

La Spettrofotometria UV/Vis nel Monitoraggio della Fotodegradazione Mediante Catalisi Combinata UV/Biossido di Titanio/Microonde di Farmaci Smaltiti

G. Visco, F. Bellanti, M. Castrucci, C. Costanza, R. Dragone and L. Campanella
Chemistry Department, Rome University "La Sapienza"
P.le Aldo Moro 5, 00185 Roma, Italy, Europe



Introduzione

La fotodegradazione è sempre più utilizzata per l'abbattimento di complesse molecole organiche presenti sia nelle acque di scarico sia nelle acque di rete.

La necessità di acque ad elevata purezza per l'industria elettronica, farmaceutica, alimentare e manifatturiera in genere richiede processi di purificazione sempre più efficienti e rapidi.

Spesso nell'ottimizzazione dei parametri della fotocatalisi ci si trova di fronte al dilemma se utilizzare metà del tempo a disposizione per la degradazione e metà per lo studio dell'avvenuta degradazione o se trascurare uno dei due aspetti data la complessità delle tecniche di monitoraggio normalmente utilizzate.

Il presente lavoro vuole mostrare tre aspetti della nostra ricerca nel settore:

- la sperimentazione dell'effetto sinergico delle microonde (MW) nella fotocatalisi eterogenea attivata dallo spettro solare unitamente ad una sorgente UV;
- la possibilità di monitorare la degradazione mediante un metodo analitico quanto più semplice e veloce possibile e cioè la spettrofotometria UV-Vis;
- la possibilità di studiare l'efficienza di questo nuovo tipo di fotodegradazione quando applicata ad una "nuova" classe di inquinanti, i farmaci.

Allo scopo sono stati utilizzati otto principi farmaceutici molto comuni (carbamazepina, acido clofibrico, sulfametossazolo, ofloxacina, propranololo, diclofenac, nifuroxazide, betadine) di cui presentiamo i risultati più significativi.

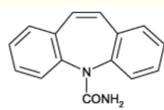


Fig. 1. Carbamazepine, CAS: 298-46-4, an anticonvulsant, antiepileptic agent used for epilepsy, trigeminal neuralgia, mania and bipolar disorders

Farmaci nelle acque

L'interesse della Comunità Europea è da alcuni anni rivolto verso questo nuovo tipo di inquinamento tanto da aver varato numerosi progetti di ricerca (Rempharmawater, ERAPharm, Eravmis, Poseidon, AquaStress).

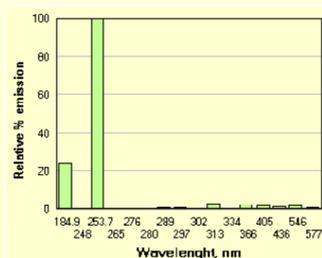


Fig. 3. Emission spectra of NK 4/4, mercury low pressure lamp manufactured with synthetic quartz glass (Suprasil), from Heraeus Noblelight GmbH, Hanau, Germany.

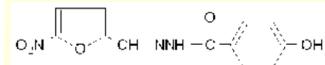


Fig. 2. Nifuroxazide, CAS: 965-52-6, it is used for the treatment of acute and chronic diarrhoea, gastroenteritis, and colitis. All drawings obtained from Sigma-Aldrich web site

Nei paesi industrializzati, si sta verificando un ingente aumento, spesso ingiustificato, del consumo di farmaci, cui corrisponde un progressivo incremento dei livelli di tale tipo di inquinamento in tutte le matrici acquose. Le cause sono da ricercare nello smaltimento improprio dei farmaci scaduti, nell'escrezione di principi farmaceutici non completamente metabolizzati dall'organismo umano ed animale e nell'ineadeguatezza dei tradizionali metodi di trattamento delle acque, e quindi dei depuratori, i quali non rimuovono adeguatamente tale tipologia di inquinanti, spesso rivelatasi difficili da trattare anche per la presenza di coformulanti, stabilizzanti, eccipienti e prodotti di parziale degradazione.

