

Luigi Campanella, Cecilia Costanza
Dipartimento di Chimica
Università di Roma "La Sapienza"
luigi.campanella@uniroma1.it
cecilia.costanza@uniroma1.it



FOTOSENSORE PER PROVE DI TOSSICITÀ. PARTE 1

Alla ricerca di test di tossicità sempre più semplici, rapidi ed economici viene proposto un nuovo approccio teso a correlare la tossicità con la stabilità, in particolare a stress fotochimico. Il dispositivo sperimentale comprende un generatore monocromatico di luce ultravioletta, una sospensione di diossido di titanio in forma anatasio ed un rivelatore di potenziale elettrochimico di superficie.

Le reazioni fotochimiche di ossidazione

La radiazione UV ed i catalizzatori ad essa correlati ai fini degradativi (degradazione e mineralizzazione)

I processi fotochimici di ossidazione sono metodi alternativi ai metodi tradizionali per la degradazione completa di sostanze organiche inquinanti [1-7]. Tra questi processi, in particolare, la fotocatalisi eterogenea consiste fondamentalmente in un'ossidazione avanzata attivata per via fotochimica (in genere con radiazione ultravioletta), catalizzata da composti chimici aventi proprietà di semiconduttori, fra i quali particolarmente efficiente è il biossido di titanio nella forma cristallina anatasio.

Composti organici, come alcani ed alcheni clorurati, fenoli policlorurati, aldeidi aromatiche, acidi organici e ammine, possono essere ossidati a biossido di carbonio, acqua ed acidi minerali usando le particelle di semiconduttori illuminati all'UV o a luce solare. Perché la reazione di fotoossidazione si verifichi sono necessari sia il semiconduttore, sia una sorgente di luce UV; in particolare la fotocatalisi con TiO_2 porta alla mineralizzazione stechiometrica di composti organici. La degradazione di sostanze nell'ambiente può portare a prodotti ben definiti che in alcuni casi possono essere più stabili delle sostanze madri (per

esempio DDT \rightarrow DDE). Questa degradazione parziale è frequentemente chiamata "trasformazione", i prodotti sono chiamati prodotti di trasformazione o, solo nel caso di biodegradazione, metaboliti. La degradazione completa a molecole inorganiche H_2O , CO_2 , HCl ecc. è di solito indicata come mineralizzazione [4]. La mineralizzazione del carbonio organico, può dipendere da vari fattori, come la natura del composto organico iniziale, la concentrazione dell'ossigeno molecolare, il pH della soluzione, la concentrazione del substrato, la quantità e la natura del catalizzatore e la fluenza dei fotoni dalla sorgente di irradiazione. Nella fotomineralizzazione l'ossigeno agisce come un accettore di elettroni fotogenerati ed ha un ruolo essenziale nella conversione a CO_2 attraverso la formazione dello ione radicale superossido. La degradazione di composti organici in acqua richiede ossigeno: come ossidante l'ossigeno è essenziale per queste reazioni di ossidazione e la sua diminuzione è proporzionale alla concentrazione di composti organici. I processi chimici che causano la degradazione di sostanze chimiche organiche sono chiamati "abbattimenti"; tuttavia, il termine abbattimento è spesso usato per processi sia chimici, sia fisici che rimuovono una sostanza - spesso solo temporaneamente - da un dato compartimento dell'ambiente. Tali processi fisici sono volatilizza-

zione, adsorbimento e molti altri. Questi processi non rimuovono la sostanza dall'ambiente e pertanto non sono adatti per caratterizzare la degradabilità di una sostanza chimica. La *permanenza ambientale* [4] di una sostanza chimica è il risultato dell'assenza o dell'inefficacia di abbattimento o dell'incapacità di una sostanza a raggiungere un potenziale abbattimento: una sostanza scomparirà dall'ambiente se è degradabile; la velocità di scomparsa dipende dalla cinetica del processo coinvolto. Non può essere misurata direttamente; può essere solo dedotta dalla presenza continua di una sostanza nell'ambiente o dalla mancanza di dati degradativi osservati in laboratorio. La Commissione Europea [5] descrive la persistenza di sostanze chimiche in termini di semivite del mezzo singolo o di mancanza di semivite sul risultato di studi svolti e di test inerenti la biodegradazione. Mentre alcuni di questi test sono adatti ad identificare le sostanze non persistenti (cioè le sostanze soggette ad una biodegradazione rapida e completa in tutti i compartimenti ambientali), essi non potrebbero essere utilizzati per classificare una sostanza chimica come "persistente"; in genere si considera persistente una sostanza con emivita maggiore di un anno in tutti i compartimenti ambientali [4].

