SCREENING DELLE ACQUE POTABILI

Sara Bogialli[1], Stefano Polesello[2], Luca Lucentini[3]
[1]Dipartimento di Scienze Chimiche
Università di Padova
[2]CNR IRSA, Brugherio (MB)
[3]Dipartimento di Ambiente
e Connessa Prevenzione Primaria
Reparto di Igiene delle Acque Interne
Istituto Superiore di Sanità, Roma
sara.bogialli@unipd.it.

Il workshop è stato organizzato da IRSA-CNR di Milano e dall'Università di Padova. Obiettivi del convegno: presentare il recente approccio di valutazione del rischio nei sistemi idro-potabili italiani ed illustrare le più recenti tecniche analitiche per lo screening dei contaminanti emergenti

La qualità dell'acqua potabile è tra le preoccupazioni più sentite dai consumatori e sempre al centro dell'attenzione mediatica. Idealmente, il consumatore vorrebbe che l'acqua da bere fosse totalmente esente da qualsiasi contaminante, che nell'errata percezione comune è soprattutto un composto chimico sintetico. Recentemente, la disponibilità immediata e veloce di notizie tramite web, ha creato aspettative ancora maggiori, che vorrebbero le agenzie di controllo sempre pronte a gestire i rischi legati alla presenza di sostanze finora non monitorate, o monitorate sulla base, talvolta, di percezioni non supportate dalle conoscenze scientifiche. Il seminario, che ha raccolto più di 160 iscritti, è stato pensato per tutti gli operatori che a vario titolo si occupano di analisi delle acque destinate ad uso potabile e alla valutazione del rischio ad esse associato. Lo scopo era di fornire nuove informazioni e strumenti per affrontare la sfida impegnativa e continua di distribuire acque potabili di qualità sempre migliore.

L'approccio del sistema di controlli delle acque destinate ad uso potabile, disciplinato dal D.Lgs. 31/2001[1], recepimento della Direttiva Europea 98/83/CE[2], si basa sulla conformità dell'acqua ad una serie di parametri (circa 50) di rilevanza sanitaria e/o "indicatori" di variazioni anomale della qualità, che devono essere rispettati al punto di utenza. Eventuali altre sostanze e microrganismi vengono ricercati a cura della autorità sanitaria locale, qualora ci sia motivo di sospettarne la presenza in quantità o concentrazioni tali da rappresentare un potenziale pericolo per la salute umana. Attualmente, nella valutazione di sostanze di rilevanza sanitaria, circa 200 composti sono stati considerati per la definizione di "valori guida" a livello dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)[3]. È da sottolineare, infine, che il superamento del valore di parametro può essere gestito secondo il dettagliato protocollo del D.Lgs. 31/2001 (Fig. 1) che prevede come ultima soluzione l'adozione di limitazioni d'uso soluzione o l'interruzione della distribuzione di acqua potabile.

Anche se i dati italiani ci parlano di acque potabili di buona qualità e con basse percentuali di non conformità limitate a situazioni particolari o temporanee (Fig. 2), i limiti di un approccio retrospettivo basato sul "prodotto finito" sono da imputare principalmente ad una ridotta rappresentatività dei controlli rispetto alla complessa situazione da analizzare. Risultano quindi critici sia il numero di parametri ricercati rispetto ai molteplici potenziali agenti chimici, fisici, biologici e radiologici che potrebbero ritrovarsi nelle acque, sia i monitoraggi eseguiti che, per quanto frequenti e distribuiti strategicamente nei sistemi idrici, rappresentano un numero comunque esiguo di controlli rispetto all'estensione spaziale e temporale della distribuzione idrica. Nonostante ciò, il piano di monitoraggio risulta molto gravoso per i piccoli gestori idrici (Small Water Supplies, SWS) che hanno necessità molto diverse dai grandi gestori e che rappresentano una percentuale molto alta in Italia.