In Fig. 1 è mostrata la struttura della carbamazepina che si è dimostrata particolarmente resistente alla degradazione rispetto, per esempio alla nifuroxazide mostrata in Fig. 2.

Abbattimento della concentrazione

Ancora una volta è qui opportuno chiarire la differenza fra:

- degradazione, cioè demolizione delle molecole sotto esame in molecole più piccole, magari volatili, con legami forti fra gli atomi che necessitano perciò di maggior energia per la loro rottura;
- mineralizzazione, cioè la completa distruzione della molecola con la formazione, mediante ossidazione completa, dei corrispondenti ossidi al massimo stato di ossidazione.

Uno dei processi che presenta il maggior numero di vantaggi nel trattamento di questi inquinanti è rappresentato dagli AOPs (Advance Oxidation Processes) che utilizzando lunghezze d'onda nella zona degli UV-C, catalizzatori metallici anche misti riescono a demolire molecole complesse. In Tab. 1 sono mostrati i valori medi delle energie di legame, in Kcal/mol dei principali legami intramolecolari e l'energia di radiazione delle principali sorgenti UV.

Dalla tabella si evidenzia la necessità di una radiazione a bassa lunghezza d'onda tenendo conto però che la radiazione UV al disotto del 200 nm è fortemente assorbita dall'aria stessa. Il nostro sistema è progettato per utilizzare lampade a bassa potenza, ed in particolare una lampada UV-C con emissione principale a 185 nm (Heraeus, NK4/4, 3.5W from Heraeus Noblelight GmbH, Germany), spettro in Fig.3, ed una lampada al quarzo immersa nella camera di reazione (JC type, G4ax, bi-pin, 5W, 12V, from Fluorimport, Milano, Italy) e sovralimentata del 15% per simulare al meglio lo spettro solare, Fig. 4.

Un mineralizzatore a microonde (Star System 2, 2.54GHz, 700W, from CEM Microwave) è stato modificato nell'hardware e nel software per ottenere un'emissione impulsata con duty cycle del 5%, regolabile, e per permettere il controllo della temperatura evitando così l'effetto termico indesiderato. Il sistema, mostrato in Fig. 5, utilizza una pompa peristaltica a doppio effetto per la circolazione della soluzione in esame e una pompa a membrana per apportare aria in soluzione anche con lo scopo di mantenere in sospensione il catalizzatore (TiO₂, Degussa P25, 1 g/l, nanoparticellato).

Il bilancio energetico di quest'apparecchiatura è particolarmente positivo, le lampade hanno un consumo elettrico basso se confrontato con lavori simili in letteratura, e per le microonde si può calcolare un impegno elettrico di 35W. La sinergia fra le tre radiazioni porta invece ad una grande efficienza del sistema nella fotodegradazione.

L'acronimo da noi utilizzato è TWP (Three Waves Photodegradation) che descrive l'utilizzo di tre fotoni a diversa energia per la demolizione di molecole complesse.

In una precedente presentazione [1] abbiamo coniato l'acronimo HPOP (High Performance Oxidation Process) per descrivere sistemi a bassissimo consumo ma particolarmente efficienti nella degradazione di molecole recalcitranti.

Monitoraggio dell'abbattimento

La ricerca dei parametri ottimali in un processo di fotodegradazione, in laboratorio e/o industriale, è un lavoro complesso che richiede l'ottimizzazione di molti parametri sia chimici che fisici. Oggi si fa ricorso alla chemiometria ed all'experimental design per controllare e variare in contemporanea tutti i parametri in gioco riducendo in parte i tempi di sviluppo di un nuovo progetto.

La ricerca parte da una singola molecola in soluzione acquosa a diverse concentrazioni, prosegue con il variare i parametri operativi e con l'analisi dei risultati per poi passare ad un'altra molecola.

L'obiettivo è comunque l'abbattimento della concentrazione iniziale, arrivando se possibile alla mineralizzazione; necessitiamo perciò di un sistema di monitoraggio semplice, efficace, senza necessità di pretrattamenti del campione, idoneo per campioni acquosi, ed economico.

