

# Valutazione (eco)tossicologica sui possibili impatti ambientali causati dagli effluenti da impianti di depurazione e altri scarichi del fiume pilota Ledra attraverso metodi tradizionali di analisi e metodi *in silico*.

Giuseppa Raitano, Emilio Benfenati, Alice Passoni, Renzo Bagnati, Andrea Colombo, Marco Lodi, Fabrizio Natolino, Isabella Romeo, Diego Baderna, Nicola Porta, Marco Marzo, Alberto Manganaro, IRCCS – istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Italy  
 Valentina Pieri, Department of Chemical Sciences, Life Sciences and Environmental Sustainability, University of Parma, Italy.  
 Daniele Goi, Polytechnic Department of Engineering and Architecture, University of Udine, Italy. Eleonora Aneggi, Department of Chemistry, Physics and Environment, University of Udine, Italy. Lutman Anna – ARPA FVG. Mattiussi Michele - ARPA FVG.

## Introduzione

Scopo del presente lavoro è stato quello di fornire uno schema generale di valutazione delle proprietà (eco)tossicologiche ed ambientali consentendo una nuova integrazione tra la gestione delle risorse idriche e la conservazione dell'ambiente e della salute nell'ambito di cicli idrici coerenti e integrati. Il progetto sfrutta le caratteristiche tossicologiche di un fiume con modesti impatti ambientali, il fiume Ledra, (Italia), al fine di trovare un solido metodo di valutazione dell'inquinamento residuo.

L'uso dei metodi *in silico* ad integrazione e sostegno di quelli tradizionali ha permesso di elaborare un metodo globale (per la salute umana e quella ambientale) di valutazione del rischio basato su un singolo indice di tossicità che combina la presenza di più contaminanti con comportamento ambientale diverso, proprietà (eco)tossicologiche e varie concentrazioni. L'indice di rischio (eco)tossicologico integrato (IWR) descrive lo stato generale di salute del Fiume Ledra "fotografato" in mappe. Questo approccio, una volta ottimizzato su questo fiume, può essere quindi applicato ad altri corpi idrici.

