



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E  
AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**EFFETTI DELLE CARATTERISTICHE  
CHIMICO-FISICHE DEI SUOLI AGRARI  
SUL DESTINO AMBIENTALE DEI  
FITOFARMACI**

Effects of physico-chemical characteristics of  
agricultural soils on the environmental fate of  
pesticides

TIPO TESI: compilativa

Studente:  
MARCO MANCINI

Relatore:  
PROF. COSTANTINO  
VISCHETTI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

# SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE.....	
ELENCO DELLE FIGURE .....	
1. INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI.....	
1.1 Destino ambientale dei fitofarmaci	
1.1.1 Contaminazioni diffuse	
1.1.2 Contaminazioni puntiformi	
1.1.3 Filtrazione, deposizione e infiltrazione	
1.1.4 Adsorbimento	
1.1.5 Desorbimento	
1.1.6 Degradazione	
1.2 Ecotossicologia fitofarmaci	
1.2.1 Organismi bioindicatori	
1.2.2 Biomarker	
1.3 Scopo della tesi	
2. FATTORI CHE INFLUENZANO IL DESTINO AMBIENTALE DEI FITOFARMACI	
2.1 Effetti delle proprietà chimico-fisiche e biologiche dei suoli sul destino dei fitofarmaci	
2.2 Effetti della qualità e quantità di sostanza organica presente nel suolo	
2.3 Effetti delle pratiche agronomiche e gestionali sul destino dei fitofarmaci nel suolo	
3. CONCLUSIONI	
BIBLIOGRAFIA .....	

## ELENCO DELLE TABELLE

- Tabella 1 - Coefficienti di ripartizione riferiti al carbonio organico (Koc) di alcuni p.f. ....
- Tabella 2 - Selezione di test di tossicità con invertebrati del terreno.....
- Tabella 3 - Imazaquin percentuale in soluzione circolante influenzata da vari gradi di disidratazione .....
- Tabella 4 – Cambiamento con il pH di forma, comportamento e meccanismo di assorbimento operante con composti acidi e basici .....
- Tabella 5 – Valori di Kf di atrazina nel suolo tal quale e con l’aggiunta di dosi diverse di fanghi di depurazione.....
- Tabella 6 – Parametri dell’adsorbimento dei tre fitofarmaci nel suolo.....
- Tabella 7 – Parametri dell’adsorbimento dei tre fitofarmaci nel biomix .....
- Tabella 8 – Parametri di degradazione dei tre fitofarmaci nel suolo .....
- Tabella 9 – Parametri di degradazione dei tre fitofarmaci nel biomix.....
- Tabella 10 – Emivita di alcuni pesticidi nel suolo e biomix .....
- Tabella 11 – Distribuzione del coefficiente Kd (l/kg) per clofencet, acido salicilico e 2,4-D per 18 suoli.....
- Tabella 12 – Assorbimento di fluometuron e norflurazon nel suolo influenzati da lavorazione, copertura e profondità in suoli del Dundee. I valori di Kd sono stati calcolati usando la regressione non lineare con cinque replicazioni .....
- Tabella 13 – Perdite in due anni e influenza della lavorazione del suolo e della coltura.....

## ELENCO DELLE FIGURE

- Figura 1 - Isoterme di adsorbimento di tipo C, L ed S.....
- Figura 2 - Esempi di isoterme di adsorbimento/desorbimento non isteretico (a), parzialmente isteretico (b) e totalmente isteretico (c) tracciate secondo Freundlich .....
- Figura 3 - Tempo di emivita di un fitofarmaco.....
- Figura 4 - Esempio di curva dose-risposta.....
- Figura 5 - Valutazione del rischio ecotossicologico .....
- Figura 6 - Relazione tra i processi che condizionano il destino dei fitofarmaci nel suolo, l'acqua, l'aria e i fattori del suolo modificati dalle lavorazioni .....
- Figura 7 - Influenza della temperatura sull'assorbimento del pentaclorofenolo nel suolo a pH 4.3 e 7.5. Le barre rappresentano la deviazione standard.....
- Figura 8 – Isoterme di assorbimento di PCP a pH 4.1 e 7.9. I dati per pH 4.1 è stato adattato con il modello di assorbimento lineare e i dati per pH 7.9 sono adattati con il modello di Langmuir.....
- Figura 9 – Tre tipi assorbimento in funzione del pH (A, B e C) spesso riscontrati con i pesticidi ionizzabili .....
- Figura 10 - Isoterme di assorbimento di atraziana e i differenti fanghi di deputazione
- Figura 11 - Cinetica di dissipazione del penconazolo in interfila lavorata (T) ed inerbita (G)

# Capitolo 1

## INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

### **1.1 Destino ambientale dei fitofarmaci**

Il destino ambientale dei fitofarmaci è la risultante di una serie di processi che possono portare tali sostanze in luoghi differenti dal punto di applicazione. Tutti i fenomeni che riguardano le dinamiche dei prodotti fitosanitari nell'ambiente dipendono non solo dalle caratteristiche dell'ambiente stesso, ma anche dalle peculiarità intrinseche dell'agrofarmaco in esame.

Le contaminazioni possono essere *diffuse* o *puntiformi*.

Per prevenire la dispersione ambientale degli agrofarmaci, riducendo o annullando le concentrazioni nei differenti comparti ambientali vengono attuate delle misure e degli accorgimenti chiamati **misure di mitigazione**.

Per i fenomeni di contaminazione diffusa le misure di mitigazione puntano a ridurre la deriva, il runoff e l'erosione, per i fenomeni di contaminazione puntiforme le misure di mitigazione sono utili alla riduzione della dispersione durante le operazioni di carico e scarico e lavaggio delle attrezzature utilizzate per i trattamenti

Le misure di mitigazione del rischio ambientale possono essere catalogate come segue:

- Sistemi gestionali (Legislazione, incentivi al non-uso o all'uso ridotto, Sistemi informatici di supporto alle decisioni)

- Sistemi educazionali (educazione ambientale degli addetti, buona pratica agricola)
- Sistemi agronomici (set aside, no tillage, minimum tillage, agricoltura di precisione)
- Sistemi biologici Buffer strips (fasce tampone) Biobeds\* (letti biologici)

### 1.1.1 Contaminazioni diffuse

Nelle **contaminazioni diffuse** si verifica la redistribuzione dell'inquinante principalmente ad opera di eventi di volatilizzazione e ricaduta, deriva durante i trattamenti e lisciviazione.

La **volatilizzazione** è il passaggio del fitofarmaco allo stato gassoso nell'atmosfera dove può subire dispersione, fotodecomposizione e rideposizione. È un pericolo soprattutto per gli operatori in serra e per il successivo processo di rideposizione, infatti, una volta raggiunta l'atmosfera, la molecola del pesticida può essere trasportata per lunghe distanze e ricadere con la pioggia, la nebbia, la neve e la polvere.

La volatilità di un composto può essere misurata attraverso la pressione di vapore  $p$  normalmente espressa in mPa

$$p = dRT / M$$

dove

- $d$  = densità di vapore ( $\mu\text{g/L}$ )
- $R$  = costante univ. dei gas =  $8,2 \text{ mPa } \mu\text{mol}^{-1}\text{K}^{-1}$
- $T$  =  $298 \text{ }^\circ\text{K}$  o  $25 \text{ }^\circ\text{C}$
- $M$  = peso molecolare

La pressione di vapore dei fitofarmaci è molto bassa ( $10^2$ -  $100 \text{ mPa}$ ) tali da indurre a pensare che la volatilizzazione sia un processo nullo o trascurabile, ma si deve considerare che  $p$  è molto più elevata quando la concentrazione nell'atmosfera è nulla o molto piccola e diminuisce quanto più ci si avvicina alla saturazione.

Il miglior parametro per la valutazione della volatilità è comunque la costante di Henry  $K_H$ :

$$K_H = C_g / C_L$$

dove

- $C_g$ : conc. nella fase gassosa
- $C_L$ : conc. nella fase liquida

L'umidità del suolo gioca un ruolo importante nella ripartizione poiché la Legge di Henry è valida per il passaggio liquido/gas, se il terreno è secco la volatilizzazione è molto minore.

La quantità dell'agrofarmaco soggetta a rideposizione non è significativa: programmi di monitoraggio hanno evidenziato concentrazioni nelle piogge comprese tra 0.001 e 3.3  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Trevisan et al., 1993).

La percentuale della dose applicata che volatilizza dal suolo e dalle piante è in genere bassa (0,1%), ma in casi particolari può raggiungere il 90 %.

I fattori che influenzano il processo sono:

- caratteristiche fisico-chimiche della sostanza
- proprietà della superficie
- temperatura dell'aria
- umidità
- vento e flussi di massa gassosa.

La **deriva** è il fenomeno che al momento del trattamento può portare il fitofarmaco (allo stato liquido in forma di piccole goccioline) a distanze diverse dal punto di applicazione.

La deriva è uno dei fenomeni più pericolosi in quanto produce contaminazione diretta e può raggiungere il 4% del fitofarmaco applicato.

La deriva può portare a:

- *Contaminazione diretta di acque superficiali*, quando vicino al campo trattato si trovano fiumi, laghi, ruscelli, canali ecc.
- *Contaminazione diretta di colture adiacenti* che non tollerano il fitofarmaco
- *Contaminazione diretta di astanti* per zone abitate limitrofe ai campi trattati

I principali fattori che possono influenzare la deriva sono: le caratteristiche dello spray, l'equipaggiamento e le tecniche di applicazione, le condizioni climatiche e gli operatori.

Dopo l'influenza del vento, la dimensione delle goccioline dello spray è il secondo più importante fattore di deriva da fitofarmaci.

Bisogna saper raggiungere il giusto compromesso tra la dimensione delle goccioline dettata dal tipo di trattamento e il fatto che goccioline troppo piccole potrebbero rimanere nell'aria troppo a lungo ed essere trasportate a distanze notevoli dal punto di applicazione.

Da studi effettuati si è visto che gocce di diametro inferiore a 150  $\mu\text{m}$  in generale creano il maggiore rischio di deriva mentre se il diametro è maggiore di 200  $\mu\text{m}$  la deriva diviene quasi trascurabile. Lo stesso studio ha stabilito che gocce di diametro inferiore a 50  $\mu\text{m}$  devono tassativamente essere evitate in quanto restano nell'aria fino all'evaporazione e la loro deriva è impossibile da controllare.

Nella pratica dei trattamenti comunque, c'è bisogno di un range di dimensioni delle gocce per permettere la giusta deposizione dei fitofarmaci in funzione della vasta gamma di piante da trattare, delle loro dimensioni e della loro forma.

Insetticidi e fungicidi richiedono in genere gocce di dimensioni minori per ottenere una adeguata ed uniforme copertura della vegetazione in atto.

Risultati sperimentali con erbicidi fogliari suggeriscono che gocce di dimensioni da 100 a 400  $\mu\text{m}$  non danno risultati diversi per quanto riguarda il controllo delle malerbe.

Si sarebbe spinti quindi a ridurre il volume di trattamento ed a incrementare le pressioni d'esercizio agli ugelli ma questo provocherebbe maggiore rischio di deriva.

Attualmente sono disponibili svariate soluzioni di ugelli, come quelli a bassa deriva (low drift nozzles), che consistono nell'introduzione di un pre-orifizio che riduce la velocità del liquido e la pressione all'uscita creando gocce di dimensioni maggiori, o quelli ad induzione d'aria,

basati sul principio d'intrappolare l'aria nelle gocce all'interno dell'ugello. L'aria viene introdotta nell'ugello attraverso una piccola apertura grazie al così detto "effetto venturi" la riduzione della pressione creata all'interno dell'ugello porta all'inglobamento dell'aria all'interno della soluzione del fitofarmaco con formazione di bolle d'aria. Il liquido con l'aria all'interno esce dall'ugello in forma di gocce più grandi che riducono il rischio di deriva.

In alcuni casi è possibile impiegare degli additivi, coadiuvanti chimici che aumentano la dimensione delle gocce e quindi riducono la deriva a parità di altre condizioni. Alcuni test indicano riduzioni di deriva fino all'80% con l'uso di queste sostanze. L'uso di queste sostanze comunque può causare una distribuzione non uniforme dagli ugelli. Per far fronte a questo, la tecnologia ha prodotto ugelli anti deriva che forniscono un controllo eccellente delle dimensioni delle gocce, permettendo la riduzione dell'uso di additivi.

Sempre per il controllo della deriva è possibile combinare l'impiego di schermi di protezione dei distributori, utilizzati soprattutto per i trattamenti nei prati e pascoli, con i nuovi tipi di ugelli anti deriva. Bisogna comunque rispettare tutte le norme in etichetta anche con l'uso di questi sistemi.

Le condizioni climatiche influenzano fortemente l'eventuale deriva degli agrofarmaci: la *velocità del vento* è la condizione meteorologica più critica. Maggiore è la velocità del vento, maggiore sarà la distanza alla quale le gocce di soluzione del fitofarmaco possono essere proiettate.

Si può ritenere che sarebbe bene trattare quando questa è compresa tra 3,5 e 16 km/h. Velocità inferiori a 3,5 possono approssimare alle condizioni di inversione di temperatura che può essere dannosa quanto la eccessiva velocità

Anche *l'inversione di temperatura*, che si ha quando la temperatura è più bassa al suolo, aumenta con aumento di livello e quindi cala di nuovo può favorire la deriva perché in queste condizioni le gocce possono rimanere sospese e muoversi lentamente con il vento.

È anche importante determinare la direzione del vento in relazione alle colture sensibili vicine al sito del trattamento, alla presenza di corsi e specchi d'acqua e/o di abitazioni.

*L'umidità dell'aria* influenza soprattutto la rideposizione, cioè la ricaduta del fitofarmaco evaporato.

La direttiva europea 91/414/EEC emana norme in materia di registrazione dei fitofarmaci e di controllo del loro uso. In particolare, la deriva richiede stime durante l'applicazione di fitofarmaci con l'utilizzo delle Tavole di Ganzelmeier (1995).

