

# Analisi dei contaminanti nelle acque: criticità operative

**I. Scaroni**

**Arpae Emilia-Romagna  
Laboratorio Multisito  
sede di Ravenna**

[www.labelab.it/ravenna2019](http://www.labelab.it/ravenna2019)

**Fare i conti  
con l'ambiente**  
Rifiuti acqua energia

**>Rave  
nna  
8·9·10  
maggio 2019**



# NORMATIVA

- Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Quadro sulle Acque)
- Direttiva comunitaria è stata recepita con il Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152 "Norme in materia ambientale", in particolare nella parte terza "Norme in materia di difesa del suolo e lotta alla desertificazione, di tutela delle acque dall'inquinamento e di gestione delle risorse idriche". Il D.Lgs. 152/2006 ha recepito la Direttiva Quadro sulle Acque demandando la descrizione degli aspetti operativi ad atti successivi, di seguito indicati:
- Decreto Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare 16 giugno 2008, n. 131
- **Decreto Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare 14 aprile 2009, n. 56**
- Decreto Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare 8 novembre 2010, n. 260
- **Decreto Legislativo 10 dicembre 2010, n. 219**
- Decreto Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare 27 novembre 2013, n. 156
- **Decreto Legislativo 13 ottobre 2015, n. 172**

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

Oltre alla normativa cogente sono stati redatti documenti a supporto per l'implementazione della DQA, in particolare la **Guidance Document n° 19** che al punto 6.2 riporta:

Il contenuto di materiale particolato non è critico per l'analisi di composti polari o altamente solubili in acqua come alcuni pesticidi (es. alaclor, atrazina, simazina, etc) e composti volatili (benzene, diclorometano, etc). Questi composti possono essere analizzati sull'intero campione o sul campione filtrato.

Nel caso di composti idrofobici, che sono fortemente adsorbiti alla particelle e che comprendono ad esempio Polibromo difenil eteri (PBDE) o idrocarburi policiclici aromatici (PAH) a 5 o 6 anelli, particolare attenzione deve essere posta per assicurare la loro completa estrazione dalla frazione particolata. Una buona soluzione potrebbe essere quella di effettuare analisi separate sul solido e sul liquido.

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

Tecniche analitiche estrattive come:

- SPE (solid phase extraction) off-line
- LLE (liquid-liquid extraction)
- SPME (solid phase microextraction)

sono adeguate solo in presenza di basse quantità di particolato es.  $\leq 3$  mg/l

## COME ABBIAMO RISOLTO



Sistema di estrazione  
Automatizzato con dischi  
SPE-DEX

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

L'estrazione in fase solida (SPE) è un processo di preparazione del campione in cui si sfrutta l'affinità di soluti disciolti o sospesi in un liquido (fase mobile) per un solido (fase solida adsorbente) assicurandone l'estrazione, la purificazione e la concentrazione dalla matrice originale. I vantaggi di questa tecnica sono:

- riduzione consumo di solventi
- minori sprechi, ridotto volume di rifiuti da smaltire, controllo dei costi
- ridotta esposizione degli operatori (maggiore sicurezza)
- fattori di concentrazione più elevati
- estratti purificati
- ridotta formazione di emulsioni
- estrazione di analiti in un ampio range di polarità
- possibilità di scegliere tra un diversa gamma di adsorbenti e solventi
- tempi di estrazione più brevi
- facilmente automatizzabile anche con campioni complessi

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

Decreto Legislativo 10 dicembre 2010, n. 219

Tutti i metodi di analisi utilizzati ai fini dei programmi di monitoraggio svolti a norma della Direttiva 200/60/CE siano convalidati e documentati ai sensi della norma EN ISO/IEC 17025 o equivalenti.

Questo implica la scelta di utilizzare preferibilmente i metodi approvati da organismi di normazione nazionali, europei o internazionali (ad es. UNI, CEI, CEN, ISO, UNICHIM, ASTM, AOAC, ecc) o da organismi pubblici autorevoli (es. USDA, FDA, EPA, NIOSH, IUPAC, APHA, OIV, OIE, WHO, APAT, CNR, IRSA, ISPRA, NMKL, ecc)

Pertanto è preferibile utilizzare metodi normalizzati.