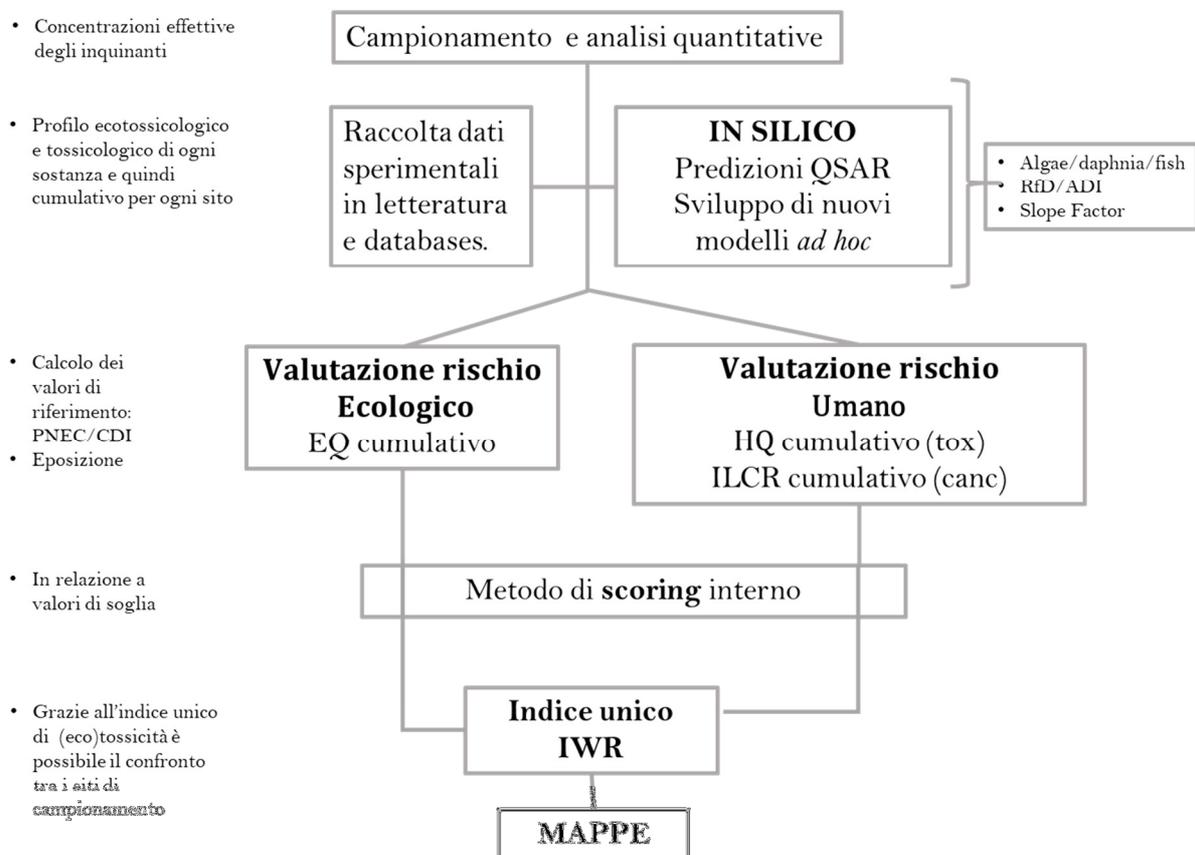


Fig. 1: Schema metodologico.

## Campionamento e analisi

L'area di studio copre l'intero bacino del fiume Ledra (21 km di lunghezza), situato nella regione Friuli Venezia Giulia (Italia). Questa area è caratterizzata dalla presenza di molti impianti di trattamento delle acque reflue. Nel mese di maggio 2015 sono stati selezionati un totale di 15 stazioni di campionamento, a monte e a valle dei punti di scarico delle acque reflue.

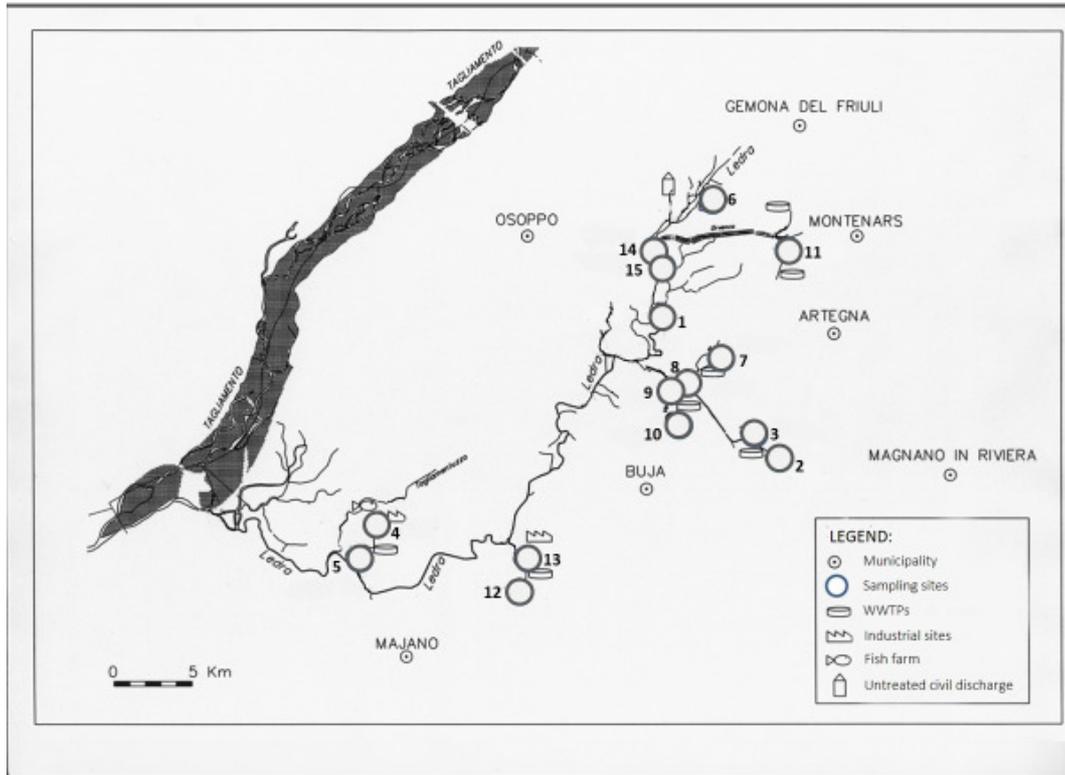


Fig. 2: Stazioni di campionamento lungo il fiume Ledra: posizione degli impianti e altre zone di interesse.