Queste riportano una serie di misure di deriva effettuate in Germania su varie colture.

Con i dati delle Tavole, si può simulare la PEC<sub>sw</sub> (Predicted Environmental Concentration in surface water) attraverso il DRIFT CALCULATOR, un modello che predice la concentrazione dell'agrofarmaco in un corpo idrico statico, di profondità 30 cm, ad una distanza misurata tra la fine della barra irroratrice e il limite del corpo d'acqua.

La validità di queste tavole viene spesso messa in discussione soprattutto perché esse sono state ricavate in ambienti specifici del nord Europa e, sapendo che il clima può incidere notevolmente sulla deriva, è plausibile che in condizioni climatiche differenti esse non abbiano la stessa validità.

A questo proposito sono stati effettuati vari studi per la misura delle distanze di deriva in differenti condizioni climatiche anche in funzione della validazione delle tavole di Ganzelmeier.

Gli strati non superficiali del terreno possono ospitare il processo di **lisciviazione** mediante il quale i fitofarmaci vengono trasportati dalle acque percolanti lungo il profilo del suolo. La mobilità dei vari prodotti dipenderà dall'entità delle forze che si instaurano tra questi ed i

componenti della fase solida del terreno. Tali forze dipendono sia dalle caratteristiche dell'adsorbente che da quelle della sostanza adsorbita.

I fattori che influenzano il processo di lisciviazione sono le caratteristiche del suolo, le precipitazioni (frequenza ed entità), le proprietà della sostanza e l'irrigazione.

Nel tempo i fitofarmaci possono subire degradazione che riduce la quantità disponibile per il trasporto.

Si possono distinguere tre tipi di deflusso idrico dalla superficie del suolo:

Nel primo tipo l'acqua arriva alla superficie del terreno ed è totalmente assorbita dalla matrice del terreno. Tale tipo di deflusso si verifica quando la velocità di infiltrazione dell'acqua nel terreno è superiore alla intensità di pioggia (deflusso nei micropori).

Nel secondo tipo, l'intensità di pioggia è superiore alla velocità di infiltrazione e si ha la formazione di deflusso superficiale su piccola scala che defluisce all'entrata dei macropori (deflusso nei macropori).

Nel terzo tipo l'intensità di pioggia è superiore alla velocità di infiltrazione nei micro e macropori e si ha il deflusso superficiale su larga scala (runoff).

Il flusso dell'acqua e dei soluti nei micropori è lento e segue le leggi di Darcy (stazionaria) o di Richards (variabile), cioè del movimento di un fluido in un mezzo poroso

Darcy  $q_w = -K (dH/dz)$        $q_w$  = densità di flusso idrico (quantità che muove nell'unità di tempo)  
H = energia potenziale idraulica (matriciale + gravitazionale)  
K = conduttività idraulica del terreno  
z = distanza  
 $dh/dz$  = gradiente idraulico (forza che genera il movimento)

Richards  $\delta\theta/dt = \delta/\delta z [k(\theta)(\delta H/\delta z)]$        $\theta$  = contenuto idrico volumetrico del suolo

Una descrizione quantitativa della lisciviazione di un fitofarmaco può essere descritta dall'equazione di convezione-dispersione che contiene la descrizione simultanea di tutti i

processi fisici e chimici della diffusione del prodotto in funzione del gradiente di concentrazione in fase liquida e la convezione fisica (flusso di massa) in risposta al movimento della massa liquida

$$qS = qDL + qCL + qDG + qCG \pm \Phi$$

qS = densità di flusso del soluto (massa totale che muove nell'unità di tempo)  
DL CL = diffusione e convezione in fase liquida  
DG CG = diffusione e convezione in fase gassosa  
z = distanza  
Φ = vari processi che aumentano o diminuiscono la massa in soluzione

Il deflusso preferenziale dell'acqua e dei soluti attraverso il terreno, non previsto dalle teorie classiche della dinamica dei fluidi in mezzo poroso, è riconducibile principalmente al movimento dell'acqua attraverso i macropori del terreno, senza che essa sia soggetta all'influenza delle forze capillari (macropore flow); quando il movimento avviene attraverso una matrice di terreno insaturo si parla di bypassflow.

Questo tipo di deflusso è molto pericoloso dal punto di vista del trasporto dei fitofarmaci in quanto il trasporto risulta molto più veloce ed incrementato non rispondendo alle leggi del flusso per il movimento nei micropori. Inoltre, siccome la quantità di agrofarmaco che si muove nei micropori può essere notevolmente ridotta dai due processi fondamentali della degradazione e dell'adsorbimento, il movimento nei macropori può interessare quantità molto più elevate di agrofarmaco in quanto i due processi menzionati non possono avvenire.

### **1.1.2 Contaminazione puntiforme**

Carter (2000) ha definito per prima la contaminazione puntiforme (point-source) come una situazione localizzata dove i fitofarmaci entrano in un corpo idrico in zone ristrette.

La contaminazione può avvenire da azioni consentite quali lavaggio di vegetali, trattamenti non agricoli a strade, ferrovie ecc. oppure da azioni non consentite quali sversamenti accidentali, miscele nelle botti, lavaggi delle attrezzature, rifiuti dispersi nell'ambiente.

Altre possibili vie di contaminazione puntiforme sono legate a violazioni delle norme vigenti sull'uso e la distribuzione di questi prodotti in agricoltura come la non corretta conservazione nei magazzini con sversamenti accidentali e, ancor peggio, la discarica dei composti residui dopo il trattamento, nelle adiacenze dei campi o in prossimità dei corpi idrici vicini ai campi (Vischetti et al., 2008).

Da molti ricercatori è stato dimostrato che la contaminazione di tipo puntiforme è la principale via di contaminazione delle acque superficiali da fitofarmaci (Bach M., 1999; Mason et al., 1999).

La contaminazione puntiforme deve essere quantificata in tutti i Paesi della EU e devono essere adottate misure di mitigazione (Krueger et al., 2001; Mason et al., 2001) quali programmi di educazione degli addetti in agricoltura e con sistemi biologici di decontaminazione.

I sistemi biologici di decontaminazione permettono la depurazione delle acque provenienti dai residui dei trattamenti nelle botti e dal lavaggio delle attrezzature attraverso l'uso di particolari filtri costituiti da materiale organico di diversa provenienza (Tortensson et al., 1997).

Si possono attuare diverse soluzioni che consistono in buche ai margini dei campi riempite con materiali organici e con un sistema di scarico delle acque raccolte dalle attrezzature per i trattamenti (Vischetti et al., 2008). Le acque contaminate, attraversando tali filtri si depurano, tramite vari fenomeni e processi a carico dei fitofarmaci (Tortensson et al., 1997).

### **1.1.3 Filtrazione, deposizione e infiltrazione**

Per i fitofarmaci legati al sedimento l'efficienza delle fasce tampone è controllata soprattutto dal processo di deposizione, mentre per i composti solubili il fattore di controllo principale è l'infiltrazione.

Erbicidi altamente solubili sono stati trovati ad elevate concentrazioni nell'acqua di runoff, se questo inizia immediatamente dopo la pioggia. Erbicidi insolubili sono trasportati principalmente nel sedimento e le perdite sono elevate durante le piogge erosive.

Le fasce tampone, facendo variare le caratteristiche idrauliche del flusso, possono aumentare l'opportunità di infiltrazione nei larghi pori; il flusso preferenziale che si può verificare in queste condizioni può causare il rapido trasporto degli erbicidi negli strati profondi del suolo.

Infiltrazione ➔ leaching ➔ preferential flow

#### **1.1.4 Adsorbimento**

È un processo chemio-dinamico che avviene a carico delle superfici colloidali.

Le forze coinvolte sono molto variabili a seconda del tipo di legame fitofarmaco/superficie colloidale e possono formare legami reversibili o irreversibili.

I legami di tipo reversibile anche definiti legami deboli consiste nell'interazione tra cariche elettriche di segno opposto, fisse o fluttuanti.

Le energie di formazione dei legami deboli sono generalmente comprese tra 0 e 10 kcal/mole e sono relativamente instabili alle temperature ordinarie.

I legami irreversibili sottraggono per sempre il prodotto all'ambiente ed all'azione della flora microbica (residui legati o bond residues).

I legami deboli sono costituiti da: le *forze di Van der Waals* (uniscono le molecole neutre di quasi tutti i composti organici liquidi e solidi), le *forze elettrostatiche coulombiane* (si instaurano tra il fitofarmaco caricato, positivamente o negativamente, e il doppio strato elettrico della particella colloidale di segno opposto al fitofarmaco), i *legami a idrogeno* (si instaurano tra atomi di idrogeno legati ad elementi dotati di forte elettronegatività e posizioni

elettronegative presenti su altre molecole) e *ponti ad acqua* (particolare tipo di legame a idrogeno).

Tra i legami forti invece troviamo i *legami di coordinazione*, che si attua tra gruppi funzionali basici del fitofarmaco e gruppi funzionali basici della sostanza organica tramite un catione metallico messo a ponte tra i due composti. Il legame che si forma è irreversibile.

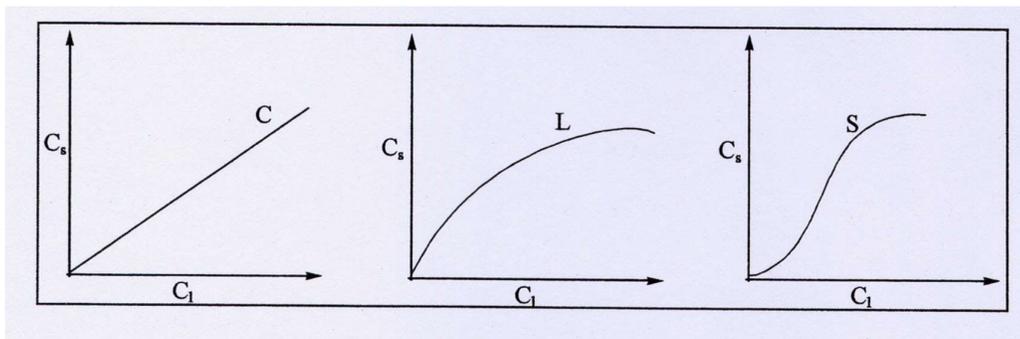
Sempre tra i legami forti abbiamo il *chemioadsorbimento* (formazione di veri e propri legami covalenti tra gruppi funzionali della molecola del fitofarmaco e dei componenti del suolo) e il *legame idrofobico* (avviene quando le parti apolari di composti diversi si uniscono le une alle altre).

### ***Isoterme di adsorbimento e Koc***

Curve a temperatura costante che descrivono la ripartizione di un fitofarmaco tra terreno e soluzione all'equilibrio.

Per il calcolo dei parametri di adsorbimento si costruisce una curva con i valori di  $C_s$  (concentrazione su suolo) in ordinate e di  $C_l$  (c. sul liquido) in ascisse, all'equilibrio.

Si possono ottenere 3 tipi di curve: tipo C, tipo L e tipo S:



***Figura 1 - Isoterme di adsorbimento di tipo C, L ed S.***

Nelle curve di TIPO C l'aumento di adsorbimento è costante al variare della concentrazione iniziale (il rapporto tra  $C_s$  e  $C_l$  è costante).

Nelle curve di TIPO S l'aumento dell'adsorbimento è meno che proporzionale all'aumentare della concentrazione iniziale per poi decrescere alla saturazione dei siti (bassa affinità a basse concentrazioni iniziali).

Nelle curve di TIPO L, l'aumento dell'adsorbimento è più che proporzionale all'aumentare della concentrazione iniziale (alta affinità a basse concentrazioni iniziali) fino ad una saturazione dei siti (andamento asintotico).

Per isoterme di TIPO C il rapporto  $C_S/C_L$  in ogni punto della curva è costante e viene definito  $K_d$ , coefficiente di distribuzione:

$$K_d = C_S/C_L$$

È il rapporto tra la concentrazione del fitofarmaco sul solido e quella sulla soluzione ad equilibrio raggiunto (in genere 12-16 ore).

Per isoterme di TIPO L o S il rapporto  $C_S/C_L$  in ogni punto della curva non è costante e per quantificare l'adsorbimento si usa l'equazione Di Freundlich:

$$C_S = K_F \times C_L^n$$

L'equazione vale per tutti i tipi di isoterma. Se  $n = 1 \Rightarrow$  tipo c, se  $n < 1 \Rightarrow$  tipo l, se  $n > 1 \Rightarrow$  tipo s.

Per descrivere l'adsorbimento di un fitofarmaco bisogna ricavare  $K_F$  (Costante Di Freundlich) ed  $n$  (Esponente Di Freundlich). Ciò è possibile con un artificio matematico, utilizzando i valori logaritmici (in base 10) dei punti ricavati nell'esperimento.

L'equazione  $C_S = K_F \times C_L^n$  diviene:

$$\text{Log}C_S = \text{Log}(K_F \times C_L^n) \text{ e cioè}$$

$$\text{Log}C_S = n\text{Log}C_L + \text{Log}K_F$$

che è l'equazione di una retta ( $y = mx + q$ ) che presenta una intercetta all'origine (LogKF) ed un coefficiente angolare che vale  $n$ .

Per quasi tutti i fitofarmaci la maggiore responsabile dell'adsorbimento è la sostanza organica con la formazione di legami idrofobici e, se si considera che  $n$  è sempre prossimo all'unità, si può utilizzare il  $K_d$  per descrivere l'adsorbimento.

È quindi possibile definire per ogni fitofarmaco la costante  $K_{oc}$  ricavabile dalla formula seguente:

$$K_{oc} = K_d / \%oc \times 100$$

È meglio comunque misurare sempre il KF in esperimenti a 4 o 5 concentrazioni iniziali e ricavare il  $K_{oc}$  dal KF.

La  $K_{oc}$  è una caratteristica peculiare di ogni fitofarmaco ed ha sempre lo stesso valore a prescindere dal tipo di terreno (si trovano le tabelle di  $K_{oc}$  nei manuali sui fitofarmaci).

