcuni suoi derivati, come i metaboliti ed i glucuronidi umani.

2.7.1 Rimozione atenololo (ATE)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	80 000 AE	reale	< 0	Bendz et al., 2005
CASTP	-	reale	36%-76% (estate), < LOQ - 21% (inv.)	Castiglioni et al., 2006
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26-40 h; SRT=10 d	reale	< LOQ	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	85%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	65%	Jelic et al., 2011
CASTP	6000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	80 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	180 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	350 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	575 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	900 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
CASTP	277 000 AE; HRT=11,5 h; SRT=10 d	reale	61%±19%	Radjenović et al., 2009
CASTP	385 000 AE	reale	84%	Ternes et al., 2007
CASTP	canale di ossidaz. (3 impianti)	reale	77%	Vieno et al., 2007

<i>CASTP</i>	comparto a fanghi attivi (7 impianti)	reale	63%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	denitro-nitro (11 impianti)	reale	37%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	1 350 000 <i>AE</i> ; fanghi attivi e sedim.; <i>HRT</i> =1 h; <i>SRT</i> =0,5 d	reale prim.	< <i>LOQ</i> - 5%	Wick et al., 2009
<i>CASTP</i>	1 350 000 <i>AE</i> ; denitro-nitro e sedim.; <i>HRT</i> =5 h; <i>SRT</i> =18 d	reale sec.	55%	Wick et al., 2009
<i>CASTP</i>	2 350 000 <i>AE</i> ; fanghi attivi, sedim., denitro-nitro, sedim.	reale	44%	Wick et al., 2009
<i>CASTP</i>	1 350 000 <i>AE</i> ; post-denitrificaz.	reale terz.	5%	Wick et al., 2009
Filtrazione:				
<i>MBR</i>	-	reale	> 90%	Trinh et al., 2012
Fitodepurazione:				
ecosist. fluviale	a valle di <i>WWTP</i>	reale	28%	Castiglioni et al., 2006
<i>CW</i> e UV	lagunaggio ($V = 100\,000\,m^3$, <i>HRT</i> =27 d) + <i>FS-CW</i> (<i>HRT</i> =1 d) + canale UV	reale	80% + 66% + < <i>LOQ</i> (tot. 93%)	Conkle et al., 2008
<i>FS-CW</i>	-	reale	> 90%	Park et al., 2009
lagunaggio	-	reale	87% - 95% (estate), 43% (inverno)	Rühmland et al., 2015
lagunaggio	con macrofite gallegg.	reale	93% - 96% (estate)	Rühmland et al., 2015
<i>VSSF-CW</i>	-	reale	> 98% (estate), 88% (inverno)	Rühmland et al., 2015

Altre tecnologie:

canale UV	-	reale	> 99%	Salgado et al., 2012
-----------	---	-------	-------	----------------------

Tabella 2.14: rimozione dell'atenololo in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Filtrazione:				
MBR (MF)	HRT=15 h	reale	77%±13%	Radjenović et al., 2009
MBR (UF)	HRT=7 h	reale	70%±13%	Radjenović et al., 2009
Altre tecnologie:				
UV	3 stadi in serie, ognuno: $V = 35 l, HRT=5 min$	reale sec.	35%, 40%, 65%	Kim et al., 2009
UV	$V = 35 l, HRT=5 min;$ con H ₂ O ₂	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
<i>Trametes versicolor</i>	assenza di luce; $t = 24 h$	sintetico	50% (1 h), 80% (3 h)	Marco-Urrea et al., 2010

Tabella 2.15: rimozione dell'atenololo in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.2 Rimozione bezafibrato (BZF)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	SRT=0,6 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	SRT=2 d, 19 d	reale	20% - 40%	Clara et al., 2005a
CASTP	SRT=40 d	reale	60% - 80%	Clara et al., 2005a
CASTP	SRT=48 d	reale	40% - 60%	Clara et al., 2005a
CASTP	SRT=22 d, 42 d, 82 d, 182 d, 550 d	reale	> 80%	Clara et al., 2005a
CASTP	3000 AE; HRT=12,5 d; SRT=237 d	reale	> 99%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 AE; HRT=13,3 d; SRT=114 d	reale	> 99%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 AE; HRT=16,6 d; SRT=52 d	reale	90%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=0,08 d; SRT=2 d; ad alto carico org. (rimoz. carbonio)	reale	37%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=1,20 d; SRT=46 d; a basso carico org. (rimoz. nutrienti)	reale	54%	Clara et al., 2005b
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26-40 h; SRT=10 d	reale	45%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	75%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	15%	Jelic et al., 2011
CASTP	7 impianti: 3000 AE, 8000 AE, 40 000 AE, 70 000 AE, 150 000 AE, 163 000 AE, 740 000 AE	reale	> 99%, -11%, 93%, 74%, 15%, 27%, 51%	Lindqvist et al., 2005
CASTP	277 000 AE; HRT=11,5hh; SRT=10 d	reale	81%±21%	Radjenović et al., 2009
CASTP	385 000 AE	reale	97%	Ternes et al., 2007

Filtrazione:				
<i>MBR</i>	-	reale	76%	Clara et al., 2004
Fitodepurazione:				
ecosist. fluv.	a valle di <i>WWTP</i>	reale	34%	Castiglioni et al., 2006
lagunaggio	-	reale	55% - 79% (estate), 24% (inverno)	Rühmland et al., 2015
lagunaggio	con macrofite gallegg.	reale	73% - 80% (estate)	Rühmland et al., 2015
<i>VSSF-CW</i>	-	reale	61% - 66% (estate), 48% (inverno)	Rühmland et al., 2015

Tabella 2.16: rimozione del bezafibrato in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	$SRT=2 d$	sintetico	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	$SRT=10 d, 34 d, 68 d$	sintetico	> 80%	Clara et al., 2005a
CASTP	$SBR: V = 8 l, HRT=1 d,$ $SRT=4 d, 16 d, 29 d$	reale sec.	95%, > 95%, > 95%	Strenn et al., 2004
Filtrazione:				
MBR	$HRT=0,5 d; SRT=10 d$	reale	95%	Clara et al., 2005b
MBR	$HRT=1,2 d; SRT=27 d$	reale	96%	Clara et al., 2005b
MBR	$HRT=4,0 d; SRT=55 d$	reale	77%	Clara et al., 2005b
MBR	-	reale prim.	$91\% \pm 4\%$	Quintana et al., 2005
MBR (MF)	$HRT=15 h$	reale	$90\% \pm 10\%$	Radjenović et al., 2009
MBR (UF)	$HRT=7 h$	reale	$88\% \pm 15\%$	Radjenović et al., 2009
Altre tecnologie:				
UV	3 stadi in serie, ognuno: $V = 35 l, HRT=5 min$	reale sec.	35%, 60%, 75%	Kim et al., 2009
UV	$V = 35 l, HRT=5 min;$ con H_2O_2	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
bioreattore	$V = 1 l; t = 28 d$	reale	< LOQ	Quintana et al., 2005

Tabella 2.17: rimozione del bezafibrato in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.3 Rimozione caffeina (CAF)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	80 000 AE	reale	94%	Bendz et al., 2005
CASTP	330 000 AE; HRT=6 h	reale	84%	Hijosa-Valsero et al., 2010a
CASTP	330 000 AE	reale	29% (inverno), 86% (estate)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
CASTP	385 000 AE	reale	> 99%	Ternes et al., 2007
Filtrazione:				
biofiltri	2 impianti: 4 - 5 AE	reale	67%±42%	Matamoros et al., 2009
filtro a sabbia	2 impianti: 4 - 5 AE	reale	68%±27%	Matamoros et al., 2009
MF	-	reale	4%	Snyder et al., 2007
MBR	-	reale	> 90%	Trinh et al., 2012
Fitodepurazione:				
CW e UV	lagunaggio ($V = 100\,000\,m^3$, HRT=27 d) + FS-CW (HRT=1 d) + canale UV	reale	> 99% + < LOQ + < LOQ (tot. > 99%)	Conkle et al., 2008
CW	184 ab.; (fossa settica + FP (HRT=75,9 d)) + SF-CW (HRT=1,2 d) + SSF-CW (HRT=5,7 d)	reale	64% + 25% + 80% (tot. 95%)	Hijosa-Valsero et al., 2010a
CW	186 ab.; FP (HRT=4,21 d) + SF-CW (HRT=3,53 d) + SSF-CW (HRT=3,16 d)	reale	18% + 87% + > 58% (tot. > 95%)	Hijosa-Valsero et al., 2010a
lagunaggio	632 ab.; AP (HRT=0,4 d) + FP (HRT=4,1 d) + MP (HRT=1 d)	reale	50% + 24% + 54% (tot. 83%)	Hijosa-Valsero et al., 2010a

<i>HSSF-CW</i>	5 impianti: da 80 <i>AE</i> a 280 <i>AE</i>	reale	$97\% \pm 3\%$	Matamoros et al., 2009
<i>VSSF-CW</i>	4 impianti: 2 - 4 <i>AE</i>	reale	$99\% \pm 1\%$	Matamoros et al., 2009
Altre tecnologie:				
<i>GAC</i>	-	acque superf.	16%	Snyder et al., 2007

Tabella 2.18: rimozione della caffeina in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Filtrazione:				
filtro a sabbia	-	reale	> 95%	Matamoros et al., 2007
<i>MBR</i>	-	reale prim.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>RO</i>	-	acqua di falda	83%	Snyder et al., 2007
<i>UF</i>	-	reale sec.	7%	Snyder et al., 2007
Fitodepurazione:				
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp. gallegg.; <i>HRT=2,9 d</i>	reale prim.	95% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; <i>HRT=3,3 d</i>	reale prim.	80% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; <i>HRT=6,1 d</i>	reale prim.	95% (estate), 30% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; <i>HRT=2,5 d</i>	reale prim.	95% (estate), 55% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	non piantumato; <i>HRT=2,6 d</i>	reale prim.	85% (estate), 25% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; <i>HRT=5,1 d</i>	reale prim.	95% (estate), 55% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; <i>HRT=2,1 d</i>	reale prim.	90% (estate), 25% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp. gallegg.; <i>HRT=2,9 d</i>	reale prim.	30%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; <i>HRT=3,3 d</i>	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; <i>HRT=6,1 d</i>	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; <i>HRT=2,5 d</i>	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	non piantumato; <i>HRT=2,6 d</i>	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016

<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; $HRT=5,1 d$	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; $HRT=2,1 d$	reale prim.	> 90%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>HSSF-CW</i>	200 <i>AE</i>	reale prim.	94%	Matamoros e Bayona, 2006
<i>VSSF-CW</i>	-	reale	> 95%	Matamoros et al., 2007
<i>HRAP</i>	$HRT=4 d$	reale	97%±1% (estate), 85%±2% (inverno)	Matamoros et al., 2015
<i>HRAP</i>	$HRT=8 d$	reale	98%±1% (estate), 91%±2% (inverno)	Matamoros et al., 2015
microalghe	$t = 10 d$	sintetico	17%	Matamoros et al., 2016
microalghe	$t = 10 d$	reale	99%	Matamoros et al., 2016
<i>Scirpus validus</i>	$V = 4 l$; idroponia; $t = 3 d, 7 d, 14 d$	sintetico	52% - 93%, 98%, > 99%	Zhang et al., 2013b
Altre tecnologie:				
UV	3 stadi in serie, ognuno: $V = 35 l, HRT=5 min$	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
UV	$V = 35 l, HRT=5 min$; con H_2O_2	reale sec.	67%	Kim et al., 2009
<i>PAC</i>	con coagulante; [<i>PAC</i>]=5 mg/l	acque superf.	45%	Snyder et al., 2007
<i>PAC</i>	con coagulante; [<i>PAC</i>]=35 mg/l	acque superf.	95%	Snyder et al., 2007
mix di batteri	$V = 2 l; t = 5 d$	sintetico	6%	Vasiliadou et al., 2013

Tabella 2.19: rimozione della caffeina in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.4 Rimozione carbamazepina (CBZ)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	80 000 AE	reale	30%	Bendz et al., 2005
CASTP	282 000 AE; HRT=22 h; SRT=12 - 14 d	reale	7%	Bernhard et al., 2006
CASTP	3000 AE; SRT=52 d, 114 d, 237 d	reale	< LOQ	Clara et al., 2004
CASTP	6000 AE; SRT=42 d, 182 d, 550 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	135 000 AE; SRT=48 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	167 000 AE; SRT=0,6 d, 19 d	reale	< 20%, 20% - 40%	Clara et al., 2005a
CASTP	2 500 000 AE; SRT=2 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	3000 AE; HRT=12,5 d; SRT=237 d	reale	-11%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 AE; HRT=13,3 d; SRT=114 d	reale	12%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 AE; HRT=16,6 d; SRT=52 d	reale	-35%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=0,08 d; SRT=2 d; ad alto carico org. (rimoz. carbonio)	reale	-3%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=1,20 d; SRT=46 d; a basso carico org. (rimoz. nutrienti)	reale	-43%	Clara et al., 2005b
CASTP	330 000 AE	reale	15% (estate), < LOQ (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
CASTP	74 000 AE con trattam. terz. HRT=26 - 40 h; SRT=10 d	reale	10%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	< 0	Jelic et al., 2011

<i>CASTP</i>	350 000 AE; <i>HRT=20 h; SRT=6 d</i>	reale	20%	Jelic et al., 2011
<i>CASTP</i>	55 000 AE; <i>SRT=10 d, 12 d</i>	reale	5%, -25%	Joss et al., 2005
<i>CASTP</i>	80 000 AE; <i>SRT=21 d, 25 d</i>	reale	-20%, 10 %	Joss et al., 2005
<i>CASTP</i>	109 000 AE coagulaz.-floculaz.; <i>HRT=60 - 120 min</i>	reale	< 5% (estate), < 5% (inverno)	Matamoros e Salvadó, 2013
<i>CASTP</i>	5 impianti: da 464 000 AE a 2 020 000 AE	reale	< LOQ, < 0	Nakada et al., 2006
<i>CASTP</i>	6000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	80 000 AE	reale	10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	180 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	350 000 AE	reale	53%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	575 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	900 000 AE	reale	< 10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	277 000 AE; <i>HRT=11,5 h; SRT=10 d</i>	reale	< 10%	Radjenović et al., 2009
<i>CASTP</i>	385 000 AE	reale	< LOQ	Ternes et al., 2007
<i>CASTP</i>	con canale di ossidaz.	reale	-56%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	con canale di ossidaz.	reale	-23%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	con canale di ossidaz.	reale	-18%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	con clorazione	reale	-33%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	-	reale	-101%, -67%, -43%, -35%, -34%, -21%, -19%	Vieno et al., 2007
<i>CASTP</i>	1 350 000 AE; fanghi attivi e sedim.; <i>HRT=1 h; SRT=0,5 d</i>	reale prim.	da < LOQ a 5%	Wick et al., 2009

<i>CASTP</i>	1 350 000 AE; denitro-nitro e sedim.; <i>HRT=5 h; SRT=18 d</i>	reale sec.	da < <i>LOQ</i> a 15%	Wick et al., 2009
<i>CASTP</i>	2 350 000 AE; fanghi attivi, sedim., denitro-nitro, sedim.	reale	-12%	Wick et al., 2009
<i>CASTP</i>	1 350 000 AE; post-denitrificaz.	reale terz.	da -10% a < <i>LOQ</i>	Wick et al., 2009
Filtrazione:				
<i>MBR</i>	-	reale	60%	Beier et al., 2011
<i>FBR</i>	-	reale prim.	10%	Joss et al., 2005
<i>MF+RO</i>	-	reale sec.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MF+RO+UV</i>	ossidaz. avanzata (con H ₂ O ₂)	reale terz.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MBR</i>	<i>HRT=1 d;</i> <i>SRT=10 - 15 d</i>	reale	20%	Trinh et al., 2012
Fitodepurazione:				
ecosist. fluv.	a valle di <i>WWTP</i>	reale	22%	Castiglioni et al., 2006
<i>CW</i> e UV	lagunaggio (<i>V = 100 000 m³,</i> <i>HRT=27 d</i>) + <i>FS-CW</i> (<i>HRT=1 d</i>) + canale UV	reale	-44% + < <i>LOQ</i> + -26% (tot. -93%)	Conkle et al., 2008
<i>HSSF-CW</i>	5 impianti: da 80 AE a 280 AE	reale	38%±37%	Matamoros et al., 2009
<i>FS-CW</i>	condiz. quasi anossiche; <i>HRT=6 h</i>	reale depurato	70% (maggio), -10% (agosto)	Park et al., 2009
lagunaggio	<i>S = 1550 m²; HRT=4 d;</i> due prove estive (<i>S</i>) e una invernale (<i>W</i>)	reale (de)nitr.	< 0%±11% (<i>S1</i>), < 0%±45% (<i>S2</i>), 25%±28% (<i>W</i>)	Rühmland et al., 2015
lagunaggio	<i>S = 1520 m²;</i> <i>HRT=5,5 d;</i> due prove estive (<i>S</i>)	reale (de)nitr.	15%±17% (<i>S1</i>), < 0%±35% (<i>S2</i>)	Rühmland et al., 2015

<i>VSSF-CW</i>	$S = 1320 m^2$; battente d'acqua; due prove estive e una invernale; $HRT=11 d$	reale (de)nitr.	$< 0\% \pm 16\%$ (S1), $< 0\% \pm 50\%$ (S2), $13\% \pm 0,4\%$ (W)	Rühmland et al., 2015
Altre tecnologie:				
<i>GAC</i>	155 000 ab.	reale	34%	Grover et al., 2011
UV e cloraz.	109 000 AE; $HRT=60 - 120 min$	reale	$< 10\%$ (estate), $< 20\%$ (inverno)	Matamoros e Salvadó, 2013
<i>GAC</i>	40 000 AE	reale ozonato	$> 95\%$	Reungoat et al., 2011
ozonazione	40 000 AE; $HRT=27 h$; $SRT=16 d$	reale	95%	Reungoat et al., 2011

Tabella 2.20: rimozione della carbamazepina in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	SBR: $V = 4 l$; $HRT=1 d$; $SRT=2 d$; aerato	sintetico	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	$V = 8 l$; $HRT=2 d$; $SRT=10 d, 34 d, 68 d$; aeraz. intermitt.	sintetico	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	SBR: $V = 8 l$, $HRT=1 d$, $SRT=4 d, 16 d, 29 d$	reale sec.	< LOQ, -10% , < LOQ	Strenn et al., 2004
CASTP	$V = 2 l$; $HRT=1 d$; condiz. aerobiche (nitrificanti)	reale	6%±12%	Suárez et al., 2010
CASTP	$V = 2 l$; $HRT=1 d$; condiz. anossiche (denitrificanti)	reale	1%±10%	Suárez et al., 2010
CASTP	$V = 100 ml$; $t = 6 d$	sintetico	10%	Tran et al., 2009
Filtrazione:				
MBR	$V = 21 l$; $HRT=7 h$; $SRT=20 - 411 d$	reale prim.	13%	Bernhard et al., 2006
MBR (UF)	$SRT=10 d, 27 d, 56 d$	reale	< LOQ	Clara et al., 2004
MBR	50 AE; $SRT=22 d, 40 d, 82 d$	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
MBR	$HRT=0,5 d$; $SRT=10 d$	reale	12%	Clara et al., 2005b
MBR	$HRT=1,2 d$; $SRT=27 d$	reale	4%	Clara et al., 2005b
MBR	$HRT=4,0 d$; $SRT=55 d$	reale	-13%	Clara et al., 2005b
MBR	$V = 14 l$; $HRT=24 h$; $DO=0,5 mg/l$; $t = 20 d, 25 d, 45 d, 50 d$	reale	15%, 60%, 80%, 70%	Hai et al., 2011a
MBR	$V = 14 l$; $HRT=24 h$; $DO>2 mg/l$; $t = 10 d, 20 d, 25 d$	reale	< LOQ, 10%, 20%	Hai et al., 2011a

<i>MBR</i> (UF)	$SRT > 500 d$; $T = 10^{\circ}C$, $20^{\circ}C$, $35^{\circ}C$, $45^{\circ}C$	sintetico	18%, 35%, 22%, 15%	Hai et al., 2011b
<i>MBR</i>	100 AE; $SRT = 16 d, 33 d, 75 d$	reale prim.	30%, -25%, < LOQ	Joss et al., 2005
filtro a sabbia	-	reale	11%±7% (condiz. normali), 8%±15% (clogging)	Matamoros et al., 2007
<i>MBR</i> (MF)	$HRT = 15 h$	reale	< 10%	Radjenović et al., 2009
<i>MBR</i> (UF)	$HRT = 7 h$	reale	< 10%	Radjenović et al., 2009
filtro a sabbia	-	reale	< LOQ	Reungoat et al., 2011
filtro a sabbia	$DO = 90\%$	reale ozonato	> 95%	Reungoat et al., 2011
<i>MBR</i>	-	reale prim.	> 96%	Snyder et al., 2007
<i>MBR+RO</i>	-	reale prim.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MF</i> + <i>EDR+RO</i>	-	reale terz.	> 99%	Snyder et al., 2007
UF	$V = 1100 l$	reale sec.	16%	Snyder et al., 2007
UF+RO	-	reale sec.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MBR</i> (UF)	$V = 9 l$; $HRT = 24 h$	sintetico	20% - 25%	Tadkaew et al., 2010
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT = 1 d$; pH= 4,3 - 5,0	sintetico	30%	Urase et al., 2005
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT = 1 d$; pH= 6,8 - 7,6	sintetico	< LOQ	Urase et al., 2005
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT = 1 d$; pH= 7,5 - 8,0	sintetico	10%	Urase et al., 2005

Fitodepurazione:				
<i>SWM</i>	$V = 3,49 m^3$; $t = 28 d$	sintetico	88%	Cardinal et al., 2014
<i>Typha</i> sp.	idroponia; $t = 21 d$	sintetico	82% (max.)	Dordio et al., 2011
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; $HRT=2,9 d$	reale prim.	50% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; $HRT=3,3 d$	reale prim.	25% (estate), 10% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; $HRT=6,1 d$	reale prim.	10% (estate), < <i>LOQ</i> (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	non piantumato; $HRT=2,6 d$	reale prim.	< <i>LOQ</i> (estate), 15% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; $HRT=2,5 d$	reale prim.	40% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; $HRT=5,1 d$	reale prim.	20% (estate), 23% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; $HRT=2,1 d$	reale prim.	50% (estate), 35% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; $HRT=37,4 h$	reale prim.	-59%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; $HRT=29,6 h$	reale prim.	1%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; $HRT=54 h$	reale prim.	-12%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	non piantumato; $HRT=41,8 h$	reale prim.	-14%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; $HRT=71,1 h$	reale prim.	-70%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; $HRT=37,8 h$	reale prim.	-8%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; $HRT=37,4 h$	reale prim.	59%	Hijosa-Valsero et al., 2016

VSSF-CW	piantumato con <i>Phragmites</i> sp.	reale	26%±14% (condiz. normali), 20%±4% (clogging)	Matamoros et al., 2007
wetland mesocosm	idroponia; $t = 21 d$	sintetico	64% - 74%	Zhang et al., 2013a
Altre tecnologie:				
cavitaz. acustico- idrocinam.	-	n/d	> 96%	Braeutigam et al., 2012
coag.-floc.	FeCl ₃	reale	< LOQ	Carballa et al., 2005
flottaz.	-	reale	20%	Carballa et al., 2005
flottaz.	-	sintetico	35%	Carballa et al., 2005
cavitaz. idrocinam.	$V = 2,5 l$; con H ₂ O ₂ $t = 15 min + 0,34 g/l$, $t = 15 min + 3,4 g/l$, $t = 30 min + 3,4 g/l$	n/d	1%, 24%, 62%	Dular et al., 2016
UV	3 stadi in serie, ognuno: $V = 35 l$, $HRT=5 min$	reale sec.	10%, 25%, 45%	Kim et al., 2009
UV	$V = 35 l$, $HRT=5 min$; con H ₂ O ₂	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
<i>Trametes versicolor</i>	$t = 7 d$	sintetico	57%, > 70% (pellet)	Marco-Urrea et al., 2009
<i>Ganoderma lucidum</i>	$t = 7 d$	sintetico	46%	Marco-Urrea et al., 2009
<i>Trametes versicolor</i>	assenza di luce; $t = 24 h$	sintetico	50% (1 h), 80% (3 h)	Marco-Urrea et al., 2010
UV	$V = 100 ml$	sintetico	< 5%	Pereira et al., 2007
GAC	-	reale	> 95%	Reungoat et al., 2011
GAC	DO=90%	reale	> 95%	Reungoat et al., 2011
GAC	-	reale ozonato	> 95%	Reungoat et al., 2011

<i>GAC</i>	$DO=90\%$	reale ozonato	$> 95\%$	Reungoat et al., 2011
<i>PAC</i>	$V = 1,5 l;$ $[PAC]=5 mg/l$	acqua di sorg.	70% - 75%	Snyder et al., 2007
<i>PAC</i>	$[PAC]=5 mg/l$	acqua di sorg.	35% - 40%	Snyder et al., 2007
<i>PAC</i>	$[PAC]=35 mg/l$	acqua di sorg.	$> 95\%$	Snyder et al., 2007
<i>NAS</i>	$V = 100 ml ;$ $[N-NH_4^+] = 100 mg/l ;$ $t = 6 d$	reale	35%	Tran et al., 2009
mix di batteri	$V = 2 l; t = 5 d$	sintetico	4%	Vasiliadou et al., 2013

Tabella 2.21: rimozione della carbamazepina in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.5 Rimozione diclofenac (DCF)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	80 000 AE	reale	22%	Bendz et al., 2005
CASTP	3000 AE; SRT=52 d, 114 d, 237 d	reale	47%, 53%, 63%	Clara et al., 2004
CASTP	6000 AE; SRT=42 d, 182 d, 550 d	reale	20% - 40%	Clara et al., 2005a
CASTP	135 000 AE; SRT=48 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	167 000 AE; SRT=0,6 d, 19 d	reale	< 20%, 20% - 40%	Clara et al., 2005a
CASTP	2 500 000 AE; SRT=2 d	reale	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	3000 AE; HRT=12,5 d; SRT=237 d	reale	63%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 EA; HRT=13,3 d; SRT=114 d	reale	53%	Clara et al., 2005b
CASTP	3000 AE; HRT=16,6 d; SRT=52 d	reale	47%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=0,08 d; SRT=2 d; ad alto carico org. (rimoz. carbonio)	reale	7%	Clara et al., 2005b
CASTP	HRT=1,20 d; SRT=46 d; a basso carico org. (rimoz. nutrienti)	reale	14%	Clara et al., 2005b
CASTP	330 000 AE; HRT=6 h	reale	-16%	Hijosa-Valseo et al., 2010a
CASTP	330 000 AE	reale	< LOQ (sia estate sia inverno)	Hijosa-Valseo et al., 2010b
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26 - 40 h; SRT=10 d	reale	60%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	10%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	24%	Jelic et al., 2011

<i>CASTP</i>	55 000 <i>AE</i> ; <i>SRT</i> =10 <i>d</i> , 12 <i>d</i>	reale	35%, 20%	Joss et al., 2005
<i>CASTP</i>	80 000 <i>AE</i> ; <i>SRT</i> =21 <i>d</i> , 25 <i>d</i>	reale	30%, 35%	Joss et al., 2005
<i>CASTP</i>	<i>HRT</i> =13 <i>h</i>	fogna mista	70%	Kimura et al., 2005
<i>CASTP</i>	7 impianti: 3000 <i>AE</i> , 8000 <i>AE</i> , 40 000 <i>AE</i> , 70 000 <i>AE</i> , 150 000 <i>AE</i> , 163 000 <i>AE</i> , 740 000 <i>AE</i>	reale	23%, 32%, 25%, 15%, 9%, 60%, 15%	Lindqvist et al., 2005
<i>CASTP</i>	109 000 <i>AE</i> ; coagulaz.-floculaz. (terz.); <i>HRT</i> =60 - 120 <i>min</i>	reale	< 15% (estate), < 5% (inverno)	Matamoros e Salvadó, 2013
<i>CASTP</i>	6000 <i>AE</i>	reale	< 10%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	80 000 <i>AE</i>	reale	22%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	180 000 <i>AE</i>	reale	80%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	350 000 <i>AE</i>	reale	39%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	575 000 <i>AE</i>	reale	25%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	900 000 <i>AE</i>	reale	11%	Paxéus, 2004
<i>CASTP</i>	277 000 <i>AE</i> ; <i>HRT</i> =11,5 <i>h</i> ; <i>SRT</i> =10 <i>d</i>	reale	22%±29%	Radjenović et al., 2009
<i>CASTP</i>	32 700 <i>AE</i> ; vasca di aeraz.	reale	< 0	Salgado et al., 2012
<i>CASTP</i>	25 000 <i>AE</i> ; <i>HRT</i> =24 <i>h</i> ; <i>SRT</i> =10 <i>d</i> ; con filtraz. a sabbia (terz.)	reale	51%	Singer et al., 2010
<i>CASTP</i>	23 000 <i>AE</i>	reale	< <i>LOQ</i>	Tauxe-Wuersch et al., 2005
<i>CASTP</i>	29 000 <i>AE</i>	reale	< <i>LOQ</i>	Tauxe-Wuersch et al., 2005
<i>CASTP</i>	220 000 <i>AE</i> ; con carboni attivi (terz.)	reale	< <i>LOQ</i>	Tauxe-Wuersch et al., 2005

Filtrazione:				
<i>MBR</i>	-	reale	70%	Beier et al., 2011
filtro a sabbia	2 impianti: 4 - 5 <i>AE</i>	reale	82%	Matamoros et al., 2009
<i>MF+RO</i>	-	reale sec.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MF+RO+UV</i>	-	reale terz.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MBR</i>	-	reale	50%	Sui et al., 2011
<i>MBR</i>	<i>HRT=1 d;</i> <i>SRT=10 - 15 d</i>	reale	45%	Trinh et al., 2012
Fitodepurazione:				
<i>CW</i>	184 ab.; (fossa settica + <i>FP (HRT=75,9 d)</i> + <i>SF-CW (HRT=1,2 d)</i> + <i>SSF-CW (HRT=5,7 d)</i>	reale	67% + 5% + 30% (tot. 78%)	Hijosa-Valsero et al., 2010a
<i>CW</i>	186 ab.; <i>FP (HRT=4,21 d)</i> + <i>SF-CW (HRT=3,53 d)</i> + <i>SSF-CW (HRT=3,16 d)</i>	reale	72% + > 23% + > 36% (tot. > 86%)	Hijosa-Valsero et al., 2010a
<i>HSSF-CW</i>	5 impianti: da 80 <i>AE</i> a 280 <i>AE</i>	reale	21%±118%	Matamoros et al., 2009
<i>FS-CW</i>	condiz. quasi anossiche; <i>HRT=6 h</i>	reale depurato	90% (maggio), 40% (agosto)	Park et al., 2009
lagunaggio	<i>S = 1520 m²; HRT=5,5 d;</i> due prove estive (<i>S</i>)	reale (de)nitr.	65±8% (<i>S1</i>), 71±5% (<i>S2</i>)	Rühmland et al., 2015
lagunaggio	<i>S = 1550 m²; HRT=4 d;</i> due prove estive (<i>S</i>) e una invernale (<i>W</i>)	reale (de)nitr.	82±4% (<i>S1</i>), 81±6% (<i>S2</i>), 50±10% (<i>W</i>)	Rühmland et al., 2015
lagunaggio	<i>S = 1550 m²;</i> profondità = 0,5 m; <i>t = 6 d</i>	reale (de)nitr.	97%	Rühmland et al., 2015
<i>VSSF-CW</i>	<i>S = 1320 m²;</i> battente d'acqua; <i>HRT=11 d;</i> due prove estive (<i>S</i>) e una invernale (<i>W</i>)	reale (de)nitr.	20±19% (<i>S1</i>), 35±11% (<i>S2</i>), 20±19% (<i>W</i>)	Rühmland et al., 2015

Altre tecnologie:

<i>GAC</i>	155 000 ab.	reale	>99%	Grover et al., 2011
UV e cloraz.	109 000 <i>AE</i> ; <i>HRT</i> =60 - 120 <i>min</i>	reale	75% (estate), 90% (inverno)	Matamoros e Salvadó, 2013
<i>GAC</i>	40 000 <i>AE</i>	reale ozonato	90% - 95%	Reungoat et al., 2011
ozonazione	40 000 <i>AE</i> ; <i>HRT</i> =27 <i>h</i> ; <i>SRT</i> =16 <i>d</i>	reale	90% - 95%	Reungoat et al., 2011

Tabella 2.22: rimozione del diclofenac in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	SBR: $V = 4 l$; $HRT=1 d$; SRT=2 d; aerato	sintetico	< 20%	Clara et al., 2005a
CASTP	$V = 8 l$; $HRT=2 d$; SRT=10 d, 34 d, 68 d; aeraz. intermitt.	sintetico	20% - 40% (SRT=10 d); < 20% (SRT= 34 d,68 d)	Clara et al., 2005a
CASTP	SBR: $V = 8 l$, $HRT=1 d$, SRT=4 d, 16 d, 29 d	reale sec.	25%, 10%, < LOQ	Strenn et al., 2004
CASTP	$V = 2 l$; $HRT=1 d$; condizioni aerobiche (nitrificanti)	reale	22%±28%	Suárez et al., 2010
CASTP	$V = 2 l$; $HRT=1 d$; condizioni anossiche (denitrificanti)	reale	2%±5%	Suárez et al., 2010
CASTP	$V = 100 ml$; $t = 6 d$	sintetico	35%	Tran et al., 2009
CASTP	$V = 25 l$; $t = 55 h$	sintetico	1% - 6%	Zwiener e Frimmel, 2003
Filtrazione:				
MBR	$V = 21 l$; $HRT=7 h$; SRT=322 d, 337 d, 347 d, 363 d, 376 d, 386 d, 396 d, 411 d	reale prim.	53%, 58%, 64%, 28%, 59%, 56%, 68%, 68%	Bernhard et al., 2006
MBR	$V = 21 l$; $HRT=10 h$; SRT=230 d, 260 d, 306 d	reale prim.	78%, 60%, 58%	Bernhard et al., 2006
MBR (UF)	SRT>500 d; $T = 10 ^\circ C$, $20 ^\circ C$, $35 ^\circ C$, $45 ^\circ C$	sintetico	50%, 25%, 50%, 32%	Hai et al., 2011b
MBR	100 AE; SRT=16 d, 33 d, 75 d	reale prim.	35%, 40%, 15%	Joss et al., 2005
MBR (MF)	$HRT=9 h$	fogna mista	40%	Kimura et al., 2005

filtro a sabbia	-	reale	76%±7% (condiz. normali), 39%±22% (clogging)	Matamoros et al., 2007
<i>MBR</i>	$V = 21 l$; $HRT=10 h$; $SRT=37 d$	reale prim.	23%±30%	Quintana et al., 2005
<i>MBR</i> (MF)	$HRT=15 h$	reale	66%±13%	Radjenović et al., 2009
<i>MBR</i> (UF)	$HRT=7 h$	reale	63%±18%	Radjenović et al., 2009
filtro a sabbia	-	reale	25%	Reungoat et al., 2011
filtro a sabbia	$DO=90\%$	reale ozonato	> 95%	Reungoat et al., 2011
<i>MBR</i>	-	reale prim.	> 38%	Snyder et al., 2007
<i>MBR+RO</i>	-	reale prim.	> 99%	Snyder et al., 2007
UF	$V = 1100 l$	reale sec.	3%	Snyder et al., 2007
UF+RO	-	reale sec.	> 99%	Snyder et al., 2007
<i>MBR</i> (UF)	$V = 9 l$; $HRT=24 h$; $pH=5, 6, 7, 8, 9$	sintetico	45%, 20%, < LOQ ($pH \geq 7,0$)	Tadkaew et al., 2010
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT=1 d$; $pH=4,3 - 5,0$	sintetico	95%	Urase et al., 2005
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT=1 d$; $pH=6,8 - 7,6$	sintetico	15%	Urase et al., 2005
<i>MBR</i>	$V = 15 l$; $HRT=1 d$; $pH=7,5 - 8,0$	sintetico	20%	Urase et al., 2005
Fitodepurazione:				
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp. gallegg.; $HRT=2,9 d$	reale prim.	50% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; $HRT=3,3 d$	reale prim.	< LOQ (estate), 22% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; $HRT=6,1 d$	reale prim.	40% (estate), 25% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b

<i>SSF-CW</i>	non piantumato; <i>HRT=2,6 d</i>	reale prim.	< <i>LOQ</i> (estate), 10% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; <i>HRT=2,5 d</i>	reale prim.	35% (estate), 20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; <i>HRT=5,1 d</i>	reale prim.	< <i>LOQ</i> (estate), 40% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; <i>HRT=2,1 d</i>	reale prim.	< <i>LOQ</i> (estate), 25% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>SF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp. gallegg.; <i>HRT=37,4 h</i>	reale prim.	-2%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; <i>HRT=29,6 h</i>	reale prim.	-2%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SF-CW</i>	<i>Typha</i> sp. gallegg.; <i>HRT=37,4 h</i>	reale prim.	-88%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	battente d'acqua; <i>HRT=54 h</i>	reale prim.	-2%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	non piantumato; <i>HRT=41,8 h</i>	reale prim.	-73%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	<i>Phragmites</i> sp.; <i>HRT=71,1 h</i>	reale prim.	-17%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>SSF-CW</i>	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; <i>HRT=37,8 h</i>	reale prim.	-85%	Hijosa-Valsero et al., 2016
<i>HSSF-CW</i>	200 <i>AE</i>	reale prim.	da < <i>LOQ</i> a 45%	Matamoros e Bayona, 2006
<i>VSSF-CW</i>	piantumato con <i>Phragmites</i> sp.	reale	73%±3% (condiz. normali), 53%±2% (<i>clogging</i>)	Matamoros et al., 2007
<i>wetland mesocosm</i>	idroponia; <i>t = 7 d</i>	sintetico	80% (fotodegradaz.)	Zhang et al., 2012
Altre tecnologie:				
coag.-floc.	-	reale	50% - 70%	Carballa et al., 2005
flottaz.	-	reale	20%	Carballa et al., 2005
flottaz.	-	sintetico	40% - 45%	Carballa et al., 2005

cavitaz. idrodinam.	$V = 2,5 l$; con H_2O_2 $t = 15 \text{ min} + 0,34 \text{ g/l}$, $t = 15 \text{ min} + 3,4 \text{ g/l}$, $t = 30 \text{ min} + 3,4 \text{ g/l}$	-	26%, 45%, 79%	Dular et al., 2016
UV	3 stadi in serie, ognuno: $V = 35 l$, $HRT=5 \text{ min}$	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
UV	$V = 35 l$, $HRT=5 \text{ min}$; con H_2O_2	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
GAC	-	reale	90%	Reungoat et al., 2011
GAC	$DO=90\%$	reale	> 95%	Reungoat et al., 2011
GAC	-	reale ozonato	90%	Reungoat et al., 2011
GAC	$DO=90\%$	reale ozonato	> 95%	Reungoat et al., 2011
PAC	$V = 1,5 l$; $[PAC]=5 \text{ mg/l}$	acqua di sorg.	35% - 40%	Snyder et al., 2007
PAC	$[PAC]=5 \text{ mg/l}$	acqua di sorg.	< LOQ	Snyder et al., 2007
PAC	$[PAC]=35 \text{ mg/l}$	acqua di sorg.	85%	Snyder et al., 2007
NAS	$V = 100 \text{ ml}$	reale	75%	Tran et al., 2009
BFR	pietra pomice; $t = 48 \text{ h}$	reale e sintetico	1% - 4% (condiz. ossiche); 34% - 38% (condiz. anossiche)	Zwiener e Frimmel, 2003

Tabella 2.23: rimozione del diclofenac in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.6 Rimozione ketoprofene (KET)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	80 000 AE	reale	65%	Bendz et al., 2005
CASTP	330 000 AE	reale	33% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26 - 40 h; SRT=10 d	reale	80%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	95%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	70%	Jelic et al., 2011
CASTP	7 impianti: 3000 AE, 8000 AE, 40 000 AE, 70 000 AE, 150 000 AE, 163 000 AE, 740 000 AE	reale	> 99%, 51%, 90%, 98%, 71%, 76%, 63%	Lindqvist et al., 2005
CASTP	trattamento terz.	reale	< 5%	Matamoros e Salvadó, 2013
CASTP	5 impianti: trattamento prim. e sec.	reale	15% - 70%	Nakada et al., 2006
CASTP	5 impianti: trattamento sec.	reale	< 50%	Nakada et al., 2006
CASTP	277 000 AE; HRT=11,5 h; SRT=10 d	reale	55%±20%	Radjenović et al., 2009
CASTP	sedimentaz. primaria: HRT=0,5 - 1,6 h	reale	4%	Vieno et al., 2007
CASTP	sedimentaz. primaria: HRT=2,5 - 3,4 h	reale	3%	Vieno et al., 2007
CASTP	sedimentaz. primaria: HRT=3,9 - 5,2 h	reale	12%, 45%, 47%	Vieno et al., 2007
Filtrazione:				
MBR	-	reale	> 90%	Trinh et al., 2012

Fitodepurazione:

<i>CW</i>	184 ab.; (fossa settica + <i>FP</i> ($HRT=75,9$ d)) + <i>SF-CW</i> ($HRT=1,2$ d) + <i>SSF-CW</i> ($HRT=5,7$ d))	reale	67% + 36% + > 9% (tot. > 81%)	Hijosa-Valseiro et al., 2010a
<i>HSSF-CW</i>	5 impianti: da 80 <i>AE</i> a 280 <i>AE</i>	reale	90%	Matamoros et al., 2009

Altre tecnologie:

<i>CASTP</i>	letto filtrante e clorazione UV	reale	90%±2%	Matamoros e Salvadó, 2013
--------------	---------------------------------	-------	--------	---------------------------------

Tabella 2.24: rimozione del ketoprofene in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Filtrazione:				
MBR	$T = 10^\circ C, 20^\circ C,$ $35^\circ C, 45^\circ C$	sintetico	60%, 50%, 55%, 40%	Hai et al., 2011b
MBR	-	reale prim.	$62\% \pm 21\%$	Quintana et al., 2005
MBR (MF)	$HRT=15 h$	reale	$44\% \pm 28\%$	Radjenović et al., 2009
MBR (UF)	$HRT=7 h$	reale	$44\% \pm 21\%$	Radjenović et al., 2009
MBR (UF)	$V = 9 l; HRT=24 h;$ $pH=5, 6, 7, 8, 9$	sintetico	90%, 65%, 4%, 15%, 65%	Tadkaew et al., 2010
MBR	$V = 15 l; HRT=1 d;$ $pH=4,3 - 5,0$	sintetico	70%	Urase et al., 2005
MBR	$V = 15 l; HRT=1 d;$ $pH=6,8 - 7,6$	sintetico	15%	Urase et al., 2005
MBR	$V = 15 l; HRT=1 d;$ $pH=7,5 - 8,0$	sintetico	10%	Urase et al., 2005
Fitodepurazione:				
SF-CW	<i>Phragmites</i> sp. gallegg.; $HRT=2,9 d$	reale prim.	30% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
SF-CW	<i>Typha</i> sp.; $HRT=3,3 d$	reale prim.	45% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
SSF-CW	battente d'acqua; $HRT=6,1 d$	reale prim.	45% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
SSF-CW	<i>Phragmites</i> sp.; $HRT=2,5 d$	reale prim.	20% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
SSF-CW	non piantumato; $HRT=2,6 d$	reale prim.	10% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
SSF-CW	<i>Typha</i> sp.; battente d'acqua; $HRT=5,1 d$	reale prim.	50% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
<i>Typha</i> sp.	piante gallegg.; $HRT=2,1 d$	reale prim.	37% (inverno)	Hijosa-Valsero et al., 2010b
HSSF-CW	200 AE	reale prim.	< LOQ - 69%	Matamoros e Bayona, 2006

<i>HRAP</i>	<i>HRT=4 d</i>	reale	87%±6% (estate), 50%±17% (inverno)	Matamoros et al., 2015
<i>HRAP</i>	<i>HRT=8 d</i>	reale	95%±4% (estate), 75%±9% (inverno)	Matamoros et al., 2015
Altre tecnologie:				
UV	3 stadi in serie, ognuno: <i>V = 35 l, HRT=5 min</i>	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
UV	<i>V = 35 l, HRT=5 min;</i> con H ₂ O ₂	reale sec.	> 90%	Kim et al., 2009
<i>Trametes versicolor</i>	<i>V = 25 ml; t = 5 h, 24 h</i>	sintetico	95%, > 99%	Marco-Urrea et al., 2010
UV	<i>V = 100 ml</i>	sintetico	80%	Pereira et al., 2007

Tabella 2.25: rimozione del ketoprofene in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.7 Rimozione ranitidina (RAN)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	-	reale	72% - 89% (estate), da < LOQ a 76% (inverno)	Castiglioni et al., 2006
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26 - 40 h; SRT=10 d	reale	45%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	70%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	20%	Jelic et al., 2011
CASTP	277 000 AE; HRT=11,5 h; SRT=10 d	reale	25%±45%	Radjenović et al., 2009

Tabella 2.26: rimozione della ranitidina in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Filtrazione:				
MBR (MF)	HRT=15 h	reale	44%±30%	Radjenović et al., 2009
MBR (UF)	HRT=7 h	reale	30%±48%	Radjenović et al., 2009
Fitodepurazione:				
<i>Aspergillus niger</i>	$t = 3 d$	sintetico	20%±13%	Bodin et al., 2016
biopellet	<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Aspergillus niger</i> ; $t = 3 d$	sintetico	50%±19%	Bodin et al., 2016
Altre tecnologie:				
mix di batteri	$V = 2 l; t = 5 d$	sintetico	21%	Vasiliadou et al., 2013

Tabella 2.27: rimozione della ranitidina in impianti pilota e a scala di laboratorio; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.7.8 Rimozione salbutamolo (SAL)

Tecnologia	Set-up o comparto specifico	Refluo	$\bar{R} \pm \sigma_R$	Fonte
Fanghi attivi:				
CASTP	-	reale	da < LOQ a 12% (estate), < LOQ (inverno)	Castiglioni et al., 2006
CASTP	74 000 AE; con trattam terz. HRT=26 - 40 h; SRT=10 d	reale	45%	Jelic et al., 2011
CASTP	250 000 AE; HRT=40 h; SRT=16 d	reale	45%	Jelic et al., 2011
CASTP	350 000 AE; HRT=20 h; SRT=6 d	reale	55%	Jelic et al., 2011

Tabella 2.28: rimozione del salbutamolo in impianti a scala reale; \bar{R} indica la rimozione media, mentre σ_R è l'eventuale deviazione standard riportata dagli autori

2.8 Discussione

Gli articoli considerati riguardanti impianti a scala reale studiano la rimozione dei farmaci con tecnologie convenzionali (principalmente fanghi attivi, sistemi *MBR*, impianti di fitodepurazione e lagunaggi), quindi non progettate con l'obiettivo di abbattere tali composti.