La revisione della Direttiva 98/83/CE sulla qualità delle acque destinate al consumo umano è quindi decisamente orientata verso il modello di Water Safety Plan (WSP) o Piani di Sicurezza dell'Acqua (PSA), proposto nelle più recenti linee guida OMS[4], e inquadrato in una politica di gestione sostenibile delle risorse idriche. Nel gruppo europeo di esperti sulle acque potabili (ENDWARE), coinvolti nel processo di revisione, opera il Reparto di Igiene delle Acque Interne dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che, in collaborazione con un panel di esperti italiani, ha

redatto le Linee Guida sui PSA[5]. Nel contesto di tale evoluzione, i principi dei PSA vogliono tenere conto di tutti i pericoli e rischi associati al sistema idropotabile specifico, senza limitarsi ai parametri oggetto del monitoraggio di legge. L'enfasi del sistema è sulla prevenzione dei rischi, perseguita mediante procedure di gestione ben progettate ed eseguite, piuttosto che sulla sorveglianza delle acque distribuite. Un esempio di prioritizzazione nella valutazione del rischio è qui riportato in forma di matrice (Fig. 3), che si traduce in un punteggio con cui classificare gli eventi critici individuati in tutta la filiera idropotabile.

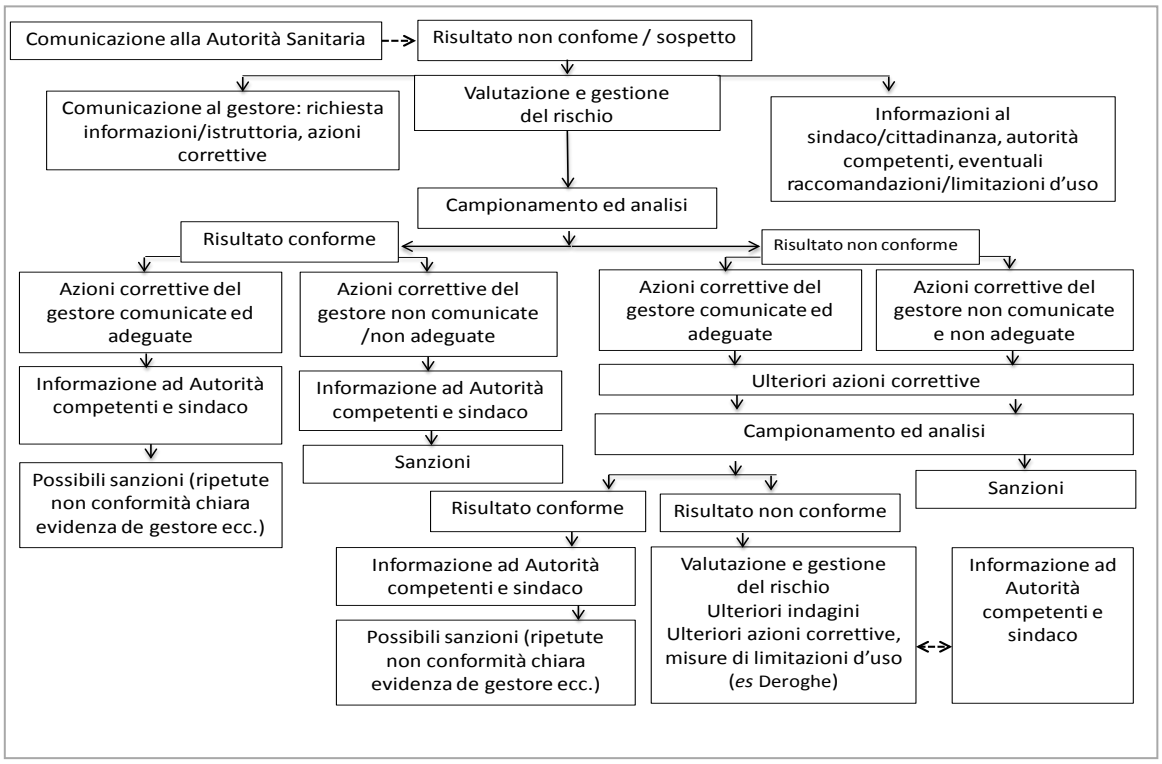

Fig. 1
Gestione delle non conformità secondo il D.Lgs. 31/2001

Fig. 2
Conformità delle acque destinate a consumo umano ai requisiti della Dir 98/83/CE nel triennio 2008-2010