Ciò su cui si vuole porre l'attenzione, in questo contesto, non è l'analisi dei prodotti di degradazione, bensì il monitoraggio della diminuzione della concentrazione dei campioni in esame. C'è però da osservare che anche se la fotocatalisi eterogenea è in grado di aggredire efficacemente molti tipi di inquinanti, deve essere però attentamente valutata la tossicità a seguito di tale processo, poiché si potrebbero formare prodotti di degradazione addirittura più tossici del prodotto di partenza.

Il traguardo da perseguire è quello di aumentare l'efficienza dei processi fotodegradativi fino ad arrivare alla mineralizzazione completa dei prodotti di partenza.

Lo studio dei prodotti di degradazione, specialmente per molecole complesse, richiederebbe grandi risorse e mesi di lavoro; per la messa a punto del sistema, invece, occorre un metodo per stabilire nel giro di minuti se esso è più o meno efficiente nell'abbattere la concentrazione dell'inquinante.

Nel nostro caso un'attenta ricerca bibliografica ci ha mostrato che già dal 1952 Hoater [2] proponeva l'utilizzo della spettrofotometria come mezzo per lo studio delle acque. Inoltre qualsiasi manuale d'uso di uno spettrofotometro riporta una lunga lista di solventi inutilizzabili, se non in parte, nella zona UV dello spettro dato il loro assorbimento.

Utilizzando un cammino ottico da 100 mm ed un moderno spettrofotometro quasi tutte le molecole organiche solubili in acqua assorbono nella zona del UV fra 175 e 400 nm.

La tecnica analitica adottata per il monitoraggio dei processi fotodegradativi è stata la spettrofotometria UV/Vis diretta: l'elevata accuratezza, la semplicità e la velocità di analisi hanno contribuito all'ottenimento di dati estremamente significativi in tempi ragionevoli. La registrazione dell'intero spettro di assorbimento e non del solo picco permette inoltre di utilizzare metodi di calcolo che sfruttano l'area totale dello spettro, le derivate prima e seconda, l'analisi dei componenti principali (PCA) per calcolare l'effettiva fotodegradazione e l'eventuale formazione di prodotti di reazione che assorbono nell'intervallo considerato.

Tecniche analitiche alternative

Gli sviluppi tecnologici degli ultimi anni hanno permesso di mettere a disposizione del Chimico una vasta gamma di strumenti e metodi analitici. Diventa compito fondamentale dell'analista, quindi, individuare la tecnica più adatta ai suoi obiettivi, dipendendo essi dalla precisione richiesta, dai tempi di analisi, dalla possibilità di poter pretrattare i campioni, dalle concentrazioni dei campioni, dai costi.

Per quanto riguarda il tipo di sostanze in esame e il tipo di monitoraggio che si intende effettuare, si hanno a disposizione varie tecniche: § Gascromatografia: è una delle tecniche analitiche più utilizzate, specialmente accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS). Presenta notevoli caratteristiche di precisione e bassi limiti di rilevabilità. Di contro, è caratterizzata da numerose limitazioni: i campioni, infatti, devono essere opportunamente solubilizzati e devono poter essere vaporizzati. Spesso l'analisi non può essere condotta direttamente sul campione o su una sua soluzione: infatti, da un lato il sistema cromatografico può inquinarsi o disattivarsi, mentre dall'altro il campione può decomporsi. In altri casi i risultati potrebbero non essere soddisfacenti a causa, per esempio, della scarsa volatilità di alcuni componenti della miscela. Altre limitazioni dipendono dalla scelta del solvente in relazione al tipo di rivelatore.