Dalla letteratura analizzata, in generale si osservano alte percentuali di rimozione di caffeina e ketoprofene. Tranne poche eccezioni, emerge che la carbamazepina è un composto è recalcitrante e addirittura in alcuni casi si registra un aumento di concentrazione a seguito della trasformazione retrograda di alcuni metaboliti e di altri prodotti del metabolismo umano. Il diclofenac è rimosso in maniera molto variabile, a seconda della tipologia di tecnica depurativa.

Nei processi di tipo biologico alcuni farmaci possono andare in contro a biodegradazione per via cometabolica. Questo significa che i contaminanti che sono difficilmente degradabili tramite un processo biologico aerobico diretto vengono rimossi grazie alla presenza di enzimi (in particolare la mono-ossigenasi) rilasciati durante l'ossidazione di altri composti utilizzati per la sintesi dai microrganismi. Gli enzimi coinvolti presentano generalmente una bassa selettività, quindi assieme alla metabolizzazione dei nutrienti sarà incentivata anche la biodegradazione di altre sostanze. I composti clorurati sono un esempio di contaminanti soggetti a degradazione cometabolica, che è quindi un ulteriore processo responsabile dell'abbattimento di bezafibrato e diclofenac in sistemi come vasche a fanghi attivi e fitodepurazione.

Si discutono qui di seguito le rimozioni dei vari composti a seconda delle tecnologie esaminate, avanzando alcune possibili spiegazioni della loro efficienza di rimozione:

- **CASTP**: i sistemi a fanghi attivi presentano una rimozione di farmaci molto variegata. I composti meno idrofili (bezafibrato, diclofenac e ketoprofene) hanno mostrato rimozioni talvolta molto elevate, probabilmente a causa dell'adesione alla componente solida fioccosa e colloidale dei fanghi; in questo modo oltre alla mera rimozione meccanica nel sedimentatore secondario si può ipotizzare una maggiore biodegradazione a causa del tempo di contatto più elevato con il fango stesso. I bassi abbattimenti di diclofenac che si sono rilevati in alcuni casi, possono essere dovuti alla trasformazione retrograda del suo metabolita più comune (4'-OH-DCF); la cinetica di questa reazione potrebbe essere più rapida della biodegradazione di DCF portando quindi ad un bilancio totale che propende per l'aumento di concentrazione della molecola parentale. La concentrazione della molecola da rimuovere è sembrata essere in alcuni casi un parametro non trascurabile per la biodegradazione dei farmaci: se il quantitativo presente è molto esiguo i microrganismi non

sono incentivati ad utilizzarlo nelle proprie attività metaboliche (meccanismo della limitazione da substrato) vista la grande disponibilità di altre sostanze all'interno del refluo (Fewson, 1988). Questo aspetto potrebbe spiegare le alte rimozioni della caffeina, che è marcatamente idrofila e presente in grandi quantità nei reflui. Infine se si sovrappone l'effetto della concentrazione iniziale al tempo di ritenzione idraulica si può ipotizzare che una volta esaurite le fonti di nutrimento principali, i microrganismi comincino a nutrirsi degli altri composti disponibili. Per quanto riguarda i composti idrofobi invece si può ipotizzare che vengano rimossi meglio con alti *SRT*, grazie all'accumulo all'interno dei fanghi;

- **filtrazione su membrana:** dal punto di vista biochimico le alte rimozioni riscontrate per i farmaci meno idrofili sono essenzialmente dovute alle stesse cause viste nel caso dei sistemi a fanghi attivi. Gli effetti più importanti si hanno dal punto di vista meccanico: per quanto riguarda i sistemi *MBR* (che usano per lo più microfiltrazione e ultrafiltrazione) i farmaci possono essere asportati assieme ai fanghi dal refluo trattato, soprattutto i meno idrofili. Nel caso dei trattamenti di affinamento dell'effluente, come nanofiltrazione ed osmosi inversa, si ha invece una rimozione pressoché totale; questo risultato però non è sorprendente, dal momento che sono sistemi utilizzati per rimuovere molecole anche più piccole e idrofile (come i sali disciolti);
- **fitodepurazione e lagunaggi:** nel complesso dimostra alte efficienze di rimozione per tutti i farmaci, in particolar modo a scala reale; fa eccezione la carbamazepina, che è recalcitrante e talvolta mostra degli aumenti di concentrazione. In alcuni letti filtranti pilota a flusso superficiale e sub-superficiale si riscontrano efficienze minori in inverno che in estate (Hijosa-Valsero et al., 2010b); molto probabilmente il motivo risiede nell'effetto scala dei piloti, che non permette una coibentazione ottimale e il refluo risente così maggiormente delle variazioni di temperatura a discapito delle cinetiche di reazione. Inoltre nei sistemi a scala reale, in particolare i lagunaggi, si possono avere alte rimozioni grazie ai lunghi *HRT*, all'eterogeneità di condizioni (come aerobiosi e anossia) e alla biodiversità microbica (Norvill et al., 2016). Infine, in presenza di un battente d'acqua in superficie la depurazione (sia con lagunaggi sia con letti granulari) è resa ancora più performante dalla presenza di irraggiamento diretto da parte del sole; infatti se l'acqua non presenta una torbidità eccessiva si può avere la fotolisi diretta dei composti fotodegradabili e una maggiore biodegradazione dovuta alla presenza di specie fotosintetizzanti (come le macrofite galleggianti e vari generi di alghe);

- **foto-degradazione:** alcuni farmaci, come diclofenac e ketoprofene, sono molto soggetti alla degradazione per via diretta (fotolisi), mentre per altri composti, come la carbamazepina, la presenza delle sole radiazioni UV non è sufficiente per avere foto-degradazione ma sono necessari anche agenti ossidanti forti, i cui radicali promuovono reazioni di foto-ossidazione, assieme all'ossidazione chimica propriamente detta.

Quando è presente un processo di ossidazione avanzata nella filiera di trattamento (come l'aggiunta di H₂O₂ e ozono) si assiste ad un ottimo abbattimento dei composti più recalcitranti come la carbamazepina (Snyder et al., 2007). Tali processi degradativi sono resi ancor più efficienti se accoppiati ad irraggiamento UV, poiché facilita la formazione di radicali liberi (singoletti dell'ossigeno e radicali idrossile). Questi ultimi sono agenti ossidanti molto forti e non selettivi che vanno a legarsi rapidamente ai composti presenti producendo derivati deidrogenati e idrossilati (Marco-Urrea et al., 2010). Con i processi ad ossidazione avanzata che impieghino anche irraggiamento UV quindi l'effetto ossidativo si somma sinergicamente a quello puramente foto-degradativo. Come effetto laterale queste tecnologie possono però portare alla formazione di macromolecole tramite reazioni di polimerizzazione (Die Deutsche Bibliothek, 1999) o di altri prodotti tossici non facilmente biodegradabili (Adamczak et al., 2012).

Dallo studio dello stato dell'arte si può dedurre che la fitodepurazione può essere l'alternativa più efficiente e più a basso consumo energetico ed impatto ambientale tra le varie tecnologie analizzate.

Ad oggi i fanghi attivi sono la tecnologia depurativa più diffusa, anche nel caso di piccoli impianti. Le rimozioni dei farmaci riportate per i sistemi di fitodepurazione sono state confrontate con quelle operate dalla depurazione convenzionale a fanghi attivi (figura 2.8 e tabella 2.29); sono state omesse le rimozioni di ranitidina e salbutamolo per via dell'esiguo numero di dati.

Il grafico è stato costruito riportando in ascissa le efficienze di rimozione dei sistemi a fanghi attivi e in ordinata quelle degli impianti di fitodepurazione; in questo modo a seconda di dove il punto si posiziona rispetto alla bisettrice si può verificare quale sia in media la tecnologia che meglio rimuove il farmaco in questione. Dalla figura 2.8 si nota come le rimozioni medie si assestino quasi tutte a sinistra della bisettrice, ad indicare una maggiore efficienza degli impianti di fitodepurazione; in tutti i casi le deviazioni standard sono molto elevate. Inoltre dalla figura 2.8 emerge che caffeina e ketoprofene sono i due farmaci rimossi in maggior quantità con percentuali di rimozione media superiori al 73%, mentre carbamazepina e diclofenac presenta percentuali di rimozione che non superano in media il 51%.

Farmaco	CASTP		CW	
	$\bar{R} \pm \sigma_R$	n	$\bar{R} \pm \sigma_R$	n
Atenololo	43% \pm 26%	39	85% \pm 19%	7
Bezafibrato	63% \pm 30%	29	56% \pm 21%	5
Caffeina	78% \pm 28%	5	96% \pm 4%	13
Carbamazepina	7% \pm 10%	56	20% \pm 22%	16
Diclofenac	27% \pm 21%	48	51% \pm 30%	18
Ketoprofene	73% \pm 20%	13	89% \pm 4%	6

Tabella 2.29: rimozioni medie di ogni farmaco (con rispettiva deviazione standard) riscontrate negli articoli citati. Gli aumenti di concentrazione sono stati considerati come rimozioni nulle (0% ai fini del calcolo della rimozione media); n indica la molteplicità di dati

Viste le basse percentuali di rimozione che sono state riportate in letteratura e i numerosi studi eseguiti per indagare la rimozione di carbamazepina e diclofenac, sono stati scelti questi due farmaci per condurre un'ulteriore ricerca più approfondita riguardante la loro rimozione durante esperimenti eseguiti a scala di laboratorio.

Lo scopo è quello di realizzare uno studio approfondito con una campagna di analisi su impianti a scala reale e su reattori a scala di laboratorio per chiarire meglio i meccanismi di rimozione dei due farmaci e determinare se la loro presenza in certe concentrazioni possa influire sull'attività depurativa. In questo modo si può verificare anche se i valori trovano riscontro nella letteratura esistente, soprattutto per quanto riguarda l'influenza dell'*HRT* nella scelta dei campionamenti in sede di campagna di analisi.

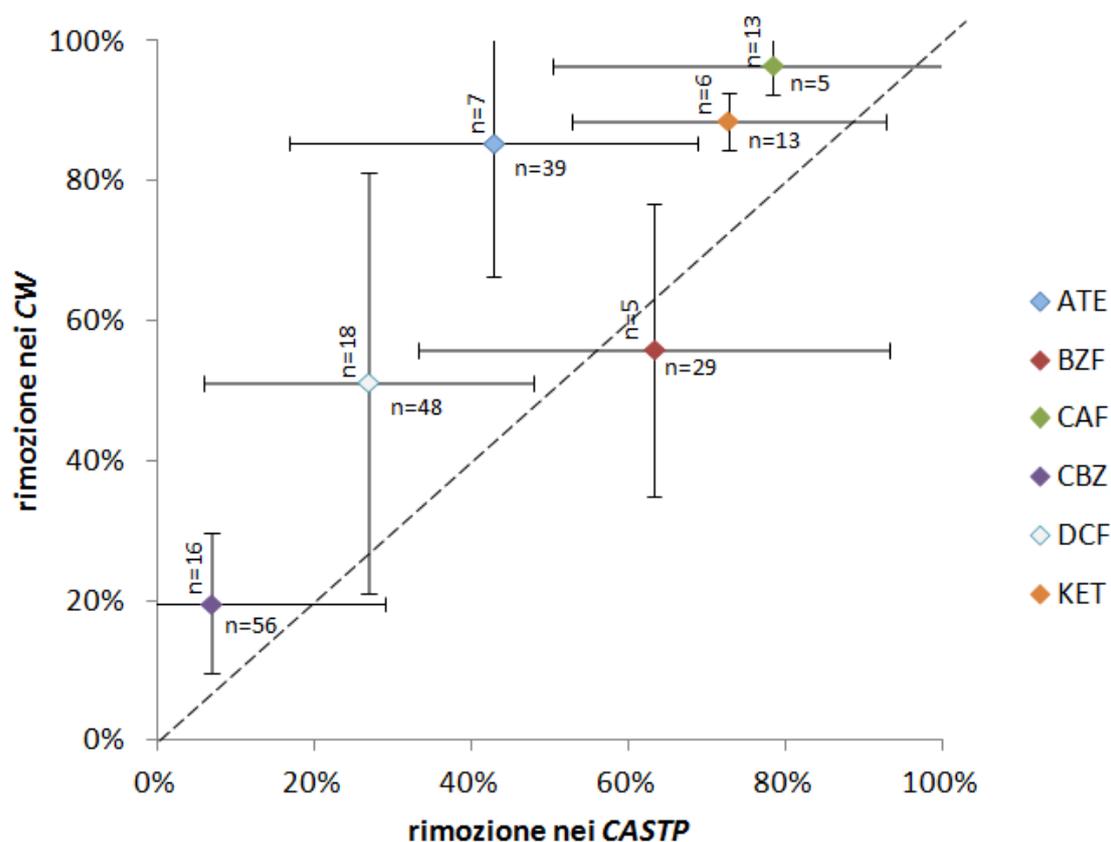


Figura 2.8: confronto tra l'efficienza dei sistemi a fanghi attivi (in ascissa) e dei sistemi di fitodepurazione (in ordinata) nella rimozione dei farmaci considerando i dati raccolti dalla letteratura; il grafico mostra per ogni farmaco la rimozione media e la rispettiva deviazione standard desunte dalla letteratura e riguardanti i soli impianti a scala reale; sono stati omessi il valore più alto ed il valore più basso di rimozione per ogni farmaco. Gli aumenti di concentrazione sono stati considerati come rimozioni nulle (0% ai fini del calcolo della rimozione media); accanto alla deviazione standard illustrata relativamente ad ogni media è indicata con n la molteplicità di dati con cui si sono calcolati tali valori; la linea tratteggiata indica una pari efficienza dei due sistemi depurativi

2.9 Indagine approfondita

È stata approfondita la ricerca bibliografica dove sono stati studiati gli esperimenti a scala di laboratorio in cui si fossero simulate le rimozioni biologiche di carbamazepina e diclofenac che possono verificarsi durante i trattamenti della fitodepurazione.

2.9.1 Esperimenti con alghe unicellulari

Sono stati considerati gli studi che analizzano la rimozione di diclofenac e carbamazepina ad opera di alghe unicellulari (tabella 2.30 e 2.31); la ricerca si è focalizzata in particolare sulle modalità di esecuzione dell'esperimento: specie utilizzate, concentrazione iniziale di farmaco e tipo di refluo (reale o substrato sintetico). In tutti gli esperimenti si ha la presenza di luce naturale o artificiale (continua o ciclica) e in alcuni casi sono stati realizzati dei reattori di controllo al buio per quantificare la rimozione abiotica.

Bioreattore	Set-up	Substrato	\bar{R} [%]	Fonte
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	$V = 600 \text{ ml}$; $1 \times 10^3 \text{ cell/ml}$; $t = 96 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 2,1 \mu\text{g/l}$	<i>Bold's Basal Medium</i>	< LOQ	Andreozzi et al., 2002
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	$V = 600 \text{ ml}$; $1 \times 10^4 \text{ cell/ml}$; $t = 96 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 20 \text{ mg/l}$	<i>Bold's Basal Medium</i>	< LOQ	Andreozzi et al., 2002
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	$V = 1 \text{ l}$; $1 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 25^\circ \text{C}$; $t = 60 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 19 \text{ mg/l}$	<i>Bold's Basal Medium</i>	50%	Andreozzi et al., 2002
<i>Selenastrum capricornutum</i>	$V = 600 \text{ ml}$; $1 \times 10^3 \text{ cell/ml}$; $t = 96 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 2,1 \mu\text{g/l}$	<i>Bold's Basal Medium</i>	< LOQ	Andreozzi et al., 2002
<i>Selenastrum capricornutum</i>	$V = 600 \text{ ml}$; $1 \times 10^4 \text{ cell/ml}$; $t = 96 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 20 \text{ mg/l}$	<i>Bold's Basal Medium</i>	< LOQ	Andreozzi et al., 2002
<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 200 \text{ ml}$; $50 \pm 16 \text{ mg/l}$ di alga (peso secco); $t = 3 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 11 \mu\text{g/l}$	refluo sintetico + $6,7 \text{ g/l}$ di glucosio	< LOQ	Bodin et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35^\circ \text{C}$; $t = 31 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 117 \pm 17 \mu\text{g/l}$	urina sintetica + ferro e micronutrienti	< LOQ	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35^\circ \text{C}$; $t = 31 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 117 \pm 17 \mu\text{g/l}$	AnBW da WWTP	30% (10 d) 10% (31 d)	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35^\circ \text{C}$; $t = 23 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 117 \pm 17 \mu\text{g/l}$	urina umana	20%	de Wilt et al., 2016

<i>Chlorella</i> spp. e <i>Scenedesmus</i> spp.	<i>batch</i> ; $V = 2\text{ l}$; $T = 23 \pm 5^\circ\text{C}$; aerato (50 l/h) e non; luce: cicli 12 h ; 100 mg/l di alga; $t = 10\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 5\text{ }\mu\text{g/l}$	refluo sintetico	< LOQ	Matamoros et al., 2016
<i>Chlorella</i> spp. e <i>Scenedesmus</i> spp.	<i>batch</i> ; $V = 2\text{ l}$; $T = 23 \pm 5^\circ\text{C}$; aerato (50 l/h) e non; luce: cicli 12 h ; 100 mg/l di alga; $t = 10\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 5\text{ }\mu\text{g/l}$	refluo reale 25% (effl. prim.) acqua di falda 75%	< LOQ	Matamoros et al., 2016
<i>Chlamydomonas</i> <i>mexicana</i>	$V = 150\text{ ml} + 1,5\%$ sosp. algale; $T = 27^\circ\text{C}$; luce: cicli 16 h luce - 8 h buio; $t = 10\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 1, 10, 25\text{ mg/l}$	<i>Bold's Basal</i> <i>Medium</i>	37%, 24%, 23%	Xiong et al., 2016
<i>Scenedesmus</i> <i>obliquus</i>	$V = 150\text{ ml} + 1,5\%$ sosp. algale; $T = 27^\circ\text{C}$; luce: cicli 16 h luce - 8 h buio; $t = 10\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 1, 10, 25\text{ mg/l}$	<i>Bold's Basal</i> <i>Medium</i>	30%, 24%, 17%	Xiong et al., 2016
<i>Chlamydomonas</i> <i>reinhardtii</i>	$V = 500\text{ ml}$; $50\text{ }\mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 130,0 \pm 5,5\text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	12%	Zhou et al., 2014
<i>Scenedesmus</i> <i>obliquus</i>	$V = 500\text{ ml}$; $50\text{ }\mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 130,0 \pm 5,5\text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	5%	Zhou et al., 2014
<i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>	$V = 500\text{ ml}$; $50\text{ }\mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 130,0 \pm 5,5\text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	4%	Zhou et al., 2014
<i>Chlorella</i> <i>vulgaris</i>	$V = 500\text{ ml}$; $50\text{ }\mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7\text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 130,0 \pm 5,5\text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	10%	Zhou et al., 2014

Tabella 2.30: sintesi degli esperimenti condotti a scala di laboratorio per la rimozione di carbamazepina con l'impiego di alghe. Con *cell/ml* è indicata la concentrazione di alghe, \bar{R} indica la rimozione media riportata dagli autori, mentre $[\text{CBZ}]$ è la concentrazione iniziale del farmaco

Bioreattore	Set-up	Substrato	\bar{R}	Fonte
<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 200 \text{ ml}$; $50 \pm 16 \text{ mg/l}$ di alga (peso secco); $t = 3 \text{ d}$; [DCF]= $8 \text{ } \mu\text{g/l}$	refluo sintetico + $6,7 \text{ g/l}$ di glucosio	< LOQ	Bodin et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 31 \text{ d}$; [DCF]= $147 \pm 9 \text{ } \mu\text{g/l}$	urina sintetica + ferro e micronutrienti	55%	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 31 \text{ d}$; [DCF]= $147 \pm 9 \text{ } \mu\text{g/l}$	AnBW da WWTP	70%	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 23 \text{ d}$; [DCF] = $147 \pm 9 \text{ } \mu\text{g/l}$	urina umana	50%	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 250 \text{ ml}$; modalità batch e semicontinua; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; aerato; luce: cicli 12 h luce - 12h buio; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF] = 25 mg/l	Mann & Myers Medium	65% (batch), 30% (semicont.)	Escapa et al., 2016
<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 250 \text{ ml}$; modalità batch e semicontinua; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; aerato; luce: cicli 12 h luce - 12h buio; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF] = 25 mg/l	Mann & Myers Medium	69% (batch), 22% (semicont.)	Escapa et al., 2016
<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 250 \text{ ml}$; modalità batch e semicontinua; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; aerato; luce: cicli 12 h luce - 12h buio; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF] = 25 mg/l	Mann & Myers Medium	98% (batch), 79% (semicont.)	Escapa et al., 2016
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	$V = 500 \text{ ml}$; $50 \text{ } \mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7 \text{ d}$; [CBZ]= $130,0 \pm 5,5 \text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	-411%	Zhou et al., 2014
<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 500 \text{ ml}$; $50 \text{ } \mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7 \text{ d}$; [CBZ]= $130,0 \pm 5,5 \text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	-826%	Zhou et al., 2014
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	$V = 500 \text{ ml}$; $50 \text{ } \mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7 \text{ d}$; [CBZ]= $130,0 \pm 5,5 \text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	-548%	Zhou et al., 2014

<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 500 \text{ ml}$; $50 \mu\text{g/l}$ clorofilla a: luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 7 \text{ d}$; $[\text{CBZ}] = 130,0 \pm 5,5 \text{ ng/l}$	refluo reale filtrato	-720%	Zhou et al., 2014
---------------------------	--	--------------------------	-------	----------------------

Tabella 2.31: sintesi degli esperimenti condotti a scala di laboratorio per la rimozione di diclofenac con l'impiego di alghe; i valori negativi (in rosso) indicano un aumento della concentrazione del farmaco. Con cell/ml è indicata la concentrazione di alghe, \bar{R} indica la rimozione media riportata dagli autori, mentre [DCF] è la concentrazione iniziale del farmaco

2.9.2 Esperimenti di sola fotodegradazione

Giacché la rimozione abiotica può assumere un ruolo importante nell'abbattimento delle concentrazioni di alcuni farmaci, si riportano di seguito degli articoli in cui si studia la fotodegradabilità di carbamazepina (tabella 2.32) e diclofenac (tabella 2.33) senza l'impiego di alghe o altri microrganismi specifici.

Fotoreattore	Set-up	Substrato	\bar{R} o $t_{1/2}$	Fonte
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280 \text{ ml}$; luce simulando primavera, estate, autunno, inverno a $\text{lat.} = 40^\circ$	acqua distillata	<i>half-life time</i> 120 d, 90 d, 220 d, 500 d	Andreozzi et al., 2003
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280 \text{ ml}$	acqua distillata + nitrato (10 mg/l, 15 mg/l)	<i>half-life time</i> 45 d, 23 d	Andreozzi et al., 2003
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280 \text{ ml}$	acqua distillata + sale di sodio umato (5 mg/l)	<i>half-life time</i> 443 d	Andreozzi et al., 2003
lampada allo Xe	pH = 2,9, 4,0, 5,8, 9,0; $t = 24 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 9,5 \text{ mg/l}$	Milli-Q water	> 99% (16 h), 20%, 50%, 15%	Calisto et al., 2011
lampada allo Xe	pH = 2,9, 4,0, 5,8, 9,0; saturata di ossigeno; $t = 24 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 9,5 \text{ mg/l}$	Milli-Q water	85%, 25%, 20%, 15%	Calisto et al., 2011
lampada allo Xe	pH = 2,9, 4,0, 5,8, 9,0; deossigenaz. (con N_2); $t = 24 \text{ h}$; $[\text{CBZ}] = 9,5 \text{ mg/l}$	Milli-Q water	> 99% (4 h), 80%, 20%, 25%	Calisto et al., 2011
lampada UV MP alogena	$V = 10 \text{ l}$; $T < 50 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 120 \text{ min}$; $[\text{CBZ}] = 6 \text{ mg/l}$	Milli-Q water	98%	Donner et al., 2013

lampada UV LP al Hg, immersa	$V = 22\text{ l}$; pH = 7,0; $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda = 254\text{ nm}$; $t = 10\text{ min}$	acqua purificata; TOC < 50 $\mu\text{g/l}$	8%	Kim e Tanaka, 2009
lampada UV LP al Hg, immersa	$V = 22\text{ l}$; pH = 7,0; $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$; $\lambda = 254\text{ nm}$, 185 nm; $t = 10\text{ min}$	acqua purificata; TOC < 50 $\mu\text{g/l}$	36%	Kim e Tanaka, 2009
lampada UV MP alogenata	$V = 8\text{ l}$; $t = 30\text{ min}$; [CBZ] = 0,1 mg/l	acqua di rubinetto	> 99%	Kosjek et al., 2009
lampada UV MP alogenata	$V = 8\text{ l}$; $t = 30\text{ min}$; [CBZ] = 0,1 mg/l	acqua di rubinetto + metanolo	> 99%	Kosjek et al., 2009
lampade UV LP e HP al Hg	[CBZ] = 8,48 mg/l	acqua deionizzata	< LOQ	Lekkerkerker- Teunissen et al., 2012
tubi fluorescenti	$V = 2\text{ l}$; $T = 23 \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$; aerato (50 l/h) e non; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $t = 10\text{ d}$; [CBZ] = 5 $\mu\text{g/l}$	refluo sintetico	< LOQ	Matamoros et al., 2016

Tabella 2.32: sintesi degli esperimenti condotti a scala di laboratorio per la fotodegradazione di carbamazepina. \bar{R} indica la rimozione media riportata dagli autori, $t_{1/2}$ è il tempo di dimezzamento (*half-life time*), mentre [CBZ] è la concentrazione iniziale del farmaco

Fotoreattore	Set-up	Substrato	\bar{R} o $t_{1/2}$	Fonte
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280\text{ ml}$; luce simulaz. primavera, estate, autunno, inverno a lat.=40°	acqua distillata	<i>half-life time</i> 0,4 d, 0,4 d, 0,6 d, 1,6 d	Andreozzi et al., 2003
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280\text{ ml}$ + nitrato (10 mg/l)	acqua distillata	<i>half-life time</i> 0,2 d	Andreozzi et al., 2003
lampada UV HP al Hg, immersa	$V = 280\text{ ml}$ + sale di Na umato (5 mg/l)	acqua distillata	<i>half-life time</i> 0,9 d	Andreozzi et al., 2003
luce artificiale	$V = 300\text{ ml}$; $T = 35\text{ }^\circ\text{C}$; $t = 31\text{ d}$; [DCF] = 147±9 $\mu\text{g/l}$	urina sintetica + ferro e micronutrienti	55%	de Wilt et al., 2016
luce artificiale	$V = 250, \text{ ml}$; luce: 12 h luce - 12 h buio; aerato; $T = 25 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$; [DCF] = 25 mg/l	Mann & Myers Medium	< LOQ	Escapa et al., 2016

lampade LED UV-A	$V = 150 \text{ ml}; T = 25^\circ \text{C};$ $t = 180 \text{ min};$ [DCF] = 20 mg/l	Milli-Q water	4%	Eskandarian et al., 2016
lampada LED UV-AH	$V = 150 \text{ ml}; T = 25^\circ \text{C};$ $t = 180 \text{ min};$ [DCF] = 20 mg/l	Milli-Q water	7%	Eskandarian et al., 2016
lampada LED UV-B	$V = 150 \text{ ml}; T = 25^\circ \text{C};$ $t = 180 \text{ min};$ [DCF] = 20 mg/l	Milli-Q water	29%	Eskandarian et al., 2016
lampada LED UV-C	$V = 150 \text{ ml}; T = 25^\circ \text{C};$ $t = 180 \text{ min};$ [DCF] = 20 mg/l	Milli-Q water	50%	Eskandarian et al., 2016
lampada UV LP al Hg, immersa	$V = 22 \text{ l}; \text{pH}=7,0;$ $T = 20^\circ \text{C}; \lambda = 254 \text{ nm};$ $t = 10 \text{ min}$	acqua purificata; TOC < 50 $\mu\text{g/l}$	> 90%	Kim e Tanaka, 2009
lampada UV LP al Hg, immersa	$V = 22 \text{ l}; \text{pH}=7,0;$ $T = 20^\circ \text{C}; \lambda = 254 \text{ nm},$ 185 nm; $t = 10 \text{ min}$	acqua purificata; TOC < 50 $\mu\text{g/l}$	> 90%	Kim e Tanaka, 2009
luce solare naturale	$V = 2, \text{ l}; T = 17 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 17 \text{ d}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$	buffered pure water	90% in 2,5 h	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2 \text{ l}; T = 8 \pm 3^\circ \text{C};$ $t = 17 \text{ d}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$	buffered pure water	90% in 20 h	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2, \text{ l}; T = 20 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 7 \text{ d}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$	buffered pure water	> 90% in 2 h	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2, \text{ l}; T = 23 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 15 \text{ h}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$	buffered pure water	95%	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2, \text{ l}; T = 23 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 15 \text{ h}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$ + acidi umici (20 mg/l)	buffered pure water	35%	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2 \text{ l}; T = 23 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 15 \text{ h}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$	buffered pure water	95%	Koumaki et al., 2015
luce solare naturale	$V = 2, \text{ l}; T = 23 \pm 4^\circ \text{C};$ $t = 15 \text{ h}; [\text{DCF}] = 2 \mu\text{g/l}$ [NO ₃ ⁻] = 1 mg/l, 10 mg/l	buffered pure water	95%	Koumaki et al., 2015
lampada VIS, UVA, UVB, IR	aerato; $\text{pH}=8,0\pm 0,5;$ $t = 12 \text{ d}; [\text{DCF}] = 9 \mu\text{g/l}$	acqua di rubinetto decolorata	86% in 24 h	Poirier-Larabie et al., 2016

lampade UV LP al Hg	luce (dose UV = 300 mJ/cm^2 , 500 mJ/cm^2 , 700 mJ/cm^2); [DCF] = 9,24 mg/l	acqua deionizzata	85%, 94% 98%	Lekkerkerker- Teunissen et al., 2012
lampada UV HP al Hg	luce (dose UV = 300 mJ/cm^2 , 500 mJ/cm^2 , 700 mJ/cm^2); [DCF] = 9,24 mg/l	acqua deionizzata	97%, 99%, > 99%	Lekkerkerker- Teunissen et al., 2012
luce solare naturale	$V = 10, ml$; pH=7; $T = 20^\circ C, 23^\circ C, 31^\circ C$; $t = 120 min$; [DCF] = 30 mg/l	Milli-Q water	90%	Packer et al., 2003
luce solare naturale	$V = 10, ml$; pH=7; $T = 20^\circ C, 23^\circ C, 31^\circ C$; $t = 120 min$; [DCF] = 30 mg/l	Milli-Q water + 1% isopropanolo	96%	Packer et al., 2003
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $t = 15 min$; [DCF] = 4,4 mg/l , 8,9 mg/l , 13,3 mg/l , 17,8 mg/l	Milli-Q water	96%, 95%, 93%, 89%	Zhang et al., 2011
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $t = 15 min$; [NO ₃ ⁻] = 0,0 mg/l , 0,6 mg/l , 6,2 mg/l , 62,0 mg/l ; [DCF] = 4,4 mg/l	Milli-Q water	95%, 94%, 93%, 92%	Zhang et al., 2011
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $t = 15 min$; [NO ₂ ⁻] = 0,0 mg/l , 0,5 mg/l , 4,6 mg/l , 46,0 mg/l ; [DCF] = 4,4 mg/l	Milli-Q water	95%, 94%, 89%, 89%	Zhang et al., 2011
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $t = 15 min$; [NH ₄ ⁺] = 0,0 mg/l , 0,2 mg/l , 1,8 mg/l , 18,0 mg/l ; [DCF] = 4,4 mg/l	Milli-Q water	95%, 94%, 94%, 94%	Zhang et al., 2011
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $T = 5^\circ C, 15^\circ C$, $25^\circ C, 35^\circ C$; $t = 15 min$; [DCF] = 8,9 mg/l	Milli-Q water	92%, 93%, 95%, 97%	Zhang et al., 2017
lampada allo Xe, immersa	$V = 250 ml$; $t = 15 min$; [DCF] = 4,4 mg/l , 8,9 mg/l , 13,3 mg/l , 17,8 mg/l	Milli-Q water	95%, 92%, 89%, 86%	Zhang et al., 2017

	$V = 250 \text{ ml}; t = 15 \text{ min};$			
lampada allo Xe,	[DCF] = 8,9 mg/l		95%, 94%,	Zhang
immersa	+ [a. umico]= 0 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l	Milli-Q water	93%, 93%	et al., 2017

Tabella 2.33: sintesi degli esperimenti condotti a scala di laboratorio per la fotodegradazione di diclofenac. \bar{R} indica la rimozione media riportata dagli autori, $t_{1/2}$ è il tempo di dimezzamento (*half-life time*), mentre [DCF] è la concentrazione iniziale del farmaco

2.9.3 Test di eco-tossicità specifici

Le concentrazioni utilizzate dai vari autori nei test fotodegradativi (rimozione abiotica) sono talvolta molto elevate. Per poter produrre dei test analoghi si deve quindi verificare se tali concentrazioni possano essere tossiche per le alghe unicellulari candidate ad essere usate in fase sperimentale (ossia, quelle in tabella 2.30 e 2.31). Seguono delle tabelle riassuntive riguardanti l'eco-tossicità di carbamazepina e diclofenac (tabella 2.34 e 2.35).

Bioreattore	Set-up	Substrato	Effetto o param. eco-tossicologico	Fonte
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	V = 600 ml; 10 ³ cell/ml; t = 96 h; [CBZ] = 2, 1 µg/l	<i>Bold's Basal Medium</i>	inibizione della crescita nulla; bioaccumulazione non significativa	Andreozzi et al., 2002
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	V = 600 ml; 10 ⁴ cell/ml; t = 96 h; [CBZ] = 20 mg/l	<i>Bold's Basal Medium</i>	inibizione della crescita nulla; bioaccumulazione non significativa	Andreozzi et al., 2002
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	V = 1 l; 10 ⁵ cell/ml; T = 25 °C; t = 60 d; [CBZ] = 19 mg/l	<i>Bold's Basal Medium</i>	inibizione della crescita nulla; bioaccumulazione non significativa	Andreozzi et al., 2002
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (<i>Selenastrum capricornutum</i>)	V = 4 ml; T = 20 °C; 5 ÷ 10 × 10 ³ cell/ml; t = 48 h	<i>Milli-Q water</i> + <i>growth medium</i>	NOEC=27,4 mg/l, LOEC=40 mg/l	Donner et al., 2013
<i>Chlorella vulgaris</i>	T = 22 °C; 5% CO ₂ ; 10 ⁶ cell/ml	-	EC ₅₀ (24 h)=111 mg/l; EC ₅₀ (48 h)=36,6 mg/l	Jos et al., 2003
<i>Chlamydomonas mexicana</i>	V = 150 ml + 1,5% sospens. algale; T = 27 °C; luce: cicli 16 h luce - 8 h buio; t = 10 d; [CBZ] = 1 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l	<i>Bold's Basal Medium</i>	crescita non inibita	Xiong et al., 2016
<i>Scenedesmus obliquus</i>	V = 150 ml + 1,5% sospens. algale; T = 27 °C; luce: cicli 16 h luce - 8 h buio; t = 10 d; [CBZ] = 1 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l	<i>Bold's Basal Medium</i>	crescita non inibita	Xiong et al., 2016
<i>Scenedesmus obliquus</i>	V = 100 ml; T = 24 °C; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; 10 ⁴ ÷ 10 ⁵ cell/ml	<i>HB-4 medium</i>	EC ₅₀ =201 mg/l (24 h), 73 mg/l (48 h), 89 mg/l (72 h), 70 mg/l (96 h), 55 mg/l (144 h)	Zhang et al., 2012

<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 100 \text{ ml}$; $T = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $10^4 \div 10^5 \text{ cell/ml}$	<i>HB-4 medium</i>	$EC_{50}=89 \text{ mg/l}$ (5 d), 49 mg/l (10 d), 9 mg/l (15 d), 7 mg/l (20 d), <1 mg/l (30 d)	Zhang et al., 2012
<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 100 \text{ ml}$; $T = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $10^4 \div 10^5 \text{ cell/ml}$; [CBZ] = 0,5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l	<i>HB-4 medium</i>	inibizione della crescita 24 h (+1%, 5%, 12%, 19%, 24%), 48 h (+7%, 4%, 12%, 23%, 25%), 72 h (0%, 9%, 22%, 26%, 27%), 96 h (0%, 11%, 26%, 28%, 29%), 144 h (0%, 15%, 18%, 28, 30%)	Zhang et al., 2012
<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 100 \text{ ml}$; $T = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; $10^4 \div 10^5 \text{ cell/ml}$; [CBZ] = 0,5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l	<i>HB-4 medium</i>	inibizione della crescita 5 d (0%, 18%, 25%), 10 d (2%, 15%, 32%), 15 d (5%, 38%, 51%), 20 d (10%, 40%, 60%), 30 d (50%, 57%, 64%)	Zhang et al., 2012

Tabella 2.34: sintesi degli studi eco-tossicologici di carbamazepina su vari tipi di alghe unicellulari

Bioreattore	Set-up	Substrato	Effetto o param. eco-tossicologico	Fonte
<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 200 \text{ ml}$; $50 \pm 16 \text{ mg/l}$ di alga (peso secco); $t = 3 \text{ d}$; [DCF] = $8 \text{ } \mu\text{g/l}$	substrato sintetico + $6,7 \text{ g/l}$ di glucosio	biomassa aumentata	Bodin et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 300 \text{ ml}$; $1,66 \times 10^5 \text{ cell/ml}$; $T = 35 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 31 \text{ d}$; [DCF]= $147 \pm 9 \text{ } \mu\text{g/l}$	urina sintetica + ferro e micronutrienti	biomassa aumentata	de Wilt et al., 2016
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$V = 250 \text{ ml}$; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; aerato; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF]= 25 mg/l	<i>Mann & Myers Medium</i>	biomassa aumentata	Escapa et al., 2016
<i>Chlorella vulgaris</i>	$V = 250 \text{ ml}$; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; aerato; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF]= 25 mg/l	<i>Mann & Myers Medium</i>	biomassa aumentata	Escapa et al., 2016
<i>Scenedesmus obliquus</i>	$V = 250 \text{ ml}$; $3 \times 10^6 \text{ cell/ml}$; luce: cicli 12 h luce - 12 h buio; aerato; $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; $t = 9 \text{ d}$; [DCF]= 25 mg/l	<i>Mann & Myers Medium</i>	biomassa aumentata	Escapa et al., 2016

Tabella 2.35: sintesi degli studi eco-tossicologici di diclofenac su vari tipi di alghe unicellulari

2.9.4 Discussione

Dalla letteratura consultata emerge che è molto diffuso l'impiego di substrati sintetici nell'esecuzione degli esperimenti. In generale *Chlorella* e *Scenedesmus* sono tra i generi di alghe unicellulari più usati negli studi riguardanti la depurazione dei reflui, questo per via degli alti tassi di crescita e della loro adattabilità (Beuckels et al., 2015).

La carbamazepina si è confermata di difficile rimozione, con abbattimenti massimi del 50% dopo 60 giorni impiegando 10^5 cell/ml di *A. braunii* (Andreozzi et al., 2002). Altre specie che hanno contribuito in minima parte alla rimozione di questo farmaco sono *C. mexicana* e *S. obliquus* (Xiong et al., 2016); in entrambi i casi sono stati somministrati alti quantitativi di carbamazepina (1, 10 e 25 mg/l) e la rimozione è diminuita all'aumentare della concentrazione: da 37% a 23% con *C. mexicana* e da 30% a 17% nel caso di *S. obliquus*. Xiong et al. (2016) sottolineano anche come ci sia stata formazione di epossicarbamazepina probabilmente ad opera del citocromo P450 (una famiglia di enzimi appartenente alla classe delle mono-ossigenasi) secreto dalle alghe e dagli altri microrganismi potenzialmente presenti.

Dal punto di vista della rimozione abiotica tramite fotodegradazione si sono riscontrati tempi di dimezzamento molto elevati per la carbamazepina (fino a 500 giorni) a seconda della stagione simulata durante lo studio in laboratorio (Andreozzi et al., 2003). Gli stessi autori hanno ripetuto gli esperimenti con aggiunta di nitrati e sali umati (surrogati degli acidi umici) e, sebbene i nitrati siano dei fotosensibilizzanti poco efficienti (Zhao et al., 2013), hanno portato ad una notevole riduzione dei tempi di dimezzamento (23 giorni, con aggiunta di 15 mg/l di nitrati). Tra le varie tipologie di illuminazione testate le lampade alogene e allo xeno sono le più efficienti. I rendimenti migliori si sono avuti nel caso di acqua distillata *Milli-Q water* deossigenata; nonostante la concentrazione di farmaco fosse molto elevata ($[CBZ] = 9,5$ mg/l), dopo 4 ore il farmaco era stato completamente rimosso (Calisto et al., 2011); le stesse prove in condizioni di saturazione di ossigeno hanno mostrato efficienze nettamente inferiori. La rimozione si mostra fortemente dipendente anche dal pH della soluzione: in Calisto et al. (2011) viene riportata una rimozione superiore al 99% con pH=2,9; si scende al 20% con pH=5,8. Infine anche la lunghezza d'onda selezionata ha fatto in minima parte da discriminante per la rimozione di carbamazepina, incrementandola da 8% (con $\lambda = 254$ nm) a 36% (con anche $\lambda = 185$ nm, 254 nm); i principali responsabili di questa foto-ossidazione indiretta sono i radicali -OH generati dalla $\lambda < 200$ nm, la quale ha determinato la fotolisi delle molecole d'acqua (Kim e Tanaka, 2009).

Nel caso del diclofenac la letteratura esistente si focalizza maggiormente sulla sua fotodegradazione, mentre la ricerca sulla rimozione ad opera di alghe unicellulari con

esperimenti di laboratorio è più esigua rispetto alla carbamazepina. Quasi tutte le specie testate utilizzando come substrato quello di crescita o il refluo sintetico si sono rivelate piuttosto efficienti nel rimuovere il farmaco, in particolare *S. obliquus* con rimozioni del 98% e 79% rispettivamente in modalità *batch* e semicontinua (Escapa et al., 2016). In un solo caso non si è verificato un abbattimento apprezzabile: *C. vulgaris* con somministrazione di $[DCF] = 8 \mu g/l$ (Bodin et al., 2016). Utilizzando refluo civile Zhou et al. (2014) hanno trovato grandi aumenti di concentrazione, fino a +826%.

Dal punto di vista eco-tossicologico in Escapa et al. (2016) la presenza di diclofenac ha comportato durante i 9 giorni di sperimentazione solamente un'iniziale diminuzione del tasso di crescita e della riproduzione cellulare, dopodiché la proliferazione si è mostrata addirittura maggiore che in assenza del farmaco, senza penalizzare la resa depurativa (intesa come rimozione di nitrati e fosfati); molto probabilmente DCF ha costituito un'ulteriore fonte di carbonio organico disponibile.

In generale la fotodegradabilità di diclofenac si mostra quasi sempre molto alta, con tempi di dimezzamento dell'ordine delle ore. Come nel caso della carbamazepina, anche il diclofenac mostra abbattimenti dipendenti dal pH: la fotodegradazione massima si ha a $pH=5$, mentre a $pH=8$ si ha un minimo nella cinetica di rimozione (Zhang et al., 2017). Gli autori attribuiscono questa dipendenza alla presenza del farmaco in forma ionica, più incline alla fotodegradazione rispetto alla forma molecolare neutra. Un aspetto che invece contraddistingue il comportamento fotochimico di DCF da quello di CBZ è il meccanismo di fotodegradazione (fotolisi diretta per il primo e foto-ossidazione indiretta per la seconda): in Koumaki et al. (2015) si è visto che una volta aggiunte alla soluzione certe sostanze fotosensibilizzanti (come gli acidi umici), la rimozione diminuisce da 95% a 35%. Responsabili di questo fenomeno sono i radicali idrossile che si generano (a partire dagli stessi acidi umici) in seguito all'irraggiamento; essi assorbono i fotoni al posto dei cromofori del diclofenac (Edhlund et al., 2006), limitandone così la fotolisi.

I test di controllo al buio hanno sempre riportato rimozioni di diclofenac non rilevabili, a conferma della sola fotodegradazione come meccanismo abiotico, indipendentemente dal pH della soluzione (Andreozzi et al., 2003). I prodotti di trasformazione individuati derivanti dalla fotolisi di questo farmaco sono tutti derivati del carbazole (Koumaki et al., 2015); vengono facilmente rimossi anch'essi per via fotochimica. Tali prodotti si formano con meccanismi di vario tipo, come la dechlorazione (Koumaki et al., 2015; Lekkerkerker-Teunissen et al., 2012) e la fotociclizzazione (Lekkerkerker-Teunissen et al., 2012; Poirier-Larabie et al., 2016). I prodotti di trasformazione fotochimica di diclofenac sono molteplici e solamente un'esigua parte del farmaco viene completamente mineralizzata nel breve periodo: Eskandarian et al. (2016) hanno stimato un massimo di 15,3% di mineralizzazione a fronte di una fotolisi diretta del 50%.

Dal punto di vista eco-tossicologico sul breve e lungo periodo si sono avuti effetti solo a concentrazioni nettamente superiori a quelle che si possono trovare comunemente nei reflui (decine di mg/l invece di ng/l). Il parametro più indagato è l'inibizione della crescita. Le informazioni più presenti in letteratura su test a breve termine riguardano la carbamazepina; alcuni esempi significativi sono: $NOEC(48 h) = 27,4 mg/l$ su *S. capricornutum* (Donner et al., 2013) e $EC_{50}(24 h) = 111 mg/l$ su *C. vulgaris* (Jos et al., 2003). Sul lungo periodo (60 giorni) concentrazioni di $19 mg/l$ non hanno sortito effetti sulla crescita cellulare ed il bioaccumulo non è stato significativo (Andreozzi et al., 2002).

Per quanto riguarda il diclofenac i vari test hanno mostrato aumenti di biomassa, anche a concentrazioni relativamente elevate ($25 mg/l$, Escapa et al., 2016).

