Università degli Studi di Trieste

Corsi di Studio

SAMAC (fondamentale)

ESCG (a scelta dello studente)

Introduzione al corso:

- Storia della disciplina
- Metodi, strategie e obiettivi
- Ambiti caratterizzanti
- Scale spaziali, dimensionali e temporali
- Aspetti normativi
- Esempi e casi di studio

ECOTOSSICOLOGIA

Prof. Monia Renzi (BIO/07)
mrenzi@units.it

I anno – I Semestre

(*) Il materiale didattico fornito dal docente può contenere parti o immagini soggette a copyright, la diffusione e/o riproduzione non è autorizzata.

Introduzione

PERCHÉ CONOSCERE L'AMBIENTE E IL RAPPORTO CON L'UOMO?

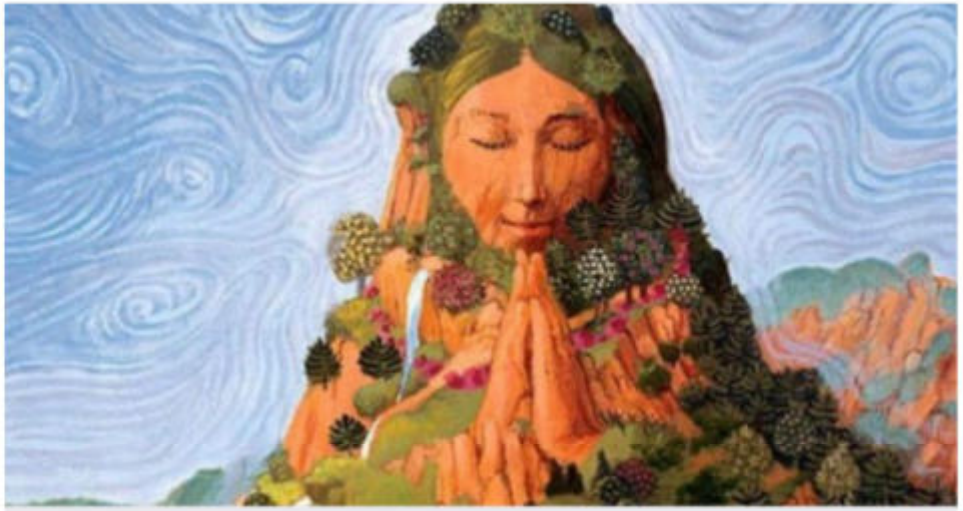
La scienza è prima di tutto un insieme di atteggiamenti. È una disposizione a trattare i fatti piuttosto che ciò che qualcuno ha detto su di loro ...

La scienza è una volontà di accettare i fatti anche quando sono contrari ai desideri ... l'opposto del desiderio è l'onestà intellettuale.

Gli scienziati hanno semplicemente scoperto che essere onesti, con se stessi e con gli altri, è essenziale per il progresso.

Gli esperimenti non sempre escono come ci si aspetta, ma i fatti devono restare in piedi, non le aspettative.

Skinner, 1953, Scienza e comportamento umano.



NOTIZIEIN.IT
Bolivia riconosce legalmente Madre Natura come un essere vivo » Notizie IN

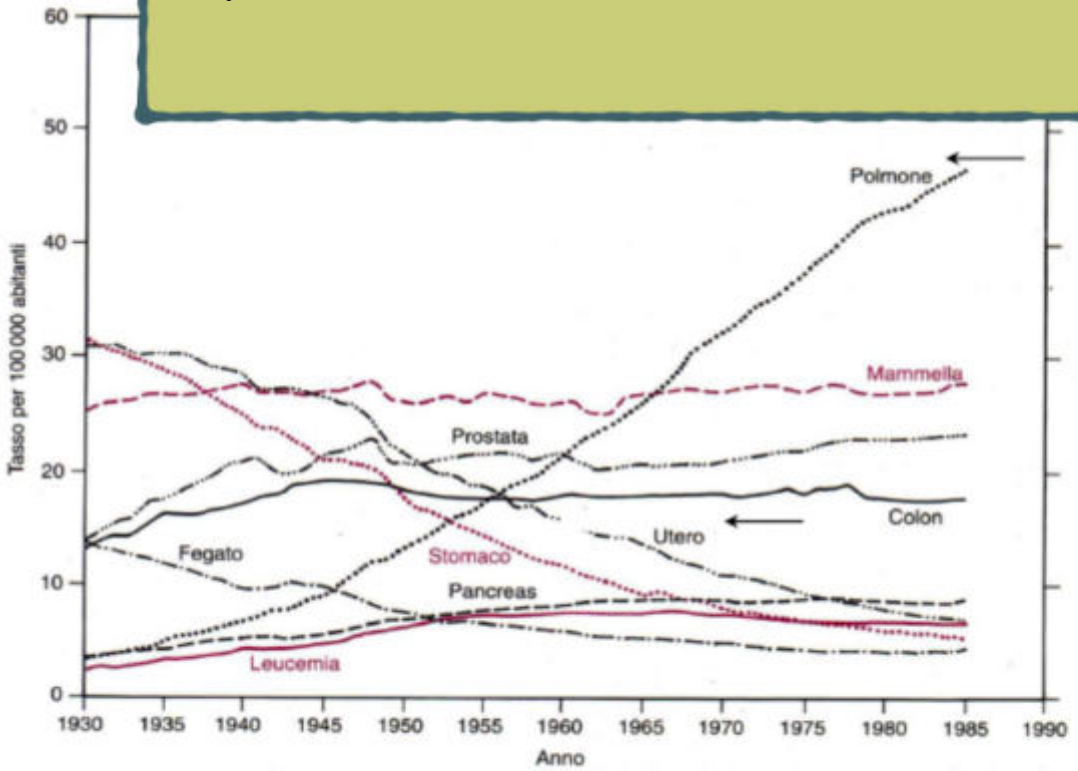
- **Cosa guida la nostra percezione?**
- **E' possibile salvare il Pianeta?**
- **Le sostanze chimiche sono "cattive"?**

1

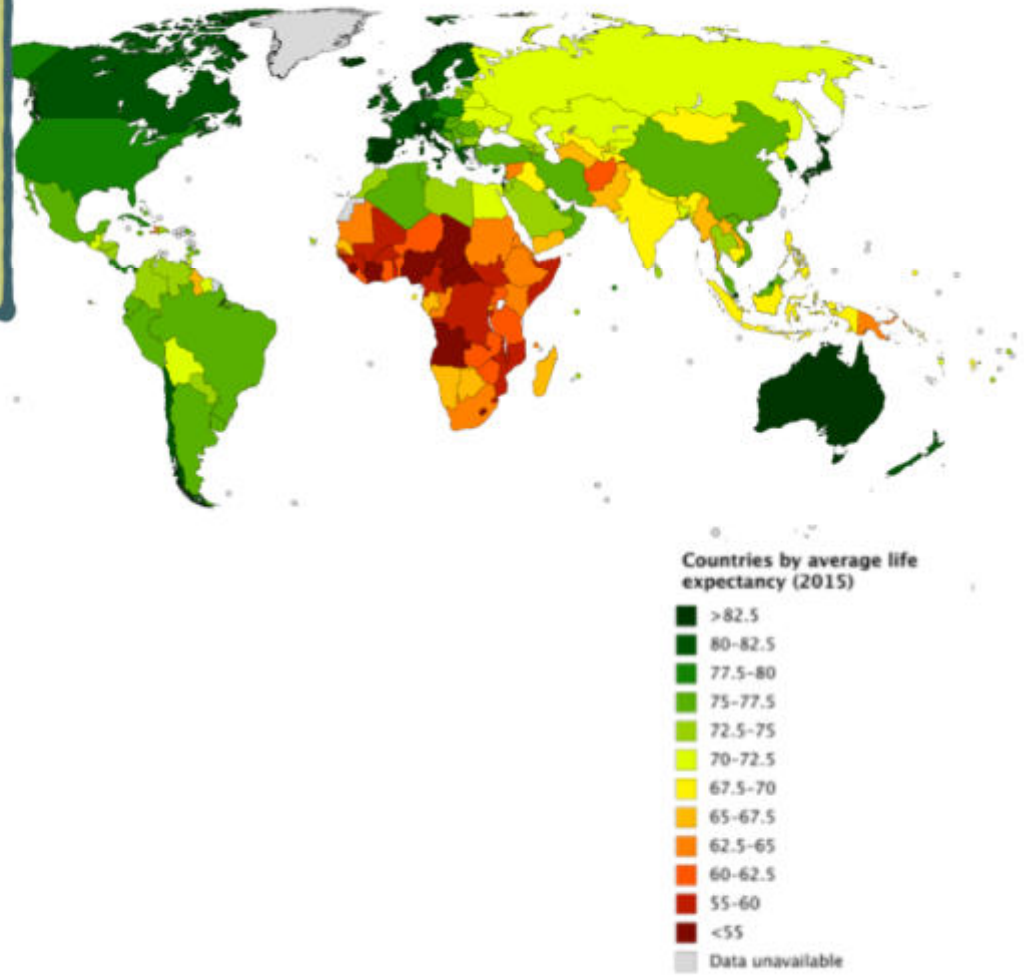
PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

Aumento dell'aspettativa di vita nei paesi industrializzati.
I tassi di mortalità per cancro (non fumatori) sono costanti o in calo.

La mortalità per malattie derivate dall'inquinamento è in crescita nei paesi industrializzati



Tasso per la popolazione standardizzata per l'età sulla popolazione degli Stati Uniti nel 1970
Fonte: National Center for Health Statistics and Bureau of Census, Stati Uniti
Nota: I tassi si riferiscono alla somma dei due sessi tranne i casi di mammella, utero e prostata

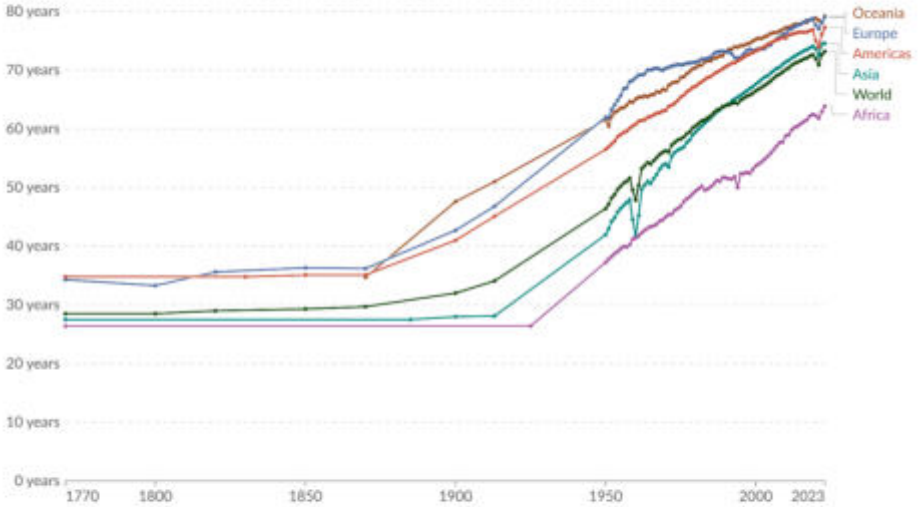


JackintheBox / CC BY-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0)

Life expectancy

Our World in Data

Period life expectancy[1] is the number of years the average person born in a certain year would live if they experienced the same chances of dying at each age as people did that year.



Data source: Riley (2005); Zijdeman et al. (2015); HMD (2025); UN WPP (2024)

OurWorldinData.org/life-expectancy | CC BY

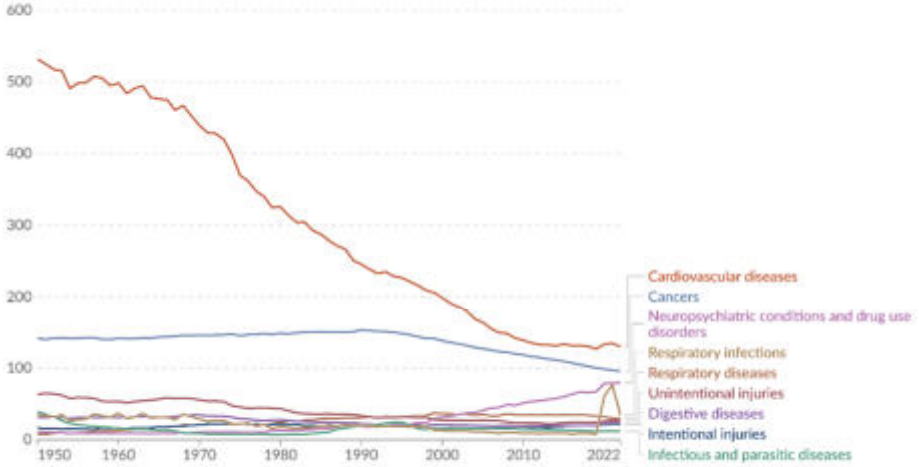
1. Period life expectancy Period life expectancy is a metric that summarizes death rates across all age groups in one particular year.
For a given year, it represents the average lifespan for a hypothetical group of people, if they experienced the same age-specific death rates throughout their whole lives as the age-specific death rates seen in that particular year.
Learn more in our articles:

- Life expectancy – what does this actually mean?
- Period versus cohort measures: what's the difference?

Death rates from different causes, United States

Our World in Data

Reported annual death rate from different causes per 100,000 people, based on the underlying cause[1] listed on death certificates. Comparisons may be affected by differences in measurement.



Data source: WHO Mortality Database (2025)

OurWorldinData.org/causes-of-death | CC BY

Note: To allow for comparisons between countries and over time, this metric is age-standardized[2]. All deaths in a country may not have been registered with a cause of death[1]. Only a selection of categories are shown.

1. Underlying cause of death The 'underlying cause of death' is defined by the World Health Organization as: a) the disease or injury which initiated the train of morbid events leading directly to death, or b) the circumstances of the accident or violence which produced the fatal injury.
All deaths may not be registered with a cause of death, especially if there is a lack of medical records for the person deceased, a lack of doctors, nurses, or hospitals nearby, or if the country has a poorly functioning vital registration system.
You can read more about how causes of death are determined in our article: How are causes of death registered around the world?

2. Age standardization Age standardization is an adjustment that makes it possible to compare populations with different age structures, by standardizing them to a common reference population.
Read more: How does age standardization make health metrics comparable?

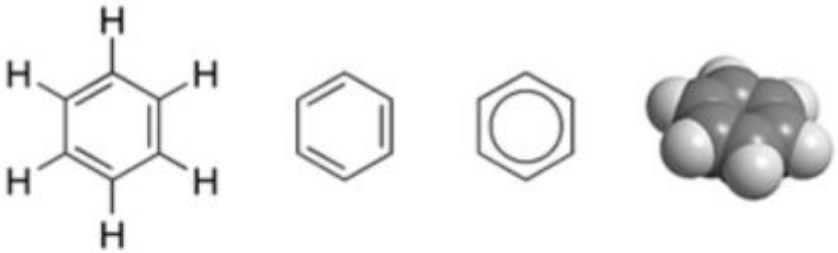
2

PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

Test sul cancro ad alte dosi sugli animali forniscono dati significativi sui rischi di cancro per l'uomo

Metà di tutte le sostanze chimiche naturali o sintetiche testate nei test standard sul cancro degli animali si sono rivelate cancerogene.
Vicino a dosi tossiche, la dose massima tollerata, può causare lesioni cellulari croniche o mitosi - rischio di cancro

Il benzene non mostra cancerogenicità nel topo ma ha dato evidenza di chiaro effetto cangerogeno nell'uomo (rene).





3

PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

La quantità di residui di pesticidi sintetici negli alimenti vegetali è insignificante rispetto alla quantità di pesticidi vegetali naturali.
Tra 5-10.000 pesticidi naturali consumati, per un totale di 1500 mg/giorno.

L'esposizione umana ad agenti cancerogeni e altre tossine è quasi tutta dovuta a sostanze chimiche

Insetticidi di origine naturale :

- Nicotina, isolata dal tabacco, e altri alcaloidi di minore interesse (anabasina e nornicotina);
- Piretrine, estratte dal *Chrysanthemum cinerariaefolium;*
- Rotenone, contenuto nelle radici di varie piante e soprattutto in *Derris elliptica* (leguminosa tropicale);
- Quassio, presente nei tessuti legnosi di *Quassia amara* e di *Picrasma excelsa.*
- *S*tricnina, estratta dalla *Strychnos nux-vomica,* e la droga estratta dalla *Scilla maritima* sono state impiegate come rodenticidi.
- Griseofulvina, prodotta dal *Penicillium griseofulvum,* e la cicloesimmide, prodotta dallo *Streptomyces griseus,* hanno trovato qualche impiego come fungicidi.

Alcune di queste sostanze non sono ancora esattamente conosciute nelle loro caratteristiche chimiche e biologiche.

4

PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

Le tossine sintetiche presentano rischi cancerogeni maggiori rispetto alle tossine naturali.

Le sostanze naturali non sono tossiche.

La proporzione di sostanze chimiche naturali cancerogene quando testate su ratti e topi è la stessa delle sostanze chimiche di sintesi, circa la metà.
Tutte le sostanze chimiche sono tossiche oltre a una certa dose
Il 99,9% delle sostanze chimiche ingerite sono naturali.



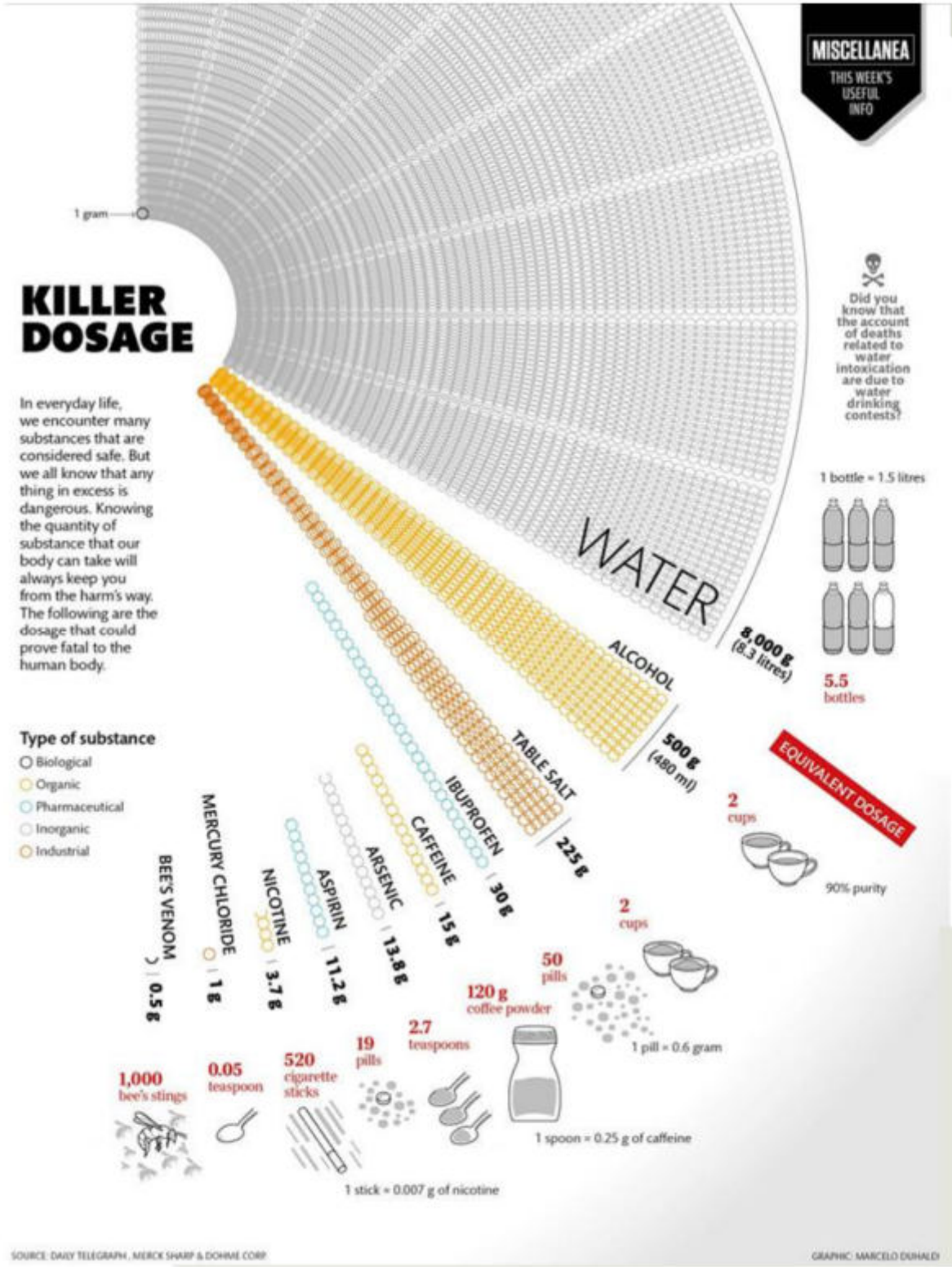
Veleni più potenti al mondo

1 - Ricina, fibra solida dei chicchi di riso
2 - Batracotossina, alcaloide neurotossico, rana dorata (Sud America)
3 - Maitotossina, organismi marini
4 - Saxitossina, organismi marini
5 - Botulino, batteri anaerobi

Altre sostanze tossiche dei vegetali:

http://sperimentazione.altervista.org/tossine.html

La cicuta maggiore (Conium maculatum L., 1753) è tossica sia per il bestiame sia per l'uomo; la dose mortale per un essere umano é qualche grammo di frutti verdi.
La tossicità è dovuta alla presenza di alcaloidi: la coniina, la conidrina, la pseudoconidrina, la metilconicina e la coniceina.
La coniina, una neurotossina, è l'alcaloide più attivo e agisce a livello delle sinapsi neuromuscolari.



La tossicità delle sostanze è legata alla dose a cui si è esposti

300 g di NaCl o meno di 1 kg di zucchero ingeriti nello stesso pasto sono letali per l'uomo.
Tutte le sostanze sono sicure se l'esposizione è contenuta entro limiti tollerabili.

Tossicità per l'uomo di alcune sostanze/miscele chimiche

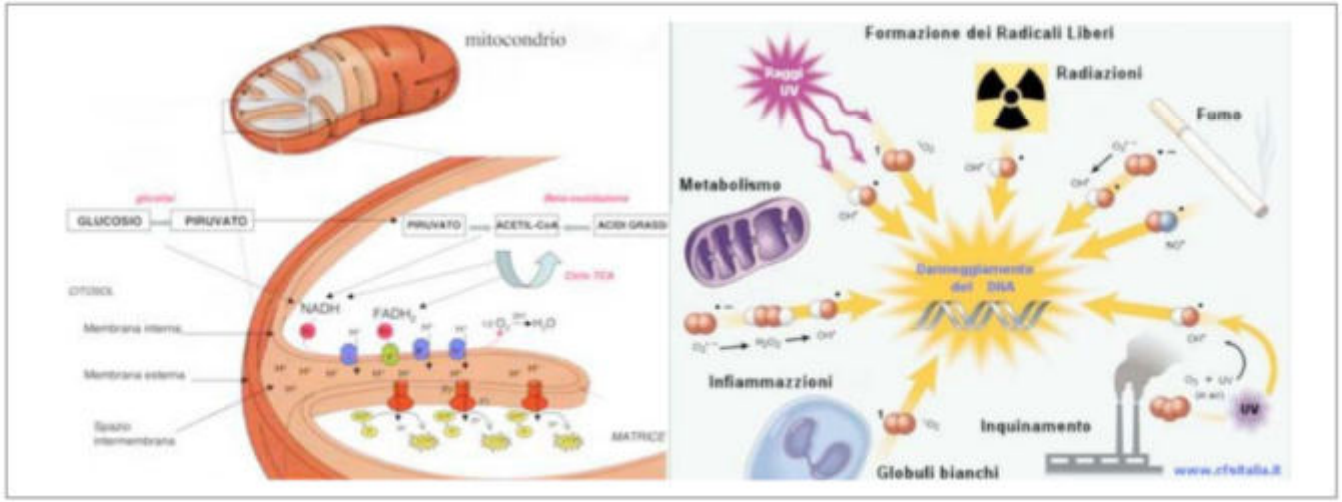
"*Omnia venenum sunt: nec sine veneno quicquam existit. Dosis sola facit, ut venenum non fit* " (Paraclesus)

5

PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

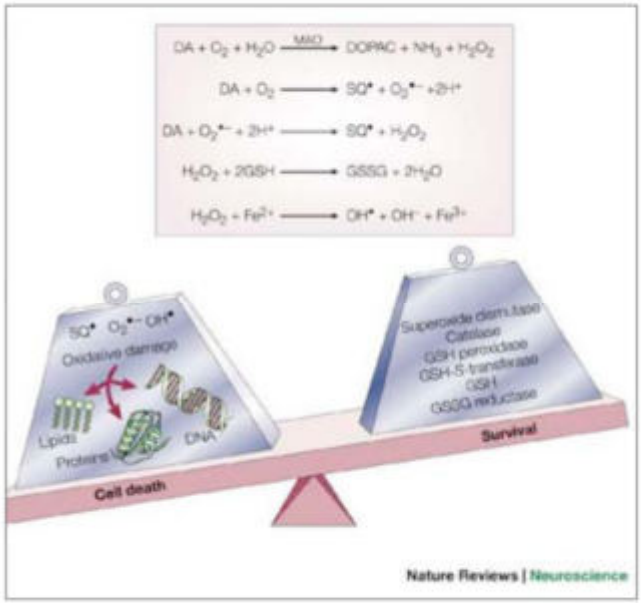
Gli esseri umani hanno molte difese generali e naturali che ci rendono ben protetti contro le normali esposizioni alle tossine, sia naturali che sintetiche.

La tossicologia delle sostanze chimiche prodotte dall'uomo è diversa da quella delle sostanze chimiche naturali.