§ HPLC: tale tecnica ha superato molte limitazioni della precedente, soprattutto per il fatto di lavorare a temperatura ambiente. Rimane comunque delicato il pretrattamento di campioni non perfettamente limpidi, quali, ad esempio le sospensioni di TiO₂ in esame: l'iniezione di un campione non perfettamente filtrato, infatti, danneggerebbe la colonna in maniera irreversibile. L'HPLC, insieme alla GC, inoltre, presentano costi iniziali e di esercizio molto alti. Come nella GC è importante la scelta del rivelatore che spesso è un sistema fotometrico.

§ TOC: molto utilizzata per analisi di routine di acque di varia natura. La sua mancanza di specificità può essere uno dei vantaggi nello studio della fotodegradazione in quanto misura la quantità di carbonio organico prima e dopo la degradazione. I suoi svantaggi sono l'impossibilità di caratterizzare il tipo di sostanza organica in esame in soluzione. E' da segnalare anche la continua presenza in bibliografia di confronti fra strumenti commerciali con risultati correlati ma diversi in funzione della matrice.

§ Spettrofotometria UV-Vis: tra le tecniche presentate è sicuramente la meno recente, ma le sue applicazioni sono molto diffuse. La vasta letteratura a proposito indica che essa è la tecnica d'elezione nell'analisi di uno stesso campione sottoposto a trattamenti che ne varino la natura o che ne diminuiscano la concentrazione. Il limite presentato dal fatto che il campione non presenti un assorbimento rilevante può facilmente essere superato dalla derivatizzazione. Oltre a presentare elevate caratteristiche di precisione e limite di rilevabilità, rispetto alle precedenti è senza dubbio una tecnica più semplice da utilizzare e non richiede pretrattamenti del campione se non la filtrazione nel caso di soluzioni torbide (che, comunque non danneggerebbero in alcun modo lo strumento). L'intervallo di concentrazioni in esame può essere notevolmente allargato tramite l'utilizzo di cuvette di diversa lunghezza. Un altro vantaggio consiste nei brevissimi tempi d'analisi. La strumentazione, inoltre, è relativamente economica, specie se paragonata all'HPLC o alla GC-MS. La sensibilità degli strumenti è molto migliorata, sono possibili termostatazione, rilevazione mediante fibre ottiche, anche con l'utilizzo di

potentissimi software di elaborazione e data base di molecole

Il confronto non può essere completo se non si tiene conto del MTBF (mean time between failure) o meglio del MFOP (maintenance free operating period) [3], durante il quale l'utente può accettare i risultati dello strumento senza la necessità di ricalibrare, ricondizionare, pulizia, sostituzione di materiali di consumo.

La sostituzione, in ambiente di ricerca, del semplice volume di eluente in HPLC porta sempre preoccupazione sulla purezza, degassamento, riproducibilità, ecc.

Un calcolo da noi eseguito propone una disponibilità del 50% per le tecniche cromatografiche su base annua.

Risultati

La superiorità dell'insieme MW-UV-Vis per la degradazione di recalcitranti è stata già presentata da questo gruppo di ricerca. A titolo di esempio una delle molecole recentemente studiate è la Nifuroxazide, un anti-diarroico ed antistitico intestinale utilizzato largamente nei paesi in via di sviluppo.

In Fig. 6 è mostrato il grafico relativo e nella tabella 2 i valori ottenuti calcolando la % di degradazione con l'altezza del picco o con il metodo da noi proposto, l'area dello spettro (nel caso in esame da 190 a 499 nm).

Dalle curve possiamo notare che la fotocatalisi riesce effettivamente a degradare la molecola già a partire da una sola ora. Al contrario una misura eseguita solo sul picco a circa 195 nm porta con un'ora di fotocatalisi ad uno strano valore del -4%.

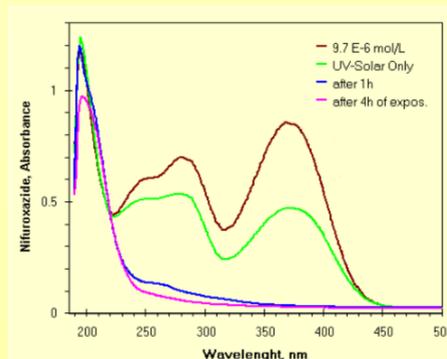


Fig. 6. Nifuroxazide, 9.7 µmol/L, comparison of UV absorbance after catalytic degradation with UV-Solar irradiation and UV-Solar+MW. See text for discussion.