Sulla base di queste informazioni bibliografiche si è deciso di impostare una serie di esperimenti per quantificare la rimozione di carbamazepina e diclofenac, monitorando anche la presenza di alcuni loro metaboliti.

Capitolo 3

Monitoraggio di microinquinanti in impianti di fitodepurazione

Alla luce dei risultati ottenuti in merito ai farmaci indagati nel progetto *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016), si è selezionato un insieme di composti per ripetere un'ulteriore campagna di analisi. Lo studio è stato condotto solamente su due impianti di fitodepurazione; su di essi si sono effettuati anche campionamenti in sezioni intermedie per meglio comprendere la dinamica di rimozione in ogni stadio depurativo tenendo conto anche dei relativi tempi di ritenzione idraulica.

3.1 La fitodepurazione

La fitodepurazione è uno dei metodi di depurazione più rudimentali e a basso costo, sia per quanto riguarda l'installazione sia per la sua manutenzione. Proprio per questo motivo è una tecnica molto utilizzata in Paesi in via di sviluppo e in piccole comunità: la normativa italiana individua «il lagunaggio e la fitodepurazione come le soluzioni depurative più auspicabili per impianti dai 50 AE ai 2000 AE».¹ La Provincia Autonoma di Bolzano in particolare ha disposto che «i sistemi di smaltimento di acque reflue domestiche e urbane in acque superficiali, per i quali è prescritto il solo trattamento primario, sono considerati trattamento appropriato solo se abbinati a sistemi di filtrazione, ad impianti di fitodepurazione o a sistemi equivalenti [. . .]».² Per via della mano d'opera non qualificata e dei pochi interventi richiesti per la manutenzione la gestione è totalmente affidata alle amministrazioni comunali, eccezion fatta per i controlli di qualità che la APPA (Agenzia Provinciale Per l'Ambiente) effettua a cadenza bimestrale.

¹D.Lgs. 152/2006 Allegati alla Parte Terza - Allegato 5-3.

²Decreto del Presidente della Provincia 21 gennaio 2008, n.6: Regolamento di esecuzione alla legge provinciale del 18 giugno 2002, n.8 recante "Disposizioni sulle acque" in materia di tutela delle acque, CAPO I "Disciplina degli scarichi di acque reflue", Art.7 (2) e Art.9 (4).

Gli impianti di questo tipo (destinati al trattamento secondario) sono generalmente preceduti da un trattamento primario che può avvenire all'interno di vasche di tipo Imhoff oppure in fosse biologiche (bi- o tri-camerale). In sostituzione si possono trovare anche sistemi più articolati che prevedono una grigliatura iniziale con successivo stadio a fanghi attivi e relativa vasca di sedimentazione; in tal caso la fitodepurazione funge da affinamento terziario.

La fitodepurazione avviene all'interno di uno o più sistemi di vasche dal fondo in leggera pendenza, disposti in serie o in parallelo. Ogni vasca è riempita con un substrato ghiaioso a granulometria nota e solitamente piantumata con specie vegetali del genere *Phragmites* o *Typha*. Le specie di macrofite presenti svolgono un ruolo fondamentale nel processo depurativo: esse predispongono un habitat idoneo allo sviluppo dei batteri e degli altri microrganismi che si occupano della depurazione vera e propria, contribuendo a regolarne i processi biotici. I meccanismi che intervengono nella rimozione degli inquinanti e delle sostanze organiche sono pertanto molteplici:

- di tipo biologico e biochimico: assorbimento e biodegradazione (all'interno della biomassa vegetale), degradazione batterica (fermentazione, respirazione aerobica e anaerobica);
- chimico: equilibrio acido-base, idrolisi;
- fisico: adsorbimento, filtrazione, sedimentazione, volatilizzazione;
- fisico-chimico: fotolisi o foto-degradazione (diretta e indiretta).

I processi depurativi più importanti avvengono nello strato di biofilm che si instaura sulle superfici dei vari grani di sedimento, andando a costituire un sistema molto simile a quelli a biomassa adesa. Inoltre lo strato di ghiaia e lettiera fungono da coibentanti e mantengono una temperatura sempre maggiore di 0°C all'interno del letto filtrante anche durante la stagione invernale (Romagnoli, 2013). Tre sono i principali schemi di funzionamento di questi letti filtranti:

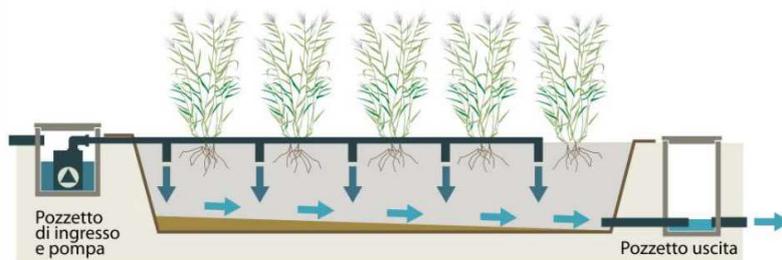


Figura 3.1: sezione schematica di una vasca per la fitodepurazione sub-superficiale verticale (tratto da ISPRA, 2012)

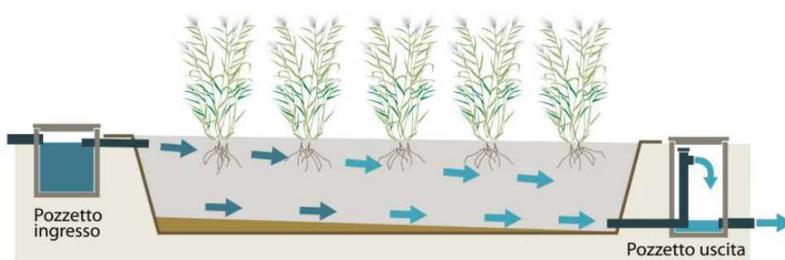


Figura 3.2: sezione schematica di una vasca per la fitodepurazione sub-superficiale orizzontale (tratto da ISPRA, 2012)

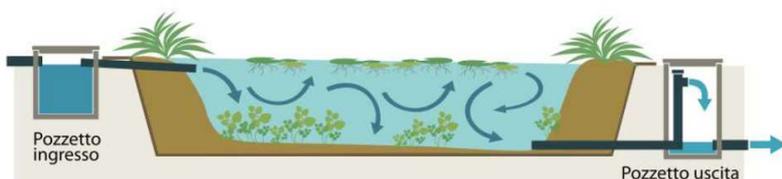


Figura 3.3: sezione schematica di una vasca per la fitodepurazione superficiale a pelo libero (tratto da ISPRA, 2012)

Flusso sub-superficiale verticale Il refluo è asperso sulla superficie tramite ali gocciolanti (figura 3.1) in modo spazialmente uniforme, ma discontinuo nel tempo; un collettore posto nel punto più basso della vasca recapita il refluo allo stadio successivo. Ogni cacciata è dosata meccanicamente e il letto è insaturo, in modo che sia costantemente assicurata una condizione di aerobiosi in tutta la vasca.

Flusso sub-superficiale orizzontale Il refluo è recapitato in testa alla vasca tramite un tubo di mandata e raccolto da un collettore posto a valle (figura 3.2). Il flusso è continuo ed il regime di funzionamento è a saturazione e si suppone anossico o anaerobico. Questa tipologia di vasca è spesso posta a valle di un sistema a flusso verticale, al fine di assicurare le condizioni adatte per la denitrificazione.

Flusso superficiale (libero) Il refluo viene immesso di continuo all'interno di una vasca priva di sedimenti mantenuta a tirante idraulico costante nel tempo (figura 3.3). Il fondo dall'andamento non uniforme determina un'alta biodiversità acquatica e l'irraggiamento continuo del battente d'acqua permette che avvengano le reazioni di tipo foto-chimico.

3.2 Impianti considerati

Gli impianti di fitodepurazione scelti sono due di quelli considerati in *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016); quello di Monticolo e quello di Verano. In figura 3.4 e 3.5 si illustrano le aree servite da ciascun impianto.

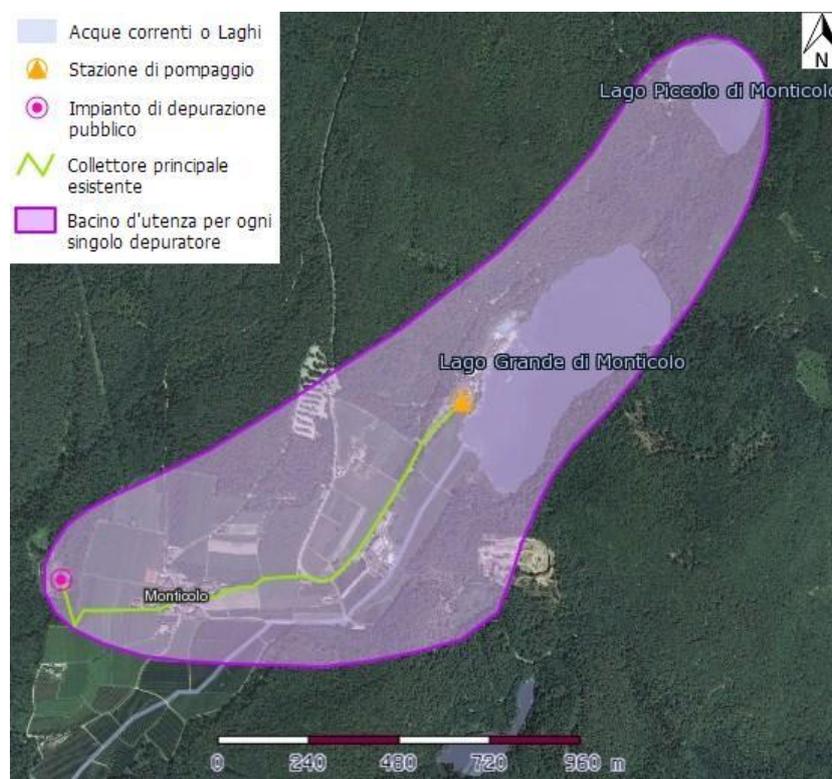


Figura 3.4: l'ubicazione dell'impianto di Monticolo (il punto cerchiato) con indicata l'area servita ed il collettore fognario principale (tratto da Prov. BZ, 2016)

3.2.1 Impianto di Monticolo

L'impianto di Monticolo si trova nel Comune di Appiano sulla Strada del Vino (BZ) a circa 500 m s.l.m. (figura 3.6). Le acque da trattare passano attraverso i seguenti comparti: dissabbiatore, grigliatura, due vasche a fanghi attivi in parallelo (con relativi sedimentatori), vasca di ritenzione per equalizzare le portate; i fanghi raccolti dai sedimentatori secondari sono sottoposti ad ispessimento e successivo essiccamento. Il refluo viene poi sottoposto a fitodepurazione (trattamento terziario, di affinamento) passando attraverso due vasche a flusso sub-superficiale verticale disposte in parallelo che convogliano le acque in una vasca di raccolta a pelo libero avvalendosi di due punti differenti di immissione (figura 3.7). L'impianto passa da una quota di 486,8 m (vasche a fanghi attivi) a 476,0 m (vasca finale). A valle del sedimentatore secondario (comparto a fanghi attivi) il moto del refluo procede a gravità.

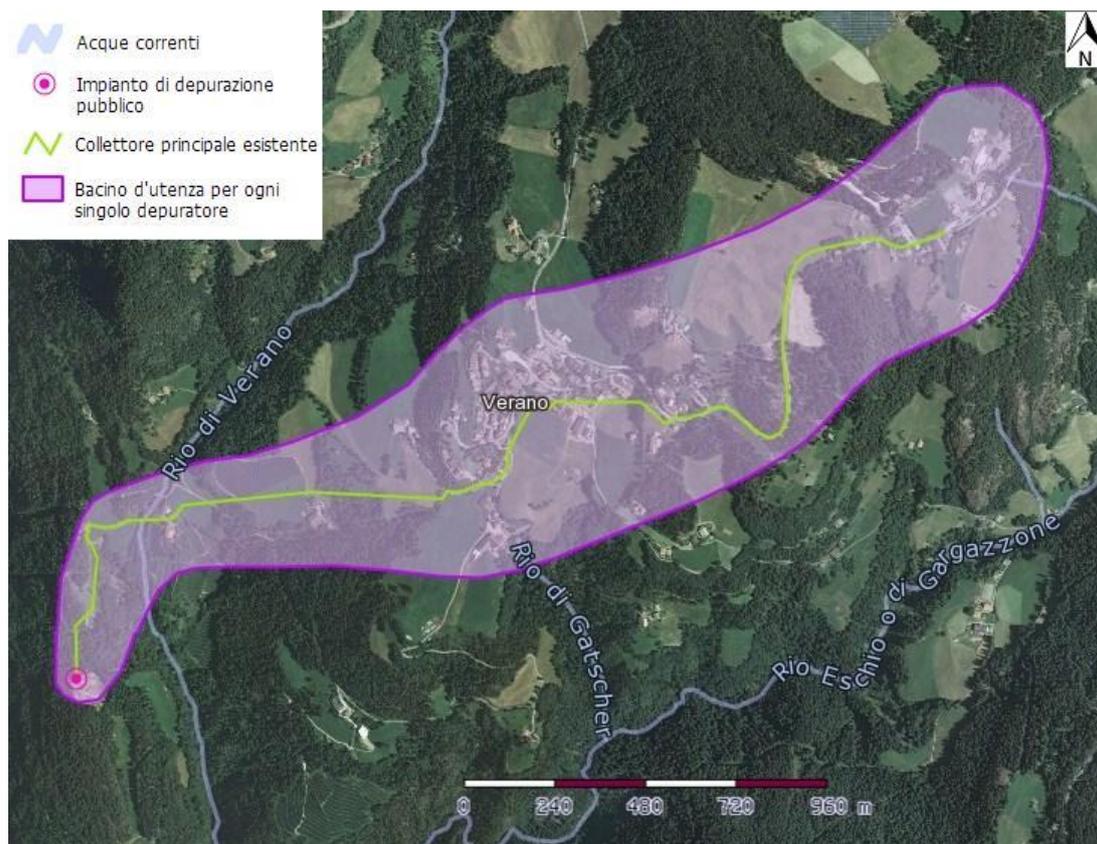


Figura 3.5: l'ubicazione dell'impianto di Verano (il punto cerchiato) con indicata l'area servita ed il collettore fognario principale (tratto da Prov. BZ, 2016)

Per via del grande afflusso che si ha durante la stagione turistica, la popolazione servita è molto variabile. Il depuratore è stato quindi dimensionato per avere due differenti regimi di utilizzo: dai 240 *AE* della bassa stagione (da ottobre ad aprile) si passa a 817 *AE* durante la stagione turistica (da maggio a settembre). Per le caratteristiche di progetto del comparto di fitodepurazione si rimanda alla tabella 3.1.

Specie piantumata	<i>Phragmites australis</i> (Cav.)
Superficie delle vasche	750 m ² ognuna
Profondità (punto medio)	1 m
Alimentazione	Alternata (una vasca alla settimana)
Durata di ogni cacciata	6 h (bassa stagione) 3 h (stagione turistica)
Volume ad ogni cacciata	14,40 m ³ (bassa stagione) 24,51 m ³ (stagione turistica)
Granulometria del substrato	Ghiaia (20 cm in superficie, diam. 16-32 mm) Sabbia fine (diam. 0,063-2,0 mm) Sabbia media (diam. 4-8 mm)
Volume della vasca di raccolta finale	750 m ³

Tabella 3.1: caratteristiche di progetto del sistema di fitodepurazione di Monticolo (APPA-BZ, 2017)



Figura 3.6: ortofoto dell'impianto di trattamento acque reflue di Monticolo (tratto da Prov. BZ, 2016)

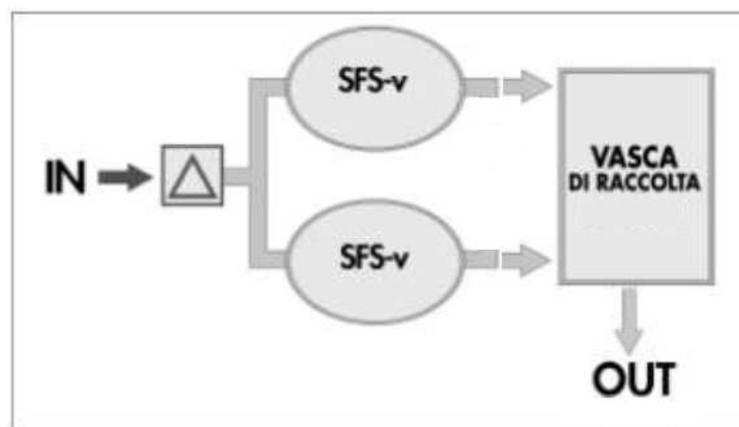


Figura 3.7: schema dell'impianto di trattamento acque reflue di Monticolo; il triangolo riquadrato indica il comparto a fanghi attivi (tratto da ISPRA, 2012, modificato)

3.2.2 Impianto di Verano

L'impianto di Verano serve gli abitanti dell'omonimo Comune altoatesino sito a circa 1200 m s.m.m. (figura 3.8). Le acque da trattare sono raccolte in una fossa biologica a tre camere da 400 m³, dopodiché sono sottoposte a fitodepurazione attraverso più sistemi di vasche a flusso sub-superficiale verticale (dotati di pozzetti di raccolta) per essere infine convogliate in una vasca a pelo libero (figura 3.9). Il depuratore si trova notevolmente più a valle del centro abitato: la quota sul livello del medio va dai 905 m della fossa a monte agli 887 m della vasca finale (ISPRA, 2012).

Nonostante la località sia una meta turistica l'impianto non risente di variazioni stagionali. Tutto il sistema depurativo è alimentato a gravità grazie alla presenza di sifoni nei pozzetti (non si ha infatti sollevamento meccanico del refluo nel passaggio da un comparto al successivo).

In tabella 3.2 si riportano le caratteristiche di progetto.

Specie piantumata	<i>Phragmites australis</i> (Cav.)
Superficie delle vasche (batteria 1)	310 m ² ognuna
Superficie delle vasche (batteria 2)	415 m ² ognuna
Superficie delle vasche (batteria 3)	420 m ² ognuna
Profondità (punto medio)	1 m
Alimentazione batteria 1	Alternata (una vasca a settimana)
Alimentazione batteria 2 e 3	Alternata (una batteria a settimana)
Durata di ogni cacciata	3 h (batteria 1) 4 h (batteria 2 e 3)
Volume ad ogni cacciata	12,50 m ³ (batteria 1) 8,33 m ³ (batteria 2 e 3)
Granulometria del substrato (dalla superficie)	Ghiaia di copertura (5 cm, diam. 8-16 mm) Sabbia fine (15 cm in batteria 1, 30 cm in batteria 2 e 3; diam. 0,063-2 mm) Sabbia media (40 cm in batteria 1, 25 cm in batteria 2 e 3; diam. 2-4 mm) Ghiaione (55 cm, diam. 4-16 mm) Strato drenante e di aerazione in ghiaione/ghiaia (35 cm, diam. 16-32 mm)
Volume della vasca di raccolta finale	1200 m ³

Tabella 3.2: caratteristiche di progetto del sistema di fitodepurazione di Verano (APPA-BZ, 2017)



Figura 3.8: ortofoto dell'impianto di trattamento acque reflue di Verano (tratto da Prov. BZ, 2016)

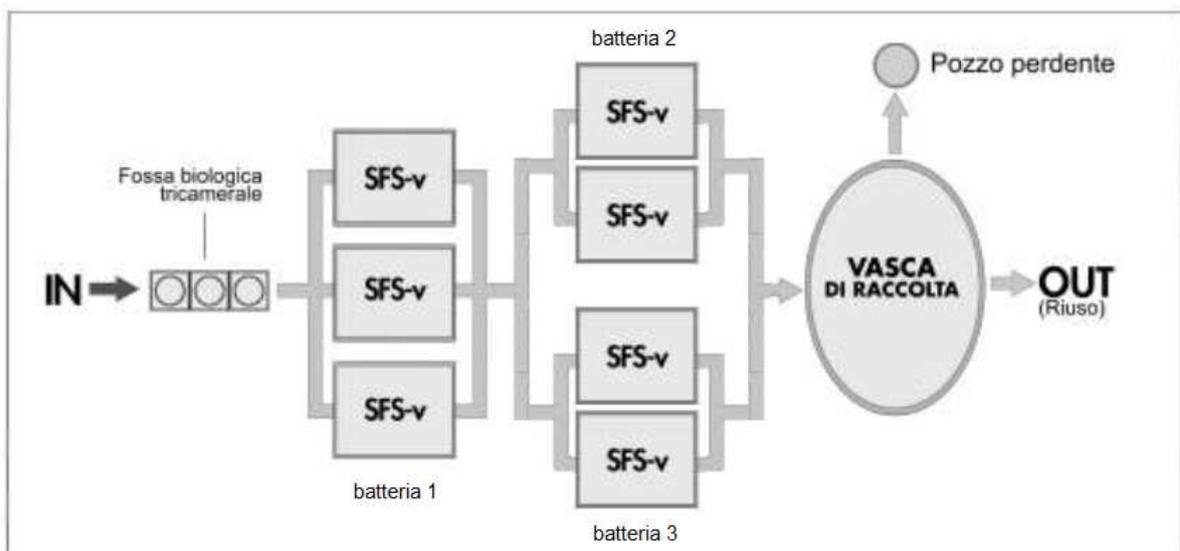


Figura 3.9: schema dell'impianto di trattamento acque reflue di Verano (tratto da ISPRA, 2012, modificato)

3.3 Materiali e metodi

A conferma dei rendimenti depurativi trovati con il progetto *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016) è stata proposta ad *Eco center S.p.A* e *Ecoresearch s.r.l.* una campagna di misurazione in cui parallelamente alle concentrazioni dei farmaci selezionati si rilevassero anche i valori convenzionali (come SST, BOD₅ etc.). I campionamenti hanno avuto una precisa programmazione temporale per tenere conto dei tempi di ritenzione idraulica del refluo in ogni vasca (Sezione 3.3.1); in questo modo si è cercato di prelevare i campioni "seguendo" il refluo lungo i comparti dell'impianto.

3.3.1 Calcolo dei tempi di ritenzione idraulica (HRT)

Gli impianti che utilizzano la fitodepurazione hanno dei tempi di ritenzione idraulica del refluo (*HRT - Hydraulic Retention Time*) nettamente superiori rispetto ai sistemi convenzionali a fanghi attivi.

In questo studio si vuole capire l'evoluzione dei composti nei vari passaggi della filiera depurativa di due impianti reali e stimare quindi l'efficienza di ogni singolo comparto. Durante i campionamenti si è dovuto considerare il tempo che il refluo impiega per fluire dalla sezione d'ingresso a quelle intermedie e infine all'uscita.

Nonostante i vari dati progettuali disponibili riguardo i letti filtranti, per stimare un *HRT* si è dovuto far fronte ad alcune complessità:

- in entrambi gli impianti è utilizzato un flusso sub-superficiale verticale, quindi le vasche funzionano come un reattore *batch* ma non sono saturate dal refluo; non si può dunque applicare la legge di Darcy per il moto dei fluidi all'interno dei mezzi porosi;
- la granulometria dei sedimenti che costituiscono i letti filtranti è stratificata orizzontalmente, ma questa omogeneità è alterata dagli apparati radicali delle piante di *Phragmites australis* (Cav.) che possono penetrare fino a 70 cm (ISPRA, 2012);
- il refluo da depurare (anche già sottoposto ad uno stadio di sedimentazione primaria) contiene una certa frazione di solidi sospesi per lo più colloidali, che percolano a velocità inferiori alla frazione liquida.

Per il calcolo approssimato di *HRT* per ogni singolo letto filtrante si è utilizzata la seguente relazione (Foladori et al., 2014)

$$HRT = \frac{V_a}{Q_{OUT}} \quad \text{con} \quad V_a = (0,05 - 0,03) V_V \quad (3.1)$$

	Monticolo	Verano
<i>HRT</i> batteria 1	12,5 h	1,5 h
<i>HRT</i> batteria 2 e 3	-	4,0 h
residenza nella vasca finale	183,6 h	288,0 h
<i>HRT</i> _{TOT}	8,42 d	12,74 d

Tabella 3.3: tempi di ritenzione idraulica parziali (singole vasche) e totali dei due impianti di fitodepurazione

in cui V_a è il volume d'acqua coinvolto nel flusso attivo, \bar{Q}_{OUT} è la portata volumetrica media uscente dalla vasca, 0,05 è una stima del contenuto d'acqua in condizioni insature, 0,03 è un valore che deriva dal volume d'acqua residua non coinvolta nel flusso attivo e V_V è il volume della vasca.

A causa dell'assenza di misure della portata in uscita dalle vasche, si è utilizzata la portata in ingresso calcolata a partire dal volume e dalla durata di ogni cacciata di refluo (tabella 3.1 e 3.2).

Per trovare il *HRT* totale di ogni impianto si sono sommati i tempi di ritenzione idraulica delle sole vasche disposte in serie, le rispettive durate delle somministrazioni di refluo, il tempo necessario per riempire ogni pozzetto (posto uguale al tempo tra una cacciata e la successiva) ed il tempo di residenza idraulica all'interno della vasca finale a pelo libero (calcolato sostituendo a V_a il volume della vasca di raccolta nella (3.1)). In tabella 3.3 si riportano i risultati ottenuti per entrambi gli impianti.³

In entrambi i casi si sono fatte alcune approssimazioni e si sono introdotte delle ipotesi per semplificare il calcolo di *HRT*:

- il volume coinvolto nel flusso attivo è differente da quello considerato nella (3.1), poiché i sistemi a fitodepurazione verticale considerati contengono materiali con granulometrie differenti;
- nella (3.1) si è utilizzato il volume in ingresso alle vasche (Q_{IN}) invece di \bar{Q}_{OUT} a causa dell'assenza di misure in uscita;
- si è ipotizzato che il tempo tra una cacciata e la successiva fosse uguale alla durata della percolazione dell'effluente;
- la portata uscente da ogni batteria di vasche in parallelo è raccolto in un pozzetto intermedio, che quindi funge da pozzetto di accumulo e di mandata per la portata che viene inviata al recettore a valle; nel caso dell'ingresso nella vasca di raccolta finale si è assunta una portata entrante pari a quella delle cacciate (Q_{IN}) e si è

³Nel caso di Monticolo si è considerata la bassa stagione, perché è il periodo durante il quale è stata commissionata la campagna di rilevamento; durante l'alta stagione il *HRT* stimato varia di poco: 7,93 d.

ipotizzato che ogni volume di riferimento vi rimanga per tutto il tempo necessario a riempire la vasca stessa (prevedendo quindi un totale ricambio d'acqua).

Per ottenere un *HRT* più preciso sarebbe stato opportuno l'utilizzo di un tracciante apposito (ma è un aspetto che esula da questa trattazione).

3.3.2 Programmazione temporale dei campionamenti

A differenza dei depuratori convenzionali con schema a fanghi attivi, gli impianti di fitodepurazione presentano *HRT* nettamente superiori ed il bacino d'utenza è molto ristretto. Di conseguenza la qualità delle acque recapitate è molto più soggetta alle abitudini della popolazione servita ed anche l'andamento dei farmaci è molto più variabile. Per questo motivo sarebbe fuorviante confrontare un qualsiasi campione prelevato in ingresso con un altro qualsiasi preso allo scarico; si deve invece fare in modo di correlare aliquote di refluo in ingresso ed in uscita attraverso l'*HRT*.

Si è considerato un volume di refluo in ingresso (detto volume di riferimento) del quale si vuole seguire nel tempo il passaggio nei vari stadi di trattamento. Grazie a questo approccio e stimando il tempo di ritenzione in ogni stadio si sono potuti confrontare opportunamente i campioni prelevati, per poi stimare l'aliquota di farmaci rimossa dal volume di riferimento in ogni comparto.

La campagna ha avuto luogo durante il mese di ottobre 2016 con prelievi a distanza di tre giorni: 10.10.2016 (giorno 0), 13.10.2016 (giorno 3), 17.10.2016 (giorno 7), 20.10.2016 (giorno 10). Il refluo è stato prelevato in varie sezioni dei due impianti e quando possibile si sono effettuati campionamenti mediati su 24 h utilizzando dei campionatori programmabili refrigerati. Per ottenere una quantità di dati sufficiente si è campionato il refluo in ogni sezione ad ogni sopralluogo. In questo modo si possono individuare anche altri volumi di riferimento da monitorare.

I punti di campionamento illustrati alle figure 3.10 e 3.11 sono stati numerati progressivamente partendo da monte (IN) verso valle (OUT). Nel caso dell'impianto di Monticolo si dispone di un solo campione istantaneo in corrispondenza dello scarico a valle della vasca finale di raccolta; per quanto riguarda Verano invece non è stato possibile avere campioni delle acque in uscita.

3.3.2.1 Monticolo

È stato deciso di campionare le sezioni indicate in figura 3.10: ingresso (a monte della grigliatura iniziale), pozzetto a valle del sistema a fanghi attivi, a valle della "vasca 1", a valle della "vasca 2", scarico a valle della vasca di raccolta finale. A causa dell'assenza di campionatori programmabili, tutti i prelievi di refluo sono stati istantanei.

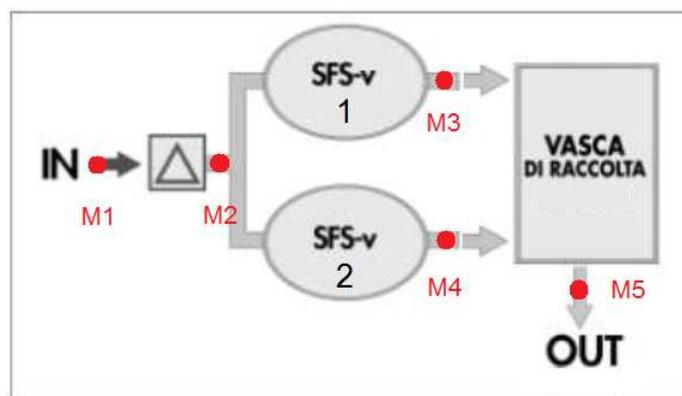


Figura 3.10: punti di campionamento presso l'impianto di trattamento di Monticolo (tratto da ISPRA, 2012, modificato)

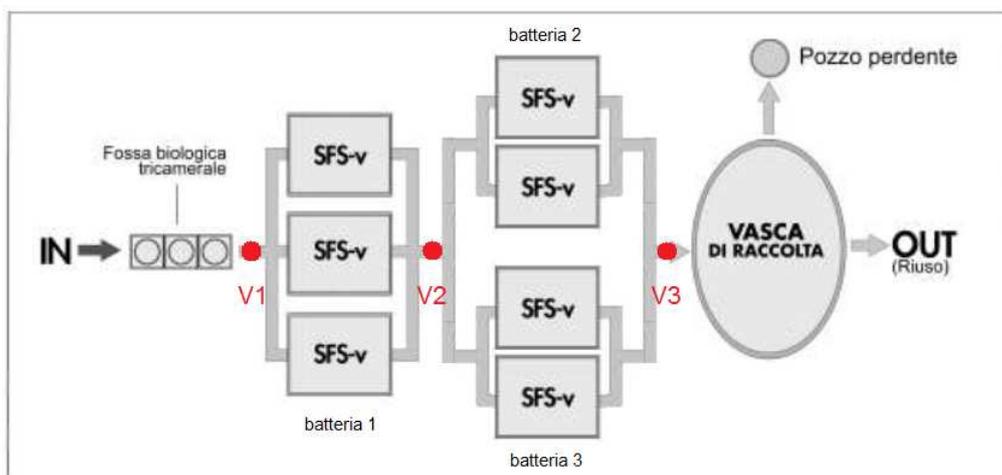


Figura 3.11: punti di campionamento presso l'impianto di trattamento di Verano (tratto da ISPRA, 2012, modificato)

3.3.2.2 Verano

I campionamenti sono avvenuti in corrispondenza delle sezioni indicate in figura 3.11: pozzetto a monte della prima batteria di vasche (mediato su 24 h), pozzetto tra la batteria 1 e le batterie 2 e 3 (campione istantaneo), pozzetto a valle delle batterie 2 e 3 (mediato su 24 h). In figura 3.12 si schematizzano i campionamenti con una linea del tempo.

I campioni mediati sulle 24 h sono stati prelevati ad intervalli di tempo regolari e le varie aliquote erano le stesse per ogni istante di prelievo, indipendentemente dalla portata effluente.

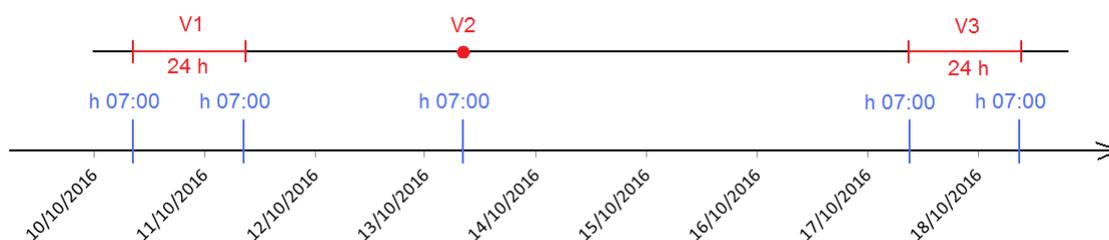


Figura 3.12: schema temporale dei campionamenti considerati lungo la filiera di trattamento dell'impianto di Verano

3.3.3 Calcolo delle efficienze di rimozione dei farmaci

Per calcolare le rimozioni R dei vari composti si è utilizzata la seguente relazione

$$R = 1 - \frac{C_{fin}}{C_{iniz}} \quad (3.2)$$

dove C_{fin} e C_{iniz} sono rispettivamente la concentrazione finale e iniziale (esprese in ng/l).

La (3.2) si è usata sia nel caso dell'abbattimento totale (e.g. tra il punto M1 e il punto M5) sia per risalire all'efficienza dei singoli stadi depurativi (e.g. tra M1 e M2), sempre tenendo conto della propagazione del volume di riferimento all'interno degli impianti.

3.3.4 Analisi chimiche

Oltre alle concentrazioni dei farmaci selezionati (atenololo, bezafibrato, caffeina, carbamazepina, DHDH-CBZ, EP-CBZ, diclofenac, 4'-OH-DCF, ketoprofene, ranitidina e salbutamolo; Sezione 2.1) si è reso necessario indagare anche alcuni parametri della depurazione: conducibilità, pH, SST (Solidi Sospesi Totali), azoto ($N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ e N_{TOT}), fosforo (P_{TOT} e PO_4^{3-}), cloruro, fluoruro, solfato, BOD_5 (*Biochemical Oxygen Demand*) e COD (*Chemical Oxygen Demand*).

3.3.5 Metodo d'indagine e strumentazione

Per i campionamenti istantanei sono stati prelevati dall'operatore circa 2 litri di refluo in ogni punto, mentre i campionatori automatici hanno prelevato indipendentemente dalla portata fluente 100 ml ogni ora per 24 h a partire dalle 7 del mattino. Di ogni campione sono stati utilizzati complessivamente 500 ml per le analisi sui farmaci e un litro per i parametri standard.

I parametri tipici della depurazione sono stati indagati secondo i seguenti metodi analitici:

- conducibilità, pH, SST, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻, PO₄³⁻, cloruri, fluoruri, solfati, BOD₅ e COD secondo le metodologie APAT e CNR-IRSA, 2004;
- N_{TOT} secondo UNI ENV 12660:2003 su campione non filtrato;
- P_{TOT} utilizzando il kit per il fosforo totale (*Hach Lange*, Colorado - U.S.A.)

Il valore dell'azoto totale secondo Kjeldahl è stato calcolato come

$$TKN = N_{TOT} - (\text{NO}_2^- - \text{N} + \text{NO}_3^- - \text{N}) \quad (3.3)$$

I prodotti farmaceutici sono stati rilevati usando dei farmaci di riferimento marcati come standard interno mediante un cromatografo liquido ad alte pressioni *UHPLC Ultimate 3000* (*Thermo Fisher Scientific*, Massachusetts - U.S.A.) accoppiato ad uno spettrometro di massa *Q Exactive™ Hybrid-Quadrupole Orbitrap™ Mass Spectrometer* (*Thermo Fisher Scientific*, Massachusetts - U.S.A.) (figura 3.13) operante con una sorgente ionica di tipo electrospray. Prima della cromatografia liquida (*Ultra High Performance Liquid Chromatography - Tandem High Resolution Mass Spectrometry*) ogni volume di campione da analizzare è stato prefiltrato (diametro dei pori 0,45 μm), estratto in fase solida e diluito con 200 μl di soluzione tampone acquosa. Per l'analisi *UHPLC* sono stati utilizzati 20 μl di ogni estratto finale.



Figura 3.13: il cromatografo liquido ad alte pressioni accoppiato allo spettrometro di massa usato per le analisi riguardanti i farmaci (tratto da Ecoresarch et al., 2016)

3.4 Risultati della campagna

3.4.1 Dati rilevati

Si riportano di seguito i valori dei parametri convenzionali di qualità del refluo e le concentrazioni dei farmaci rilevate durante la campagna di analisi (dal 10.10.2016 al 20.10.2016; cfr. Sezione 3.3).

Le tabelle 3.4-3.5 e 3.6-3.7 riportano rispettivamente i valori dei parametri convenzionali (rilevati dal Laboratorio Acque Reflue di *eco center S.p.A.*) e le concentrazioni dei farmaci (elaborate dal laboratorio di analisi *Ecoresearch s.r.l.*); la sigla "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato rilevato, poiché inferiore al *LOD* del metodo.

Data Punto camp.	10.10.2016				13.10.2016				17.10.2016				20.10.2016				
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M5
pH [-]	7,4	6,9	7,5	7,2	7,6	6,9	7,7	7,8	7,4	7,2	7,3	7,6	7,4	7,2	7,6	7,7	8,3
σ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	1083	1013	1109	1118	1237	1005	1144	1115	1223	932	1016	105	1186	972	1008	1035	1046
SST [mg/l]	335	3	<3	<3	600	4	<3	<3	675	5	<3	7	229	4	<3	7	<3
COD [$\text{mg O}_2/\text{l}$]	842,0	20,5	12,6	9,5	1380,0	23,7	9,2	12,0	1606,0	17,1	9,9	15,2	721,0	30,2	11,2	15,6	18,1
BOD₅ [$\text{mg O}_2/\text{l}$]	540	5	3	3	850	5	2	2	1050	4	2	3	480	4	4	3	6
NH_4^+-N [mg/l]	41,7	1,6	0,3	0,2	47,0	1,0	0,3	0,4	44,2	3,5	0,5	0,4	40,6	2,6	0,2	0,2	0,1
NO_3^--N [mg/l]	<1	51,5	40,6	55,3	<1	53,2	52,8	42,9	<1	42,7	48,6	42,7	<1	39,7	42,6	39,3	41,5
NO_2^--N [mg/l]	0,08	0,20	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06
N_{TOT} [mg/l]	59,6	54,8	42,0	58,0	91,3	55,0	53,5	44,0	92,1	47,0	49,5	43,5	57,1	42,9	43,0	40,0	42,0
TKN [mg/l]	59,5	3,1	1,4	2,7	91,3	1,8	0,7	1,1	92,1	4,3	0,9	0,8	57,1	3,2	0,4	0,7	0,5
P-orto [mg/l]	6,5	4,9	6,3	6,1	9,4	6,6	5,9	5,8	4,4	5,2	5,8	5,4	7,4	5,8	5,8	5,4	6,1
P_{TOT} [mg/l]	9,2	5,3	6,5	6,2	17,4	7,4	6,4	6,2	18,6	5,7	6,2	5,9	12	6,4	6,2	5,8	6,8
Fluoruri [mg/l]	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	4,7	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Cloruri [mg/l]	97	122	129	130	103	115	127	129	46	104	111	118	115	114	107	114	118
Solfati [mg/l]	67,0	64,9	69,0	68,5	50,5	65,7	68,2	68,4	31,8	57,3	61,9	64,7	56,9	60,6	60,1	61,8	639,0

Tabella 3.4: valori dei parametri convenzionali rilevati presso l'impianto di Monticolo

Data Punto camp.	10.10.2016			13.10.2016			17.10.2016			20.10.2016		
	V1	V2	V3	V1	V2	V3	V1	V2	V3	V1	V2	V3
pH [-]	7,2	6,9	7,1	7,7	6,5	7,3	7,4	6,8	7,0	7,4	6,7	7,1
σ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	1064	964	985	1137	976	1010	825	917	893	711	1053	787
SST [mg/l]	460	3	4	433	40	3	379	16	4	212	4	< 3
COD [$\text{mg O}_2/\text{l}$]	1682,0	55,0	26,3	902,0	107,0	21,8	721,0	53,6	22,3	669,0	37,5	25,4
BOD₅ [$\text{mg O}_2/\text{l}$]	850	20	4	580	62	3	460	17	4	380	8	3
NH₄⁺-N [mg/l]	63,3	1,7	0,6	60,7	31,4	0,4	42,3	20,4	0,5	32,9	15,8	0,7
NO₃⁻-N [mg/l]	< 1,0	33,6	77,9	< 1,0	32,0	80,7	< 1	39,7	65,2	< 1,0	68,3	49,3
NO₂⁻-N [mg/l]	< 0,06	0,16	< 0,06	< 0,06	< 0,06	< 0,06	0,03	< 0,06	< 0,06	< 0,06	0,17	< 0,06
N_{TOT} [mg/l]	111,5	56,1	80,9	102,0	66,3	82,0	73,3	60,1	66,0	45,6	84,5	50,5
TKN [mg/l]	111,5	22,3	3,0	102,0	34,3	1,3	73,2	20,4	0,8	45,6	16,0	1,2
P-orto [mg/l]	6,4	9,4	9,0	6,1	8,7	8,6	10,1	8,3	8,9	2,8	7,9	8,2
P_{TOT} [mg/l]	10,4	9,8	9,5	12,0	10,0	9,1	9,1	9,5	9,5	6,7	8,5	8,8
Fluoruri [mg/l]	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	7,9	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
Cloruri [mg/l]	84	77	78	76	75	80	111	63	69	48	60	57
Solfati [mg/l]	35	37,2	34,5	41,0	29,8	37,8	50,7	45,0	34,2	21,8	48,6	34,3

Tabella 3.5: valori dei parametri convenzionali rilevati presso l'impianto di Verano

Data Punto camp.	10.10.2016				13.10.2016				17.10.2016				20.10.2016				
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M5
Atenololo	933	122	NF	37	714	93	NF	NF	1379	205	9	9	624	113	12	14	14
Bezafibrato	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
Caffeina	49 517	216	67	5314	27 685	64	54	100	127 684	95	69	32	77 898	44	66	57	72
Carbamazepina	12	234	191	335	81	174	301	193	41	168	260	207	10	134	324	254	166
Epossicarbamazepina	NF	55	80	48	NF	41	NF	52	NF	29	3	37	NF	6	24	22	16
Diidrossicarbamazepina	NF	1559	2680	2430	NF	1119	856	2567	115	592	345	946	NF	351	249	751	497
Diclofenac	1196	506	239	100	1586	558	NF	198	1868	983	NF	228	36 164	1013	12	323	46
4'-idrossidiclofenac	842	170	108	165	1988	246	NF	84	1358	100	13	96	646	149	15	91	8
Ketoprofene	165	16	NF	275	613	NF	NF	NF	1424	29	NF	NF	83	NF	NF	NF	NF
Ranitidina	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
Salbutamolo	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF

Tabella 3.6: concentrazioni (esprese in ng/l) dei farmaci analizzati e di alcuni loro metaboliti; impianto di Monticcolo

Data Punto camp.	10.10.2016			13.10.2016			17.10.2016			20.10.2016		
	V1	V2	V3									
Atenololo	903	162	51	493	286	39	280	173	62	490	131	501
Bezafibrato	1255	863	72	NF	658	31	NF	64	14	NF	20	NF
Caffeina	55 916	3844	141	43 189	7118	185	105 016	4805	201	101 564	5527	384
Carbamazepina	551	1101	1391	355	1031	1254	2101	1002	1233	272	1148	1412
Epossicarbamazepina	503	409	113	421	382	26	NF	218	18	64	82	80
Diidrossicarbamazepina	9268	7917	6644	9135	7259	6323	7417	7479	5413	9732	7142	4988
Diclofenac	1903	1536	98	1627	1996	79	1785	1117	136	958	1146	195
4'-idrossidiclofenac	2590	629	24	3066	906	18	1166	246	35	751	313	39
Ketoprofene	3511	1110	84	4471	1370	79	5214	841	113	936	986	154
Ranitidina	NF	NF	NF									
Salbutamolo	NF	NF	NF									

Tabella 3.7: concentrazioni (espresse in *ng/l*) dei farmaci analizzati e di alcuni loro metaboliti; impianto di Verano

3.4.2 Elaborazione dati

Nel caso dello stadio a fanghi attivi di Monticolo tra il punto M1 e il punto M2 (grigliatura, dissabbiatura, comparto a fanghi e sedimentatore) si sono confrontati i valori relativi ai campioni prelevati il medesimo giorno; i fanghi sedimentati non sono stati campionati. Anche ai punti M3 e M4 sono stati considerati i campioni prelevati lo stesso giorno, poiché le due vasche sono disposte in parallelo.

A Verano non erano disponibili analisi allo scarico. Per utilizzare tutti i valori rilevati si sono considerati due volumi di riferimento, evidenziati in tabella 3.8.

	10.10.2016				13.10.2016				17.10.2016				20.10.2016				
M	M1	M2	M3	M4	M5												
V	V1	V2	V3	-	-												

Tabella 3.8: punti di campionamento considerati; per ogni impianto si è evidenziato l'iter (o gli iter) con cui si è seguita la propagazione del volume di riferimento; per quanto riguarda l'impianto di Monticolo l'analisi non parte dal "giorno 0", poiché era disponibile un solo campione in uscita (M5) al "giorno 10" quindi si è considerato il "giorno 3" come giorno di partenza della campagna. "M" indica Monticolo e "V" indica Verano; il rosso indica i campioni considerati relativi al volume di riferimento scelto nell'impianto di Monticolo, mentre il viola ed il verde indicano i corrispettivi campioni considerati a Verano

3.4.2.1 Efficienze depurative degli impianti

Le tabelle 3.9, 3.10 e 3.11 riportano le percentuali di rimozione delle sostanze contenute nei reflui.

Dei parametri convenzionali si sono calcolate solamente le rimozioni tra ingresso e uscita ed il rispetto di eventuali parametri di legge (secondo il D.Lgs. 152/2006 Allegati alla Parte Terza - Allegato 5-3), mentre nel caso dei farmaci si riportano le rimozioni di ogni stadio depurativo stimate in base ai volumi di riferimento considerati.