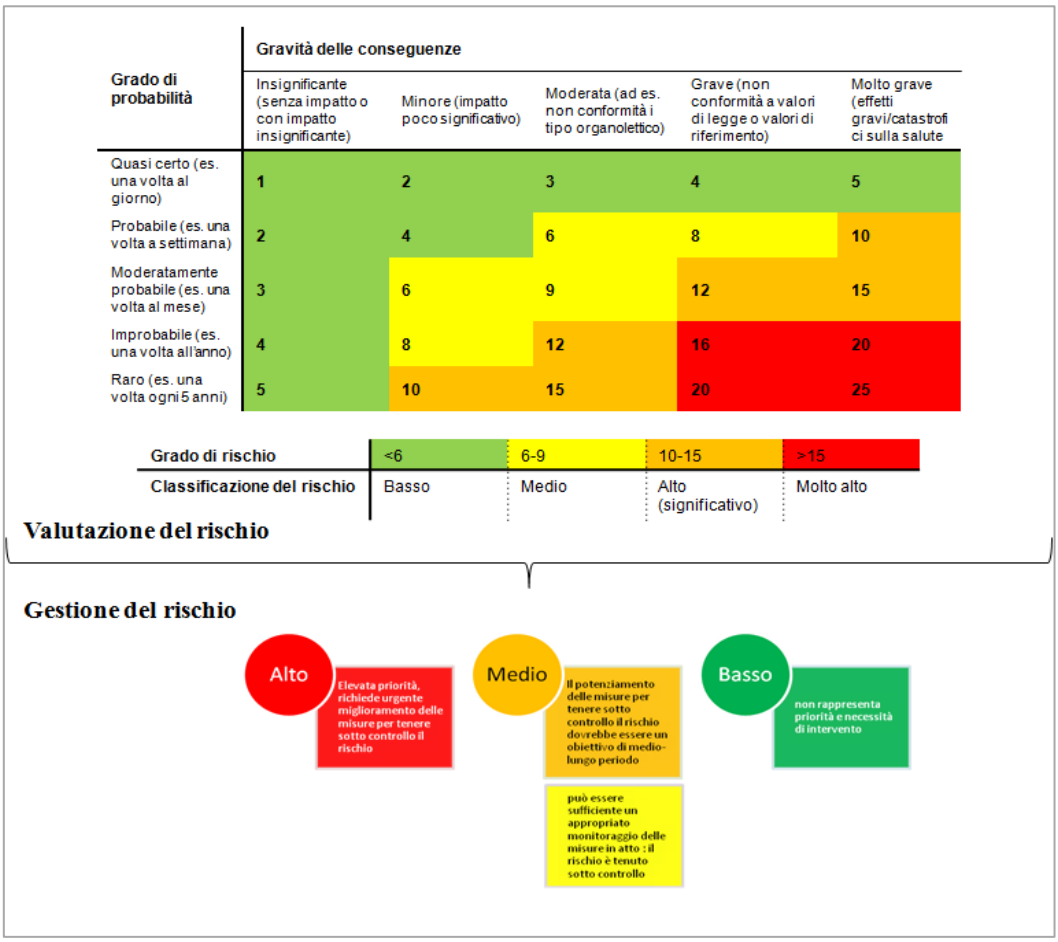

Fig. 3

Esempio di matrice per la classificazione del rischio e possibili conclusioni della rivalutazione dei rischi e sulla definizione delle misure di gestione secondo una scala di priorità

Questo approccio olistico presuppone la conoscenza dettagliata dell'invaso e delle sue criticità, e per questo i PSA sono rigorosamente "specifici". La strategia presenta un'elevata flessibilità ed è applicabile a qualsiasi sistema di produzione e distribuzione a prescindere dalla sua natura, forma giuridica, politica gestionale, estensione e complessità. A livello del sistema idropotabile l'approccio PSA è uno strumento strategico per la programmazione e la prioritizzazione degli investimenti, quindi molto utile anche per i piccoli gestori. La partecipazione all'implementazione dei PSA dei diversi portatori di interesse, i cosiddetti *stakeholders*, assicura anche una corretta comunicazione sul rischio.

La volontà di migliorare la protezione della salute anche prevedendo rigorosi principi precauzionali, ha portato ad individuare aree di intervento nell'ambito della revisione della Direttiva 98/83/CE, così articolate:

1. introduzione dei principi di risk assessment/risk management e, sulla base di questi, revisione dei parametri microbiologici e dei parametri chimici con un crescente ruolo decisionale demandato al singolo gestore idrico;
2. problematiche e controlli specifici relativi ai SWS, in considerazione delle ridotte disponibilità di risorse;
3. patogeni emergenti e sostanze emergenti (ad esempio, interferenti endocrini): rischio e monitoraggio;
4. criteri di campionamento e caratteristiche di prestazione dei metodi analitici, come pre-requisito per l'armonizzazione dei dati di monitoraggio;
5. potenziale impatto dei cambiamenti climatici sulla qualità delle acque destinate al consumo umano;
6. armonizzazione dei dati di monitoraggio e produzione di relazioni periodiche sullo stato di qualità delle acque nei diversi Paesi nel contesto del Water.