Già con il tempo di contatto di 1 ora si nota la comparsa di prodotti di degradazione a circa 220 nm. In questo caso il calcolo, mostrato in tab. 3, utilizzando l'altezza del picco principale porta ad una degradazione del 1.4% quando l'area totale con il suo valore negativo evidenzia la comparsa dei prodotti. Dopo 4 ore il polimero inizia a degradare con valori, di area, del 10%.

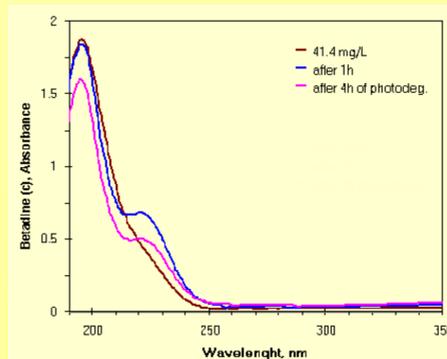


Fig. 7. Betadine®, 41.4 mg/L, comparison of UV absorbance after catalytic degradation HPOP using TWP. See text for discussion.

Conclusioni

L'uso combinato di microonde, luce UV ad alta energia e spettro solare ad intensità 1 sun in un'apparecchiatura TWP permette la rottura di molecole anche complesse e la loro degradazione e/o mineralizzazione.

L'HPOP da noi utilizzato permette, con il suo favorevole bilancio energetico, di ipotizzare sviluppi industriali delle apparecchiature TWP e variando i tempi di contatto permette o lo studio della recalcitranza per i tempi brevi o l'analisi dei prodotti di degradazione residui per tempi lunghi.

L'utilizzo di un nuovo parametro di misura, l'area dell'intero spettro UV della sostanza pura in esame, permette il rientro della spettrofotometria nel novero delle tecniche di monitoraggio della degradazione evidenziando ancor di più la facilità e rapidità delle misure colorimetriche nonché il loro costo per campione quasi nullo.

Riferimenti

- G. Visco, F. Bellanti, M. Castrucci, C. Costanza and L. Campanella, Heterogeneous Photocatalysis Degradation of Wasted Drugs in Water Matrix by Combined UV/Vis/Microwave, 10th EuCheMS-DCE International Conference on Chemistry and the Environment, Bologna-Rimini, Italy, Europe, 4-7 September 2005
- R.C. Hoater, Application of Spectrophotometry in the examination of water, Wat. Treat. Exam. 2 (1952) 9-19.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/MTBF>

atoms	Kcal/mol
C-C	84.3
C=C	140.5
C-C	192.0
C-H	97.6
C-Cl	78.0
C-N	63.6
C=N	147.0
C-S	65.0
C-O	76.4
C=O	190.0
O-O	32.9
O=O	117.5
O-H	109.3
H-F	134.9
H-Cl	101.9
N-H	91.9
172 nm	166.7
185 nm	154.8
254 nm	112.7
350 nm	81.8

Tab1, intermolecular bound energy, mean values comparison with typical UV lines. In photodegradation considering also the activation energy is necessary.

exposure time/method	using peak	using total area
1h, no MW	-4.0%	24.4
1h, TWP	-0.9%	68.8
4h, TWP	18.1%	73.7

Tab2, Nifuroxazide % of photodegradation, computing area under UV spectrum in a.u. after 1 and 4 hours of exposure time. Comparison with 195 nm high of peak ratio

exposure time/method	using peak	using total area
1h, TWP	1.4%	-8.9
2h, TWP	13.7%	9.0
4h, TWP	14.3%	10.0

Tab3, Betadine® % of photodegradation, computing area under UV spectrum in a.u. after 1, 2 and 4 hours of exposure time. Comparison with 196 nm high of peak ratio