Durante i giorni di campagna di campionamento non si sono verificate precipitazioni intense che potessero falsare le concentrazioni dei farmaci alterando la portata in uscita da ogni vasca.

Si precisa che i valori negativi significano un aumento di concentrazione, "NaN" sta per *not a number*, mentre "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato rilevato, poiché inferiore al *LOD* del metodo.

Parametro	Monticolo	Verano	Valori da normativa	
			Conc. (in mg/l)	Rimozione min.
pH	7,6 - 8,3	7,5 - 7,1	-	-
σ	15%	24%	-	-
SST	>99%	>99%	<35	90%
COD	99%	98%	<125	75%
BOD₅	99%	99%	<25	70%-90%
NH₄⁺-N	>99%	99%	-	-
NO₃⁻-N	<-4050%	<-5625%	-	-
NO₂⁻-N	<LOD	<LOD	-	-
N_{TOT}	54%	46%	-	-
TKN	99%	99%	-	-
Orto-P	35%	-37%	-	-
P_{TOT}	61%	18%	-	-
Fluoruri	<LOD	<LOD	-	-
Cloruri	-15%	22%	-	-
Solfati	-1165%	9%	-	-

Tabella 3.9: efficienza depurativa degli impianti di Monticolo e Verano per quanto riguarda i parametri convenzionali, confrontata con i limiti di legge (riferiti alla media giornaliera) ove presenti; i valori relativi al depuratore di Verano si riferiscono alla media tra i due volumi di riferimento individuati

Composto	Rimozione parziali			Rimoz. escludendo la vasca fin. M1 → (M3+M4)/2	Rimoz. totale M1 → M5
	CAS	VSSF 1	VSSF 2 Vasca fin.		
Atenololo	87%	90%	-53%	99%	98%
Bezafibrato	NF	NF	NF	NaN	NaN
Caffeina	>99%	-8%	-43%	>99%	>99%
Carbamazepina	-115%	-49%	-19%	-188%	-105%
Epossicarbamazepina	< 0%	93%	21%	< 0%	< 0%
Diidrossicarbamazepina	< 0%	69%	23%	< 0%	< 0%
Diclofenac	65%	>99%	60%	86%	97%
4'-idrossidiclofenac	88%	95%	86%	97%	>99%
Ketoprofene	>99%	NF	NF	>99%	>99%
Ranitidina	NF	NF	NF	NaN	NaN
Salbutamolo	NF	NF	NF	NaN	NaN

Tabella 3.10: rimozioni parziali e totali dei farmaci e di alcuni loro metaboliti relative all'impianto di Monticolo; "CAS" si riferisce al comparto a fanghi (comprensivo di grigliatura, dissabbiatura e sedimentazione) e indica quindi la rimozione avvenuta tra il punto M1 e M2; "VSSF" è l'acronimo di *Vertical Sub-Superficial Flow* e indica le vasche del comparto di fitodepurazione ("VSSF 1" e "VSSF 2" dunque si riferiscono al passaggio da M2 a M3 e da M2 a M4, rispettivamente); "Vasca fin." rende conto infine della rimozione che avviene nella vasca di raccolta assumendo come C_{iniz} la media delle concentrazioni dei campioni in uscita dalle due vasche di fitodepurazione in parallelo

Composto	Rimozione parziali			Rimoz. totali	
	Batt. 1	Batt. 2, 3	Batt. 1	Batt. 2, 3	V1 → V3 V1 → V3
Atenololo	68%	78%	65%	71%	93% 90%
Bezafibrato	48%	98%	< 0%	< 0%	99% NF
Caffeina	87%	97%	89%	92%	>99% 99%
Carbamazepina	-87%	-20%	-183%	-41%	-124% -298%
Epossicarbamazepina	24%	95%	48%	63%	96% 81%
Didrossicarbamazepina	22%	25%	18%	33%	42% 45%
Diclofenac	-5%	93%	31%	83%	93% 88%
4'-idrossidiclofeanc	65%	96%	92%	84%	99% 99%
Keetopofene	61%	92%	81%	82%	97% 97%
Ranitidina	NF	NF	NF	NF	NaN NaN
Salbutamolo	NF	NF	NF	NF	NaN NaN

Tabella 3.11: rimozioni parziali e totali dei farmaci e di alcuni loro metaboliti relative all'impianto di Verano

Per quanto riguarda i farmaci a conferma delle efficienze di rimozione individuate tra un comparto e il successivo (prime colonne delle tabelle 3.10 e 3.11) si sono confrontati i valori con quelli calcolati per altre date tra gli stessi punti di rilevamento (e.g. confronto della rimozione dei farmaci calcolata da M1 a M2 in data 13.10.2016 con quella del 17.10.2016).

3.4.3 Discussione sui risultati della campagna

All'interno delle vasche a flusso sub-superficiale le varie reazioni biochimiche che permettono la depurazione del refluo sono dovute alla presenza di comunità perfitiche di microrganismi (consorzi batterici, prolungamenti fungini, microalghe, protozoi) i quali costituiscono il biofilm adeso al mezzo filtrante (Wetzel, 1990). Di fondamentale importanza è la regione all'interfaccia tra le radici delle piante e il materiale di riempimento, dove si instaura una fascia ossica. In questo strato microscopico avvengono ad esempio processi accoppiati di nitrificazione-denitrificazione grazie a scambi diffusivi tra essa ed il circostante strato anossico dovuti ai gradienti di concentrazione di ione ammonio, nitriti e nitrati (figura 3.14). Oltre a tale fenomeno avvengono anche reazioni nelle porosità del materiale di riempimento, ove si forma un biofilm batterico. I processi batterici sono infatti preponderanti nei sistemi di fitodepurazione e anche i processi di rimozione dei farmaci possono essere coadiuvati da questi microcosmi, che si instaurano tra un grano e l'altro.

3.4.3.1 Parametri convenzionali

Dal confronto delle efficienze depurative dei due impianti (tabella 3.9) si nota come siano del tutto comparabili in quanto a rimozione di SST, COD, BOD₅ e azoto ammoniacale; in entrambi si registra un notevole aumento della concentrazione di azoto nitrico. Fanno eccezione alcuni composti (ortofosfati, fosforo totale, cloruri e solfati) per i quali può aver influito la presenza dello stadio iniziale a fanghi attivi a Monticolo.

Le percentuali di rimozione sono molto alte per la maggior parte dei parametri fondamentali (maggiori del 98% per SST, COD e BOD₅) e tutte rispettano le indicazioni di cui al *Testo Unico Ambientale* D.Lgs. 152/2006 (ove presenti). Nonostante i campioni siano stati prelevati alle porte delle prime gelate (soprattutto a Verano, dove la temperatura minima è stata di -2 °C), l'attività ipogea delle piante ha continuato la propria attività in sinergia con i microrganismi (Romagnoli, 2013) grazie all'effetto coibente del terreno.

I risultati proposti sono stati confrontati con quelli dell'APPA (APPA-BZ, 2017) e dell'ISPRA (ISPRA, 2012), che riportano gli andamenti di alcuni parametri considerati, sia per Monticolo sia per Verano (tabella 3.12 e 3.13). Anche se le due istituzioni han-

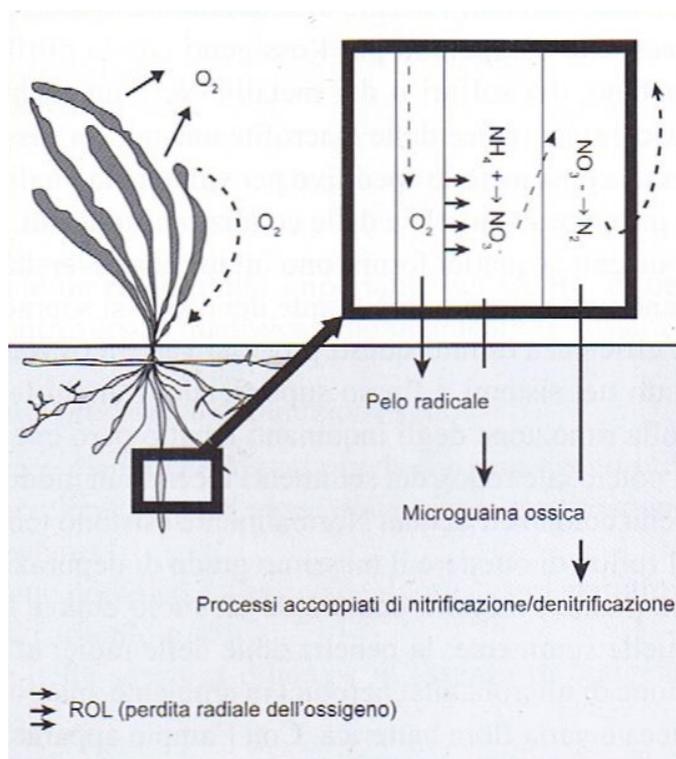


Figura 3.14: esempio dei processi che possono intervenire a scala microscopica durante la fitodepurazione: rappresentazione schematica delle principali reazioni del ciclo dell'azoto che avvengono all'interfaccia radice-sedimento, in coincidenza con il rilascio radicale di ossigeno (tratto da Romagnolli, 2013)

no eseguito i campionamenti senza aver tenuto conto degli *HRT*, si possono comunque confrontare in maniera disaccoppiata i valori in ingresso e in uscita: essi sono risultati simili a quelli della campagna di analisi, a conferma dell'esecuzione dei campionamenti in condizioni di funzionamento ordinarie per entrambi gli impianti.

Si analizzano di seguito i valori più significativi, in riferimento al monitoraggio eseguito.

pH Per entrambi gli impianti di fitodepurazione il pH ingresso è sempre in campo debolmente alcalino (come è tipico nelle acque reflue civili) e lungo gli impianti si mantiene sempre nel range di optimum per i processi biologici coinvolti nella depurazione delle acque ($pH = 6,5 - 8,5$).

Solidi sospesi totali (SST) I pochi SST che superano la sedimentazione posta a valle dello stadio a fanghi attivi a Monticolo sono totalmente rimossi (rimozione > 99%); il principale meccanismo responsabile di questo abbattimento è l'adsorbimento sul biofilm adeso ai grani delle vasche di fitodepurazione. A Verano la vasca tricamerale lascia passare un alto carico di solidi in ingresso alla prima batteria di vasche *VSSF* ($SST = 212 - 460 \text{ mg/l}$), paragonabile con il carico solido in ingresso all'impianto di Monticolo (SST

Parametro	Dati 22/10/2009 (ISPRA, 2012)		Media anno 2010 (APPA-BZ, 2017)	
	Ingresso fitodep.	Uscita impianto	Ingresso impianto	Uscita impianto
SST [mg/l]	9	5	-	-
COD [mgO_2/l]	23	14	702	26
BOD ₅ [mgO/l]	< 10	< 10	372	9
NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	< 1	< 1	-	-
N _{TOT} [mg/l]	47	55	65	31
P _{TOT} [mg/l]	47	55	16	4

Tabella 3.12: valori dei parametri convenzionali rilevati da ISPRA e APPA-BZ presso l'impianto di Monticolo; i dati ISPRA fanno riferimento al solo comparto di fitodepurazione, mentre APPA-BZ ha effettuato i campionamenti in ingresso (a monte del comparto a fanghi attivi) e in uscita; il simbolo "-" significa che il parametro non è stato misurato

Parametro	Dati 03/11/2009 (ISPRA, 2012)		21/09/2010 (APPA-BZ, 2017)	
	Ingresso impianto	Uscita impianto	Ingresso impianto	Uscita impianto
SST [mg/l]	-	8	-	2
COD [mgO_2/l]	722	29	782	44
BOD ₅ [mgO/l]	363	< 10	408	<10
NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	71	< 1	59	3
N _{TOT} [mg/l]	-	-	-	-
P _{TOT} [mg/l]	-	-	-	-

Tabella 3.13: valori dei parametri convenzionali rilevati da ISPRA e APPA-BZ presso l'impianto di Verano; il simbolo "-" significa che il parametro non è stato misurato

= 229 - 675 mg/l).

Una problematica diffusa nelle tecnologie depurative a letti filtranti è l'instaurarsi di vie preferenziali per il transito del refluo (percorsi a conducibilità idraulica maggiore) con conseguente rallentamento del flusso nelle zone più marginali dei letti filtranti e intasamento delle porosità (*clogging*). La rimozione di BOD₅, COD e degli stessi SST lungo la filiera depurativa dell'impianto di Verano indica però un buon funzionamento del sistema, che pertanto non presenta problemi di questo tipo.

BOD₅ e COD In entrambi i casi BOD₅ e COD calano drasticamente grazie al regime di funzionamento prevalentemente aerobico delle vasche VSSF. Infatti i due impianti presentano alte percentuali di rimozione (98% - 99%), ben superiori a quelle minime prescritte dalla normativa (come si vede in tabella 3.9). Varie biocenosi di batteri, cianobatteri e funghi si occupano della degradazione dei composti organici, in particolare in prossimità dei rizomi delle piante.

Si precisa che nel caso dei campioni prelevati in uscita agli impianti è stata aggiunta alliltiurea (ATU) per bloccare la nitrificazione (come prescritto dal D.Lgs. 152/2006 in Allegati alla Parte Terza - Allegato 5-1.1).

NH₄⁺ L'ammoniaca è abbattuta in maniera molto efficiente stadio dopo stadio, indice che le vasche sono ben aerate ossia i dosaggi di refluo immesso sono ben ponderati, infatti l'alimentazione discontinua provoca un richiamo di aria dall'esterno verso l'interno del mezzo filtrante. L'azoto ammoniacale (così come il fosforo) può essere utilizzato dalle piante per la sintesi di proteine vegetali a causa della carenza di nitrati in ingresso ai depuratori; poiché questa rimozione dell'azoto per assimilazione diretta è da ritenersi minima (Romagnolli, 2013), prevalgono le reazioni biochimiche di nitrificazione.

NO₂⁻ e NO₃⁻ I nitriti sono rimossi totalmente in entrambi gli impianti; essendo essi una forma di passaggio da ammoniaca a nitrati, non si accumulano ma sono subito trasformati. Il fatto che siano nulli (in particolare in uscita agli impianti) fa supporre che il processo di nitrificazioni sia completo.

L'attività di denitrificazione (riduzione dei nitrati ad opera di batteri anaerobi) è invece pressoché nulla e si manifesta un progressivo aumento nella concentrazione di NO₃⁻. Ciò è dovuto ambo i casi all'assenza di uno stadio di fitodepurazione a flusso sub-superficiale orizzontale (HSSF) in regime anossico, nel quale possa avvenire la denitrificazione. Questa reazione si può avere in minima parte sul fondo delle vasche finali di raccolta, dove potrebbero instaurarsi dei microambienti quasi anossici. Per valutare tale contributo si può effettuare il confronto tra la concentrazione di azoto totale in ingresso e in uscita a queste vasche.

Le analisi sull'azoto totale sono state eseguite senza filtrare i campioni e sono quindi comprensive sia della frazione solubile (azoto ammoniacale, nitrico e nitroso) sia di quella organica. Sottraendo all'azoto totale la frazione solubile si trova quindi quella organica e si può ipotizzare che all'interno della vasca di raccolta finale venga totalmente idrolizzata ad ammoniacale. Si è eseguita questa operazione per i valori trovati sia a monte (punto M3) sia a valle (punto M5) della vasca di raccolta finale.

In entrambi i casi i valori dei nitrati (intesi come NO_3^- -N) negli ultimi stadi depurativi si assestano attorno a valori piuttosto alti (tra i 40 mg/l e gli 80 mg/l); per via dell'esiguo bacino d'utenza servito non costituiscono una particolare minaccia di eutrofizzazione.

3.4.3.2 Rimozione dei farmaci

In generale si è rilevata un'alta efficienza dei due impianti nel rimuovere i vari farmaci (tabella 3.6 e 3.7). L'unica eccezione è costituita dalla carbamazepina che, assieme ai due metaboliti scelti, si è mostrata fortemente recalcitrante con forti aumenti di concentrazioni; ad esempio a Monticolo le differenze tra ingresso (punto M1) e uscita (punto M5) la CBZ è aumentata del 105%, mentre i due metaboliti erano assenti in ingresso ma presenti in uscita in concentrazioni fino a 497 ng/l.

Atenololo, caffeina e ketoprofene sono stati rimossi quasi totalmente in entrambi gli impianti (rispettivamente 98%, > 99% e > 99% a Monticolo e 90%, 99% e 97% a Verano). Si nota come a Monticolo questi farmaci vengano abbattuti già nel comparto a fanghi attivi, in particolare CAF e KET con rimozioni superiori al 99%. Il bezafibrato è stato rimosso totalmente a Verano, ma è una stima che non ha trovato conferme nel caso del secondo volume di riferimento considerato né a Monticolo, poiché non era presente in concentrazioni significative. DCF ha presentato buoni valori di rimozione già nel frazionamento a fanghi attivi di Monticolo (65%) ed è stato poi progressivamente abbattuto in entrambi gli impianti di fitodepurazione (rimozione minima 88%). L'iniziale leggero aumento di concentrazione di DCF a Verano (5%) potrebbe essere dovuto a delle interazioni con il suo metabolita principale ed è un aspetto che merita uno studio più specifico; analogo comportamento per la CBZ ed i suoi due metaboliti principali.

In definitiva si rileva come i quantitativi presenti in ingresso agli impianti siano evidentemente influenzati dall'utilizzo di farmaci fatto dalle comunità servite (ranitidina e salbutamolo non sono stati trovati in nessuno dei campioni analizzati); le efficienze di rimozione totale (tra il punto di campionamento più a monte e quello più a valle) sono però molto simili tra i due impianti.

3.4.3.3 La singolarità di CBZ

In generale durante i processi depurativi si può avere la conversione della molecola parentale di partenza in metaboliti (attraverso attività microbiche) o in altri prodotti di trasformazione (attraverso processi abiotici). Tali prodotti però sono molteplici e talvolta sono presenti già in ingresso agli impianti; ad esempio in tabella 3.6 e 3.7 si nota come EP-CBZ, DHDH-CBZ e 4'-OH-DCF siano presenti e varino di concentrazione durante la filiera depurativa.

Un ulteriore limite nella trattazione risiede nell'impossibilità di effettuare dei bilanci di massa puramente sommando le concentrazioni di un farmaco e dei suoi metaboliti: infatti la massa molecolare del composto varia in funzione dei gruppi funzionali a cui si lega. Si è quindi deciso di ragionare in termini di composto equivalente (analogamente al caso di ammoniaca, nitriti e nitrati, dove si esprime la quantità di ione poliatomico in termini di massa di azoto presente). Si è eseguita questa valutazione solamente per la carbamazepina, l'unica per cui si sia registrato un continuo aumento di concentrazione totale (considerando anche i suoi metaboliti).

La molarità di EP-CBZ in termini di CBZ equivalente è stata calcolata come segue:

- concentrazione di EP-CBZ in termini di CBZ equivalente (M_X indica la massa molare della sostanza X , espressa in g/mol):

$$[\text{EP-CBZeq}] = [\text{EP-CBZ}] \frac{M_{\text{CBZ}}}{M_{\text{EP-CBZ}}} \quad (3.4)$$

- molarità (dividendo nuovamente per la massa molecolare di EP-CBZ):

$$n(\text{EP-CBZeq}) = \frac{[\text{EP-CBZeq}]}{M_{\text{EP-CBZ}}} = [\text{EP-CBZ}] \frac{M_{\text{CBZ}}}{(M_{\text{EP-CBZ}})^2} \quad (3.5)$$

Analogamente per DHDH-CBZ e per la stessa CBZ:

$$n(\text{DHDH-CBZeq}) = [\text{DHDH-CBZ}] \frac{M_{\text{CBZ}}}{(M_{\text{DHDH-CBZ}})^2} \quad (3.6)$$

$$n(\text{CBZ}) = \frac{[\text{CBZ}]}{M_{\text{CBZ}}} \quad (3.7)$$

Si è dunque impostato un bilancio di massa in termini di CBZ equivalente, sommando le varie aliquote

$$n(\text{CBZeq}) = n(\text{CBZ}) + n(\text{EP-CBZeq}) + n(\text{DHDH-CBZeq}) \quad (3.8)$$

I risultati sono mostrati in tabella 3.14 e 3.15. In entrambi gli impianti si è assistito ad un progressivo aumento nella concentrazione di carbamazepina (intesa come molecola parentale).

A Monticolo la concentrazione dei due metaboliti, non presenti in ingresso, ha avuto un brusco aumento iniziale per poi diminuire progressivamente durante il processo depurativo; la rimozione non è stata totale.

Al momento del campionamento veniva alimentata principalmente la linea 1, che collega il punto di campionamento M2 al punto M3 (figura 3.10). Ragionando in termini di CBZ equivalente, se si considera solamente questa linea di depurazione, si osserva un abbattimento nella concentrazione del composto.

A Verano i tre composti erano presenti in quantità molto maggiori rispetto a Monticolo. Solamente la molecola parentale ha avuto un aumento nella concentrazione. I due metaboliti invece sono stati rimossi in minima parte, ma a sufficienza per determinare una diminuzione nella concentrazione di CBZ equivalente.

In entrambi i casi è evidente la presenza di processi in grado di far aumentare la concentrazione di carbamazepina.

Composto	Molarità [<i>nmol/l</i>]				
	M1	M2	M3	M4	M5
<i>n</i> (CBZ)	0,343	0,738	1,102	0,877	0,702
<i>n</i> (EP-CBZeq)	NF	0,152	0,010	0,138	0,059
<i>n</i> (DHDH-CBZeq)	NF	3,619	1,117	3,060	1,606
<i>n</i>(CBZeq)	0,343	4,510	2,229	4,075	2,237

Tabella 3.14: molarità di CBZ e rispettivi metaboliti calcolate in termini di CBZ equivalenti; impianto di Monticolo

Composto	Molarità [<i>nmol/l</i>]					
	V1	V2	V3	V1	V2	V3
<i>n</i> (CBZ)	2,330	4,364	5,218	1,151	4,240	5,976
<i>n</i> (EP-CBZeq)	1,868	1,418	0,067	1,564	0,810	0,296
<i>n</i> (DHDH-CBZeq)	29,974	23,477	17,505	29,543	24,190	16,133
<i>n</i>(CBZeq)	34,173	29,260	22,790	32,608	29,240	22,405

Tabella 3.15: molarità di CBZ e rispettivi metaboliti calcolate in termini di CBZ equivalenti; impianto di Verano

3.4.3.4 Confronto con il progetto *Pro Acqua*

Nel progetto *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016) sono stati analizzati sia a Monticolo sia a Verano molti dei farmaci indagati nella presente campagna di analisi. Sebbene i campionamenti fossero stati eseguiti solamente in ingresso e in uscita agli impianti e senza aver tenuto conto dei tempi di ritenzione idraulica dei letti filtranti, si è comunque impostato un confronto tra le rimozioni ottenute in *Pro Acqua* (tabella 1.1, 1.2 e 1.3) e la campagna di analisi (tabella 3.6 e 3.7). I risultati sono riportati in tabella 3.16; non sono stati considerati i valori relativi ai metaboliti di carbamazepina e diclofenac, nonché le rimozioni di ranitidina e salbutamolo (non indagati durante *Pro Acqua* e non trovati nel refluo in sede di campagna d'analisi).

Farmaco	<i>Pro Acqua</i>		Campagna di analisi	
	$(\bar{R} \pm \sigma_R)$ [%]	n	$(\bar{R} \pm \sigma_R)$ [%]	n
Atenololo	72 ± 23	15	94 ± 5	3
Bezafibrato	78 ± 16	10	99 ± 0	1
Caffeina	99 ± 0	11	99 ± 0	3
Carbamazepina	-105 ± 233	13	-203 ± 88	3
Diclofenac	32 ± 48	15	89 ± 4	3
Ketoprofene	87 ± 18	15	98 ± 1	3

Tabella 3.16: confronto tra le efficienze di rimozione medie totali (\bar{R}) rilevate durante *Pro Acqua* e durante la campagna di analisi; $\sigma_R = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (R_i - \bar{R})^2}$ indica la deviazione standard *unbiased* e n la numerosità del campione (ossia la quantità di impianti di trattamento considerati); i valori negativi indicano un aumento della concentrazione

Atenololo, bezafibrato, caffeina e ketoprofene in media sono stati ben abbattuti dai depuratori e le loro efficienze di rimozione sono in linea con quelle degli impianti di fitodepurazione stimate in fase di campagna d'analisi. È notevole il fatto che l'impianto di trattamento di Termeno costituisca sempre un'eccezione per i farmaci sopracitati, mostrando valori di rimozione nettamente inferiori.

La carbamazepina e il diclofenac vengono rimossi in maniera eterogenea (tabelle da 1.1 a 1.4): il primo composto presenta generalmente aumenti nella concentrazione, mentre per il secondo si passa dagli aumenti di concentrazione rilevati prevalentemente a Bolzano (fino a +65,2%) alle alte rimozioni osservate nei piccoli impianti di trattamento (Avigna 88,0%, Luson 95,0% e Valas 84,0% e 95,2%).

CBZ e DCF presentano dunque dei comportamenti che necessitano di ulteriori indagini per meglio comprenderne i meccanismi di rimozione preferenziali sia durante la depurazione convenzionale sia durante la fitodepurazione. La rimozione meccanica (per

adsorbimento) e quella biologica (biodegradazione) potrebbero essere i meccanismi principali con cui vengono rimossi rispettivamente i metaboliti di CBZ e la molecola parentale di DCF. La presenza di ossigeno disciolto ed il regime di esercizio prevalentemente aerobico sia delle vasche di aerazione (fanghi attivi) sia dei letti filtranti a flusso verticale potrebbero concorrere alla mancata degradazione della carbamazepina.

Si propone quindi una fase sperimentale di studio per cercare di isolare i *pathway* degradativi e le condizioni di funzionamento che potrebbero determinare la rimozione della CBZ (e suoi metaboliti), nonché per dare spiegazione delle elevate efficienze di rimozione del DCF riscontrate con la fitodepurazione.

Capitolo 4

Indagine sperimentale

Si descrive di seguito l'indagine sperimentale condotta a scala di laboratorio realizzando una serie di reattori con cui quantificare gli effetti e le rimozioni di carbamazepina e diclofenac a varie concentrazioni usando due tipi di biomassa.

Per realizzare al meglio questa parte sperimentale si sono scelte tre tipologie di esperimenti:

- rimozione di carbamazepina e diclofenac con una specie selezionata di alga unicellulare che da letteratura presenti rimozioni dei farmaci molto basse o nulle e che non abbia effetti tossici alle concentrazioni prescelte;
- rimozione di carbamazepina e diclofenac con un mix di alghe e batteri;
- fotodegradazione di diclofenac in una soluzione priva di biomassa, nelle stesse condizioni sperimentali delle prime due prove.

4.1 Materiali e metodi

Per una descrizione dettagliata delle procedure e del crono-programma dei vari esperimenti si rimanda all'Appendice A, contenente i protocolli attuati in fase di allestimento, esecuzione e raccolta dati.

4.1.1 Scelta della biomassa

Per l'esecuzione degli esperimenti sono stati impiegati due tipi di biomassa: un inoculo puro ed un mix di alghe e batteri. Entrambi sono stati aggiunti ai reattori in modo da avere inizialmente lo stesso contenuto di SST.

4.1.1.1 Inoculo puro

Questo tipo di esperimento costituisce una sorta di bianco per il successivo esperimento con il mix di alghe e batteri. Visto che è attesa una rimozione nulla durante l'esperimento con inoculo puro, l'abbattimento rilevabile nei reattori contenenti il mix potrà essere imputato alle restanti specie presenti (meritevoli quindi di ulteriori indagini). Se, al contrario, non si avrà alcuna rimozione neanche con l'impiego del mix, vorrà dire che quella microalgale non è una buona via di rimozione dei due composti farmacologici.

Le alghe unicellulari di acqua dolce utilizzate negli articoli consultati sono tra le più comuni ed adattabili. Segue un elenco delle alghe che in letteratura (tabella 2.30 e 2.31) non hanno presentato effetti eco-tossici (se non a concentrazioni di farmaco molto alte), pur mostrando al contempo efficienze di rimozione nulle di carbamazepina e diclofenac (< LOQ del metodo usato) o tutt'al più inferiori a 10%:

- per la carbamazepina: *Ankistrodesmus braunii*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* e *Selenastrum capricornutum* (recentemente rinominata *Pseudokirchneriella subcapitata*; Ferrari et al., 2003);
- per il diclofenac: *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*.

Le specie candidate ad essere usate sono dunque *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*. La scelta è ricaduta su *C. vulgaris*, poiché è la più usata in letteratura.

La *Chlorella* è un organismo molto adattabile e tra le specie di alghe verdi unicellulari più conosciute e studiate (Krienitz et al., 2015). In figura 4.1 se ne illustra l'aspetto e le relazioni filogenetiche con altre specie di alghe verdi.

L'inoculo puro utilizzato è una coltivazione altamente concentrata di *Chlorella vulgaris* fornita dalla Fondazione Edmund Mach di San Michele all'Adige (TN). Prima di es-

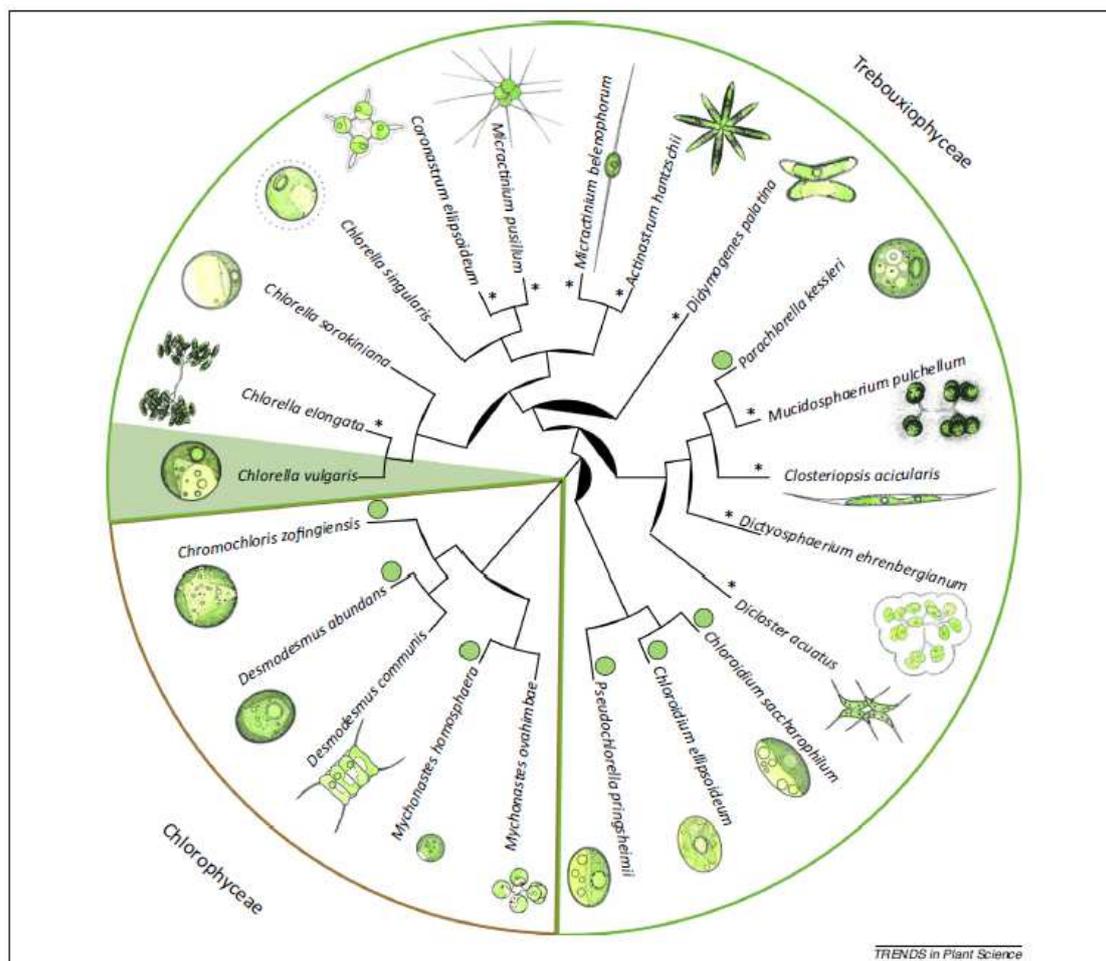


Figura 4.1: cladogramma che illustra l'aspetto di *C. vulgaris* e le relazioni filogenetiche tra il genere *Chlorella* ed altre alghe simili (tratto da Krienitz et al., 2015)

sere equamente suddivisa nei vari contenitori la biomassa è stata centrifugata (a 600 rpm per 10 minuti) per eliminare il brodo di coltura.

4.1.1.2 Mix di alghe e batteri

Il mix di alghe e batteri è una biocenosi sviluppata presso il L.I.S.A - UniTN (Laboratorio di Ingegneria Sanitaria Ambientale dell'Università degli Studi di Trento) in una precedente ricerca durata un anno, dove era impiegata per trattare refluo civile. Essa è quindi già ben acclimatata alla presenza di farmaci, contenuti nel refluo usato. Il mix è stato sviluppato durante un precedente lavoro di tesi (Petrini, 2016) a partire da un inoculo puro di *C. vulgaris*. Quest'ultima è presente in modesta quantità all'interno del mix assieme ad altre specie di microalghe e cianobatteri.

4.1.2 Scelta dei tempi e delle concentrazioni

Per ogni farmaco si sono raccolte le informazioni riguardanti le rimozioni ottenute dagli autori in funzione delle concentrazioni iniziali utilizzate e delle durate dei singoli esperimenti a scala di laboratorio (figure 4.2 e 4.3). Sulla base di questi dati sono stati definiti i test da eseguire, pur restando sempre sotto la soglia di eco-tossicità per *C. vulgaris*. Per quanto riguarda il diclofenac (figura 4.2(b) e 4.3(b)) parallelamente al test contenente l'inoculo di chlorella è stato installato un test di controllo utilizzando reattori privi di biomassa.

Le concentrazioni più utilizzate in letteratura sono molto varie e coprono un intervallo di numerosi ordini di grandezza: dalle centinaia di ng/l alle decine di mg/l . Anche le durate dei test sono variabili e vanno dalle ore al mese. Gli esperimenti riguardanti la sola fotodegradazione di diclofenac si discostano da quelli di rimozione biologica, presentando concentrazioni tendenzialmente elevate e tempi di esecuzione molto brevi (in genere inferiori a 24 ore).

Sono state scelte 5 concentrazioni di farmaco differenti per ogni tipo di esperimento e in ogni reattore si è introdotto un solo farmaco, per un totale di 10 reattori per ognuna delle prime due tipologie di esperimenti e 5 reattori per i test di controllo senza biomassa (solo diclofenac). Le varie concentrazioni sono state ponderate in maniera da essere multipli e per coprire un intervallo di ordini di grandezza compatibile con quello trovato in letteratura come si può vedere in figura 4.2; nello specifico: $2\ mg/l$, $5\ mg/l$, $50\ mg/l$, $500\ mg/l$ e $2000\ mg/l$.

Per quanto concerne le durate dei test si è constatato come ci siano rimozioni accettabili dopo 3 - 9 giorni di sperimentazione. In molti casi l'illuminazione artificiale dei reattori non è costante e simula i naturali cicli di luce. In questo modo però entrano in gioco altri fattori, quali l'assenza di fotosintesi clorofilliana nelle ore di buio con conseguente diminuzione dell'ossigeno disciolto. Vista la dipendenza della rimozione di carbamazepina e diclofenac dalla quantità di ossigeno presente, documentata da vari autori (Suárez et al., 2010; Hai et al., 2011a; de Wilt et al., 2016), si è scelto di eseguire solamente esperimenti in presenza di irraggiamento artificiale 24 ore su 24.

La durata di ogni test è stata fissata a 5 giorni, un valore intermedio tra quelli riscontrati in letteratura (figura 4.3); non troppo breve da escludere meccanismi dipendenti dal tempo e dovuti ad esempio all'acclimatazione alle alte concentrazioni somministrate, né troppo lunga da diventare poco applicabile.

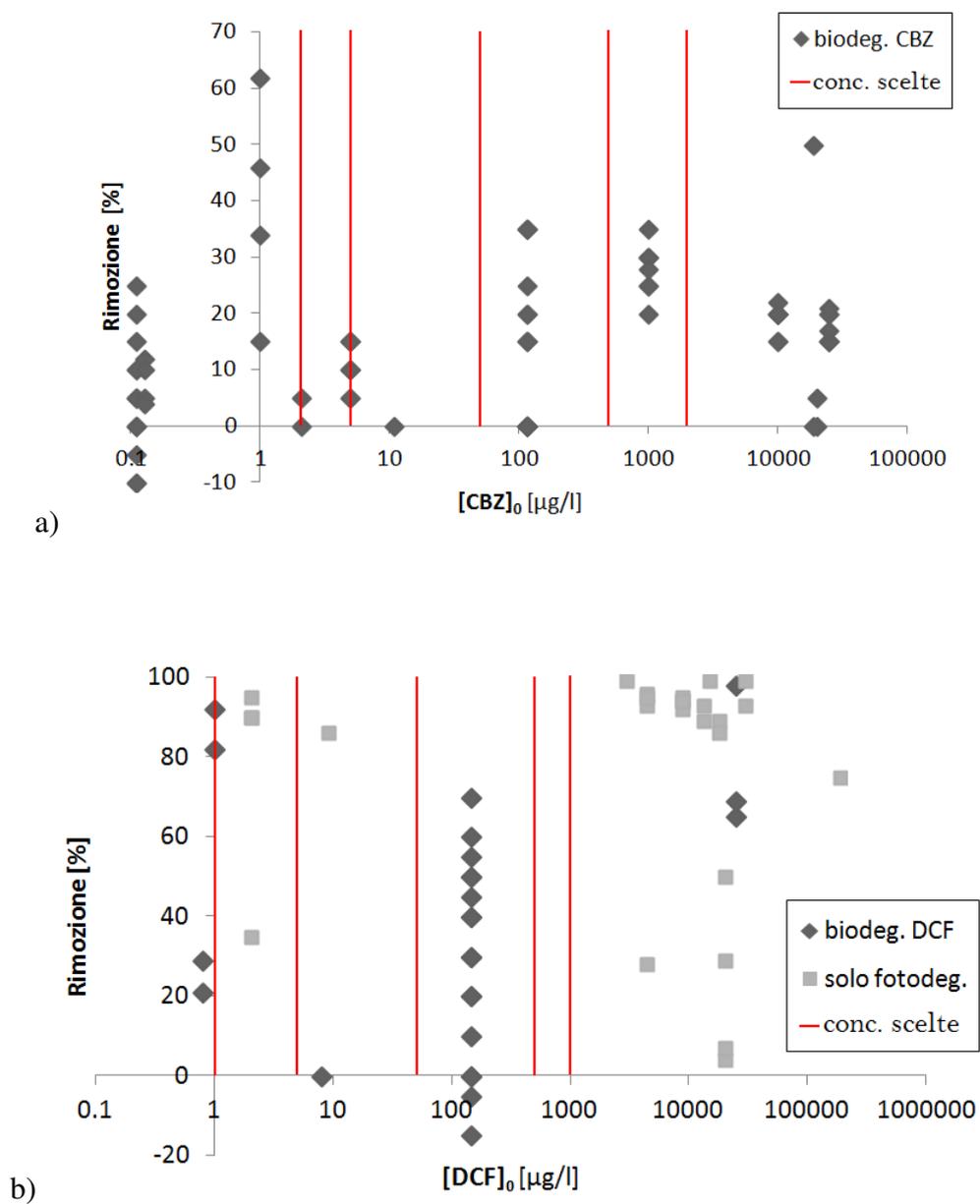


Figura 4.2: rimozioni ottenute dai vari autori in funzione delle concentrazioni iniziali di (a) carbamazepina e (b) diclofenac, riportate in scala logaritmica; in rosso sono indicate le concentrazioni selezionate

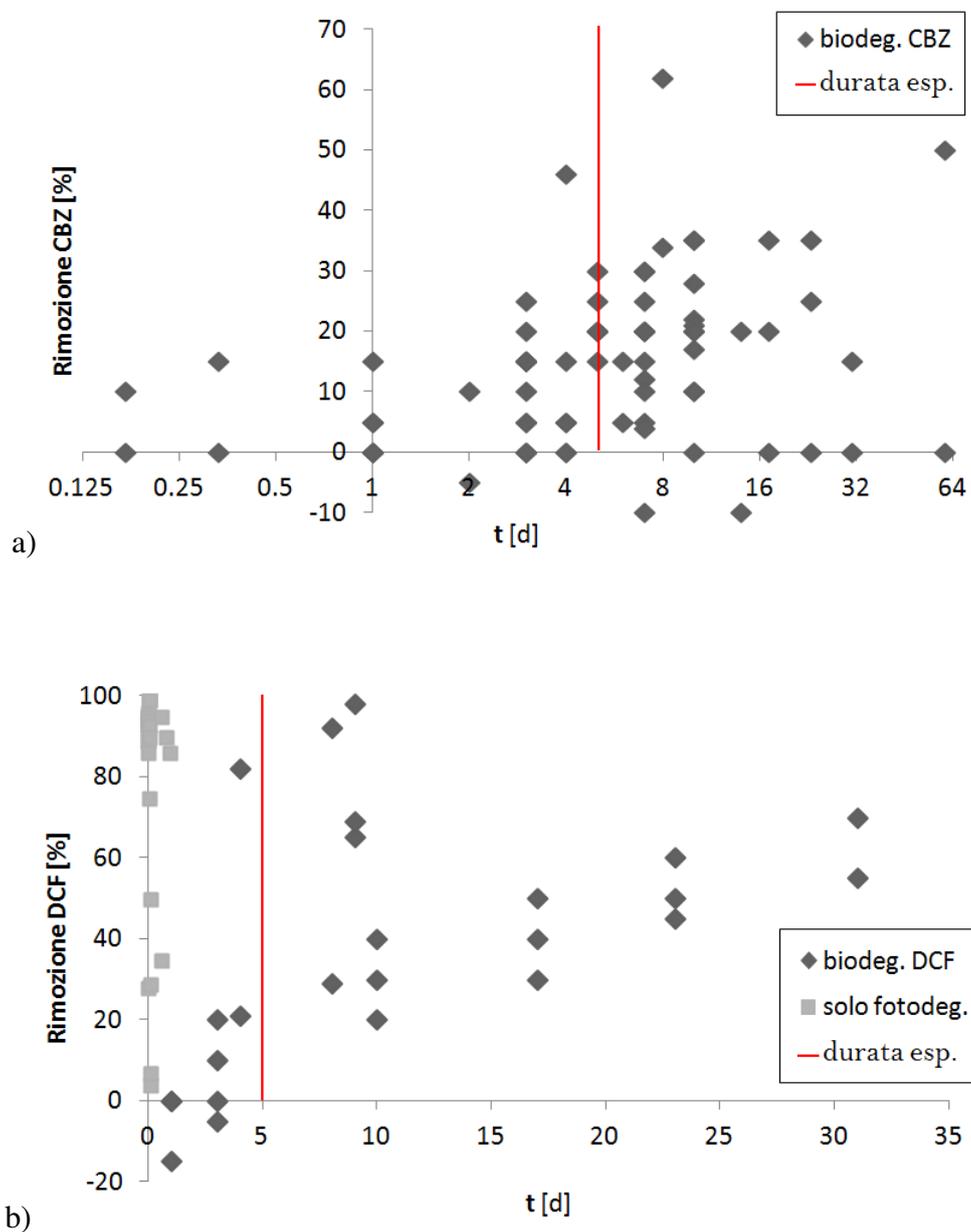


Figura 4.3: rimozioni di (a) carbamazepina e (b) diclofenac ottenute dai vari autori in funzione dei tempi di esecuzione dei test; nel caso del diclofenac i tempi sono riportati in scala logaritmica (base 2). In rosso è indicata la durata scelta

Secondo la (4.1) si sono calcolati i volumi di diluizione madre necessari per avere in ogni reattore le concentrazioni finali desiderate. Il volume finale di soluzione contenuto in ogni reattore era di 1500 ml. Si sono scelti come reattori dei contenitori in vetro liscio a sezione tonda, per limitare ogni eventuale effetto di deposizione dei solidi contenuti.

$$V_{iniz} = \frac{V_{fin} \cdot C_{fin}}{C_{iniz}} \quad (4.1)$$

Due delle concentrazioni di diclofenac scelte (figura 4.2(b)) sono differenti dal caso della carbamazepina, a causa della bassa solubilità del farmaco in acqua in condizioni standard (2,37 mg/l). Per evitare il raggiungimento della condizione di saturazione nella diluizione madre (con conseguente aggregazione del farmaco in fase solida) si è diminuita la concentrazione nella soluzione e anche la concentrazione del farmaco scelta per la prova a concentrazione più alta, diminuendola a 1000 mg/l. Analogamente si è abbassata anche la concentrazione più bassa (da 2 mg/l a 1 mg/l) per mantenere lo stesso rapporto di proporzionalità delle prove con carbamazepina.

È stata predisposta una diluizione madre per ciascuno dei due farmaci per ogni tipo di prova (inoculo puro, mix alghe-batteri ed esperimento di controllo). A causa della sensibilità della bilancia utilizzata per pesare i due farmaci in fase solida (pari a 0,01 mg; *Mettler Toledo excellent plus mod. XP205DR, OH - U.S.A.*), le masse aggiunte in ogni matraccio erano leggermente diverse da quelle teoriche precedentemente descritte alla Sezione 4.1.2, pur mantenendo lo stesso ordine di grandezza ed i rapporti di proporzionalità le une dalle altre. Le concentrazioni esatte utilizzate in ogni diluizione madre e quindi in ogni reattore sono riassunte in tabella 4.1.

4.1.3 Allestimento dei reattori

Per ottenere le varie concentrazioni di farmaco desiderate si sono dapprima realizzate due soluzioni altamente concentrate: una contenente la sola carbamazepina e una contenente solo diclofenac. Per ottenere queste due soluzioni (di seguito chiamate "soluzioni madre") si sono disciolte delle quantità note di ogni farmaco in opportuni volumi di acqua di rubinetto utilizzando dei contenitori in vetro da 2 litri ciascuno, miscelati con agitatori magnetici. Subito dopo la preparazione entrambi i contenitori sono stati tappati per limitare la perdita d'acqua per evaporazione e sono stati coperti con dell'alluminio per evitare possibili interferenze fotodegradative.

La soluzione madre è stata opportunamente suddivisa per ottenere le concentrazioni finali desiderate; successivamente è stata aggiunta anche la biomassa suddividendola equamente nei vari reattori.