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

- Metodo UNI EN 16691:2015 Water Quality - Determination of selected PAH in whole water sample – Method using solid phase extraction (SPE) with spe-disk combined with GC/MS
- Metodo UNI EN 16693:2015 Water Quality - Determination of organochlorine pesticides (OCP) in whole water sample – Method using solid phase extraction (SPE) with spe-disk combined with GC/MS
- Metodo UNI EN 16694:2015 Water Quality - Determination of selected PBDE in whole water sample – Method using solid phase extraction (SPE) with spe-disk combined with GC/MS

# CRITICITÀ: PARTICOLATO NELLE ACQUE

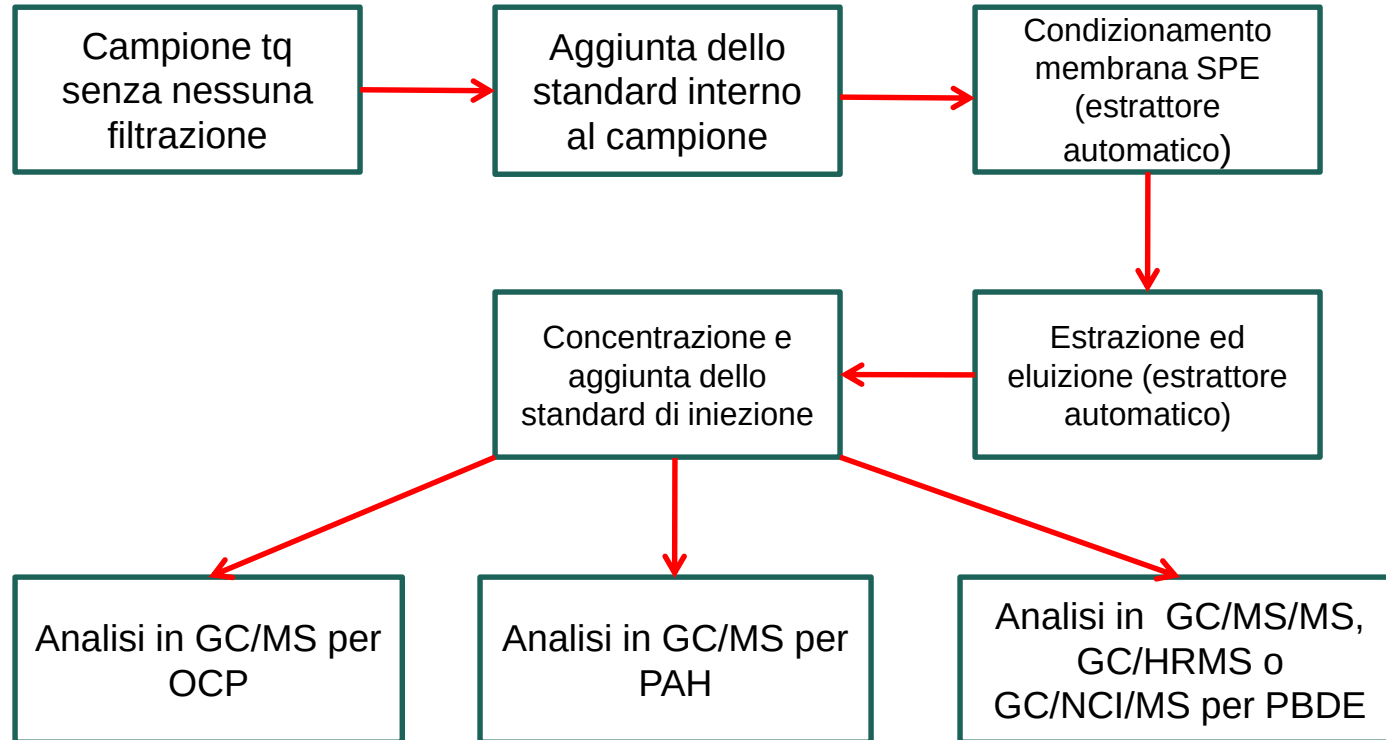
- Metodo UNI EN 16691:2015 PAH in GC/MS
- Metodo UNI EN 16693:2015 OCP in GC/MS
- Metodo UNI EN 16694:2015 PBDE in GC/MS/MS, in GC/HRMS o in GC/NCI/MS