Il TiO₂ come fotocatalizzatore in fase eterogenea

Il biossido di titanio, TiO₂, il più importante composto del Ti con grado di ossidazione +4, rappresenta uno dei più efficienti fotocatalizzatori della degradazione fotoossidativa di molti composti organici [6-15], è il semiconduttore più adoperato tra quelli disponibili perché è fotostabile, non è tossico (LD₅₀>10.000 mg/kg) ed è insolubile in acqua; esiste in tre modificazioni polimorfiche: anatasio (tetragonale), rutilo (tetragonale) e brookite (romboedrica) con attività catalitiche significativamente differenti. Il reticolo del rutilo è uno dei tipi del sistema tetragonale, comune a molti composti con formula generale AB₂; ciascun atomo di titanio è circondato ottaedricamente da 6 atomi di ossigeno; le strutture dell'anatasio e della brookite sono degli arrangiamenti ottaedrici distorti. L'anatasio, alla temperatura di circa 915 °C, la brookite, alla temperatura di circa 750 °C, ritornano automaticamente alla

struttura del rutilo ed hanno molte proprietà del rutilo come lustro, durezza e densità. Il rutilo è il più stabile dei tre, è solitamente nero o bruno. L'efficacia del TiO₂, come catalizzatore, è determinata dalle sue proprietà superficiali: la superficie del TiO₂ ha molti siti attivi che contribuiscono alla sua alta attività catalitica. La superficie dell'anatasio è altamente eterogenea

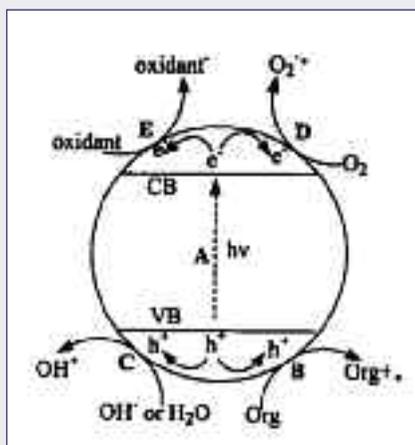
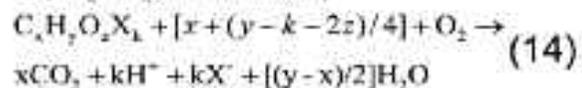
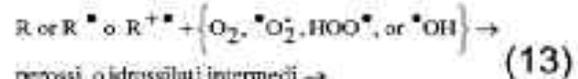
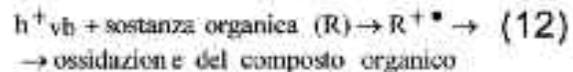
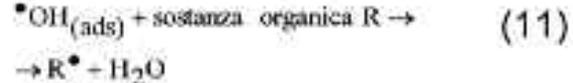
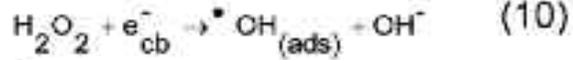
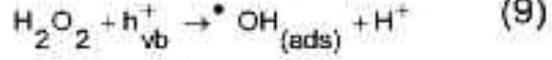
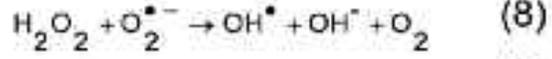
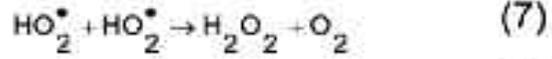
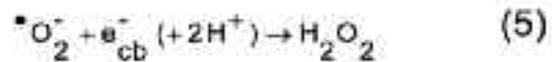
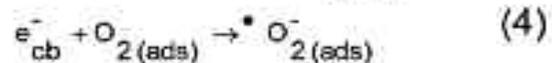
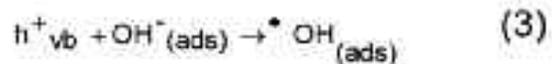
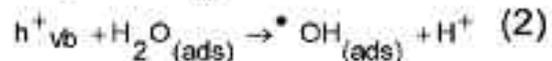
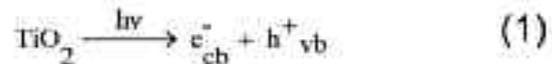
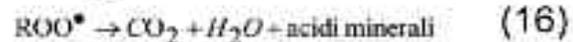


Fig. 1 - Stadi dell'ossidazione fotocatalitica

ed ha tre tipi di siti acidi di Lewis, dovuti a ioni Ti⁴⁺ differientemente coordinati; ha anche almeno due tipi di gruppi idrossilici [12]. Rutilo e anatasio hanno strutture cristalline simili, entrambe tetragonale [15], differiscono nella struttura del reticolo che determina le proprietà riducenti degli elettroni della banda di conduzione. L'anatasio con la più alta energia per l'orbitale molecolare non occupato (LUMO) è la più attiva delle tre forme del TiO₂ [13].