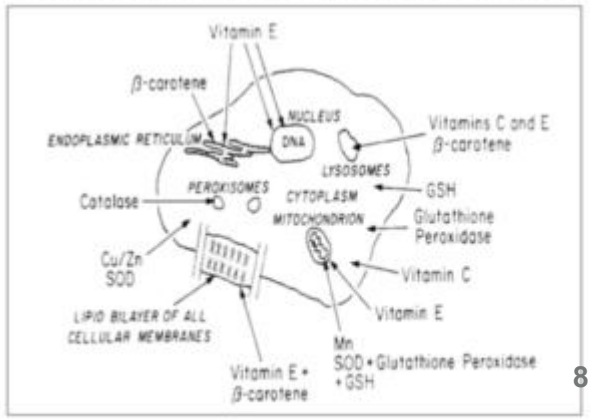


Fonti endogene di Stress Ossidativo

Fonti esogene di Stress Ossidativo



Equilibrio tra produzione ed eliminazione di specie ossidanti



Polimeni et al., 2013. Bollettino di Ginecologia Endocrinologica Vol 7:53-63

LA TOSSICITÀ NON DIPENDE SOLO DALLE QUANTITÀ PRESENTI



Ambiente

- Latitudine
- Temperatura
- Salinità

Specie

- Sensibilità
- Caratteristiche ecologiche
- Efficienza di decontaminazione

- Biodisponibilità

Sostanza

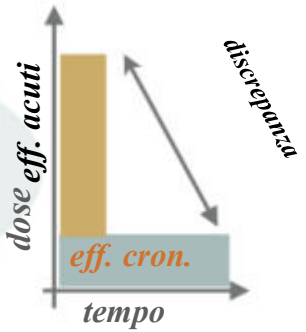
- Forma chimica
- Solubilità
- Persistenza

Intensità, frequenza e durata dell'esposizione

Effetti osservabili

Acuti (<7 gg)
Cronici (>7 gg)

Letali (LCx)
Subletali
(NOEC; LOEC)



MOLTI FATTORI POSSONO MODULARE:

- DOSE / CONCENTRAZIONE EFFICACE
- RISPOSTE BIOLOGICHE

PERCEZIONE CONTRO REALTÀ

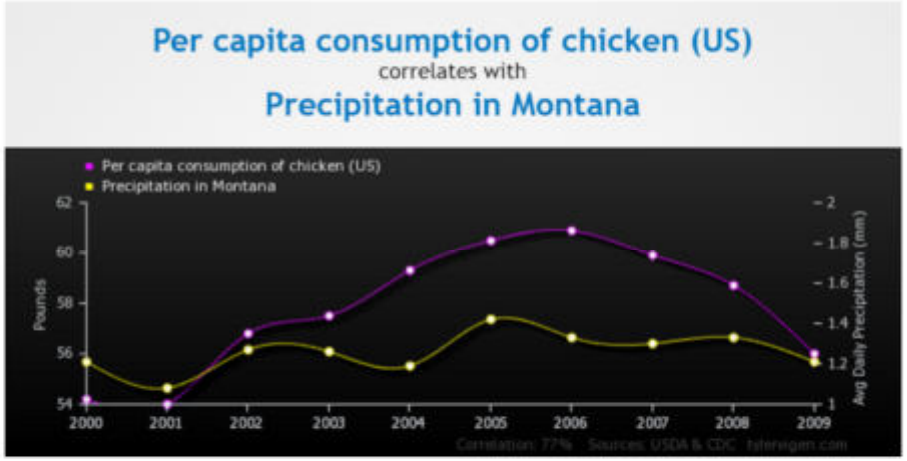
La correlazione tra due osservazioni non è indice di causalità

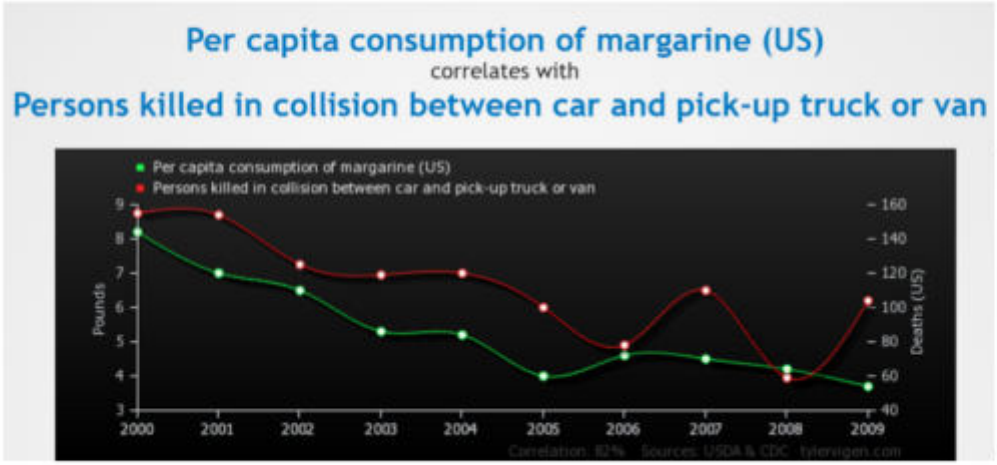
La correlazione implica la causalità

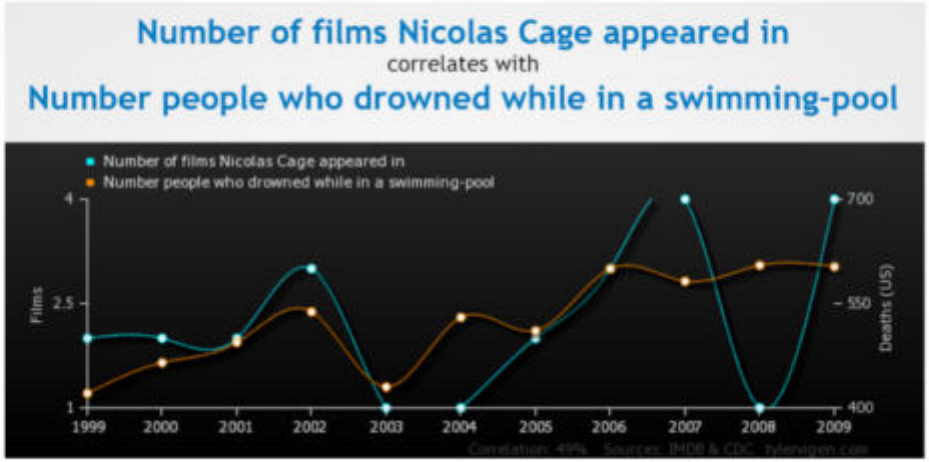
È un principio statistico fondamentale e significa che il fatto che due fenomeni si presentino contemporaneamente (o abbiano qualche legame tra loro) non implica che uno sia la causa dell'altro.

1808 - Uno fra gli errori più comuni, è prendere ciò che segue a un avvenimento per la sua conseguenza.

Pierre-Marc-Gaston de Lévis - Massime e riflessioni







La realtà soggettivamente percepita è diversa dalla oggettività scientificamente dimostrabile.



E' necessario approcciare le problematiche con metodo scientifico e correttezza intellettuale.



Guylaine Labonté 28 agosto alle ore 17:39 ·

44 Commenti: 6 Condivisioni: 1

La valutazione della qualità ambientale nasce legata al concetto di salubrità per l'uomo e successivamente si estende alla conservazione dell'ecosistema.

Le valutazioni sono effettuate attraverso il monitoraggio di sostanze chimiche e patogeni di stretto interesse per la salute umana.

L'APPROCCIO CHIMICO: VANTAGGI E LIMITI

PRO

- Analisi quantitativa
- Metodi standard
- Ripetibilità elevata
- Facile leggibilità per non addetti ai lavori
- Applicabilità di standard di legge



CONTRO

Ad oggi sono note più di 67 milioni di sostanze organiche e inorganiche
Oltre 10.000 nuove molecole immesse nel mercato ogni anno

(http://www.cas.org)

- Fornisce informazioni solo sulle sostanze chimiche ricercate
- Non consente di evidenziare la biodisponibilità di quanto misurato (es. metalli in aree anomale geologicamente)
- Non descrive gli effetti biologici
- Non fornisce indicazioni sugli effetti a livello di ecosistema
- Non fornisce indicazioni sui tempi di risposta degli ecosistemi

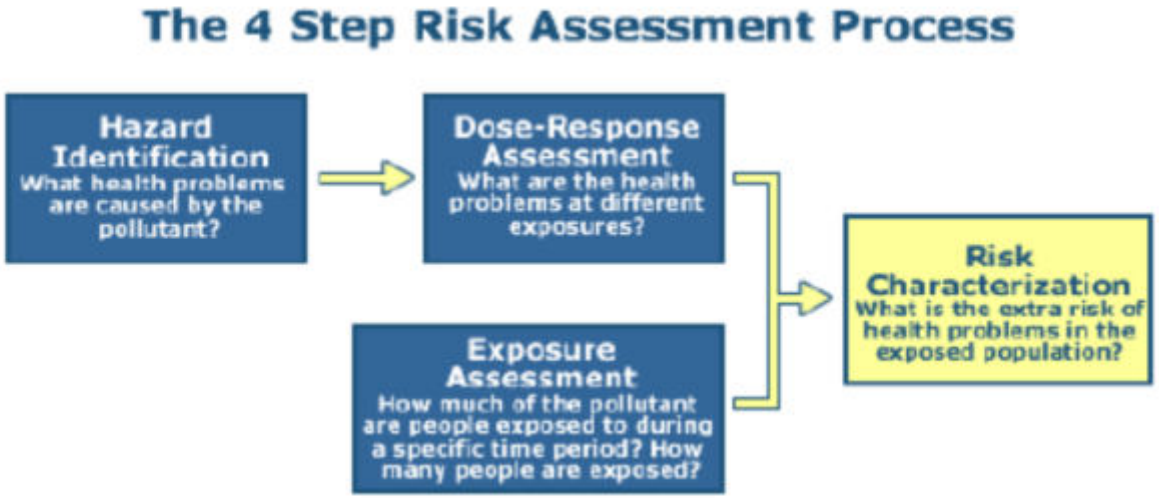


Probabilità di andare incontro agli effetti avversi che la sostanza può provocare, in seguito ad esposizione

Caratteristica intrinseca della sostanza

In ecotossicologia il rischio è la stima degli effetti di un agente chimico sulla salute degli organismi viventi nonché sui beni naturali e sulla qualità di vita della popolazione

Per la caratterizzazione del rischio chimico è necessario distinguere due obiettivi:
1. Rischio per la salute umana (sanitario)
2. Rischio per i sistemi naturali (ambientale)



I quattro passi della caratterizzazione del rischio sanitario secondo la US-EPA.

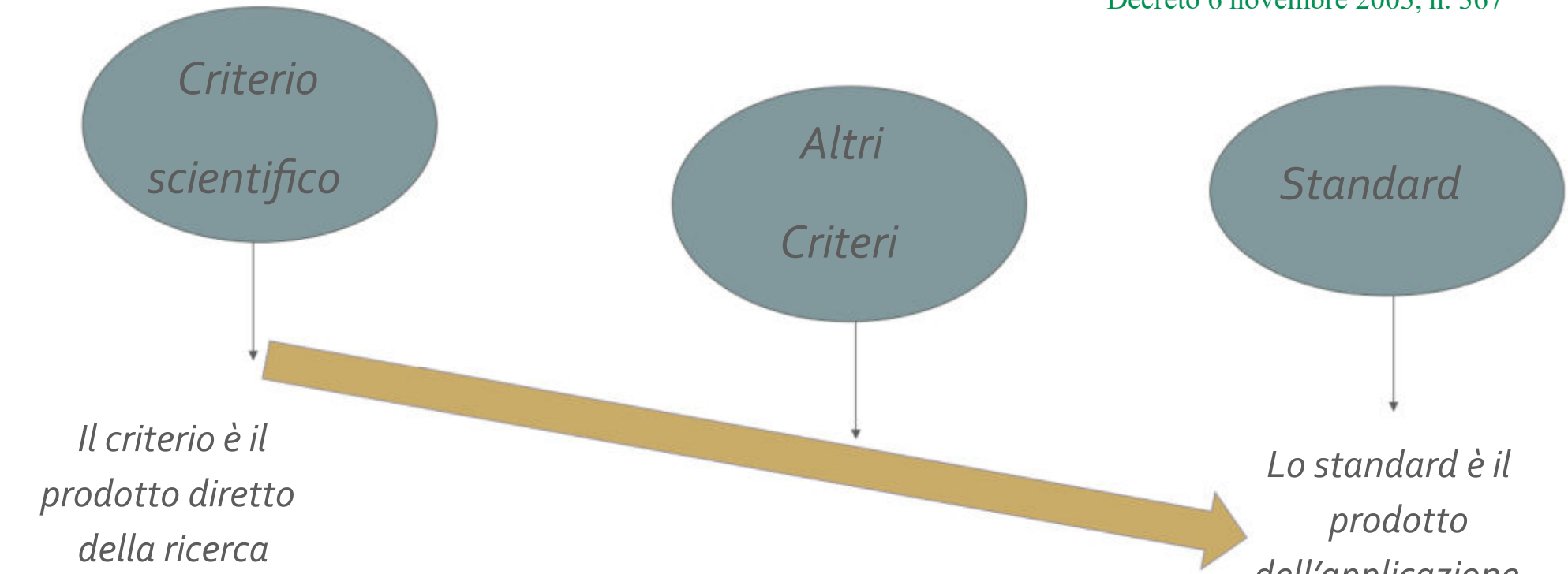
Pericolo e rischio sono definiti anche dalla art. 2, lettera r e lettera s del D.Lgs. 81/08.

Fonte:http://www.epa.gov/risk/risk-characterization.htm .

Come stimare l'impatto dell'uomo sull'ambiente?

Criteri vs Standard, definizione

Standard di Qualità per le Sostanze Pericolose
Decreto 6 novembre 2003, n. 367

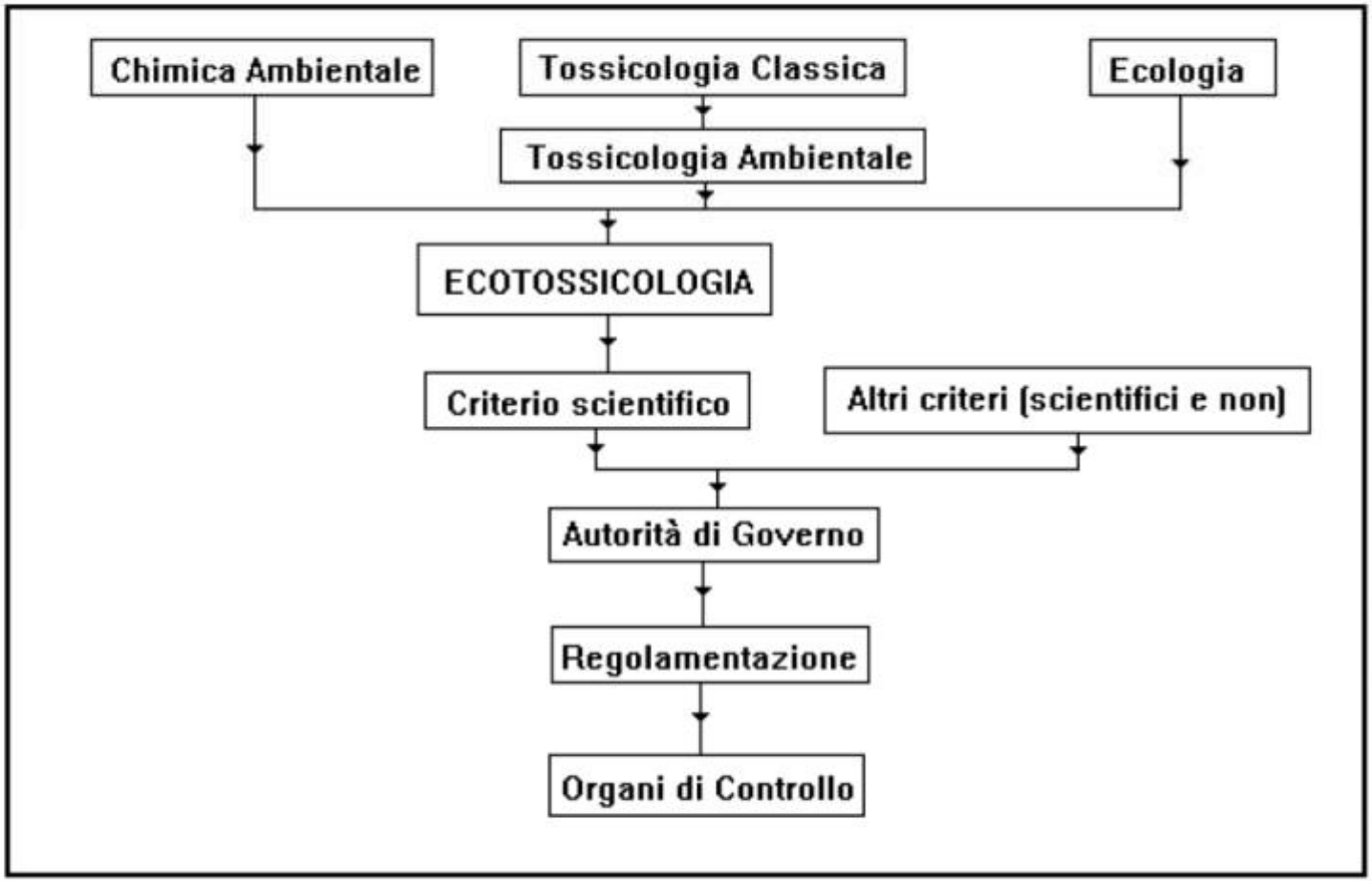


Il criterio è il prodotto diretto della ricerca scientifica in campo ambientale

Lo standard è il prodotto dell'applicazione legislativa del criterio

La definizione di un criterio è materia scientifica,
L'applicazione degli standard è materia governativa

COME SI PONE L'ECOTOSSICOLOGIA IN QUESTO CONTESTO?



· Componenti e funzioni dell'Ecotossicologia. Da Bacci e Vighi, 1998.

SFASAMENTI TEMPORALI TRA STANDARD E CRITERI SCIENTIFICI

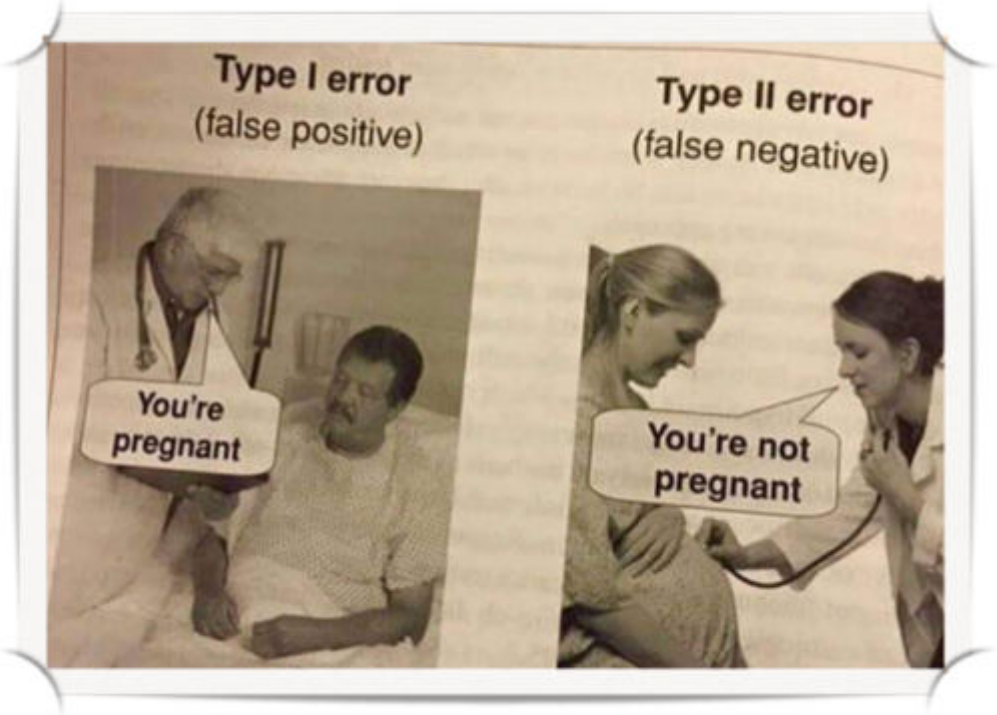
La normativa arriva prima dell'elaborazione di criteri scientifici

National Environmental Policy Act, NEPA, approvato nel 1969 e in vigore dal 1970, ha introdotto la Valutazione d'Impatto Ambientale (Environmental Impact Assessment, EIA) prima di disporre da parte delle agenzie federali (EPA) dei dati necessari ad elaborare i criteri scientifici di riferimento per le valutazioni.

La normativa arriva con eclatante ritardo rispetto ai criteri scientifici

Questo tipicamente è il caso più frequente: Nove anni di ritardo tra la pubblicazione delle linee guida ISPRA (2007) e il D.Lgs. 173/2016 e venti anni di ritardo tra questo adeguamento normativo e il precedente DM del gennaio 1996.

Methyl Tertiary Butyl Ether (MTBE), incluso con grande ritardo nell'elenco ufficiale delle sostanze pericolose dell'Unione Europea; Ritardi nei recepimenti dei Regolamenti Europei da parte degli stati membri (es. MSFD, target di buono per il 2020).



IFLScience - Statistics! | Facebook

Bacci, 2011

SFASAMENTI CONCETTUALI TRA STANDARD E CRITERI SCIENTIFICI

La octaclorodibenzo-p-diossina (OCDD) è ubiquitaria e persistente, ma di scarso significato tossicologico.

Inoltre, la OCDD che si ritrova, ad esempio, nei sedimenti di sistemi acquatici può derivare da una sintesi de novo in atmosfera a partire da vapori di pentaclorofenolo (Baker e Hites, 2000).

Nonostante questo nella norma si è deciso di adottare, per tale sostanza, un Fattore di Equivalenza Tossica rispetto alla "Diossina di Seveso" (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina) **dieci volte superiore a quello indicato dalla WHO nella riunione di esperti di Stoccolma (Svezia) nel giugno 1997** (10^{-3} contro 10^{-4}; van Leeuwen et al., 2000; confermato nel Decreto 8 novembre 2010 di cui sopra).

EVOLUZIONE DELLA SENSIBILITÀ SOCIALE

Assenza di regole per gli scarichi

Anni del boom economico del dopoguerra ('50) fino alla fine degli anni '70.

Legge Merli per la tutela delle acque dall'inquinamento (1976)

Oggi…

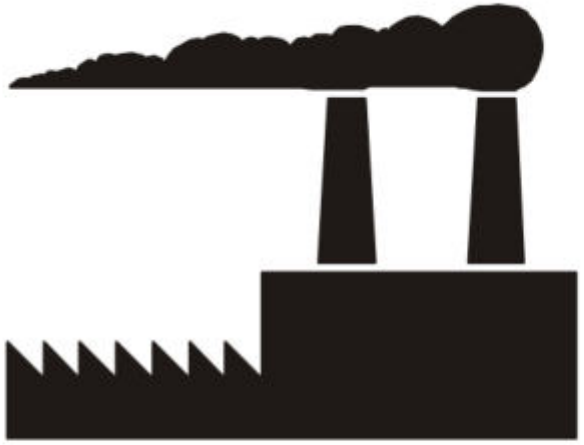
Normativa in continua evoluzione, produzione elevata di Regolamenti a livello comunitario e recepimenti nazionali e regionali che spesso complicano il quadro normativo.

L'approccio normato è basato su standard, liste di contaminanti preconfezionate e

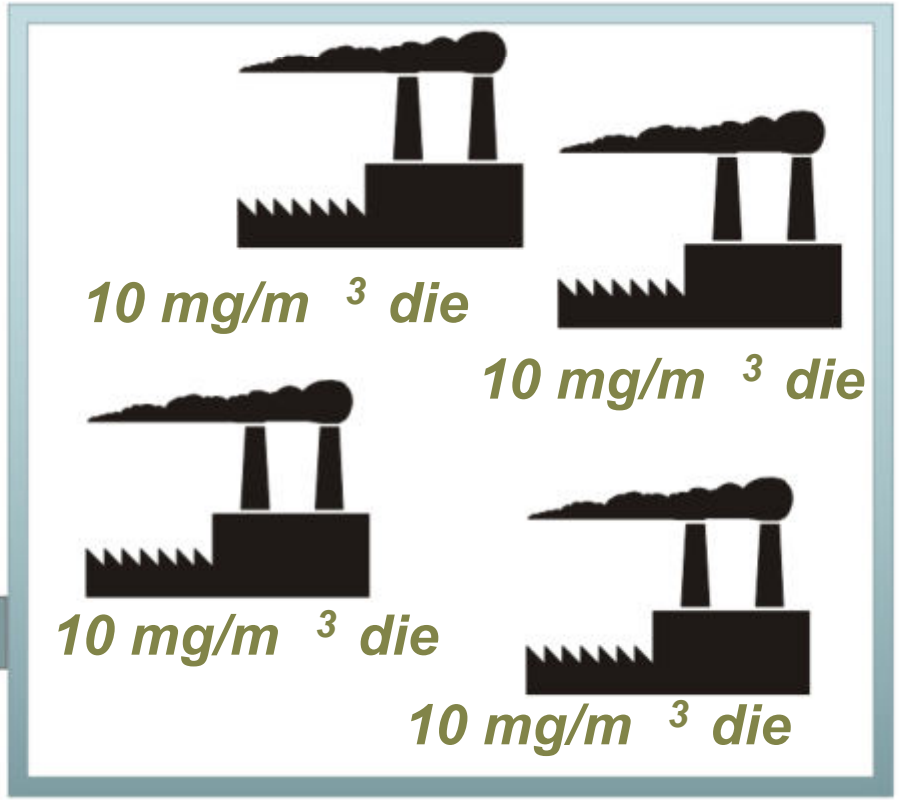
I limiti di questo approccio sono facilmente evidenziabili se si considera il contesto ricevente…

Non descrive gli effetti a livello di ecosistema e n el rispetto dello standard di emissione possono sussistere situazioni ambientali di inaccettabilità

Numerosi scarichi dello stesso tipo si sommano nel sistema ricevente



10 mg/m ^{3} die



40 mg/m^3 die

RICERCA DI CONTAMINANTI DA LISTE "PRECONFEZIONATE"

Le liste preconfezionate dalla norma per la selezione delle molecole di interesse sono "comode" ma problematiche
Lo studio della contaminazione deve essere contestualizzato: zone urbane, agricole, industriali risentiranno diversamente della contaminazione locale, ma in ugual misura di quella a medio e lungo raggio (global pollution).
Per questo è necessario definire livelli di fondo su base locale per elementi naturali e per elementi accelerati dall'azione umana.

Il rischio che si corre è quello di trovare ovunque gli stessi contaminanti, con meraviglia, dimenticando che si tratta, magari, di contaminanti globali (Bacci, 1994).

La rimozione o il controllo di questi ultimi richiede tempi piuttosto lunghi, legati all'inerzia del sistema (Bacci 2011).

I sistemi naturali acquatici soffrono anche per l'immissione di sostanze non tossiche: si pensi al potere modificante di un eccesso di nutrienti.

Chemistry and Ecology, 2014
http://dx.doi.org/10.1080/02757540.2014.943200

AREE GEOLOGICAMENTE ANOMALE



Baseline levels of trace elements in coastal sediments from the central Mediterranean (Tuscany, Italy)

Monia Renzi[a*], Nicola Bigongiari[b] and Silvano E. Focardi[a]

Table 6. Linear regression ($0.50 < r < 0.70$).

Equation ($y = ax(\pm SD) + b(\pm SD)$)	CAi	Cas	r
Hg = 0.073(±0.006)Fe −0.050(±0.011)	0.062	0.085	0.63
Ni = 13.84(±1.02)Fe +20.98(±2.13)	11.8	15.9	0.63
Cr = 1.204(±0.08)Li +25.39(±3.52)	1.05	1.36	0.67
As = 0.771(±0.07)Li +1.187(±3.100)	0.63	0.91	0.55

Mathematical regressions ($y = ax + b$) and associated linearity (r) for a significance level of $p < .01$. CAi and CAs represent lower and upper thresholds associated to the values of the angular coefficient (a) for trace elements reported in linear regression modelled.

La presenza di elevati livelli di alcune sostanze tossiche note, magari presenti per anomalie naturali in forme non biologicamente attive, può portare ad attribuire a queste effetti dovuti ad altri fattori, non considerati.

