|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **RR-TEM-09-01 Applicazione Direttiva acque SNPA** | | |
| **Codice** | Sub-Tematica (ST) | Descrizione dell’attività |
| **1-Acque-M2** | Interpretazione condivisa e chiara sull'applicazione delle indicazioni sul monitoraggio del biota di cui al D.Lgs. 172/15 e relative linee guida ISPRA | Approccio metodologico condiviso dell’intero processo di monitoraggio tramite sottogruppo tematico |

**Quesito normalizzazione PFOS per Biota Acque dolci fluviali e lacustri**

Come già anticipato nella mail di qualche giorno fa, all'interno della Rete Tematica 09-1 Applicazione DQA (acque superficiali e sotterranee) delle Rete SNPA triennio 2021-2023, ci stiamo occupando della revisione del Manuale ISPRA 143/2016 per l’interpretazione delle indicazioni.

Durante i lavori del sottogruppo Biota, che coinvolgo ISPRA e le Agenzie regionali ambientali, sono emersi degli argomenti per i quali avremmo necessità di un supporto esterno alla Rete tematica, al fine di avere dei chiarimenti che uniformino le differenti interpretazioni ed i modelli operativi a livello nazionale.

Uno degli obiettivi del sottogruppo è la revisione della *Tabella 1.5 - SQAbiota corretti per il livello trofico in funzione del contenuto lipidico e di peso secco dei diversi taxa* contenuta nel MLG per seguire l’indicazione del confronto dei risultati con: l’SQAbiota di riferimento con la Tab 1/A D. Lgs. 172/2016 e con la Tab 1.5 MLG ISPRA 143/2016. Per facilitare il lavoro abbiamo pensato di modificare la Tab 1.5 del MLG 143/2016 inserendo anche due colonne con i valori dell’SQAbiota corretti in peso umido per livelli trofici diversi da 4, es a TF 3 e TF 5. Naturalmente utilizzando la formula SQAbiota, x= SQAbiota/TMF(4-TL(x)), contenuta a pag. 17 del MLG 143/2016 nella sezione STABILIRE SQA EQUIVALENTEMENTE PROTETTIVI PER TAXA ALTERNATIVI.

Durante la discussione Arpa Lombardia, che fa parte del gruppo, ha fornito un documento redatto da Lei avente come *OGGETTO: Richiesta chiarimenti in merito all'utilizzo dei dati relativi alla presenza delle sostanze prioritarie nella fauna ittica e nei molluschi dei corpi idrici lacustri* in risposta ad una serie di quesiti posti da Arpa Lombardia via mail il 07/10/2020.

Il documento per facilitare il lavoro è stato inserito in allegato come: *ARPA\_lombardia\_signed\_Polesello\_12-10-2020.*

Essendo prevista la revisione della tabella, avremmo bisogno del suo supporto circa la conferma dei suggerimenti contenuti nel documento inviato un paio di anni fa ad Arpa Lombardia in relazione all’UdM più appropriata per la valutazione del PFOS (peso secco vs peso umido) relativamente all’associazione tessuto /bioaccumulo.

Di seguito riportiamo il quesito posto da Arpa Lombardia e la sua risposta.

*QUESITO - Qual è la matrice migliore da utilizzare per la stima dei contaminanti citati in precedenza sulla base della vostra esperienza?*

*RISPOSTA - …Per le sostanze clorurate e bromurate la normalizzazione sui lipidi di solito è abbastanza efficace, ma non funziona invece per altre sostanze come PFOS e Hg.*

*Nel caso di PFOS è assolutamente da scartare anche la normalizzazione sul peso secco che non funziona, in contraddizione con quanto riportato nella tabella 1.3 (ndr: in realtà è la tabella 1.5).*

**I quesiti che le poniamo sono questi:**

1. **Conferma l’affermazione circa l’UdM più appropriata per la valutazione del PFOS?**

Nel caso positivo, procederemmo anche alla modifica in tabella dell’UdM del PFOS nella sezione dei valori *SQAbiota Corretti e normalizzati*, sostituendo i valori espressi in peso secco, con i valori espressi in peso umido per i diversi livelli trofici 2, 3 e 4 e relativo TMF.

1. **Rispetto ad altre sostanze elencate in tabella è riscontrabile la stessa problematica legata all’UdM di normalizzazione come per i PFOS?**

**RISPOSTA ALLE DOMANDE.**

Stefano Polesello

Avendo partecipato anche alla stesura della CIS Guidance n.32, vorrei per prima cosa spiegare l’origine di queste normalizzazioni.

Rispetto a quanto accade per le misure in acqua, dove le principali cause di varianza da minimizzare sono legate al campionamento e alla procedura analitica, nella misura di materiale biologico a prevalere è la varianza connessa alla variabilità biologica intrinseca agli organismi viventi.