X = alogeno



ricombinazione elettrone - lacuna

Schema

Il punto di carica zero è:

$$\text{pH}_{\text{zpc}} = \frac{1}{2}(\text{p}K_{\text{a}1} + \text{p}K_{\text{a}2}) = \\ = \frac{1}{2}(4,98 + 7,80) = 6,39$$

Ti-OH rappresenta il gruppo superficiale "titanolo", specie neutra superficiale e predominante in un ampio range di pH. A $\text{pH} < 6$ la superficie del biossido di titanio trasporta una netta carica positiva, dovuta alla frazione crescente di siti superficiali totali presenti come TiOH_2^+ ; in condizioni alcaline una netta carica negativa dovuta ad una frazione significativa di siti superficiali presenti come TiO^- [3, 37].

Principio del Metodo del test di ecopersistenza

Interpretazione delle curve di fotodegradazione e definizione dei loro caratteri di screening (t , stIO_2)

In questo lavoro viene proposto un metodo innovativo per la valutazione della persistenza ambientale o ecopersistenza, questo indice sia positivo, sia negativo viene determinato attraverso l'uso di un fotosensore a base di biossido di titanio.

Il TiO_2 , fotoattivato da luce UV a 350 nm, agisce, sia come fotocatalizzatore della degradazione delle sostanze organiche, sia come materiale indicatore del pH e consente pertanto di misurare il tempo necessario ad innescare l'acidificazione corrispondente alla produzione degradativa di CO_2 . L'inizio del processo di acidificazione può essere ritenuto la conclusione del periodo di induzione alla mineralizzazione; si può considerare come parametro la velocità di variazione del pH nel tempo: tanto più essa è elevata, quanto maggiore è la concentrazione di ambiente carbonico e di acidi minerali prodotti dalla mineralizzazione nell'unità di tempo (eq. 12, 13, 16).

Segnale misurato: potenziale (pH) del biossido di titanio nel tempo di irradiazione UV

Il potenziale (pH) del TiO_2 in funzione del tempo di irradiazione presen-

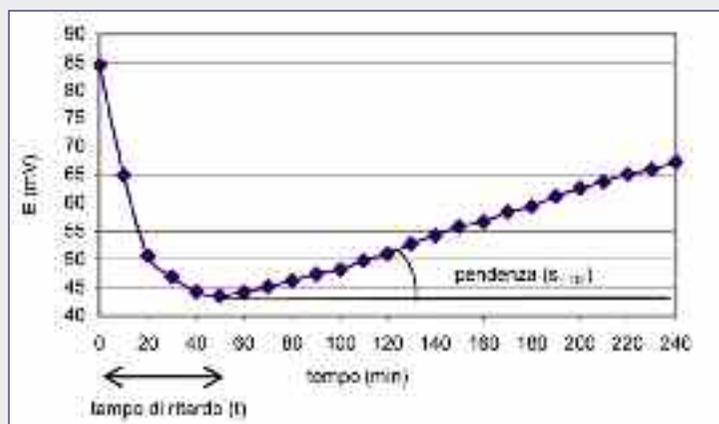


Fig. 2 - Tipico andamento del potenziale del biossido di titanio in funzione del tempo di irradiazione UV a 350 nm per un composto organico

ta il seguente andamento: all'inizio diminuisce (aumenta), raggiunge un minimo (massimo) e poi risale (diminuisce). Il tempo per raggiungere il minimo di potenziale è il tempo di ritardo, o tempo di attivazione, ed è il tempo necessario ad innescare l'acidificazione e ad indurre la degradazione, dopo tale tempo il potenziale del TiO_2 aumenta, e il composto organico incomincia a degradarsi ossidativamente a CO_2 , H_2O e acidi minerali (Fig. 2).

Il metodo del test di ecopersistenza qui proposto permette di seguire la degradazione di matrici semplici e complesse e di determinarne l'indice di "persistenza ambientale".

L'importanza in positivo e in negativo della stabilità chimica dei composti e della persistenza

La *stabilità chimica* o *inerzia chimica* è la caratteristica di un composto a non decomporsi facilmente o ad essere modificato chimicamente; è consigliata per i materiali utilizzati nei beni culturali poiché essa garantisce la capacità di resistere al degrado chimico (ad esempio la carta col tempo e all'esposizione variabili durante la consultazione o l'esposizione può diventare fragile). I criteri di valutazione della stabilità sono termodinamici, termochimici, su base sperimentale, su base strutturale; c'è la necessità di un'integrazione tra i diversi criteri.