Il  $K_d$  invece è una caratteristica del fitofarmaco relativa al solo tipo di terreno sul quale viene misurato (è un dato variabile e non fisso).

I valori di  $K_{oc}$  danno una idea di massima sulla mobilità di un fitofarmaco lungo il profilo del suolo a parità di altre condizioni, a valori elevati di  $K_{oc}$  corrisponde una bassa mobilità e viceversa.

Esistono varie classificazioni di mobilità in base ai valori di  $K_{oc}$ , una possibile classificazione mutuata da differenti lavori in letteratura è riportata di seguito:

$K_{oc} < 150 \quad \Rightarrow \quad$  molto mobili

$150 < K_{oc} < 500 \quad \Rightarrow \quad$  mediamente mobili

$500 < K_{oc} < 2000 \quad \Rightarrow \quad$  poco mobili

$K_{oc} > 2000 \quad \Rightarrow \quad$  immobili

<b>Prodotto fitosanitario</b>	<b>Koc (ml/g)</b>
Atrazian	160
Carbofuran	28
2,4 D	20
DDT	240.000
Diazinone	850
EPTC	280
Methylparathion	5100
Monuron	1800
Napropamide	300
Phorate	660
Simazina	140
Triallate	3600
Trifluralin	7300

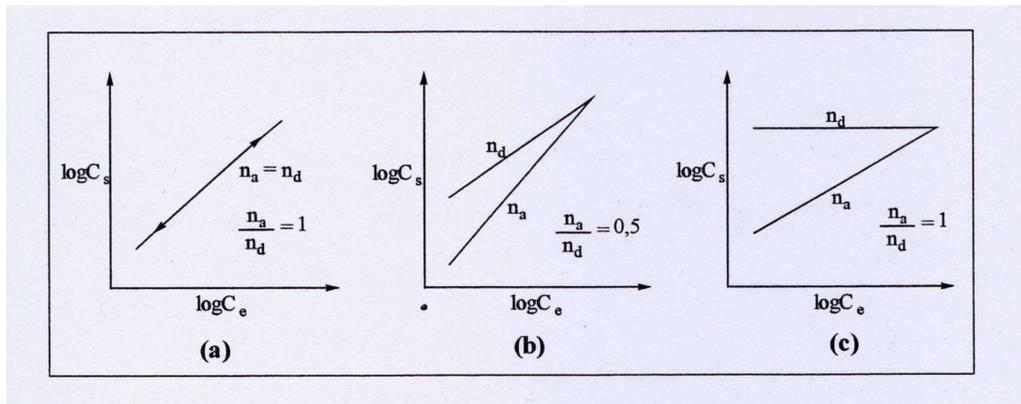
***Tabella 1 - Coefficienti di ripartizione riferiti al carbonio organico (Koc) di alcuni p.f.***

### **1.1.5 Desorbimento**

Il desorbimento riguarda la parte di fitofarmaco adsorbita sul solido in modo reversibile.

Le isoterme di desorbimento si ricavano allontanando la soluzione dopo l'esperimento di adsorbimento e rimpiazzandola con acqua distillata, attendendo il raggiungimento di un nuovo equilibrio e misurando la concentrazione del fitofarmaco desorbito.

Si ottengono così i punti per tracciare le isoterme di desorbimento che possono essere di diverso tipo:



*Figura 2 - Esempi di isoterme di adsorbimento/desorbimento non isteretico (a), parzialmente isteretico (b) e totalmente isteretico (c) tracciate secondo Freundlich.*

L'isteresi è la caratteristica di un sistema di reagire in ritardo alle sollecitazioni applicate e in dipendenza dello stato precedente.

In a) l'i. di adsorbimento e quella di desorbimento coincidono

$$n_d = n_a \quad (\text{indice di desorbimento}) \quad n_d/n_a = 1$$

L'adsorbimento è completamente reversibile (**nessuna isteresi**)

In c) non c'è desorbimento e  $n_d/n_a = 0$

L'adsorbimento è completamente irreversibile (**isteresi totale**)

I casi più frequenti sono quelli in cui si verifica una isteresi ed il rapporto  $n_d/n_a$  è compreso tra 0 ed 1 (parte b) della figura) e cioè l'adsorbimento è in parte reversibile in parte no (**isteresi parziale**).

In alcune notazioni l'isteresi di desorbimento si calcola in modo opposto, cioè  $n_a/n_d = H$ . Il concetto non cambia, ma in questo caso H può essere uguale a 1 (completa reversibilità) o maggiore di 1 (la reversibilità diminuisce man mano che il rapporto aumenta).

### 1.1.6 Degradazione

La degradazione è la rottura della molecola del fitofarmaco e la sua trasformazione in prodotti definiti appunto prodotti di trasformazione o di degradazione (o metaboliti) oppure la sua completa mineralizzazione (acqua e CO<sub>2</sub>).

Le principali reazioni di degradazione di un fitofarmaco possono essere catalogate come segue:

- *Degradazione fotochimica (Fotolisi)*

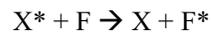
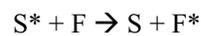
È catalizzata dalla luce solare (soprattutto UV 290-450 nm).

Il meccanismo consiste nella rottura omolitica dei legami con formazione di radicali liberi molto reattivi, può essere

- Diretta



- Indiretta (favorita da fotosensibilizzatori (S) quali amine, antrachinone, acidi fulvici)



Agisce soprattutto su F non interrati o presenti nelle acque superficiali

- *Degradazione chimica*

È rappresentata in gran parte da reazioni di idrolisi ed ossidazione catalizzate dalla presenza di minerali argillosi ed ossidi e idrossidi di Fe ed Al che adsorbono i fitofarmaci.

La presenza di particolari metalli sulle superfici dei colloidali minerali può accelerare il processo.

○ *Degradazione biologica (Biodegradazione)*

È la più importante via di degradazione dei fitofarmaci e viene operata da molti generi di microrganismi presenti nel suolo come *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Aerthrobacter*, *Penicillium* ecc.

I microrganismi sono agenti chiave nella degradazione di una vasta gamma di molecole organiche in ecosistemi acquatici e terrestri in seguito a processi aerobici ed anaerobici.

Alcuni xenobiotici sono resistenti alla degradazione microbica e persistono per lungo tempo nell'ambiente, altri sono trasformati in intermedi talvolta più tossici del principio attivo di partenza.

In generale i **processi coinvolti** nella trasformazione del fitofarmaco sono:

1. **Cometabolismo:** la degradazione avviene ad opera dei microrganismi i quali mentre crescono a spese di un substrato, sono capaci di trasformare l'agrofarmaco senza derivarne alcun nutrimento o energia per svilupparsi.
2. **Polimerizzazione:** è un processo di unione ossidativa in cui un agrofarmaco o un suo intermedio si combinano o con residui di altri xenobiotici o con prodotti naturali fino a formare macromolecole.
3. **Accumulo:** è un processo fisico passivo che consiste nell'ingresso dell'agrofarmaco all'interno delle cellule microbiche e riguarda i microrganismi bersaglio e non bersaglio, può anche essere considerato un processo di traslocazione dell'agrofarmaco. Molti microrganismi sono importanti risorse alimentari per un'ampia gamma di organismi e la presenza di queste sostanze tossiche all'interno può ulteriormente contaminare le catene alimentari.

4. Metabolismo: chiamata anche mineralizzazione, è il processo più importante ed è anche l'aspetto ambientale più importante della degradazione di un agrofarmaco. Il principio attivo viene metabolizzato e trasformato in H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> o sali organici ai fini della crescita dei microrganismi.

Quando si parla di degradazione è importante definire il concetto di persistenza ovvero il periodo nel quale un fitofarmaco resta nel terreno ed espressa in giorni o mesi.

Viene valutata in base alla scomparsa del 50% (t<sub>50</sub>, t<sub>1/2</sub>) o del 90% (t<sub>90</sub>).

Molto spesso si fa confusione tra DT<sub>50</sub> e t<sub>1/2</sub>.

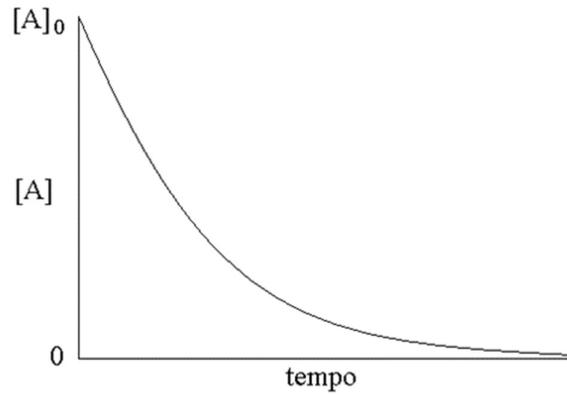
Il primo parametro rappresenta il tempo di dissipazione del 50% del prodotto ed è il tempo che il fitofarmaco impiega a raggiungere la metà della concentrazione in prove di campo (comprende tutti i fenomeni che contribuiscono alla scomparsa ed è sempre minore del t<sub>1/2</sub>).

Il secondo rappresenta il tempo di emivita ed è il tempo in giorni che il fitofarmaco impiega a raggiungere la metà della concentrazione iniziale in prove di degradazione in laboratorio in condizioni controllate.

Classicamente tali prove di laboratorio vengono condotte in condizioni standard (20 °C, 60% cc) al buio in modo che venga messa in evidenza la degradazione intesa nel senso classico cioè degradazione chimica/biologica.

Le prove di degradazione si effettuano con campioni di suolo contaminati con fitofarmaci a concentrazione iniziale nota, prelevando sub-campioni a tempi stabiliti e misurando la concentrazione residua di fitofarmaco.

È grazie allo studio cinetico della degradazione del fitofarmaco che è possibile ricavare il tempo di emivita (t<sub>1/2</sub>)



**Figura 3 - Tempo di emivita di un fitofarmaco.**

Si è visto che la degradazione dei fitofarmaci può essere approssimata ad una cinetica di 1° ordine cioè la variazione di concentrazione nel tempo dipende dalla concentrazione iniziale.

Si tratta dell'equazione di una retta con ascissa t ed ordinata  $\ln(c/c_0)$  e coefficiente angolare - k.

K è la costante di velocità (giorni-1)

$$\ln(c_0/c) = kt$$

Da questa equazione è possibile ricavare il  $t_{1/2}$  imponendo che a quel tempo la concentrazione sia la metà cioè  $C_0/C = 2$  oppure  $C/C_0 = 0.5$ , per cui si ha:

$$\ln(C/C_0) = -kt_{1/2}$$

$$\ln 0.5 = -kt_{1/2} \quad -kt_{1/2} = -0.693/-k$$

oppure

$$\ln(C_0/C) = kt_{1/2}$$

$$\ln 2 = kt_{1/2} \quad t_{1/2} = 0.693/k$$

## 1.2 Ecotossicologia dei fitofarmaci

Considerato che i prodotti fitosanitari sono distribuiti per agire contro determinati organismi detti “bersaglio”, la loro struttura molecolare è pensata per interferire in determinati processi enzimatico-biologici. In molti casi però, tale azione può danneggiare anche le attività metaboliche di altri animali (non-target) che, in modo più o meno diretto, vengono a contatto con l’agrofarmaco.

Le informazioni relative al principio attivo e alle varie formulazioni sono contenute all’interno del **dossier** di registrazione, in modo da poter condurre una valutazione di rischio per la salute e l’ambiente (Buratti et al., 2008).

Gli effetti sull’uomo e sull’ecosistema vengono valutati attraverso dei parametri tossicologici, costituiti da tossicità acuta e cronica (Buratti et al., 2008), ed ecotossicologici.

La **tossicità acuta** definisce la pericolosità del principio attivo sul quale si basa la classificazione ed etichettatura delle sostanze (Buratti et al., 2008) ed è espressa tramite la DL50, che si riferisce alla dose di una sostanza in grado di uccidere il 50% della popolazione di cavie.

La **tossicità cronica** è il risultato di studi di tossicità per dosi ripetute per un periodo >50-60% della vita dell’animale utilizzata nel test. I dati sugli effetti non tumorali sono importanti per la valutazione del rischio per la salute e per la definizione della ADI (Acceptable Daily Intake) o dose giornaliera accettabile, che definisce la dose di un fitofarmaco che può essere assunta giornalmente per l’intero arco della vita senza aver un rischio sanitario apprezzabile.

L’ADI viene calcolata a partire dalla NOEL (No Observed Effect Level), che è la dose che si dimostra sprovvista di effetti sfavorevoli negli animali, diviso per un fattore di sicurezza f variabile da 100 a 200 (Buratti et al., 2008).

L'**eco-tossicologia** studia gli effetti delle sostanze chimiche sugli organismi nell'ambiente, con l'obiettivo finale di proteggere la struttura e il funzionamento degli ecosistemi.

Questo obiettivo generalmente si ottiene valutando gli effetti su singoli organismi test e provando ad estrapolare il livello sicuro di concentrazioni per le popolazioni e le comunità.

Nella valutazione del rischio ecotossicologico, tali livelli sono poi confrontati con livelli previsti o misurati, per valutare il rischio per ecosistemi che risultano esposti (van Gestel CAM 2012).

Nella valutazione del rischio ecotossicologico, si possono distinguere due approcci.

Uno mira a prevedere i possibili effetti dei prodotti chimici al fine di regolarne l'utilizzo o impedirne la loro introduzione nel mercato. Questo approccio predittivo (*prognosi*) utilizza test di tossicità di laboratorio per ottenere dati sulla tossicità che possono essere utilizzati per ottenere livelli di sicurezza dei prodotti chimici nell'ambiente.