	Nome reattore	Concentrazione iniziale [$\mu\text{g}/\text{l}$]	Nome reattore	Concentrazione iniziale [$\mu\text{g}/\text{l}$]
Mix alge-batteri	CBZ madre 1	2900	DCF madre 1	1516
	CBZ 1	1,9	DCF 1	1,0
	CBZ 2	4,8	DCF 2	5,1
	CBZ 3	48,3	DCF 3	50,5
	CBZ 4	483,3	DCF 4	505,3
	CBZ 5	1933,3	DCF 5	1010,5
<i>C. vulgaris</i>	CBZ madre 2	2856	DCF madre 2	1542
	CBZ 6	1,9	DCF 6	1,0
	CBZ 7	4,8	DCF 7	5,1
	CBZ 8	47,6	DCF 8	51,4
	CBZ 9	476,0	DCF 9	514,0
	CBZ 10	1904,2	DCF 10	1028,1
Controllo			DCF madre 3	1511
			DCF 11	1,0
			DCF 12	5,0
			DCF 13	50,4
			DCF 14	503,5
			DCF 15	1007,0

Tabella 4.1: concentrazioni iniziali dei reattori allestiti per l'indagine sperimentale. I reattori numerati da 1 a 5 fanno riferimento agli esperimenti con il mix di alghe e batteri, quelli da 6 a 10 contengono l'inoculo puro di *Chlorella vulgaris*, mentre i reattori dal "DCF 11" al "DCF 15" sono gli esperimenti di controllo per la fotodegradazione (solo per diclofenac); i campioni identificati con "madre" sono stati prelevati dalle soluzioni iniziali altamente concentrate

La sperimentazione è partita subito dopo l'aggiunta della biomassa all'acqua drogata. I reattori sono stati tenuti in miscelazione attraverso miscelatori meccanici a pale, con velocità di rotazione di 150 *rpm*. L'illuminazione costante è stata assicurata da alcune lampade al neon posizionate vicino ai reattori, caratterizzate da un'intensità luminosa di 102,4 $\frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^2\text{s}}$. La luce che effettivamente penetrava le pareti di vetro di ogni contenitore era invece pari a 74,5 $\frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^2\text{s}}$. I dati di irraggiamento sono stati acquisiti con un apposito sensore quantico: *SQ-520 Full Spectrum Smart Quantum Sensor USB* (Apogee Instruments, Utah - U.S.A.). Durante l'esecuzione delle prove ogni reattore è stato schermato da fonti luminose esterne per mantenere costante la luminosità.

I vari esperimenti hanno avuto una precisa programmazione temporale; in ordine:

- dal 17/05/2017 al 22/05/2017: 10 fotobioreattori (5 con carbamazepina e 5 con diclofenac) contenenti il mix di alghe e batteri;
- dal 24/05/2017 al 29/05/2017: 10 fotobioreattori (5 con carbamazepina e 5 con diclofenac) contenenti l'inoculo puro di *C. vulgaris*;
- dal 31/05/2017 al 05/06/2017: 5 fotoreattori contenenti diclofenac e privi di biomassa.

4.1.4 Farmaci impiegati

I due farmaci utilizzati sono la carbamazepina (codice identificativo CAS 298-46-4) ed il diclofenac sodico (codice identificativo CAS 15307-79-6); le rispettive schede informative riguardanti i dati di sicurezza sono allegate in Appendice B (Sigma-Aldrich, 2017). La scelta del diclofenac sodico (sale di sodio) è dovuta all'assenza in commercio del rispettivo composto puro. Entrambi i farmaci sono stati forniti in polvere da *Sigma-Aldrich Co. LLC*.

4.1.5 Strategia di campionamento

Per eseguire le analisi sui farmaci sono stati prelevati campioni da 250 *ml* da ogni diluizione madre prima dell'inizio di ogni tipo di prova. Lo stesso volume è stato prelevato da ogni singolo reattore al termine degli esperimenti per verificare le concentrazioni finali dei due principi attivi e dei loro principali metaboliti (epossicarbamazepina, diidrossicarbamazepina e 4'-idrossidiclofenac). La loro presenza è stata ricercata anche nel mix di alghe e batteri con il fine di caratterizzare il refluo con cui è stato alimentato in precedenza; infatti è molto verosimile la presenza dei due farmaci e dei rispettivi metaboliti, poiché sono normalmente contenuti nei reflui civili. Non si sono invece mai effettuati

campionamenti intermedi a causa dei volumi necessari, che costituiscono circa il 17% del volume totale contenuto in ogni reattore.

Sono stati analizzati NH_4^+ -N, NO_2^- -N, NO_3^- -N, P-orto, P_{TOT} , e SST ad inizio sperimentazione (giorno 0) su entrambi i tipi di biomassa, prima che essa fosse suddivisa nei vari reattori. Alla fine delle varie prove (giorno 5) si sono eseguite le stesse analisi prelevando i campioni da ogni singolo reattore. Fanno eccezione i test senza biomassa, in cui non sono stati prelevati campioni poiché nei reattori era presente solamente la soluzione di diclofenac in acqua di rubinetto.

Durante ogni prova sono stati rilevati i valori di pH, ossigeno disciolto (*DO - Dissolved Oxygen*) e temperatura (*T*) con misurazioni a cadenza giornaliera, introducendo le sonde nelle soluzioni senza che fosse interrotta la miscelazione.

4.1.6 Metodologie analitiche

Di seguito si riporta un elenco delle analisi eseguite:

- parametri chimici: NH_4^+ -N, NO_2^- -N, NO_3^- -N, P-orto e P_{TOT} secondo i metodi analitici APAT e CNR-IRSA (2004);
- concentrazione della biomassa: SST (in *mg/l*, secondo APAT e CNR-IRSA, 2004).
- concentrazioni dei farmaci: carbamazepina, diclofenac e i rispettivi metaboliti sono stati quantificati tramite un cromatografo liquido ad alte pressioni *UHPLC Ultimate 3000* accoppiato ad uno spettrometro di massa *Q ExactiveTM Hybrid-Quadrupole OrbitrapTM Mass Spectrometer* (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts - U.S.A.) operante con una sorgente ionica di tipo electrospray; per eseguire la cromatografia liquida (*Ultra High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry*) i campioni sono stati iniettati direttamente, senza alcun tipo di pretrattamento.

Sono stati monitorati i seguenti parametri chimico-fisici:

- pH, con pH-metro Sentix41plus 340i (WTW, Germania);
- ossigeno disciolto e temperatura, con sonda Cellox325 340i (WTW, Germania).

4.1.7 Analisi dei dati

Visti i volumi ridotti di biomassa, in entrambi i casi si sono campionate solamente le miscele di partenza contenute nei reattori madre di *C. vulgaris* e del mix di alghe e batteri. La biomassa iniziale teoricamente presente in ogni reattore è stata ricavata per proporzione a seconda delle diluizioni eseguite per costituire ogni singolo reattore. Lo stesso approccio si è usato anche per stimare i valori iniziali di NH_4^+ -N, NO_2^- -N, NO_3^- -N, P-orto e P_{TOT} .

4.2 Risultati dell'indagine

4.2.1 Test chimici

Ogni giorno alla stessa ora si sono monitorati i valori di pH, ossigeno disciolto e temperatura. Nelle tabelle da 4.2 a 4.7 si riportano questi parametri suddivisi per tipologia di esperimento e per farmaco testato. Per una lettura più immediata, nelle figure dalla 4.4 alla 4.7 sono stati interpolati nel tempo i valori di pH e ossigeno disciolto. Dalle tabelle 4.6 e 4.7 si può vedere che le temperature oscillano passando da $20,6^{\circ}\text{C}$ a $30,3^{\circ}\text{C}$, questo perché non si è predisposta una regolazione termostata dei reattori.

Le tabelle 4.8 e 4.9 riportano invece i risultati delle analisi chimiche. Si precisa che con il suffisso "... madre" si indicano i test eseguiti direttamente sulla biomassa, prima di suddividerla nei vari reattori e con "... inizio" si indicano invece i valori iniziali dei rispettivi parametri stimati all'interno di ogni reattore. Questi ultimi sono ricavati considerando le diluizioni a partire dalle analisi sulle biomasse madre (che sono state equamente suddivise nei reattori), ragion per cui si hanno gli stessi valori sia per i test con carbamazepina, sia con diclofenac. Infine i prefissi "CBZ ..." e "DCF ..." indicano i test eseguiti prelevando i campioni direttamente da ogni reattore al termine dei 5 giorni di sperimentazione.

Osservazioni pratiche a corollario dei risultati:

- i campioni prelevati dalla biomassa iniziale del mix di alghe e batteri per la determinazione dei solidi sospesi totali presentavano delle concentrazioni visivamente molto disomogenee a causa dell'aggregazione in granuli; si è ipotizzato che durante i 5 giorni di sperimentazione con il mix la concentrazione della biomassa non sia cresciuta in maniera sostanziale. Sulla base di ciò i SST inizialmente presenti nei reattori sono stati stimati a partire dai valori finali rilevati nei vari reattori. I SST inizialmente presenti sono riportati in tabella 4.8 e 4.9, completi del valore di deviazione standard;
- i test sui nitrati sono stati eseguiti solo nel caso degli esperimenti con inoculo puro per verificare la corretta rimozione del substrato di coltura per mezzo della centrifugazione iniziale;
- i test sui nitriti sono stati eseguiti solamente per caratterizzare la situazione iniziale all'interno dei reattori.

pH [-]	Data	Tempo [d]	CBZ 1	CBZ 2	CBZ 3	CBZ 4	CBZ 5
<i>Mix alghe-batteri</i>	17/05/2017	0	7,95	8,03	8,03	8,02	7,95
	18/05/2017	1	8,70	8,80	8,77	8,44	8,11
	19/05/2017	2	9,18	9,35	9,35	8,80	8,33
	20/05/2017	3	9,48	9,50	9,51	9,04	8,18
	21/05/2017	4	9,15	9,23	9,30	9,10	8,13
	22/05/2017	5	8,70	8,86	8,97	8,82	8,25
pH [-]	Data	Tempo [d]	CBZ 6	CBZ 7	CBZ 8	CBZ 9	CBZ 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	7,43	7,40	7,53	7,60	7,66
	25/05/2017	1	9,40	9,41	9,40	9,26	9,60
	26/05/2017	2	9,78	9,94	9,85	9,91	10,15
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	10,50	10,75	10,73	10,50	10,29
	29/05/2017	5	10,30	10,38	10,55	10,43	9,82

Tabella 4.2: valori di pH registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti carbamazepina; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore.

Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

CBZ 1 = 1,9 $\mu\text{g/l}$, CBZ 2 = 4,8 $\mu\text{g/l}$, CBZ 3 = 48,3 $\mu\text{g/l}$, CBZ 4 = 483,3 $\mu\text{g/l}$, CBZ 5 = 1933,3 $\mu\text{g/l}$,
 CBZ 6 = 1,9 $\mu\text{g/l}$, CBZ 7 = 4,8 $\mu\text{g/l}$, CBZ 8 = 47,6 $\mu\text{g/l}$, CBZ 9 = 476,0 $\mu\text{g/l}$, CBZ 10 = 1904,2 $\mu\text{g/l}$

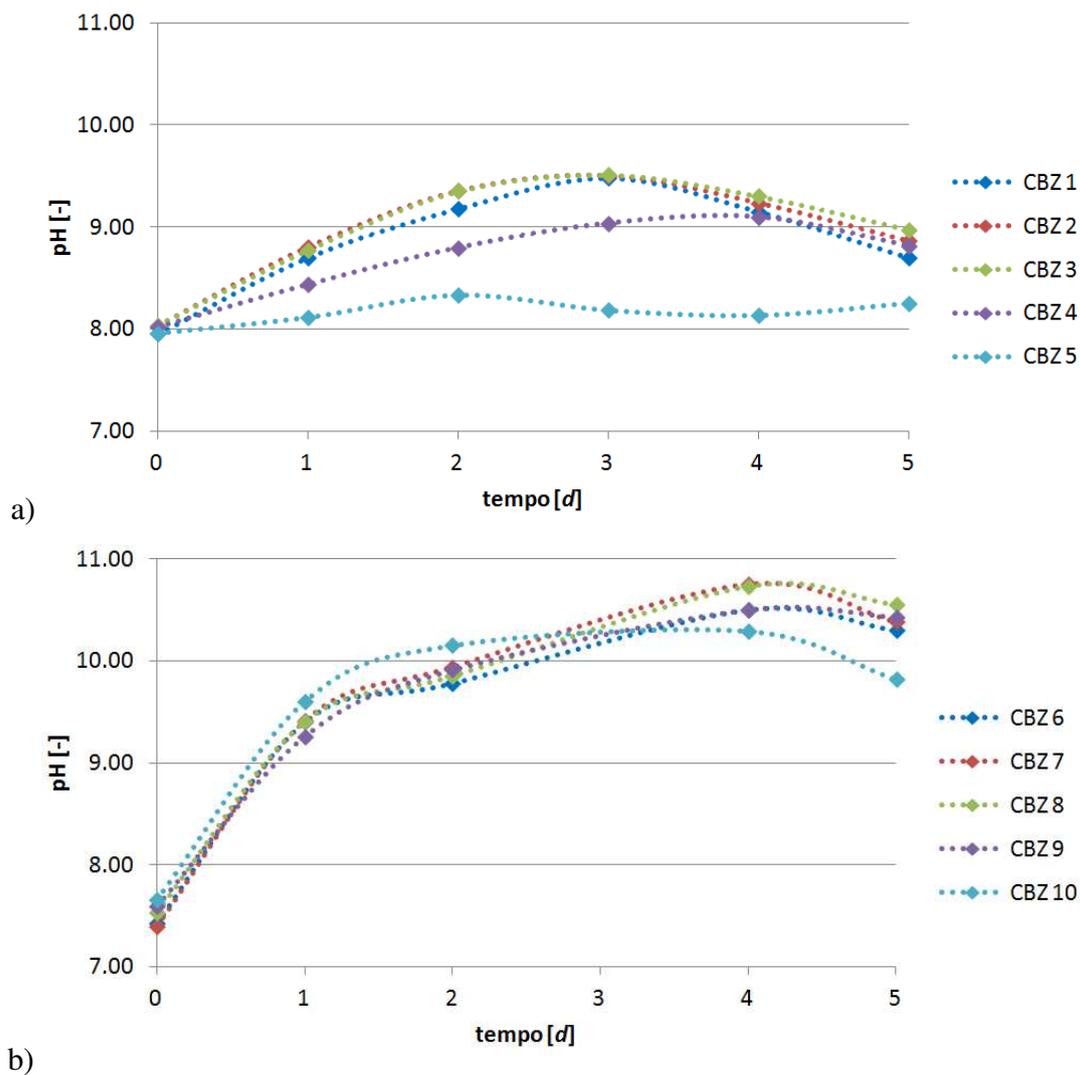


Figura 4.4: andamento temporale del pH all'interno dei reattori contenenti carbamazepina impiegando il mix alghe-batteri (a) e l'inoculo puro di *Chlorella vulgaris* (b)

pH [-]	Data	Tempo [d]	DCF 1	DCF 2	DCF 3	DCF 4	DCF 5
Mix alghe-batteri	17/05/2017	0	8,00	7,99	8,00	7,97	7,88
	18/05/2017	1	8,90	8,94	8,85	8,90	8,83
	19/05/2017	2	9,55	9,52	9,38	9,42	9,12
	20/05/2017	3	9,61	9,55	9,50	9,39	9,12
	21/05/2017	4	9,40	9,27	9,25	9,04	8,77
	22/05/2017	5	9,10	9,02	8,91	8,57	8,30
pH [-]	Data	Tempo [d]	DCF 6	DCF 7	DCF 8	DCF 9	DCF 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	7,58	7,61	7,60	7,66	7,59
	25/05/2017	1	8,70	9,01	8,89	8,91	8,81
	26/05/2017	2	9,58	9,76	9,58	10,00	9,98
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	10,51	10,70	10,50	10,60	10,20
	29/05/2017	5	10,01	10,13	10,25	10,19	10,01
pH [-]	Data	Tempo [d]	DCF 11	DCF 12	DCF 13	DCF 14	DCF 15
Controllo	31/05/2017	0	8,78	8,98	9,10	9,11	8,93
	01/06/2017	1	9,25	9,36	9,49	9,43	9,32
	02/06/2017	2	9,35	9,47	9,50	9,34	9,11
	03/06/2017	3	9,29	9,34	9,33	9,23	9,21
	04/06/2017	4	8,81	8,95	8,83	8,69	8,59
	05/06/2017	5	9,06	9,15	9,15	9,06	9,00

Tabella 4.3: valori di pH registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti diclofenac; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore.

Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

DCF 1 = 1,0 $\mu\text{g/l}$, DCF 2 = 5,1 $\mu\text{g/l}$, DCF 3 = 50,5 $\mu\text{g/l}$, DCF 4 = 505,3 $\mu\text{g/l}$, DCF 5 = 1010,5 $\mu\text{g/l}$,
 DCF 6 = 1,0 $\mu\text{g/l}$, DCF 7 = 5,1 $\mu\text{g/l}$, DCF 8 = 51,4 $\mu\text{g/l}$, DCF 9 = 514,0 $\mu\text{g/l}$, DCF10 = 1028,1 $\mu\text{g/l}$,
 DCF11 = 1,0 $\mu\text{g/l}$, DCF12 = 5,0 $\mu\text{g/l}$, DCF13 = 50,4 $\mu\text{g/l}$, DCF14 = 503,5 $\mu\text{g/l}$, DCF15 = 1007,0 $\mu\text{g/l}$

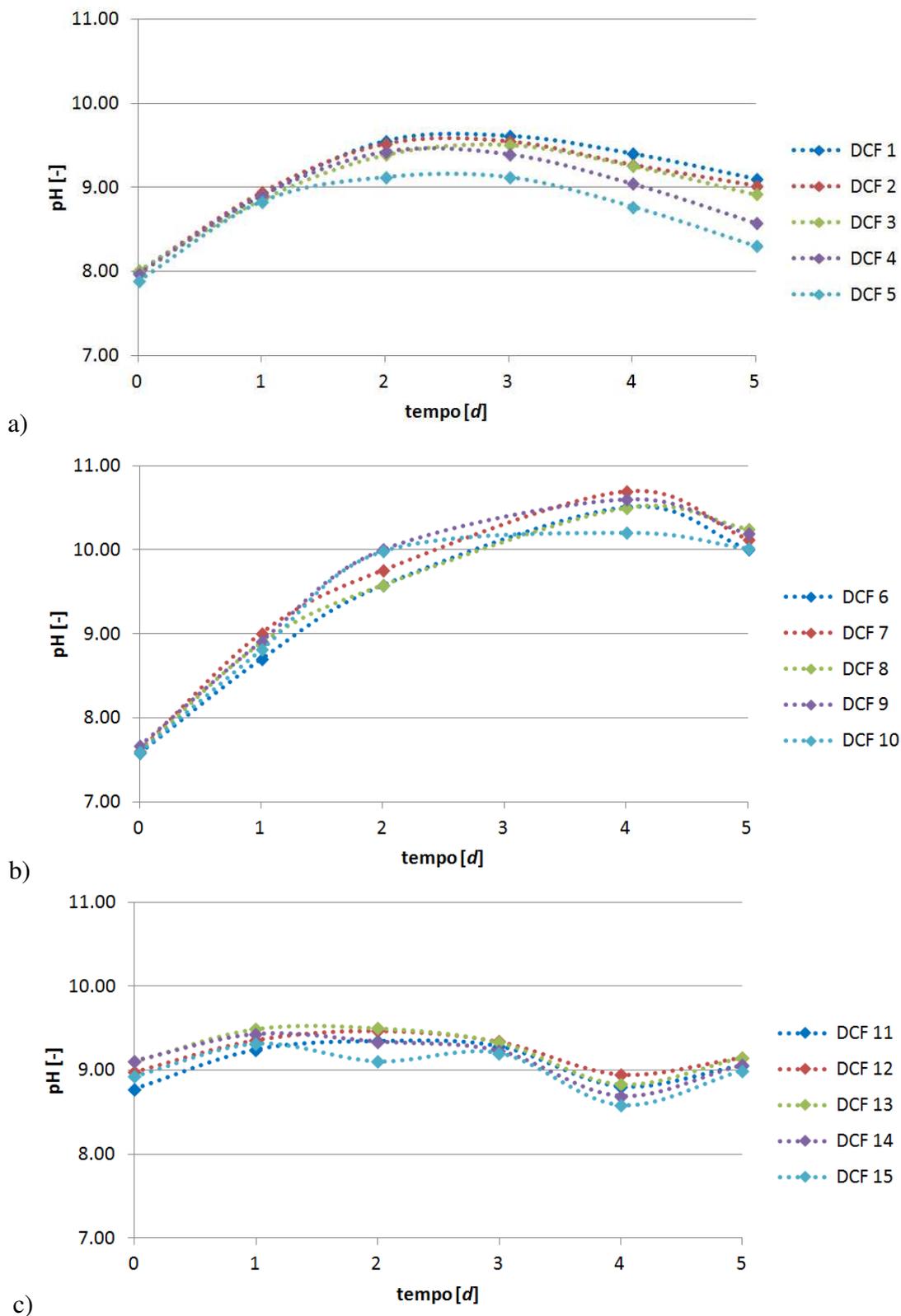


Figura 4.5: andamento temporale del pH all'interno dei reattori contenenti diclofenac impiegando il mix alghe-batteri (a) e l'inoculo puro di *Chlorella vulgaris* (b), e nei test senza biomassa (c)

<i>DO</i> [$mg(O_2)/l$]	Data	Tempo [d]	CBZ 1	CBZ 2	CBZ 3	CBZ 4	CBZ 5
<i>Mix alghe-batteri</i>	17/05/2017	0	7,86	7,88	8,21	8,46	7,70
	18/05/2017	1	8,80	8,73	8,68	8,40	8,13
	19/05/2017	2	9,48	9,62	9,70	9,03	8,56
	20/05/2017	3	8,07	8,03	8,09	8,49	7,87
	21/05/2017	4	7,51	7,46	7,50	7,67	7,29
	22/05/2017	5	7,46	7,49	7,59	7,75	7,55
<i>DO</i> [$mg(O_2)/l$]	Data	Tempo [d]	CBZ 6	CBZ 7	CBZ 8	CBZ 9	CBZ 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	8,53	8,43	8,36	8,05	7,69
	25/05/2017	1	8,22	8,50	8,63	8,60	8,16
	26/05/2017	2	8,22	8,78	9,41	9,44	9,24
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	7,81	7,89	8,12	8,04	7,94
	29/05/2017	5	7,52	7,64	7,90	7,85	7,65

Tabella 4.4: valori di ossigeno disciolto registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti carbamazepina; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore. Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

CBZ 1 = 1,9 $\mu g/l$, CBZ 2 = 4,8 $\mu g/l$, CBZ 3 = 48,3 $\mu g/l$, CBZ 4 = 483,3 $\mu g/l$, CBZ 5 = 1933,3 $\mu g/l$, CBZ 6 = 1,9 $\mu g/l$, CBZ 7 = 4,8 $\mu g/l$, CBZ 8 = 47,6 $\mu g/l$, CBZ 9 = 476,0 $\mu g/l$, CBZ 10 = 1904,2 $\mu g/l$

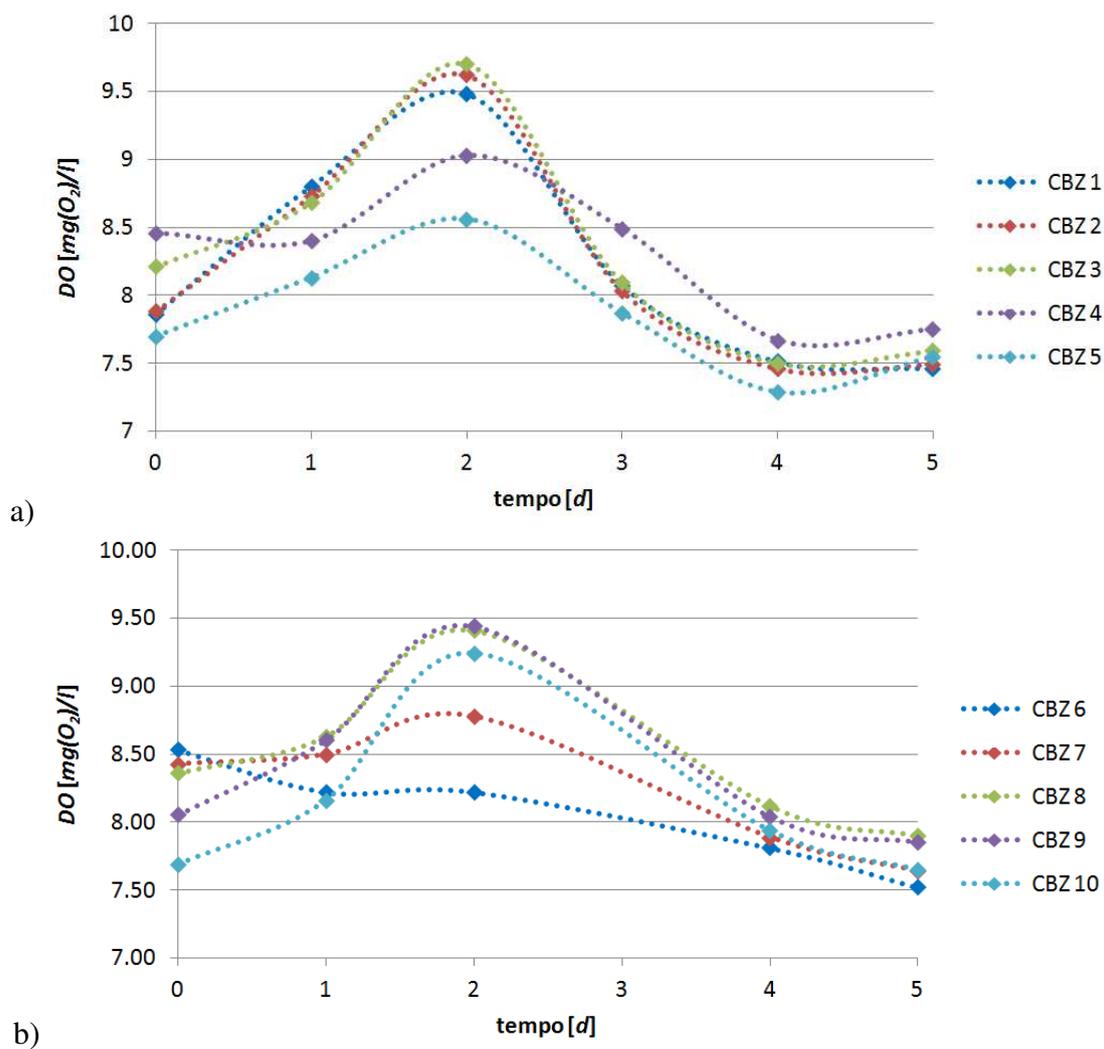


Figura 4.6: andamento temporale dell'ossigeno disciolto all'interno dei reattori contenenti carbamazepina impiegando il mix alghe-batteri (a) e l'inoculo puro di *Chlorella vulgaris* (b)

<i>DO</i> [$mg(O_2)/l$]	Data	Tempo [d]	DCF 1	DCF 2	DCF 3	DCF 4	DCF 5
Mix alghe-batteri	17/05/2017	0	7,40	7,78	8,08	8,11	7,77
	18/05/2017	1	8,80	8,60	8,35	8,39	8,38
	19/05/2017	2	9,67	9,56	9,50	9,24	9,07
	20/05/2017	3	8,47	8,11	8,22	8,10	8,18
	21/05/2017	4	7,37	7,40	7,50	7,65	7,60
	22/05/2017	5	7,46	7,50	7,50	7,60	7,67
<i>DO</i> [$mg(O_2)/l$]	Data	Tempo [d]	DCF 6	DCF 7	DCF 8	DCF 9	DCF 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	8,15	8,32	8,34	8,25	8,03
	25/05/2017	1	8,15	8,43	8,10	8,23	7,99
	26/05/2017	2	8,20	8,50	8,15	8,43	8,25
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	7,43	7,57	7,63	7,76	7,81
	29/05/2017	5	7,38	7,48	7,46	7,52	7,59
<i>DO</i> [$mg(O_2)/l$]	Data	Tempo [d]	DCF 11	DCF 12	DCF 13	DCF 14	DCF 15
Controllo	31/05/2017	0	7,13	7,35	7,01	7,12	7,31
	01/06/2017	1	6,99	7,14	7,17	7,22	7,33
	02/06/2017	2	6,84	7,01	7,01	7,03	7,01
	03/06/2017	3	6,91	6,96	6,93	6,94	6,99
	04/06/2017	4	7,24	7,33	7,36	7,37	7,40
	05/06/2017	5	7,57	7,62	7,66	7,68	7,83

Tabella 4.5: valori di ossigeno disciolto registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti diclofenac; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore.

Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

DCF 1 = 1,0 $\mu g/l$, DCF 2 = 5,1 $\mu g/l$, DCF 3 = 50,5 $\mu g/l$, DCF 4 = 505,3 $\mu g/l$, DCF 5 = 1010,5 $\mu g/l$,
 DCF 6 = 1,0 $\mu g/l$, DCF 7 = 5,1 $\mu g/l$, DCF 8 = 51,4 $\mu g/l$, DCF 9 = 514,0 $\mu g/l$, DCF10 = 1028,1 $\mu g/l$,
 DCF11 = 1,0 $\mu g/l$, DCF12 = 5,0 $\mu g/l$, DCF13 = 50,4 $\mu g/l$, DCF14 = 503,5 $\mu g/l$, DCF15 = 1007,0 $\mu g/l$

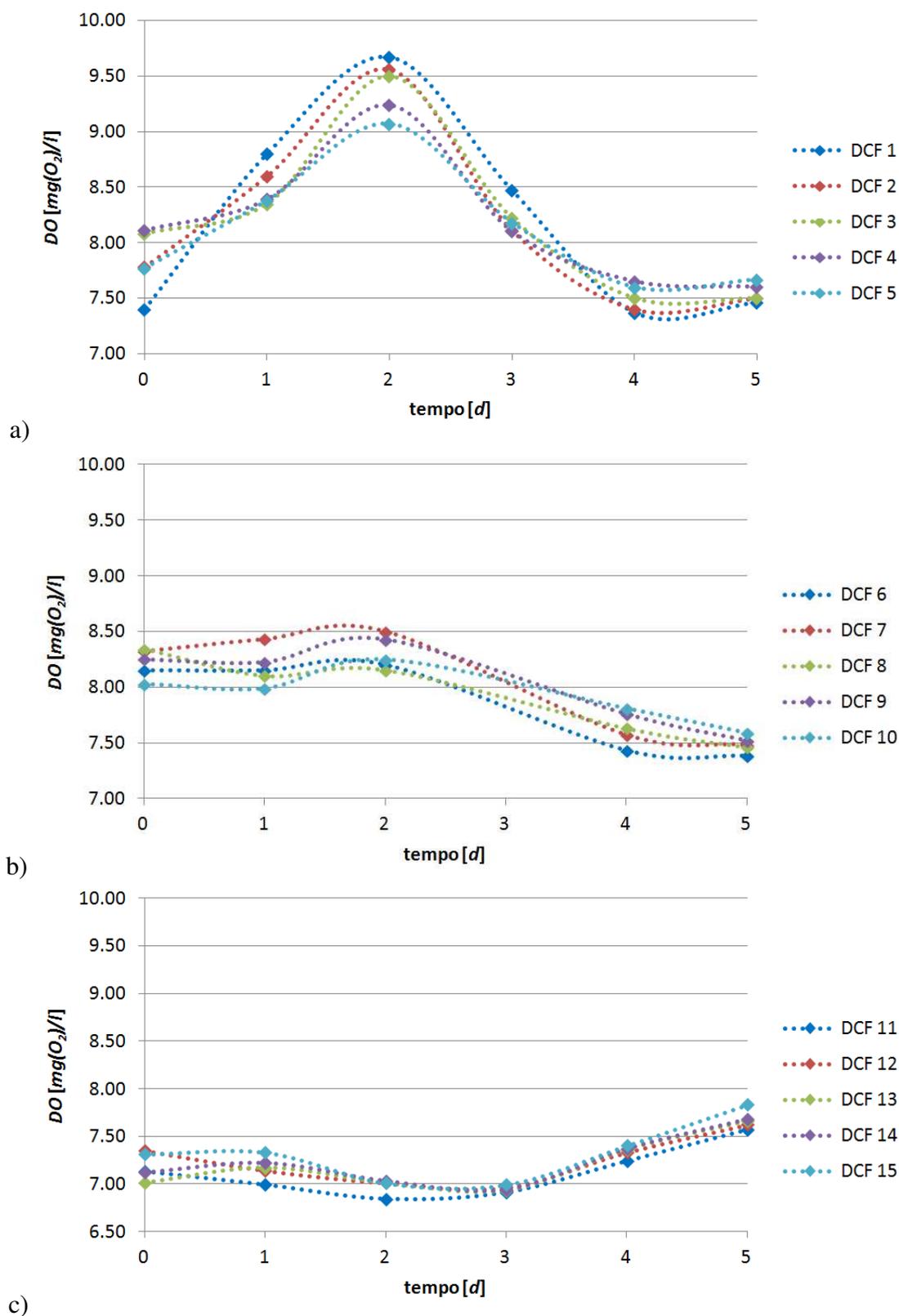


Figura 4.7: andamento temporale dell'ossigeno disciolto all'interno dei reattori contenenti diclofenac impiegando il mix alghe-batteri (a) e l'inoculo puro di *Chlorella vulgaris* (b), e nei test senza biomassa (c)

T [$^{\circ}C$]	Data	Tempo [d]	CBZ 1	CBZ 2	CBZ 3	CBZ 4	CBZ 5
Mix alghe-batteri	17/05/2017	0	24,0	23,2	21,9	22,1	25,9
	18/05/2017	1	26,1	26,0	25,3	24,3	24,0
	19/05/2017	2	24,8	25,1	24,5	23,3	22,9
	20/05/2017	3	24,3	24,9	24,3	23,2	22,6
	21/05/2017	4	26,2	26,5	26,4	25,8	25,5
	22/05/2017	5	26,5	26,3	25,9	25,5	25,3
T [$^{\circ}C$]	Data	Tempo [d]	CBZ 6	CBZ 7	CBZ 8	CBZ 9	CBZ 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	20,6	21,2	22,5	24,2	25,4
	25/05/2017	1	29,1	29,1	28,4	28,0	27,5
	26/05/2017	2	27,9	27,9	22,1	26,7	26,2
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	28,8	28,5	28,2	27,6	26,7
	29/05/2017	5	29,1	28,7	28,0	27,6	27,2

Tabella 4.6: valori di temperatura registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti carbamazepina; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore.

Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

CBZ 1 = 1,9 $\mu g/l$, CBZ 2 = 4,8 $\mu g/l$, CBZ 3 = 48,3 $\mu g/l$, CBZ 4 = 483,3 $\mu g/l$, CBZ 5 = 1933,3 $\mu g/l$, CBZ 6 = 1,9 $\mu g/l$, CBZ 7 = 4,8 $\mu g/l$, CBZ 8 = 47,6 $\mu g/l$, CBZ 9 = 476,0 $\mu g/l$, CBZ 10 = 1904,2 $\mu g/l$

T [$^{\circ}C$]	Data	Tempo [d]	DCF 1	DCF 2	DCF 3	DCF 4	DCF 5
Mix alghe-batteri	17/05/2017	0	25,1	23,5	23,5	24,0	26,2
	18/05/2017	1	26,6	26,2	25,4	24,9	24,2
	19/05/2017	2	25,3	24,8	24,0	23,4	22,5
	20/05/2017	3	22,1	23,9	23,4	22,8	22,0
	21/05/2017	4	27,2	27,1	26,0	24,4	24,4
	22/05/2017	5	26,8	26,5	26,0	25,7	25,3

T [$^{\circ}C$]	Data	Tempo [d]	DCF 6	DCF 7	DCF 8	DCF 9	DCF 10
<i>C. vulgaris</i>	24/05/2017	0	22,8	22,2	22,1	23,3	24,7
	25/05/2017	1	30,1	29,5	29,1	28,4	28,0
	26/05/2017	2	28,5	27,9	27,4	26,7	26,4
	27/05/2017	3	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	28/05/2017	4	30,2	29,9	29,8	29,1	28,5
	29/05/2017	5	30,3	30,2	29,7	29,0	28,6

T [$^{\circ}C$]	Data	Tempo [d]	DCF 11	DCF 12	DCF 13	DCF 14	DCF 15
Controllo	31/05/2017	0	22,6	22,3	24,8	25,5	25,3
	01/06/2017	1	29,1	28,4	27,6	27,3	27,0
	02/06/2017	2	29,5	28,7	28,0	27,6	27,1
	03/06/2017	3	30,2	29,7	29,3	28,9	28,3
	04/06/2017	4	26,1	25,8	25,4	25,1	24,3
	05/06/2017	5	24,2	23,9	23,4	22,9	22,2

Tabella 4.7: valori di temperatura registrati nel corso della sperimentazione all'interno dei reattori contenenti diclofenac; "n/d" (non disponibile) indica che non è stato acquisito alcun valore.

Concentrazioni iniziali in ogni reattore:

DCF 1 = 1,0 $\mu g/l$, DCF 2 = 5,1 $\mu g/l$, DCF 3 = 50,5 $\mu g/l$, DCF 4 = 505,3 $\mu g/l$, DCF 5 = 1010,5 $\mu g/l$,
 DCF 6 = 1,0 $\mu g/l$, DCF 7 = 5,1 $\mu g/l$, DCF 8 = 51,4 $\mu g/l$, DCF 9 = 514,0 $\mu g/l$, DCF10 = 1028,1 $\mu g/l$,
 DCF11 = 1,0 $\mu g/l$, DCF12 = 5,0 $\mu g/l$, DCF13 = 50,4 $\mu g/l$, DCF14 = 503,5 $\mu g/l$, DCF15 = 1007,0 $\mu g/l$

	Nome campione	SST [mg/l]	P _{TOT} [mg/l]	P-orto [mg/l]	NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	NO ₃ ⁻ -N [mg/l]
	MIX madre	4781	32,4	5,47	0,9	-	-
	MIX inizio	159 ± 50,2	1,1	0,18	< 0,1	-	-
Mix alghe-batteri	CBZ 1	228	1,2	0,02	0,1	-	-
	CBZ 2	148	1,2	0,05	< 0,1	-	-
	CBZ 3	186	1,2	0,05	0,1	-	-
	CBZ 4	96	0,8	0,02	< 0,1	-	-
	CBZ 5	66	2,0	0,02	< 0,1	-	-
	CHL madre	-	9,3	1,23	0,6	0,07	1,4
	CHL inizio	96 ± 30,4	0,3	0,04	< 0,1	< 0,01	< 0,1
C. vulgaris	CBZ 6	128	< 0,1	0,09	< 0,1	-	< 0,1
	CBZ 7	90	< 0,1	0,18	< 0,1	-	< 0,1
	CBZ 8	85	< 0,1	0,13	< 0,1	-	< 0,1
	CBZ 9	90	0,3	0,11	< 0,1	-	< 0,1
	CBZ 10	62	< 0,1	0,07	< 0,1	-	< 0,1

Tabella 4.8: risultati delle analisi chimiche riferite ai reattori contenenti carbamazepina; i test sono stati eseguiti all'inizio della sperimentazione solo sui reattori madre ("MIX madre" e "CHL madre") e sui singoli reattori a fine sperimentazione (da "CBZ 1" a "CBZ 10"); i valori riferiti a "MIX inizio" e "CHL inizio" (valore del rispettivo parametro chimico in ogni reattore a inizio sperimentazione) non sono frutto di test, ma sono stati stimati considerando le concentrazioni nei reattori madre. Gli SST di "MIX inizio" e "CHL inizio" sono stati stimati a partire dai valori finali rilevati nei vari reattori; si riporta anche la deviazione standard, poiché il valore è frutto della media degli SST misurati a fine esperimento. "-" indica che non è stato eseguito il test per quel campione

	Nome campione	SST [mg/l]	P _{TOT} [mg/l]	P-orto [mg/l]	NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	NO ₃ ⁻ -N [mg/l]
	MIX madre	4781	32,4	5,47	0,9	-	-
	MIX inizio	159 ± 50,2	1,1	0,18	< 0,1	-	-
Mix alghe-batteri	DCF 1	149	1,6	0,10	< 0,1	-	-
	DCF 2	190	1,6	0,06	< 0,1	-	-
	DCF 3	196	1,2	0,08	< 0,1	-	-
	DCF 4	198	1,4	0,08	< 0,1	-	-
	DCF 5	136	1,5	0,17	< 0,1	-	-
	Nome campione	SST [mg/l]	P _{TOT} [mg/l]	P-orto [mg/l]	NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	NO ₃ ⁻ -N [mg/l]
	CHL madre	-	9,3	1,23	0,6	0,07	1,4
	CHL inizio	96 ± 30,4	0,3	0,04	< 0,1	< 0,01	< 0,1
C. vulgaris	DCF 6	50	< 0,1	0,08	< 0,1	-	< 0,1
	DCF 7	143	< 0,1	0,09	< 0,1	-	< 0,1
	DCF 8	120	0,4	0,09	< 0,1	-	< 0,1
	DCF 9	118	0,3	0,04	< 0,1	-	< 0,1
	DCF 10	72	0,4	0,25	< 0,1	-	0,1

Tabella 4.9: risultati delle analisi chimiche riferite ai reattori contenenti diclofenac; i test sono stati eseguiti all'inizio della sperimentazione solo sui reattori madre ("MIX madre" e "CHL madre") e sui singoli reattori a fine sperimentazione (da "DCF 1" a "DCF 10"); i valori riferiti a "MIX inizio" e "CHL inizio" (valore del rispettivo parametro chimico in ogni reattore a inizio sperimentazione) non sono frutto di test, ma sono stati stimati considerando le concentrazioni nei reattori madre. Gli SST di "MIX inizio" e "CHL inizio" sono stati stimati a partire dai valori finali rilevati nei vari reattori; si riporta anche la deviazione standard, poiché il valore è frutto della media degli SST misurati a fine esperimento. "-" indica che non è stato eseguito il test per quel campione

4.2.2 Concentrazioni dei farmaci e dei loro metaboliti

In tabella 4.10, 4.11 e 4.12 si riportano le concentrazioni dei farmaci rilevate nei reattori madre e all'interno di ogni reattore a fine esperimento. Visto che tutte le soluzioni sono state diluite con acqua di rubinetto, è stata analizzata l'acqua utilizzata per valutare presenza iniziale di carbamazepina e diclofenac (campioni "RUB 1", "RUB 2" e "RUB 3") per avere un bianco dell'esperimento. È stato analizzato anche il liquido del mix alghe-batteri (campione "MIX") per valutare la presenza dei due farmaci e dei loro metaboliti, poiché il mix è stato precedentemente alimentato con del refluo civile.

Codice campione	Concentrazione [$\mu\text{g/l}$]			Codice campione	Concentrazione [$\mu\text{g/l}$]	
	CBZ	EP-CBZ	DHDH-CBZ		DCF	4'-OH-DCF
CBZ madre 1	3727,95	0,72	NF	DCF madre 1	2089,84	NF
CBZ 1	3,01	NF	NF	DCF 1	1,64	NF
CBZ 2	7,30	NF	NF	DCF 2	7,50	0,03
CBZ 3	101,66	0,10	NF	DCF 3	82,93	0,55
CBZ 4	838,40	0,76	NF	DCF 4	795,39	5,01
CBZ 5	2750,56	1,08	NF	DCF 5	1467,17	8,93
MIX	0,55	NF	1,34	MIX	0,92	0,12
RUB 1	NF	NF	NF	RUB 1	NF	NF

Tabella 4.10: concentrazioni di carbamazepina, diclofenac e relativi metaboliti rilevate nei reattori contenenti il mix di alghe e batteri. I valori corrispondenti a "MIX" si riferiscono alle concentrazioni di farmaci inizialmente presenti nel mix di alghe e batteri, mentre "RUB 1" è il campione prelevato dal rubinetto; "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato trovato, poiché la concentrazione è inferiore al *LOQ* del metodo usato

Codice campione	Concentrazione [$\mu\text{g}/\text{l}$]			Codice campione	Concentrazione [$\mu\text{g}/\text{l}$]	
	CBZ	EP-CBZ	DHDH-CBZ		DCF	4'-OH-DCF
CBZ madre 2	3854,70	0,16	NF	DCF madre 2	2021,58	NF
CBZ 6	3,79	NF	NF	DCF 6	1,31	NF
CBZ 7	8,48	NF	NF	DCF 7	6,73	0,03
CBZ 8	116,07	0,76	NF	DCF 8	79,40	0,80
CBZ 9	949,21	5,60	NF	DCF 9	744,97	11,94
CBZ 10	3073,78	14,38	NF	DCF 10	1419,28	27,75
RUB 2	NF	NF	NF	RUB 2	NF	NF

Tabella 4.11: concentrazioni di carbamazepina, diclofenac e relativi metaboliti rilevate nei reattori contenenti l'inoculo puro di *C. vulgaris*. "RUB 2" è il campione prelevato dal rubinetto; "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato trovato, poiché la concentrazione è inferiore al *LOQ* del metodo usato

Codice campione	Concentrazione [$\mu\text{g}/\text{l}$]	
	DCF	4'-OH-DCF
DCF madre 3	2046,51	NF
DCF 11	1,65	NF
DCF 12	7,54	NF
DCF 13	84,13	0,02
DCF 14	842,36	0,45
DCF 15	1549,67	0,73
RUB 3	NF	NF

Tabella 4.12: concentrazioni di diclofenac e suo metabolita principale rilevate nei reattori di controllo. "RUB 3" è il campione prelevato dal rubinetto; "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato trovato, poiché la concentrazione è inferiore al *LOQ* del metodo usato

4.2.3 Elaborazione dati

Da un confronto tra le concentrazioni finali misurate in ogni reattore (tabella 4.10, 4.11 e 4.12) con quelle teoriche aggiunte in fase di allestimento (tabella 4.1) emerge un netto aumento dei valori. Questa discrepanza è dovuta a molteplici fattori d'errore che possono essere intervenuti durante le fasi di analisi.