La *persistenza* [4] è riferita alla destinazione d'uso di una sostanza, alla sua tossicità ed al suo ciclo di vita; è un importante indice sia *positivo* per la valutazione della durabilità o longevità durante l'uso di un prodotto, sia *negativo* per la valutazione del rischio ambientale di sostanze chimiche inquinanti. La *permanenza ambientale, nel senso positivo di durabilità*, è la capacità di un materiale di mantenere nel tempo le caratteristiche fisico-meccaniche e di aspetto possedute nel momento della sua messa in opera. La *permanenza ambientale* [4], *nel senso negativo* della valutazione del rischio ambientale da sostanze chimiche, è *l'assenza di degradabilità* nell'ambiente ed indica che una determinata sostanza non è facilmente biodegradabile da parte dei batteri, dei miceti o attraverso altri agenti naturali.

La *permanenza ambientale*, studiata in questo lavoro, trova applicazioni alla tutela dell'ambiente (ecopersistenza come indice negativo di persistenza ambientale).

Matrici ambientali: ecopermanenza di composti tossici marker

Alcune sostanze chimiche hanno causato gravi danni all'ambiente e alla salute umana, in base a quanto riferito da CSTE (Comitato scientifico della tossicità, dell'ecotossicità e dell'ambiente). La politica comunitaria in materia di sostanze chimiche deve garantire un elevato livello di tutela della salute umana, di protezione dell'ambiente e di sicurezza d'uso delle sostanze chimiche nel rispetto del principio di precauzione [39]. Le sostanze chimiche industriali si distinguono in: "sostanze esistenti" (tutte le sostanze già presenti sul mercato nel settembre del 1981) e "nuove sostanze" (immesse in commercio successivamente a tale data) [39].



Scopo principale della valutazione dei rischi connessi alle sostanze chimiche è la raccolta di dati attendibili per stabilire quali siano le misure di sicurezza più adeguate in caso di utilizzo (gestione del rischio). Il *pericolo* è la fonte di possibili danni alla salute, il *rischio* è la probabilità che un determinato pericolo si trasformi in danno effettivo per la salute, l'*emergenza* è uno stato di crisi determinato dall'insorgere di nuovi pericoli di cui non è ancora possibile determinare con certezza il rischio [40]. La valutazione dei rischi consente di stabilire se una certa sostanza chimica utilizzata in un determinato modo possa causare o meno effetti avversi e comprende anche la descrizione della natura dei possibili effetti e un calcolo delle probabilità di occorrenza, oltre che una stima della loro portata. La valutazione dei rischi connessi all'uso di sostanze chimiche si compone di due elementi distinti: 1) una valutazione delle proprietà intrinseche alla sostanza in questione, definita *valutazione dei pericoli* e 2) una stima della probabile *esposizione* connessa all'uso della sostanza. La valutazione dei pericoli identifica le *proprietà pericolose* (ad esempio le proprietà sensibilizzanti, cancerogene, tossiche per l'ambiente acquatico, ecc.) e stabilisce la *potenzialità* di pericolo della sostanza in riferimento a questa proprietà. La valutazione dell'esposizione individua le fonti di possibile esposizione e calcola la dose assunta da un organismo esposto oppure stima le quantità rilasciate in un determinato compartimento dell'ambiente [39].

L'acquisizione di dati affidabili sulle caratteristiche intrinseche delle sostanze è importante anche ai fini della loro *classificazione*. La classificazione fa scattare una serie di misure di sicurezza definite nella legislazione specifica in materia di salute dei lavoratori, protezione delle acque, gestione dei rifiuti, prevenzione di gravi incidenti, pericoli e inquinamento atmosferico [39]. Le sostanze chimiche si classificano in sostanze POP (sostanze organiche inquinanti persistenti), sostanze PBT (sostan-

ze persistenti, bioaccumulanti e tossiche), VPVB (sostanze molto persistenti e molto bioaccumulanti), sostanze CMR (sostanze cancerogene, mutagene e tossiche per la riproduzione) [39]. I POP sono da eliminare per la loro lunga persistenza nell'ambiente e per il loro accumulo nei tessuti della maggior parte degli organismi viventi avvelenando sia gli esseri umani, che la fauna e la flora selvatiche. Una sostanza è classificata come PBT quando la Persistenza è collegata alle proprietà Bioaccumulative e Tossicologiche. La classificazione di una sostanza come CMR fa scattare automaticamente l'avvio di una procedura di esame per l'introduzione di

misure restrittive a livello di consumo finale.