Quindi lo scopo principale della normalizzazione è ridurre la variabilità dei dati dovuta a cause naturali/biologiche.

Nel caso degli composti lipofili tipo organoclorurati, esiste una matrice elettiva di accumulo che è la materia grassa, il cosiddetto lipide, che dal punto di vista operativo si identifica con il residuo di estrazione con un determinato solvente in una procedura standardizzata.

In questo caso la normalizzazione su lipide ha anche un senso teorico/modellistico, perché si può approssimare che le sostanze lipofile si accumulino quantitativamente nei lipidi e che le sostanze nei lipidi di tutte le componenti della catena trofica siano tra loro in equilibrio secondo le rispettive costanti di ripartizione. Per questo motivo la normalizzazione sui lipidi ha anche un valore “assoluto” chimico-fisico e permette di prevedere la ripartizione delle sostanze nei diversi livelli della catena trofica.

Dal punto di vista dell’evidenza sperimentale, un'indagine sui dati di monitoraggio dei pesci del Danubio tedesco su alcuni composti bioaccumulabili ha mostrato che la normalizzazione sui lipidi per i composti idrofobici è in grado di ridurre la variabilità inter-specie e intra-specie (Fliedner et al. 2018).

Per le sostanze che non hanno una matrice/tessuto di accumulo di elezione negli organismi, questo discorso dei lipidi non è valido. Tra le sostanze prioritarie che non accumulano preferenzialmente nei lipidi vi sono mercurio e PFOS. Per queste sostanze la CIS Guidance 32 proponeva (non sorretta da dati sperimentali) di effettuare almeno una normalizzazione ad un peso secco relativo ad un pesce “medio europeo” con un contenuto di peso secco del 26%. In questo modo si auspicava che si riducesse almeno la variabilità dovuta al diverso contenuto di acqua dell’organismo, che poteva essere anche influenzato da vari fattori come ad esempio la fisiologia del singolo individuo o la conservazione del campione. Sottolineo quindi che, a differenza della normalizzazione sui lipidi, questa normalizzazione non era basata su dati sperimentali né aveva basi teorico-modellistiche.

Per quanto riguarda il PFOS; questo approccio è stato testato in almeno due lavori, dei quali uno effettuato dal nostro gruppo di ricerca (Valsecchi et al., 2021; Fliedner et al., 2018).

Il nostro lavoro, che ha preso in esame i dati di PFAS nei pesci di grandi laghi subalpini e laghi minori, conclude:

“**The dry weight normalization was ineffective in reducing both the concentration differences among the fish fractions for any PFASs** (i.e., the median values of the ratios did not change if based on fresh or dry weight) and their variability (expressed as relative standard deviation [RSD]; Supplemental Data, Table S13). These results agree with the Fliedner et al. (2018) study that showed normalizing to 26% dry mass as suggested by GD‐Biota had a very partial effect in adjusting fillet and whole‐fish data for nonlipophilic substances such as PFOS.”

Per quanto riguarda il Hg, non ho sottomano dati sperimentali, ma penso che la situazione non sia diversa da quella del PFOS

Sulla base di queste evidenze e considerazioni, si può affermare che la normalizzazione sul peso secco sembra essere inefficace nella riduzione della variabilità dei dati. Per cui la scelta se considerarlo o no potrebbe essere guidata anche da fattori di praticità, cioè in base a quale sia la scelta che comporta meno lavoro e costi.

Ad esempio può capitare in un laboratorio che si liofilizzino i campioni prima dell’analisi degli organoclorurati (per evitare l’acqua nei campioni durante l’estrazione e per conservare i campioni). In questo caso può essere comodo analizzare i campioni liofilizzati anche per PFOS e Hg.

Quindi per concludere, la normalizzazione sul peso secco non è un processo che riduca la variabilità del dato, per cui si possono riportare gli SQA in funzione del peso umido come nella Direttiva.

Potete però valutare, come SNPA, se vi sono ragioni di praticità che giustifichino il mantenimento di un SQA normalizzato al peso secco.

Fliedner A, Rudel H, Lohmann N, Buchmeier G, Koschorreck J. 2018. Biota monitoring under the Water Framework Directive: On tissue choice and fish species selection. Environ Pollut 235:129–140.

Valsecchi, S., Babut, M., Mazzoni, M., Pascariello, S., Ferrario, C., De Felice, B., Bettinetti, R., Veyrand, B., Marchand, P., Polesello, S., Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Fish from European Lakes: Current Contamination Status, Sources, and Perspectives for Monitoring, (2021) Environmental Toxicology and Chemistry, 40 (3), pp. 658-676. DOI: 10.1002/etc.4815