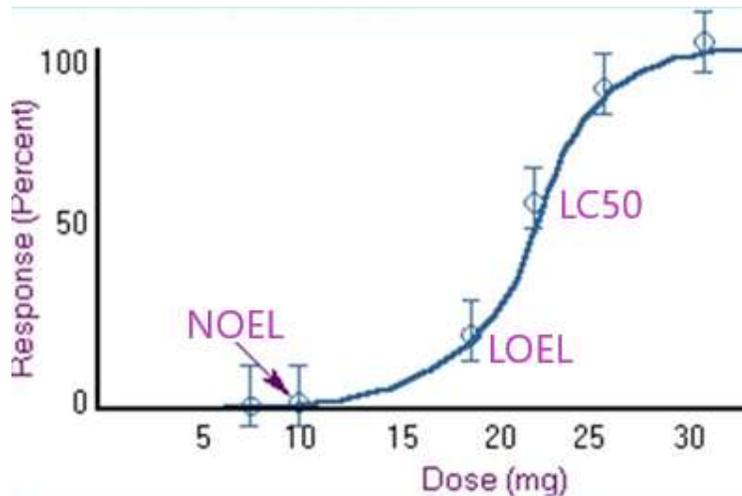
Il secondo approccio valuta l'effettivo rischio ecologico o il danno in caso di inquinamento. Questo approccio diagnostico (*diagnosi*) consente di impostare la priorità per il risanamento e la riduzione del rischio, e possono fornire fattori per la gestione dei terreni contaminati (Corneli et al., 2011b).

La diagnosi può usare gli stessi strumenti applicati per le prognosi. Fondamentalmente, i test di tossicità o i biotest sono usati come strumenti diagnostici per valutare la tossicità dei campioni di terreno da un sito contaminato. I risultati dei saggi biologici, insieme a quelli delle misurazioni chimiche e alle osservazioni ecologiche sul campo, sono utilizzate per valutare il potenziale rischio di contaminazione del suolo (Corneli et al., 2011b).

La **valutazione degli effetti** permette l'individuazione di proprietà o effetti dannosi della sostanza e determina la relazione dose/risposta, ovvero determina per via sperimentale le più

alte dosi a cui non si osservano effetti (NOEL, No Observed Effect Level) e le dosi acute di riferimento ( $LC_{50}$ ,  $LD_{50}$ ,  $EC_{50}$ ) (Zaghi et al., 2007).

La valutazione degli effetti avviene tramite studio della curva dose, che mette in relazione la concentrazione somministrata e la risposta dell'organismo. All'interno di questa si trovano gli endpoint tossicologici, parametri che quantificano l'effetto degli agrofarmaci sugli organismi (Merli et al., 2008).



**Figura 4 - Esempio di curva dose-risposta (Daphne et al., 2015).**

La risposta dell'organismo al pesticida varia a concentrazioni crescenti di sostanza tossica; inizialmente a basse concentrazioni si ha omeostasi e uno stato di salute, per poi passare a una compensazione e a uno sforzo, a uno sbilanciamento, alla malattia e, infine, alla rottura e alla morte (Merli et al., 2008).

La valutazione degli effetti di una sostanza attiva viene effettuata mediante l'effettuazione di studi di tossicità acuta e tossicità cronica su singole specie (organismi acquatici, uccelli lombrichi, api, altri artropodi utili, microrganismi del suolo). La scelta delle specie e dei metodi sperimentali sono codificati da linee guida dell'OCSE e/o da norme tecniche comunitarie (Zaghi et al., 2007).

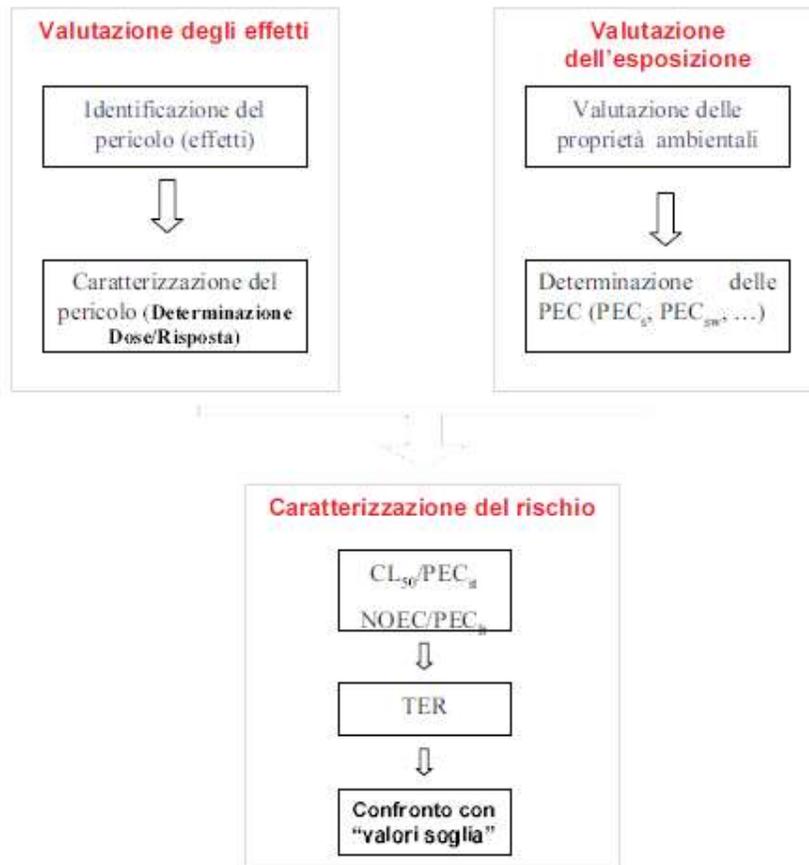
Nella valutazione degli effetti rientra, in taluni casi, anche la determinazione del fattore di bioconcentrazione (BCF, Bioconcentration Factor) che indica il rapporto tra la quantità di sostanza che può essere trattenuta dall'organismo esposto e la quantità di sostanza presente nell'ambiente circostante (Zaghi et al., 2007).

La **valutazione dell'esposizione** valuta e calcola le concentrazioni alle quali possono risultare esposti gli organismi non bersaglio nei diversi comparti ambientali (PEC, Predicted Environmental Concentration). Essa richiede la conoscenza per ogni sostanza delle proprietà fisico-chimiche (solubilità, tensione di vapore, coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua, stabilità idrolitica, costante di dissociazione, peso molecolare), delle proprietà partitive (Koc, H (Pa/S), indici di lisciviazione e mobilità nel suolo) e della persistenza (via di degradazione, DT<sub>50</sub> e formazione di metaboliti). Le proprietà partitive e la resistenza ai processi di degradazione (persistenza), strettamente correlate alle proprietà fisico-chimiche, determinano il comportamento delle sostanze e la loro distribuzione nei diversi comparti ambientali (suolo, acque superficiali e sotterranee, aria e biomassa) (Zaghi et al., 2007).

La persistenza delle sostanze nell'ambiente, ovvero la resistenza ai processi di degradazione, può variare notevolmente sia in relazione alla struttura della molecola sia in relazione agli agenti biotici e abiotici cui essa è sottoposta quando viene immessa nell'ambiente. La persistenza viene valutata in termini di velocità di degradazione ed espressa come DT<sub>50</sub> e DT<sub>90</sub> (Disappearance Time del 50% e 90% della dose applicata) (Zaghi et al., 2007).

Infine, la **caratterizzazione del rischio**, quantifica gli effetti negativi in relazione all'esposizione e costituisce il momento conclusivo di questo processo che consente di stabilire se il livello di rischio stimato rientra o meno all'interno di "valori soglia" di accettabilità. Viene stimata attraverso il calcolo del rapporto tra dosi acute di riferimento e concentrazioni attese (TER, Toxicity Exposure Ratio) o, viceversa, tra concentrazioni attese (PEC) e concentrazioni

per le quali non si prevedono effetti negativi (PNEC, Predicted No Effect Concentration) (Zaghi et al., 2007).



**Figura 5 - Valutazione del rischio ecotossicologico (Zaghi et al., 2007).**

Possiamo riassumere i principali endpoint ecotossicologici in (Merli et al., 2008):

- LC10 e LC50 (Lethal Concentration 10 e 50): concentrazione letale rispettivamente per il 10% e 50% degli individui di una popolazione, da riferirsi al tempo di esposizione.
- EC10 e EC50 (Effective Concentration 10 e 50): concentrazione che causa rispettivamente il 10% e 50% della riduzione, in un misurato endpoint.
- NOEL (No Observed Effect Level): rappresenta la più alta concentrazione o dosi a cui non si sono riscontrati effetti.

- LOEL (Lowest Observed Effect Level): rappresenta la più bassa concentrazione o dose a cui sono stati riscontrati effetti.
- PNEC (Predicted No Effect Concentrations): rappresenta la concentrazione ambientale massima senza effetti dannosi e viene calcolata utilizzando i dati di LC50, NOEL, LOEL ecc.

$$PNEC = \frac{\textit{endpoint tossicologico (LC50 o EC50)}}{\textit{fattore sicurezza (generalmente 1000)}}$$

- PEC (Predicted Environmental Concentrations) nei diversi comparti ambientali nei quali si muove l'organismo non bersaglio sotto osservazione (Merli et al., 2008).
- TER (Toxicity Exposure Ratio): rapporto tra un determinato endpoint tossicologico (LC50, PNEC, ...) di una certa categoria di organismi non bersaglio e l'esposizione. Il TER è alto se l'esposizione è bassa quindi più alto è il TER e minore è il rischio.

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

Per valutare il rischio ambientale dei fitofarmaci vengono utilizzati dei modelli di simulazione, cioè rappresentazioni semplificate di una parte del mondo e del suo funzionamento, che hanno un'attendibilità legata al livello di accuratezza e precisione con cui sono realizzati ed al modo in cui sono stati raccolti i dati.

Si basano sul calcolo del PNEC e possono essere per approccio deterministico o probabilistico. Per il calcolo della PNEC, come già accennato, si applica un fattore di valutazione ai valori risultanti dai saggi sugli organismi, per esempio LD 50 (dose letale media), LC 50 (concentrazione letale media), EC 50 (concentrazione efficace media), IC 50 (concentrazione che porta ad una inibizione del 50% di un dato parametro, per esempio la crescita), NOEL oppure LOEL.

Il fattore di valutazione esprime il grado di incertezza nell'estrapolazione dei dati sperimentali su un limitato numero di specie all'ambiente reale. Per tale motivo, quanto più sono ampi i dati e quanto più lunga è la durata delle prove, tanto più piccolo sarà il grado di incertezza e la dimensione del fattore di valutazione.

Ad un valore di LC50 derivato dai risultati delle prove di tossicità acuta è generalmente applicato un fattore di valutazione di 1000; tuttavia tale fattore può essere ridotto alla luce di altre informazioni pertinenti.

Nel caso del PNEC<sub>suolo</sub>, tramite approccio deterministico, il fattore di valutazione AF varia in base alla disponibilità minima dei dati (Marchini Silvia, 2008):

- AF= 1000 con LC50/EC50 breve termine per almeno 2 livelli trofici,
- AF= 100 con EC10/NOEC lungo termine per un livello trofico
- AF= 50 con EC10/NOEC lungo termine per 2 livelli trofici
- AF= 10 con EC10/NOEC lungo termine per 3 livelli trofici

L'esposizione e gli effetti sono poi integrati in una conclusione generale, la stima del rischio.

In questa fase i livelli di esposizione previsti (PEC) vengono confrontati con il PNEC.

Per la registrazione di un nuovo prodotto fitosanitario le aziende utilizzano di modelli di simulazione del comportamento o Pesticide Fate Models (PFM) dei fenomeni cui è sottoposto un fitofarmaco dal momento del trattamento fino alla sua scomparsa. Le aziende forniscono un dossier con i risultati delle PEC e del rapporto PEC / PNEC, chiamato Risk Characterization Ratio (RCR) o rapporto di caratterizzazione del rischio, calcolati nei vari comparti ambientali con l'uso di PFM specifici e di scenari standard. Ad opera del FOCUS (Forum for International Coordination of pesticide fate models and their Use), vengono scelti 9 scenari realistici per combinazione di colture, suoli, climi e pratiche agronomiche ma non reali che rappresentano il 90% del rischio di contaminazione della falda e caratterizzano le principali aree agricole e

climatiche. La validazione poi viene effettuata per confronto tra dati simulati e misurati in esperimenti ad hoc e valutati graficamente o statisticamente (Vischetti et al. 2008).

Se l'RCR è uguale o inferiore a 1, non sono necessarie ulteriori informazioni e/o prove. Il rischio è sotto controllo e la sostanza può essere immessa sul mercato.

Se l'RCR è superiore a 1, il rischio non è sotto controllo. Ulteriori informazioni o prove potrebbero essere necessarie per chiarire la preoccupazione identificata. In alternativa, sono necessarie misure di riduzione del rischio o al prodotto non può essere concessa l'autorizzazione per la commercializzazione. Questo approccio è particolarmente rilevante per le valutazioni basate sull'estrapolazione dei dati di tossicità per singole specie.

Quando la valutazione dell'effetto è limitata ad un elenco di dati di tossicità, l'approccio usuale è stimare il rapporto tra l'endpoint di tossicità e l'esposizione prevista, il cosiddetto Toxicity Exposure Ratio (TER) o rapporto di esposizione alla tossicità, come stabilito dal capitolo 8 del dossier di registrazione dei fitofarmaci presente nel regolamento CE 1107/2009. I TER vengono quindi confrontati con le condizioni di accettabilità.

TER è l'approccio standard per i pesticidi, mentre i biocidi usano il rapporto PEC / PNEC.

Per definizione, il PNEC o valore equivalente integra tutte le informazioni disponibili per i relativi recettori nel comparto considerato. Pertanto, esiste un unico PNEC per ciascun comparto ambientale, che incorpora tossicità acuta e a lungo termine. Tuttavia, nell'approccio TER, ciascun endpoint di tossicità è considerato in modo separato e, quindi, per lo stesso comparto, si traducono in diversi TER.

Ogni approccio ha vantaggi e svantaggi. I confronti TER possono essere più facili da usare nella valutazione dell'esposizione simultanea multipla e possono identificare aree specifiche di preoccupazione per un ulteriore perfezionamento. D'altra parte, un confronto semplificato come il rapporto PEC / PNEC di solito può produrre decisioni più trasparenti e consente una semplice comunicazione del rischio, che riflette un principio ecologico di base: un rischio per

un elemento chiave degli ecosistemi significa un rischio per l'ecosistema nel suo insieme (Pellizzato F., 2014).