È stato operato un confronto tra le rimozioni ottenute con ogni tipologia di esperimento. Come prima cosa sono state normalizzate le concentrazioni delle soluzioni "madre" prendendo come riferimento quella del mix di alghe e batteri (si riporta di seguito l'esempio nel caso di carbamazepina):

$$\Delta[CBZ]_M = \frac{[CBZ]_{M,chl}}{[CBZ]_{M,mix}} \quad (4.2)$$

successivamente è stata eseguita la stessa operazione per le concentrazioni finali misurate in ogni reattore, depurando il risultato dalla quantità trovata con la (4.2); si è così trovata la differenza di rimozione tra ogni coppia di reattori come se avessero avuto la stessa concentrazione iniziale di farmaco:

$$\Delta R_{CBZ;(i+5),i} = \frac{[CBZ]_{(i+5),chl}}{[CBZ]_{i,mix}} - (\Delta[CBZ]_M - 1) \quad \text{con } i = 1, 2, \dots, 5 \quad (4.3)$$

In tabella 4.13 e 4.14 si riportano le rimozioni relative così calcolate. I reattori utilizzati come riferimento sono quelli contenenti il mix di alghe e batteri. È stata attuata questa procedura di calcolo anche per i reattori contenenti diclofenac; in questo caso però i reattori di controllo sono stati il riferimento usato per normalizzare le concentrazioni, con l'obiettivo di eliminare il contributo dato dalla fotodegradazione.

Dalla tabella 4.10 emerge che nel mix di alghe e batteri sono presenti quasi tutte le molecole cercate. Le concentrazioni non sono di per sé irrilevanti, ma sono molto inferiori a quelle immesse in ogni reattore a partire dalle soluzioni madre. Inoltre, visto che in ogni reattore sono stati aggiunti soli 50 ml di biomassa, il contributo dato alla soluzione finale consiste in appena un trentesimo della concentrazione contenuta nel mix; è stato quindi deciso di trascurare questa aliquota aggiuntiva di farmaco.

4.2.3.1 Rimozione di carbamazepina

In tabella 4.13 si mette in evidenza quanto il mix di alghe e batteri sia stato più performante nella rimozione della carbamazepina rispetto all'inoculo di *C. vulgaris*. A complemento di ciò si sono incluse anche le concentrazioni dei metaboliti prodotti dall'attività dei microrganismi.

	Codice campione	Rimozione relativa di CBZ	Concentrazione metaboliti [$\mu\text{g/l}$]	
			EP-CBZ	DHDH-CBZ
Mix alghe-batteri	CBZ 1	23%	NF	NF
	CBZ 2	13%	NF	NF
	CBZ 3	11%	0,10	NF
	CBZ 4	10%	0,76	NF
	CBZ 5	8%	1,08	NF
<i>C. vulgaris</i>	CBZ 6	-	NF	NF
	CBZ 7	-	NF	NF
	CBZ 8	-	0,76	NF
	CBZ 9	-	5,60	NF
	CBZ 10	-	14,38	NF

Tabella 4.13: rimozioni relative di carbamazepina; sono riportate anche le concentrazioni dei metaboliti ricercati. "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato trovato, poiché la concentrazione è inferiore al *LOQ* del metodo usato; "-" indica che i reattori in questione sono stati presi come riferimento per la determinazione della differenza nelle efficienze di rimozione

Dalla tabella si osserva come il mix sia in grado di rimuovere la carbamazepina in modo più efficiente rispetto all'inoculo puro. La differenza nelle rimozioni però si riduce all'aumentare della concentrazione di farmaco indicando una potenziale inibizione dell'attività dei microrganismi componenti il mix. Questa possibile inibizione si vede anche dai profili di pH dei medesimi test (figura 4.4), che non arrivano al valore massimo per le concentrazioni maggiori di carbamazepina.

4.2.3.2 Rimozione di diclofenac

In tabella 4.14 si mettono in evidenza le differenze di rimozione mostrate dai set di esperimenti con mix di alghe e batteri e con inoculo puro. Al contrario della carbamazepina, nel caso specifico del diclofenac i reattori inoculati con *Chlorella vulgaris* mostrano abbattimenti migliori del farmaco. Si precisa che le percentuali di rimozione indicate sono calcolate prendendo come riferimento le concentrazioni misurate in ogni reattore alla fine del test di controllo, pertanto indicano a quanto ammonta la sola aliquota rimossa per via biologica.

	Codice campione	Rimozione relativa di DCF	Concentrazione 4'-OH-DCF [$\mu\text{g}/\text{l}$]
Mix alghe-batteri	DCF 1	3%	NF
	DCF 2	3%	0.03
	DCF 3	4%	0.55
	DCF 4	8%	5.01
	DCF 5	7%	8.93
<i>C. vulgaris</i>	DCF 6	19%	NF
	DCF 7	10%	0.03
	DCF 8	4%	0.80
	DCF 9	10%	11.94
	DCF 10	7%	27.75
Controllo	DCF 11	-	NF
	DCF 12	-	NF
	DCF 13	-	0.02
	DCF 14	-	0.45
	DCF 15	-	0.73

Tabella 4.14: rimozioni relative di diclofenac; sono riportate anche le concentrazioni del metabolita ricercato. "NF" (*not found*) indica che il composto non è stato trovato, poiché la concentrazione è inferiore al *LOQ* del metodo usato; "-" indica che i reattori in questione sono stati presi come riferimento per la determinazione della differenza nelle efficienze di rimozione

4.2.3.3 Considerazioni sui solidi sospesi totali

Non sono stati eseguiti test sugli SST all'inizio degli esperimenti, poiché la biomassa a disposizione era troppo esigua e presentava aggregazioni in granuli che ne rendevano eterogenea la concentrazione. Le concentrazioni iniziali presenti in ogni reattore sono state determinate eseguendo una media delle concentrazioni finali ed ottenendo come risultato $159 \pm 50,2 \text{ mg}(SST)/l$ per il mix di alghe e batteri, e $96 \pm 30,4 \text{ mg}(SST)/l$ nel caso dell'inoculo puro. Dai risultati delle analisi su SST (tabella 4.8 e 4.9) si nota che negli esperimenti con carbamazepina si ha una diminuzione della biomassa all'aumentare della concentrazione di farmaco somministrato. Questa tendenza non si riscontra invece nel caso degli esperimenti con diclofenac.

Sulla base dei singoli dati con cui si sono calcolate le medie e le deviazioni standard relative ai SST (tabella 4.8 e 4.9) è stato indagato se le due serie di concentrazioni SST fossero significativamente simili, così da poterne confrontare gli andamenti in funzione della concentrazione.

Lo strumento utilizzato è il *T-Test* per il calcolo della significatività. Il *P-value* che ne risulta è pari a 0,003 pertanto le due serie di dati relative agli SST sono confrontabili. In figura 4.8 si è riportata l'interpolazione delle concentrazioni di SST relative agli esperimenti con carbamazepina.

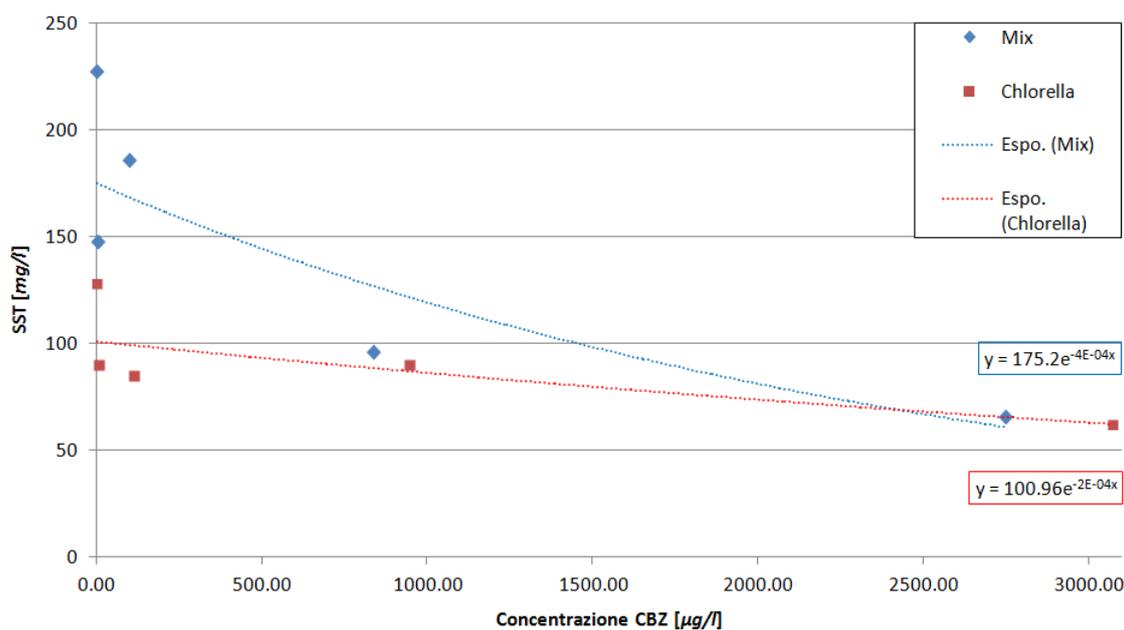


Figura 4.8: confronto tra l'andamento delle concentrazioni di SST del mix alghe batteri e di *Chlorella vulgaris* in funzione della concentrazione di carbamazepina; le linee di tendenza inserite (corredate dalla rispettiva equazione) sono di tipo esponenziale

4.3 Discussione

Dalle analisi chimiche di ammoniaca (NH_4^+ -N), nitriti (NO_2^- -N), nitrati (NO_3^- -N), fosforo ortofosfato (P-orto) e fosforo totale (P_{TOT}) non emergono significative variazioni di concentrazione. Per quanto riguarda il set di esperimenti con *Chlorella vulgaris* l'esiguo contenuto di NH_4^+ -N e P-orto indica che il brodo di coltura è stato rimosso in modo efficace.

Pur non disponendo di misure SST iniziali per ogni reattore, sono state comunque avanzate delle ipotesi a partire dalle concentrazioni misurate a fine esperimenti. Per quanto riguarda la carbamazepina si nota che all'aumentare della concentrazione di farmaco si è registrata una diminuzione della concentrazione finale dei solidi sospesi totali. Questo effetto è stato interpretato come una possibile influenza eco-tossica della carbamazepina sulla biomassa dei test con il mix di alghe e batteri. Dal grafico in figura 4.8 si vede che la biomassa del mix risente più della presenza della carbamazepina rispetto a quanto accade con *C. vulgaris*.

Dal monitoraggio eseguito quotidianamente sui restanti parametri chimico-fisici si osservano valori di *DO* molto elevati; il loro andamento (figura 4.6 e 4.7) è sostanzialmente dovuto alle variazioni di temperatura. Viste le elevate concentrazioni di ossigeno nel corso di tutta la sperimentazione si può avanzare l'ipotesi che le concentrazioni dei farmaci si siano rivelate poco tossiche per *C. vulgaris* e quanto meno anche per la maggior parte delle specie di alghe e cianobatteri presenti nel mix; dunque le variazioni nella concentrazione della biomassa rilevate nel caso degli esperimenti con carbamazepina possono ricondursi alla morte dei batteri. L'attività di rimozione dei farmaci negli esperimenti con il mix resta comunque presente e superiore a quella condotta da *C. vulgaris* (tabella 4.13), ma decresce all'aumentare della concentrazione di farmaco.

In aggiunta, confrontando i reattori contenenti solo *C. vulgaris* con quelli contenenti il mix si può ipotizzare che l'attività batterica (in particolare la respirazione cellulare) sia bassa, dal momento che il tenore di ossigeno disciolto è rimasto alto durante tutta la durata dell'esperimento. A sostegno di ciò si aggiungono gli alti valori di pH, molto simili in entrambi i tipi di reattori contenenti biomassa: per quanto riguarda il mix di alghe e batteri il pH è compreso tra 8,0 e 9,5 nel caso della carbamazepina e tra 8,0 e 9,6 con diclofenac, mentre con l'impiego di inoculo puro si riscontrano rispettivamente valori tra 7,4 e 10,8 e tra 7,6 e 10,7. Il fatto che si abbiano pH tendenzialmente basici è indice di un'intensa attività microalgale: l'attività fotosintetica delle microalghe presenti sottrae anidride carbonica alla soluzione, rilasciando ossigeno. Nel caso dei test con inoculo puro l'ossigeno disciolto non viene consumato dalla respirazione batterica, con conseguente mancata produzione di CO_2 ; si determinano così valori di pH più elevati.

Non si può invece avanzare alcuna ipotesi per quanto riguarda l'attività batterica del mix, dal momento che non si è stimato a quanto ammonti la frazione batterica presente, né sono note le specie che la compongono.

Dal punto di vista farmacologico è evidente la presenza di farmaci già nel reattore "madre" contenente il mix di alghe e batteri (tabella 4.10). A causa delle diluizioni effettuate, però, non si è tenuto conto di questa frazione, trascurabile rispetto alle concentrazioni presenti in ogni reattore. L'acqua di rubinetto non ha invece presentato traccia di nessuno dei composti analizzati.

Per quanto concerne la rimozione dei due farmaci il mix di alghe e batteri ha rimosso la carbamazepina in maniera più efficiente rispetto a *C. vulgaris*, mentre nel caso degli esperimenti con diclofenac è stato l'inoculo puro a presentare prestazioni più elevate, sebbene di pochi punti percentuali. Questo fenomeno può essere dovuto ad una minore tossicità di diclofenac, ma non si esclude che *C. vulgaris* possa essere una specie in grado di utilizzare il farmaco come fonte di energia in modo più efficiente rispetto alle alghe contenute nel mix.

L'assenza di azoto (che è un elemento essenziale per la crescita dei microrganismi) all'interno dei reattori potrebbe essere invece responsabile della bassa rimozione di carbamazepina riscontrata negli esperimenti con inoculo puro. L'effetto eco-tossico del farmaco potrebbe essere infatti stato magnificato, poiché la carbamazepina era l'unica sostanza ossidabile presente in grande quantità.

Osservando le concentrazioni dei metaboliti si nota come nel caso di *C. vulgaris* si abbiano concentrazioni molto alte di EP-CBZ se confrontate con quelle del mix, nonostante la rimozione di carbamazepina sia inferiore nel primo caso. *C. vulgaris* è dunque meno efficiente del mix nella rimozione di carbamazepina.

Nel caso del diclofenac l'alga contenuta nell'inoculo puro ha mostrato efficienze di rimozione più alte del mix di alghe e batteri; questo fatto è confermato dalle alte concentrazioni di 4'-OH-DCF. D'altro canto proprio le alte concentrazioni di questo metabolita suggeriscono che la *C. vulgaris* utilizzi il farmaco per la produzione di energia, ma che non sia in grado di mineralizzare velocemente il metabolita formato, a causa di un basso rendimento metabolico.

Capitolo 5

Discussione critica dei risultati

Alla luce della letteratura consultata si propone una discussione critica dei risultati ottenuti durante la campagna di analisi e con la parte sperimentale. In particolare si cerca di spiegare i fenomeni di rimozione e di aumento di concentrazione che si sono riscontrati, avanzando ipotesi riguardo i meccanismi coinvolti ed alcuni possibili percorsi che possano aver portato alla trasformazione di carbamazepina e diclofenac.

5.1 Discussione sul monitoraggio di microinquinanti negli impianti di fitodepurazione studiati

Il monitoraggio effettuato in sede di campagna di analisi sugli impianti di fitodepurazione di Monticolo e Verano ha evidenziato come le concentrazioni in ingresso siano paragonabili con quelle rilevate nel caso degli altri impianti studiati in letteratura.

Per quanto concerne le efficienze di rimozione, la caffeina presenta degli abbattimenti medi pressoché totali, in linea con quanto rilevato durante il progetto *Pro Acqua* (Ecoresearch et al., 2016). Questo effetto è dovuto all'alta biodegradabilità di questo composto, che sebbene presente nei reflui in grandi quantità (fino a oltre 100 $\mu\text{g}/\text{l}$) non influisce negativamente sui processi depurativi.

Anche atenololo, bezafibrato e ketoprofene hanno subito delle rimozioni medie notevoli, sia in *Pro Acqua* sia durante la fase di monitoraggio a Monticolo e Verano. Gli impianti di fitodepurazione indagati si sono mostrati però leggermente più efficienti con uno scarto medio del 20% rispetto agli impianti tradizionali a fanghi attivi analizzati in *Pro Acqua*. La differenza nella rimozione di questi farmaci può avere due cause principali:

- i tempi di ritenzione idraulica degli impianti di fitodepurazione (dell'ordine dei giorni) sono più elevati rispetto a quelli degli impianti di depurazione convenzionali,

quindi i composti contenuti nel refluo da trattare restano in contatto più tempo con i batteri e gli altri microrganismi contenuti nel biofilm adeso ai grani di cui sono composti i letti filtranti; in questo modo si possono esplicitare reazioni biologiche con cinetiche notevolmente più lente;

- i tempi di ritenzione del fango sono molto maggiori nel caso della fitodepurazione, in quanto i solidi sospesi che superano il trattamento primario (principalmente costituiti dalla frazione colloidale) sono intercettati dai letti filtranti e non vi è alcun meccanismo di ricircolo o di asportazione dei fanghi da essi. Inoltre non vengono effettuati trattamenti di alcun genere per la rigenerazione dei letti granulari (come controlavaggi o sostituzione degli stessi), di conseguenza nel biofilm possono svilupparsi delle comunità di microrganismi molto differenti e più diversificate rispetto a quanto accade all'interno delle vasche di aerazione a fanghi attivi.

Se ne deduce quindi che nel caso della fitodepurazione le cause della maggiore rimozione dei vari composti possono risiedere nella possibilità di adsorbire ai granuli dei letti filtranti ed essere mineralizzati (o quanto meno metabolizzati) in tempi molto maggiori e verosimilmente da una varietà più ampia di microrganismi. Resta però aperta la questione riguardante i prodotti di trasformazione. Essi possono infatti presentare caratteristiche eco-tossiche diverse dai composti di partenza e seguire percorsi degradativi del tutto differenti. La loro presenza nel refluo, sia quello grezzo sia quello trattato, non è quindi da sottovalutare, come anche messo in evidenza dalle possibili interazioni riscontrate negli impianti di fitodepurazione indagati.

La carbamazepina ed il diclofenac ad esempio presentano comportamenti che sono strettamente dipendenti dalla presenza di rispettivi metaboliti e questo è uno dei motivi per cui essi in letteratura sono più studiati degli altri farmaci. Si analizzano di seguito le possibili spiegazioni degli andamenti di concentrazione rilevati per i due farmaci nei vari comparti degli impianti di depurazione di Monticolo e Verano.

5.1.1 Destino della carbamazepina e possibili percorsi degradativi

La carbamazepina è il farmaco che ha presentato più anomalie sia per quanto riguarda i risultati del progetto *Pro Acqua* sia durante la campagna di monitoraggio eseguita. In entrambi i casi si sono rilevati notevoli aumenti nella concentrazione del composto e si sono ipotizzate delle interazioni con i suoi metaboliti umani principali, includendo anche questi ultimi nella successiva campagna di monitoraggio.

In accordo con la sua tendenza a comportarsi come sostanza poco idrofoba ($\log K_{OW} = 2,45$), la carbamazepina non subisce alcuna rimozione durante gli stadi di trattamento primario (grigliatura e dissabbiatura) e secondario (vasca a fanghi attivi con sedimentazione) dell'impianto di Monticolo. La quantità di farmaco presente subisce piuttosto degli aumenti notevoli raddoppiando la propria concentrazione. Lungo gli stadi di fitodepurazione si continuano a registrare aumenti nella concentrazione (tabella 3.10 e 3.11); il possibile motivo è da ricercarsi nella conversione di altri composti derivati dalla carbamazepina. A seguito del metabolismo umano si formano infatti vari tipi di metaboliti e di glucuronidi; questi ultimi sono delle macromolecole escrete principalmente tramite i reni e sono costituite dal farmaco di partenza legato ad un acido glucuronico tramite un legame glicosidico. Durante i processi di depurazione del refluo questo legame può aver subito un clivaggio catalizzato da enzimi e dunque aver determinato la ricomparsa del composto parentale (la carbamazepina), non rilevabile all'inizio del processo. In entrambi gli impianti lungo la filiera depurativa che avviene nei vari stadi di fitodepurazione si nota come l'aumento di concentrazione di carbamazepina diminuisca, a conferma del progressivo esaurirsi dei composti glucuronici che vengono convertiti a molecola parentale.

Se da una parte si ha un apparente meccanismo di produzione netta di carbamazepina, dall'altra non si assiste ad una sua degradazione a causa del carattere prevalentemente aerobico con cui sono tipicamente regimati i letti a flusso sub-superficiale verticale. Affinché avvenga la biodegradazione di questo composto sembra infatti che debbano essere assicurate delle condizioni prossime all'anossia (Park et al., 2009), assenti in entrambi gli impianti come testimoniato dalla mancanza di denitrificazione (con concentrazioni di nitrati in uscita sempre superiori ai $40 \text{ mg}(N)/l$ sia a Monticolo sia a Verano).

L'unico comparto in cui si assiste ad una diminuzione di concentrazione è la vasca finale dell'impianto di Monticolo, con una rimozione pari al 29% (relativamente alla concentrazione in ingresso alla vasca stessa). Il meccanismo principale che può essere intervenuto in questo caso è molto verosimilmente la rimozione abiotica, che per la carbamazepina si esplica con la foto-ossidazione indiretta dovuta all'irraggiamento solare (la vasca ha un tirante idraulico di circa $1,5 \text{ m}$). L'invaso (pari a 750 m^3) è sufficientemente grande da poter escludere eventuali diluizioni da parte di fenomeni meteorici di bassa intensità e durata.

Il destino dei due metaboliti analizzati (epossicarbamazepina e diidrossicarbamazepina) è complesso.

La carbamazepina arriva in fognatura in forma di molecola parentale, come metabolita (principalmente epossicarbamazepina e diidrossicarbamazepina) e come composto glucuronico. All'interno del corpo umano l'aliquota di farmaco metabolizzato è presente prevalentemente sotto forma di epossicarbamazepina, la quale viene convertita in diidrossicarbamazepina (il metabolita presente in maggior quantità nell'urina; Zhang et al., 2008); quest'ultimo composto può anch'esso subire la coniugazione con un acido glucuronico (Dordio et al., 2011). Le principali molecole che arrivano agli impianti di depurazione sono quindi: carbamazepina (CBZ), composti glucuronici della carbamazepina (CBZ-G), epossicarbamazepina (EP-CBZ), diidrossicarbamazepina (DHDH-CBZ) e composti glucuronici di quest'ultima (DHDH-CBZ-G).

Una volta giunti in impianto CBZ-G e DHDH-CBZ-G subiscono la deglucuronazione (ossia il clivaggio del legame glicosidico che lega il farmaco all'acido glucuronico) rendendo nuovamente rilevabile la presenza dei relativi composti (carbamazepina e diidrossicarbamazepina). Questa reazione è probabilmente più efficiente in condizioni aerobiche, visto l'aumento di concentrazione della carbamazepina (+115%) e la "comparsa" di DHDH-CBZ (da non rilevabile a 1119 ng/l) nel comparto a fanghi attivi di Monticolo.

Un altro meccanismo che può aver comportato l'aumento di concentrazione di DHDH-CBZ è la conversione metabolica di EP-CBZ ad opera dei batteri aerobici. Questo meccanismo si può supporre responsabile anche delle alte efficienze di rimozione di EP-CBZ, che lungo tutta la filiera depurativa sono sempre superiori alle rimozioni di DHDH-CBZ in entrambi gli impianti. D'altro canto si nota (tabella 3.10 e 3.11) come la concentrazione di DHDH-CBZ venga anch'essa abbattuta stadio dopo stadio; si può dunque affermare che le cinetiche di reazione che promuovono la rimozione di DHDH-CBZ sono le più rapide, dal momento che il tasso di ulteriore trasformazione di questo composto è superiore al suo tasso di produzione.

Le reazioni responsabili dell'abbattimento delle concentrazioni di EP-CBZ e DHDH-CBZ avvengono in condizioni aerobiche. Il prevalere di questo tipo di ambiente nella maggior parte del volume del letto granulare è assicurato dalle macrofite e dalla regimazione dei tipi di letti presenti (a flusso verticale). Infatti, anche se durante la biodegradazione di carichi organici anomali l'ossigeno disciolto subisce un drastico abbassamento, i rizomi delle *Phragmites australis* con cui sono piantumati i letti di entrambi gli impianti dovrebbero garantire in ogni caso delle micro-zone aerobiche (ISPRA, 2012).

Se si ragiona in termini di carbamazepina equivalente si osserva una "produzione netta" di farmaco nel comparto a fanghi attivi di Monticolo. Questo fenomeno è probabilmente dovuto alle condizioni di marcata aerobiosi, che possono aumentare l'efficienza di

conversione di altri composti non indagati (come i glucuronidi umani) e ottenere così la molecola parentale. Nei comparti di fitodepurazione invece il tenore di carbamazepina equivalente decresce stabilmente.

Infine nonostante le concentrazioni del composto parentale subiscano degli aumenti sia nel comparto a fanghi attivi sia nel caso della fitodepurazione, non si esclude una sua biodegradazione seppur minima. È possibile infatti l'instaurarsi di micro-zone anossiche che possano trasformare la carbamazepina in EP-CBZ (o altri composti non indagati), ma sono processi marginali che in ogni caso vengono schermati da reazioni con cinetiche superiori come la formazione retrograda della carbamazepina per deglucuronazione.

5.1.2 Destino del diclofenac e possibili percorsi degradativi

La rimozione del diclofenac in letteratura assume talvolta dei caratteri contraddittori, sia per quanto riguarda le efficienze di rimozione degli impianti sia per i possibili processi coinvolti nella sua degradazione. Alcuni autori sostengono infatti che il diclofenac possa essere convertito in 4'-OH-DCF (il suo metabolita umano principale) (Gröning et al., 2007), mentre secondo altri si può avere un meccanismo di degradazione retrograda che produca la molecola parentale proprio a partire dal 4'-OH-DCF (Plósz et al., 2012).

Due sono i processi con cui si può ottenere la rimozione del diclofenac dai reflui: la biodegradazione aerobica cometabolica (rimozione biotica) e la fotolisi diretta (rimozione abiotica).

Il carattere lipofilo di questo farmaco ($\log K_{OW} = 4,51$) fa sì che esso possa aderire ai solidi sospesi che compongono la frazione colloidale del refluo. La successiva intercettazione da parte del biofilm adeso ai grani dei letti filtranti ne può rendere possibile la biodegradazione.

In entrambi gli impianti si rileva una buona rimozione di diclofenac, confermata stadio dopo stadio, nei vari comparti di fitodepurazione. Fa eccezione la prima batteria di letti filtranti in parallelo di Verano, che presenta in un caso un leggero aumento di concentrazione (+5%) e nell'altro un abbattimento del 31% (molto esiguo se confrontato con le percentuali di rimozione delle successive batterie 2 e 3; tabella 3.11). È stato ipotizzato che questo fenomeno possa essere dovuto all'alto carico organico proveniente dal trattamento primario presente a monte; quando la concentrazione di diclofenac è aumentata del 5% il BOD₅ in arrivo era pari a 850 mg(O₂)/l con una concentrazione di SST di 460 mg/l. Le ossidasi prodotte dai microrganismi potrebbero inizialmente aver reso disponibili come fonte primaria di energia i composti organici presenti in maggior quantità, dopodiché (nelle batterie 2 e 3) è molto verosimile che sia cominciata la biodegradazione

del farmaco. Secondo questo ragionamento quindi si può supporre che il diclofenac non abbia gravi effetti eco-tossici sulle popolazioni batteriche coinvolte nella fitodepurazione.

Infine, nella vasca finale dell'impianto di Monticolo la rimozione di diclofenac (pari al 60%) può essere dovuta alla fotolisi diretta ed a processi aerobici. L'abbattimento non è totale forse a causa della torbidità dell'acqua di questa vasca, prodotta dalla presenza di alghe.

Come nel caso della carbamazepina, anche per il diclofenac si ha la formazione di glucuronidi (DCF-G) da parte del metabolismo umano e allo stesso modo si può assistere al clivaggio di questi legami in ambiente aerobico. Proprio queste reazioni possono aver determinato il leggero aumento di concentrazione registrato nella prima batteria di vasche a Verano, assieme alla mancata rimozione del farmaco già presente come già descritto. Nel comparto a fanghi attivi di Monticolo invece non si assiste ad un aumento di concentrazione della molecola parentale, probabilmente perché le cinetiche della deglucuronazione sono più lente di quelle di biodegradazione del diclofenac.

Il metabolita principale (il 4'-idrossidiclofenac) viene rimosso per almeno il 99% in entrambi gli impianti senza mostrare alcun aumento di concentrazione. Si rammenta però che non sono state eseguite analisi su altri potenziali prodotti di trasformazione e metaboliti. Infatti, come per la carbamazepina, anche in questo caso non si può affermare che il diclofenac rimosso sia stato completamente mineralizzato, poiché è stato indagato un solo prodotto di trasformazione di questa molecola.

5.2 Indagine sperimentale

A causa delle basse concentrazioni iniziali dei nutrienti (azoto e fosforo) all'interno dei reattori, non si riescono ad avanzare particolari considerazioni riguardo l'influenza dei farmaci sui parametri convenzionali della depurazione. Le alte concentrazioni di ossigeno disciolto raggiunte e mantenute nel corso della sperimentazione sono sintomo dell'attività delle microalghe. Da questa considerazione si può dedurre che le concentrazioni dei farmaci somministrate non si siano rivelate particolarmente tossiche per le microalghe presenti.

Per quanto riguarda i batteri negli esperimenti in cui si è inoculato il mix, il pH tendenzialmente molto basico può averne limitato l'attività. Questa ipotesi trova conferma nel mancato consumo dell'ossigeno disciolto prodotto dalle microalghe, indicando una bassa attività di respirazione cellulare. Un ulteriore fattore che potrebbe aver limitato l'attività batterica è l'instaurarsi di meccanismi di competizione con le alghe per la bassa quantità di nutrienti disponibile.

A causa di limitazioni di tipo pratico le concentrazioni dei farmaci misurate all'interno dei singoli reattori sono risultate molto differenti da quelle attese, pertanto non è stato possibile stimare le efficienze di rimozione assoluta. È stato operato un confronto relativo tra le rimozioni riscontrate nei vari set di esperimenti, normalizzando le concentrazioni rispetto alle concentrazioni effettivamente rilevate nei reattori "madre". Per quanto riguarda il diclofenac la normalizzazione è stata fatta rispetto ai test di controllo in modo da escludere la componente di rimozione dovuta alla fotodegradazione dai reattori contenenti biomassa.

I due tipi di biomassa utilizzati hanno presentato efficienze differenti nel rimuovere i due composti: il mix di alghe e batteri ha rimosso meglio la carbamazepina, mentre la *C. vulgaris* ha mostrato efficienze leggermente più alte nell'abbattimento del diclofenac presente.

Si possono avanzare alcune ipotesi anche sulle cinetiche di rimozione, poiché si individuano concentrazioni elevate di alcuni dei metaboliti ricercati. Sia nel caso di carbamazepina sia per il diclofenac l'inoculo puro di *C. vulgaris* mostra alte concentrazioni di metabolita residuo, indipendentemente dall'efficienza di rimozione relativa registrata. I motivi potrebbero risiedere nella minore efficienza metabolica di quest'alga rispetto al mix di alghe e batteri.

In ogni caso l'assenza di DHDH-CBZ in tutti i reattori può essere sintomatica di una maggiore efficienza biodegradativa di questo composto, che viene mineralizzato molto velocemente o convertito in altre forme non indagate. Non si può escludere d'altro canto neanche l'eventualità in cui il processo di conversione da EP-CBZ a DHDH-CBZ sia così

lento da non essere cominciato nel corso dei 5 giorni di sperimentazione. In questo caso la rilevante presenza di DHDH-CBZ riscontrata nei campioni in sede di campagna di monitoraggio a Monticolo e Verano sarebbe da ricondursi solamente alla deconiugazione dei relativi composto glucuronici (i.e. DHDH-CBZ-G).

In generale si può affermare che la formazione di metaboliti presenti in concentrazioni sempre più elevate all'aumentare della concentrazione di farmaco inizialmente somministrata denota una certa attività da parte delle biomasse coinvolte, nonostante si possano avanzare alcune ipotesi riguardo eventuali effetti eco-tossici. Nel caso della carbamazepina infatti si è assistito a delle diminuzioni nella concentrazione della biomassa e l'effetto è aumentato con l'aumentare della concentrazione di farmaco presente.

5.3 Vie di degradazione proposte

Alla luce di quanto dedotto e supposto a partire dalla letteratura esistente e dalle evidenze sperimentali riscontrate, si propone di seguito (figura 5.1 e 5.2) uno schema riassuntivo dei processi biotici e abiotici che si pensa abbiano indotto le variazioni di concentrazione rilevate. La grandezza dei nomi dei vari composti indica in maniera qualitativa l'andamento delle loro concentrazioni nel refluo.

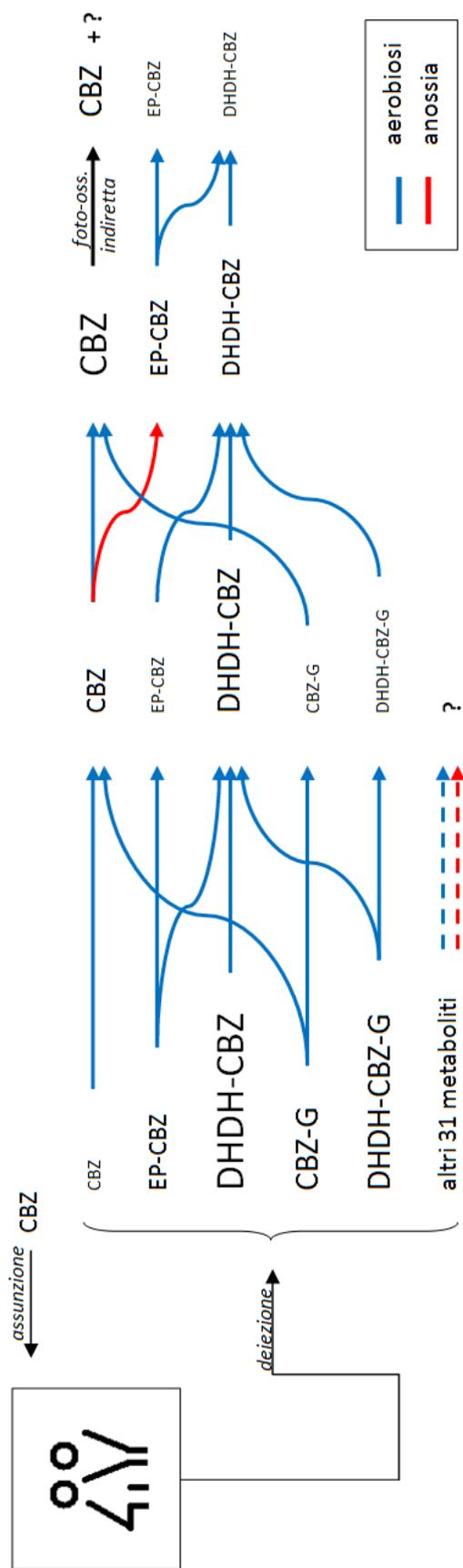


Figura 5.1: percorsi di trasformazione proposti per la molecola di carbamazepina a partire dall'assunzione da parte dell'uomo fino al trattamento all'interno dell'impianto; la grandezza dei nomi dei composti indica qualitativamente le loro concentrazioni nel refluo. Con "?" si evidenzia l'assenza di letteratura riguardante gli ulteriori prodotti di trasformazione

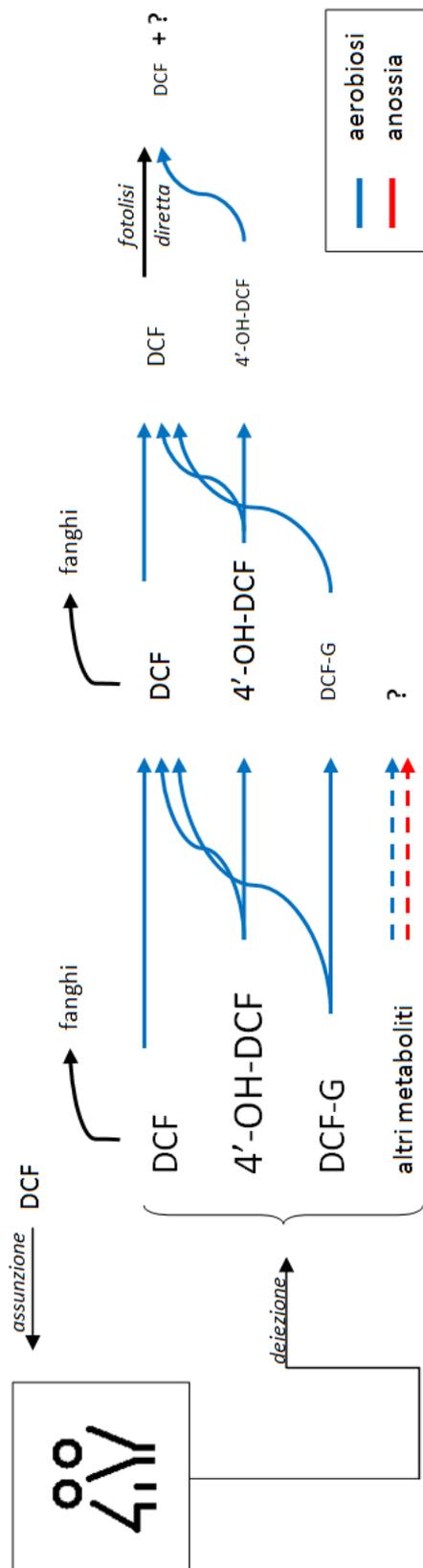


Figura 5.2: percorsi di trasformazione proposti per la molecola di diclofenac a partire dall'assunzione da parte dell'uomo fino al trattamento all'interno dell'impianto; la grandezza dei nomi dei composti indica qualitativamente le loro concentrazioni nel refluo. Con "?" si evidenzia l'assenza di letteratura riguardante gli ulteriori prodotti di trasformazione

Capitolo 6

Conclusioni e prospettive future

Dalla letteratura consultata è emerso come gli impianti di fitodepurazione presentino in media delle efficienze maggiori degli impianti convenzionali a fanghi attivi nella rimozione degli 8 farmaci presi in esame. Queste alte efficienze depurative sono state confermate anche durante la campagna di monitoraggio condotta nel mese di ottobre 2016 presso gli impianti di fitodepurazione di Monticolo e Verano.

L'attenzione è stata focalizzata in particolare su due farmaci, carbamazepina e diclofenac. È stato messo in evidenza come questi due composti abbiano presentato dei comportamenti diametralmente opposti: la prima si è rivelata fortemente recalcitrante con notevoli aumenti di concentrazione durante la filiera depurativa, mentre il secondo è stato rimosso in modo efficace. Questi risultati trovano riscontro con quelli presenti in letteratura. Il motivo della diversità tra gli andamenti di concentrazione di carbamazepina e diclofenac risiede principalmente nell'interazione delle due molecole con i rispettivi metaboliti:

- le concentrazioni di carbamazepina, EP-CBZ e DHDH-CBZ sono molto interdipendenti, poiché (nonostante tutti e tre i composti siano tendenzialmente presenti nel refluo in ingresso agli impianti) sembrano costituire una parte del percorso di biodegradazione della molecola. Inoltre non dev'essere trascurata la potenziale conversione della molecola parentale in EP-CBZ in condizioni di anossia. Assieme alla deglucuronazione (che potrebbe avvenire in ambiente aerobico) queste reazioni sembrano essere le principali responsabili dell'aumento di concentrazione del composto puro. Questo fenomeno di magnificazione incide poi sulla pressione a cui sono sottoposti gli ecosistemi presenti a valle dello scarico dell'impianto;
- la presenza del metabolita 4'-OH-DCF del diclofenac può comportare pressioni rilevanti sugli ambienti acquatici in cui viene scaricato; il composto è infatti più tossico della sua molecola parentale. Questa coppia di composti, a differenza della

carbamazepina, si è dimostrata molto degradabile con la fitodepurazione. Sembra infatti che gli alti *HRT* e la possibilità di adsorbire siano fattori di rilievo, necessari affinché si possa arrivare alla rimozione della molecola parentale e dei suoi metaboliti.

Al fine di chiarire alcuni aspetti del destino di carbamazepina e diclofenac durante i trattamenti di fitodepurazione è stato scelto di allestire alcuni esperimenti a scala di laboratorio. La via di rimozione che si è voluta indagare è quella biologica ad opera di microrganismi, in particolare microalghe e batteri. Sono stati allestiti vari reattori contenenti della biomassa selezionata: un mix di alghe e batteri ed un inoculo puro di *C. vulgaris*. Inoltre sono stati installati dei reattori di controllo privi di biomassa con lo scopo di valutare l'effetto della fotodegradazione nella rimozione del diclofenac.

I due tipi di biomassa hanno mostrato delle efficienze di rimozione del farmaco variabili: il mix ha rimosso meglio la carbamazepina, mentre l'inoculo puro ha presentato una resa leggermente maggiore del mix nel caso della degradazione del diclofenac. La costante presenza di prodotti del metabolismo (in particolare EP-CBZ e 4'-OH-DCF) testimonia un'interazione metabolica diretta (o quanto meno cometabolica) dei microrganismi presenti con i due farmaci.

Dal punto di vista eco-tossicologico la carbamazepina sembra avere una certa influenza sulla biomassa, gravando maggiormente sulle biocenosi costituenti il mix di alghe e batteri. Non si sono invece riscontrati evidenti effetti del diclofenac a danno dei tipi di biomassa impiegati. Probabilmente, vista la scarsa presenza di nutrienti e di materiale rapidamente biodegradabile, il diclofenac ha costituito una fonte alternativa di energia per i microrganismi.

Per quanto riguarda le prospettive future degli studi su carbamazepina e diclofenac si può operare una distinzione tra gli aspetti tesi al perfezionamento dell'indagine fin qui descritta ed i fattori che invece potranno aprire la strada a successivi studi vista l'attualità della tematica.

Appartengono al primo gruppo le ulteriori indagini che si potrebbero eseguire per mezzo di traccianti per verificare il reale tempo di ritenzione idraulica degli impianti di fitodepurazione di Monticolo e Verano. Inoltre sarebbe opportuno isolare la percentuale di mineralizzazione dei due farmaci studiando la totalità dei prodotti di trasformazione delle reazioni che intervengono e verificarne anche l'eco-tossicità. Sarebbe opportuno ripetere quindi le analisi sugli impianti di fitodepurazione, una volta noti i reali tempi di ritenzione.

Qualora i test diano risultati di rimozione soddisfacenti si può proseguire realizzando dei letti filtranti pilota. In questo modo si potrebbero analizzare anche gli effetti dati dalla

presenza di un mezzo granulare all'interno del reattore e soprattutto valutare l'importanza dell'adesione delle molecole più lipofile al biofilm presente. Inoltre, sempre per indagare ulteriormente la rimozione ad opera dei microrganismi (microalghe e batteri), si potrebbe ampliare lo studio includendo anche le cinetiche di reazione tramite prelievo di campioni ogni ora (per indagare lo sviluppo temporale delle rimozioni). Un altro aspetto di rilievo è il ruolo dell'alternanza tra dì e notte a cicli giornalieri regolari per simulare i cicli biochimici che avvengono nella realtà.

Appartengono infine al secondo gruppo le ulteriori indagini che si possono condurre per avviare la ricerca di un metodo ingegnerizzato mirato alla rimozione dei farmaci con soluzioni a basso impatto. Un primo passo può essere la distinzione tra gli effetti biologici e fisici che possono intervenire negli impianti esistenti, con analisi sulla presenza dei principi attivi sia nella frazione liquida sia all'interno dei fanghi prodotti. In aggiunta sarebbe di fondamentale importanza avviare degli studi mirati ad identificare i vari prodotti di trasformazione (metaboliti, composti glucuronici e prodotti della fotodegradazione) presenti a valle della depurazione dei reflui, confrontandoli con quelli presenti in ingresso. In seguito alla loro identificazione si possono fare delle valutazioni a livello eco-tossicologico per focalizzare l'attenzione sulle molecole potenzialmente più impattanti.

Bibliografia

Adamczak K., Lyko S., Nafó I., Evenblij H., Cornelissen A., Igos E., Klepischewki K., Venditti S., Kovalova L., McArdell C., Helwig K., Pahl O., Barraud O., Casellas M., Dagot C., Maftah C., Ploy M., Stadler T., 2012. *Pharmaceutical residues in the aquatic system - a challenge for the future*. Gelsenkirchen (D).

Andreozzi R., Marotta R., Pinto G., Pollio A., 2002. *Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity*. *Wat. Res.* 36, 2869-2877.

Andreozzi R., Raffaele M., Paxéus N., 2003. *Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment*. *Chemosphere* 50, 1319-1330.

APAT (Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici), CNR-IRSA (Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque), 2004. *Metodi analitici per le acque*. Manuali e Linee Guida 29. Roma.

APPA-BZ - Agenzia Provinciale Per l'Ambiente di Bolzano - Ufficio Tutela delle Acque, 2004. *Piano di tutela delle acque: Piano stralcio riguardante la delimitazione dei bacini drenanti in aree sensibili*. Bolzano.

APPA-BZ - Agenzia Provinciale Per l'Ambiente di Bolzano, "Schede impianti di depurazione", <http://ambiente.provincia.bz.it/acqua/> (ultimo accesso febbraio 2017)

AIFA - Agenzia Italiana del Farmaco, 2016. *Osservatorio Nazionale sull'impiego dei Medicinali. L'uso dei farmaci in Italia. Rapporto Nazionale 2015*. Roma.

Bai X., Acharya K., 2017. *Algae-mediated removal of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from Lake Mead water*. *Science of The Total Environment* 581-582, 734-740.

Bazzoli G., Visintainer M., Arman S., Gottardi C., 2005. *Caffeine as an anthropogenic marker of pollution of groundwater. Possible uses in mountain basins (La caffeina come indicatore di contaminazione antropogenica delle acque sotterranee. Possibilità di applicazione nei bacini montani)*. *Geologia Tecnica & Ambientale* 4, 5-16.

Beier S., Cramer C., Koster S., Mauer C., Palmowski L., Schröder H., Pinnekamp J., 2011. *Full scale membrane bioreactor treatment of hospital wastewater as forerunner for hot-spot wastewater treatment solutions in high density urban areas*. *Water Sci. Technol.* 63, 66-71.

Beliakova M.M., Bessonov S.I., Sergeyev B.M., Smirnova I.G., Dobrov E.N., Kopylov A.M., 2003. *Rate of tetracycline photolysis during irradiation at 365 nm*. *Biochem.* 68, 2, 182-187. Mosca.