Le analisi in HPLC-MS sono state condotte dall'Istituto di ricerche Farmacologiche Mario Negri e dall'Arpa di Udine e hanno permesso di quantificare 47 sostanze (farmaci, droghe, pesticidi, erbicidi etc) fra le circa 130 ricercate.

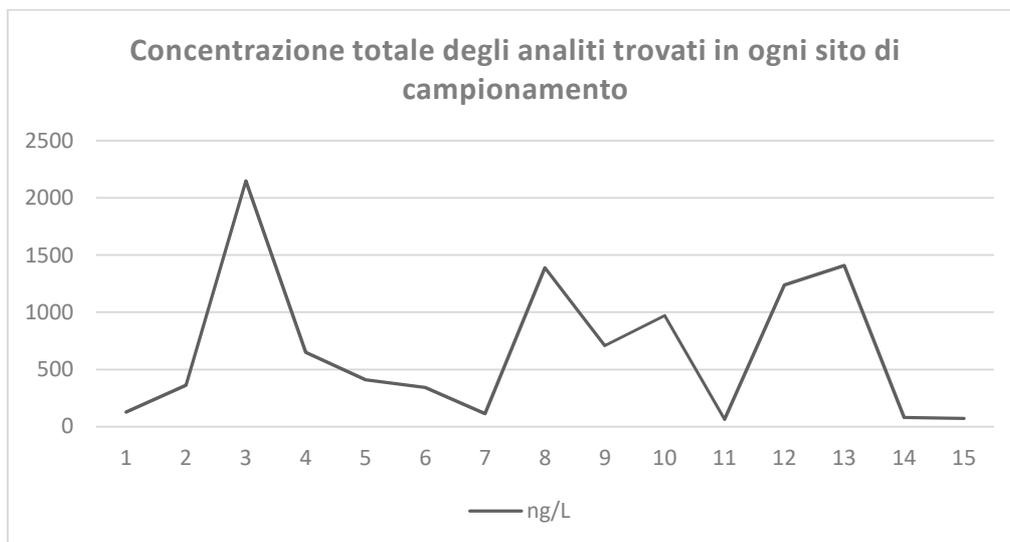


Fig.3 Grafico delle concentrazioni totali per ogni sito di campionamento

## Raccolta dei dati sperimentali e uso dei metodi *in silico*.

I dati sperimentali sono stati ricercati in diverse fonti (databases accreditati internazionalmente e in letteratura) e selezionati in base alla loro conformità con le linee guida ufficiali OECD.

Per la parte ambientale sono stati trovati dati sperimentali in acuto/cronico di alghe, dafnidi e pesci. Valori di Acceptable daily intake (ADI) e chronic/oral reference dose (RfD) sono state cercati per la valutazione della tossicità non cancerogena e quelli di slope factor (SF) per quella cancerogena. Per quei composti di cui non sono stati trovati dati sperimentali adeguati, le informazioni necessarie sono state integrate con i valori delle predizioni dei seguenti modelli QSAR:

**EPISuite:** ECOSAR v.1.11 model, per tutti e tre i livelli trofici

**T.E.S.T.:** 96h fathead minnow

48h Daphnia magna LC50

**VEGA:** Fish Acute (LC50) Toxicity model (KNN/Read-Across) (version 1.0.0)

Fathead Minnow LC50 96h (EPA) (version 1.0.7)

Daphnia Magna LC50 48h (EPA) (version 1.0.7)

Daphnia Magna LC50 48h (DEMETER) (version 1.0.4)

ECO

**VEGA:** CAESAR model

ISS model

IRFMN/Antares

IRFMN/ISSCAN-CGX

HUMAN

Inoltre, le predizioni sono state integrate in un sistema di consensus validato per aumentare l'affidabilità delle stesse.