La procedura di valutazione del TER tramite modelli simulativi potrebbe però non rappresentare la situazione reale. Da molti studi si evidenzia che sostanze già approvate secondo i modelli standard di registrazione (dichiarate non pericolose), possono dimostrarsi potenzialmente molto dannose per l'ambiente in siti specifici (Rapagnani et al., 2010; Villa S., 1999).

Negli ultimi anni si sono sviluppate ricerche eco-tossicologiche a diversi livelli di approfondimento, avendo come scopo finale quello di valutare gli effettivi rischi dovuti all'immissione di sostanze potenzialmente tossiche in ecosistemi più o meno sensibili.

### **1.2.1 Organismi bioindicatori**

L'eco-tossicologia si avvale di indicatori di tipo biotico o abiotico.

Gli indicatori biotici sono meno standardizzati e diffusi e si basano sul concetto di "organismo indicatore" (Merli et al., 2008), mentre quelli abiotici valutano la qualità ambientale.

Con organismo indicatore si intende una specie, generalmente animale, particolarmente sensibile a cambiamenti apportati da fattori inquinanti all'ecosistema.

L'impiego di bioindicatori è particolarmente sviluppato nello studio delle acque correnti e del suolo.

Tra la fine degli anni '90 e l'inizio del 2000, i test sulla tossicità, usando endpoint sub-letali come la riproduzione, sono stati standardizzati per enchitreidi, lombrici e collemboli dall'Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) e dall'International Standardization Organization (ISO). Oltre a questi test con invertebrati del suolo, ISO e OCSE hanno anche sviluppato una serie di test di tossicità con le piante, che sono importanti negli ecosistemi del suolo come produttori primari. Inoltre, sono disponibili numerosi test incentrati

sugli effetti delle comunità microbiche o sui processi eseguiti dai microrganismi, come la nitrificazione (van Gestel CAM, 2012).

I vermi terricoli (Lanno et al., 2004; Piola et al., 2009) sono spesso gli organismi del suolo preferiti proprio per la loro caratteristica di essere efficienti accumulatori di xenobiotici, entrando in stretto contatto con il suolo e cibandosi di esso, e di rispondere alla loro esposizione in modo sensibile e misurabile.

Lo studio e il monitoraggio di questi organismi “sentinella” hanno permesso di valutare le risposte che un organismo, una popolazione o una comunità naturale può generare, nei

confronti di uno stress chimico ambientale. Queste risposte in campo biologico vengono definite biomarker, o marcatori biologici.

Test organism	Species	Duration (days)	Endpoint	Guideline	Reference
Earthworms	<i>Eisenia fetidal</i> <i>Eisenia andrei</i>	14	Survival	OECD 207 ISO 11268-1	OECD (1984) ISO (1993)
		28 (+28)	Reproduction	ISO 11268-2 OECD 222	ISO (1998) OECD (2004b)
		2	Avoidance	ISO 17512-1	ISO (2008a)
	Field test, different species	Up to 1 year	Species diversity; abundance	ISO 11268-3	ISO (1999b)
Enchytraeids	<i>Enchytraeus albidus</i> , other <i>Enchytraeus</i> species	21 (+21)	Survival, Reproduction	ISO 16387 OECD 220	ISO (2004) OECD (2004a)
		2	Avoidance	No standard guidelines	Amorim et al. (2008a,b)
Mollusca	<i>Helix aspersa</i>	28	Survival, Growth	ISO 15952	ISO (2006)
Mites	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	14	Survival, Reproduction	OECD 226	OECD (2008)
	<i>Platynothrus peltifer</i>	14	Survival	No standard guideline	Van Gestel and Doornekamp (1998)
		70	Reproduction		
	<i>Oppia nitens</i>	28	Reproduction	No standard guideline	Princz et al. (2010)
2		Avoidance	No standard guideline	Owojori et al. (2011)	
Isopods	<i>Porcellio scaber</i>	28	Survival, growth	No standard guideline	Hornung et al. (1998a,b)
	<i>Porcellionides pruinosus</i>	14	Survival, reproduction	No standard guidelines	Jansch et al. (2005)
		2	Avoidance	No standard guidelines	Loureiro et al. (2005)
Collembola	<i>Folsomia candida</i> <i>Folsomia fimetaria</i>	28	Survival, Reproduction	ISO 11267 OECD 232	ISO (1999a); OECD (2009)
		2	Avoidance	ISO 17512-2	ISO (2011)
Insects	<i>Oxythyrea funesta</i>	14	Survival	ISO 20963	ISO (2005)
Carabid beetles	<i>Pterostichus oblongopunctatus</i> ; <i>Poecilus cupreus</i>	Different durations	Adult or larval survival; adult behaviour, respiration	No standard guidelines	Schrader et al. (1998); Bednarska et al. (2010)

**Tabella 2 - Selezione di test di tossicità con invertebrati del terreno (van Gestel CAM, 2012).**

### **1.2.2 Biomarker**

Un biomarker eco-tossicologico, secondo Depledge, rappresenta “quella variazione biochimica, cellulare, fisiologica e comportamentale che può essere misurata in un tessuto, in un fluido biologico o a livello dell'intero organismo che da evidenza di esposizione e/o effetto a uno o più composti inquinanti”.

I biomarcatori possono fungere da sensibili e precoci indicatori di pericolo di possibili effetti ad elevati livelli di organizzazione biologica, e possono anche fornire informazioni sulla modalità di azione delle sostanze chimiche. I biomarker possono essere applicati sia sugli organismi prelevati nel terreno sia per testare gli organismi esposti a campioni di terreno in condizioni di laboratorio controllate (van Gestel CAM, 2012).

I biomarker maggiormente studiati sono (Merli et al., 2008):

- indicatori di stress ossidativi oppure la presenza di radicali liberi e ROS (Reacting Oxygen Species);
- proteine da stress come le Heat Shock Proteins (HSP), la loro sintesi viene indotta dai danni generati da diversi fattori di stress, tra cui le sostanze tossiche;
- parametri riproduttivi;
- parametri genotossici.

Molti composti rilasciati nell'ambiente sono potenzialmente genotossici, cioè in grado di interagire con il materiale genetico, modificandone la struttura.

Numerose tecniche e metodologie sono disponibili per rilevare le varie risposte genotossiche che possono essere indotte in organismi esposti a contaminanti (Shugart L.R., 1995).

### **1.3 Scopo della tesi**

Il destino ed il comportamento degli agrofarmaci nell'ambiente può essere causa di effetti indesiderati sull'ambiente e sulla salute ed il benessere degli organismi dell'ecosistema, compresi gli esseri umani.

Gli effetti non desiderati sono quasi sempre connessi alle concentrazioni ambientali che gli agrofarmaci possono raggiungere come risultante di una serie di fattori intrinseci ed estrinseci, legati alle caratteristiche chimico fisiche dei principi attivi ed a quelle pedo-climatiche.

Tra tutti i fattori il suolo è sicuramente il principale, regolando molti dei processi e fenomeni ai quali gli agrofarmaci sono soggetti ed in definitiva influenzando fortemente le variazioni di concentrazione degli stessi nel tempo e nello spazio.

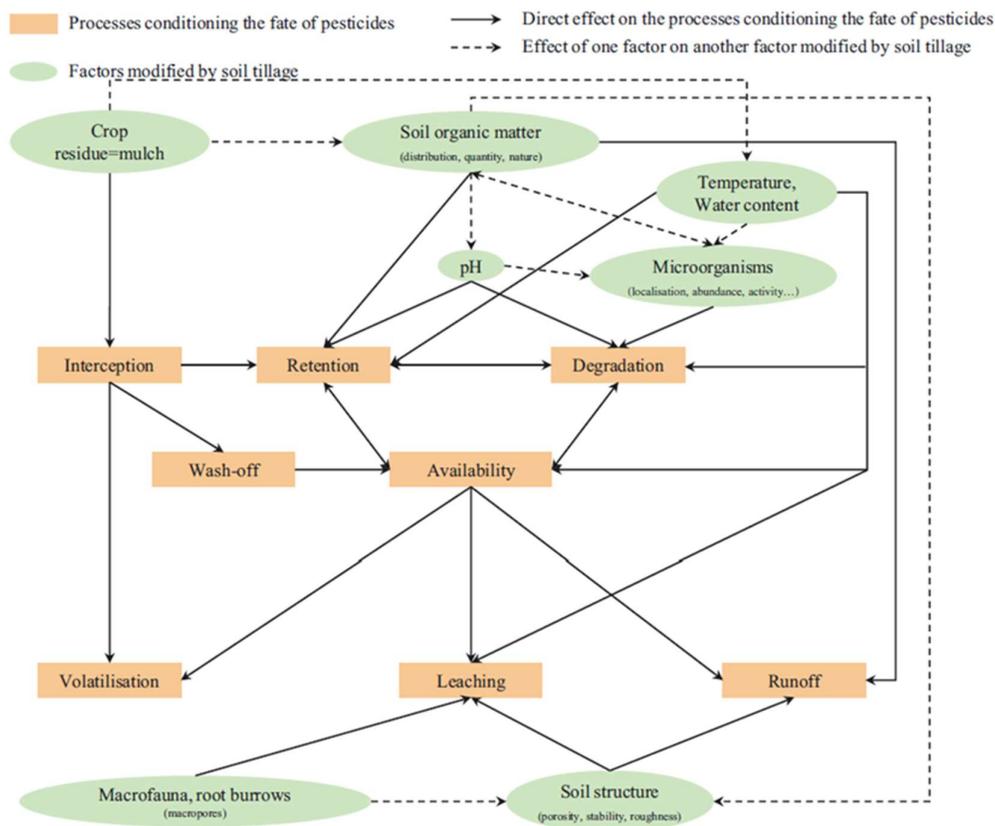
La presente tesi ha lo scopo di valutare gli studi effettuati sugli effetti delle proprietà chimico-fisiche e gestionali dei suoli agrari sul destino e sul comportamento degli agrofarmaci nell'ambiente per poter caratterizzare la loro persistenza e la possibilità di trasferirsi in altri comparti ambientali come acqua, aria ed esseri viventi.

Il fine ultimo dell'indagine è quello di stabilire il reale rischio ecotossicologico a cui sono soggetti gli organismi non-bersaglio dell'ecosistema in seguito all'esposizione a concentrazioni variabili degli agrofarmaci nel tempo e nello spazio, influenzate dalla gestione agronomica e dalle caratteristiche chimico-fisiche dei suoli agrari.

## Capitolo 2

### FATTORI CHE INFLUENZANO IL DESTINO AMBIENTALE DEI FITOFARMACI

Il destino ambientale dei fitofarmaci può essere influenzato da vari fattori, riconducibili a tre categorie principali e cioè caratteristiche chimico-fisiche e biologiche del suolo, caratteristiche chimico-fisiche della molecola e pratiche agronomiche e gestionali.



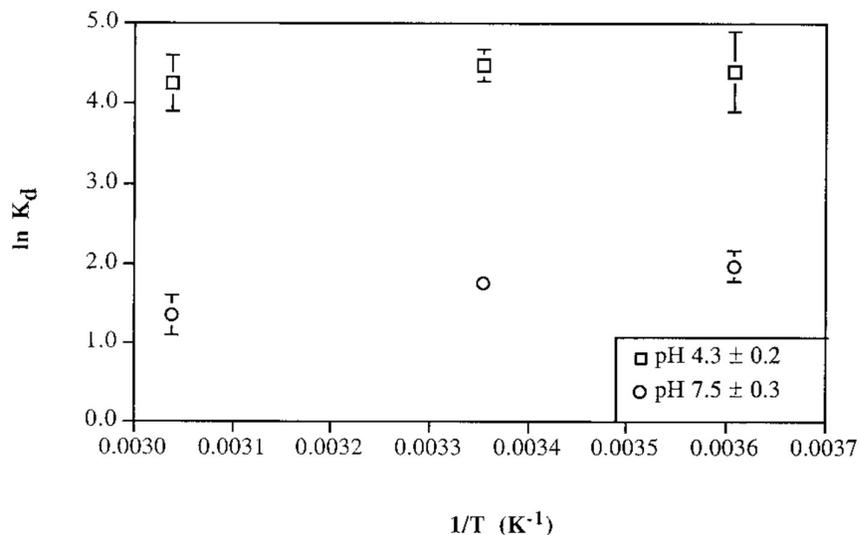
**Figura 6 - Relazione tra i processi che condizionano il destino dei fitofarmaci nel suolo, l'acqua, l'aria e i fattori del suolo modificati dalle lavorazioni (Alletto et al. 2010).**

Tutti questi fattori risentono o possono risentire delle condizioni climatiche ed in particolare della temperatura e dell'umidità dell'aria e del suolo. Vengono riportati di seguito alcuni lavori effettuati negli ultimi anni che evidenziano questi effetti e le eventuali ripercussioni sul rischio eco-tossicologico.

## 2.1 Effetti delle proprietà chimico-fisiche e biologiche dei suoli sul destino dei fitofarmaci

### Temperatura e umidità

È spesso assunto che l'adsorbimento è un processo esotermico, per cui un incremento della temperatura dovrebbe portare ad un decremento dell'adsorbimento e ad un incremento del tasso di desorbimento. Da uno studio condotto da Di Vincenzo e Sparks (2001) su PCP (pentaclorofenolo) a differenti temperature (4, 25 e 55° C) non è emersa una tendenza alla riduzione del  $K_d$  per la forma neutra, ma è stata osservata una riduzione del  $K_d$  con l'aumento della temperatura nelle forme ionizzate. Questo a dimostrare che la temperatura ha un effetto limitato sull'assorbimento (Fig. 7).