I metodi comprendono:

- aggiunta di standard interni e standard siringa
- dati di ripetibilità e riproducibilità
- misure di QC durante il procedimento
- espressione dei risultati (cifre significative)

I metodi sono applicabili a campioni di acque con un contenuto di particolato sino a 500 mg/l

# METODI UNI EN PER CAMPIONI DI ACQUA TAL QUALE



# METODI UNI EN PER CAMPIONI DI ACQUA TAL QUALE



**Azoto 4-5 Bar :**  
Controlla la pressione  
delle bottiglie di solvente  
e delle valvole di sampling

**Solventi:**  
5 linee per  
condizionamento  
+ 3 per eluizione

**Pompa da  
vuoto: +**  
Tanica  
Waste acqua  
+ tanica  
Waste  
solventi

**Unità  
estrazio  
ne fino a  
8 posti**

**Mem  
brane  
spe**

# METODI UNI EN PER CAMPIONI DI ACQUA TAL QUALE

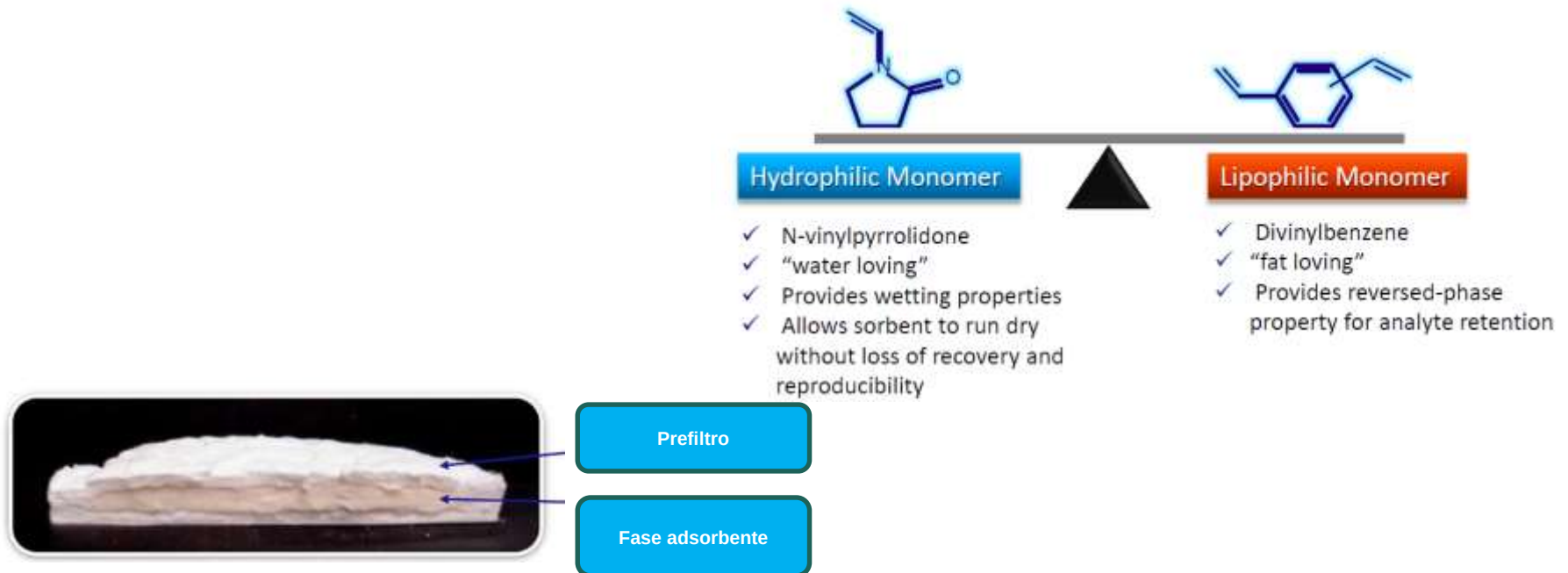
Sono disponibili diverse fasi adsorbenti:

C18

C18 High Capacity (per campione fortemente contaminati)