## Sviluppo di nuovi modelli *ad hoc*

Mancando sia i dati sperimentali che gli strumenti adeguati per le predizioni, è stato necessario sviluppare due nuovi modelli QSAR per la parte umana: un nuovo metodo integrato di 5 modelli k-Nearest Neighbor (k-NN) in regressione per la predizione di RfDs (tossicità umana non cancerogena) e un nuovo modello per la predizione dei valori di Slope Factors (tossicità cancerogena).

## Valutazione del rischio ecologico

-Calcolo delle PNEC per i singoli composti secondo il procedimento descritto nel paragrafo 3.3.1.1 del Technical Guidance document (TGD) on risk assessment part II dell'ECHA.

-Calcolo di un indice di qualità per ogni composto secondo la seguente equazione:

$$EQ = \frac{\text{conc. rilevata della sostanza}}{\text{PNEC per alghe, dafnidi e pesci}}$$

-Calcolo di un indice di qualità cumulativo per ogni sito di campionamento secondo la seguente equazione:

$$EQ \text{ cum} = \sum \text{singoli EQ per ogni sito di campionamento}$$

## Valutazione del rischio umano (cancerogeno e non)

-Scenari di esposizione ipotizzati

Tre mesi estivi, nella frequenza di un giorno a settimana, per un totale quindi di 12 giorni l'anno. Le attività prese in considerazione sono state quelle natatorie e ricreative: nello specifico pesca e canottaggio. Solo per l'attività natatoria si è preso in considerazione anche l'esposizione al bambino, in un'età compresa tra i 3 e i 16 anni, mentre per la pesca e il canottaggio i calcoli sono stati fatti tenendo conto solo di un target adulto.

In ultimo si è preso in considerazione anche uno scenario espositivo estremo in cui un bambino di età compresa tra i 3 e i 16 anni bevessa tutti i giorni dell'anno per l'intero arco della sua vita 1 litro di acqua di fiume.

-Calcolo della Chronic Daily Intake (CDI) per ogni singolo composto secondo la seguente equazione:

$$CDI = C \times \frac{IR \times EF \times ED}{BW \times AT \times CF}$$

-Calcolo di un indice di qualità per la tossicità non cancerogena per ogni singolo composto secondo la seguente equazione:

$$HQ = \frac{CDI}{RfD \text{ o } ADI}$$

-Calcolo di un indice di qualità per la tossicità cancerogena per ogni singolo composto secondo la seguente equazione:

$$ILCR = CDI \times SF$$

- Calcolo dei precedenti indici di qualità cumulativi per ogni sito di campionamento secondo le seguenti equazioni:

$$HQ \text{ cum} = \sum \text{singoli } HQ \text{ per ogni sito di campionamento}$$

$$ILCR \text{ cum} = \sum \text{singoli } CR \text{ per ogni sito di campionamento}$$

**Tab.1 Valori cumulativi dei 3 indici di qualità per ogni sito di campionamento. Sono evidenziati quei valori che superano (come nel caso dell'indice di ecotossicità) o sono molto vicini ai valori soglia specifici.**

Cod.	EQ cumulativo (soglia di rischio=1)	HQ cumulativo (soglia di rischio=1)					ILCR cumulativo (soglia di rischio=10 <sup>-5</sup> )				
		Adults	Children 3-16 years	canoeing	fishing	drinking water	Adults	Children 3-16 years	canoeing	fishing	drinking water
1	0,37	1,77E-07	4,76E-07	5,12E-08	1,18E-07	3,91E-04	8,17E-11	1,19E-10	2,36E-11	5,45E-11	9,77E-08
2	2,96	6,80E-07	1,83E-06	1,97E-07	4,53E-07	1,50E-03	2,09E-10	3,05E-10	6,05E-11	1,40E-10	2,50E-07
3	53,9	1,19E-05	3,20E-05	3,45E-06	7,96E-06	2,63E-02	1,51E-08	2,19E-08	4,35E-09	1,00E-08	1,80E-05
4	1,95	6,23E-07	1,67E-06	1,80E-07	4,15E-07	1,37E-03	1,11E-10	1,61E-10	3,20E-11	7,39E-11	1,33E-07