**Figura 7 - Influenza della temperatura sull'assorbimento del pentaclorofenolo nel suolo a pH 4.3 e 7.5. Le barre rappresentano la deviazione standard (Di Vincenzo e Sparks, 2001).**

È stato spesso riportato che i coefficienti di adsorbimento aumentano con la riduzione del contenuto idrico. Questo può essere attribuito alla minore competizione dell'acqua per i siti di assorbimento e all'influenza della solubilità man mano che la soluzione di pesticida diventa più concentrata. Goetz et al. (1986) hanno osservato che una temporanea disidratazione al 50 e 25% della capacità di campo di differenti suoli aumenta l'assorbimento di imazaquin (Tab. 3) Questo è stato attribuito a una riduzione dello spessore del film di acqua che ricopre i minerali del suolo, il quale porta a una concentrazione di imazaquin vicino alla superficie di assorbimento e/o facilita la precipitazione.

Suolo	Contenuto idrico %	Imazaquin in soluzione %	Probabilità	
			Lineare	Quadratica
Sabbioso di Dothan	100	100	0,016	0,018
	50	75		
	25	67		
	0	96		
Sabbioso fine di Lucedale	100	57	0,007	0,667
	50	47		
	25	56		
	0	67		
Limoso di Decatur	100	99	0,018	0,035
	50	58		
	25	84		
	0	88		
Argilloso di Eutaw	100	100	0,004	0,015
	50	90		
	25	99		
	0	99		
Argilloso di Sumter	100	100	0,031	0,008
	50	93		
	25	87		
	0	100		

*Tabella 3 - Imazaquin percentuale in soluzione circolante influenzata da vari gradi di disidratazione (Goetz et al. 1986).*

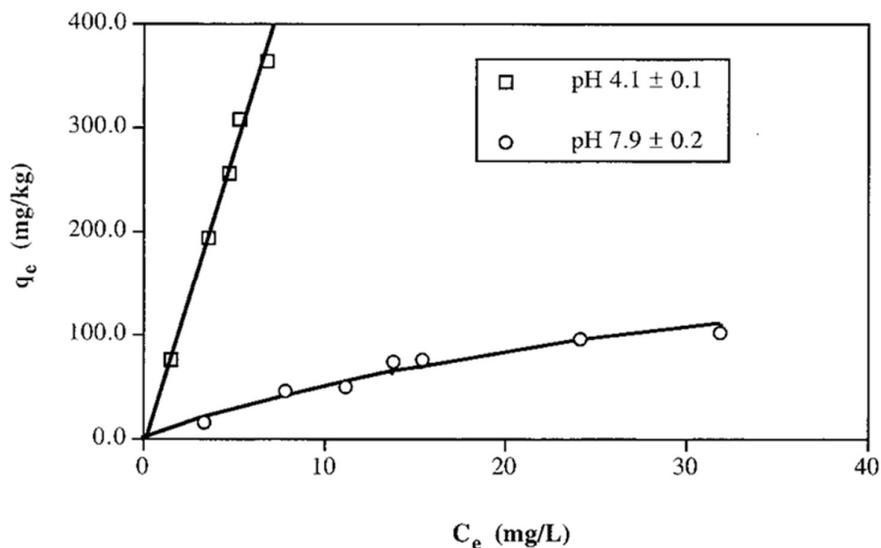
## **pH**

Il pH del suolo può influenzare l'adsorbimento e la deriva dei fitosanitari modificando sia i gruppi di adsorbimento sia lo stato del pesticida.

Nell'adsorbimento la modifica interessa i siti sulle superfici dei colli organici e dell'acido umico, che sono pH-dipendenti, i quali ionizzando espongono cariche diverse in base al

valore del pH. A pH neutrale, i gruppi fenolici e alcolici con pKa intorno a 8 si presumono siano non-ionizzati, mentre le forme non cariche e ionizzate dei gruppi carbossilici con pKa intorno a 5.2 si presuppone coesistano (Moreau-Kervevan e Mouvet, 1998; Stevenson, 1972).

Di Vincenzo e Sparks (2001) hanno rilevato un forte aumento di adsorbimento del pentaclorofenolo (PCB) a pH 4,1, essenzialmente dovuto alla protonazione della molecola con esposizione di carica positiva e conseguente attrazione da parte delle superfici colloidali della sostanza organica caricate negativamente (Fig. 8).



**Figura 8 – Isotherme di assorbimento di PCB a pH 4.1 e 7.9. I dati per pH 4.1 è stato adattato con il modello di assorbimento lineare e i dati per pH 7.9 sono adattati con il modello di Langmuir (Di Vincenzo e Sparks, 2001).**

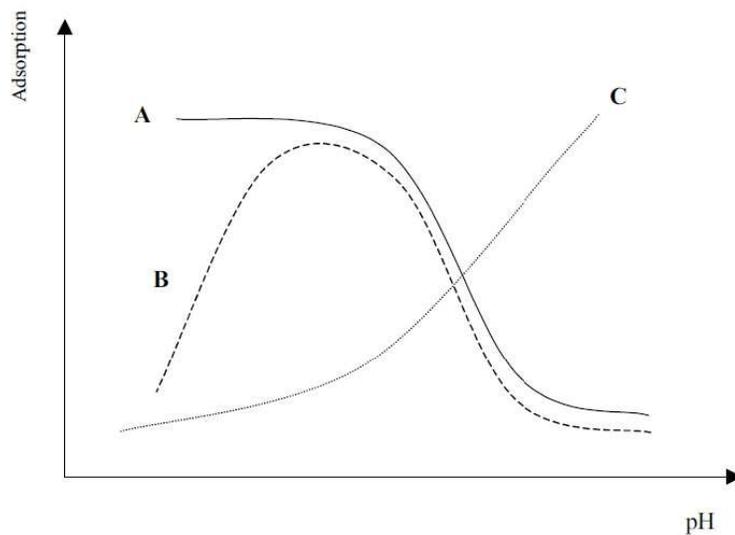
La frazione argillosa è composta da silicati cristallini e amorfi e ossidi e idrossidi di Fe e Al, derivanti dalla decomposizione dei minerali. I silicati cristallini, come quarzo e feldspati, contribuiscono in minor parte all'assorbimento, mentre i minerali amorfi forniscono alcuni dei siti di assorbimento idrofobici.

La carica netta degli (idro)ossidi di Fe e Al varia con il pH. A valori di pH al di sopra del punto di carica zero (PZC), le superfici hanno una carica netta negativa quindi l'adsorbimento degli anioni è limitato a causa della repulsione elettrostatica. A valori di pH minori del PZC, l'assorbimento di anioni è promosso dall'attrazione elettrostatica in quanto le superfici sono caricate positivamente (Dubus et al., 2001). Gli anioni però non solo possono interagire con i gruppi positivi  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$  e  $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$ , ma anche scambiare OH o  $\text{OH}_2$  e creare un legame con uno o due atomi di Fe o Al adiacenti (Regitano et al., 2000).

Nei composti ionizzabili la variazione di adsorbimento in base al pH è data dallo stato del fitosanitario in base alla sua costante di dissociazione  $\text{pK}_a$ , la quale può descrivere la sensibilità del pesticida con il variare del pH (Tab. 4) e registrare tre diversi tipi di influenza (Fig. 9).

pH crescente			
pKa	pKa>10	3<pKa<10	pKa<3
Composti basici			
Comportamento generale	Come i composti neutrali, tranne a condizioni estremamente alcaline	Mobilità, solubilità e volatilità sensibili al pH	Altamente mobile nei suoli tranne quando si formano complessi chimici
Meccanismi di adsorbimento	Interazioni idrofobiche, van der Waals, legame-H	Suoli temperati	
		repulsione anionica da cariche adsorbenti negative, legame cationico, legame-H, trasferimento di carica, van der Waals	
		Suolo con carica pH-dipendente	
		scambio anionico, legame cationico	
Composti acidi			
Comportamento generale	Assorbimento elevato e degradazione generalmente lenta	Sensibile al pH. L'assorbimento elevato dei cationi produce un'apparente acidità della superficie.	Come i composti neutrali, tranne a condizioni estremamente acide
Meccanismi di adsorbimento	Scambio cationico, trasferimento di carica		Ripartizione idrofobica, van der Waals, legame-H, trasferimento di carica

***Tabella 4 – Cambiamento con il pH di forma, comportamento e meccanismo di assorbimento operante con composti acidi e basici (Kah e Brown, 2007).***



**Figura 9 – Tre tipi assorbimento in funzione del pH (A, B e C) spesso riscontrati con i pesticidi ionizzabili (Kah e Brown, 2007).**

**Curva A** – L'assorbimento e il pH sono negativamente correlati, quindi si osserva una elevata variazione a pH basso (perché il pKa generalmente è basso). Acidi deboli (e.g. acidi carbossilici, sulfoniluree, fenoli) esistono principalmente in forma anionica a pH maggiore del loro pKa quindi, con la riduzione del pH, la frazione protonata aumenta. L'assorbimento è possibile in quanto in suoli a carica variabile la capacità di scambio anionico aumenta con il diminuire del pH e gli ioni idrogeno liberati competono per i siti carichi positivamente rimasti (Hyun et al., 2003).

Le basi deboli (e.g. triazine) invece sono principalmente presenti come molecole neutrali in condizioni alcaline e come cationi a pH minore del loro pKa. La forma cationica è molto più trattenuta di quella dissociata a causa dell'attrazione dalle particelle del suolo caricate negativamente (scambio cationico) (Ben Hur et al., 2003; Celis et al. 1998; De Jonge e De Jonge, 1999)

**Curva B** – Questo tipo di curva è generalmente osservato con le basi deboli. L'assorbimento aumenta con la riduzione di pH fino ad un massimo e poi decresce. Il pH corrispondente all'assorbimento massimo a volte è vicino al pKa della molecola, ma non è una regola generale.

Una forma a campana è stata osservata in esperimenti nei quali il pH è modificato artificialmente per terbutryn, atrazina, sostanze uniche, alcuni acidi carbossilici dibasici e 2,4-D su goetite (Dubus et al., 2001).

**Curva C** – L'ultima curva corrisponde all'aumento dell'assorbimento con l'aumento del pH. Può avvenire con alcune basi deboli che sono principalmente adsorbite come molecole neutrali (effetto idrofobico) o con molecole complessate con cationi metallici come per terbutryn su Al-montmorillonite (Calvet, 1989).

Il pH può influenzare la deriva modificando la solubilità del fitofarmaco e di conseguenza la volatilizzazione e il *runoff*. Per esempio, la solubilità del sulfentrazone viene modificata di un fattore di 16 quando il pH passa da 6 a 7.5 (Reddy e Locke, 1998).

Il pH del suolo può influenzare la degradazione di un pesticida direttamente se è pH-dipendente (idrolisi chimica) o indirettamente tramite modifiche nella biomassa/attività microbica, o attraverso l'assorbimento del pesticida. La reazione microbica infatti tende a essere più veloce in condizioni alcaline (fino a un valore massimo) ma nel caso delle solfoniluree, che sono degradate per via microbica, la degradazione è generalmente più favorita da condizioni acide (Kah e Brown, 2007).

## 2.2 Effetti della qualità e quantità di sostanza organica presente nel suolo

È stato osservato come il contenuto di carbonio organico sia la più importante proprietà del suolo per prevedere l'assorbimento dei composti organici neutri. Ecco perché Hamaker e Thomson (1972) proposero di riferire il coefficiente di assorbimento  $K_d$  al contenuto di carbonio organico usando un coefficiente normalizzato  $K_{oc}$  che appare essere meno variabile per l'adsorbimento di una data molecola idrofobica. Esso è diventato largamente diffuso come parametro per confrontare i pesticidi in funzione della loro capacità intrinseca di essere adsorbiti nel suolo. Comunque, questo approccio non è applicabile ai composti ionizzabili in quanto il loro adsorbimento dipende con entità maggiore o minore dal pH del suolo e anche perché possono interagire maggiormente con le altre frazioni del suolo come argilla e ossidrossidi di Al e Fe.

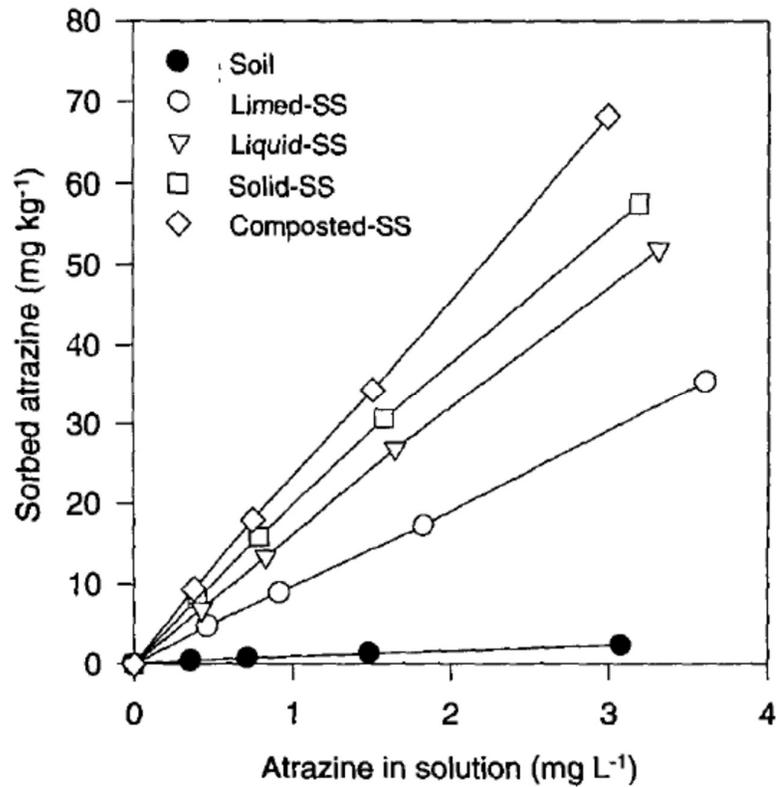
L'accumulo di residui organici sulla superficie del suolo può portare ad un incremento dell'adsorbimento dei pesticidi applicati, in particolare per pesticidi apolari o con una bassa polarità. Questa intercettazione dipende dall'ammontare e dal tipo di residui.

Celis et al. (1998) hanno evidenziato l'influenza dell'aggiunta di fanghi di depurazione ad elevato contenuto di carbonio organico disciolto (DOC) sull'adsorbimento di atrazina.