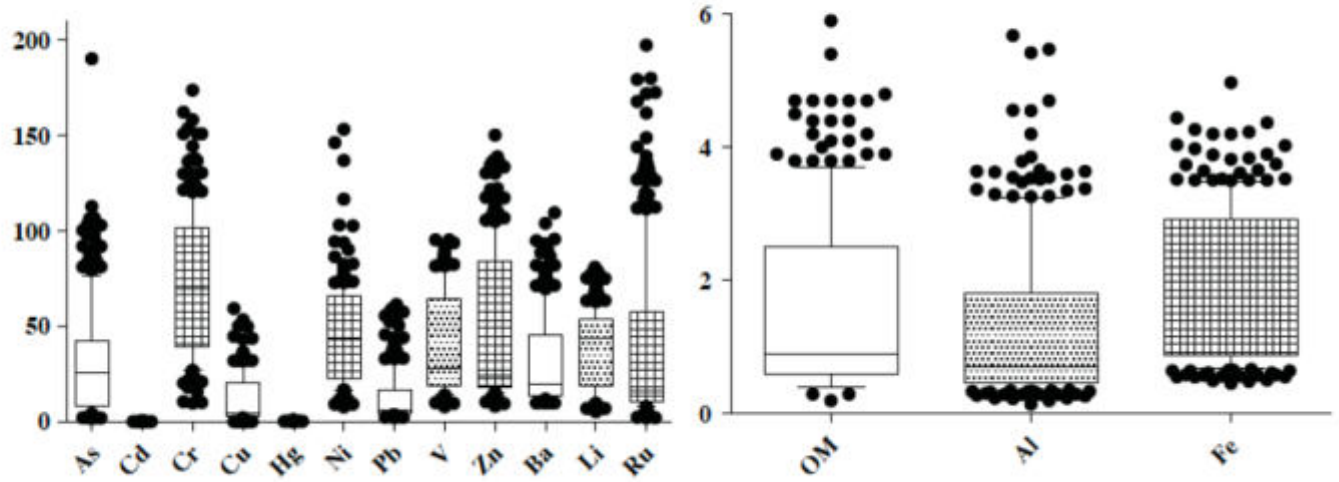
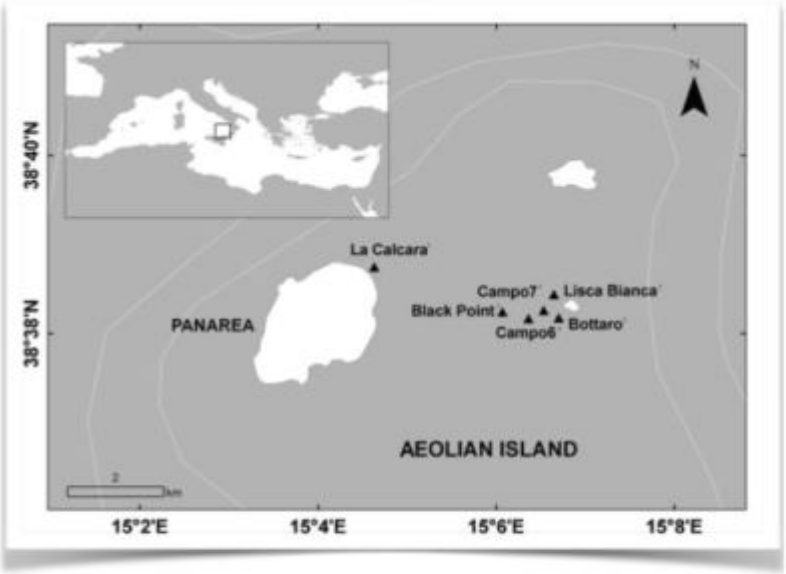
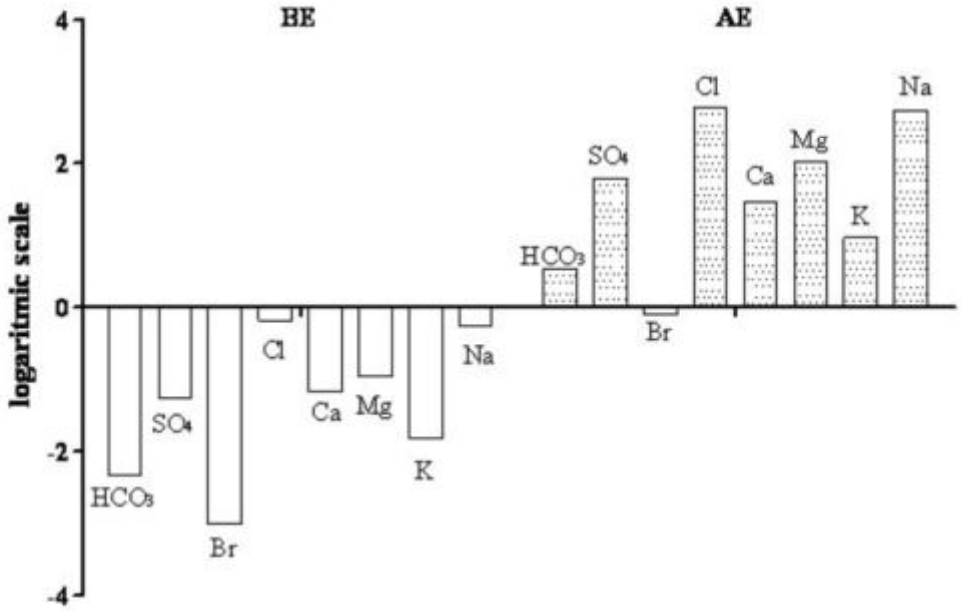


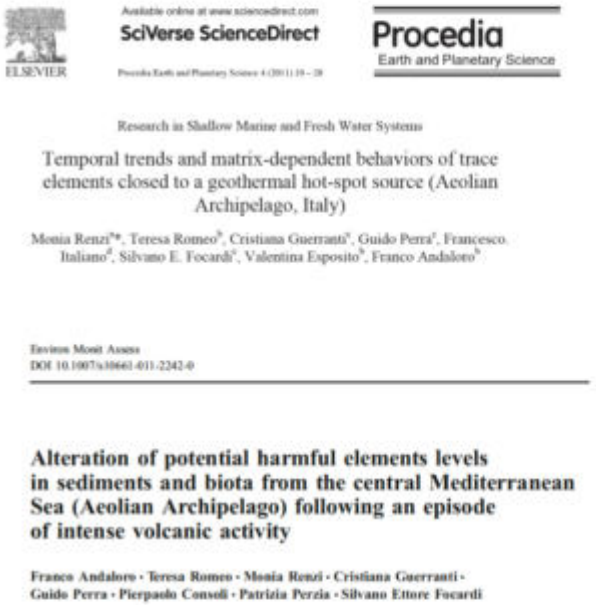
Figure 2. Box-whiskers.
Note: Data expressed as mg kg^{-1} d.w. with the exception of OM, Al, and Fe expressed as % d.w..

EVENTI PAROSSISTICI STRAORDINARI:

IL CASO DELLE EOLIE







ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

Procedia
Earth and Planetary Science

Research in Shallow Marine and Fresh Water Systems

Temporal trends and matrix-dependent behaviors of trace elements closed to a geothermal hot-spot source (Aeolian Archipelago, Italy)

Monia Renzi*, Teresa Romeo, Cristiana Guerranti, Guido Perra, Francesco Italiano, Silvano E. Focardi, Valentina Esposito, Franco Andaloro

Environ Monit Assess
DOI 10.1007/s10661-011-2242-0

Alteration of potential harmful elements levels in sediments and biota from the central Mediterranean Sea (Aeolian Archipelago) following an episode of intense volcanic activity

Franco Andaloro · Teresa Romeo · Monia Renzi · Cristiana Guerranti · Guido Perra · Pierpaolo Consoli · Patrizia Perzia · Silvano Ettore Focardi

Fig. 2. Average levels of each chemical water descriptor in stations from the Ants of Panarea islets. Data are expressed as logarithmic transformation of measured concentration originally expressed as μgL^{-1}. Data are grouped as average before (BE, white lines) and averages immediately after (AE, grey lines) the paroxysmal activity. HCO^{3-} = carbonic acid, SO_4^{2-}=sulfate, Br = bromine, CL = chlorine, Ca = calcium, Mg = magnesium, K = potassium, Na = sodium.

EVENTI PAROSSISTICI STRAORDINARI: IL CASO DELLE EOLIE

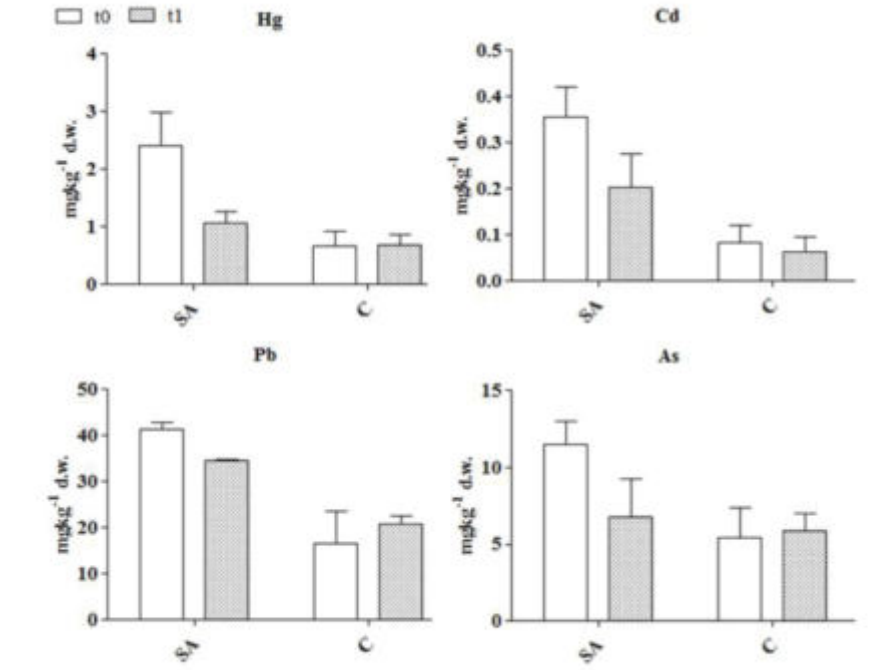
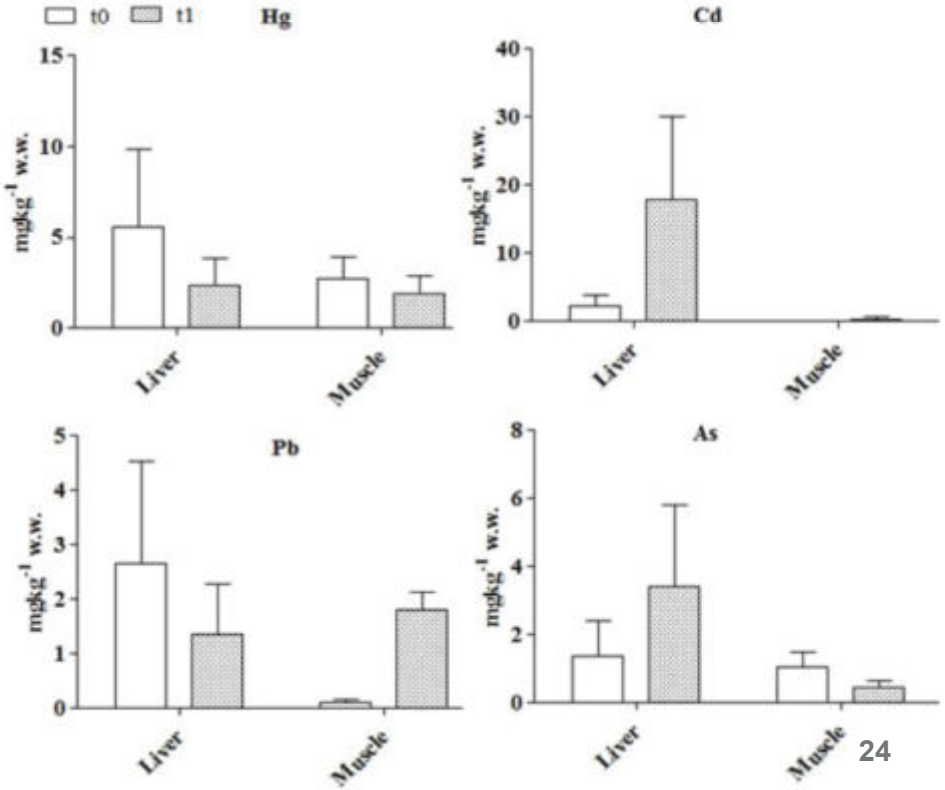


Fig. 6. Average trace element levels measured in *C. compressa*. Average (+ standard deviation) data are grouped both by the factor location (two levels, fixed: study area, SA versus controls, C), and time from the event (two levels, fixed and orthogonal: T_0 after the event, November 2002 versus T_1 ten months after the event, September 2003). Hg = Mercury, Cd = Cadmium, Pb = Lead, As = Arsenic, d.w. = dry weight





COME TUTTO HA AVUTO INIZIO…

DDT
Primavera
Silenziosa

Cadmio in
Giappone
Morbo Itai-Itai

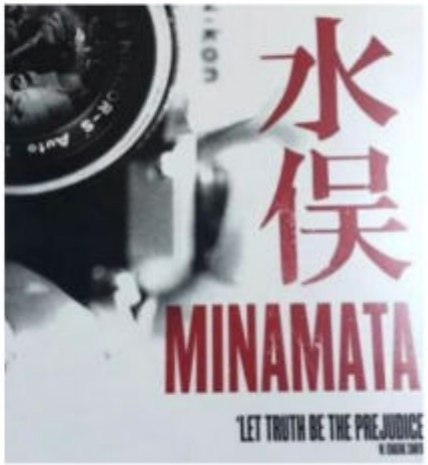
Mercurio
Caso Minamata
Giappone

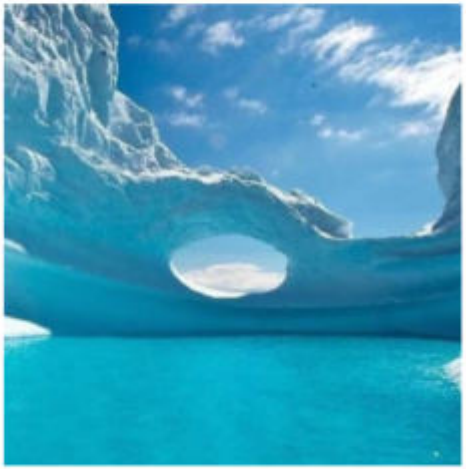
POPs
Antartide

Problemi significativi con sostanze chimiche…
si ha evidenza che gli approcci retrospettivi non sono sufficienti a contenere i disastri…











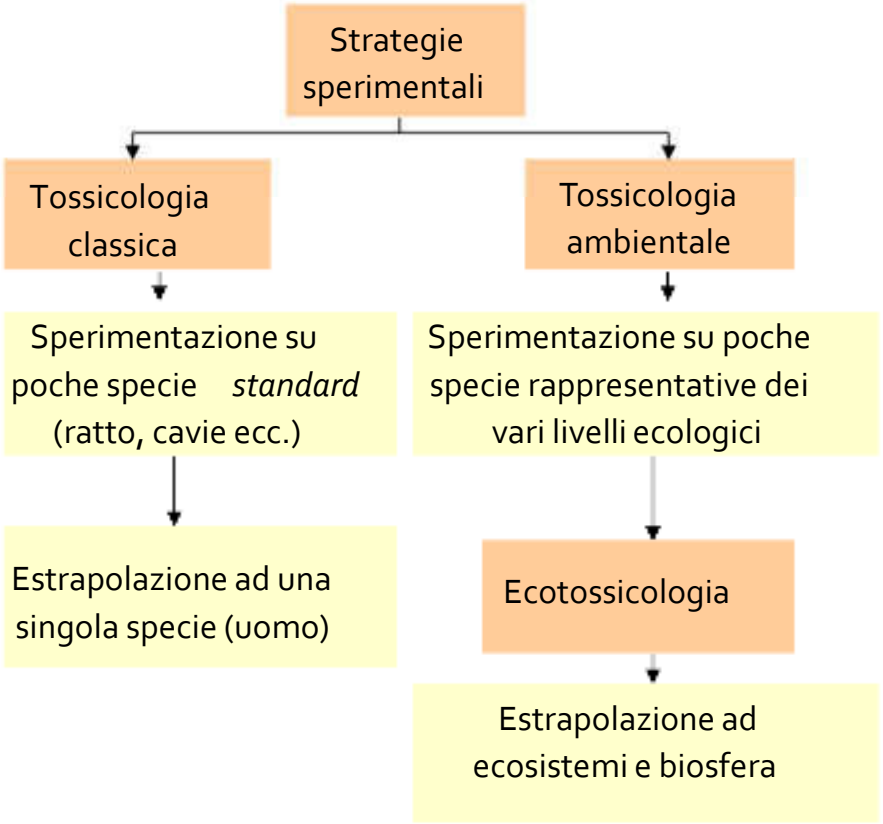
LESS “WHERE?” …

MORE “HOW?” AND “WHY?” …

David A. Wright, 1985

…LA NASCITA DELL’ECOTOSSICOLOGIA

Tossicologia classica, tossicologia ambientale ed ecotossicologia



L'ecotossicologia combina due argomenti molto diversi: l'ecologia (lo studio scientifico delle interazioni che determinano la distribuzione e l'abbondanza degli organismi, Krebs 1985) e la tossicologia (lo studio degli effetti nocivi delle sostanze sugli organismi viventi, generalmente l'uomo).

In tossicologia gli organismi rappresentano il limite dell'indagine mentre l'ecotossicologia aspira a valutare l'impatto delle sostanze chimiche non solo sugli individui ma anche sulle popolazioni e sugli interi ecosistemi.

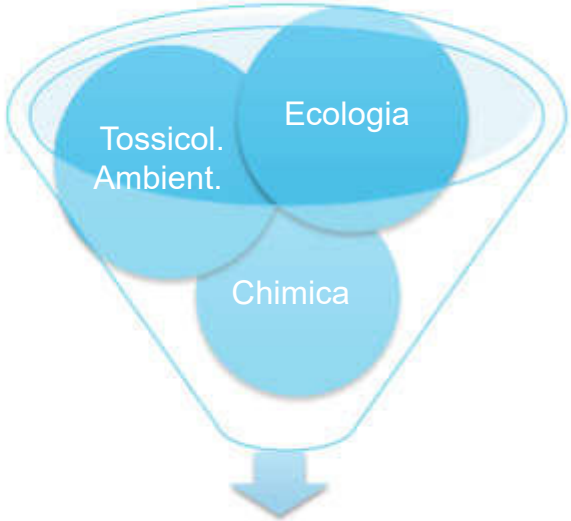
L'ecotossicologia ha il campo di azione più ampio

Il fine dell'ecotossicologia è la conservazione dell'integrità funzionale degli ecosistemi

LA NASCITA DI UN NUOVO APPROCCIO: L'ECOTOSSICOLOGIA

Alla fine degli anni '60 si è acquisita consapevolezza riguardo al fatto che la conservazione della specie umana non può prescindere dalla conservazione dell'integrità funzionale degli ecosistemi

Si hanno evidenze che gli approcci tradizionali basati sulla protezione della salute umana e sul monitoraggio chimico non sono adatti alla tutela dell'ambiente



Ecotossicologia

Nasce l'ecotossicologia come integrazione trasversale di discipline classiche per perseguire più efficacemente la tutela dell'ambiente

(René Truhaut, 1969)

Truhaut R. (1975) Ecotoxicology - A new branch of toxicology: a general survey of its aims, methods and prospects. In McIntyre A.D. e C.F. Mills (eds) Ecological Toxicology Research, Plenum Press, New York, pp. 3-23.

OBIETTIVI DELL'ECOTOSSICOLOGIA (FORBES E FORBES, 1994)

- Ottenere dati per la valutazione del rischio e la gestione ambientale.
- Soddisfare i requisiti legali per lo sviluppo e il rilascio di nuove sostanze chimiche.
- Sviluppo di principi empirici o teorici per migliorare la conoscenza del comportamento e degli effetti delle sostanze chimiche nei sistemi viventi

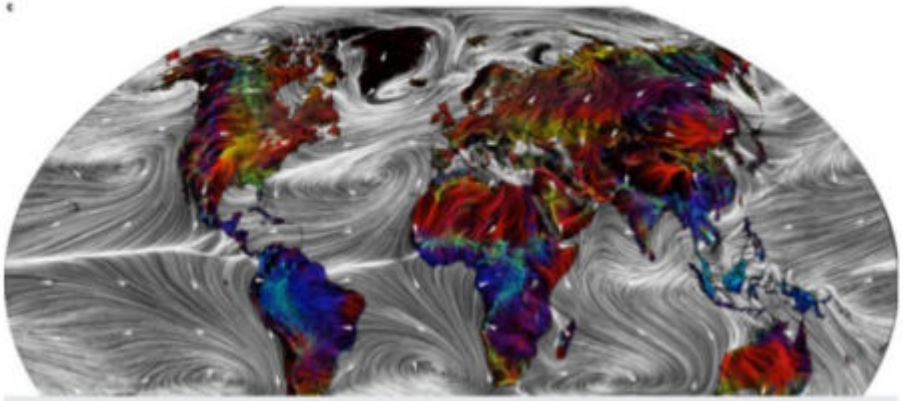
Durante i primi anni, i principali strumenti di Tossicologia Ambientale erano: rilevamento di residui tossici nell'ambiente o in singoli organismi e test per la tossicità delle sostanze chimiche su animali diversi dall'uomo. Tuttavia, è stato un grande salto di comprensione da un animale sperimentale a un ambiente complesso e multivariato e il soggetto di ECOTOSSICOLOGIA sviluppato dalla necessità di misurare e prevedere l'impatto degli inquinanti su popolazioni, comunità e interi ecosistemi piuttosto che sugli individui. È in corso un dibattito sull'ambito esatto e sulla definizione di ecotossicologia.

La definizione più semplice finora trovata è che l'ecotossicologia è "lo studio degli effetti nocivi delle sostanze chimiche sugli ecosistemi" (Walker et al, 1996)

Una definizione più completa di Ecotossicologia viene da Forbes & Forbes 1994 "il campo di studio che integra gli effetti ecologici e tossicologici degli inquinanti chimici su popolazioni, comunità ed ecosistemi con il destino (trasporto, trasformazione e degradazione) di tali inquinanti nell'ambiente".

VERSO UNA DEFINIZIONE INTEGRATA DI ECOTOSSICOLOGIA

- **L'ecotossicologia è una disciplina rivolta allo studio del destino e degli effetti dei contaminanti nell'ambiente, con metodo scientifico, ovvero non limitandosi all'osservazione ed alla descrizione dei fenomeni, ma elaborando anche previsioni**



NATURE.COM
Global wind patterns and the vulnerability of wind-dispersed species to climate change

Senza previsione non c'è Scienza: si possono solo raccontare delle "storie naturali" (Bacci, 2011).

Bacci E. (1994) Ecotoxicology of Organic Contaminants. Lewis Publishers/CRC Press, Inc., Boca Raton, FL (USA).
Bacci E., M. Vighi (1998) Tossicologia classica, ambientale ed ecotossicologia: metodi, strategie, obiettivi. In: Vighi M. e E. Bacci (eds) Ecotossicologia. UTET, Torino, pp. 3-7.
Calamari D., Bacci E. (1987) Environmental distribution and fate of pesticides. A predictive approach. In: L.G. Costa and C.L. Galli (Eds) Toxicology of Pesticides: Experimental, Clinical and Regulatory Perspectives. NATO ASI Series, Vol. H13, Springer-Verlag, Berlin, pp. 171-184.

COSA STUDIA L'ECOTOSSICOLOGIA?

Effetti di sostanze chimiche su comunità ed ecosistemi a diverso livello di scala gerarchica

Ecotossicologia



Fonti puntiformi

es. effluenti municipali e/o industriali



Fonti diffuse

es. deposizione atmosferica, runoff da aree agricole e/o urbane



Targets Ecotossicologia

Qualsiasi performance biologica che può essere compromessa dalla sostanza chimica

Stress ecology

Effetti di stressori naturali su comunità ed ecosistemi

(es. temperatura, ossigeno, salinità)

Tossicologia ambientale

Effetti di sostanze chimiche su cellule, organismi singoli

MACROAREE DI APPLICAZIONE DELL'ECOTOSSICOLOGIA

1) Valutazione dei rischi associati all'immissione sul mercato di nuovi prodotti (approccio a monte);

2) Misura, sul campo, di danni a carico degli organismi viventi in presenza di fenomeni di inquinamento (approccio a valle);

3) Misura dello scostamento dalla naturalità di ambienti più o meno compromessi, anche in totale assenza di fenomeni di tossicità, finalizzata alla tutela della qualità e dell'integrità delle risorse naturali.

(Bacci e Caneschi, 2008)



DI QUALI STRUMENTI DI INDAGINE DISPONE OGGI?

Approcci

- Risk assessment
- Biotests
  - Test in vitro
  - Test in vivo

complessità ↓

- *Test di laboratorio su specie singola*
- *Test di laboratorio su batterie di specie*
- *Test di campo*
- *Test in situ*
- *Biomarkers: esposizione e stato di salute*

ATTENZIONE: In alcuni casi il modello di laboratorio non simula perfettamente altre specie. Ad esempio alcuni tumori di esposizione



Effect	*In vitro* Test	Responsive to	Standard Protocol /Reference
Aryl hydrocarbon (Ah) receptor (m-) activation	Recombinant cell based assays, e.g., H4IIE-luc, AhR-CAFLUX, DR-CALUX®	Dioxins, coplanar polychlorinated biphenyls (PCBs), poly-aromatic hydrocarbons (PAHs)	[21] BioDetection Systems BV, Amsterdam, NL [28] (US EPA, Method 4435, 2007) [29]
(Anti-) Estrogenicity	(anti-) Yeast estrogen screen (YES)	Natural and synthetic estrogens, bisphenol A, nonylphenol, phthalates (anti), and others.	[23]
	Cell-based reporter gene assays, such as T47D-Luc, T47D-KBluc, ER CALUX®		[30] [31] [21] BioDetection Systems BV, Amsterdam, NL
	Cell proliferation assay (MCF-7, E-screen)		[32]
(Anti-) Androgenicity	(anti-) yeast androgen screen (YAS)	Natural and synthetic androgens, e.g., androstanedione	[33]
	Cell-based reporter gene assays, such as AR-CALUX®		[21] BioDetection Systems BV, Amsterdam, NL

Biotests: in vitro tests

Esempi di test in vitro promettenti e sostanze chimiche alle quali rispondono



Effect	*In vitro* Test	Responsive to	Standard Protocol /Reference
Thyroid hormone disruption	Transthyretin (TTR)-binding assay	Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), PCBs, and other halogenated phenols, pesticides	[34]
	Cell-based reporter gene assays, such as TR CALUX®		[21] BioDetection Systems BV, Amsterdam, NL
	Cell proliferation assay (T-Screen)		[35]
Genotoxicity/ DNA damage	Ames assay	Heavy metals, pesticides, PAHs and others	ISO 16240, 2005, DIN 38415-3, 1999
	UmuC-assay		ISO13829, 2000
	Micronucleus assay		ISO 21427-2, 2006
Neurotoxicity	Inhibition of acetylcholinesterase	Organophosphate/ carbamate insecticides	DIN 38415-1 [36]
Inhibition of Photosynthesis	Combined algae test	Herbicides	[37]
Cytotoxicity	Microtox (luminescent bacteria) assay	Unspecific	ISO 11348-3 [37]
	Cell viability assays such as MTT or neutral red staining	Unspecific	[38] [39]



Biotests: in vivo tests

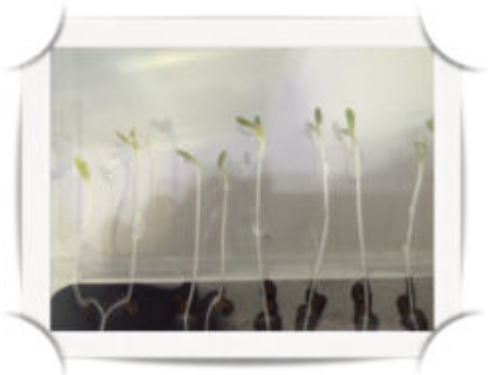
Gli organismi sono esposti a matrici contaminate o campioni reali



Test con singole specie

Test con batterie multispecie

Due applicazioni di routine:
-) test di sostanze singole per la registrazione REACH
-) test di qualità ambientale



Organism	Exposure period	Test type	Toxicity Endpoint	Standard protocols
Green algae:				
Pseudokirchneriella subcapitata	72–96 h	chronic	growth	ISO 8692, [40]
Waterflea:				
Daphnia magna	48 h 21 days	acute chronic	mortality fecundity	ISO 6341-L40, US EPA, 2002
Ceriodaphnia dubia	96 h 7–8 days	acute chronic	mortality fecundity	ISO 20665, [40]
Fish:				
Danio rerio *Oncorhynchus mykiss* *Pimephales promelas*	96 h 28 days 96 h 7 days	acute chronic acute chronic	mortality growth mortality growth	ISO 7346 ISO 10229 [40,41]

VANTAGGI E LIMITI DELL'APPROCCIO ECOTOSSICOLOGICO



- Permettono valutazioni globali dell'impatto di tutti gli agenti inquinanti sull'ambiente naturale
- Sono condotti in laboratorio in condizioni controllate e standardizzate
- Test pratici e di facile impiego
- Utilizzano specie indicative e sensibili per valutare impatti sull'ambiente
- Breve durata del test
- Chiare relazioni dose-effetto
- Endpoint facili da rilevare
- Specie rappresentative per l'ambiente
- Popolazioni testate con variabilità genetica contenuta
- Metodi standardizzati



- Non permettono di testare tutte le specie ambientali esposte, né tutte le possibili vie di esposizione
- Valutano l'effetto inquinante ma non ne identificano la causa
- Impossibilità di riprodurre in laboratorio la complessità degli ambienti naturali
- Utilizzano un numero limitato di specie
- Scarsa rappresentatività ambientale
- Scarso potere predittivo su casi reali

Talvolta può fornire una risposta "SUPERFICIALE"

In vivo tests

- *Test in campo*
- *Test in situ*
- *Biomarkers*
- *Indici di comunità*

In situ tests

Test in campo

I test di laboratorio ignorano l'effetto additivo di stressori fisici e biologici che gli organismi incontrano in condizioni naturali

- **Step intermedio tra le condizioni di laboratorio e il monitoraggio ambientale**
- **è richiesta una accurata pianificazione**
- **Le specie testate devono essere rilevanti per il sito di studio e come specie modello oppure essere specie chiave.**

I fattori ambientali sito-specifici possono indurre una deviazione importante sui risultati
Metodi non standardizzati (es. sistemi by-pass, gabbie, organismi trapiantati)
Gli organismi test non devono subire stress dalle enclosures
L'esposizione chimica deve essere misurata e determinata per identificare effetti tossici
Le condizioni dell'habitat di riferimento/controllo devono essere confrontabili con il sito di studio

BIOMARKERS

Forniscono risposte integrate a dosi subletali in condizioni di stress simulato o in condizioni naturali su tutti gli organismi viventi

Sono definiti come "alterazioni molecolari, biochimiche, cellulari e biologiche causate da uno stessore esterno"