DVB (Divinil benzene)

HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balanced) a 3 livelli di capacità (High, Medium, Low)



Analisi dei contaminanti nelle acque:  
criticità operative

[www.labelab.it/ravenna2019](http://www.labelab.it/ravenna2019)

# CRITICITÀ: LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

Decreto Legislativo 10 dicembre 2010, n. 219

Tra i requisiti normativi per la scelta dei metodi, vengono indicate le prestazioni minime dei metodi di misurazione che devono essere adottati

- a) alle concentrazioni dello standard di qualità (SQA-MA ed SQA-CMA) l'incertezza estesa associata al risultato di misura non deve essere superiore al 50% del valore dello standard di qualità
- b) Il limite di quantificazione dei metodi deve essere uguale o inferiore al 30% dei valori dello standard di qualità (SQA-MA)
- c) In mancanza di standard di qualità ambientali per un dato parametro o di un metodo di analisi che rispetti i requisiti minimi di prestazione, le Agenzie assicurano che il monitoraggio sia svolto applicando le migliori tecniche disponibili a costi sostenibili

# CRITICITÀ: LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

È possibile distinguere tra un segnale analitico e le fluttuazioni statistiche del bianco quando il primo è almeno  $k$  volte superiore alle variazioni casuali del secondo.

Limite di rilevabilità (LOD): la minima concentrazione misurata in un campione da cui è possibile dedurre con ragionevole certezza statistica la presenza dell'analita.

E' pari al triplo della deviazione standard del bianco campione (Guidance Document n° 19)

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD}$$

Un segnale di intensità pari a tre volte la deviazione standard del rumore di fondo viene riconosciuto come un segnale reale.

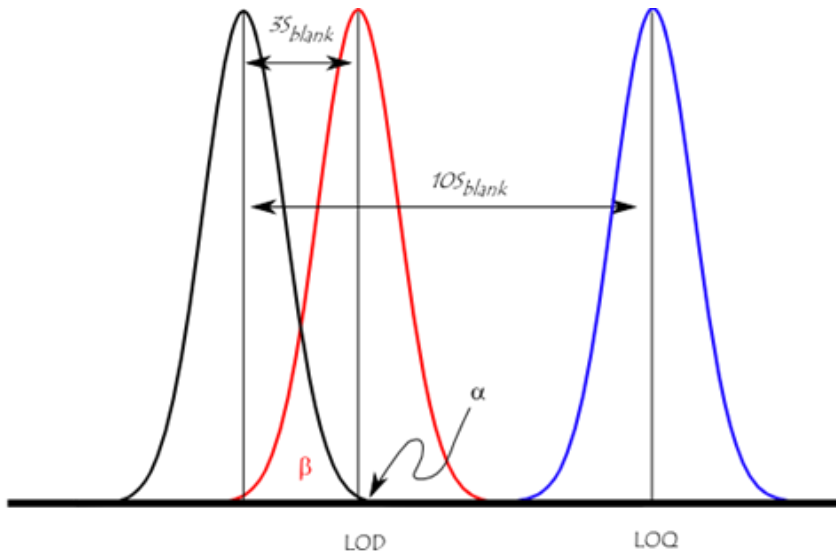
Per ottenere un ragionevole LOD è preferibile effettuare il calcolo su almeno 10 o più prove distinte sul bianco campione.

# CRITICITÀ: LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

1. Bianco reagente: Comprende tutti i reagenti e le sostanze chimiche
2. Bianco campione: Campione di prova in cui l'analita è assente. Utilizzato per i metalli.
3. Pseudo bianco: Campione di prova in cui l'analita è presente (naturalmente o aggiunto) ad un basso livello di concentrazione. Utilizzato per i composti organici, soprattutto in cromatografia.

# CRITICITÀ: LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

- $\alpha$  Errore di tipo I: falso positivo
- $\beta$  Errore di tipo II: falso negativo



Il limite di rilevabilità è il valore misurato, per il quale la probabilità di dichiarare erroneamente l'assenza di una componente costituente un materiale è  $\beta$ , essendo data la probabilità  $\alpha$  di dichiarare erroneamente la sua presenza

Limite di quantificazione (LOQ): il minimo tenore di analita misurabile con ragionevole certezza statistica con un accettabile livello di accuratezza e precisione.