La natura dei fanghi ha mostrato influenze molto diverse sull'adsorbimento di atrazina (fig. 10): i fanghi limosi sono risultati i meno efficaci mentre i più efficaci sono risultati quelli compostati. I valori di  $K_f$  rilevati con l'aggiunta di dosi diverse di fanghi sono risultati sempre superiori (dal 20 al 100%) a quelli del suolo tal quale (tab. 5).

	SO/suolo	pH	DOC	Kr	nr	Kfoc	Kfcalc	(Kf/Kfcalc)
	g/kg		mg/L					%
Suolo con	0	6,9	13	0,83-0,02	0,83-0,02	80	-	-
SO liquida	17	7,1	108	1,00-0,01	0,93-0,01	61	1,2	83
aggiunta	38	7,2	231	1,23-0,01	0,94-0,01	56	1,5	82
	83	7,4	823	1,79-0,03	0,98-0,02	53	2,11	85
Suolo con	17	6,7	94	1,00-0,01	0,94-0,01	60	1,26	79
SO solida	38	6,6	170	1,35-0,03	0,93-0,03	61	1,62	83
aggiunta	83	6,6	511	1,92-0,01	0,96-0,01	57	2,39	81
Suolo con	17	7,4	183	0,81-0,01	0,96-0,02	53	1,1	74
SO limosa	38	7,9	495	0,87-0,01	0,94-0,02	45	1,27	69
aggiunta	83	8,7	2030	1,08-0,01	0,98-0,01	40	1,64	66
Suolo con	17	6,9	65	1,20-0,01	0,92-0,02	72	1,32	91
SO	38	6,8	129	1,65-0,02	0,94-0,02	73	1,77	93
composta	83	6,8	287	2,43-0,04	0,95-0,01	70	2,7	90

***Tabella 5 – Valori di Kf di atrazina nel suolo tal quale e con l'aggiunta di dosi diverse di fanghi di depurazione (Celis et al. 1998).***



*Figura 10 - Isoterme di assorbimento di atrazina e i differenti fanghi di depurazione (Celis et al. 1998).*

L'aggiunta al suolo dei residui colturali finemente tritati è ormai una pratica diffusa per avere incrementi significativi di sostanza organica nei suoli anche se gran parte del carbonio organico è di natura solubile e quindi poco stabile ed il tasso di umificazione non molto elevato (Monaci et al., 2017). L'apporto di sostanza organica proveniente da residui più umificati come il compost potrebbe rendere i suoli più in grado di adsorbire e degradare i pesticidi grazie all'elevato contenuto in humus che è il principale responsabile dell'adsorbimento e che costituisce una fonte di nutrimento per la componente microbica dei suoli.

Cardinali et al. (2007) hanno osservato che l'aggiunta di compost e sarmenti di vite finemente tritati ad un suolo franco argilloso ha incrementato notevolmente sia l'adsorbimento che la degradazione di tre pesticidi. In particolare, l'adsorbimento è aumentato fino a 20 volte per il pesticida più apolare e quindi più affine per la componente umica (chlorpyrifos), fino a 10 volte per quello intermedio (metalaxyl) e fino a 5 volte per il meno apolare (cymoxanil).

	Kf	n	r <sup>2</sup>	Koc
CH	37.74	0.93	0.982	4495
ME	0.74	0.79	0.995	83
CY	0.39	0.96	0.954	41

***Tabella 6 – Parametri dell'adsorbimento dei tre fitofarmaci nel suolo (Cardinali et al., 2007).***

	Kf	n	r <sup>2</sup>	Koc
CH	778.57	0.98	0.910	6348
ME	7.31	1.04	0.919	56.9
CY	1.91	1.07	0.953	15.47

***Tabella 7 – Parametri dell'adsorbimento dei tre fitofarmaci nel biomix (Cardinali et al., 2007).***

Anche la degradazione dei tre fitofarmaci veniva significativamente ridotta nel biomix suolo/residui organici rispetto al suolo tal quale con tempi di emivita che passavano da 83,5 a 59,7 giorni per il chlorpyrifos, da 70,7 a 31,6 per il metalaxyl e da 6,5 a 1,8 per il cymoxanil.

	$t_{1/2}$	Kdeg	$r^2$
CH	83.49	0.0083	0.997
ME	70.71	0.0098	0.977
CY	6.46	0.1072	0.981
$T_{1/2}$ = tempo di emivita (gg) Kdeg= costante di velocità ( $gg^{-1}$ )			

**Tabella 8 – Parametri di degradazione dei tre fitofarmaci nel suolo (Cardinali et al., 2007).**

	$t_{1/2}$	Kdeg	$r^2$
CH	59.7	0.0116	0.9812
ME	31.6	0.0219	0.989
CY	1.8	0.3816	0.996
$T_{1/2}$ = tempo di emivita (gg) Kdeg= costante di velocità ( $gg^{-1}$ )			

**Tabella 9 – Parametri di degradazione dei tre fitofarmaci nel biomix (Cardinali et al., 2007).**

L'evoluzione della flora microbica nei residui organici umificati può portare allo sviluppo di colonie molto performanti dal punto di vista della degradazione dei fitofarmaci e ad effetti ambientali decisamente benefici.

Coppola et al. (2011) hanno analizzato la degradazione di un mix di sei fungicidi in un substrato organico costituito da compost da potatura verde compostato per 5 anni e paglia ed hanno trovato valori dei tempi di emivita decisamente più bassi rispetto a quelli misurati nel suolo.

L'analisi delle componenti microbiche del biomix durante il periodo di incubazione ha dimostrato che lo sviluppo di una microflora fortemente degradante, come funghi

ligninolitici e lieviti, è stato il principale responsabile dell'elevata efficienza degradativa del biomix (Tab. 10).

Fitofarmaci	t <sub>1/2</sub> suolo (gg)	t <sub>1/2</sub> biomix <sup>a</sup> (gg)
DM	57	17
PC	117	26
MX	42	3
AZ	74	11
CY	53	14
FL	239	50
DM: dimetomorfina, PC: penconazolo, MX: metalaxyl, AZ: azoxystrobin, CY cyprodinil, FL: fludioxonil <sup>a</sup> ricavato da dati sperimentali		

**Tabella 10 – Emivita di alcuni pesticidi nel suolo e biomix (Coppola et al., 2011).**

I pesticidi acidi sono principalmente adsorbiti da interazioni ioniche con cariche positive (generalmente da ossidrossidi di Fe e Al) trovandosi dissociati e quindi in forma anionica nella soluzione del suolo mentre vengono respinti dalle cariche negative presenti sulla superficie delle macromolecole umiche in quanto la SO può si adsorbire alcuni composti come il 2,4-D attraverso interazioni deboli (van der Waals e trasferimento di carica), ma più frequentemente la generale carica negativa causa la repulsione dei composti anionici (Stevenson, 1972).

Dubus et al. (2001) hanno studiato gli effetti combinati della presenza di sostanza organica e di ossidrossidi di Fe e Al sull'adsorbimento di tre composti acidi in 18 suoli appartenenti a due categorie Cambisols (elevato contenuto di sostanza organica) e Ferralsols (elevato contenuto di ossidrossidi) ed hanno mostrato l'influenza di queste componenti sull'adsorbimento (Tab. 11) che è risultato molto più elevato nei ferrasols, confermando l'importanza degli ossidrossidi nell'adsorbimento di composti anionici.

	Clofencet	Acido salicilico	2,4-D
Cambisols			
1	1.13 (e)	3.59 (g)	1.83 (c)
2	6.79 (b)	12.34 (c)	2.60 (a)
3	6.88 (b)	14.71 (b)	1.96 (b)
4	0.28 (f)	4.17 (fg)	0.31 (h)
5	0.30 (f)	3.71 (g)	0.44 (g)
6	0.56 (ef)	4.33 (fg)	0.53 (f)
7	4.99 (c)	9.61 (d)	0.72 (d)
8	9.35 (a)	16.50 (a)	0.59 (ef)
9	2.32 (d)	8.65 (e)	0.40 (gh)
10	0.95 (e)	4.59 (f)	0.64 (de)
Ferrasols			
11	67.87 (a)	31.33 (c)	3.14 (d)
12	40.77 (b)	26.04 (c)	9.53 (a)
13	29.48 (c)	270.54 (b)	6.81 (b)
14	13.08 (d)	384.26 (a)	0.93 (f)
15	11.19 (e)	397.34 (a)	1.94 (e)
16	2.11 (g)	7.94 (c)	4.27 (c)
17	2.68 (g)	64.58 (c)	4.30 (c)
18	4.40 (f)	302.32 (b)	3.53 (d)
Per ogni gruppo di suoli e composti, i valori con la stessa lettera non sono statisticamente differenti con una probabilità del 0,05.			

***Tabella 11 – Distribuzione del coefficiente Kd (l/kg) per clofencet, acido salicilico e 2,4-D per 18 suoli (Dubus et al., 2001).***

### **2.3 Effetti delle pratiche agronomiche e gestionali sul destino dei fitofarmaci nel suolo**

In generale è stato osservato come le lavorazioni conservative abbiano un indiretto impatto sul destino dei fitofarmaci, favorendo l'accumulo di SO all'interno del suolo, e di conseguenza anche di acqua con una maggiore attività microbica che riduce considerevolmente l'emivita del fitofarmaco immesso.

La lavorazione conservativa porta il più delle volte ad una diminuzione del pH, specialmente in superfici con accumulo di sostanza organica e fertilizzanti. La variazione del pH, come abbiamo già osservato, può portare a variazione delle cariche dei colloidi e dell'adsorbimento in base al tipo di fitofarmaco.

Nella lavorazione minima, in quanto è presente più SO rispetto a quella convenzionale, sono minori le variazioni del contenuto idrico e della temperatura, pertanto è minore la variazione della degradazione (Mills e Witt, 1991).

Generalmente, il contenuto di carbonio organico aumenta nel suolo a seguito della presenza e della degradazione della SO e decresce gradualmente con la profondità. Per molti pesticidi, il contenuto di carbonio organico e l'assorbimento sono positivamente correlati.

I residui possono avere una capacità di assorbimento da 10 a 60 volte più alta di quella del suolo e possono significativamente modificare la (bio)disponibilità e la migrazione dei pesticidi nel suolo (Boyd et al. 1990; Reddy et al. 1995b). Come risultato, è stata osservata una perdita di efficacia di alcuni pesticidi in quanto questi rimangono fisicamente intrappolate tra le pareti cellulari dei residui e cioè si traduce in una necessità di incremento delle dosi applicate.

Da studi effettuati da Locke et al. (2005) è stato osservato come l'assorbimento di fluometuron e norflurazon nello strato più superficiale risulta maggiore nella non lavorazione ma, con il mescolamento del C organico, nella lavorazione convenzionale l'assorbimento

aumenta con l'aumentare della profondità. Sempre per l'omogeneizzazione del C organico è emerso che la differenza di Kd data dalla presenza dei residui era maggiore nella non lavorazione in quanto il C organico rimane concentrato in un profilo più sottile (Tab. 12).

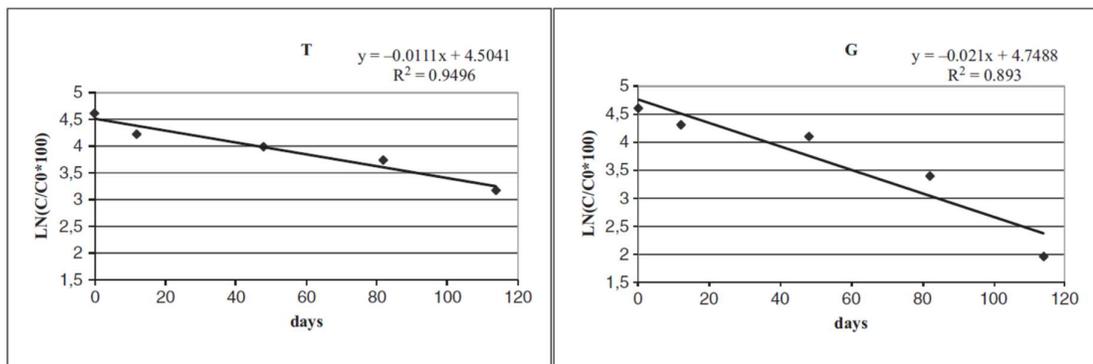
Copertura	Lavorazione	Profondità (cm)	Fluometuron Kd	Norflurazon Kd
Si	NL	0-2	5.04 (0.14)	3.61 (0.03)
Si	LC		2.07 (0.02)	2.28 (0.03)
No	NL		2.39 (0.04)	2.18 (0.03)
No	LC		1.65 (0.03)	1.61 (0.03)
Si	NL	2-10	1.44 (0.03)	1.57 (0.03)
Si	LC		2.01 (0.03)	2.13 (0.04)
No	NL		1.61 (0.04)	1.58 (0.02)
No	LC		1.61 (0.02)	1.81 (0.03)
La copertura è composta da residui di loglio NL: non lavorazione, LC: lavorazione convenzionale Il numero che segue il Kd linearizzato è l'errore standard asintotico per la regressione Il numero in parentesi è l'errore standard				

**Tabella 12 – Assorbimento di fluometuron e norflurazon nel suolo influenzati da lavorazione, copertura e profondità in suoli del Dundee. I valori di Kd sono stati calcolati usando la regressione non lineare con cinque replicazioni (Locke et al., 2005).**

Dao et al. (1991) ha studiato l'effetto di residui di frumento intatti e degradati sull'adsorbimento di metribuzin e S-ethyl metribuzin. Alla raccolta del frumento, i residui intatti mostravano coefficienti di adsorbimento maggiori per S-ethyl metribuzin rispetto a metribuzin, dovuti soprattutto alla frazione ligninica mentre la cellulosa non adsorbiva significativamente i due composti. La degradazione dei residui portava ad un incremento di adsorbimento di entrambi i composti grazie alla diminuzione di cellulosa ed all'incremento di lignina. L'affinità degli erbicidi per i residui di frumento può ridurre l'efficacia dei due erbicidi in applicazioni spray a suoli gestiti con lavorazioni conservative, con sostanziale

incremento delle dosi applicate, ma può ridurre in modo importante la dispersione ambientale.