Huggett et al., 1992

Neurotossicità

acetil-colinesterasi



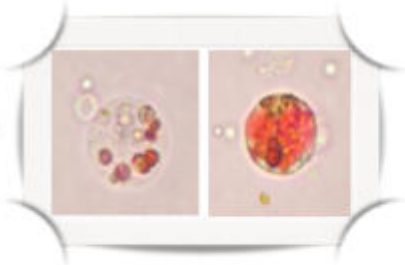
Stress ossidativo

Glutatione perossidasi;
Glutatione-S-transferasi;
Superossidodismutasi;
Catalasi



Danno lisosomiale

Test del rosso neutro



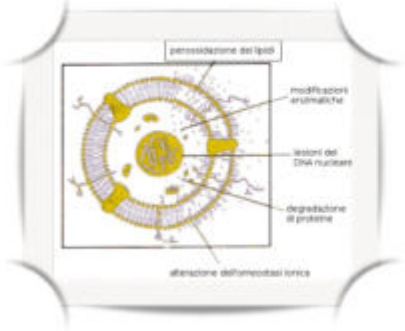
Genotossicità

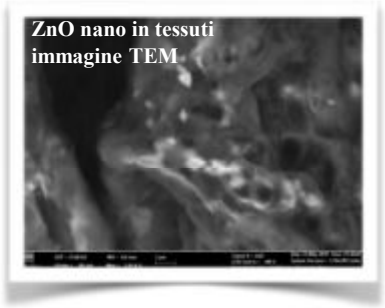
Test dei micronuclei



Danno cellulare

Carbossilazione proteica
Perossidazione lipidica





Istopatologia

Danno strutturale organi vitali:

- *epato-pancreas*
- *apparato branchiale*
- *gonadi*
- *alterazioni tessuti embrionali*



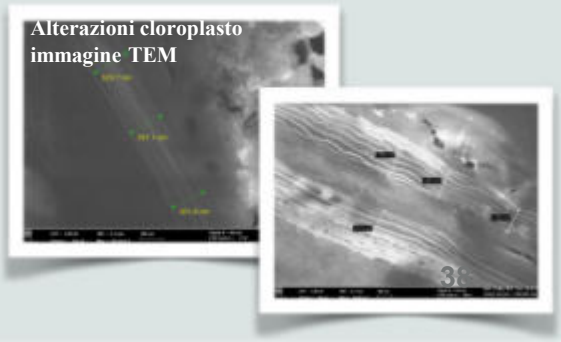
Alterazioni strutturali

- *Anomalie apparato radicale*
- *Alterazione allungamento fusto*
- *Alterazione tempi di foliazione*
- *Aging precoce (riduzione tempo seme)*

Stress cloroplasto

Alterazione del complesso fotosintetico

Danni al cloroplasto



Immagini rappresentative tratte da letteratura

Indicatori di stress precoce e strumenti innovativi

Nuovi strumenti

- *Transcriptomics*
- *Proteomics*
- *Metabolomics*
- *Epigenetics*
- *Genotyping*

Analisi globale dell'espressione genica (mRNA)

Inefficienze, tassi di degradazione, inefficienze translazionali

Valutazione ad alto rendimento delle risposte funzionali dell'espressione genica (proteine)



More robust approach for ERA

- **Metabolomica** - Concentrazione del metabolita che rappresenta l'attività enzimatica sugli xenobiotici (processi di degradazione), fortemente associata a tecniche bioinformatiche
- **Epigenetica** - Cambiamenti nella funzione genica o nel fenotipo cellulare senza cambiamenti nelle sequenze di DNA (es. Qualsiasi metilazione o modifica dell'istone)
- **Genotipizzazione** - Evidenziare cosa significa sensibilità da un organismo all'altro. Parametro importante per la resilienza dell'ecosistema che evidenzia la sensibilità intra-specie

INDICI DI COMUNITA'

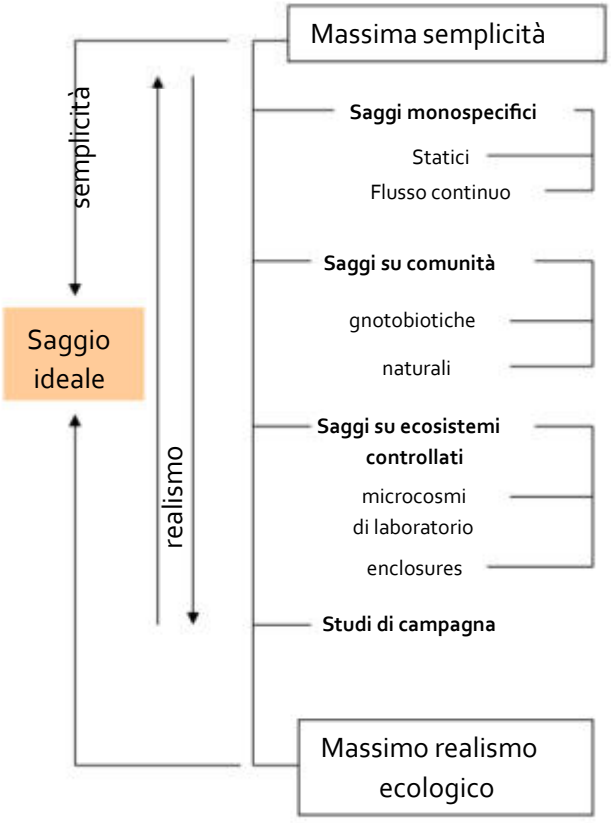
Le comunità di organismi si trovano a un livello di organizzazione biologica che rappresenta l'integrità dell'ecosistema poiché derivano dagli effetti combinati di fattori di stress fisici, chimici e biologici che agiscono

- **Cambiamenti nella struttura (numero, abbondanza e diversità**
- **Cambiamenti nella funzione (sostituire specie sensibili con resistenti)**

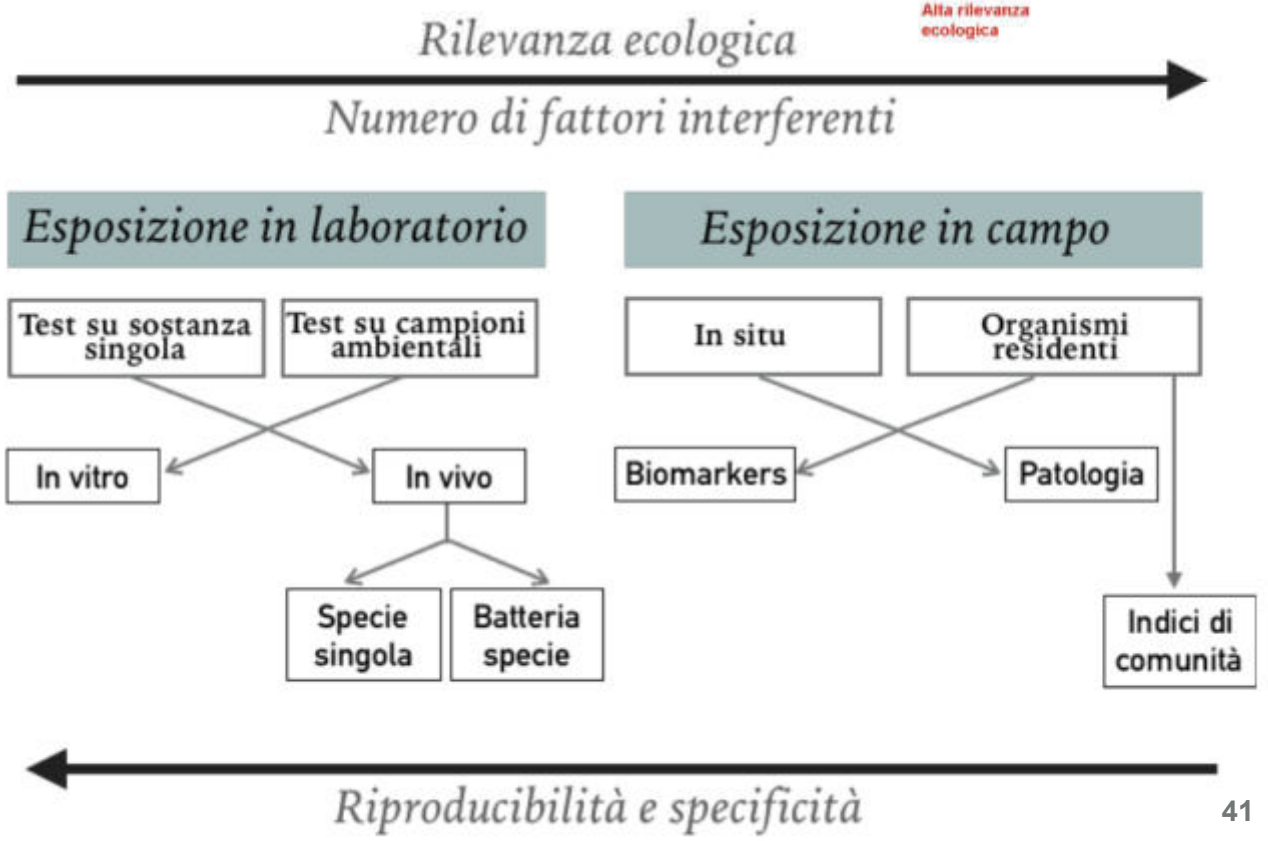
- **Indice di integrità biologica (IBI)**
- **SPEcies At Risk (SPEAR)**
- **Tolleranza della comunità indotta dall'inquinamento (PICT)**

DM 173/2016 - Dragaggio di sedimenti
Diversità macrozoobentica nei fondi molli

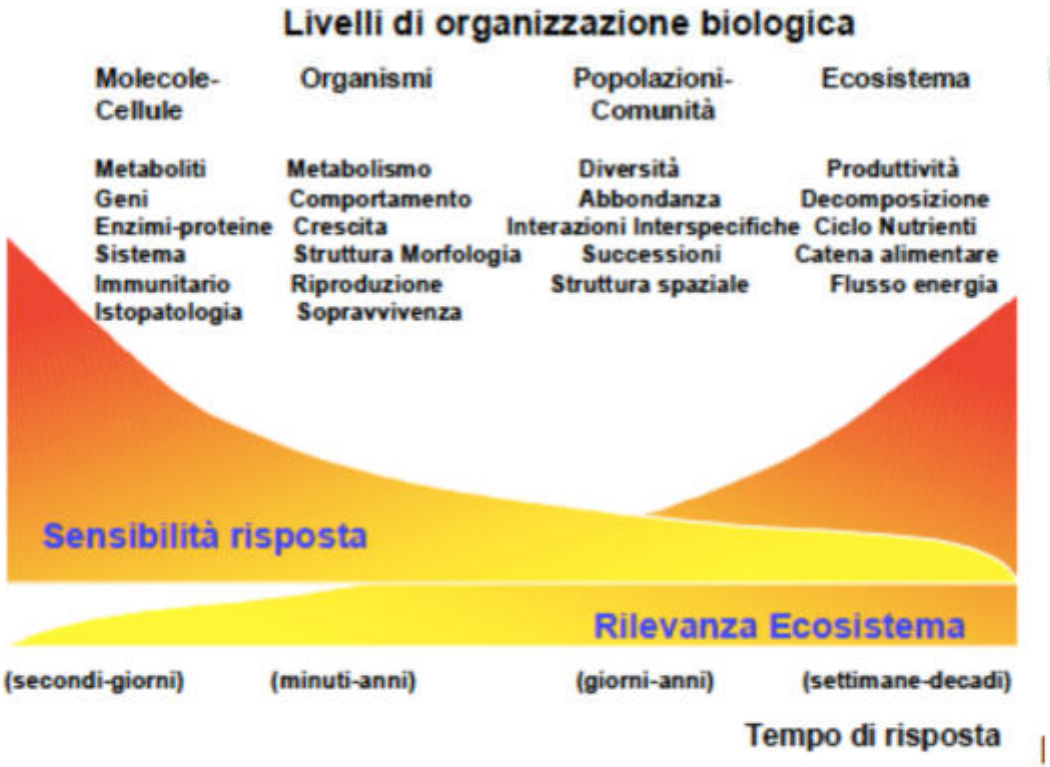
Scale dimensionali e temporali delle risposte







La quadratura del cerchio:
ottimizzare rilevanza, sensibilità e tempi di risposta



Sensibilità e rilevanza dei test ai diversi livelli di organizzazione (Burton, 1991).



Mirare a diversi livelli di organizzazione biologica dalle molecole alle comunità

Una concreta opportunità per servizi di consulenza ed analisi su scala locale

Dragaggi fondali marini e sistemi portuali

Emissioni in ambiente

Tutela delle acque

Sostanze chimiche e miscele commerciali

SIN

AMP

Rifiuti

Leggi nazionali ed internazionali

- Decreto Ministeriale n. 173; 15 Luglio 2016
- Decreto Ministeriale n. 172; 15 Luglio 2016 (SIN)
- Regolamento CE 440; 2008 (REACH)
- Decreto Legislativo n. 152; 2006 (Standard ambientali)
- Classificazione dei rifiuti (HP14)
- Regolamento a tutela delle acque superficiali (testo unico ambiente)

REACH - Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemical substances
WFD - Water Framework Directive



L'ecotossicologia è una disciplina relativamente recente che nasce dall'evidenza del fallimento del solo approccio chimico nella efficace conservazione dell'integrità degli ecosistemi

Raccoglie i contributi di settori come tossicologia, chimica, ecologia, geologia, matematica, fisica, biologia, biochimica e li utilizza per valutare il **rischio integrato di esposizione** degli organismi e degli ecosistemi a sostanze e miscele

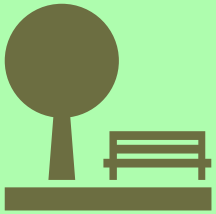
Interagisce con la stress ecology per valutare effetti in un contesto dinamico alterato dai fenomeni di "global change"

Dispone di strumenti diagnostici molto vari e necessita di competenze ampie per l'acquisizione dei dati ma anche per la loro interpretazione



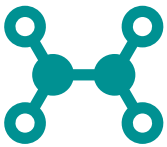
DOMANDE?

POTENZIALE APPLICATIVO: APPLICAZIONE A MATRICI AMBIENTALI



Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

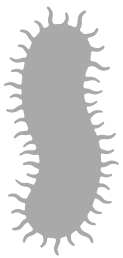
Matrici ambientali





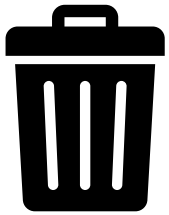
Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

Ricerca scientifica



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

Applicazioni agricoltura

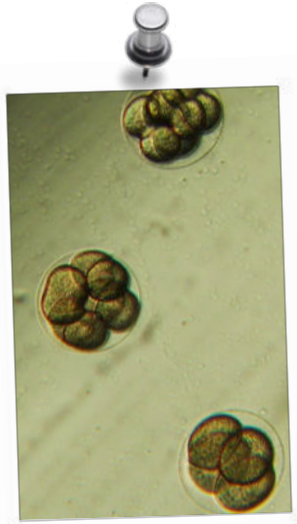


Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

Ecologia e funzionamento ecosistemi

BATTERIE DI SAGGI ECOTOSSICOLOGICI PER LA VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DI MATRICI AMBIENTALI











APPLICAZIONE AI RIPASCIMENTI MORBIDI

I ripascimenti morbidi nascono dall'esigenza di contrastare il fenomeno di erosione costiera



Enrico Giovannelli 7 h ·





Sono attività potenzialmente impattanti che prevedono la movimentazione di volumi ingenti di sedimento marino per il ripristino della linea di costa o per la conservazione della pervietà delle aree portuali

Biotests: Batterie di saggi ecotossicologici DM 173/16



Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione dell'immissione in mare dei materiali di escavo dei fondali marini

Tabella 2.3 – Saggi biologici utili per l'allestimento della batteria. Con la "x" vengono indicati i possibili saggi alternativi per ciascuna tipologia

Gruppo	Batteri		Alghe	Crostacei					Molluschi Bivalvi		Echinodermi	
Specie	*Vibrio fischeri* (*Bacteria*)		*Dunaliella tertiolecta* *Pheodactylum tricornutum* *Skeletonema costatum* (*Algae*)	*Amphibalanus amphitrite* (*Crustacea*)	*Corophium* spp (*Crustacea*)	*Acartia tonsa* (*Crustacea*)		*Tigriopus fulvus* (*Crustacea*)	*Crassostrea gigas* (*Bivalvia*)	*Mytilus galloprovincialis* (*Bivalvia*)	*Paracentrotus lividus* (*Echinodermata*)	
Matrice	fase liquida	fase solida	fase liquida	fase liquida	Sed. intero	fase liquida	Sed. intero	fase liquida	fase liquida	fase liquida	fase liquida	
Endpoint	Bioluminescenza		Crescita algale	Mortalità	Mortalità	Mort. (48 h)	Mort. (7 gg)	Sviluppo larvale	Mortalità	Sviluppo larvale	Sviluppo larvale	Fecon-dazione	Sviluppo larvale
1ª tipologia		XA			XA			XC					
2ª tipologia	XA		XC	XA		XA			XA			XA	
3ª tipologia							XC			XC	XC		XC

A = saggio acuto
C = saggio cronico/a lungo termine/subcronico/risp. subletale

POTENZIALE APPLICATIVO: RIFIUTI/SITI DI INTERESSE NAZIONALE (SIN)



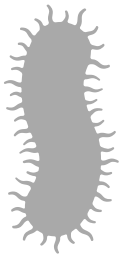
Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

Matrici ambientali



Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

Ricerca scientifica



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

Applicazioni agricoltura



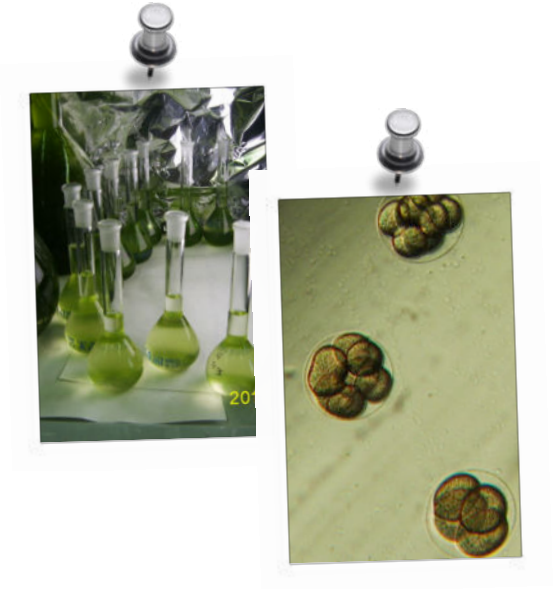
Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

Ecologia e funzionamento ecosistemi

HP14: CARATTERIZZAZIONE ECOTOSSICOLOGICA DEI RIFIUTI



HP14: CARATTERIZZAZIONE ECOTOSSICOLOGICA DEI RIFIUTI



Solido, pulverulento



Preparazione dell'eluato per i test di tossicità:

L'eluato del campione è stato preparato secondo la Norma UNI EN 14735:2005. Il campione è stato ridotto meccanicamente a granulometria conforme alle caratteristiche richieste dalla norma (<4 mm). Il rapporto adottato è stato 1:10 p/v (solido secco/liquido). L'eluato da testare è stato preparato utilizzando acqua deionizzata, mantenuto in agitazione per 24 ore e successivamente filtrato su membrana sterile con porosità di 0,45 µm. L'eluato ottenuto è stato trasferito in un contenitore di materiale inerte e conservato refrigerato fino al momento delle analisi.

Considerazioni generali:

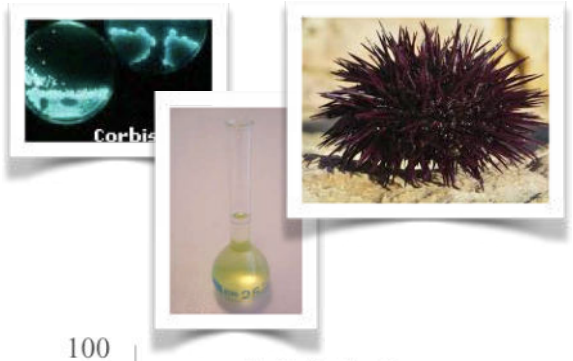
Partendo dall'assunto che l'eluato prodotto secondo la UNI EN 14735:2005 corrisponde ad una concentrazione nominale di 100 g/L, è stato allestito un saggio limite partendo dalla concentrazione di 100 mg/L. Prendendo come riferimento il Regolamento n. 1272/2008 e s.m.i., riguardante la classificazione, etichettatura e l'imballaggio delle sostanze pericolose (CLP), il saggio limite viene eseguito ad una concentrazione massima di 100 mg/L, per verificare che l'EC50 sia maggiore di tale concentrazione. Infatti, per poter considerare un rifiuto HP14 "Ecotossico", è necessario che il rifiuto rientri in una delle categorie H410 o H411 o H412. BsRC assume come metro di giudizio quello più cautelativo per l'ambiente: se il rifiuto rientra anche solo nella categoria H412 (meno tossica), allora il rifiuto è classificato come HP14. Un rifiuto viene considerato nella categoria H412 (Categoria cronico 3, nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata) se anche soltanto uno dei tre saggi tra pesci (esposizione a 96h), crostacei (esposizione a 48h) o alghe (esposizione a 72 o 96h) mostra un EC50 tra 10 mg/L e 100 mg/L. Per questa ragione, i saggi vengono svolti partendo dalla concertazione di 100 mg/L. Infatti, qualora si abbia un EC50 misurato con valore inferiore a questo limite, il rifiuto è H412 e quindi classificato come HP14 "Ecotossico".

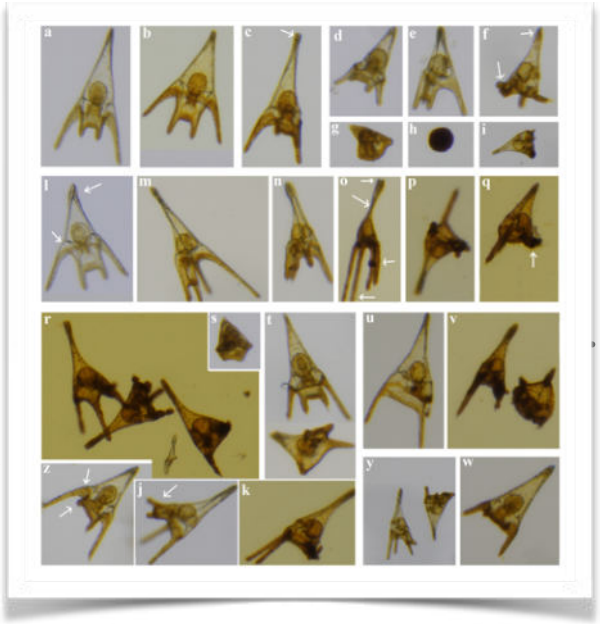
Specie testate	H410[1]	H411[2]	H412[3]
Crostacei a 48 h (*Daphnia magna*)	$EC_{50} \leq 1$ mg/L e/o	1 mg/L < $EC_{50} \leq 10$ mg/L e/o	10 mg/L < $EC_{50} \leq 100$ mg/L e/o
Alghe o altre painte acquatiche a 72 h o 96 h (*Pseudochirkneriella subcapitata*)	$EC_{50} \leq 1$ mg/L e/o	1 mg/L < $EC_{50} \leq 10$ mg/L e/o	10 mg/L < $EC_{50} \leq 100$ mg/L e/o
Pesci a 96 h (*Danio rerio*)	$EC_{50} \leq 1$ mg/L	1 mg/L < $EC_{50} \leq 10$ mg/L	10 mg/L < $EC_{50} \leq 100$ mg/L

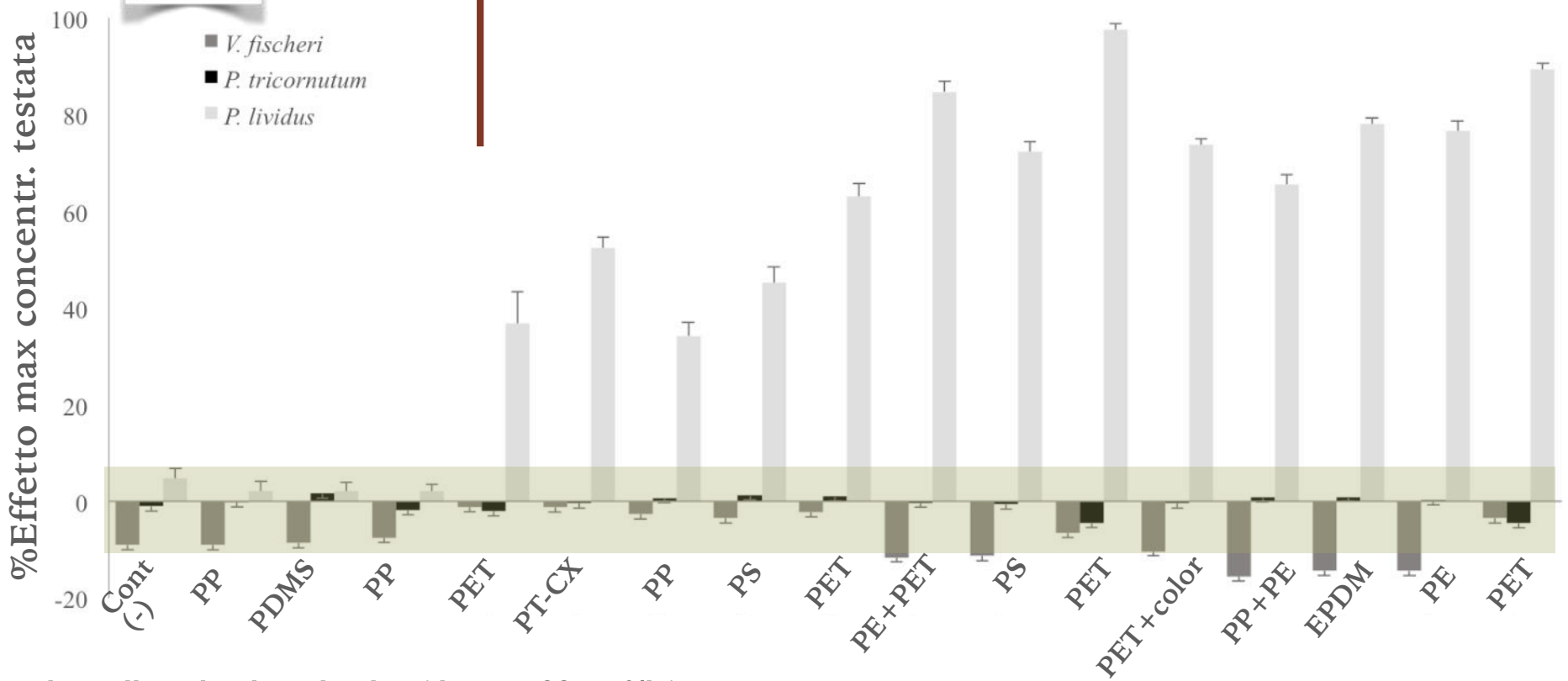
Legenda:

1 Categoria Cronico 1 = Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti a lunga durata.
2 Categoria Cronico 2 = Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
3 Categoria Cronico 3 = Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

CASO DI STUDIO 1 – IMPATTO DEL PACKAGING IN AMBITO MARINO







Leachate di packaging plastico (dose = 80 cm^2/L)

RISK ASSESSMENT E REGOLAMENTI

Gli impianti municipali di trattamento delle acque reflue scaricano miscele di sostanze chimiche come pesticidi, prodotti farmaceutici, metaboliti; ormoni che vengono introdotti negli ecosistemi acquatici

Gilliom et al., 1999; Schwarzenbach et al., 2006; Backhaus et al., 2008

Le miscele in ambienti naturali sono soggette ad effetti interattivi (es. Sinergici, antagonistici, ecc.)

Per raggiungere gli obiettivi di protezione della legislazione attuale, si dovrebbe tener conto della tossicità delle miscele

I requisiti normativi sulla valutazione del rischio delle sostanze chimiche si basano in gran parte su singole sostanze e recentemente sono stati sviluppati approcci alle miscele

Meek et al., 2011; Backhaus et al., 2012; Escher and Leusch, 2012

ACCETTABILITÀ DELLO SCARICO REFLUO





D.Lgs 152/99 e succ.mod. (Tabella 3, All. 5), limiti di emissione in acque superficiali ed in fognatura.

Parametro 51, saggio di tossicità acuta con *Daphnia magna*

Limite di accettabilità del campione (immobilizzazione):

< del 50% (scarico in acque superficiali)

< 80% per lo scarico in rete fognaria.

Il decreto prevede di poter effettuare il saggio anche con altri organismi.

Non è chiaro a questo punto se i limiti previsti per *D.magna* possano essere estesi anche agli altri organismi.

Il decreto prevede anche l'uso del batterio bioluminescente *Vibrio fischeri*.