Analisi di contaminanti emergenti: la sfida della spettrometria di massa ad alta risoluzione

Una sostanza chimica è riconosciuta come potenziale fattore di rischio nelle acque destinate al consumo se sussiste un'evidente certezza della sua potenziale tossicità e della realistica possibilità della sua presenza nelle acque, ovvero se la stessa sostanza è riconosciuta come pericolosa a livello internazionale.

Si parla di "contaminanti emergenti" per sostanze che non sono comprese nei programmi di monitoraggio e per le quali, quindi, non si ha una conoscenza sufficiente delle effettive concentrazioni ambientali né del rischio sanitario e ambientale associato alla loro presenza. In seguito ai numerosi programmi di monitoraggio finanziati dall'UE, ad oggi la lista dei sospetti è stata ristretta a decine di sostanze appartenenti alle classi di prodotti farmaceutici (in particolare antinfiammatori non steroidei, antidepressivi, antimicotici, antivirali e antibiotici), prodotti per l'igiene e la cura personale (Personal Care Products, PCPs, es. creme solari, disinfettanti), i composti perfluorurati (tra i più famosi il PFOS e PFOA), prodotti di degradazione dei pesticidi, ritardanti di fiamma, nanomateriali (fullerene, biossido di titanio) ed anche tossine prodotte naturalmente da alcune specie di alghe. Alcuni di questi composti, per esempio il PFOS, sono stati inseriti nella Direttiva 2013/39/EU[6] che indica un elenco di 45 sostanze prioritarie, la cui presenza nell'intera filiera delle acque va drasticamente ridotta. Nell'ultimo aggiornamento, si chiede agli Stati membri di attuare un programma di monitoraggio suppletivo su sostanze che attualmente sono all'attenzione degli organi di valutazione, in quanto classificabili come possibili future sostanza prioritarie. Si tratta della "watch list", aggiornata molto recentemente[7], che focalizza l'attenzione su alcuni ormai "ex" contaminanti emergenti, per esempio estrogeni, alcuni antibiotici e antiinfiammatori, che necessitano di dati di monitoraggio robusti da inviare alla commissione europea. L'approccio *risk-based* dei PSA consente flessibilità del sistema di gestione anche rispetto agli inquinanti emergenti, attualmente non oggetto di monitoraggio sistematico, e/o delle vulnerabilità dei sistemi idropotabili agli impatti diretti e indiretti indotti dai cambiamenti climatici.

Prima di essere definiti contaminanti però, ovvero con un effetto tossicologico accertato alle concentrazioni a cui potremmo essere esposti tramite ingestione di acqua potabile, si parla di sostanze emergenti. E forse oggi è possibile accelerare i tempi necessari per arrivare a definire un nuovo parametro che tuteli ulteriormente dalla presenza di sostanze che un giorno saranno considerate inquinanti pericolosi.

Tutto deve partire dall'identificazione di una sostanza, dal monitorare la sua concentrazione nell'ambiente per poi confrontarla con il livello massimo tollerabile dal punto di vista tossicologico. Dai programmi di monitoraggio di routine è possibile oggi far emergere composti di cui non conosciamo a volte neanche la struttura? Ricadiamo in un campo della chimica analitica che si sta evolvendo velocemente, quello delle analisi *non target*, riferibili cioè alla determinazione di sostanze sconosciute, con poche o nessuna informazione a priori sulla loro identità.

La spettrometria di massa ad alta risoluzione accoppiata a tecniche cromatografiche è diventata la tecnica di elezione, per la possibilità di effettuare simultaneamente analisi quantitative dei contaminanti normati, e screening su base strutturale di quelli incogniti. Le sostanze sono migliaia e il compito dell'analisi dei dati rimane proibitivo. La presenza di alcuni database di spettri di massa *free* (es. MassBank[8] e mzCloud[9]), oltre al più convenzionale *NIST* per la ionizzazione a impatto elettronico, risultano pertanto preziosi. In definitiva, in questo caso lo sforzo collaborativo a livello internazionale di molti scienziati sta ottenendo più successo dell'offerta commerciale delle maggiori case produttrici di spettrometri di massa.

Durante il workshop, sono stati presentati i più recenti approcci per le analisi target e non target di sostanze emergenti e alcuni casi significativi di identificazione di sostanze incognite nelle acque potabili italiane ed europee.