E' pari a 10 volte la deviazione standard della media delle determinazioni in matrice bianca.

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \text{SD} = 3,3 \cdot \text{LOD}$$

Quando un segnale è maggiore del limite di rilevabilità possiamo dire che l'analita è presente nel campione, ma per stabilire il limite oltre il quale è legittimo eseguire misure quantitative è necessario definire il limite di quantificazione LOQ.

# CRITICITÀ: LIMITI DI QUANTIFICAZIONE MOLTO BASSI

|                                      | (µg/l) SQA-MA<br>acque sup. interne | (µg/l) SQA-MA<br>altre acque di sup. |
|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Benzo (a)pirene                      | $1,7 \times 10^{-4}$                | $1,7 \times 10^{-4}$                 |
| PFOS                                 | $6,5 \times 10^{-4}$                | $1,3 \times 10^{-4}$                 |
| Cipermetrina                         | $8 \times 10^{-5}$                  | $8 \times 10^{-6}$                   |
| Diclorvos                            | $6 \times 10^{-4}$                  | $6 \times 10^{-5}$                   |
| Eptacoloro ed<br>Eptacoloro epossido | $2 \times 10^{-7}$                  | $1 \times 10^{-8}$                   |
| Tributil stagno                      | 0,0002                              | 0,0002                               |

## DAL DM 56/09 AL DL.vo 172/15

Il 13 ottobre 2015 è stato emanato il Decreto Legislativo n. 172 in attuazione della direttiva 2013/39/UE, in vigore dal 22 dicembre 2015, che integra e modifica il D.Lgs. 152/06.

1. SQA modificati per alcune sostanze esistenti (es PAH) e della CMA
2. SQA per 12 nuove sostanze prioritarie numerate da 34 a 45
3. **Inserimento della matrice biota per nuove sostanze (es PCDD/DF) e quelle esistenti (es PBDE, PAH)**
4. SQA acque interne basato sulla frazione biodisponibile per Ni e Pb (nota 13)
5. Monitoraggio di un elenco di sostanze per una futura prioritizzazione (Watch List o elenco di controllo) Questo monitoraggio facilita i futuri esercizi di definizione delle priorità di intervento e di riesame periodico delle liste delle sostanze. L'art. 78-undecies (Elenco di controllo) del D.Lgs172/2015 affida a ISPRA il coordinamento del monitoraggio delle sostanze della lista di controllo.

# Linea Guida 143/2016 secondo D.Lvo 172/2015

LOQ analiticamente più favorevole nella matrice biota

**Tabella 1.5 -  $SQA_{biota}$  corretti per il livello trofico in funzione del contenuto lipidico e di peso secco dei diversi taxa; N.A.: non applicabile; N.D.: dati non disponibili**