CASO DI STUDIO 2 – L'ECOTOSSICOLOGIA APPLICATA ALLA SCOPERTA DI UN CRIMINE…



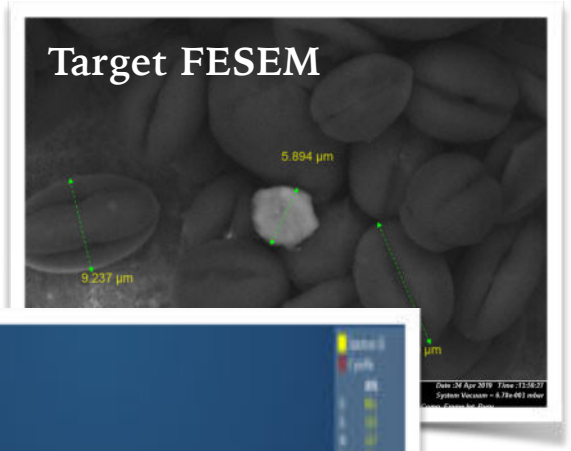
Test di tossicità acuta
con D. magna
APAT CNR IRSA 8020 B
Man 29 2003

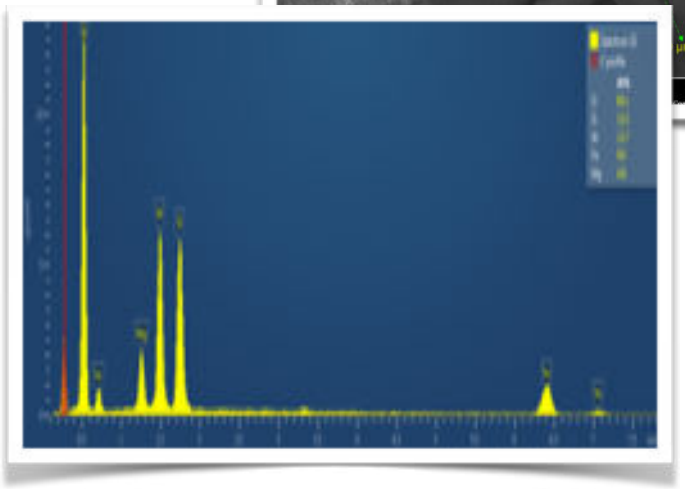


Non ecotossico

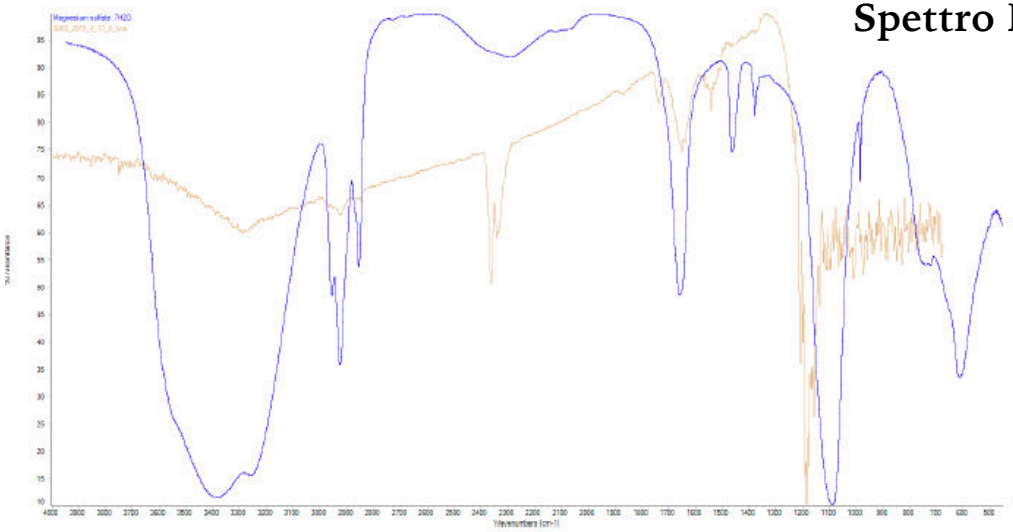
Analisi chimica tradizionale …
Negativo a tutte le sostanze
normativa scarichi …
cosa cercare??

Analisi microscopia FT-IR
e conferma in FESEM





Spettro FT-IR



CONCLUSIONI: colorante glucofane
(silicato di Na, Mg, Fe e Al),
cordierite e materiale biologico.

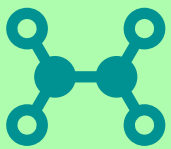


POTENZIALE APPLICATIVO: SOSTANZE CHIMICHE PURE E MISCELE E/O FARMACEUTICI



Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

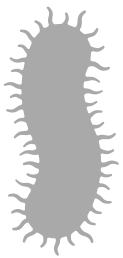
Matrici ambientali





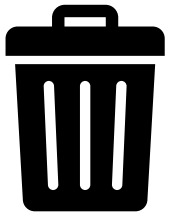
Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

Ricerca scientifica



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

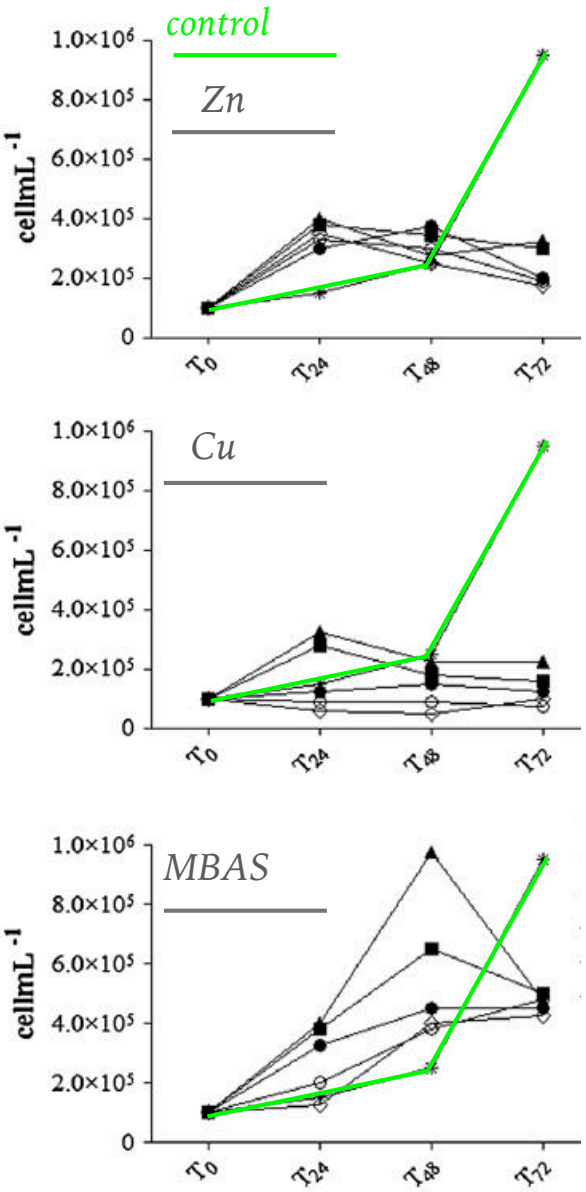
Applicazioni agricoltura



Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

Ecologia e funzionamento ecosistemi

CASO DI STUDIO 3 – EFFETTO SOSTANZE PURE SUI PRODUTTORI PRIMARI IN AMBITO MARINO



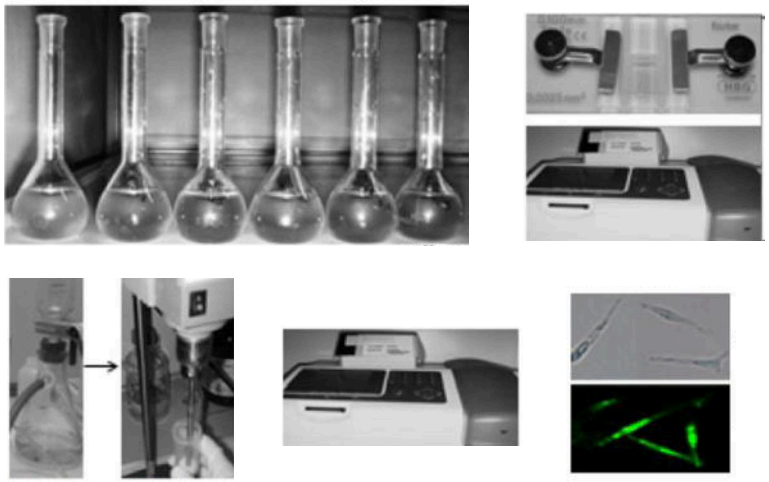
L'esposizione a sostanze chimiche (Cu, Zn, MBAS) induce riduzione del tasso di crescita in alghe unicellulari (diatomee; fitoplancton)



Ecotoxicology (2014) 23:1055–1072
DOI 10.1007/s10646-014-1249-z

Early warning tools for ecotoxicity assessment based on *Phaeodactylum tricornutum*

Monia Renzi · Leonilde Roselli · Andrea Giovani · Silvano E. Focardi · Alberto Basset

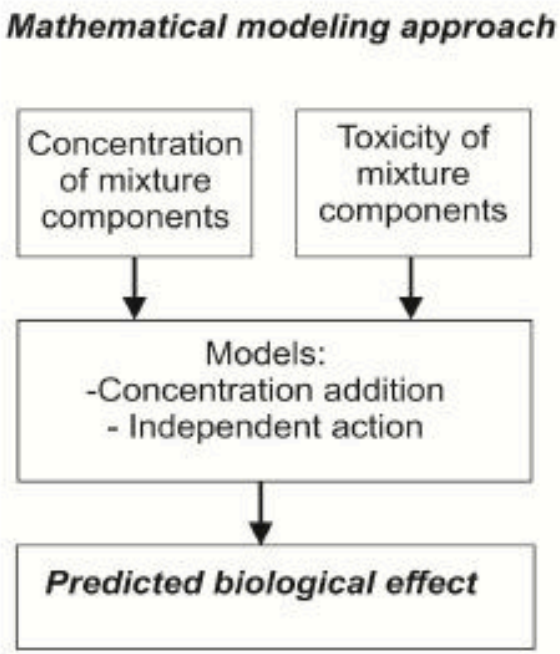


Endpoint	Approach typology
Growth inhibition	Quantitative
Alteration of the photosynthetic complex	Quantitative
	Chl-*a*
	Phe
Cell biovolume	Quantitative
Cell fluorescence	Qualitative
Cell structural alteration	Qualitative

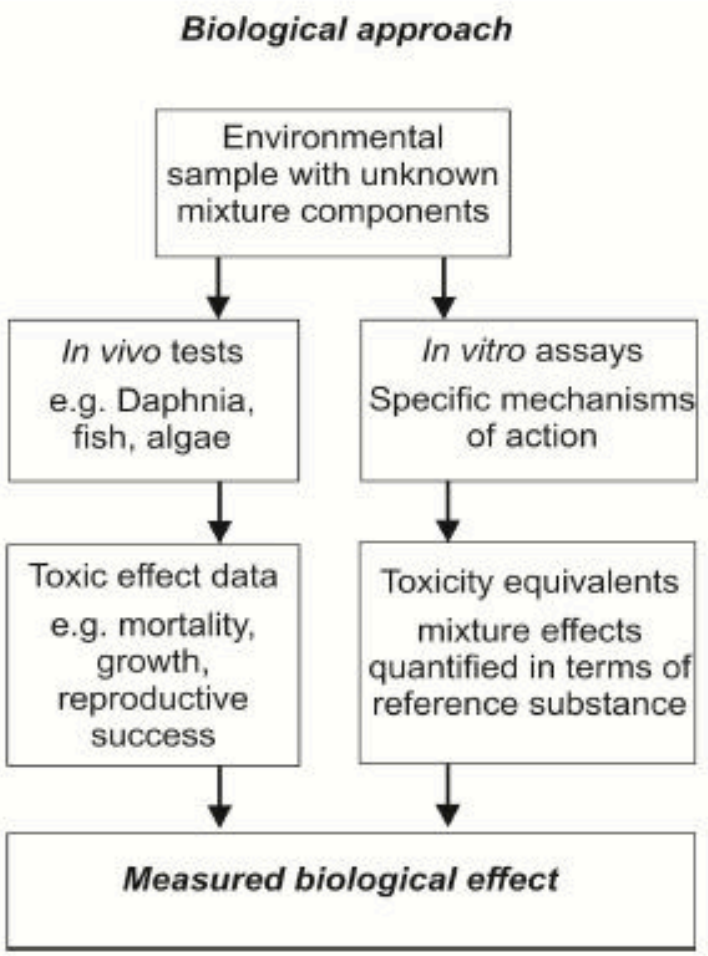
TOSSICITÀ DELLE MISCELE: DUE APPROCCI DISTINTI

Scenari attuali di valutazione della tossicità di miscele

Dati di tossicità sulle sostanze singole



Test biologici sulle miscele



STUDIO 4 – QSAR: DAL LABORATORIO ALLA MODELLIZZAZIONE TEORICA

Chemical Engineering Journal 175 (2011) 17–23

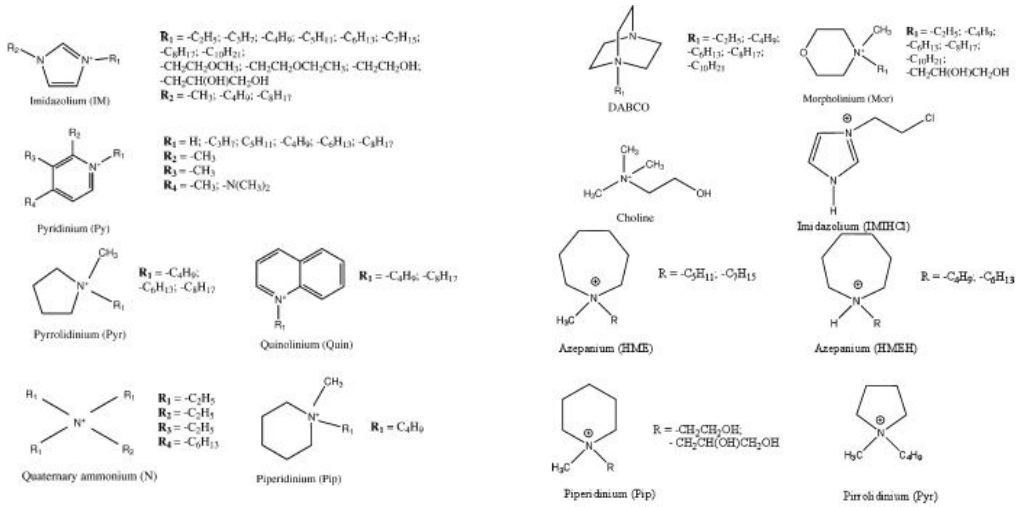
Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Chemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cej

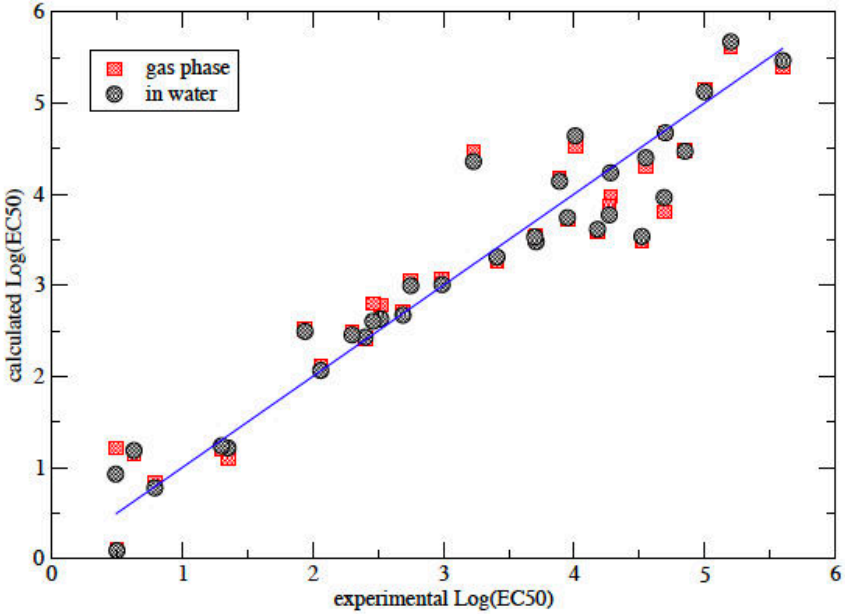
Theoretical descriptor for the correlation of aquatic toxicity of ionic liquids by quantitative structure–toxicity relationships

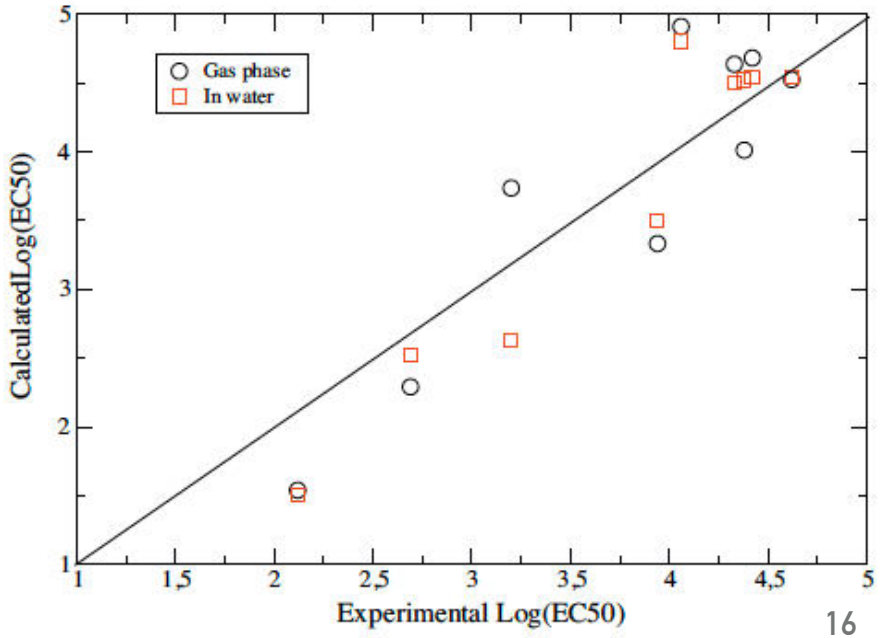
S. Bruzzone[a,*], C. Chiappe[a], S.E. Focardi[b], C. Pretti[c], M. Renzi[d]



Toxicity of external set ILs to *V. fischeri*.

Compound	$Log_{10}EC_{50}$ (μM)		
	Experimental	Calc. in gas phase	Calc. in water
HME15	3.2000	3.738	2.634
HME17	2.1200	1.542	1.507
HMEH4	3.9400	3.335	3.500
HMEH6	2.6900	2.291	2.519
IMHCL	4.6200	4.525	4.546
PIP1E	4.3300	4.637	4.503
PIP1G	4.4200	4.683	4.540
PYR14	4.3800	4.014	4.522
PYR1G	4.0600	4.912	4.803



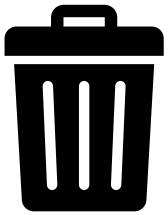


POTENZIALE APPLICATIVO: APPLICAZIONE IN AGRICOLTURA



Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

Matrici ambientali



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



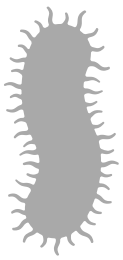
Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

Applicazioni agricoltura



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

Ricerca scientifica



Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

Ecologia e funzionamento ecosistemi

IMPATTO AMBIENTALE DI SOSTANZE PESTICIDE

Gli estrogeni e le sostanze chimiche attive a livello ormonale (EDC) interferiscono con il normale funzionamento del sistema endocrino

L'esposizione a concentrazioni estremamente basse è sufficiente per impedire la funzione delle gonadi, ridurre il successo della fecondazione e diminuire la fecondità nelle specie acquatiche

Sumpter, 2005; Martiniovic et al., 2007

Gli estrogeni sintetici per il controllo delle nascite nelle donne sono in grado di ridurre la popolazione ittica a livelli <6 ng / L

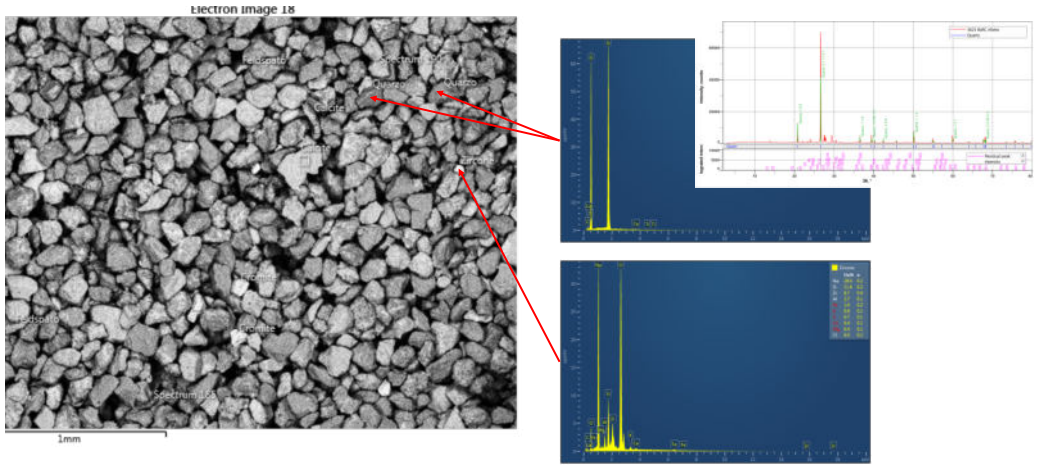
Johnson and Williams, 2004; Kid et al., 2007

Nonostante ciò non esistono criteri di qualità dell'acqua o dei sedimenti per proteggere gli esseri umani e la vita acquatica dagli EDC

Connon et al., 2012

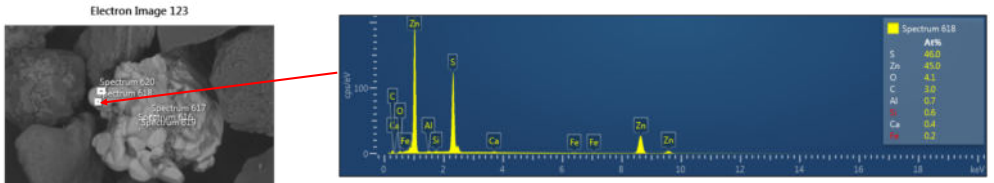
CASO STUDIO 5 – AGRIFARM

- Biodisponibilità dei metalli nei suoli o sedimenti
- Biodisponibilità di fitofarmaci/farmaci
- Contenuto e caratteristiche del microbiota del suolo e dei macro e micro nutrienti
- Capacità di ritenzione idrica zona vadosa del suolo
- Capacità di scambio cationico di suoli e sedimenti
- Presenza di contaminanti di origine antropica
- Correlazione inquinante/sorgente (naturale/ antropica)
- Maturità ed evoluzione di un suolo in correlazione con gli eventi meteo-climatiche e pressioni antropiche

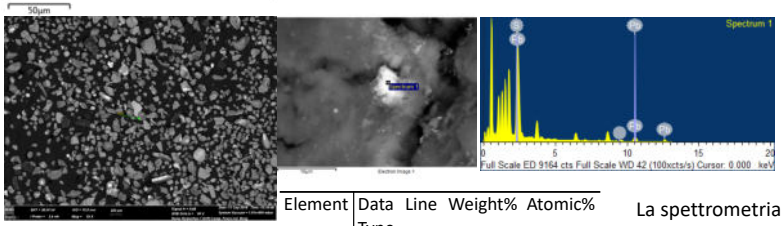


1. Conferma dei dati diffrattometrici, corretta quantificazione delle fasi ed interpretazione tessiturale
2. Identificazione di minerali in tracce non rilevabili in diffrazione (Zircone)

Analisi di elementi pesanti in sedimenti ed identificazione delle fasi in cui si presentano mediante immagini composizionali e combinazione di spettrometria WD / ED



Solfuro di Zinco

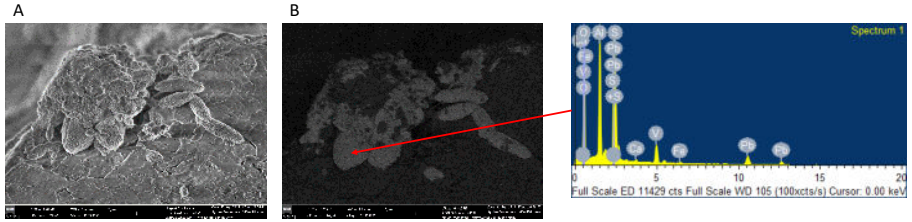


Solfuro di Piombo

Element	Data Type	Line	Weight%	Atomic%
S	WD	Ka	5.565	56.617
Pb	WD	La	27.553	43.383
Totals			33.118	

La spettrometria in dispersione di lunghezza d'onda (WDS) consente di risolvere righe spettrali interferenti (Pb Ma – S Ka) non discriminabili in Dispersione di Energia (EDS spettri in giallo)

L'analisi per immagine a supporto dell'interpretazione chimica in casi in cui la risoluzione analitica non consente la corretta discriminazione di fasi vicine



A. Immagine morfologica
B. Immagine Composizionale con filtro in energia
C. Immagine composizionale

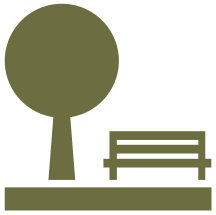


Element	Data Type	Line	Weight%	Atomic%	Compd%	Formula
S	WD	Ka	0.330	0.206	0.494	SO
Pb	WD	Ma	56.839	5.500	61.228	PbO
Al	ED	K	36.629	27.214	69.207	Al2O3
Ca	ED	K	1.045	0.523	1.462	CaO
V	ED	K	13.856	5.453	24.735	V2O5
Fe	ED	K	0.588	0.211	0.757	FeO
O			48.597	60.893		
Totals			157.884			

L'utilizzo combinato dei 3 detector ha consentito di individuare il punto analisi con minore interferenza delle fasi vicine

Feedback di precision-farming relativamente ai concimi più adatti in relazione allo stato di maturazione del suolo, condizioni climatiche, idratazione e colture presenti

POTENZIALE APPLICATIVO: RICERCA SCIENTIFICA APPLICATA



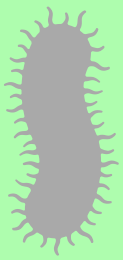
Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

Matrici ambientali



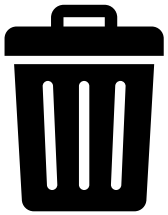
Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

Ricerca scientifica



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

Applicazioni agricoltura



Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

Ecologia e funzionamento ecosistemi

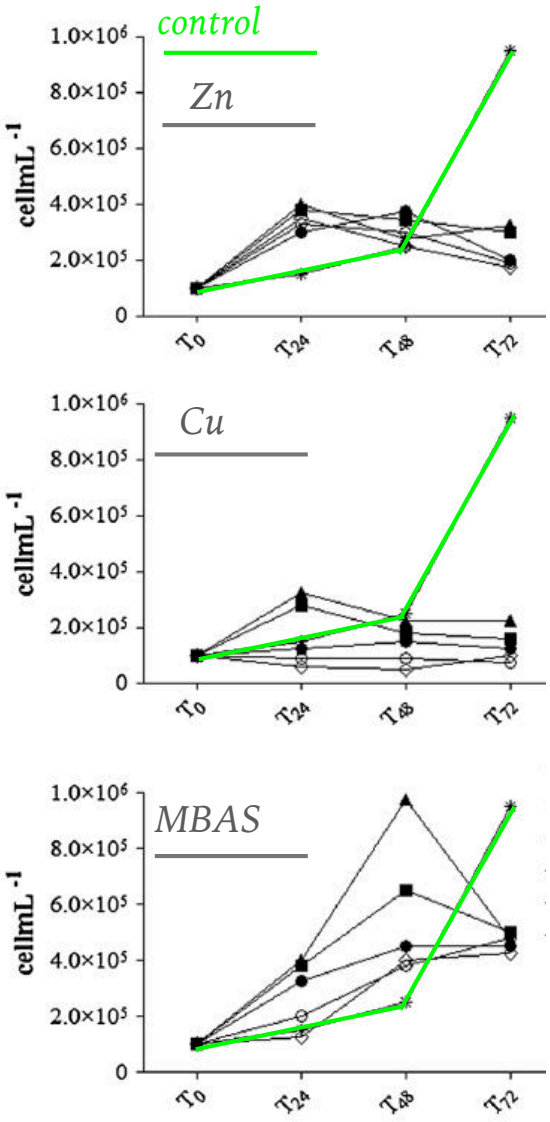
CASO DI STUDIO 6 – SELEZIONE DI ENDPOINT DI STRESS PRECOCI E NUOVI MARCATORI DIAGNOSTICI