5	1,93	5,83E-07	1,56E-06	1,68E-07	3,88E-07	1,29E-03	1,13E-10	1,64E-10	3,26E-11	7,51E-11	1,35E-07
6	2,45	1,28E-06	3,43E-06	3,69E-07	8,52E-07	2,82E-03	3,73E-09	5,42E-09	1,08E-09	2,49E-09	4,46E-06
7	0,26	1,05E-07	2,83E-07	3,04E-08	7,02E-08	2,32E-04	2,58E-10	3,75E-10	7,45E-11	1,72E-10	3,08E-07
8	109	1,79E-05	4,80E-05	5,16E-06	1,19E-05	3,94E-02	1,16E-08	1,69E-08	3,35E-09	7,74E-09	1,39E-05
9	23,1	3,63E-06	9,76E-06	1,05E-06	2,42E-06	8,02E-03	2,43E-10	3,53E-10	7,02E-11	1,62E-10	2,91E-07
10	29,7	5,13E-06	1,38E-05	1,48E-06	3,42E-06	1,13E-02	2,71E-09	3,94E-09	7,82E-10	1,80E-09	3,24E-06
11	0,25	3,68E-08	9,87E-08	1,06E-08	2,45E-08	8,12E-05	6,69E-11	9,73E-11	1,93E-11	4,46E-11	8,00E-08
12	26,5	4,36E-06	1,17E-05	1,26E-06	2,90E-06	9,62E-03	2,37E-09	3,44E-09	6,84E-10	1,58E-09	2,83E-06
13	47,7	7,40E-06	1,99E-05	2,14E-06	4,93E-06	1,63E-02	4,60E-09	6,69E-09	1,33E-09	3,07E-09	5,50E-06
14	0,29	7,67E-09	2,06E-08	2,22E-09	5,11E-09	1,69E-05	7,15E-11	1,04E-10	2,06E-11	4,76E-11	8,54E-08
15	0,27	4,12E-08	1,11E-07	1,19E-08	2,75E-08	9,09E-05	6,94E-11	1,01E-10	2,00E-11	4,63E-11	8,29E-08

### Scoring interno e indice unico IWR

Ogni indice cumulativo di tossicità (EQc, HQc and ILCRc) è stato pesato alla luce dei diversi livelli di contaminazione. A seconda del range di riferimento in cui vengono a cadere, i valori sono stati tradotti in una scala numerica continua da un metodo di scoring interno.

Ad ogni livello di score corrisponde un rischio potenziale e un giudizio sulla qualità delle acque; i diversi colori associati rendono più intuitiva la situazione determinata attraverso l'analisi e la fotografano in una "mappa di (eco)tossicità".

**Tab.2 Tabella del potenziale di valutazione del rischio e del giudizio sulla qualità delle acque ad esso legato per l'interpretazione delle "mappe (eco)tossicologiche.**

EQ e HQ	CR	Range score	Potenziale di valutazione del rischio	Qualità delle acque superficiali	colori
<0.1	<10 <sup>-6</sup>	<25	Rischio da Trascurabile a Molto Basso	Q.A.S. da Molto Buona a Buona	
0.1-1	10 <sup>-6</sup> -10 <sup>-5</sup>	25-50	Rischio da Molto Basso a Basso	Q.A.S. da Buona a Moderata	
1	10 <sup>-5</sup>	50-100	Rischio da Basso a Moderato	Q.A.S. da Moderata a Insalubre per i gruppi sensibili	
1-5	10 <sup>-5</sup> -10 <sup>-4</sup>	100-150	Rischio da Moderato a Rilevante	Q.A.S. da Insalubre per i gruppi sensibili a Insalubre	
5-10	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-3</sup>	150-200	Rischio da Rilevante a Molto Rilevante	Q.A.S. da Insalubre a Molto Insalubre	
10-100	10 <sup>-3</sup> -10 <sup>-2</sup>	200-300	Rischio da Molto Rilevante ad Alto	Q.A.S. da molto Insalubre a Cattiva	
100-1000	10 <sup>-2</sup> -10 <sup>-1</sup>	300-400	Rischio da Alto a Molto Alto	Q.A.S. da Cattiva a Molto Cattiva	
>1000	>10 <sup>-1</sup>	≥400	Rischio Pericoloso	Q.A.S. Pessima	