| N       | Sostanza                                        | Matrice da monitorare secondo DLgs 172/2015 | SQA <sub>biota</sub> (DLgs 172/2015) | TMF    | SQA <sub>biota</sub> Corretti e normalizzati |                      |                      |                         |                          |                    |
|---------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|--------|----------------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|
|         |                                                 |                                             | [µg/kg peso umido]                   |        | SQA <sub>pesci</sub>                         | SQA <sub>pesci</sub> | SQA <sub>pesci</sub> | SQA <sub>mollusco</sub> | SQA <sub>crostaceo</sub> | Unità di misura    |
|         |                                                 |                                             |                                      |        | TAXA LIVELLO TROFICO                         | PESCE                | PESCE                | PESCE                   | MOLLUSCO                 | CROSTACEO          |
|         |                                                 |                                             |                                      |        | 4                                            | 3                    | 2                    | 2                       | 2                        |                    |
| (5)     | Difenileteri bromurati (PBDE)                   | Pesci                                       | 0,0085                               | 1,8*   | 0,2                                          | 0,1                  | 0,05                 | 0,05                    | 0,05                     | [µg/kg lipide]     |
| (9 ter) | DDT                                             | Pesci (<5% grassi)                          | 50                                   | N.A.   | 50                                           | 50                   | 50                   | N.A.                    | N.A.                     | [µg/kg peso umido] |
| (9 ter) | DDT                                             | Pesci (>5% grassi)                          | 100                                  | N.A.   | 100                                          | 100                  | 100                  | N.A.                    | N.A.                     | [µg/kg peso umido] |
| (15)    | Fluorantene                                     | Crostacei e molluschi                       | 30                                   | N.A.   | N.A.                                         | N.A.                 | N.A.                 | 3000                    | 3000                     | [µg/kg lipide]     |
| (16)    | Esaclorobenzene (HCB)                           | Pesci                                       | 10                                   | 2,7*   | 200                                          | 74                   | 27                   | 27                      | 27                       | [µg/kg lipide]     |
| (17)    | Esaclorobutadiene (HCBd)                        | Pesci                                       | 55                                   | N.D.   | 1100                                         | 1100                 | 1100                 | 1100                    | 1100                     | [µg/kg lipide]     |
| (21)    | Mercurio e composti                             | Pesci                                       | 20                                   | 2,2**  | 77                                           | 35                   | 16                   | 16                      | 16                       | [µg/kg peso secco] |
| (28)    | Benzo[a]pirene                                  | Crostacei e molluschi                       | 5                                    | N.A.   | N.A.                                         | N.A.                 | N.A.                 | 500                     | 500                      | [µg/kg lipide]     |
| (34)    | Dicofol                                         | Pesci                                       | 33                                   | N.D.   | 660                                          | 660                  | 660                  | 660                     | 660                      | [µg/kg lipide]     |
| (35)    | Acido perfluorottansolfonico e suoi sali (PFOS) | Pesci                                       | 9,1                                  | 2,1*** | 35                                           | 17                   | 8                    | 25                      | 9                        | [µg/kg peso secco] |
| (37)    | Diossine e composti diossina-simili             | Pesci, crostacei e molluschi                | 0,0065 TEQ                           | N.A.   | 0,0065 TEQ                                   | 0,0065 TEQ           | 0,0065 TEQ           | 0,0065 TEQ              | 0,0065 TEQ               | [µg/kg peso umido] |
| (43)    | Esabromociclododecano (HBCDD)                   | Pesci                                       | 167                                  | 2,7*   | 3340                                         | 1231                 | 454                  | 454                     | 454                      | [µg/kg lipide]     |
| (44)    | Eptacloro ed eptacloro eossido                  | Pesci                                       | 0,0067                               | N.D.   | 0,13                                         | 0,13                 | 0,13                 | 0,13                    | 0,13                     | [µg/kg lipide]     |

TMF calcolati \*su base lipidica; \*\*su peso secco; \*\*\*su peso fresco

# Linea Guida 143/2016 secondo D.Lvo 172/2015

In tab 1.5 della linea guida 143/2016 sono riportati gli SQA del biota già corretti per i livelli trofici avendo tenuto in considerazione i valori di lipidi e peso secco per i diversi taxa (pesce, mollusco e crostaceo) presentati in tab. 1.4

- PBDE , Fluorantene, Esaclorobenzene, Esaclorobutadiene, Benzo(a)pirene, Dicofol, Esabromociclododecano ed Eptacloro ed Eptacloro epossido  $\mu\text{g/kg}$  lipidi
- DDT e PCDD/DF+ PCB WHO  $\mu\text{g/kg}$  peso umido
- PFOS acido perfluorooottansolfonico  $\mu\text{g/kg}$  peso secco

# CRITICITÀ: ANALISI BIOTA

- Poca o nessuna esperienza sulla ricerca di alcuni composti nel biota (es. PFOS e PBDE)
- Analisi viene effettuata sul pesce intero e non sulla sola parte edibile, come nel caso degli alimenti, o su alcune parti specifiche (organi interni) quindi pochi sono i lavori presenti in letteratura
- Metodi più laboriosi che sulla matrice acqua e non sempre disponibili
- Necessità di verificare questi metodi con test interlaboratorio non sempre commercialmente presenti
- Attrezzare il laboratorio per la preparazione di questi campioni con omogeneizzatori a lame, liofilizzatori, soxhlet, etc

# CRITICITÀ: ANALISI BIOTA

Le analisi sul biota necessitano di uno studio e di un approfondimento e per questo si è iniziato uno studio collaborativo con alcune agenzie.