Ecotoxicology (2014) 23:1055–1072
DOI 10.1007/s10646-014-1249-z



Early warning tools for ecotoxicity assessment based on *Phaeodactylum tricornutum*

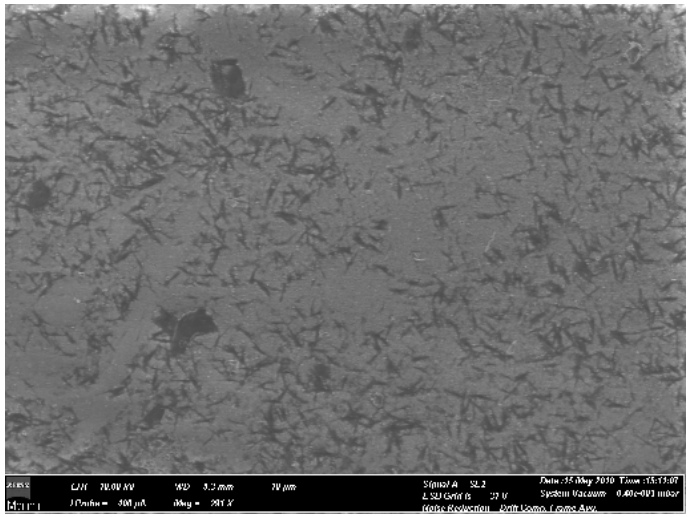
Monia Renzi · Leonilde Roselli · Andrea Giovani · Silvano E. Focardi · Alberto Basset



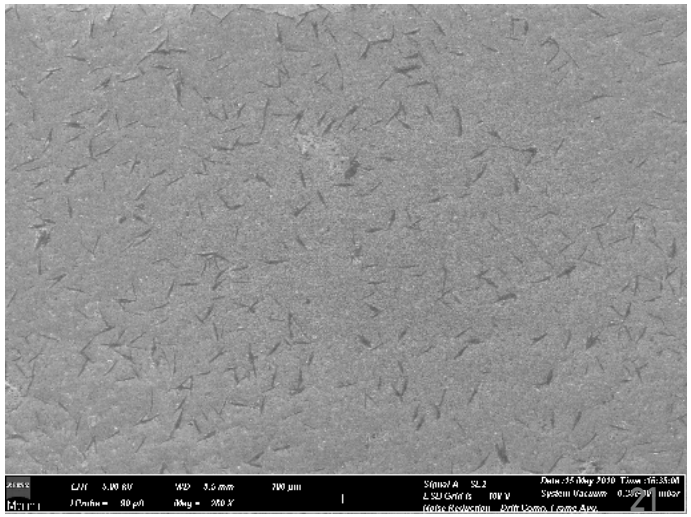
Endpoint ecotossicologici:

- tasso di crescita a 72 ore (classico)
- alterazioni fisiologiche a carico dei complessi fotosintetici
- degradazione delle clorofille

conteggi controllo



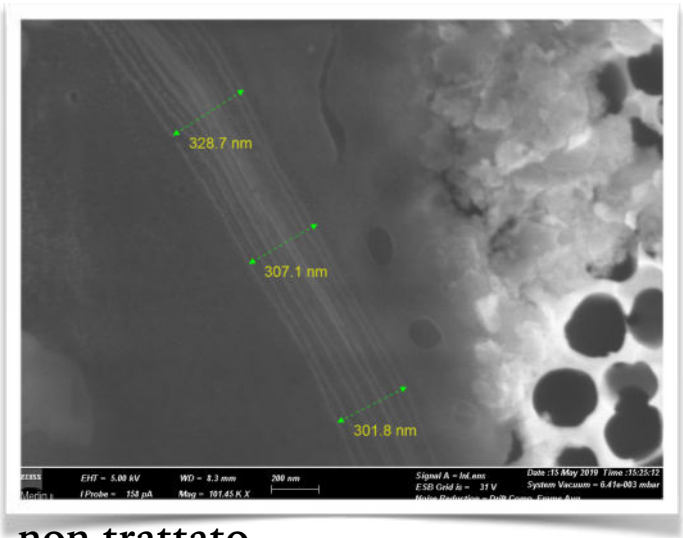
conteggi trattato



Vantaggio dell'accoppiamento alle tecniche microscopiche:

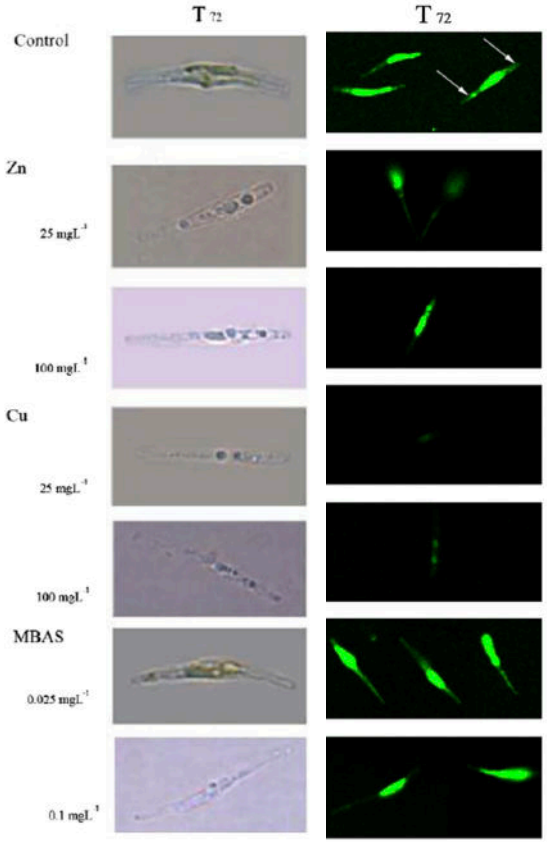
- alterazioni morfologiche
- alterazioni strutturali a carico del cloroplasto
- riduzione del biovolume (effetto sulla biomassa)

Analisi delle anomalie FESEM



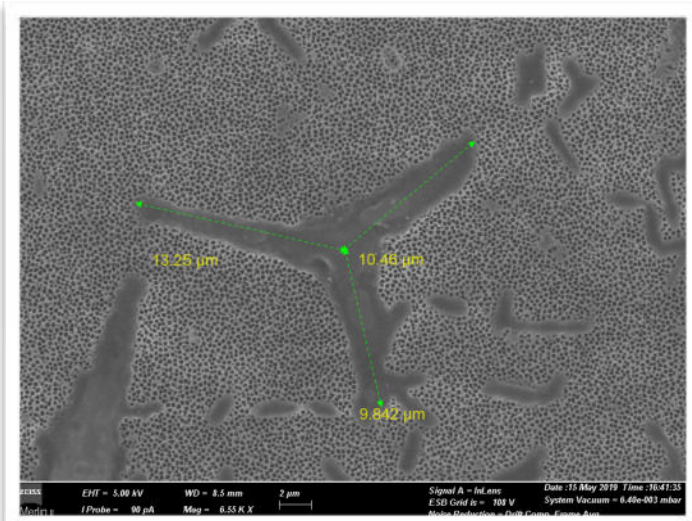
non trattato

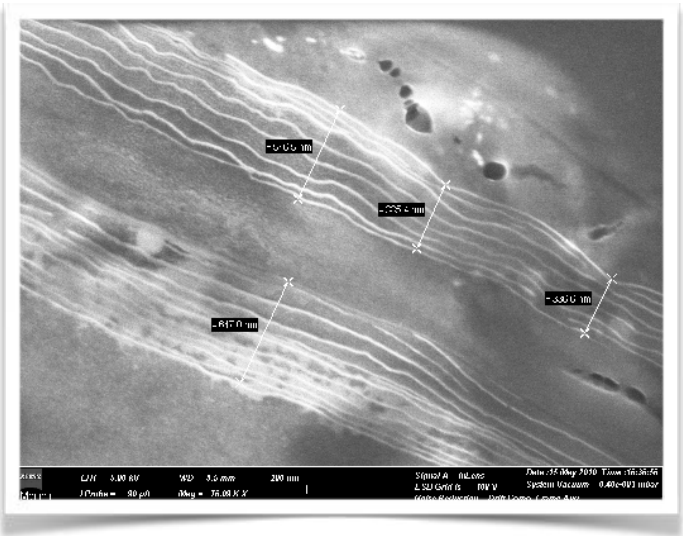
microscopia classica e confocale





biometrie FESEM*





trattato

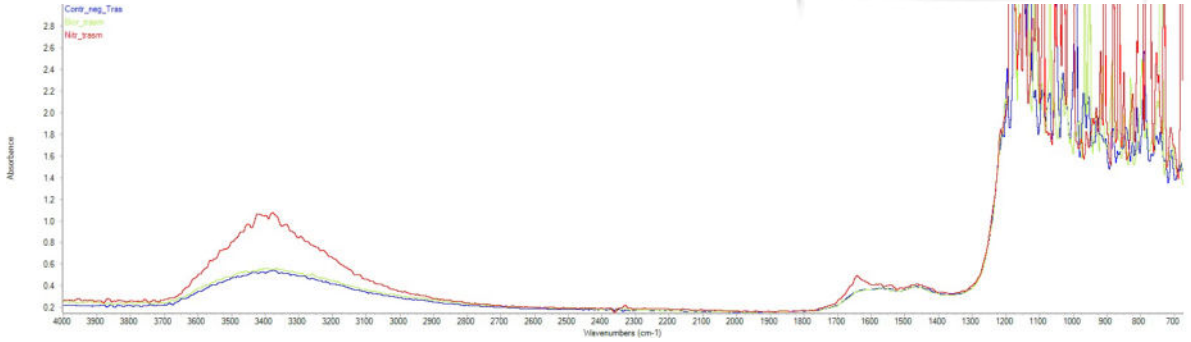
*FESEM = Field emission scanning electron microscopy



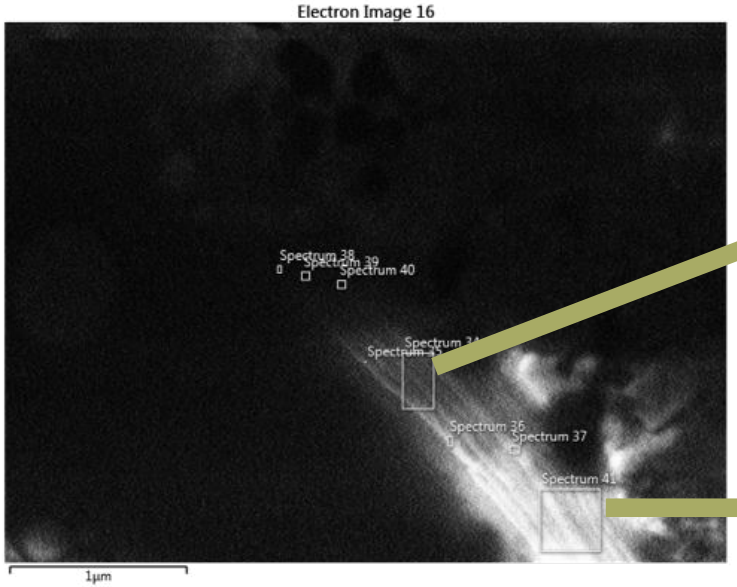
Analisi chimica delle strutture cellulari

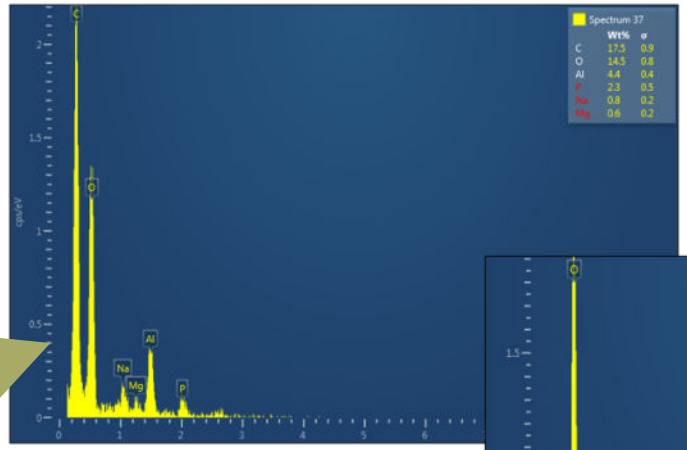


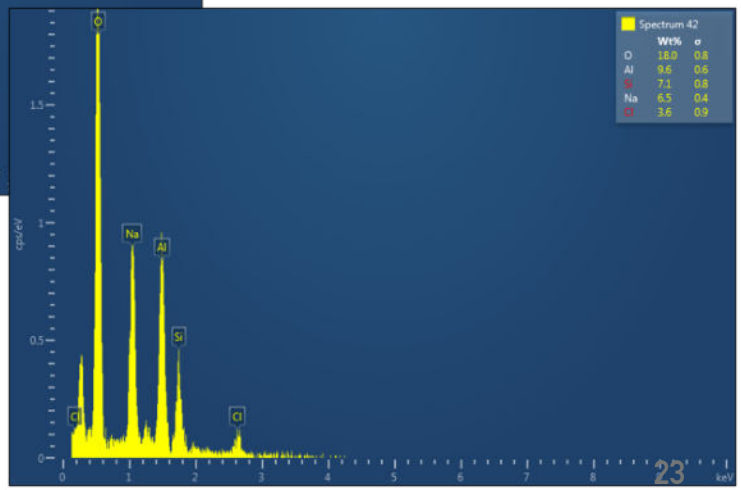
Spettri FT-IR



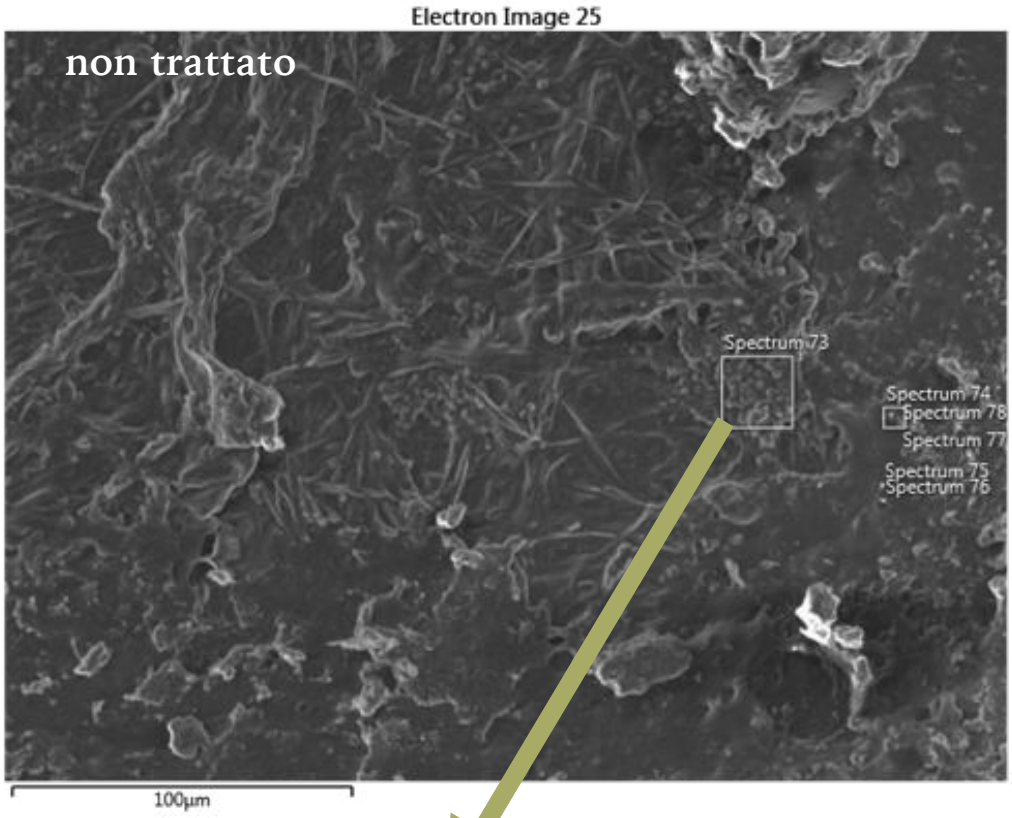
Analisi chimica FESEM

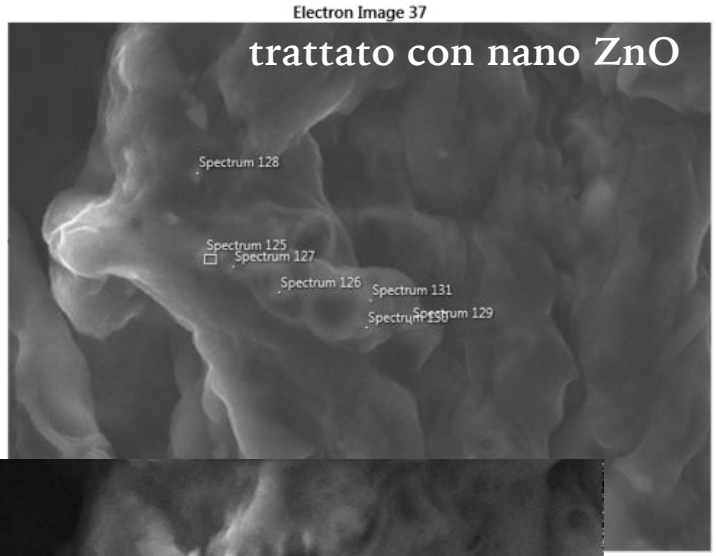


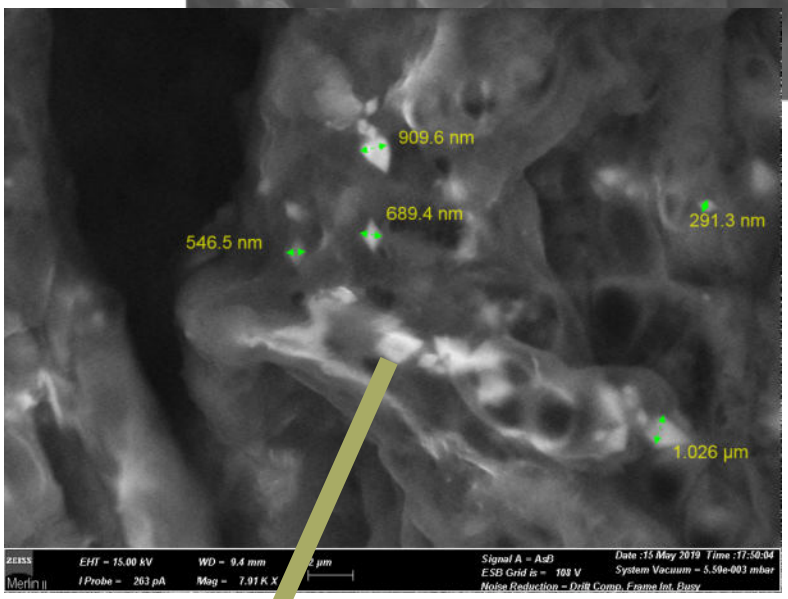


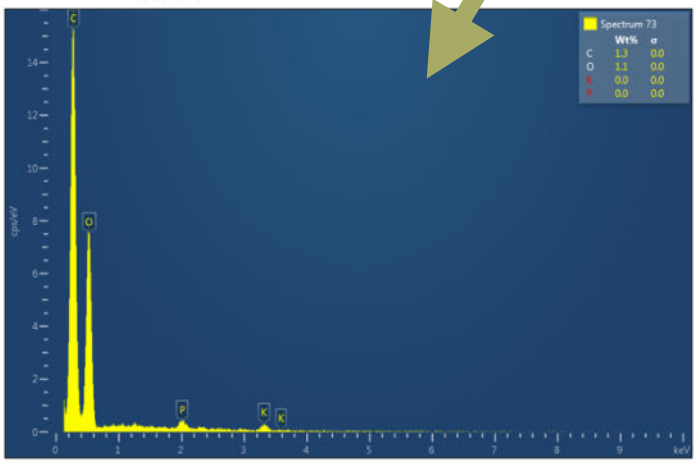


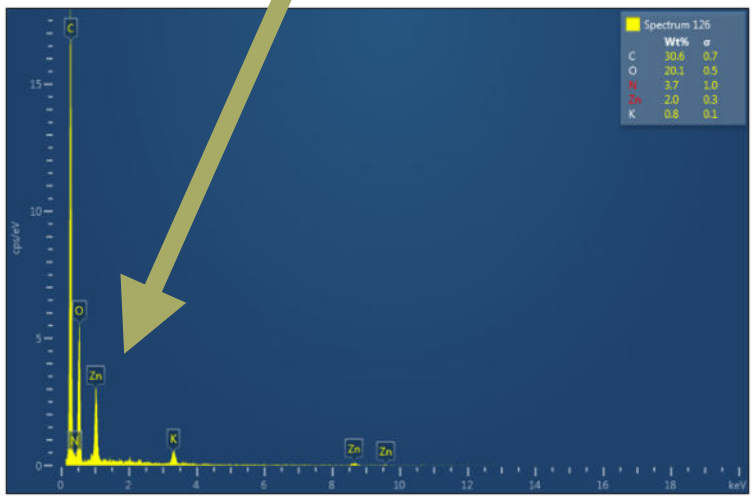
CASO DI STUDIO 7 – ESPOSIZIONE A NANOPARTICELLE











CASO DI STUDIO 8 – STRESS ACUTO CAUSATO DA MICROPLASTICHE VS PIOGGIA ACIDA



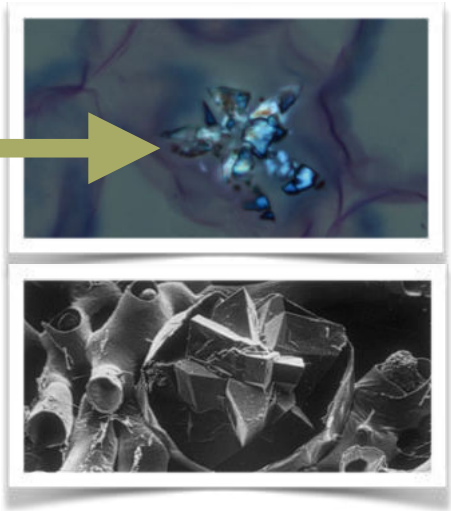
Lepidium sativum **in suolo arricchito con microplastiche**



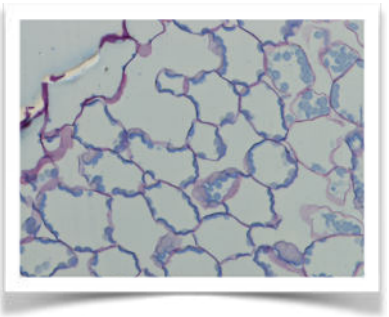
Lepidium sativum **in suolo arricchito con microplastiche e pioggia acida**



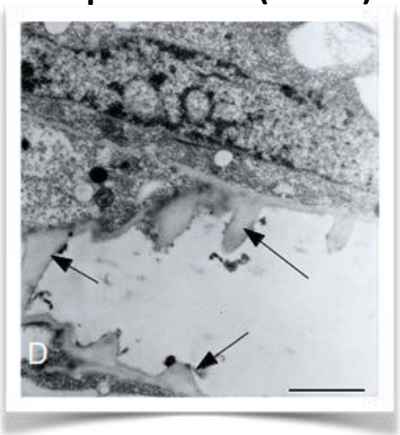
Ossalato di Calcio all'interno di una cellula del tessuto fogliare (pet+pioggia acida)



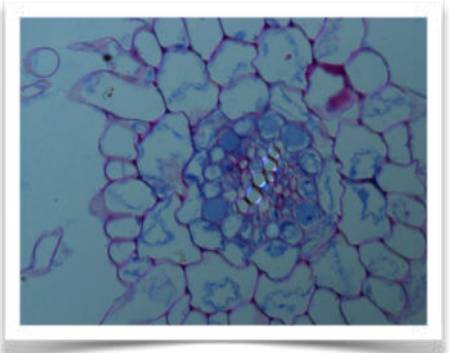
Amidi, (granuli blu) all'interno delle cellule dell'apparato fogliare nelle piante PET+pioggia acida



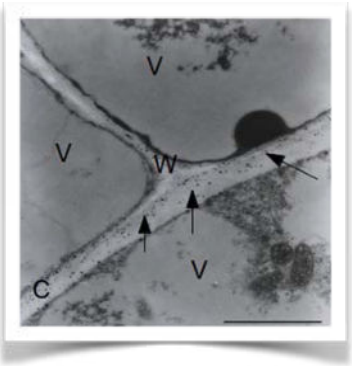
Lignificazione delle tracheidi in piante PET (frecce)



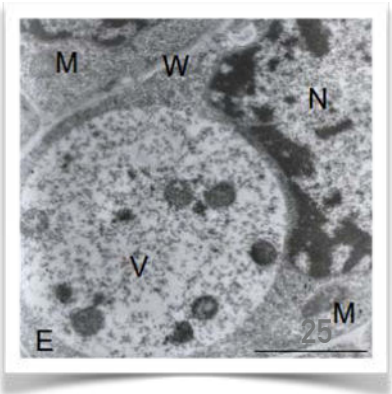
Ispessimento delle pareti del cilindro corticale nell'apparato radicale



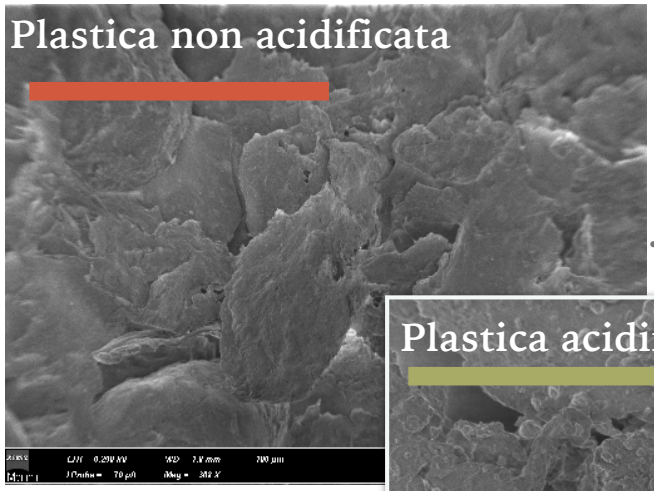
Materiale granulare elettrodenso nella parete cellulare (frecce) in piante PET



Cellule allungate con al loro interno grandi vacuoli



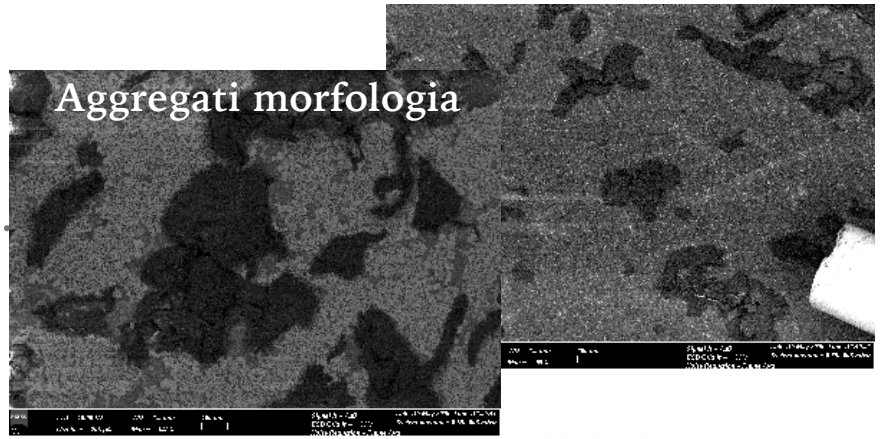
Plastica non acidificata



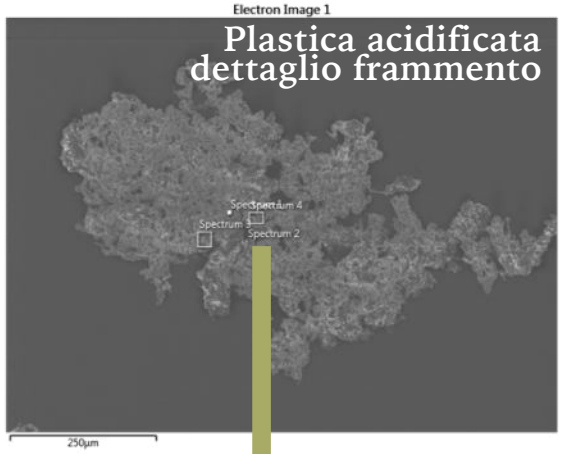
Plastica acidificata

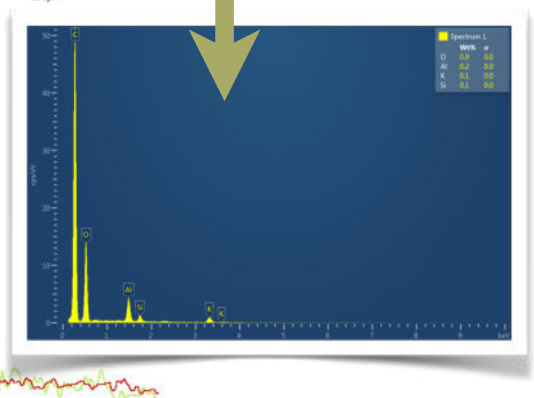


Aggregati morfologia

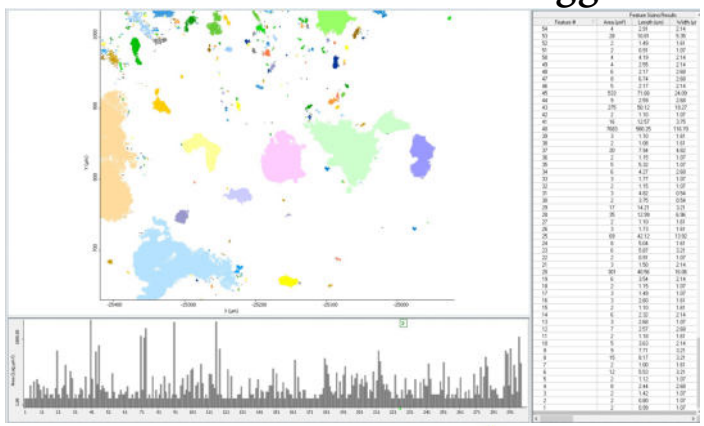


Plastica acidificata
dettaglio frammento



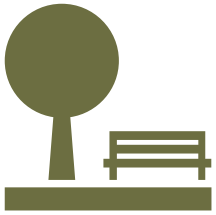


Analisi dimensionale e conteggi



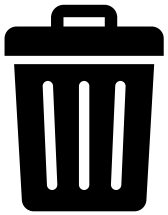
Analisi spettrale

POTENZIALE APPLICATIVO: COMPRENSIONE DEL FUNZIONAMENTO ED ALTERAZIONE ANTROPICA NEI SISTEMI NATURALI



Acqua
Aria
Suolo
Sedimento

Matrici ambientali



Gestione rifiuti
Caratterizzazione dei rifiuti
Valutazione dei rischi
Trattamenti bonifica
Indagini giudiziarie