Monaci et al. (2011) hanno studiato l'effetto dell'inerbimento nell'interfilare di vigneto sulla degradazione del fungicida penconazolo in un esperimento di 120 giorni ed hanno rilevato un'accelerazione della degradazione in suolo inerbito rispetto al suolo tal quale, con tempi di emivita che passavano da 62,4 a 33,0 giorni riducendo di molto il rischio di dissipazione nell'ambiente (Fig. 11).



**Figura 11 - Cinetica di dissipazione del penconazolo in interfila lavorata (T) ed inerbita (G) (Monaci et al., 2011).**

La **volatilizzazione** è un importante modalità di perdita di pesticida, controllato dalle proprietà del pesticida, dalle proprietà del suolo (temperatura, contenuto di acqua, contenuto di carbonio organico), dalle operazioni colturali (modalità di applicazione, asprezza del terreno, presenza di paccime) e dalle condizioni climatiche (vento, radiazione solare, temperatura) (Bedos et al., 2002).

Whang et al. (1993) hanno evidenziato una maggiore volatilizzazione nella lavorazione minima rispetto a quella convenzionale, attribuita alla presenza di SO, che influisce su altri due fattori importanti per la volatilizzazione: la temperatura e il contenuto idrico. Nei loro studi, quattro giorni dopo il trattamento, il trasferimento da volatilizzazione ammontava rispettivamente al 48 e 12% per fonofos, 23 e 7% per chlorpyrifos e 0.9 e 0.7% per l'atrazina

in terreni con non-lavorazione e lavorazione convenzionale. Questo può essere associato ad un maggior contenuto di acqua nei terreni con più SO, il che permette una minore temperatura e di conseguenza una minore volatilizzazione (Weber et al., 2006).

La struttura del suolo è modificata diversamente in ogni lavorazione. Nella lavorazione conservativa, specialmente nella non-lavorazione, le crepe e i tunnel creati dai vermi terricoli compongono la macroporosità e questi sono favoriti in questo tipo di lavorazione in quanto è presente maggiore SO. Durante le condizioni di saturazione però, l'acqua e i soluti seguono il "flusso preferenziale" attraverso i macropori, nel quale è sfavorito l'adsorbimento e favorito il dilavamento. Nella lavorazione convenzionale invece la macroporosità è distrutta e la soluzione segue il flusso di convezione-dispersione attraverso la matrice del terreno (Ogden et al., 1999).

Il **runoff**, il quale rappresenta il principale fenomeno di contaminazione delle acque superficiali, è maggiormente influenzato dalle proprietà del pesticida. Infatti è stato osservato che la lavorazione conservativa può limitare il fenomeno per fitosanitari poco polari, in quanto l'aumento della SO favorisce la stabilità e la coesione degli aggregati e riduce l'erosione, ma per erbicidi trasportati solo in soluzione, questo tipo di lavorazione non limita le perdite (Afyuni et al., 1997).

Vicari et al. (2000) hanno misurato le perdite percentuali per runoff di quattro erbicidi e due metaboliti dell'atrazina (DEA e DIA) in un suolo con lavorazione convenzionale ed in uno con lavorazione minima in due anni consecutivi ed hanno rilevato una notevole riduzione del runoff nel terreno a lavorazione minima, escluso per le due solfoniluree applicate a dosi talmente basse da non permettere una efficace rilevazione delle concentrazioni nelle acque di runoff (Tab. 13).

	LC		LM	
	Perdite (%)		Perdite (%)	
	1996	1997	1996	1997
Metalachlor	0.25	0.03	0.17	<0.001
Atrazine	0.24	0.02	0.19	<0.001
DEA	0.05	0.009	0.04	<0.001
DIA	0.03	0.004	0.02	<0.001
Prosulfuron	0.05	<0.001	0.07	<0.001
Triasulfuron	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
LC: lavorazione convenzionale, LM: lavorazione minima				

***Tabella 13 – Perdite in due anni e influenza della lavorazione del suolo e della coltura (Vicari et al., 2000).***

## CAPITOLO 3

### CONCLUSIONI

Le concentrazioni ambientali dei residui dei pesticidi possono influenzare anche di molto il rischio ecotossicologico e quindi la vita e lo sviluppo di tutti gli organismi non bersaglio dell'ecosistema. Molti sono i fattori che influenzano la concentrazione dei fitofarmaci nei suoli tra i quali le caratteristiche chimico fisiche dei suoli e quelli dei fitofarmaci, le condizioni ambientali quali temperature e umidità del suolo e dell'aria e le tecniche di gestione agricola dei suoli.

Vanno tenuti sotto stretto controllo soprattutto il pH, il contenuto e la qualità della sostanza organica e lo sviluppo delle tecniche colturali conservative come lavorazione minima e non lavorazione.

Un controllo sempre più efficace di tutti i fattori può permettere una drastica riduzione delle concentrazioni ambientali dei fitofarmaci e un notevole abbattimento del rischio tossicologico.

## BIBLIOGRAFIA

- Alletto Lionel, Coquet Yves, Benoit Pierre, Heddadj Djilali, Barriuso Enrique. Tillage management effects on pesticide fate in soils. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 2010,
- Bach, M., Reduction of pesticide contamination at the catchment level. *59gricultura of the Warwick Conference, Agriculture and the Environment. Challenges and conflicts for the New Millenium*. 1999.
- Ben Hur M., Letey J., Farmer W. J., Williams C. F., Nelson S. D. (2003) Soluble and solid organic matter effects on atrazine adsorption in cultivated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 4:1140-1146.
- Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E., Gabrielle B. (2002) Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview, *Agronomie* 22, 21–33.
- Boyd S.A., Xiangcan J., Lee J.F. (1990) Sorption of nonionic organic compounds by corn residues from a no-tillage field, *J. Environ. Qual.* 19, 734–738.
- Buratti F. M., T.E., Valutazione del rischio per la salute umana da esposizione ad agrofarmaci: aspetti regolatori e nuove prospettive. In: *Agrofarmaci, conoscenze per un uso sostenibile a cura di Mara Gennari e Marco Trevisan*. 2008: p. 409-442
- Calvet R. (1989) Adsorption of organic chemicals. *Environ. Health Perspect.* 83:145-177.
- Cardinali A., Vischetti C., Monaci E., Casucci C., Perucci P. (2007) “Degradazione e adsorbimento di chlorpyrifos, metalaxyl e cymoxanil nel suolo ed in un biomix di sarmenti-

compost-suolo”. Atti XXIII Convegno Nazionale S.I.C.A. Torino 20-23 settembre 2005, pp. 29-36.

Carter A. (2000) How pesticides get into water and proposed reduction measures. *Pesticide Outlook*, 11: 149-156

Celis R., Barriuso E., Houot S. (1998) Sorption and desorption of atrazine by sludgeamended soil: dissolved organic matter effects. *J. Environ. Qual.* 27:1348-1356.

Coppola L., Comitini F., Casucci C., Milanovic V., Monaci E., Marinozzi M., Taccari M., Ciani M., Vischetti C. (2011) “Fungicides degradation in an organic biomixture: impact on microbial diversity”. *New Biotechnology*, 29 (1): 99-106.

Daphne B. Moffett, Bruce A. Fowler, in *Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition)*, NOAEL/LOAEL Approach, 2015

Dao T.H. (1991) Field decay of wheat straw and its effects on metribuzin and S-ethyl metribuzin sorption and elution from crop residues, *J. Environ. Qual.* 20, 203–208.

De Jonge H. and de Jonge L. W. (1999) Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. *Chemosphere* 39:753-763.

Di Vincenzo J. P. and Sparks D. L. (2001) Sorption of the neutral and charged forms of pentachlorophenol on soil: evidence for different mechanisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40:445-450.

Dubus I. G., Barriuso E., Calvet R. (2001) Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere* 45:767-774.

Goetz A. J., Wehtje G., Walker R. H. (1986) Soil solution and mobility characterization of imazaquin. *Weed Sci.* 34:788-793.

Hyun S., Lee L. S., Rao P. S. C. (2003) Significance of anion exchange in pentachlorophenol sorption by variable-charge soils. *J. Environ. Qual.* 32:966-976.

Krueger et al., 2001. BCPC (Brighton Crop Protection Conference), Brighton, UK

Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N., The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* , 2004: p. 39-47

Locke M.A., Zablotowicz R.M., Bauer P.J., Steinriede R.W., Gaston L.A. (2005)

Conservation cotton production in the southern United States: herbicide dissipation in soil and cover crops, *Weed Sci.* 53, 717–727.

Marchini Silvia, Valutazione del pericolo per l'ambiente, Il Regolamento REACH: Aspetti tecnici ed applicativi, Roma, Istituto Superiore della Sanità, 9-10 Giugno 2008

Mason P. J., F.I.D.L., Carter A.D., Walker A. et al., Relative importance of point source contamination of surface waters: River Cherwell catchment monitoring study. XI Pesticide Chemistry Conference, Cremona, Italy. 1999.

Mason et al. 2001. XI Symposium Pesticide Chemistry, Piacenza

Kah Melanie, Brown D. Colin. (2007) Behaviour of 61 agriculture pesticides in soils. *Earth Sciences. The University of York*, 90-91

Merli, A., Capri, E., *Ecotossicologia: cenni, effetti, misure e indicatori in Agrofarmaci: conoscenze per un uso sostenibile a cura di Mara Gennari e Marco Trevisan.* 2008: p. 459-484.

Mills J.A., Witt W.W. (1991) Dissipation of imazaquin and imazethapyr under conventional and no-tillage soybean (*Glycine max*), *Weed Technol.* 5, 586–591.

Monaci E., Coppola L., Casucci C., Vischetti C. (2011) "Losses and dissipation of penconazole in vineyard soil as affected by mid-row management system". *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 46 (6): 461-468.

Monaci E., Polverigiani S., Neri D., Bianchelli M., Santilocchi R., Toderi M., D'Ottavio P., Vischetti C. (2017) Effect of contrasting crop rotation systems on soil chemical and biochemical properties and plant root development in organic farming: first results. *Italian Journal of Agronomy*, 12(4): 364-374.

Moreau-Kervevan C. and Mouvet C. (1998) Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, and hydroxyatrazine by soil components. *J. Environ. Qual.* 27:46-53.

Ogden C.B., van Es H.M., Wagenet R.J., Steenhuis T.S. (1999) Spatial-temporal variability of preferential flow in a clay soil under no-till and plow-till, *J. Environ. Qual.* 28, 1264–1273.

Pellizzato F., *Environmental Risk Assessment, Pesticides and Biocides*, in *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, 2014

Piola L. et al., Biomarkers for the assessment of chlorpyrifos effects on earthworms and on soil functional parameters. *Pesq. Agropec. Bras.*, 2009. 44 n. 8.

Rapagnani, M.R., Nencini, L., Caffarelli, V., Picciolo, M., Magliuolo, M., Valutazione del rischio ecotossicologico indotto da pesticidi sugli ecosistemi acquatici ai fini della programmazione del monitoraggio delle acque superficiali, *Convegno: Valutazione di rischio ecotossicologico*, 21/10/2010. 2010.

Reddy K.N., Locke M.A. (1998) Sulfentrazone sorption, desorption, and mineralization in soils from two tillage systems, *Weed Sci.* 46, 494–500.

Reddy K.N., Locke M.A., Wagner S.C., Zablotowicz R.M., Gaston L.A., Smeda R.J. (1995) Chlorimuron ethyl sorption and desorption kinetics in soils and herbicide-dessicated cover crop residues, *J. Agr. Food Chem.* 43, 2752–2757.

Regitano J. B., Alleoni L. R. F., Vidal-Torrado P. (2000) Imazaquin sorption in highly weathered tropical soils. *J. Environ. Qual.* 29:894-954.

Shugart L.R., *Environmental genotoxicology. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment.* 1995: p. 405-420.

Stevenson F. J. (1972) Organic matter reactions involving herbicides in soil. *J. Environ. Qual.* 1:333-343. Stokke

Tortensson, L., Castillo, M.D.P., Use of biobeds in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. 1997: p. 24-27.

Trevisan et al. (1993). *Environmental Pollution*, 80:31-33

van Gestel CAM (2012) Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. In: Štrus J, Taiti S, Sfenthourakis S (Eds) *Advances in Terrestrial Isopod Biology. ZooKeys* 176: 275–296.

Vicari A., Rossi Pisa P., Catizone P. (2000) XI EWRS Symposium, Basel, CH, 28 June – 1 July 2000.

Villa, S., *Stima del rischio ambientale per organismi non bersaglio derivante dall'utilizzo di prodotti fitosanitari. Tesi di dottorato di ricerca discussa nella facoltà di scienze naturalistiche e ambientali, Università degli studi di Milano. A.A. 1999*

Vischetti C., Balderacchi M., Trevisan M. (2008) I modelli previsionali sul destino degli agrofarmaci nell'ambiente. In "Agrofarmaci. Conoscenze per un uso sostenibile" per DISA editrice, Bologna pp 485- 502,

Vischetti, C., Trasporto di agrofarmaci nel suolo in: Agrofarmaci, conoscenze per un uso sostenibile. A cura di M. Gennari e M. Trevisan. 2008: p. 245-267.

Weber J.B., Taylor K.A., Wilkerson G.G. (2006) Soil cover and tillage influenced metolachlor mobility and dissipation in field lysimeters, *Agron. J.* 98, 19–25.

Whang J.M., Schomburg C.J., Glotfelty D.E., Taylor A.W. (1993) Volatilization of fonofos, chlorpyrifos, and atrazine from conventional and no-till surface soils in the field, *J. Environ. Qual.* 22, 173–180.

Zaghi C., Gaggi C., Finizio C. (2007) Valutazione del rischio ambientale applicata ai prodotti chimici. Quaderni di tecniche di protezione ambientale n. 83, Ed. Pitagora, pp. 288