Persistenza nell'atmosfera, nelle acque, nel terreno

L'ecopersistenza dipende dalla degradabilità del composto in esame, è riferita all'azione sia chimica (interazione con altri composti smaltiti nell'ambiente), sia fisica (interazione con la luce solare), sia biologica (interazione con microrganismi).

Persistenza nell'atmosfera

Molte sostanze chimiche, tra le quali le diossine, sono degradate piuttosto velocemente dai raggi UV. Questo tipo di luce produce molta energia e può distruggere tutti i tipi di molecole. Più forte è il legame chimico, maggiore deve essere l'energia dei raggi UV necessaria a scindere la molecola. Quando le molecole volatili reagiscono con l'ossigeno o l'ozono presenti nell'atmosfera, avvengono anche altre reazioni chimiche, che portano alla scomposizione finale in elementi di base, come ad esempio acqua, acido cloridrico e anidride carbonica.

Persistenza nelle acque

Alcune sostanze, come i PAH, le diossine, i PCB e il DDT sono erose o precipitano dall'atmosfera nei corsi d'acqua e sono assorbite da macroparticelle che si accumulano sul fondo fangoso dei fiumi; perché vengano eliminate per metà dai batteri occorrono oltre vent'anni. Esistono diversi tipi di batteri specializzati in diverse sostanze, che adottano come alimento base o che essi attaccano mentre consumano il loro "normale" nutrimento. Alcuni batteri scambiano il cloro presente in una molecola con ossigeno e idrogeno (idrossile), altri trasformano i solventi clorurati in cloruro di vinile.

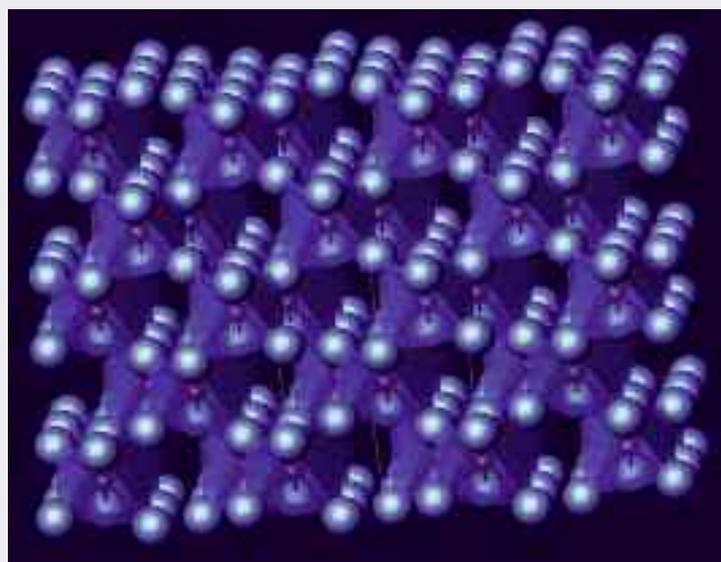
Persistenza nel terreno

Il terreno è il mezzo attraverso il quale la biodegradazione delle sostanze è più difficile. Ciò dipende in gran parte dal tipo di terreno, dal fatto che la sostanza si possa trovare al di sopra del livello di una falda acquifera. Anche in questo caso ci sono delle notevoli differenze nell'emivita, a seconda del tipo di materiale e delle condizioni. In terreni altamente contaminati possono essere necessari vent'anni perché gli idrocarburi clorurati a catena breve scompaiano completamente per decomposizione naturale.

Farmaci

I farmaci che noi prendiamo si ritrovano nelle acque di superficie e nelle acque sotterranee all'uscita degli impianti di trattamento delle acque, dove possono, anche a basse dosi, contaminare i terreni e le risorse idriche. Come i pesticidi usati in agricoltura, anche i farmaci (in particolare i chemioterapici e gli antibiotici, ma anche gli anticoncezionali, gli antalgici, i farmaci contro i disturbi cardiovascolari e gli antiipertensivi) sono sostanze chimiche persistenti. Gli antibiotici, ad esempio, possono persistere nel terreno per oltre un anno ed il processo diventa ciclico a causa della riconcimazione e delle irrigazioni. Inoltre, la popolazione microbica ambientale sembra variare in seguito alla somministrazione di chemioterapici e di antibiotici. Un aumento della resistenza ai chemioterapici ed agli antibiotici è stato infatti registrato a livello mondiale, rendendo difficile la cura di alcune malattie. Nella scorsa decade sono state consumate 12.500 tonnellate di antibiotici all'anno, quantità che continua ad aumentare. Circa la metà di queste sostanze è stata adibita ad uso clinico, il rimanente ad uso veterinario, sia terapeutico sia mirato alla prevenzione e a favorire la crescita soprattutto in acquacoltura. Anche se in gran parte degradate dal corpo, migliaia di tonnellate di antibiotici raggiungono l'ambiente ogni anno attraverso le escrezioni.