Rifiuti/Siti di Interesse Nazionale (SIN)



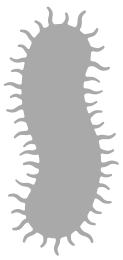
Nuove formulazioni
Sostanze pure
Miscele commerciali
Sottoprodotti di processo
Metaboliti
Miscele ambientali
Effetto matrice e antibiotici

Sostanze chimiche pure e miscele e farmaceutici



Effetti trattamenti classici
Effetti trattamenti alternativi
Effetti microbiota suolo

Applicazioni agricoltura



Ricerca applicata
Nuovi endpoints/tools
Biomarcatori di stress precoce
Validazione sperimentale di trattamenti (es. processi innovativi di risanamento)

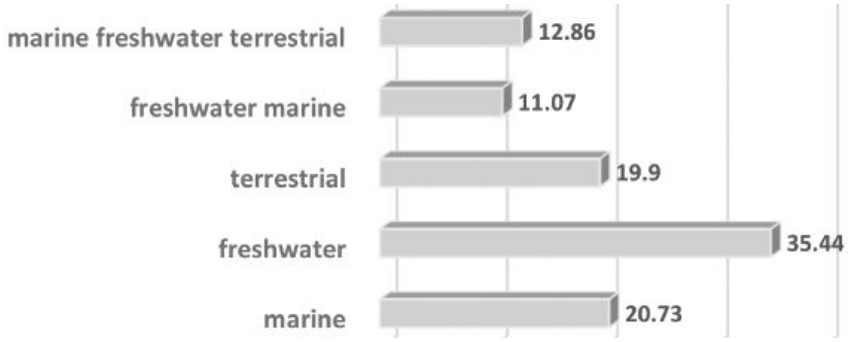
Ricerca scientifica



Effetti su biodiversità
Effetti su reti trofiche
Effetti a livello di ecosistema

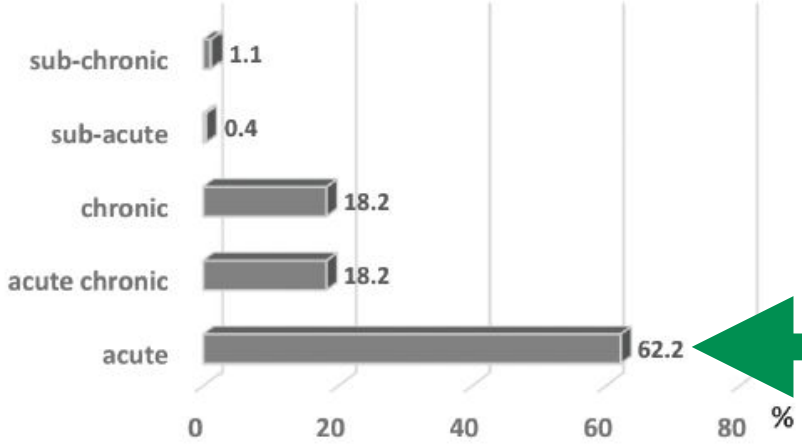
Ecologia e funzionamento ecosistemi

STATO DELL'ARTE DELLE RICERCHE ECOTOSSICOLOGICHE APPLICATE ALL'ECOLOGIA E FUNZIONAMENTO RETI TROFICHE



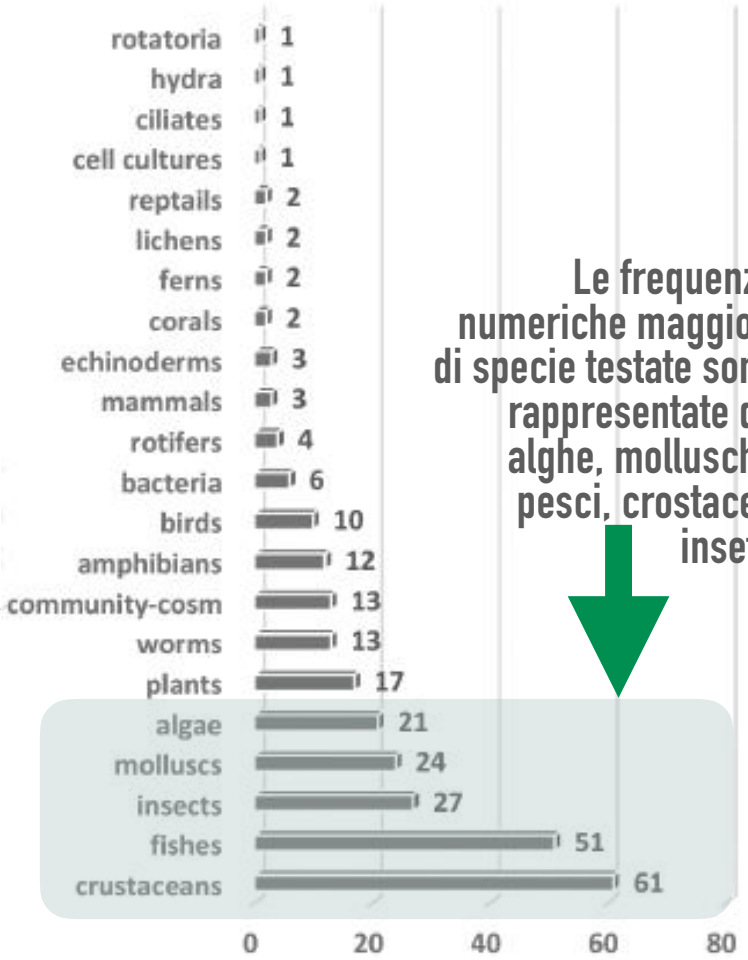
% studi per matrice

La percentuale di studi pubblicati per matrice è maggiore nei sistemi dulciacquicoli



La percentuale di studi maggiore è relativa ad effetti di tipo acuto

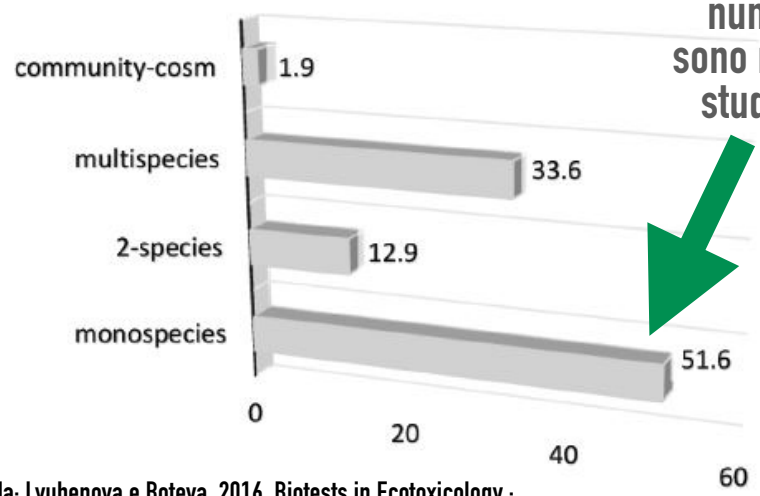
Numero di specie testate/totale di articoli per gruppo tassonomico (2010-2016)



Le frequenze numeriche maggiori di specie testate sono rappresentate da alghe, molluschi, pesci, crostacei, insetti

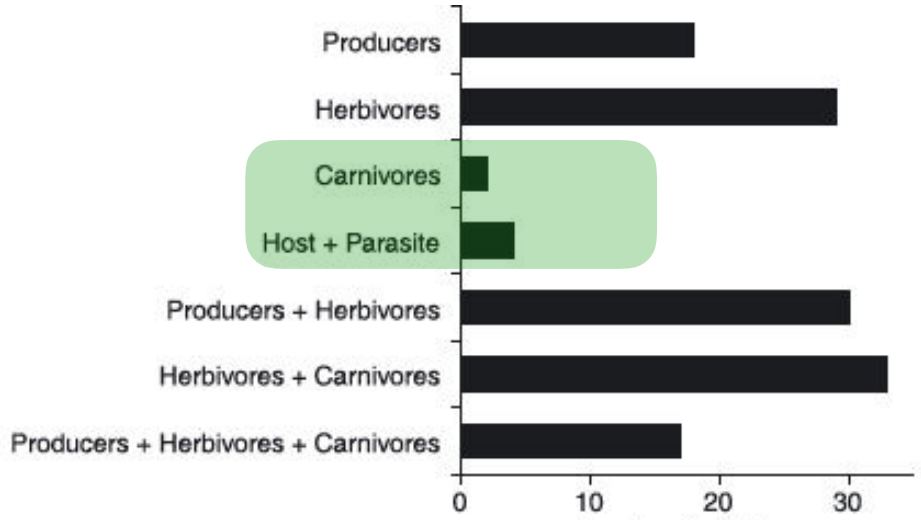
Tratto da: Lyubenova e Boteva, 2016. Biotests in Ecotoxicology : current practice and problems, Chapter 7. Intech, pp. 148-176.

STUDI INTEGRATI IN AMBITO ACQUATICO

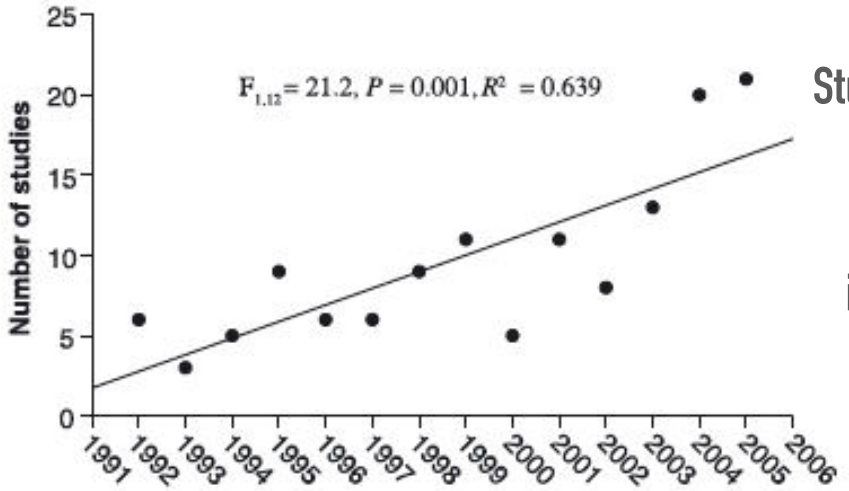


Le frequenze numeriche maggiori sono rappresentate da studi su monospecie

Tratto da: Lyubenova e Boteva, 2016. Biotests in Ecotoxicology : current practice and problems, Chapter 7. Intech, pp. 148-176.



Numero di studi ecotossicologici per gruppo trofico



Studi ecotossicologici in ambito acquatico che valutano il contributo della potenziale interazione tra almeno due specie

Tratto da: Ecology Letters, (2006) 9: 1157–1171 doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00966.x

EFFETTI SUL FUNZIONAMENTO DELLE RETI TROFICHE

L'esposizione a sostanze tossiche può produrre effetti subletali indiretti di in grado di alterare la fitness ecologica di individui e modificando le reti trofiche

Effetti sugli organismi, alterazione di:

- Tasso di crescita e tempi di maturità sessuale
- Performance competitiva per le risorse trofiche
- Comportamento (feeding e breeding)
- Sensibilità a stressori ambientali e adattamento
- Tempo medio di sopravvivenza

Effetti sulle popolazioni

- Predazione intraspecifica
- Dinamica di popolazione
- Interazioni intraspecifiche
- Rapporto tra sessi
- Successo di schiusa

Effetti a livello di comunità

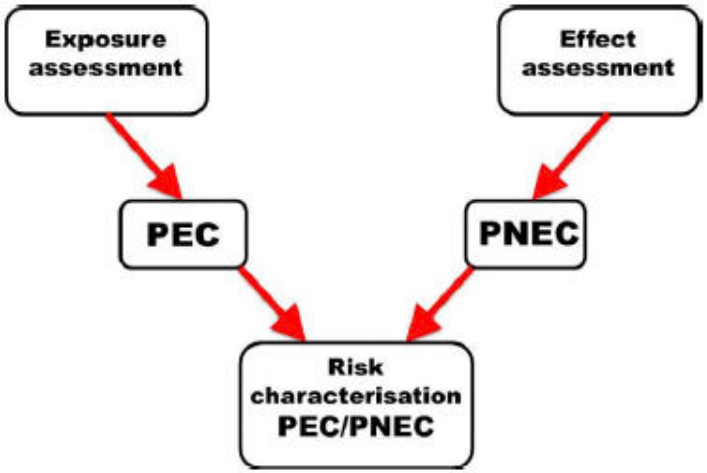
- Alterazione delle interazioni inter-specifiche
- Effetti sulla competizione e predazione
- Maggiore sensibilità a parassiti e patogeni

Es. la riduzione numerica delle prede a seguito di effetto tossico di sostanze chimiche incide sulla densità dei predatori

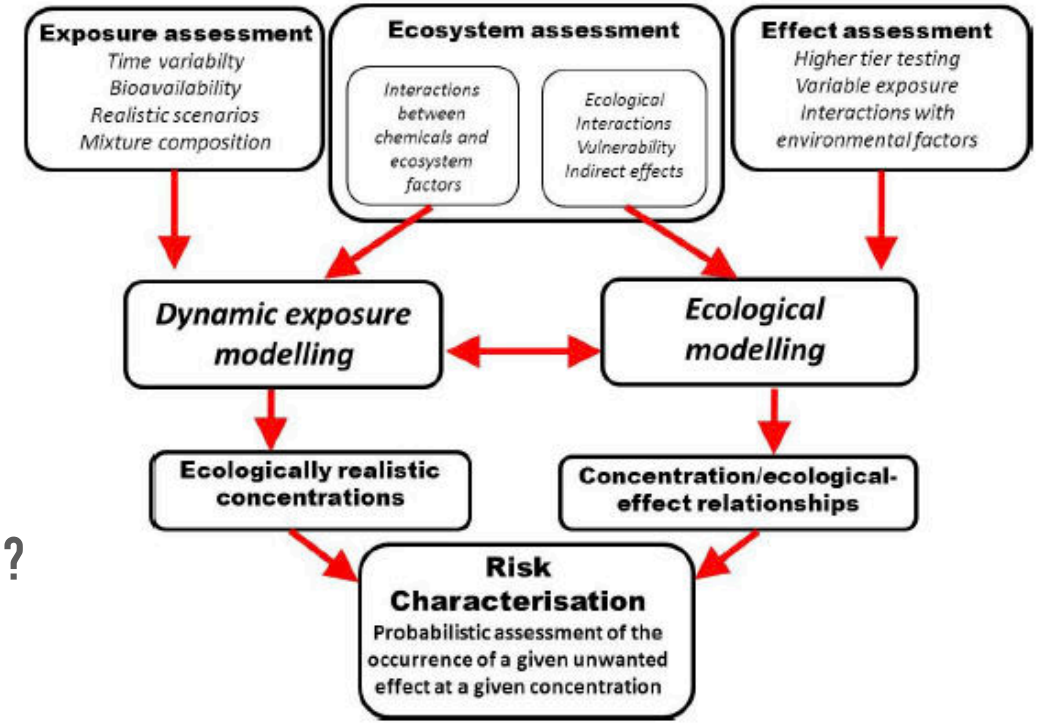
Hamers and Krogh, 1997; Hooper et al., 2003

INTEGRAZIONE DI ASPETTI ECOLOGICI NEL RISK ASSESSMENT

…dal risk assessment semplificato…



… al risk assessment basato su valutazioni ecotossicologiche integrate ad aspetti ecologici



… per rispondere a quesiti di interesse ecologico quali …

A seguito dell'esposizione ad una perturbazione chimica:

- Quale è la probabilità di perdere una popolazione?
- Quanto varierà la biodiversità?
- La produttività subirà variazioni?
- La struttura della rete trofica è protetta?

BIOTEST: INDICI DI COMUNITÀ

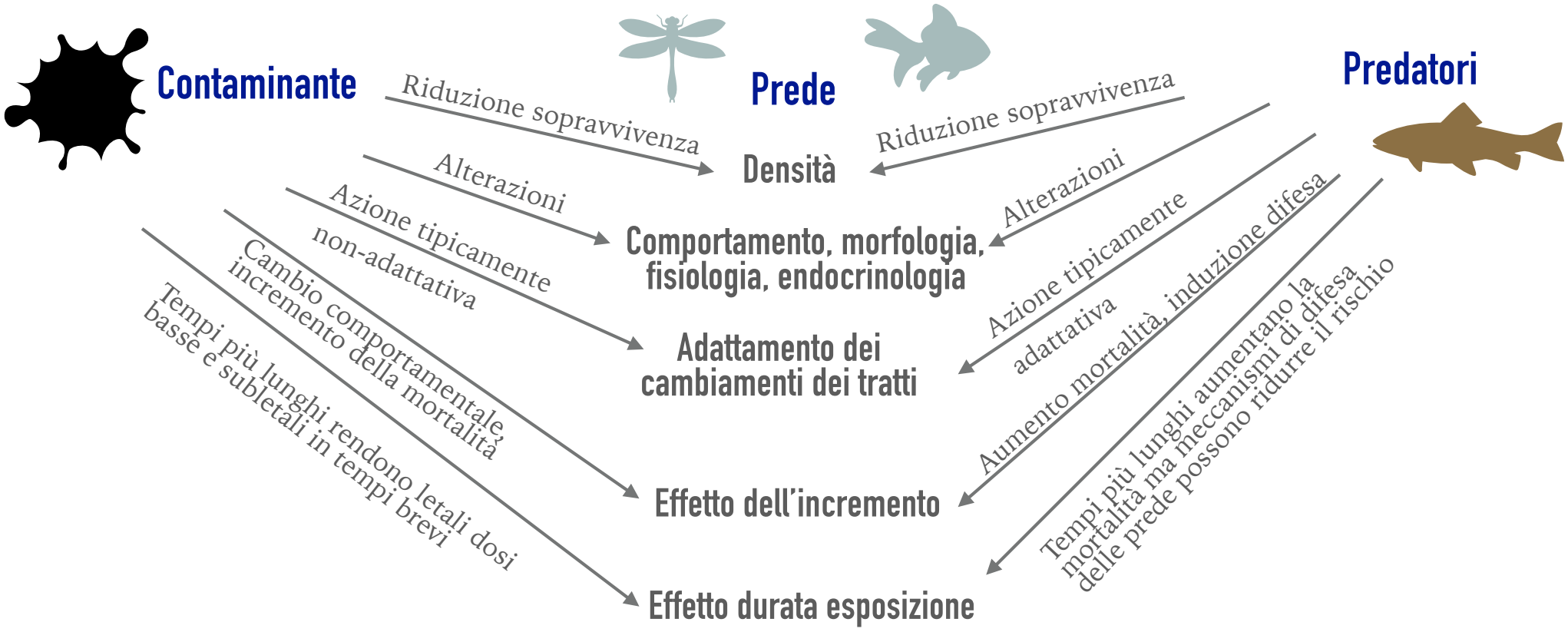
Le comunità di organismi si trovano a un livello di organizzazione biologica che rappresenta l'integrità dell'ecosistema poiché derivano dagli effetti combinati di fattori di stress fisici, chimici e biologici che agiscono

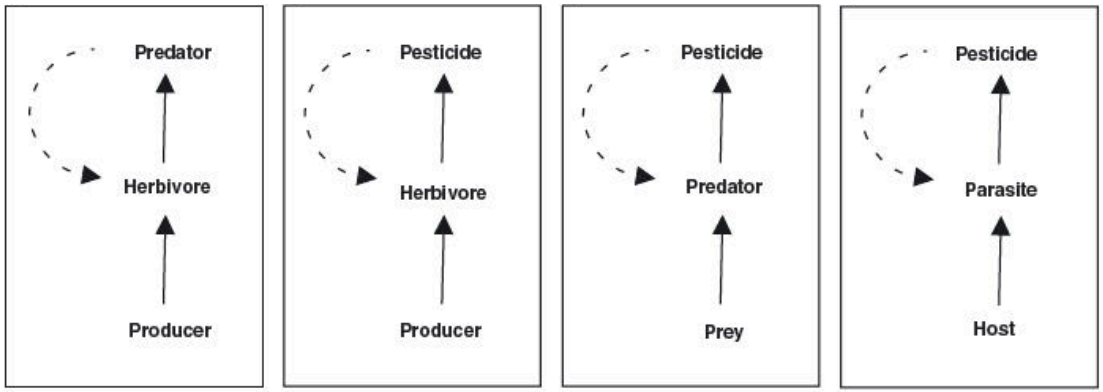
- Cambiamenti nella struttura (numero, abbondanza e diversità delle specie)
- Cambiamenti nella funzione (sostituire specie sensibili con resistenti)

- Indice di integrità biologica (IBI)
- SPEcies At Risk (SPEAR)
- Tolleranza della comunità indotta dall'inquinamento (PICT)

DM 173/2016 -
Dragaggio di sedimenti
Diversità macrozoobentica nei fondi molli

CASO DI STUDIO 9 – EFFETTI ECOLOGICI INDOTTI DALL'ESPOSIZIONE PESTICIDI IN AMBITO ACQUATICO





Tratto da: Ecology Letters, (2006) 9: 1157–1171 doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00966.x

CASO DI STUDIO 10 – EFFETTO SU MACROFITE & RISCHIO PER LA RETE TROFICA

Dose di esposizione
Subletale

Tempo di esposizione
14 g

Sostanze testate
Cu, Hg, Zn, MBAS

Specie testate
C. linum
V. aegagrophyla
G. longissima
Ruppia spp.

Endpoints
- ☑ *alterazioni morfologiche*
- ☑ *alterazioni fisiologiche*

La ricerca fornisce una chiave di lettura su:
- ✓ alternanza di popolazioni di macrofite / fanerogame in ecosistemi impattati
- ✓ dinamiche di trasferimento di contaminanti ambientali lungo la rete trofica

Journal of Environmental Protection, 2014, 5, 274-288
Published Online March 2014 in SciRes. http://www.scirp.org/journal/jep
http://dx.doi.org/10.4236/jep.2014.54031

Scientific Research

Responses of Aquatic Vegetation to Pollution: Preliminary Results on Ecotoxicological Effects and Bioenrichment Factors

Monia Renzi[1], Andrea Giovani[2], Silvano E. Focardi[2]

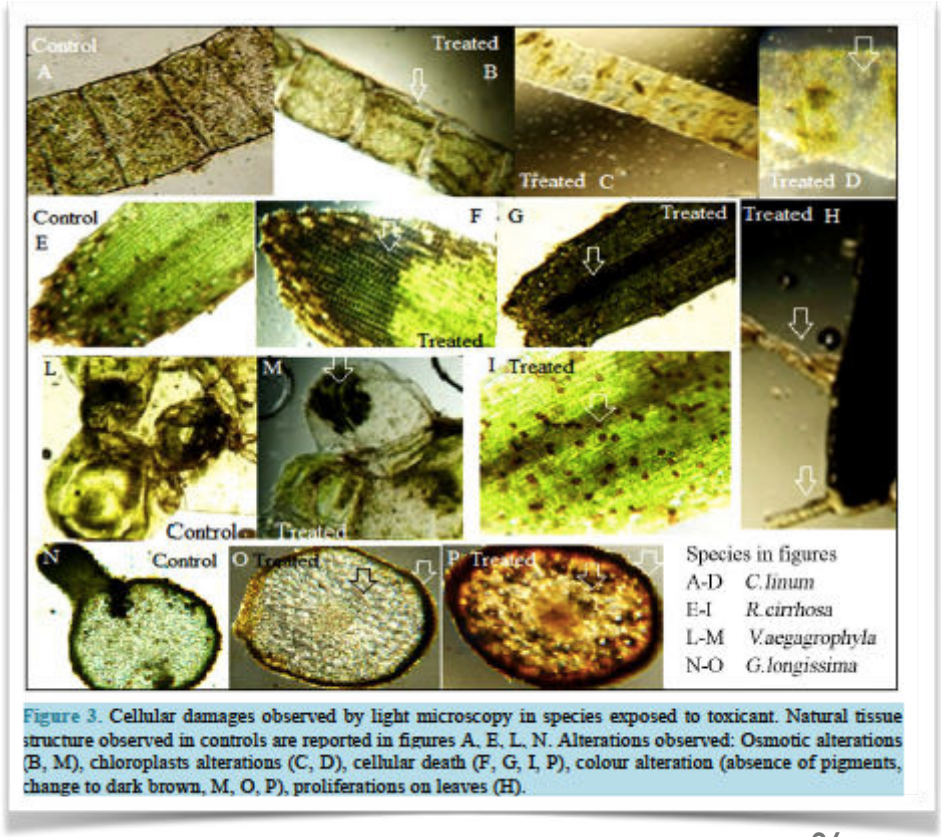
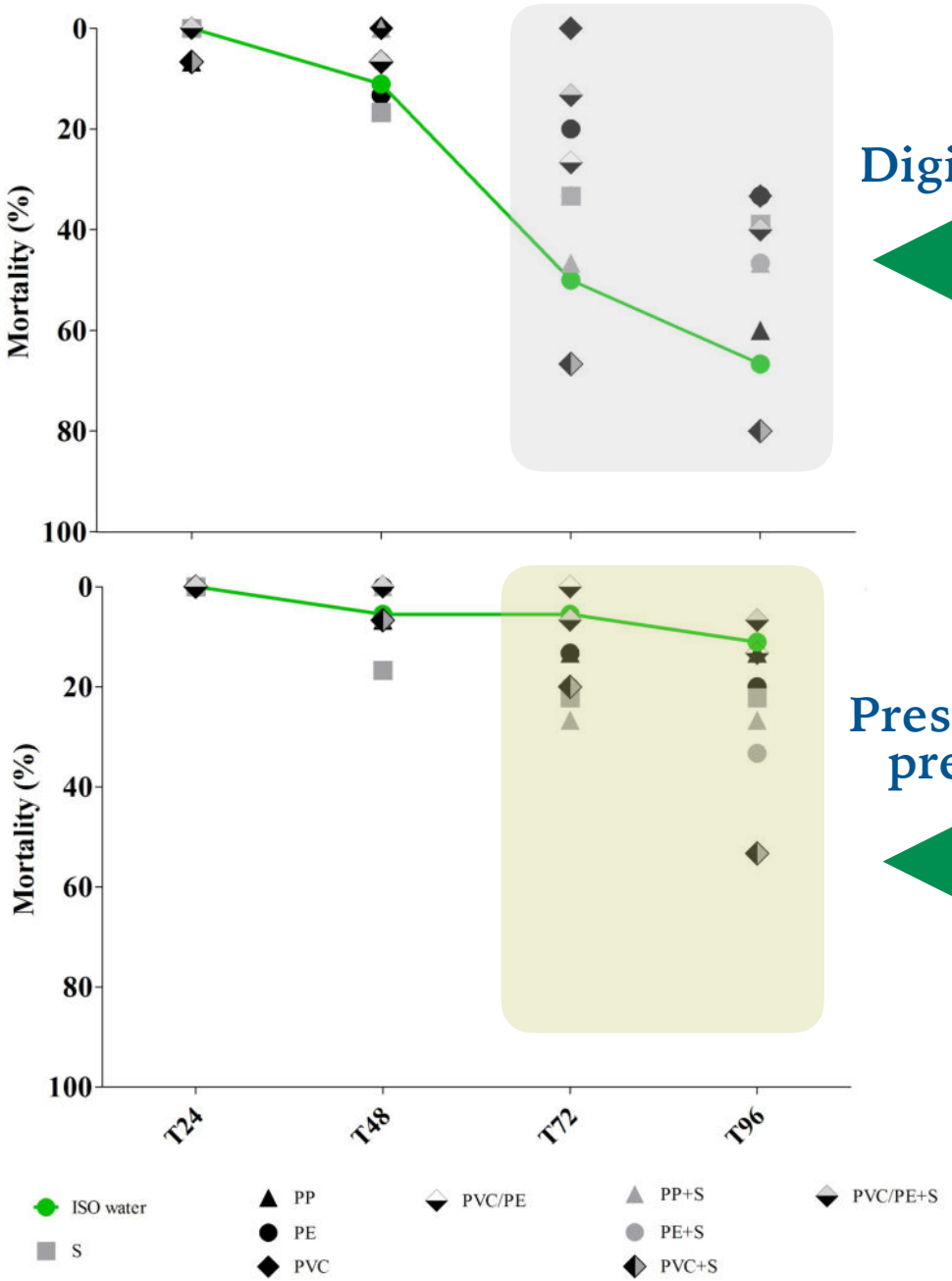
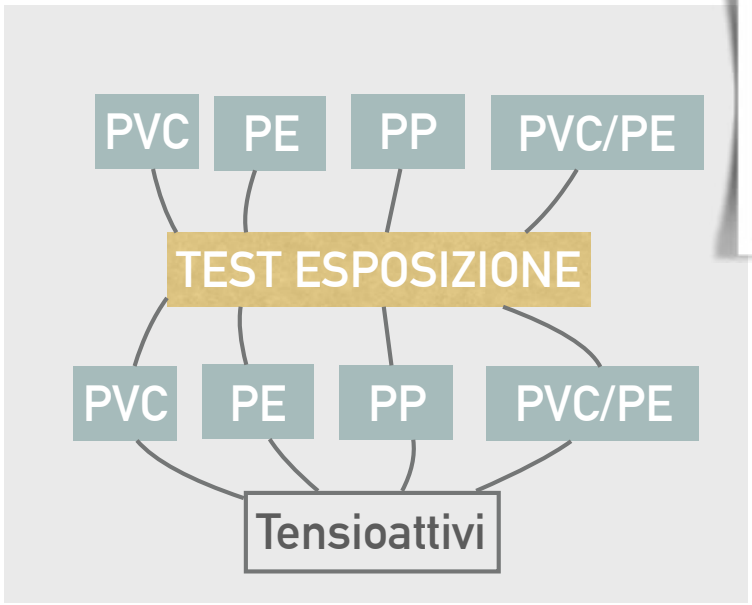


Figure 3. Cellular damages observed by light microscopy in species exposed to toxicant. Natural tissue structure observed in controls are reported in figures A, E, L, N. Alterations observed: Osmotic alterations (B, M), chloroplasts alterations (C, D), cellular death (F, G, I, P), colour alteration (absence of pigments, change to dark brown, M, O, P), proliferations on leaves (H).