Bendz D., Paxéus N.A., Ginn T.R., Loge F.J., 2005. *Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden*. *Journal of Hazardous Materials* 122, 195-204.

Bernhard M., Müller J., Knepper T.P., 2006. *Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: comparison of an optimized lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment*. *Water Research* 40, 3419-3428.

Beuckels A., Smolders E., Muylaert K., 2015. *Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment*. *Water Res.* 77, 98-106.

Bodin H., Daneshvar A., Gros M., Hultberg M., 2016. *Effects of biopellets composed of microalgae and fungi on pharmaceuticals present at environmentally relevant levels in water*. *Ecological Engineering* 91,169-172.

Braeutigam P., Franke M., Schneider R.J., Lehmann A., Stolle A., Ondruschka B., 2012. *Degradation of carbamazepine in environmentally relevant concentrations in water by Hydrodynamic-Acoustic-Cavitation (HAC)*. *Water Research* 46, 7, 2469-2477.

Calamari D., Zuccato E., Castiglioni S., Bagnati R., Fanelli R., 2003. *Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy*. *Environ. Sci. Technol.* 37, 7, 1241-1248.

Calisto V., Rosário M., Domingues M., Erny G.L., Esteves V.I., 2011. *Direct photo-degradation of carbamazepine followed by micellar electrokinetic chromatography and mass spectrometry*. Water Research 45, 3, 1095-1104.

Carballa M., Omil F., Lema J.M., 2005. *Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment*. Water Research 39, 19, 4790-4796.

Cardinal P., Anderson J.C., Carlson J.C., Low J.E., Challis J.K., Beattie S.A., Bartel C.N., Elliott A.D., Montero O.F., Lokesh S., Favreau A., Kozlova T.A., Knapp C.W., Hanson M.L., Wong C.S., 2014. *Macrophytes may not contribute significantly to removal of nutrients, pharmaceuticals, and antibiotic resistance in model surface constructed wetlands*. Science of The Total Environment 482-483, 294-304.

Carl Roth GmbH + Co. KG, "Scheda Dati di Sicurezza: caffeina", <https://www.carlroth.com/en/en> (ultimo accesso dicembre 2016)

Castiglioni S., Bagnati R., Fanelli R., Pomati F., Calamart D., Zuccato E., 2006. *Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy*. Environ. Sci. Technol. 40, 357-363.

Clara M., Strenn B., Ausserleitner M., Kreuzinger N., 2004. *Comparison of the behaviour of selected micropollutants in a membrane bioreactor and a conventional wastewater treatment plant*. Water Sci. Technol. 50, 5, 29-36.

Clara M., Kreuzinger N., Strenn B., Gans O., Kroiss H., 2005a. *The solids retention time - a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants*. Water Research 39, 1, 97-106.

Clara M., Strenn B., Gans O., Martinez E., Kreuzinger N., Kroiss H., 2005b. *Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants*. Water Research 39, 19, 4797-4807.

Conkle J.L., White J.R., Metcalfe C.D., 2008. *Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in south east Louisiana*. Chemosphere 73, 1741-1748.

Cunningham V.L., 2004. *Special characteristics of pharmaceuticals related to environmental Fate*. Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks, SPRINGER², pp. 13-23. Berlino.

Daughton C.G., Ternes T.A., 1999. *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle changes?*. Environmental Health Perspectives 107, 907-938.

Davies N.M., Anderson K.E., 1997. *Clinical pharmacokinetics of diclofenac therapeutic insights and pitfalls*. Clinical Pharmacokinetics 33, 184-213.

Davies-Colley R.J., Donnison A.M., Speed D.J., 2000. *Towards a mechanistic understanding of pond disinfection*. Water Sci. Technol. 42, 10-11, 149-158.

de Wilt A., Butkovskiy A., Tuantet K., Leal L.H., Fernandes T.V., Langenhoff A., Zeeman G., 2016. *Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams*. Journal of Hazardous Materials 304, 84-92.

Die Deutsche Bibliothek, 1999. *Lexikon der Chemie: in drei Bänden*. SPEKTRUM AKADEMISCHER VERLAG GMBH HEIDELBERG. Berlino.

Donner E., Kosjek T., Qualmann S., Kusk K.O., Heath E., Revitt D.M., Ledin A., Andersen H.R., 2013. *Ecotoxicity of carbamazepine and its UV photolysis transformation products*. Science of The Total Environment 443, 870-876.

Dordio A.V., Belo M., Martins Teixeira D., Palace Carvalho A.J., Dias C.M.B., Picó Y., Pinto A.P., 2011. *Evaluation of carbamazepine uptake and metabolism by Typha spp., a plant with potential use in phytotreatment*. Bioresource Technology 102, 17, 7827-7834.

DrugBank Version 5.0 - Drug & Drug Target Database,
<https://www.drugbank.ca/> (ultimo accesso gennaio 2017)

Dular M., Griessler-Bulc T., Gutierrez-Aguirre I., Heath E., Kosjek T., Krivograd Klemenčič A., Oder M., Petkovšek M., Rački N., Ravnikar M., Šarc A., Širok B., Zupanc M., Žitnik M., Kompare B., 2016. *Use of hydrodynamic cavitation in (waste)water treatment*. Ultrasonics Sonochemistry 29, 577-588.

eco center S.p.A., "Impianti depurazione - Eco - Center",
<http://www.eco-center.it/it/acqua/impianti-depurazione-acque/>
(ultimo accesso gennaio 2017)

Ecoresearch s.r.l., Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Università degli Studi di Padova, 2016. *Studio sulla presenza di xenobiotici nel ciclo delle acque urbane e ricerca/definizione di soluzioni applicabili per la tutela delle persone, dell'ambiente e degli animali.*

Edhlund B.L., Arnold W.A., McNeill K., 2006. *Aquatic photochemistry of nitrofurantoin antibiotics.* Environ. Sci. Technol. 40, 5422-5427.

Escapa C., Coimbra R.N., Paniagua S., García A.I., Otero M., 2016. *Comparative assessment of diclofenac removal from water by different microalgae strains.* Algal Research 18, 127-134.

Eskandarian M.R., Choi H., Fazli M., Rasoulifard M.H., 2016. *Effect of UV-LED wavelengths on direct photolytic and TiO₂ photocatalytic degradation of emerging contaminants in water.* Chemical Engineering Journal 300, 414-422.

Fent K., Weston A.A., Caminada D., 2006. *Ecotoxicology of human pharmaceuticals.* Aquatic Toxicology 76, 122-159.

Ferrari B., Paxeus N., Lo Giudice R., Pollio A., Garric J., 2003. *Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrate, and diclofenac.* Ecotoxicol. Environ. Saf. 55, 359-370.

Fewson C.A., 1988. *Biodegradation of xenobiotic and other persistent compounds: the causes of recalcitrance.* Trends Biotechnol. 6, 148-153.

Foladori P., Ruaben J., Ortigara A.R.C., Andreottola G., 2014. *Batch feed and intermittent recirculation to increase removed loads in a vertical subsurface flow filter.* Ecological Engineering 70, 124-132.

Foladori P., 2015. *Impianti di trattamento delle acque reflue - Appunti del corso (a.a. 2015-16).*

Gröning J., Held C., Garten C., Claußnitzer U., Kaschabek S.R., Schlömann M., 2007. *Transformation of diclofenac by the indigenous microflora of river sediments and identification of a major intermediate*. Chemosphere 69, 509-516.

Grover D.P., Zhou J.L., Frickers P.E., Readman J.W., 2011. *Improved removal of estrogenic and pharmaceutical compounds in sewage effluent by full scale granular activated carbon: Impact on receiving river water*. Journal of Hazardous Materials 185, 2-3, 1005-1011.

Hai F.I., Li X., Price W.E., Nghiem L.D., 2011a. *Removal of carbamazepine and sulfamethoxazole by MBR under anoxic and aerobic conditions*. Bioresource Technology 102, 22, 10386-10390.

Hai F.I., Tessmer K., Nguyen L.N., Kang J., Price W.E., Nghiem L.D., 2011b. *Removal of micropollutants by membrane bioreactor under temperature variation*. Journal of Membrane Science 383, 1-2, 144-151.

Hignite C., Azarnoff D.L., 1977. *Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent*. Life Sciences 20, 2, 337-341.

Hijosa-Valsero M., Matamoros V., Martín-Villacorta J., Bécares E., Bayona J.M., 2010a. *Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities*. Water Research 44, 5, 1429-1439.

Hijosa-Valsero M., Matamoros V., Sidrach-Cardona R., Martín-Villacorta J., Bécares E., Bayona J.M., 2010b. *Comprehensive assessment of the design configuration of constructed wetlands for the removal of pharmaceuticals and personal care products from urban wastewaters*. Water Research 44, 12, 3669-3678.

Hijosa-Valsero M., Reyes-Contreras C., Domínguez C., Bécares E., Bayona J.M., 2016. *Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in constructed wetland compartments: Influent, effluent, pore water, substrate and plant roots*. Chemosphere 145, 508-517.

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, 2012. *Guida Tecnica per la progettazione e gestione dei sistemi di fitodepurazione per il trattamento delle acque reflue urbane*. Manuali e linee guida.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry, 2014. *Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")*. Redatto da McNaught A.D. e Wilkinson A., 1997. BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS. Oxford (U.K.).

Versione XML corretta disponibile in rete: <http://goldbook.iupac.org> creata da Nic M., Jirat J., Kosata B., 2006. Aggiornamento redatto da Jenkins A., 2014.

Jelic A., Gros M., Ginebreda A., Cespedes-Sánchez R., Ventura F., Petrovic M., Barcelo D., 2011. *Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment*. Water Research 45, 3, 1165-1176.

Jiang M., Wang L., Ji R., 2010. *Biotic and abiotic degradation of four cephalosporin antibiotics in a lake surface water and sediment*. Chemosphere 80, 11, 1399-1405.

Jos A., Repetto G., Rios J.C., Hazen M.J., Molero M.L., del Peso A., Salguero M., Fernández-Freire P., Pérez-Martín J.M., Cameán A., 2003. *Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints*. Toxicol. in Vitro 17, 525-532.

Joss A., Keller E., Alder A.C., Göbel A., McArdell C.S., Ternes T., Siegrist H., 2005. *Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment*. Water Research 39, 14, 3139-3152.

Kadir K., Nelson K.L., 2014. *Sunlight mediated inactivation mechanisms of Enterococcus faecalis and Escherichia coli in clear water versus waste stabilization pond water*. Water Res. 50, 0, 307-317.

Kim I., Tanaka H., 2009. *Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment*. Environment International, 35, 5, 793-802.

Kim I., Yamashita N., Tanaka H., 2009. *Performance of UV and UV/H₂O₂ processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan*. Journal of Hazardous Materials 166, 2-3, 1134-1140.

Kimura K., Hara H., Watanabe Y., 2005. *Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs)*. Desalination 178, 1-3, 135-140.

Knackmuss H.J., 1996. *Basic knowledge and perspectives of bioelimination of xenobiotic compounds*. Journal of Biotechnology 51, 287-295.

Kosjek T., Andersen H.R., Kompare B., Ledin A., Heath E., 2009. *Fate of carbamazepine during water treatment*. Environ. Sci. Technol. 43, 6256-6261.

Kosjek T., Perko S., Heath E., Kralj B., Zigon D., 2011. *Application of complementary mass spectrometric techniques to the identification of ketoprofen phototransformation products*. J. Mass Spectrom. 46, 391-401.

Koumaki E., Mamais D., Noutsopoulos C., Nika M., Bletsou A.A., Thomaidis N.S., Eftaxias A., Stratogianni G., 2015. *Degradation of emerging contaminants from water under natural sunlight: The effect of season, pH, humic acids and nitrate and identification of photodegradation by-products*. Chemosphere 138, 675-681.

Kreuzinger N., Clara M., Srenn B., Kroiss H., 2004. *Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceutical from wastewater*. Water Sci. Technol. 50, 149-156.

Krienitz L., Huss V.A.R., Bock C., 2015. *Chlorella: 125 years of the green survivalist*. Trends in Plant Science 20, 2, 67-69.

Poirier-Larabie S., Segura P.A., Gagnon C., 2016. *Degradation of the pharmaceuticals diclofenac and sulfamethoxazole and their transformation products under controlled environmental conditions*. Science of The Total Environment 557-558, 257-267.

Laskowski R., 2001. *Why short-term bioassays are not meaningful-effects of a pesticide (Imidacloprid) and a metal (cadmium) on pea aphids (Acyrtosiphon pisum, Harris)*. Ecotoxicology 10, 177-183.

Lekkerkerker-Teunissen K., Benotti M.J., Snyder S.A., van Dijk H.C., 2012. *Transformation of atrazine, carbamazepine, diclofenac and sulfamethoxazole by low and medium pressure UV and UV/H₂O₂ treatment*. Separation and Purification Technology 96, 33-43.

Lertratanangkoon K., Horning M.G., 1982. *Metabolism of carbamazepine*. Drug Metabolism and Disposition 10, 1-10.

Lin A., Reinhard M., 2005. *Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water*. Environ. Toxicol. Chem. 24, 1303-1309.

Lindqvist N., Tuhkanen T., Kronberg L., 2005. *Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters*. Water Research 39, 11, 2219-2228.

Mack J., Bolton J.R., 1999. *Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review*. J. Photochem. Photobiol. A 128, 1, 1-13.

Marco-Urrea E., Pèrez-Trujillo M., Vicent T., Caminal G., 2009. *Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by Trametes versicolor*. Chemosphere 74, 6, 765-772.

Marco-Urrea E., Radjenović J., Caminal G., Petrovic M., Vicent T., Barcelò D., 2010. *Oxidation of atenolol, propranolol, carbamazepine and clofibrac acid by a biological Fenton-like system mediated by the white-rot fungus Trametes versicolor*. Water Research 44, 2, 521-532.

Matamoros V., Bayona J.M., 2006. *Elimination of pharmaceuticals and personal care products in subsurface flow constructed wetlands*. Environ. Sci. Technol. 40, 5811-5816.

Matamoros V., Arias C.A., Brix H., Bayona J.M., 2007. *Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from urban wastewater in a pilot vertical subsurface-flow constructed wetland and a sand filter*. Environ. Sci. Technol. 41, 8171-8177.

Matamoros V., Arias C., Brix H., Bayona J.M., 2009. *Preliminary screening of small-scale domestic wastewater treatment systems for removal of pharmaceutical and personal care products*. Water Research 43, 1, 55-62.

Matamoros V., Nguyen L.X., Arias C., Salvadó V., Brix H., 2012. *Evaluation of aquatic plants for removing polar microcontaminants: a microcosm experiment*. Chemosphere 88, 10, 1257-1264.

Matamoros V., Salvadó V., 2013. *Evaluation of a coagulation/flocculation-lamellar clarifier and filtration-UV-chlorination reactor for removing emerging contaminants at full-scale wastewater treatment plants in Spain*. Journal of Environmental Management 117, 96-102.

Matamoros V., Gutiérrez R., Ferrer I., García J., Bayona J.M., 2015. *Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: A pilot-scale study*. Journal of Hazardous Materials 288, 34-42.

Matamoros V., Uggetti E., García J., Bayona J.M., 2016. *Assessment of the mechanisms involved in the removal of emerging contaminants by microalgae from wastewater: a laboratory scale study*. Journal of Hazardous Materials 301, 197-205.

Miao X.S., Yang J.J., Metcalfe C.D., 2005. *Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant*. Environ. Sci. Technol. 39, 19, 7469-7475.

Miège C., Choubert J.M., Ribeiro L., Eusèbe M., Coquery M., 2009. *Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants - Conception of a database and first results*. Environmental Pollution 157, 5, 1721-1726.

Mohn W.W., Tiedje J.M., 1992. *Microbial reductive dehalogenation*. Microbiol. Rev. 56, 482-507.

Monteiro S.C., Boxall A.B., 2010. *Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment*. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 202, 53-154.

Nakada N., Tanishima T., Shinohara H., Kiri K., Takada H., 2006. *Pharmaceutical chemicals and endocrine disruptors in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment*. Water Research 40, 17, 3297-3303.

NCBI - National Center for Biotechnology Information, *PubChem Compound Database*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (ultimo accesso dicembre 2016)

Norvill Z.N., Shilton A., Guyesse B., 2016. *Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: Identifying the research gaps*. Journal of Hazardous Materials 313, 291-309.

OECD/EU, 2014. *Pharmaceutical consumption*. Health at a Glance: Europe 2014, OECD Publishing, pp. 82-83. Parigi.

Packer J.L., Werner J.J., Latch D.E., McNeill K., Arnold W.A., 2003. *Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: naproxen, diclofenac, clofibrac acid, and ibuprofen*. Aquatic Sciences ? Research Across Boundaries 65, 4, 342-351.

Park N., Vanderford B.J., Snyder S.A., Sarp S., Don Kim S., Cho J., 2009. *Effective controls of micropollutants included in wastewater effluent using constructed wetlands under anoxic condition*. Ecological Engineering 35, 3, 418-423.

PAT-ADEP - Provincia Autonoma di Trento - Agenzia per la depurazione, "Impianto di depurazione di TRENTO NORD" in Impianti di depurazione degli scarichi civili in Trentino, <http://adep.heidix.net/plant.html?TN> (ultimo accesso luglio 2017)

Paxéus N., 2004. *Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, β -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment.* Water Sci. Technol. 50, 253-260.

Pereira V.J., Weinberg H.S., Linden K.G., Singer P.C., 2007. *UV degradation of pharmaceutical compounds in surface water via direct and indirect photolysis at 254 nm.* Environ. Sci. Technol. 41, 5, 1682-1688.

Petrini S., 2016. *Indagine sperimentale sull'impiego di microalghe nella depurazione delle acque.* Tesi di Laurea Magistrale a.a. 2015-2016, Università degli Studi di Trento.

Plósz B.G., Langford K.H., Thomas K.V., 2012. *An activated sludge modeling framework for xenobiotic trace chemicals (ASM-X): Assessment of diclofenac and carbamazepine.* Biotechnology and Bioengineering 109, 11, 2757-2769.

Prov. BZ - Provincia Autonoma di Bolzano, "Nuovo Geobrowser (ortofoto 2011 by AGEA - agea.gov.it)" in Maps e WebGIS - I Geobrowser (Digitalizzazione amministrazione provinciale), <http://www.provincia.bz.it/> (ultimo accesso dicembre 2016)

Quintana J.B., Weiss S., Reemtsma T., 2005. *Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor.* Water Research 39, 12, 2654-2664.

Radjenović J., Petrović M., Barceló D., 2009. *Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment.* Water Research 43, 831-841.

Reith D.M., Appleton D.B., Hooper W., Eadie M.J., 2000. *The effect of body size on the metabolic clearance of carbamazepine.* Biopharmaceutics and Drug Disposition 21, 103-111.

Reungoat J., Escher B.I., Macova M., Keller J., 2011. *Biofiltration of wastewater treatment plant effluent: Effective removal of pharmaceuticals and personal care products and reduction of toxicity.* Water Research 45, 9, 2751-2762.

Richardson S.D., Kimura S.Y., 2017. *Emerging environmental contaminants: Challenges facing our next generation and potential engineering solutions*. Environmental Technology & Innovation 8, 40-56.

Romagnolli F., 2013. *Fitodepurazione - Gestione sostenibile delle acque*, DARIO FLACCOVIO EDITORE. Palermo.

Rühmland S., Wick A., Ternes T.A., Barjenbruch M., 2015. *Fate of pharmaceuticals in a subsurface flow constructed wetland and two ponds*. Ecological Engineering 80, 125-139.

Salgado R., Marques R., Noronha J.P., Carvalho G., Oehmen A., Reis M.A.M., 2012. *Assessing the removal of pharmaceuticals and personal care products in a full-scale activated sludge plant*. Environ. Sci. Pollut. Res. 19, 1818-1827.

Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M., 2003. *Environmental Organic Chemistry*. Wiley-Interscience. JOHN WILEY & SONS, INC.²

Sigma-Aldrich Co.LLC., <http://www.sigmaaldrich.com/> (ultimo accesso luglio 2017)

Singer H., Jaus S., Hanke I., Lueck A., Hollender J., Alder A.C., 2010. *Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water*. Environmental Pollution 158, 10, 3054-3064.

Skordi E., Wilson I.D., Lindon J.C., Nicholson J.K., 2004. *Characterization and quantification of metabolites of racemic ketoprofen excreted in urine following oral administration to man by 1H-NMR spectroscopy, directly coupled HPLCeMS and HPLC-NMR, and circular dichroism*. Xenobiotica 34, 1075-1089.

Snyder S.A., Adham S., Redding A.M., Cannon F.S., DeCarolis J., Oppenheimer J., Wert E.C., Yoon Y., 2007. *Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals*. Desalination 202, 1, 156-181.

Stierlin H., Faigle J.W., 1979. *Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren®) in animals and in man. II. Quantitative determination of the unchanged drug and principal phenolic metabolites, in urine and bile*. Xenobiotica 9, 10, 611-621.

Strenn B., Clara M., Gans O., Kreuzinger N., 2004. *Carbamazepine, diclofenac, ibuprofen and bezafibrate: investigations on the behaviour of selected pharmaceuticals during wastewater treatment*. Water Sci. Technol. 50, 269-276.

Suárez S., Lema J.M., Omil F., 2010. *Removal of Pharmaceutical and Personal Care products(PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions*. Water Research 44, 3214-3224.

Sui Q., Huang J., Deng S., Chen W., Yu G., 2011. *Seasonal variation in the occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products in different biological wastewater treatment processes*. Environmental Science and Technology 45, 3341-3348.

Sumpter J.P., 2010. *Current known effect of pharmaceuticals. Pharmaceuticals in the environment - Results of an EEA workshop*. EEA Technical report No 1/2010, Office for Official Publications of the European Communities, p. 16. Copenhagen.

Tadkaew N., Sivakumar M., Khan S.J., McDonald J.A., Nghiem L.D., 2010. *Effect of mixed liquor pH on the removal of trace organic contaminants in a membrane bioreactor*. Bioresource Technology 101, 1494-1500.

Taxe-Wuersch A., De Alencastro L.F., Grandjean D., Tarradellas J., 2005. *Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment*. Water Res. 39, 9, 1761-1772.

Ternes T., 1998. *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. Water Res. 32, 11, 3245-3260.

Ternes T.A., Bonerz M., Herrmann N., Teiser B., Andersen H.R., 2007. *Irrigation of treated wastewater in Braunschweig, Germany: An option to remove pharmaceuticals and musk fragrances*. Chemosphere 66, 5, 894-904.

TOXNET - Toxicology data network, in *U.S. National Library of Medicine*, <https://toxnet.nlm.nih.gov/> (ultimo accesso novembre 2016)

Tran N.H., Urase T., Kusakabe O., 2009. *The characteristics of enriched nitrifier culture in the degradation of selected pharmaceutically active compounds*. Journal of Hazardous Materials 171, 1-3, 1051-1057.

Trinh T., van den Akker B., Stuetz R.M., Coleman H.M., Le-Clech P., Khan S.J., 2012. *Removal of trace organic chemical contaminants by a membrane bioreactor*. Water Sci. Technol. 66, 1856-1863.

Urase T., Kagawa C., Kikuta T., 2005. *Factors affecting removal of pharmaceutical substances and estrogens in membrane separation bioreactors*. Desalination 178, 1-3, 107-113.

Vasiliadou I.A., Molina R., Martínez F., Melero J.A., 2013. *Biological removal of pharmaceutical and personal care products by a mixed microbial culture: sorption, desorption and biodegradation*. Biochem. Eng. J. 81, 108-119.

Velkravrh A.P., Asquith M., Ribeiro T., Lung T., 2015. *Global megatrends assessment: Extended background analysis complementing the SOER 2015 'Assessment of global megatrends'*. EEA Technical Report No 11/2015, Publications Office of the European Union. Copenhagen.

Vieno N., Tuhkanen T., Kronberg L., 2007. *Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland*. Water Research 41, 5, 1001-1012.

Villarroel M.J., Ferrando M.D., Sancho E., Andreu E., 2000. *Effect of Tetradifon on Daphnia magna during chronic exposure and alterations in the toxicity to generations pre-exposed to the pesticide*. Aquatic Toxicology 49, 39-47.

Vollmer G., 2010. *Pharmaceuticals as waste in households. Pharmaceuticals in the environment - Results of an EEA workshop*. EEA Technical report No 1/2010, Office for Official Publications of the European Communities, p. 26. Copenhagen.

Weiss S., Reemtsma T., 2008. *Membrane bioreactors for municipal wastewater treatment - a viable option to reduce the amount of polar pollutants discharged into surface waters?*. Water Research 42, 3837-3847.

Wellens, H., 1990. *Microbial degradability of mono- and disubstituted benzene derivatives*. Z. Wasser Abwasser Forsch. 23, 85-98.

Werner B., Collins R., European Topic Center - Inland Coastal and Transitional Water, Lago M., Möller-Gulland J., Kossida M., Tekidou A., Kakava A., Ronan P., 2012. *Towards efficient use of water resources in Europe*. EEA Technical Report No 1/2012, Office for Official Publications of the European Union. Copenhagen.

Wetzel R.G., 1990. *Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators*. Verh. International Verein Limnol 24, 6-24.

WHO, 2015. *WHO model list of essential medicines - 19th list* (corretta in novembre 2015).

Wick A., Fink G., Joss A., Siegrist H., Ternes T.A., 2009. *Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment*. Water Research 43, 1060-1074.

Xiong J., Kurade M.B., Abou-Shanab R.A.I., Ji M., Choi J., Kim J.O., Jeon B., 2016. *Biodegradation of carbamazepine using freshwater microalgae Chlamydomonas mexicana and Scenedesmus obliquus and the determination of its metabolic fate*. Bioresource Technology 205, 183-190.

Zhang Y., Geißen S., Gal C., 2008. *Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies*. Chemosphere 73, 8, 1151-1161.

Zhang N., Liu G., Liu H., Wang Y., He Z., Wang G., 2011. *Diclofenac photodegradation under simulated sunlight: Effect of different forms of nitrogen and Kinetics*. Journal of Hazardous Materials 192, 411-418.

Zhang D.Q., Hua T., Gersberg R.M., Zhu J., Ng W.J., Tan S.K., 2012. *Fate of diclofenac in wetland mesocosms planted with Scirpus validus*. Ecological Engineering 49, 59-64.

Zhang D.Q., Hua T., Gersberg R.M., Zhu J., Ng W.J., Tan S.K., 2013a. *Carbamazepine and naproxen: Fate in wetland mesocosms planted with Scirpus validus*. Chemosphere 91, 1, 14-21.

Zhang D.Q., Hua T., Gersberg R.M., Zhu J., Ng W.J., Tan S.K., 2013b. *Fate of caffeine in mesocosms wetland planted with Scirpus validus*. Chemosphere 90, 1568-1572.

Zhang N., Li J.M., Liu G.G., Chen X.L., Jiang K., 2017. *Photodegradation of diclofenac in aqueous solution by simulated sunlight irradiation: kinetics, thermodynamics and pathways*. Water Science & Technology, in stampa.

Zhao Q., Feng L., Cheng X., Chen C., Zhang L., 2013. *Photodegradation of amoxicillin in aqueous solution under simulated irradiation: influencing factors and mechanisms*. Water Sci. Technol. 67, 7, 1605-1611.

Zhou G., Ying G., Liu S., Zhou L., Chen Z., Peng F., 2014. *Simultaneous removal of inorganic and organic compounds in wastewater by freshwater green microalgae*. Environ. Sci. 16, 2018-2027.

Zuccato E., Calamari D., Natangelo M., Fanelli R., 2000. *Presence of therapeutic drugs in the environment*. Lancet 355, 1789-1790.

Zwiener C., Frimmel F.H., 2003. *Short-term tests with a pilot sewage plant and bio-film reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen, and diclofenac*. Science of The Total Environment 309, 1-3, 201-211.

Appendice A

- Protocollo per il monitoraggio di fotobioreattori contenenti carbamazepina ed un mix di alghe e batteri;
- Protocollo per il monitoraggio di fotobioreattori contenenti diclofenac ed un mix di alghe e batteri;
- Protocollo per il monitoraggio di fotobioreattori contenenti carbamazepina ed un inoculo puro di *Chlorella vulgaris*;
- Protocollo per il monitoraggio di fotobioreattori contenenti diclofenac ed un inoculo puro di *Chlorella vulgaris*;
- Protocollo per il monitoraggio di fotoreattori contenenti diclofenac.

PROTOCOLLO MONITORAGGIO

Progetto: Tesi Giorgio Gallerani (rimozione farmaci dalle acque reflue)

Obiettivo dell'esperimento: **Monitorare la rimozione di carbamazepina (CBZ) da parte di un mix di alghe e batteri e l'eventuale formazione di suoi metaboliti 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina (DHDH-CBZ) e 10,11-diidro-10,11-epossicarbamazepina (EP-CBZ)**

Biomassa iniziale: inoculo di alghe e batteri

Mezzo liquido: acqua di rubinetto

Materiali:

Diluizione "madre": 1 unità, riempita con 1600 ml

Reattori: 5 unità, ognuna riempita con 1500 ml

Luce: artificiale, isolato dalla luce del sole

Miscelazione: meccanica, 150 rpm

Aeraz. esterna: NO

Modalità di funzionamento:

- Fase prelim.: - prelevare 250 ml di acqua di rubinetto (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
- mix alghe-batteri:
 - o arrestare la miscelazione ed attendere che la biomassa sedimenti;
 - o prelevare 30 ml di surnatante, filtrarli (con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm) ed eseguire analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e P-orto;
 - o prelevare 250 ml di surnatante e conservare in frigorifero;
 - o riattivare la miscelazione meccanica;
 - o prelevare 30 ml di mix alghe-batteri, metterli in una provetta *Falcon* ed eseguire due analisi SST da 10,0 ml (mantenendo agitato con la punta della pipetta durante il prelievo di ogni aliquota);
 - o prelevare 25 ml di mix alghe-batteri (per analisi su P_{TOT}).
- Allestimento: - diluizione "madre":
- o riempire il contenitore con 1600 ml di acqua di rubinetto;
 - o disciogliere 4640 µg di CBZ in polvere;
 - o miscelare fino a completa dissoluzione;
 - o prelevare 250 ml (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
- reattori (1,9 µg/l, 4,8 µg/l, 48,3 µg/l, 483,3 µg/l, 1933,3 µg/l):
 - o aggiungere in ogni reattore rispettivamente 1,0 ml, 2,5 ml, 25,0 ml, 250 ml, 1000 ml di diluizione "madre";
 - o aggiungere ad ogni reattore circa 500 ml di acqua di rubinetto (per non sovraccaricare di farmaco la biomassa);
 - o inoculare 50 ml di mix alghe-batteri in ogni reattore;
 - o rabboccare con acqua di rubinetto fino ad arrivare ad un volume totale di 1500 ml.

- Avviamento:
- abbassare le pale rotanti fino al fondo dei reattori e avviare la miscelazione (150 rpm);
 - avviare l'illuminazione artificiale ed isolare i reattori da fonti luminose esterne;
 - effettuare analisi DO, T, pH e ripeterle ogni giorno alla stessa ora;
 - attendere 5 giorni.

- Al termine:
- con il miscelatore meccanico in funzione:
 - o prelevare 50 ml da ogni reattore ed eseguire un'analisi SST (previo filtraggio con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - o utilizzare il filtrato raccolto dall'analisi SST per eseguire le analisi su NH₄⁺-N (25,0 ml) e P-orto (1,0 ml);
 - o prelevare 25 ml da ogni reattore (per analisi su P_{TOT});
 - o arrestare la miscelazione ed attendere che la biomassa sedimenti;
 - prelevare 500 ml da ogni reattore;
 - centrifugare a 3600 rpm per 15 minuti;
 - prelevare 250 ml di ogni surnatante (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
 - trasportare ad *Ecoresearch* (BZ) tutti i campioni conservati in frigorifero.

Fotoperiodo: 24/24

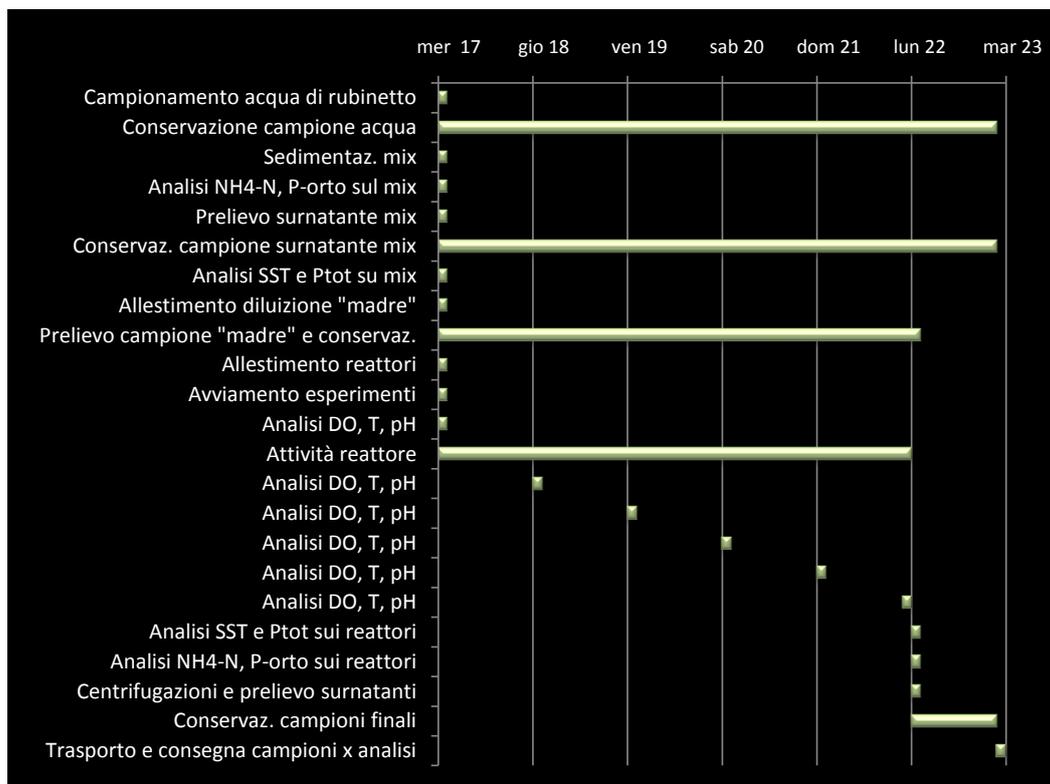
Tipo reattore: *batch photobioreactor*

HRT: 5 d

Analisi:

		Cadenza temporale
Monitoraggio parametri	DO, T, pH	Una volta al giorno
Analisi chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • farmaco (CBZ, DHDH-CBZ, EP-CBZ): 250 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: - acqua di rubinetto (il bianco degli esperm.) - surnatante mix alghe-batteri - diluizione "madre" fine: surnatante di ogni reattore
	<ul style="list-style-type: none"> • NH₄⁺-N: 25,0 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: mix alghe-batteri (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore
	<ul style="list-style-type: none"> • P_{TOT}: 1,0 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: mix alghe-batteri (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore
	<ul style="list-style-type: none"> • P-orto: 1,0 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: mix alghe-batteri (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore
	<ul style="list-style-type: none"> • SST: 10,0 ml (x2) 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: mix alghe-batteri (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore
	50 ml	

Cronoprogramma:



PROTOCOLLO MONITORAGGIO

Progetto: Tesi Giorgio Gallerani (rimozione farmaci dalle acque reflue)

Obiettivo dell'esperimento: **Monitorare la rimozione di diclofenac (DCF) da parte di un mix di alghe e batteri e l'eventuale formazione di un suo metabolita 4'idrossidiclofenac (4'-OH-DCF)**

Biomassa iniziale: inoculo di alghe e batteri

Mezzo liquido: acqua di rubinetto

Materiali:

Diluizione "madre": 1 unità, riempita con 1900 ml

Reattori: 5 unità, ognuna riempita con 1500 ml

Luce: artificiale, isolato dalla luce del sole

Miscelazione: meccanica, 150 rpm

Aeraz. esterna: NO

Modalità di funzionamento:

- Fase prelim.: - prelevare 250 ml di acqua di rubinetto (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto nell'alluminio;
- mix alghe-batteri:
 - o arrestare la miscelazione ed attendere che la biomassa sedimenti;
 - o prelevare 30 ml di surnatante, filtrarli (con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm) ed eseguire analisi su NH_4^+ -N e P-orto;
 - o prelevare 250 ml di surnatante e conservare in frigorifero;
 - o riattivare la miscelazione meccanica;
 - o prelevare 30 ml di mix alghe-batteri, metterli in una provetta *Falcon* ed eseguire due analisi SST da 10,0 ml (mantenendo agitato con la punta della pipetta durante il prelievo di ogni aliquota);
 - o prelevare 25 ml di mix alghe-batteri (per analisi su P_{TOT}).
- Allestimento: - diluizione "madre":
- o avvolgere il contenitore con alluminio per evitare processi di fotodegradazione;
 - o riempire il contenitore con 1900 ml di acqua di rubinetto;
 - o disciogliere 2880 µg di DCF *sodium salt* in polvere;
 - o miscelare fino a completa dissoluzione;
 - o prelevare 250 ml (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto con alluminio;
- reattori (1,0 µg/l, 5,1 µg/l, 50,5 µg/l, 505,3 µg/l, 1010,5 µg/l):
 - o aggiungere in ogni reattore rispettivamente 1,0 ml, 5,0 ml, 50,0 ml, 500 ml, 1000 ml di diluizione "madre";
 - o aggiungere ad ogni reattore circa 500 ml di acqua di rubinetto (per non sovraccaricare di farmaco la biomassa);
 - o inoculare 50 ml di mix alghe-batteri in ogni reattore;
 - o rabboccare con acqua di rubinetto fino ad arrivare ad un volume totale di 1500 ml.

- Avviamento:
- abbassare le pale rotanti fino al fondo dei reattori e avviare la miscelazione (150 rpm);
 - avviare l'illuminazione artificiale ed isolare i reattori da fonti luminose esterne;
 - effettuare analisi *DO*, T, pH e ripeterle ogni giorno alla stessa ora;
 - attendere 5 giorni.

- Al termine:
- con il miscelatore meccanico in funzione:
 - o prelevare 50 ml da ogni reattore ed eseguire un'analisi SST (previo filtraggio con pompa a vuoto e filtro da 0,45 μm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - o utilizzare il filtrato raccolto dall'analisi SST per eseguire le analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (25,0 ml) e P-orto (1,0 ml)
 - o prelevare 25 ml da ogni reattore (per analisi su P_{TOT});
 - o arrestare la miscelazione ed attendere che la biomassa sedimenti;
 - prelevare 1000 ml da ogni reattore;
 - centrifugare a 3600 rpm per 15 minuti;
 - prelevare 250 ml di ogni surnatante (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in contenitori avvolti con alluminio;
 - trasportare ad *Ecoresearch* (BZ) tutti i campioni conservati in frigorifero.

Fotoperiodo: 24/24

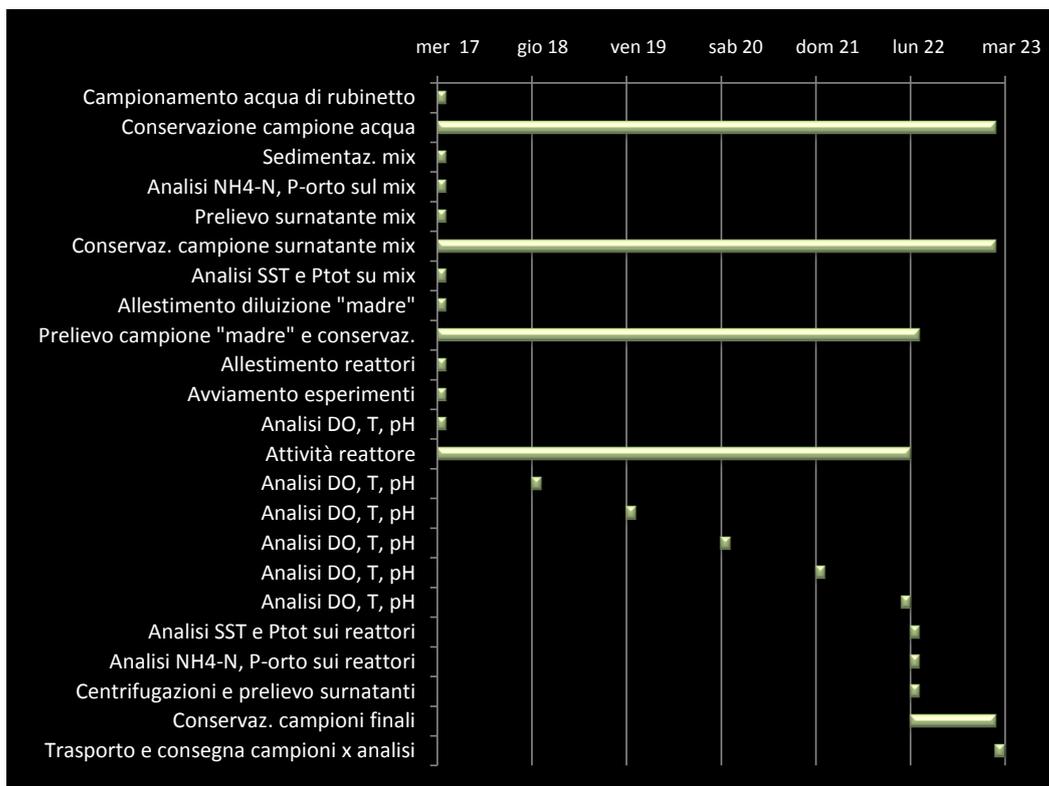
Tipo reattore: *batch photobioreactor*

HRT: 5 d

Analisi:

		Cadenza temporale
Monitoraggio parametri	<i>DO</i> , T, pH	Una volta al giorno
Analisi chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • farmaco (DCF, 4'-OH-DCF): 250 ml • $\text{NH}_4^+\text{-N}$: 25,0 ml • P_{TOT}: 1,0 ml • P-orto: 1,0 ml • SST: 10,0 ml (x2) 50 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: - acqua di rubinetto (il bianco degli esperm.) - surnatante mix alghe-batteri - diluizione "madre" fine: surnatante di ogni reattore • inizio: diluizione "madre" (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore • inizio: diluizione "madre" (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore • inizio: diluizione "madre" (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore • inizio: diluizione "madre" (per caratterizzazione della miscela) fine: ogni reattore
<p>NB: la molecola di DCF è altamente fotodegradabile, dunque prima dell'inizio dell'esperimento e dopo la sua conclusione sia il farmaco sia le soluzioni che lo contengono (compresi i campioni prelevati da ogni reattore) devono essere manipolati e conservati al riparo dalla luce solare (sia diretta sia indiretta).</p>		

Cronoprogramma:



PROTOCOLLO MONITORAGGIO

Progetto: Tesi Giorgio Gallerani (rimozione farmaci dalle acque reflue)

Obiettivo dell'esperimento: **Monitorare la rimozione di carbamazepina (CBZ) da parte di una coltura di *Chlorella vulgaris* e l'eventuale formazione di suoi metaboliti 10,11-diidro-10,11-diidrossicarbamazepina (DHDH-CBZ) e 10,11-diidro-10,11-epossicarbamazepina (EP-CBZ)**

Biomassa iniziale: inoculo puro di *C. vulgaris*

Mezzo liquido: acqua di rubinetto

Materiali:

Diluizione "madre": 1 unità, riempita con 1600 ml

Reattori: 5 unità, ognuna riempita con 1500 ml

Luce: artificiale, isolato dalla luce del sole

Miscelazione: meccanica, 150 rpm

Aeraz. esterna: NO

Modalità di funzionamento:

- Fase prelim.: - prelevare 250 ml di acqua di rubinetto (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
- inoculo puro di *C. vulgaris*:
 - o eliminare il brodo di coltura (centrifugazione a 600 rpm per 10 minuti);
 - o sospendere con 520 ml di acqua di rubinetto e attendere una notte (sedimentaz.);
 - o prelevare 10,0 ml di surnatante e filtrarli (con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - o utilizzare il filtrato raccolto per eseguire le analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (5,0 ml), P-orto(1,0 ml), $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (1,0 ml), $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (1,0 ml);
 - o se dalle analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e P-orto risulta che il brodo di coltura non è stato rimosso efficacemente, centrifugare a 600 rpm per 10 minuti e ripetere le analisi;
 - o se dalle analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e P-orto risulta che il brodo di coltura è stato rimosso in modo efficace, avviare la miscelazione (50 rpm);
 - o prelevare 5,0 ml per analisi su P_{TOT} .

-
- Allestimento: - diluizione "madre":
- riempire il contenitore con 1600 ml di acqua di rubinetto;
 - disciogliere 4570 µg di CBZ in polvere;
 - miscelare fino a completa dissoluzione;
 - prelevare 250 ml (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
- reattori (1,9 µg/l, 4,8 µg/l, 47,6 µg/l, 476,0 µg/l, 1904,2 µg/l):
- aggiungere in ogni reattore rispettivamente 1,0 ml, 2,5 ml, 25,0 ml, 250 ml, 1000 ml di diluizione "madre";
 - aggiungere ad ogni reattore circa 500 ml di acqua di rubinetto (per non sovraccaricare di farmaco la biomassa);
 - aggiungere 50 ml di inoculo puro di *C. vulgaris* in ognuno dei 5 reattori;
 - rabboccare con acqua di rubinetto fino ad arrivare ad un volume totale di 1500 ml.
- Avviamento: - abbassare le pale rotanti fino al fondo dei reattori e avviare la miscelazione (150 rpm);
- avviare l'illuminazione artificiale ed isolare i reattori da fonti luminose esterne;
 - effettuare analisi DO, T, pH e ripeterle ogni giorno alla stessa ora;
 - attendere 5 giorni.
- Al termine: - con il miscelatore meccanico in funzione:
- prelevare 40 ml da ogni reattore ed eseguire un'analisi SST (previo filtraggio con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - utilizzare il filtrato raccolto dall'analisi SST per eseguire le analisi su NH₄⁺-N (10,0 ml), P-orto (5,0 ml), NO₃⁻-N (5,0 ml) per ogni reattore;
 - prelevare 5,0 ml da ogni reattore (per analisi su P_{TOT});
- prelevare 500 ml da ogni reattore;
 - centrifugare a 3600 rpm per 15 minuti;
 - prelevare 250 ml di ogni surnatante (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero;
 - trasportare ad *Ecoresearch* (BZ) tutti i campioni conservati in frigorifero.