I tradizionali metodi di trattamento delle acque [41-42] non sono talo-



Struttura 3D dell'anatasio

ra in grado di smaltire e/o degradare adeguatamente tutte le tipologie di inquinanti a causa, soprattutto, dell'estrema recalcitranza di alcuni di essi. Così nell'ambito della Comunità Europea sono stati in passato svolti alcuni progetti di ricerca (Eravmis, Rempharmawater, Poseidon) finalizzati alla valutazione dell'impatto ambientale dei farmaci smaltiti ed alla ricerca di adeguati trattamenti dei corpi idrici atti a ridurre questo ed altri "nuovi" tipi di inquinamento. Generalmente vengono assunti come ottimali per la degradazione completa di sostanze organiche inquinanti i processi di ossidazione avanzata (AOPs), come la fotocatalisi eterogenea con il biossido di titanio.

Tossicità

L'art. 3 della Direttiva 92/32/CEE del 30 aprile 1992, che disciplina la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura delle sostanze pericolose commercializzate negli Stati dell'Unione Europea, regola la "determinazione e valutazione delle proprietà delle sostanze" attraverso test tossicologici che prevedono esperimenti su animali. In funzione del risultato degli esperimenti, una sostanza verrà classificata in una delle seguenti categorie:

- molto tossica
- tossica
- nociva
- non pericolosa.

Un protocollo-tipo prevede lo studio di:

- 1) tossicità a breve termine, che si articola nello studio di:
 - tossicità acuta effettuata normalmente sul ratto o il topo, attraverso la LD_{50} ;
 - studi di irritabilità degli occhi, della pelle e delle mucose solitamente effettuati sui conigli albini in ambito cosmetologico, attraverso i "Draize test" e miranti alla valutazione della tollerabilità della sostanza in esame a contatto con la cute o con le mucose;
 - studi di sensibilizzazione normalmente eseguiti sul porcellino d'India per valutare la capacità della sostanza chimica di indurre risposte allergiche o immuni in seguito a somministrazioni multiple.
- 2) tossicità ripetuta la cui valutazione avviene attraverso lo studio di:
 - tossicità sub-acuta, sub-cronica, cronica, solitamente effettuata su due specie di cui una roditrice (normalmente si usano il topo e la scimmia o il cane). La durata degli studi varia dai due ai quattro anni; la via di somministrazione è quella di esposizione;
 - oncogenesi.
- 3) studi di tossicità riproduttiva e di teratologia per evidenziare le eventuali interferenze della nuova sostanza sulla sfera riproduttiva e sulla prole, suddivisi in tre gruppi:
 - studio di fertilità e riproduzione;
 - studi di teratologia;
 - studi di tossicità peri-post natale.

Per quanto riguarda la tossicità a breve termine (effetto acuto) il livello di tossicità è definito a partire da test basati sulla quantità di composto chimico letale in funzione della via di esposizione; i limiti della Dose Letale 50 (LD_{50}) e Concentrazione Letale 50 (LC_{50}) utilizzate per clas-

Categoria	LD ₅₀ orale (mg/kg)	LD ₅₀ cutanea (mg/kg)	LC ₅₀ inalatoria mg/litro/4 ore
Molto tossiche	<25	<50	<0,5
Tossiche	25-200	50-400	0,5-2
Nocive	200-2.000	400-2.000	2-20

sificare un prodotto come molto tossico, tossico o nocivo sono riportati nella Tabella sopra riportata [40].

L'LD₅₀ è la dose di una sostanza che, somministrata in una volta sola, provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento; indica la tossicità di una sostanza solo a breve termine (tossicità acuta); non a lungo termine (cioè dovuta a contatto con modiche quantità di una certa sostanza per lunghi periodi); viene espressa di solito come quantità di sostanza somministrata rispetto al peso dell'animale usato come campione (es.: milligrammi (mg) di sostanza per 100 grammi (g) per piccoli animali o per chilogrammi (kg) per animali più grandi); va definita anche la via (orale, cutanea, ecc.). Una LD₅₀ maggiore di 2.000 mg/kg permette di considerare non particolarmente pericolosa la sostanza testata.