La rete NORMAN: armonizzazione dei metodi non-target per lo screening di possibili inquinanti

La *NORMAN network*[10] è stata creata in seguito ad un progetto europeo e si occupa di promuovere lo scambio di informazioni sulle sostanze emergenti, incoraggiando programmi di armonizzazione e validazione dei metodi analitici necessari per il loro monitoraggio. È un ente senza fini commerciali che si interfaccia con le autorità europee nel lungo cammino che può portare alla legiferazione di nuovi contaminanti nell'ambiente. Oltre a mettere a disposizione una sezione dedicata in MassBank e una lista di più di mille *emerging substances, NORMAN* ha promosso nel 2013-2014 il primo esercizio di intercalibrazione per lo screening di incogniti non target in acque fluviali (*collaborative trial on non-target screening of organic substances in river water)* (Fig. 4).

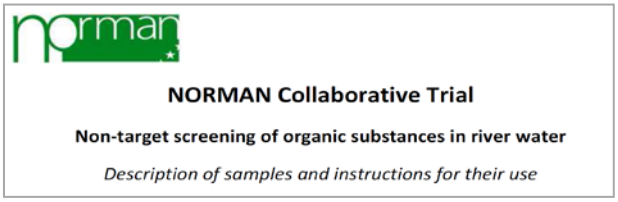

Fig. 4
Primo esercizio di intercalibrazione per lo screening di incogniti in acque fluviali organizzato dalla rete NORMAN

http://www.norman-network.net/?q=node/190

Il progetto mirava a valutare le capacità dei laboratori di ricerca di determinare composti organici conosciuti e incogniti, tramite sistemi mass-spettrometrici ad alta risoluzione, con lo scopo ultimo di proporre un approccio armonizzato. Nelle definizioni chiarite nel corso del progetto, si parla di *target* per analisi di composti per cui gli standard certificati sono disponibili, *suspect* per sostanze di cui si abbiano informazioni strutturali ma non standard, e *non-target* per composti rivelabili anche se totalmente incogniti[11]. Un estratto di 1.000 litri di acqua del Danubio è stato inviato a 18 istituti da 12 Paesi europei coinvolti nel progetto. I risultati sono stati impressionanti nei numeri: più di 20.000 reports, con circa 650 sostanze identificate in totale come *target*, *suspect* o *non target*. Tra i *suspect*, un'ipotesi di struttura è stata proposta in quasi il 90% dei casi, mentre tutti gli altri segnali rimangono ancora non identificati. L'esperienza è stata illuminante per comprendere quali siano le reali possibilità analitiche utilizzabili oggi, quali i punti deboli da migliorare prima che un approccio del genere possa essere proposto come linea guida europea per gli enti di controllo.

Mebikar: il caso nel "caso"

Notevole il caso presentato dalla dott.ssa Falconieri della ASL di Milano, Laboratorio di Prevenzione (responsabile dott.ssa Vitaliti), Area Tematica Acque (responsabile dott. Notaro). Il Laboratorio si è dotato di un LC-MS ad alta risoluzione (Q-TOF) per integrare e supportare i metodi analitici basati su GC-NPD, GC-MS e LC-MS con triplo quadrupolo già previsti per i controlli sulle acque. Nella rielaborazione dei dati acquisiti in alta risoluzione è emerso un segnale rilevante a cui è stata attribuita una formula bruta $C_8H_{14}N_4O_2$. Con l'aiuto di software di predizione (*in-silico fragmentation*) e di database (ChemiSpider) si è arrivati ad ipotizzare la presenza del mebikar, un ansiolitico autorizzato nella federazione russa, ma non in Europa e USA. L'identificazione è stata confermata tramite comparazione con uno standard certificato acquisito in seguito.

Tuttavia, nelle stesse condizioni sperimentali, la presenza di un altro segnale isobarico, quindi con stesso rapporto *m/z* ad alta risoluzione e stessa formula bruta, ma con diverso tempo di ritenzione, ha generato nuovi quesiti. Con la collaborazione del gruppo della dott.ssa Valsecchi dell'IRSA-CNR di Brugherio (MI) si è riusciti a risolvere il rebus: in questo caso il segnale era attribuibile ad un metabolita della terbutilazina, denominato LM6 (4-(tert-butilammino)-6-idrossi-1-metil-1,3,5-triazin-2(1H)-one) (Fig. 5). Il composto in questione è citato nella revisione della valutazione del rischio della terbutilazina dell'EFSA (European Food Safety Authority)[12], come tossicologicamente rilevante, facendo riferimento alla necessità di valutarne la presenza nelle acque sotterranee. Grazie alla collaborazione della Syngenta Italia ed Oxon è stato possibile reperire uno standard e confermare la sua identificazione.