Fotoperiodo: 24/24

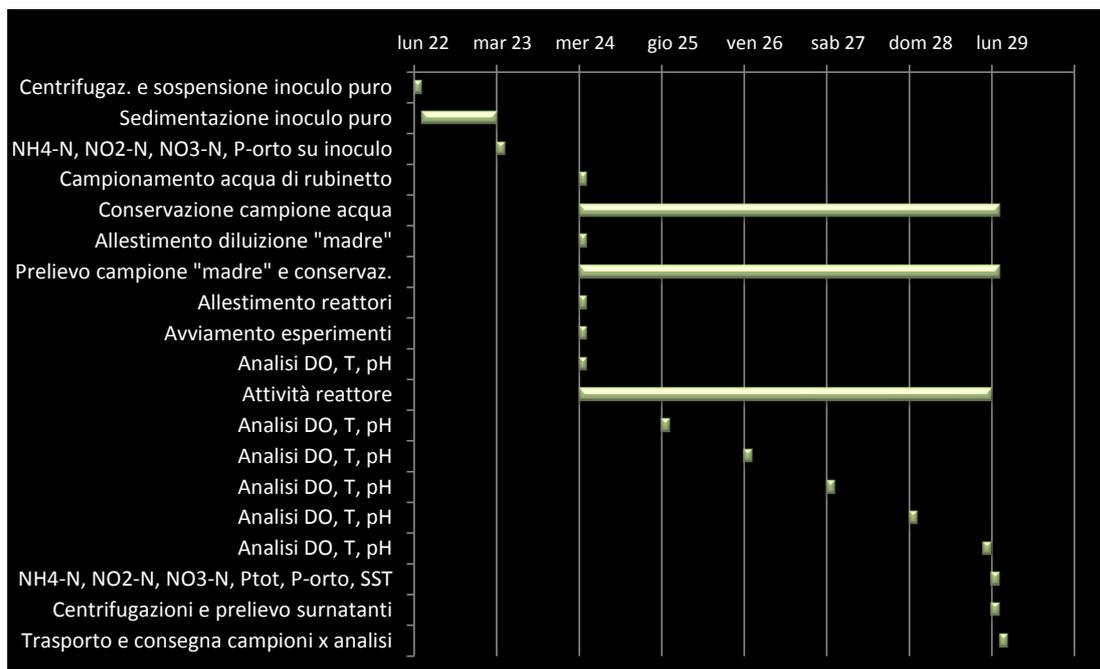
Tipo reattore: *batch photobioreactor*

HRT: 5 d

Analisi:

Monitoraggio parametri	DO, T, pH	Cadenza temporale
Analisi chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • farmaco (CBZ, DHDH-CBZ, EP-CBZ): 250 ml • NH₄⁺-N: 5,0 ml 10,0 ml • NO₂⁻-N: 1,0 ml • NO₃⁻-N: 1,0 ml 5,0 ml • P_{TOT}: 5,0 ml 5,0 ml • P-orto: 5,0 ml • SST: 40 ml 	Una volta al giorno <ul style="list-style-type: none"> • inizio: - acqua di rubinetto (il bianco degli esperim.) - diluizione "madre" fine: surnatante di ogni reattore • inizio: inoculo puro (per verifica rimozione brodo) fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro (per verifica rimozione brodo) fine: ogni reattore • fine: ogni reattore

Cronoprogramma:



PROTOCOLLO MONITORAGGIO

Progetto: Tesi Giorgio Gallerani (rimozione farmaci dalle acque reflue)

Obiettivo dell'esperimento: **Monitorare la rimozione di diclofenac (DCF) da parte di una coltura di *Chlorella vulgaris* e l'eventuale formazione di un suo metabolita 4'-idrossidiclofenac (4'-OH-DCF)**

Biomassa iniziale: inoculo puro di *C. vulgaris*

Mezzo liquido: acqua di rubinetto

Materiali:

Diluizione "madre": 1 unità, riempita con 1900 ml

Reattori: 5 unità, ognuna riempita con 1500 ml

Luce: artificiale, isolato dalla luce del sole

Miscelazione: meccanica, 150 rpm

Aeraz. esterna: NO

Modalità di funzionamento:

- Fase prelim.: - prelevare 250 ml di acqua di rubinetto (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto nell'alluminio;
- inoculo puro di *C. vulgaris*:
- eliminare il brodo di coltura (centrifugazione a 600 rpm per 10 minuti);
 - sospendere con 520 ml di acqua di rubinetto e attendere una notte (sedimentaz.);
 - prelevare 10,0 ml di surnatante e filtrarli (con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - utilizzare il filtrato raccolto per eseguire le analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (5,0 ml), P-orto(1,0 ml), $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (1,0 ml), $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (1,0 ml);
 - se dalle analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e P-orto risulta che il brodo di coltura non è stato rimosso efficacemente, centrifugare a 600 rpm per 10 minuti e ripetere le analisi;
 - se dalle analisi su $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e P-orto risulta che il brodo di coltura è stato rimosso in modo efficace;
 - prelevare 5,0 ml per analisi su P_{TOT} .

-
- Allestimento: - diluizione "madre":
- avvolgere il contenitore con alluminio per evitare processi di fotodegradazione;
 - riempire il contenitore con 1900 ml di acqua di rubinetto;
 - disciogliere 2930 µg di DCF *sodium salt* in polvere;
 - miscelare fino a completa dissoluzione;
 - prelevare 250 ml (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto con alluminio;
- reattori (1,0 µg/l, 5,1 µg/l, 51,4 µg/l, 514,0 µg/l, 1028,1 µg/l):
- aggiungere in ogni reattore rispettivamente 1,0 ml, 5,0 ml, 50 ml, 500 ml, 1000 ml di diluizione "madre";
 - aggiungere ad ogni reattore circa 500 ml di acqua di rubinetto (per non sovraccaricare di farmaco la biomassa);
 - aggiungere 50 ml di inoculo puro di *C. vulgaris* in ognuno dei 5 reattori;
 - rabboccare con acqua di rubinetto fino ad arrivare ad un volume totale di 1500 ml.
- Avviamento: - abbassare le pale rotanti fino al fondo dei reattori e avviare la miscelazione (150 rpm);
- avviare l'illuminazione artificiale ed isolare i reattori da fonti luminose esterne;
 - effettuare analisi DO, T, pH e ripeterle ogni giorno alla stessa ora;
 - attendere 5 giorni.
- Al termine: - con il miscelatore meccanico in funzione:
- prelevare 40 ml da ogni reattore ed eseguire un'analisi SST (previo filtraggio con pompa a vuoto e filtro da 0,45 µm); posizionare una provetta *Falcon* all'interno della beuta, in modo da raccogliere il filtrato;
 - utilizzare il filtrato raccolto dall'analisi SST per eseguire le analisi su NH₄⁺-N (10,0 ml), P-orto (5,0 ml), NO₃⁻-N (5,0 ml) per ogni reattore;
 - prelevare 5,0 ml da ogni reattore (per analisi su P_{TOT});
 - prelevare 500 ml da ogni reattore;
 - centrifugare a 3600 rpm per 15 minuti;
 - prelevare 250 ml di ogni surnatante (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in contenitori avvolti con alluminio;
 - trasportare ad *Ecoresearch* (BZ) tutti i campioni conservati in frigorifero.

Fotoperiodo: 24/24

Tipo reattore: *batch photobioreactor*

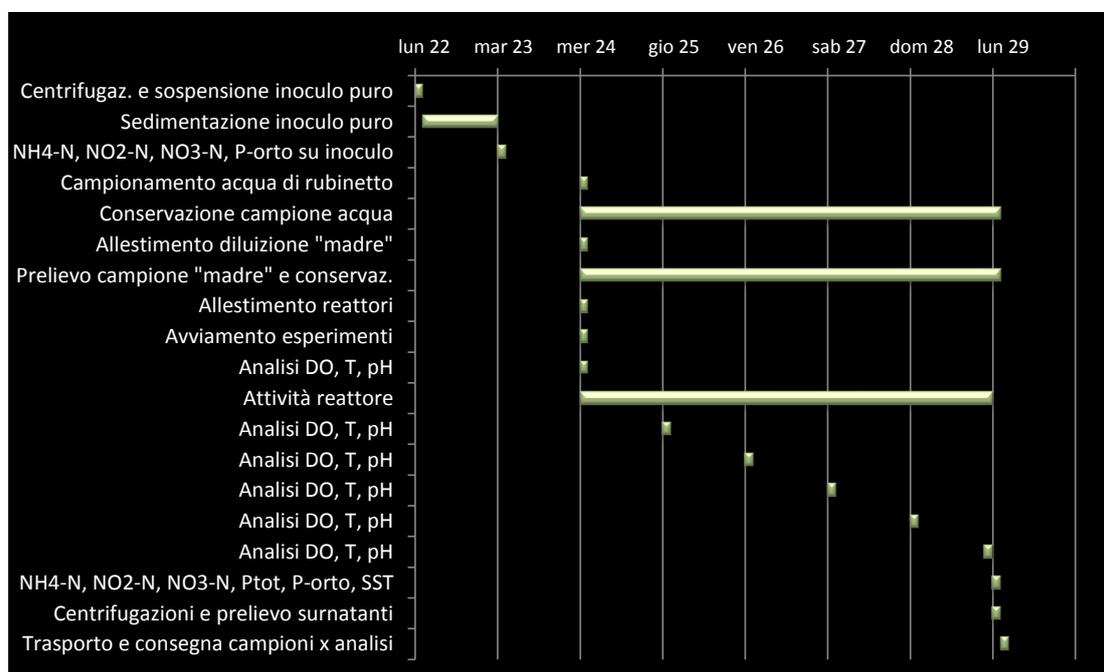
HRT: 5 d

Analisi:

Monitoraggio parametri	DO, T, pH	Cadenza temporale
Analisi chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • farmaco (CBZ, DHDH-CBZ, EP-CBZ): 250 ml • NH₄⁺-N: 5,0 ml 10,0 ml • NO₂⁻-N: 1,0 ml • NO₃⁻-N: 1,0 ml 5,0 ml • P_{TOT}: 5,0 ml 10,0 ml • P-orto: 1,0 ml 5,0 ml • SST: 40 ml 	<ul style="list-style-type: none"> • inizio: - acqua di rubinetto (il bianco degli esperim.) - diluizione "madre" fine: surnatante di ogni reattore • inizio: inoculo puro (per verifica rimozione brodo) fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro fine: ogni reattore • inizio: inoculo puro (per verifica rimozione brodo) fine: ogni reattore • fine: ogni reattore

NB: la molecola di DCF è altamente fotodegradabile, dunque prima dell'inizio dell'esperimento e dopo la sua conclusione sia il farmaco sia le soluzioni che lo contengono (compresi i campioni prelevati da ogni reattore) devono essere manipolati e conservati al riparo dalla luce solare (sia diretta sia indiretta).

Cronoprogramma:



PROTOCOLLO MONITORAGGIO

Progetto: Tesi Giorgio Gallerani (rimozione farmaci dalle acque reflue)

Obiettivo dell'esperimento: **Monitorare la fotodegradazione di diclofenac (DCF) e l'eventuale formazione di un suo metabolita 4'-idrossidiclofenac (4'OH-DCF)**

Biomassa iniziale: NO
Mezzo liquido: acqua di rubinetto

Materiali:

Diluizione "madre": 1 unità, riempita con 1900 ml
Reattori: 5 unità, ognuna riempita con 1500 ml
Luce: artificiale, isolato dalla luce del sole
Miscelazione: meccanica, 150 rpm
Aeraz. esterna: NO

Modalità di funzionamento:

Fase prelim.: - prelevare 250 ml di acqua di rubinetto (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto nell'alluminio.

Allestimento: - diluizione "madre":

- o avvolgere il contenitore con alluminio per evitare processi di fotodegradazione;
- o riempire il contenitore con 1900 ml di acqua di rubinetto;
- o disciogliere 2870 µg di DCF *sodium salt* in polvere;
- o miscelare fino a completa dissoluzione;
- o prelevare 250 ml (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in un contenitore avvolto con alluminio;

- reattori (1,0 µg/l, 5,0 µg/l, 50,4 µg/l, 503,5 µg/l, 1007,0 µg/l):

- o aggiungere in ogni reattore rispettivamente 1,0 ml, 5,0 ml, 50,0 ml, 500 ml, 1000 ml di diluizione "madre";
- o rabboccare con acqua di rubinetto fino ad arrivare ad un volume totale di 1500 ml.

Avviamento: - abbassare le pale rotanti fino al fondo dei reattori e avviare la miscelazione (150 rpm);
- avviare l'illuminazione artificiale ed isolare i reattori da fonti luminose esterne;
- effettuare analisi DO, T, pH e ripeterle ogni giorno alla stessa ora;
- attendere 5 giorni.

Al termine: - prelevare 250 ml da ogni reattore (necessari per le analisi sul farmaco) e conservare in frigorifero in contenitori avvolti con alluminio;
- trasportare ad *Ecoresearch* (BZ) tutti i campioni conservati in frigorifero.

Fotoperiodo: 24/24

Tipo reattore: *batch photoreactor*

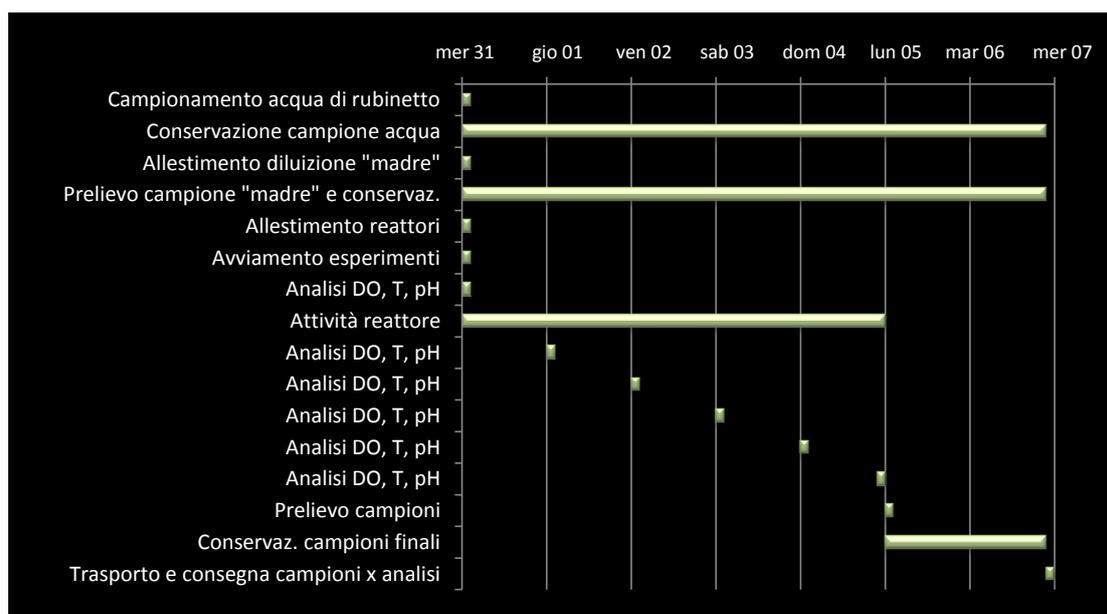
HRT: 5 d

Analisi:

		Cadenza temporale
Monitoraggio parametri	DO, T, pH	Una volta al giorno
Analisi chimiche	farmaco (DCF, 4'-OH-DCF): 250 ml	inizio: - acqua di rubinetto (il bianco degli esperim.) - diluizione "madre" fine: ogni reattore

NB: la molecola di DCF è altamente fotodegradabile, dunque prima dell'inizio dell'esperimento e dopo la sua conclusione sia il farmaco sia le soluzioni che lo contengono (compresi i campioni prelevati da ogni reattore) devono essere manipolati e conservati al riparo dalla luce solare (sia diretta sia indiretta).

Cronoprogramma:



Appendice B

- *Scheda di dati di sicurezza Carbamazepina*, 2017. Sigma-Aldrich.
- *Scheda di dati di sicurezza Diclofenac sodico*, 2017. Sigma-Aldrich.

SCHEDA DI DATI DI SICUREZZA

secondo il Regolamento (CE) Num. 1907/2006
Versione 5.1 Data di revisione 11.05.2016
Data di stampa 18.03.2017

SEZIONE 1: identificazione della sostanza/miscela e della società/impresa

1.1 Identificatori del prodotto

Nome del prodotto : Carbamazepina

Codice del prodotto : C4024
Marca : Sigma
Num. REACH : Per questa sostanza non è disponibile un numero di registrazione in quanto la sostanza o i suoi usi sono esentati da registrazione, il tonnellaggio annuale non richiede registrazione oppure la registrazione è prevista ad una scadenza successiva.

N. CAS : 298-46-4

1.2 Usi identificati pertinenti della sostanza o della miscela e usi sconsigliati

Usi identificati : Chimici di laboratorio, Produzione di sostanze chimiche

1.3 Informazioni sul fornitore della scheda di dati di sicurezza

Società : Sigma-Aldrich S.r.l.
Via Gallarate 154
I-20151 MILANO

Telefono : +39 02-3341-7310
Fax : +39 02-3801-0737
Indirizzo e-mail : eurtechserv@sial.com

1.4 Numero telefonico di emergenza

Telefono per le emergenze : 800-789-767 (CHEMTREC Italia)
+39-02-4555-7031 (CHEMTREC chiamate internazionali)
+39 02-6610-1029 (Centro Antiveneni Niguarda Ca' Granda - Milano)

SEZIONE 2: identificazione dei pericoli

2.1 Classificazione della sostanza o della miscela

Classificazione secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

Tossicità acuta, Orale (Categoria 4), H302
Sensibilizzazione delle vie respiratorie (Categoria 1), H334
Sensibilizzazione cutanea (Categoria 1), H317

Per quanto riguarda il testo completo delle indicazioni di pericolo menzionate in questo paragrafo, riferirsi al paragrafo 16.

2.2 Elementi dell'etichetta

Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

Pittogramma



Avvertenza

Pericolo

Indicazioni di pericolo

H302

Nocivo se ingerito.

H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Consigli di prudenza
P261 Evitare di respirare la polvere/ i fumi/ i gas/ la nebbia/ i vapori/ gli aerosol.
P280 Indossare guanti.
P342 + P311 In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

Descrizioni supplementari del rischio nessuno(a)

2.3 Altri pericoli - nessuno(a)

SEZIONE 3: composizione/informazioni sugli ingredienti

3.1 Sostanze

Sinonimi : 5H-Dibenz[b,f]azepine-5-carboxamide

Formula : C₁₅H₁₂N₂O

Peso Molecolare : 236,27 g/mol

N. CAS : 298-46-4

N. CE : 206-062-7

Componenti pericolosi secondo il Regolamento (CE) No 1272/2008

Component	Classificazione	Concentrazione
Carbamazepine		
N. CAS 298-46-4 N. CE 206-062-7	Acute Tox. 4; Resp. Sens. 1; Skin Sens. 1; H302, H334, H317	<= 100 %

Per quanto riguarda il testo completo delle indicazioni di pericolo menzionate in questo paragrafo, riferirsi al paragrafo 16.

SEZIONE 4: misure di primo soccorso

4.1 Descrizione delle misure di primo soccorso

Informazione generale

Consultare un medico. Mostrare questa scheda di sicurezza al medico curante.

Se inalato

Se viene respirato, trasportare la persona all'aria fresca. Se non respira, somministrare respirazione artificiale. Consultare un medico.

In caso di contatto con la pelle

Lavare con sapone e molta acqua. Consultare un medico.

In caso di contatto con gli occhi

Come precauzione sciacquare gli occhi con acqua.

Se ingerito

Non somministrare alcunchè a persone svenute. Sciacquare la bocca con acqua. Consultare un medico.

4.2 Principali sintomi ed effetti, sia acuti che ritardati

I più importanti sintomi ed effetti conosciuti sono descritti nella sezione 2.2 sull'etichettatura e/o nella sezione 11.

4.3 Indicazione dell'eventuale necessità di consultare immediatamente un medico e di trattamenti speciali

Nessun dato disponibile

SEZIONE 5: misure antincendio**5.1 Mezzi di estinzione****Mezzi di estinzione idonei**

Utilizzare acqua nebulizzata, schiuma alcool resistente, prodotti chimici asciutti o anidride carbonica.

5.2 Pericoli speciali derivanti dalla sostanza o dalla miscela

Nessun dato disponibile

5.3 Raccomandazioni per gli addetti all'estinzione degli incendi

Se necessario, indossare un respiratore autonomo per spegnere l'incendio.

5.4 Ulteriori informazioni

Nessun dato disponibile

SEZIONE 6: misure in caso di rilascio accidentale**6.1 Precauzioni personali, dispositivi di protezione e procedure in caso di emergenza**

Usare i dispositivi di protezione individuali. Evitare la formazione di polvere. Evitare di respirare vapori/nebbia/gas. Prevedere una ventilazione adeguata. Evacuare il personale in aree di sicurezza. Non inalare la polvere.

Vedere Sezione 8 per i dispositivi di protezione individuale.

6.2 Precauzioni ambientali

Non lasciar penetrare il prodotto negli scarichi.

6.3 Metodi e materiali per il contenimento e per la bonifica

Ritirare e provvedere allo smaltimento senza creare polvere. Spazzare e spalare. Conservare in contenitori adatti e chiusi per lo smaltimento.

6.4 Riferimento ad altre sezioni

Per lo smaltimento riferirsi alla sezione 13.

SEZIONE 7: manipolazione e immagazzinamento**7.1 Precauzioni per la manipolazione sicura**

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Evitare la formazione di polvere e la dispersione del prodotto nell'aria.

Adottare un'adeguata ventilazione nei luoghi dove si sviluppano le polveri.

Per le precauzioni vedere la sezione 2.2.

7.2 Condizioni per lo stoccaggio sicuro, comprese eventuali incompatibilità

Immagazzinare in luogo fresco. Tenere il contenitore ermeticamente chiuso in un ambiente secco e ben ventilato.

Temperatura di stoccaggio consigliata 2 - 8 °C

7.3 Usi finali particolari

A parte gli usi descritti nella sezione 1.2 non sono contemplati altri usi specifici.

SEZIONE 8: controllo dell'esposizione/protezione individuale**8.1 Parametri di controllo****Componenti con limiti di esposizione**

Non contiene sostanze con valore limite di esposizione professionale.

8.2 Controlli dell'esposizione**Controlli tecnici idonei**

Manipolare rispettando le buone pratiche di igiene industriale e di sicurezza adeguate. Lavarsi le mani prima delle pause ed alla fine della giornata lavorativa.

Protezione individuale

Protezioni per occhi/volto

Visiera e occhiali di protezione. Utilizzare dispositivi per la protezione oculare testati e approvati secondo i requisiti di adeguate norme tecniche come NIOSH (USA) o EN 166 (EU)

Protezione della pelle

Manipolare con guanti. I guanti devono essere controllati prima di essere usati. Usare una tecnica adeguata per la rimozione dei guanti (senza toccare la superficie esterna del guanto) per evitare il contatto della pelle con questo prodotto. Smaltire i guanti contaminati dopo l'uso in accordo con la normativa vigente e le buone pratiche di laboratorio. Lavare e asciugare le mani.

I guanti di protezione selezionati devono soddisfare le esigenze della direttiva UE 89/686/CEE e gli standard EN 374 che ne derivano.

Pieno contatto

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

tempo di permeazione: 480 min

Materiale testato: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Taglia M)

Contatto da spruzzo

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

tempo di permeazione: 480 min

Materiale testato: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Taglia M)

Fonte dei dati: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, tel. +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, metodo di prova: EN374

Se usato in soluzione, o misciato con altre sostanze, e in condizioni diverse da quelle menzionate nella norma EN 374, contattare il fornitore di guanti approvati dalla CE. Questa raccomandazione vale a titolo di consiglio e dev'essere valutata da un igienista industriale e da un responsabile della sicurezza al corrente della situazione specifica dell'uso previsto dai nostri clienti. Non si deve interpretare come un'approvazione di uno specifico scenario di esposizione.

Protezione fisica

Indumenti protettivi completi resistenti alle sostanze chimiche, Il tipo di attrezzatura di protezione deve essere selezionato in funzione della concentrazione e la quantità di sostanza pericolosa al posto di lavoro.

Protezione respiratoria

Per bassi livelli di esposizione utilizzare respiratori per polveri di tipo P95 (US) o di tipo P1 (EU EN 143). Per livelli di protezione più alti utilizzare respiratori a cartucce di tipo OV/AG/P99 o di tipo ABEK-P2 (EU EN 143). Utilizzare respiratori e componenti testati e approvati dai competenti organismi di normazione, quali il NIOSH (USA) il CEN (UE).

Controllo dell'esposizione ambientale

Non lasciar penetrare il prodotto negli scarichi.

SEZIONE 9: proprietà fisiche e chimiche

9.1 Informazioni sulle proprietà fisiche e chimiche fondamentali

- | | |
|---|--|
| a) Aspetto | Stato fisico: polvere
Colore: bianco |
| b) Odore | Nessun dato disponibile |
| c) Soglia olfattiva | Nessun dato disponibile |
| d) pH | Nessun dato disponibile |
| e) Punto di fusione/punto di congelamento | Punto/intervallo di fusione: 191 - 192 °C - lit. |
| f) Punto di ebollizione iniziale e intervallo di ebollizione. | Nessun dato disponibile |

g) Punto di infiammabilità.	Nessun dato disponibile
h) Tasso di evaporazione	Nessun dato disponibile
i) Infiammabilità (solidi, gas)	Nessun dato disponibile
j) Infiammabilità superiore/inferiore o limiti di esplosività	Nessun dato disponibile
k) Tensione di vapore	Nessun dato disponibile
l) Densità di vapore	Nessun dato disponibile
m) Densità relativa	Nessun dato disponibile
n) Idrosolubilità	Nessun dato disponibile
o) Coefficiente di ripartizione: n-ottanolo/acqua	Nessun dato disponibile
p) Temperatura di autoaccensione	Nessun dato disponibile
q) Temperatura di decomposizione	Nessun dato disponibile
r) Viscosità	Nessun dato disponibile
s) Proprietà esplosive	Nessun dato disponibile
t) Proprietà ossidanti	Nessun dato disponibile

9.2 Altre informazioni sulla sicurezza

Nessun dato disponibile

SEZIONE 10: stabilità e reattività

10.1 Reattività

Nessun dato disponibile

10.2 Stabilità chimica

Stabile nelle condizioni di stoccaggio raccomandate.

10.3 Possibilità di reazioni pericolose

Nessun dato disponibile

10.4 Condizioni da evitare

Nessun dato disponibile

10.5 Materiali incompatibili

Agenti ossidanti forti

10.6 Prodotti di decomposizione pericolosi

Prodotti di decomposizione pericolosi in caso d'incendio. - Ossidi di carbonio, Ossidi di azoto (NOx)

Altre prodotti di decomposizione pericolosi - Nessun dato disponibile

In caso di incendio: vedere la sezione 5

SEZIONE 11: informazioni tossicologiche

11.1 Informazioni sugli effetti tossicologici

Tossicità acuta

DL50 Orale - Ratto - 1.957 mg/kg

Osservazioni: Comportamento: alterazioni a carico dei tempi di sonno

Corrosione/irritazione cutanea

Nessun dato disponibile

Lesioni oculari gravi/irritazioni oculari gravi

Nessun dato disponibile

Sensibilizzazione respiratoria o cutanea

Nessun dato disponibile

Mutagenicità delle cellule germinali

Nessun dato disponibile

Cancerogenicità

IARC: Nessun componente di questo prodotto presente a livelli maggiori o uguali allo 0.1% è identificato come cancerogeno conosciuto o previsto dallo IARC.

Tossicità riproduttiva

Tossicità per la riproduzione - Ratto - Orale

Effetti sulla fertilità: mortalità post-impianto (morte e/o riassorbimento dell'impianto per numero totale di impianti) Anomalie dello sviluppo: sistema muscoloscheletrico

Tossicità per la riproduzione - Ratto - Orale

Effetti sulla fertilità: entità della figliata (# di feti per figliata; misurata prima della nascita) Effetti su embrione o feto: fetotossicità (esclusa la morte; es., feto nano) Effetti su embrione o feto: morte del feto

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola

Nessun dato disponibile

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta

Nessun dato disponibile

Pericolo in caso di aspirazione

Nessun dato disponibile

ulteriori informazioni

RTECS: HN8225000

anemia, Al meglio della nostra conoscenza, le proprietà chimiche, fisiche e tossicologiche non sono state oggetto di studi approfonditi.

SEZIONE 12: informazioni ecologiche**12.1 Tossicità**

Nessun dato disponibile

12.2 Persistenza e degradabilità

Nessun dato disponibile

12.3 Potenziale di bioaccumulo

Nessun dato disponibile

12.4 Mobilità nel suolo

Nessun dato disponibile

12.5 Risultati della valutazione PBT e vPvB

Valutazione PBT/vPvB non disponibile in quanto non richiesta o non effettuata la valutazione della sicurezza chimica.

12.6 Altri effetti avversi

Nessun dato disponibile

SEZIONE 13: considerazioni sullo smaltimento**13.1 Metodi di trattamento dei rifiuti****Prodotto**

Conferire le soluzioni non riciclabili e le eccedenze ad una società di smaltimento rifiuti autorizzata.

Solubilizzare o miscelare il prodotto con un solvente combustibile, quindi bruciare in un inceneritore per prodotti chimici dotato di sistema di postcombustione e di abbattitore.

SCHEDA DI DATI DI SICUREZZA

secondo il Regolamento (CE) Num. 1907/2006
Versione 5.0 Data di revisione 21.09.2012
Data di stampa 18.04.2017

1. IDENTIFICAZIONE DELLA SOSTANZA O DELLA MISCELA E DELLA SOCIETÀ/ IMPRESA

1.1 Identificatori del prodotto

Nome del prodotto : Diclofenac sodico

Codice del prodotto : D6899
Marca : Sigma
N. CAS : 15307-79-6

1.2 Usi pertinenti identificati della sostanza o miscela e usi sconsigliati

Usi identificati : Chimici di laboratorio, Produzione di sostanze chimiche

1.3 Informazioni sul fornitore della scheda di dati di sicurezza

Società : Sigma-Aldrich S.r.l.
Via Gallarate 154
I-20151 MILANO

Telefono : +39 02-3341-7310
Fax : +39 02-3801-0737
Indirizzo e-mail : eurtechserv@sial.com

1.4 Numero telefonico di emergenza

Telefono per le emergenze : 800-789-767 (CHEMTREC Italia)
+39-02-4555-7031 (CHEMTREC chiamate internazionali)
+39 02-6610-1029 (Centro Antiveleeni Niguarda Ca' Granda - Milano)

2. IDENTIFICAZIONE DEI PERICOLI

2.1 Classificazione della sostanza o della miscela

Classificazione secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [EU-GHS/CLP]
Tossicità acuta, Orale (Categoria 3)

Classificazione secondo le Direttive EU 67/548/CEE o 1999/45/CE
Tossico per ingestione.

2.2 Elementi dell'etichetta

Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Pittogramma



Avvertenza : Pericolo

Indicazioni di pericolo
H301 : Tossico se ingerito.

Consigli di prudenza
P301 + P310 : IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico

Descrizioni supplementari del rischio : nessuno(a)

Secondo la Direttiva Europea 67/548/CEE, e successive modifiche.

Simbolo/i di pericolo



Frase "R"

R25

Tossico per ingestione.

Frase "S"

S22

Non respirare le polveri.

S36/37

Usare indumenti protettivi e guanti adatti.

S45

In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico (se possibile, mostrargli l'etichetta).

2.3 Altri pericoli - nessuno(a)**3. COMPOSIZIONE/ INFORMAZIONI SUGLI INGREDIENTI****3.1 Sostanze**

Sinonimi : 2-[(2,6-Dichlorophenyl)amino]benzeneacetic acidsodium salt

Formula : C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂

Peso Molecolare : 318,13 g/mol

Component	Concentrazione
Sodium [2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]acetate	
N. CAS	15307-79-6
N. CE	239-346-4

4. MISURE DI PRIMO SOCCORSO**4.1 Descrizione delle misure di primo soccorso****Informazione generale**

Consultare un medico. Mostrare questa scheda di sicurezza al medico curante.

Se inalato

Se viene respirato, trasportare la persona all'aria fresca. Se non respira, somministrare respirazione artificiale. Consultare un medico.

In caso di contatto con la pelle

Lavare con sapone e molta acqua. Portare subito l'infortunato in ospedale. Consultare un medico.

In caso di contatto con gli occhi

Come precauzione sciacquare gli occhi con acqua.

Se ingerito

Non somministrare alcunchè a persone svenute. Sciacquare la bocca con acqua. Consultare un medico.

4.2 Principali sintomi ed effetti, sia acuti e che ritardati

Disturbi gastrointestinali, Nausea, Vertigini, Mal di testa, Al meglio della nostra conoscenza, le proprietà chimiche, fisiche e tossicologiche non sono state oggetto di studi approfonditi.

4.3 Indicazione dell'eventuale necessità di consultare immediatamente un medico oppure di trattamenti speciali

nessun dato disponibile

5. MISURE ANTINCENDIO**5.1 Mezzi di estinzione****Mezzi di estinzione idonei**

Utilizzare acqua nebulizzata, schiuma alcool resistente, prodotti chimici asciutti o anidride carbonica.

5.2 Pericoli speciali derivanti dalla sostanza o dalla miscela

Ossidi di carbonio, ossidi di azoto (NOx), Gas di acido cloridrico, Ossidi di sodio

5.3 Raccomandazioni per gli addetti all'estinzione degli incendi

Indossare in caso di incendio, se necessario, dispositivi di protezione delle vie respiratorie con apporto d'aria indipendente.

5.4 Ulteriori informazioni

nessun dato disponibile

6. MISURE IN CASO DI RILASCIO ACCIDENTALE

6.1 Precauzioni personali, dispositivi di protezione e procedure in caso di emergenza

Usare una protezione respiratoria. Evitare la formazione di polvere. Evitare di respirare vapori/nebbia/gas. Prevedere una ventilazione adeguata. Evacuare il personale in aree di sicurezza. Non inalare polvere.

6.2 Precauzioni ambientali

Evitare sversamenti o perdite supplementari, se questo può essere fatto senza pericolo. Non lasciar penetrare il prodotto negli scarichi.

6.3 Metodi e materiali per il contenimento e per la bonifica

Ritirare e provvedere allo smaltimento senza creare polvere. Spazzare e spalare. Conservare in contenitori adatti e chiusi per lo smaltimento.

6.4 Riferimenti ad altre sezioni

Per lo smaltimento riferirsi alla sezione 13.

7. MANIPOLAZIONE E IMMAGAZZINAMENTO

7.1 Precauzioni per la manipolazione sicura

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Evitare la formazione di polvere e la dispersione del prodotto nell'aria.
Adottare un'adeguata ventilazione nei luoghi dove si sviluppano le polveri. Normali misure di prevenzione antincendio.

7.2 Condizioni per l'immagazzinamento sicuro, comprese eventuali incompatibilità

Immagazzinare in luogo fresco. Tenere il contenitore ermeticamente chiuso in un ambiente secco e ben ventilato.

7.3 Usi finali specifici

nessun dato disponibile

8. CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE/PROTEZIONE INDIVIDUALE

8.1 Parametri di controllo

Componenti con limiti di esposizione

Non contiene sostanze con valore limite di esposizione professionale.

8.2 Controlli dell'esposizione

Controlli tecnici idonei

Evitare il contatto con la pelle, con gli occhi e con gli indumenti. Lavarsi le mani prima delle pause e subito dopo aver maneggiato il prodotto.

Protezione individuale

Protezioni per occhi/volto

Visiera e occhiali di protezione. Utilizzare dispositivi per la protezione oculare testati e approvati secondo i requisiti di adeguate norme tecniche come NIOSH (USA) o EN 166 (EU)

Protezione della pelle

Manipolare con guanti. I guanti devono essere controllati prima di essere usati. Usare una tecnica adeguata per la rimozione dei guanti (senza toccare la superficie esterna del guanto) per evitare il contatto della pelle con questo prodotto. Smaltire i guanti contaminati dopo l'uso in accordo con la normativa vigente e le buone pratiche di laboratorio. Lavare e asciugare le mani.

I guanti di protezione selezionati devono soddisfare le esigenze della direttiva UE 89/686/CEE e gli standard EN 374 che ne derivano.

Protezione dall'immersione

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

Tempo di penetrazione: > 480 min

Materiale testato: Dermatril® (Aldrich Z677272, Taglia M)

Protezione dagli schizzi

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

Tempo di penetrazione: > 30 min

Materiale testato: Dermatril® (Aldrich Z677272, Taglia M)

Fonte dei dati: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, tel. +49 (0)6659 873000, e-mail sales@kcl.de, metodo di prova: EN374

Se usato in soluzione, o mischiato con altre sostanze, e in condizioni diverse da quelle menzionate nella norma EN 374, contattare il fornitore di guanti approvati dalla CE. Questa raccomandazione vale a titolo di consiglio e dev'essere valutata da un Igienista Industriale al corrente della situazione specifica dell'uso previsto dai nostri clienti. Non si deve interpretare come un'approvazione di uno specifico scenario di esposizione.

Protezione fisica

Indumenti protettivi completi resistenti alle sostanze chimiche, Il tipo di attrezzatura di protezione deve essere selezionato in funzione della concentrazione e la quantità di sostanza pericolosa al posto di lavoro.

Protezione respiratoria

Qualora la valutazione del rischio preveda la necessità di respiratori ad aria purificata, utilizzare un facciale filtrante con filtri di tipo P2 (EN 143) come supporto alle misure tecniche. Se il respiratore costituisce il solo mezzo di protezione, utilizzare un sistema ventilato a pieno facciale. Utilizzare respiratori e componenti testati e approvati dai competenti organismi di normazione, quali il NIOSH (USA) il CEN (UE).

9. PROPRIETÀ FISICHE E CHIMICHE

9.1 Informazioni sulle proprietà fisiche e chimiche fondamentali

- | | |
|---|---|
| a) Aspetto | Stato fisico: solido
Colore: bianco |
| b) Odore | nessun dato disponibile |
| c) Soglia olfattiva | nessun dato disponibile |
| d) pH | nessun dato disponibile |
| e) Punto di fusione/punto di congelamento | Punto/intervallo di fusione: 275 - 277 °C |
| f) Punto di ebollizione iniziale e intervallo di ebollizione. | nessun dato disponibile |
| g) Punto di infiammabilità. | nessun dato disponibile |
| h) Tasso di evaporazione | nessun dato disponibile |
| i) Infiammabilità (solidi, gas) | nessun dato disponibile |
| j) Infiammabilità superiore/inferiore o limiti di esplosività | nessun dato disponibile |
| k) Tensione di vapore | nessun dato disponibile |
| l) Densità di vapore | nessun dato disponibile |
| m) Densità relativa | nessun dato disponibile |

n) Idrosolubilità	nessun dato disponibile
o) Coefficiente di ripartizione: n-ottanolo/acqua	nessun dato disponibile
p) Temperatura di autoaccensione	nessun dato disponibile
q) Temperatura di decomposizione	nessun dato disponibile
r) Viscosità	nessun dato disponibile
s) Proprietà esplosive	nessun dato disponibile
t) Proprietà ossidanti	nessun dato disponibile

9.2 Altre informazioni sulla sicurezza

nessun dato disponibile

10. STABILITÀ E REATTIVITÀ

10.1 Reattività

nessun dato disponibile

10.2 Stabilità chimica

nessun dato disponibile

10.3 Possibilità di reazioni pericolose

nessun dato disponibile

10.4 Condizioni da evitare

nessun dato disponibile

10.5 Materiali incompatibili

Agenti ossidanti forti

10.6 Prodotti di decomposizione pericolosi

Altre prodotti di decomposizione pericolosi - nessun dato disponibile

11. INFORMAZIONI TOSSICOLOGICHE

11.1 Informazioni sugli effetti tossicologici

Tossicità acuta

DL50 Orale - ratto - 53 mg/kg

Osservazioni: Comportamento: alterazioni a carico dei tempi di sonno Comportamento: atassia Polmoni, torace o respirazione: stimolazione respiratoria

Corrosione/irritazione cutanea

nessun dato disponibile

Lesioni oculari gravi/irritazioni oculari gravi

nessun dato disponibile

Sensibilizzazione respiratoria o cutanea

nessun dato disponibile

Mutagenicità delle cellule germinali

nessun dato disponibile

Cancerogenicità

IARC: Nessun componente di questo prodotto presente a livelli maggiori o uguali allo 0.1% è identificato come cancerogeno conosciuto o previsto dallo IARC.

Tossicità riproduttiva

nessun dato disponibile

In base a prove condotte su animali da laboratorio, è stato accertato che una sovraesposizione può provocare disturbi dell'apparato riproduttivo.

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola

nessun dato disponibile

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta

nessun dato disponibile

Pericolo in caso di aspirazione

nessun dato disponibile

Potenziali conseguenze sulla salute

Inalazione	Può essere nocivo se inalato. Può provocare irritazione delle vie respiratorie.
Ingestione	Tossico se ingerito.
Pelle	Può essere dannoso se assorbito attraverso la pelle. Può provocare irritazione della pelle.
Occhi	Può provocare irritazione agli occhi.

Segni e sintomi di esposizione

Disturbi gastrointestinali, Nausea, Vertigini, Mal di testa, Al meglio della nostra conoscenza, le proprietà chimiche, fisiche e tossicologiche non sono state oggetto di studi approfonditi.

ulteriori informazioni

RTECS: AG6330000

12. INFORMAZIONI ECOLOGICHE**12.1 Tossicità**

nessun dato disponibile

12.2 Persistenza e degradabilità

nessun dato disponibile

12.3 Potenziale di bioaccumulo

nessun dato disponibile

12.4 Mobilità nel suolo

nessun dato disponibile

12.5 Risultati della valutazione PBT e vPvB

nessun dato disponibile

12.6 Altri effetti avversi

nessun dato disponibile

13. CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO**13.1 Metodi di trattamento dei rifiuti****Prodotto**

Conferire le soluzioni non riciclabili e le eccedenze ad una società di smaltimento rifiuti autorizzata. Per lo smaltimento del presente prodotto, rivolgersi a una società specializzata nello smaltimento dei rifiuti. Solubilizzare o miscelare il prodotto con un solvente combustibile, quindi bruciare in un inceneritore per prodotti chimici dotato di sistema di postcombustione e di abbattitore.

Contenitori contaminati

Smaltire come prodotto inutilizzato.

14. INFORMAZIONI SUL TRASPORTO**14.1 Numero ONU**

ADR/RID: 2811

IMDG: 2811

IATA: 2811

14.2 Nome di spedizione dell'ONU

ADR/RID: SOLIDO ORGANICO TOSSICO, N.A.S. (Sodium [2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]acetate)

IMDG: TOXIC SOLID, ORGANIC, N.O.S. (Sodium [2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]acetate)

IATA: Toxic solid, organic, n.o.s. (Sodium [2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]acetate)

14.3 Classi di pericolo connesso al trasporto		
ADR/RID: 6.1	IMDG: 6.1	IATA: 6.1
14.4 Gruppo d'imballaggio		
ADR/RID: III	IMDG: III	IATA: III
14.5 Pericoli per l'ambiente		
ADR/RID: no	IMDG Marine pollutant: no	IATA: no
14.6 Precauzioni speciali per gli utilizzatori		
nessun dato disponibile		

15. INFORMAZIONI SULLA REGOLAMENTAZIONE

Questa scheda di sicurezza rispetta le prescrizioni del Regolamento (CE) Num. 1907/2006

15.1 Norme e legislazione su salute, sicurezza e ambiente specifiche per la sostanza o la miscela

nessun dato disponibile

15.2 Valutazione della sicurezza chimica

nessun dato disponibile

16. ALTRE INFORMAZIONI

Ulteriori informazioni

Diritti d'autore 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Si autorizza la stampa di un numero illimitato di copie per esclusivo uso interno.

Le informazioni di cui sopra sono ritenute corrette, tuttavia non possono essere esaurienti e dovranno pertanto essere considerate puramente indicative. La Sigma-Aldrich Corporation e le suo filiali non potranno essere ritenute responsabili per qualsiasi danno derivante dall'impiego o dal contatto con il prodotto di cui sopra. Per ulteriori termini e condizioni di vendita fare riferimento al sito www.sigma-aldrich.com e/o al retro della fattura o della bolla di accompagnamento.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che hanno contribuito direttamente e indirettamente nella stesura della mia Tesi.

Ringrazio l'Ing. Marco Palmitano, mio Correlatore, per l'opportunità (e la sfida) che mi ha presentato con la proposta di intraprendere questo lavoro di Tesi Magistrale.

Ringrazio la mia Relatrice, Prof.ssa Paola Foladori, e la mia Correlatrice e amica, Serena Petrini, per la disponibilità e la professionalità dimostrate durante questo percorso.

Ringrazio la dott.ssa Roberta Villa del L.I.S.A. Trento Nord per avermi assistito durante le fasi pratiche svolte in laboratorio.

Ringrazio il dott. Karl Mair e la dott.ssa Meris Poli del Laboratorio Acque Reflue di eco center per i campionamenti e le analisi chimiche effettuati in campagna d'analisi.

Ringrazio il geom. Marco Marazzi, il geom. Alessandro Pascoli e il dott. Walter Sommadossi dell'Ufficio Tutela Acque della APPA della Provincia Autonoma di Bolzano per le consulenze, le informazioni tecniche ed i sopralluoghi effettuati presso gli impianti.

Ringrazio il dott. Werner Tirler, Vivienne Malanchin e Valentina Fellin di EcoResearch s.r.l. per le analisi sui farmaci effettuate sia in campagna di analisi sia in occasione della parte sperimentale.

Ringrazio Mirco Nessenzia per le misure sull'irraggiamento.

Ringrazio i colleghi universitari, in particolare gli amici del corso di Progettazione Integrata dell'Ambiente e del Territorio nei Contesti di Cooperazione Internazionale (alias PVS).

Ringrazio gli amici di Trento e in particolare i coinquilini con cui ho condiviso la maggior parte del tempo trascorso in questa città, in ordine: Stefania, Nereo, Tarek, Viktor l'Ucraino, Bruno, Nava, Gioris, Rot, il piccolo Orso, Sgobby, Brebon, Augustin e Buddy; avete saputo regalarmi momenti di gioia anche nelle piovose giornate di studio intenso.

Un sentito grazie agli amici di Bolzano, i più stretti che, ognuno a proprio modo, mi hanno sostenuto e hanno pazientato per la mia assenza negli ultimi anni.

Infine vorrei ringraziare le persone più importanti: i miei genitori, mio fratello Lorenzo e i miei nonni; grazie per il sostegno morale e gli sforzi economici affrontati durante questi anni di università.