Per la LD₅₀ orale la normativa UE prevede come animale da esperimento l'uso del ratto, mentre per la LD₅₀ cutanea è previsto anche l'impiego del coniglio.

L'LC₅₀ è la concentrazione in aria che provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento, se inalata per un determinato periodo di tempo.

Per la LC₅₀ la normativa UE prevede l'uso del ratto come animale da esperimento con una esposizione di 4 ore.

I metodi o le procedure che conducono alla sostituzione di un esperimento sull'animale o alla riduzione del numero di animali richiesti, nonché all'ottimizzazione delle procedure sperimentali, allo scopo di limitare la sofferenza animale sono i metodi alternativi alla sperimentazione *in vivo*. Questo concetto corrisponde alla definizione delle "3R" di Russel e Burch [43], dall'inglese *replace, reduce, refine* laddove:

- 1) *replacement* identifica la sostituzione, ove possibile, degli animali superiori con materiali biologici di minore complessità (batteri, colture cellulari, organi isolati, colture *in vitro*), modelli computerizzati, video, film;
- 2) *reduction* implica la maggiore riduzione possibile del numero di animali usati per un particolare esperimento pur conseguendo risultati di studio altrettanto precisi. Ciò può essere ottenuto standardizzando la popolazione animale, fattore principe della variabilità dei risultati;
- 3) *refinement* si riferisce alla ricerca di procedure sperimentali sempre più specifiche in grado di ridurre al minimo la sofferenza e lo stress causato agli animali, comunque impiegati.

I metodi del primo tipo consentono di ottenere una determinata informazione sperimentale senza ricorrere all'utilizzazione di animali; i metodi del secondo tipo sono idonei ad ottenere livelli comparabili di informazione utilizzando un minor numero di animali e consentono di ricavare il massimo numero di informazioni con un solo saggio su animali; i metodi del terzo tipo sono tutte le metodologie idonee ad alleviare sofferenze e danni imputabili alle pratiche sperimentali. Tra i metodi del primo tipo si distinguono i "metodi sostitutivi biologici" e i

"metodi sostitutivi non biologici", i primi sono i "metodi *in vitro*", ed utilizzano materiale biologico di diverso tipo (di origine animale o umana); mentre i secondi si avvalgono dei contributi di scienze quali la matematica, l'informatica, la statistica, eccetera.

Un nuovo approccio sperimentale, per essere considerato alternativo alla sperimentazione animale tradizionale, deve essere riproducibile, affidabile, rapido e non più costoso di quello che si vuole sostituire. Il centro europeo preposto alla verifica del rispetto dei suddetti parametri da parte del nuovo metodo (cosiddetta "validazione") è l'ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods), istituito dalla Commissione Europea nel 1991 su proposta del Parlamento dell'Unione, nell'ambito del "Joint Research Centre" di Ispra in provincia di Varese. L'ECVAM coordina la validazione dei metodi alternativi a livello comunitario e costituisce un punto di riferimento per lo scambio di informazioni sullo sviluppo di questi metodi, attraverso una banca dati dei metodi disponibili (già validati o in corso di validazione) impostata e gestita dal centro medesimo.

Attraverso il processo di validazione viene stabilita l'affidabilità e la rilevanza di un metodo. L'affidabilità descrive la riproducibilità dei risultati nel tempo e nello spazio, cioè, nello stesso laboratorio e tra laboratori diversi (cosiddetta "standardizzazione"); la rilevanza descrive la misura dell'utilità e della significatività del metodo per un determinato scopo. I test di validazione sono molto lunghi (possono durare anche anni) ed hanno lo scopo di verificare se un nuovo metodo fornisce, per determinate sostanze, risultati simili a quelli in precedenza ottenuti attraverso la sperimentazione sugli animali. L'approdo finale di un nuovo metodo è il suo accoglimento entro la regolamentazione internazionale, con l'introduzione dei test alternativi nelle linee guida del-



l'OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). L'OECD raccoglie non solo i paesi membri dell'Unione Europea ma anche Stati Uniti, Giappone ed altri; ha il compito di armonizzare i differenti protocolli sperimentali, recependoli sotto forma di linee guida. Le linee guida dell'OECD vengono periodicamente modificate per adeguarle alle nuove conoscenze scientifiche nonché alle modifiche

legislative eventualmente intervenute.

Un Libro Bianco [39] della Comunità Europea invita la comunità scientifica a fare il più possibile allo scopo di mettere a punto dei test chimici, che non ricorrano alla sperimentazione animale, in grado di dare informazioni - specialmente avvisi di pericolosità - in tempo reale o quasi reale riguardo la tossicità di un composto.