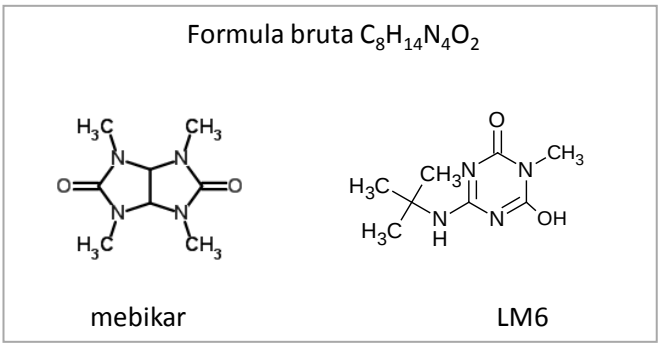

Fig. 5
Formula bruta e formule di struttura del mebikar e del metabolita della terbutilazina denominato LM6

In seguito, sia il mebikar sia il metabolita LM6 sono stati inseriti nel piano di controllo della ASL di Milano, confermando come l'approccio non target possa effettivamente portare ad acquisire informazioni utili per la gestione del rischio in forma precauzionale.

Conclusioni

Solo un'attenta analisi sito-specifica e un costante aggiornamento di criteri e metodi di ricerca, idealmente da realizzarsi attraverso progetti di ricerca estesi in aree più o meno vaste del territorio nazionale, può garantire la tenuta sotto controllo di rischi da contaminanti emergenti.

La corretta informazione del pubblico e la formazione del personale coinvolto nella gestione delle acque destinate al consumo umano è parte fondamentale del processo di gestione del rischio correlato a queste tematiche. Ad oggi, rimane ancora impossibile proporre sistemi complessi di screening analitico alle Agenzie di Controllo, soprattutto a causa dell'enorme mole di dati che vengono generati, e dall'impossibilità di garantire un'identificazione certa, quando non si dispone degli standard certificati corrispondenti. Comunque, essere

coscienti delle possibilità tecnologiche e dell'iter scientifico che si segue per arrivare a normare nuovi potenziali inquinanti ambientali crea opportunità e sinergie utilissime per la ricerca e per la società stessa.

Ringraziamenti e sponsor: Il workshop si è svolto sotto il patrocinio della SCI-Divisione di Spettrometria di Massa e sponsorizzata da ABSCIEX. Si ringraziano tutti i relatori intervenuti nelle due giornate del workshop, in particolare il gruppo del dr Polesello del CNR di Brugherio e il gruppo della dott.ssa Falconieri della ASL di Milano.

BIBLIOGRAFIA

[1]Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31 "Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano", Gazzetta Ufficiale n. 52 del 3 marzo 2001 - Supplemento Ordinario n. 41. Disponibile all'indirizzo: http://www.camera.it/parlam/leggi/deleghe/01031dl.htm

[2]Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption, OJ L 330, 5.12.1998, p. 32-54.

[3]Guidelines for drinking-water quality, fourth edition, World Health Organization 2011: Disponibile all'indirizzo: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/

[4]World Health Organization, Water safety plan manual: Step-by-step risk management for drinking-water suppliers, Geneva, WHO Ed., 2008, Vol. 1, 3rd Ed.

[5]Linee guida per la valutazione e gestione del rischio nella filiera delle acque destinate al consumo umano secondo il modello dei Water Safety Plans, Roma, Istituto Superiore di Sanità, 2014, (Rapporti ISTISAN 14/21). Disponibile all'indirizzo: http://www.iss.it/binary/publ/cont/14_21_web.pdf

[6]Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy Text with EEA relevance, OJ L 226, 24.8.2013, p. 1-17. Disponibile all'indirizzo: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:IT:PDF

[7]Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council (notified under document C(2015) 1756) Text with EEA relevance, OJ L 78, 24.3.2015. Disponibile all'indirizzo: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015D0495&qid=1430240110341&from=EN

[8]http://www.massbank.jp/?lang=en

[9]https://www.mzcloud.org/

[10]http://www.norman-network.net/

[11]E.L. Schymanski *et al., Analytical and Bioanalytical Chemistry,* in press.

[12]*EFSA Journal*, 2011, **9**(1), 1969, doi:10.2903/j.efsa.2011.1969. Disponibile all'indirizzo: http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1969.pdf