L'obiettivo è la determinazione di alcuni microinquinanti organici e del mercurio nella matrice biota con lo scopo di:

- a) Migliorare la comparabilità dei dati
- b) Sviluppare la tecnica QuEChERS per alcuni dei parametri individuati
- c) Validare i metodi per interconfronto

Le matrici selezionate per questo studio collaborativo sono due: pesce e mollusco. Il materiale distribuito sarà analizzato nei laboratori individuati e fornendo almeno tre risultati per ogni analita considerato.

# CRITICITÀ: ANALISI BIOTA

I materiali che verranno consegnati saranno di 2 tipi.

- **MATRICE PESCE:** aliquota da 40 g di pesce intero ottenuta dalla preparazione, liofilizzazione e omogeneizzazione di 22 cefali (*Mugil cephalus*) e 2 cavedani (*Squalius cephalus*), fornita da ARPA Veneto.
- **MATRICE MOLLUSCO:** aliquota da 20 g di molluschi bivalvi ottenuta dalla preparazione, liofilizzazione e omogeneizzazione di 20 mitili (*Mytilus galloprovincialis*), fornita da ARPAE, laboratorio di Ravenna.

## Prove di omogeneità

L'omogeneità della matrice è stata testata con l'analisi dei metalli dopo agitazione per 24h dei campioni e setacciatura prima a 2 mm e poi a 1 mm. Il CV % ottenuto dopo analisi ripetuta di 6 campioni è compreso tra 1.0 e 13.8 %.

Partecipanti sono: Arpae Emilia-Romagna, Arpav Veneto, Arpa Piemonte, Arpat Toscana , Arpa fvg Friuli Venezia Giulia e CNR

## GDL N°2 SNPA: RISULTATI

E' stato istituito a livello interagenziale il GdL n.2 "Direttiva 200/60/CE: Armonizzazione metodi di analisi sostanze prioritarie" istituito da SNPA .

Obiettivi:

- Standardizzare le modalità da adottare per le attività analitiche per il monitoraggio delle sostanze prioritarie
- Applicare correttamente la Direttiva riguardo ai requisiti minimi
- Assicurare l'intercomparabilità a livello di distretto idrografico (così come anche previsto dalla Legge 167 del 2017)

E' stata prodotto una Linea Guida per la scelta dei metodi di analisi di sostanze prioritarie ai sensi della Direttiva 2000/60/CE

# GDL N°2 SNPA: RISULTATI

Cap. 3 Situazione analitica delle agenzie: sintesi delle elaborazioni dei dati pervenuti

Sono state richieste alle Agenzie informazioni riguardo:

- Tecnica preparativa
- Tecnica analitica
- Limite di quantificazione raggiunto
- Incertezza di misura adottata
- Metodo
- Accreditamento della prova

sulle 3 matrici acqua, sedimenti e biota

# GDL N°2 SNPA: RISULTATI

## Cap. 4 Criteri per la scelta dei metodi analitici

- Rispetto dei criteri minimi di efficienza
- Scelta di tecnologie ad elevata automazione
- Scelta di metodiche multicomponente
- Sicurezza degli operatori
- Basso impatto ambientale
- Utilizzo di strumentazione di nuova generazione

## GDL N°2 SNPA: CRITICITA'

Cap. 6 Problematiche aperte e ipotesi future sulla applicazione dei metodi

- a) Uniformità dei dati analitici nel distretto di bacino
- b) Condivisione dei criteri per la definizione dei LOQ
- c) LOQ difficilmente raggiungibili:
  - garanzia di un LOQ nazionale a costo sostenibile
  - Rete di laboratori accreditati (watch list o sostanze PFAS)

Per il monitoraggio delle sostanze prioritarie ed emergenti è possibile attivare una risposta a diversi livelli:

A livello di autorità di distretto: quando uno o tutti i laboratori raggiungono il LOQ richiesto

A livello nazionale: quando non esistono laboratori a livello di distretto oppure solo quando alcuni laboratori possono rispondere a particolari richieste (watch list , sostanze emergenti o situazioni emergenziali)