Bibliografia

- [1] H. Lachheb *et al.*, *Appl. Catal. B: Environ.*, 2002, **39**, 75.
- [2] C. Guillard, *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2003, **158**, 27.
- [3] N. Danashevar *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2003, **157**, 111.
- [4] W. Kloepffer, *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 1994, **1**, 108.
- [5] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Brussels, Technical Report - ECETOC 1-195, 2003.
- [6] V. Vamathevan *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2002, **148**, 233.
- [7] S. Horikoshi *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2001, **146**, 109.
- [8] M.R. Dhananjeyan *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **109**, 147.
- [9] D. Dvoranová *et al.*, *Appl. Catal. B: Environ.*, 2002, **37**, 91.
- [10] H. Hidaka *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2001, **138**, 185.
- [11] L.R. Skubal, N.K. Meshkov, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2002, **148**, 211.
- [12] K. I. Hadjiivanov, D. Klissurski, *Chem. Soc. Rev.*, 1996, **25**, 61.
- [13] M. Gratzel, F. Rotzinger, *Chem. Phys. Lett.*, 1985, **118**, 474.
- [14] A. Scalfani *et al.*, *New J. Chem.*, 1990, **14**, 265.
- [15] U. Stafford *et al.*, *Heterogeneous Chem. Rev.*, 1996, **3**, 77.
- [16] C. Chen *et al.*, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 329.
- [17] L. G. Devi, G. M., Krishnaiah, *Oriental J. Chem.*, 2004, **20**(1), 11.
- [18] R. Doong, W. Chang, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **107**, 239.
- [19] K. Ishibashi *et al.*, *J. Phys. Chem., B*, 2000, **104**, 4934.
- [20] K-H Lee, *et al.*, *Electroanalysis*, 2000, **12**(16), 1334.
- [21] A. Mills, S. Le Hunte, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **108**, 1.
- [22] L.R. Skubal, N.K. Meshkov, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2002, **148**, 211.
- [23] K. Tanaka *et al.*, *Wat. Res.*, 2000, **34**(1), 327.
- [24] T. Wu *et al.*, *J. Pys. Chem. B*, 1998, **102**, 5845.
- [25] H. Al-Ekabi, N. Serpone, *J. Phys. Chem.* 1988, **92**, 5726.
- [26] D. Chatterjee, A. Mahata, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2002, **153**, 199.
- [27] G. Epling, C. Lin, *Chemosphere*, 2002, **46**, 561.
- [28] S. Horikoshi *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 2003, **376**, 475.
- [29] Z. Hua, *et al.*, *Wat. Res.*, 1995, **29**(12), 2681.
- [30] V. Maurino *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **109**, 171.
- [31] H.M.K.K. Pathirana, R.A. Maithreepala, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **102**, 273.
- [32] C. Ravichandran *et al.*, *J. Appl. Electrochem.*, 1991, **21**, 60.
- [33] C. Costanza, Tesi di Laurea in Chimica Università di Roma "La Sapienza", Anno Accademico 2001/2002 - 19 febbraio 2003
- [34] K. Kinoshita, M.J. Madou, *J. Electrochem. Soc.: Electrochemical Science And Technology*, 1984, **131**(5), 1089.
- [35] R. Koncki, M. Mascini, *Anal. Chim. Acta*, 1997, **351**, 143.
- [36] P. W. Schindler, H. Gamsjäger, *Discuss. Faraday Soc.*, 1971, **52**, 286.
- [37] C. Kormann *et al.*, *Environ. Sci. Technol.*, 1991, **25**, 494.
- [38] C. Wang *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **109**, 159.
- [39] Commissione delle Comunità europee, Libro Bianco Strategia per un politica futura in materia di sostanze chimiche, Bruxelles, 27 febbraio 2001 COM(2001) 88 definitivo.
- [40] R. Curini *et al.*, Laboratorio chimico per la sicurezza. Valutazione del Rischio Chimico", Università di Roma "La Sapienza".
- [41] T.A. Ternes, *Trends in analytical chemistry*, 2001, **20**, 419.
- [42] T.A. Ternes, *Wat. Res.*, 1998, **32**(11), 3245.
- [43] W.M.S. Russel, R.L. Burch, *The Principle of Human Experimental Technique*, Meuthen, London, 1959.

ABSTRACT

Photosensor for Toxicity Tests. Part 1

Always looking for faster, cheaper and simpler toxicity tests we designed, realised and checked an experimental tool able to combine chemical catalysis, photochemical degradation and surface potential variation in order to establish an index related to the toxicity of a tested compound or matrix.