CASO DI STUDIO 11 – EFFETTO DEL FEEDING SULLA RISPOSTA ECOTOSSICOLOGICA

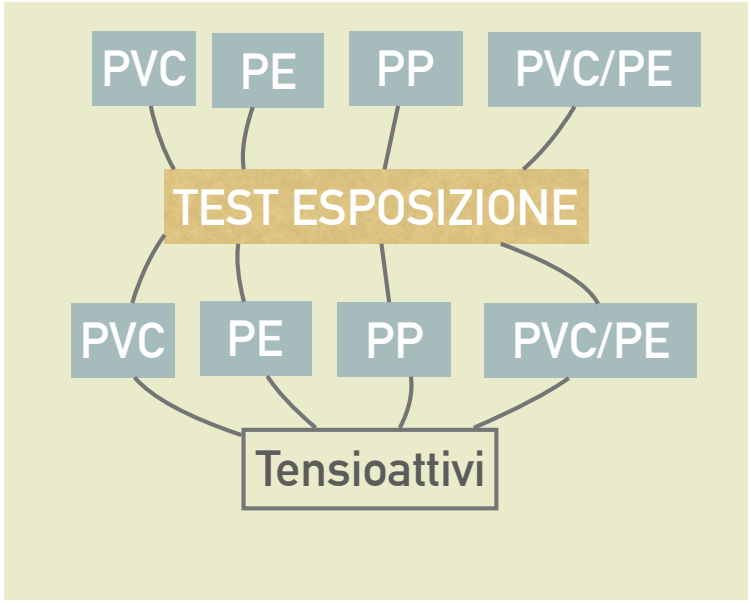


Digiuno





Presenza prede

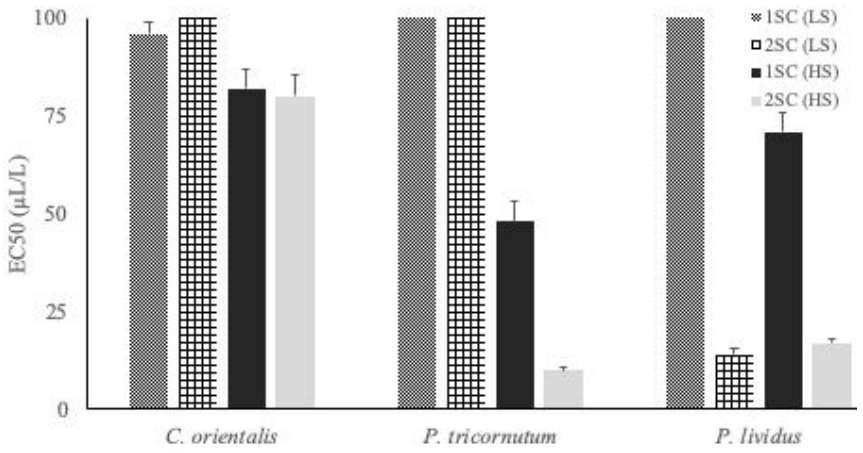


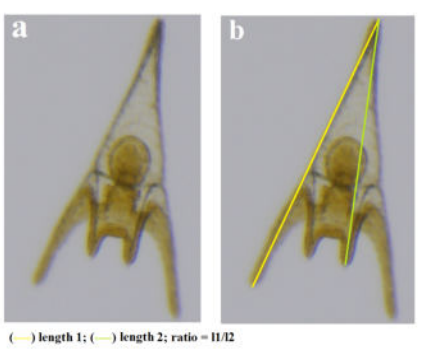
CASO DI STUDIO 12 – STRESS ECOLOGY: EFFETTO DI PH E SALINITÀ

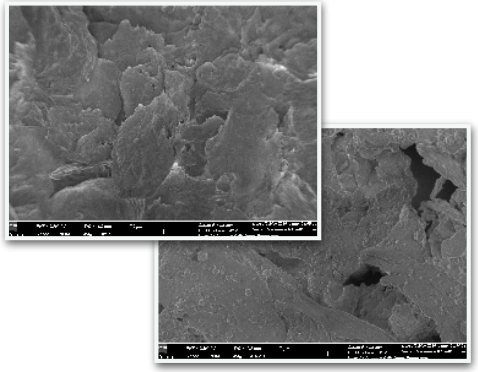
- Uno stress salino di +0.5% altera le risposte ecotossicologiche come riportato in letteratura per pH e temperatura

  (Prato et al., 2008; Dupont et al., 2010; Asnaghi et al., 2013; Asnaghi et al., 2014)

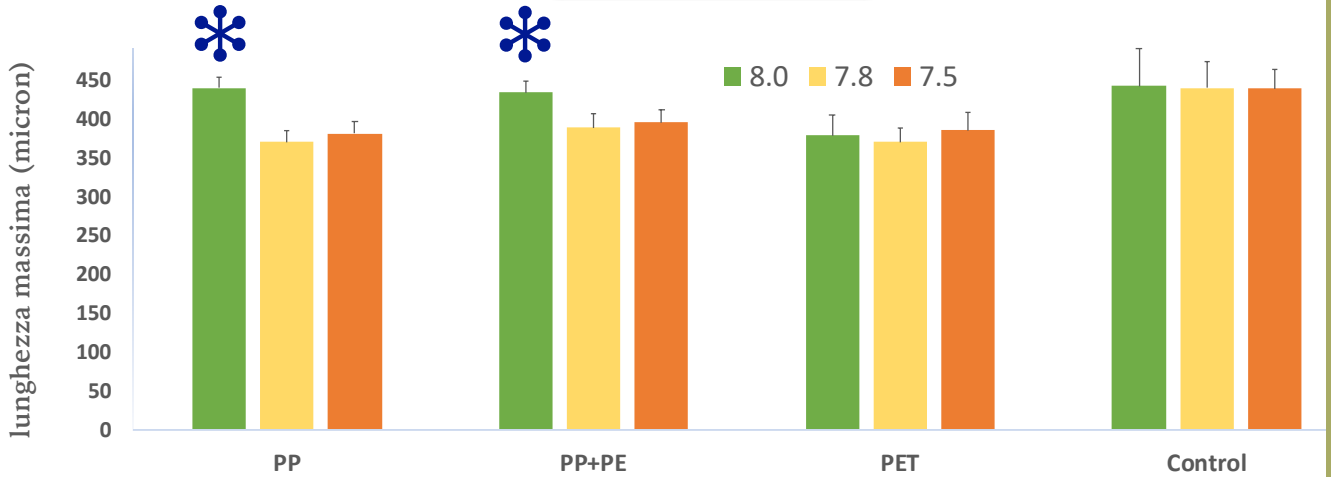
- Il riscaldamento globale può incidere sulle valutazioni di rischio ecotossicologico effettuate in base di risposte ottenute in condizioni standard





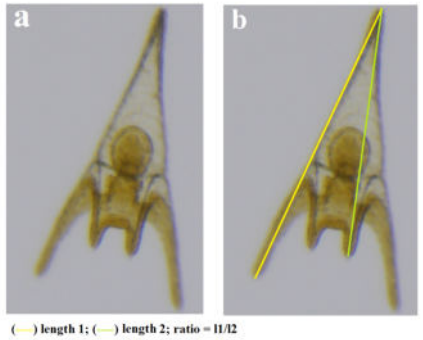


Riduzione di pH (-0,5) altera il biovolume nei plutei normoformati a 72 h di esposizione ed incide sull'EC50 osservato dopo esposizione a leachate di plastiche.



L'associazione ecotossicologia & stress ecology è fondamentale per modellizzare e predire gli effetti sulle reti trofiche in dovuti ad esposizione a sostanze chimiche in risposta anche ad effetti indiretti di variazioni climatiche

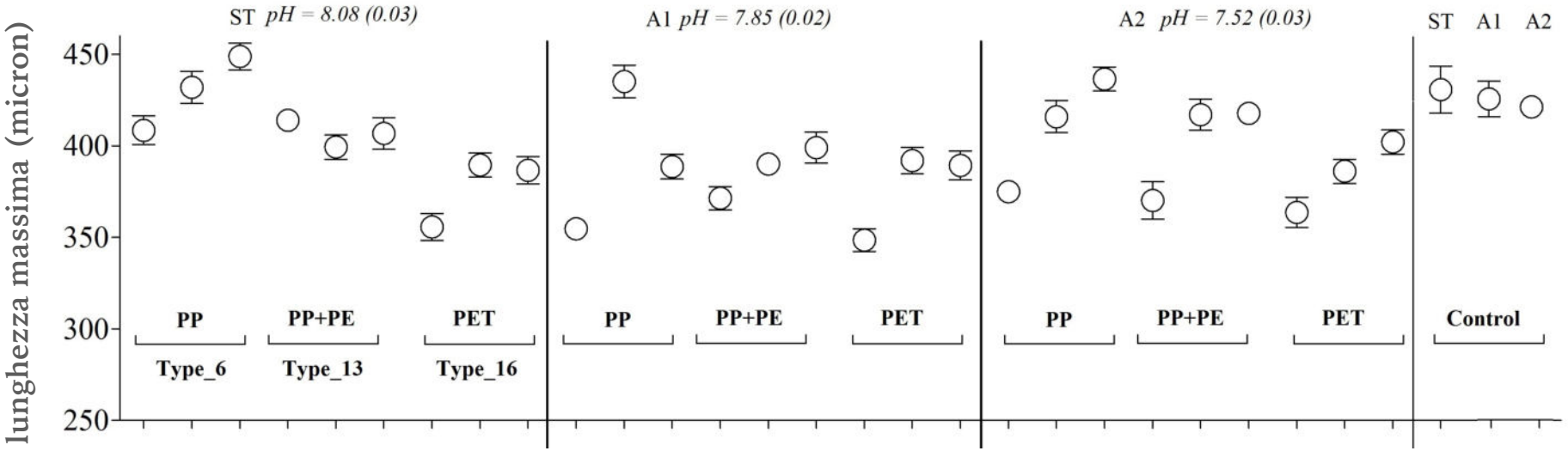
CASO DI STUDIO 13 – STRESS ECOLOGY: EFFETTO DEL PH



Lo stress chimico induce alterazione del biovolume nei plutei normoformati a 72 h di esposizione

Questo ha significato notevole nella fitness individuale e specifica con ripercussioni potenzialmente importanti nelle reti trofiche marine

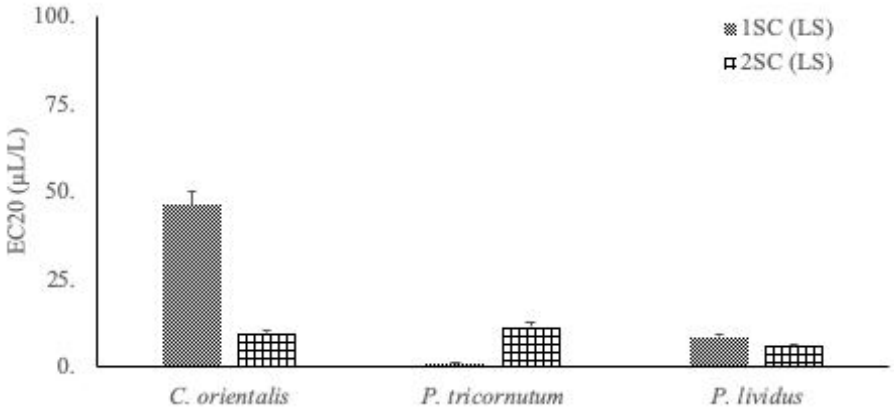
La diminuzione del pH riduce in modo significativo la varianza del biovolume degli individui normoformati e incide sull'EC50 osservato dopo esposizione a leachate di plastiche



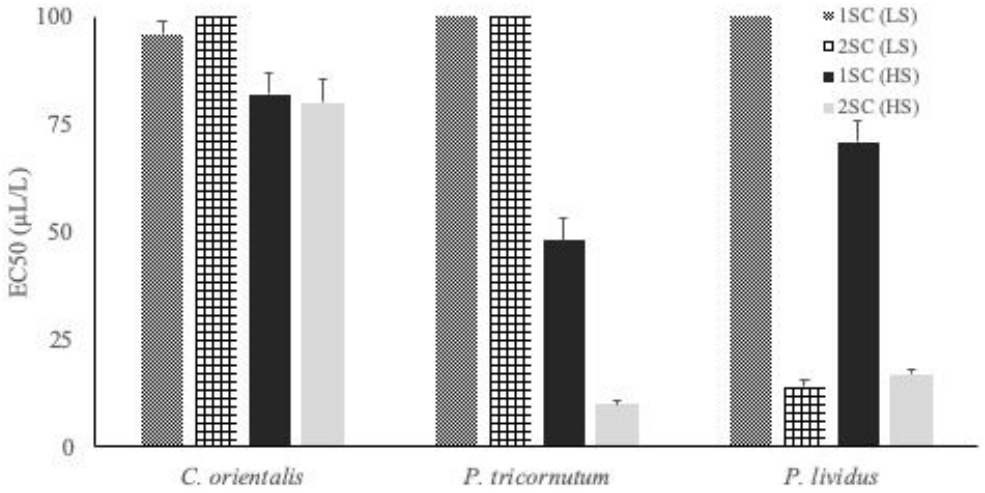
CASO DI STUDIO 14 – STRESS ECOLOGY: SALINITÀ

EXPOSURE TO SUNSCREENS IN KEY MARINE SPECIES: CHANGING ECOTOXICITY AS POSSIBLE INDIRECT EFFECT OF GLOBAL WARMING

Paolo Fastelli[a], Monia Renzi[a*]



EC20 recorded under standard salinity conditions (3.5%, LS) in tested species. Lower EC20 values means higher toxicity. Standard deviations are evidenced. EC20 is the concentration of test substance which results in a 20 percent reduction in tested endpoint (i.e. survival rate for crustaceans, growth rate for algae, and abnormal embryos for echinoderms) relative to the control. 1SC = chemical-based sunscreen type; 2SC = physical-based sunscreen type.



EC50 recorded under different salinity conditions. EC50 is the concentration of test substance which results in a 50 percent reduction in tested endpoint (i.e. survival rate for crustaceans, growth rate for algae, and abnormal embryos for echinoderms) relative to the control. Standard optimal salinity (3.5%, LS) and high salinity (4.0%, HS) were tested. Represented differences resulted significant ($p<0.001$). Under stressing osmotic conditions (HS) negative controls showed effects always lower than 15%. Represented results are corrected according to the effect recorded on negative controls. 1SC = chemical-based sunscreen type; 2SC = physical-based sunscreen type.

- Salinity stress of 0.5% (3.5% vs 4.0%) could be effective on changing ecotoxicological responses as reported by the literature concerning temperature and pH

(Prato et al., 2008; Dupont et al., 2010; Asnaghi et al., 2013; Asnaghi et al., 2014)

- Global warming could affect ecotoxicological risk assessment evaluations performed under standard test conditions required in European countries on personal care products.

CASO DI STUDIO 15 – EFFETTO SUL COMPORTAMENTO ALIMENTARE

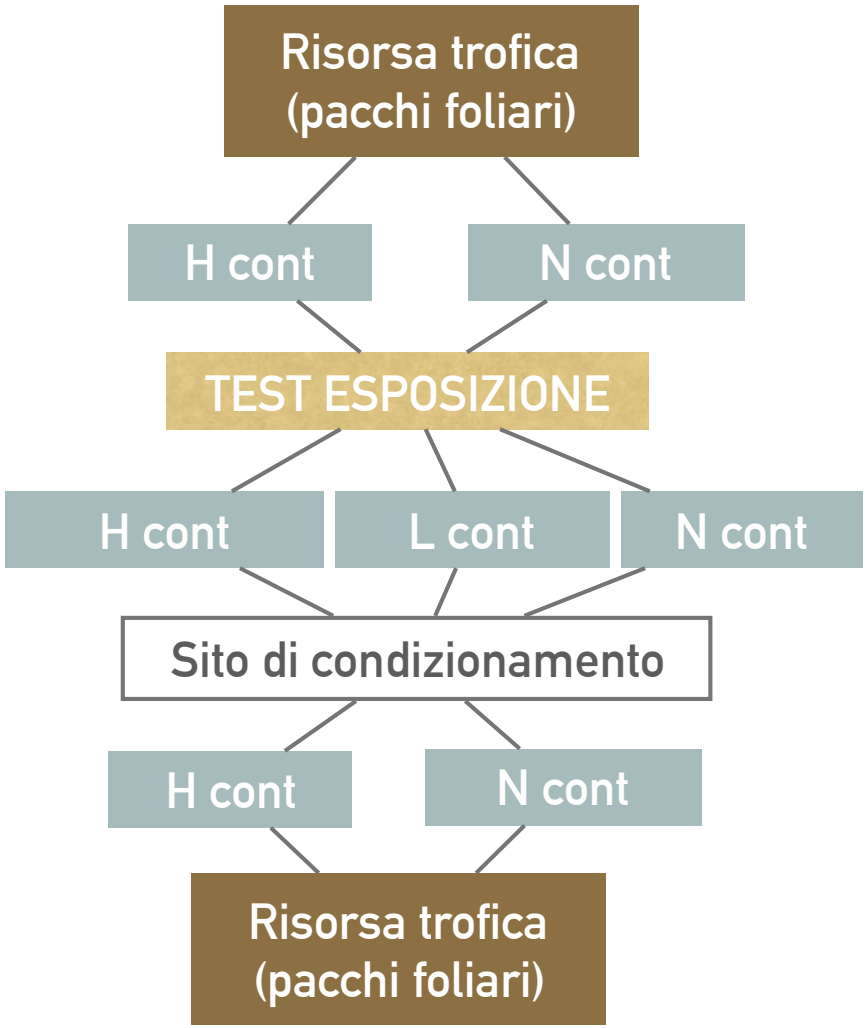
Mine Water Environ
DOI 10.1007/s10230-017-0432-x

TECHNICAL ARTICLE

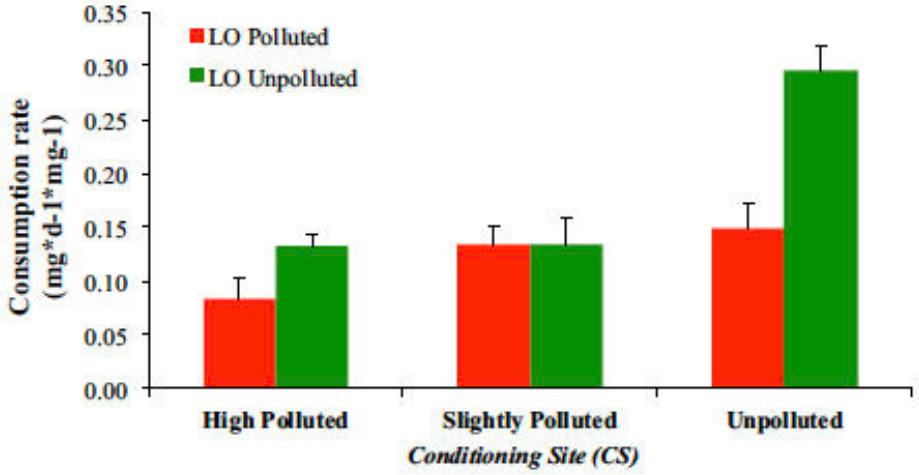
Do Mining Activities Significantly Affect Feeding Behavior of Freshwater Benthic Macroinvertebrates? A Case Study in South Sardinia (Italy)

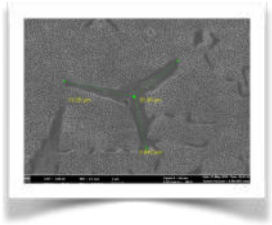
Alberto Basset[1] · Maurizio Pinna[1] · Monia Renzi[1,2]

Gli organismi acquatici testati hanno avuto la possibilità di scegliere la fonte di approvvigionamento nutritivo (detrito foliare) preferita tra le varie opzioni a diverso livello di contaminazione da metalli pesanti

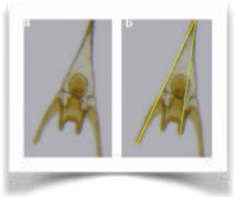


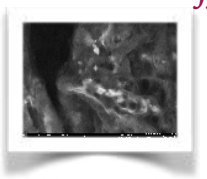
- I macroinvertebrati preferiscono risorse trofiche provenienti da ambiti non contaminati o condizionati in acque di ambiti non contaminati
- I tassi di ingestione sono ridotti sia dalla contaminazione della risorsa trofica che dal tipo di condizionamento





Effetti a livello cellulare

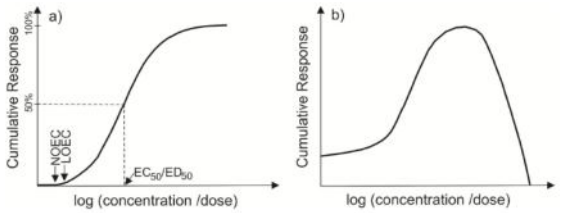




Effetti a livello tissutale/organi

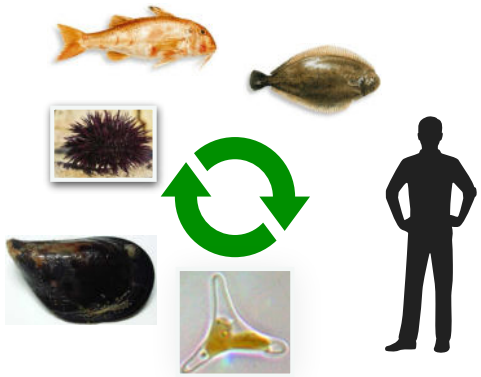
Indicatori di stress precoce





Risposte ecotossicologiche in vitro/vivo su specie test standardizzate e non

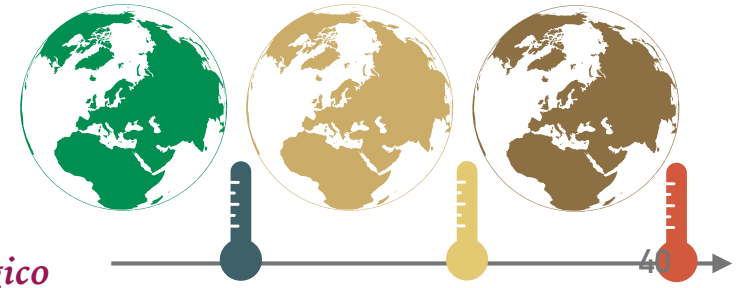
"Nature is not only more complex than we think… … It is more complex than we can think"



Effetti a livello di rete trofica



Effetti a livello ecologico



Effetti in condizioni ecologiche di stress



Effetti molecolari

- *Trascrittomica*
- *Proteomica*
- *Metabolomica*
- *Epigenetica*
- *Genotyping*

Contaminanti di nuova generazione



Liquidi ionici

Ritardanti di fiamma

PBDE

Farmaceutici

Composti fluorurati

Glifosato

Cianotossine

Sottoprodotti di disinfezione

Cosmetici, muschi e fragranze

Semivolatili

Plastificanti e loro metaboliti

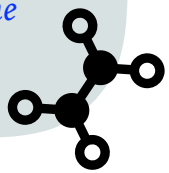
Pesticidi neonicotinoidi

Sostanze chimiche per il trattamento del legname

Nanoparticelle

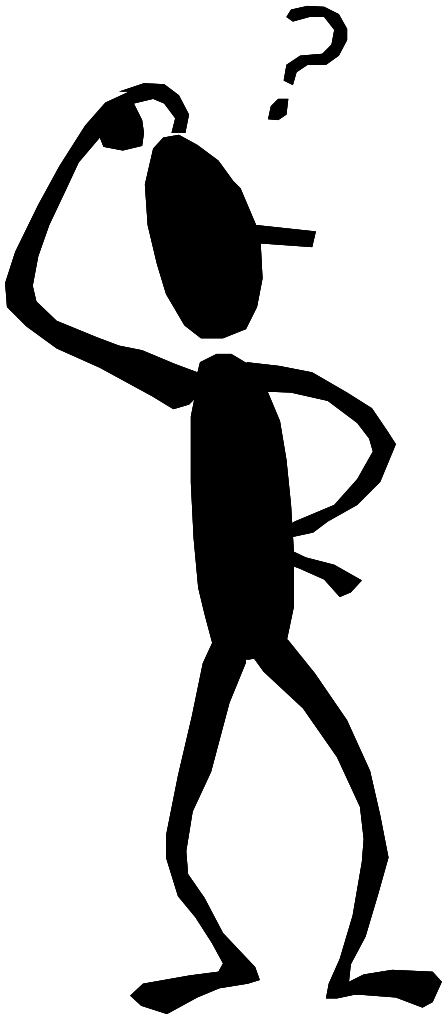
Microplastiche

Medicinali veterinari



Perché utilizzare l'ecotossicologia come strumento per interpretare le dinamiche ecologiche?

Egler FE, The Way of Science. A philosophy of Ecology for the Layman, 1970





DOMANDE?