L'indice integrato di rischio (eco)tossicologico relativo alla qualità delle acque (IRW) è il risultato del contributo di ognuno dei precedenti indici in uguale misura per ogni scenario di esposizione ipotizzato come si vede dalla equazione seguente.

$$IRW = \frac{\sum_{i=1}^5 [(EQc \text{ score} + HQc \text{ score} + ILCRc \text{ score}) \times 100 / 24]_i}{5}$$

### Mappe (eco)tossicologiche

Di seguito vengo riportate 3 mappe (eco)tossicologiche risultanti dal nuovo metodo integrato di valutazione del rischio descritto. La fig. 4 fotografa la situazione dell'impatto dei contaminanti a livello ambientale; i diversi colori palesano quali sono i siti più critici così come fanno nella fig.5 in relazione al possibile rischio per la salute umana. La fig. 6 restituisce entrambe quelle informazioni dando una visione globale della situazione dell'area studiata.

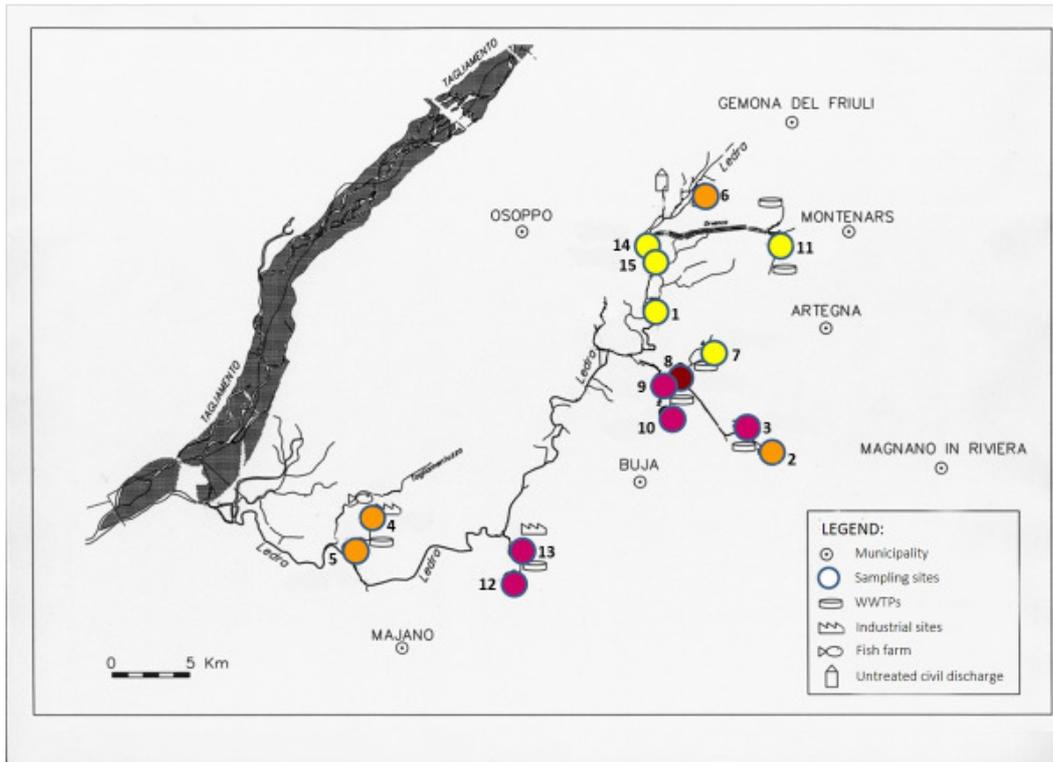


Fig.4 Mappa relativa all'impatto dei contaminanti studiati sull'ecosistema

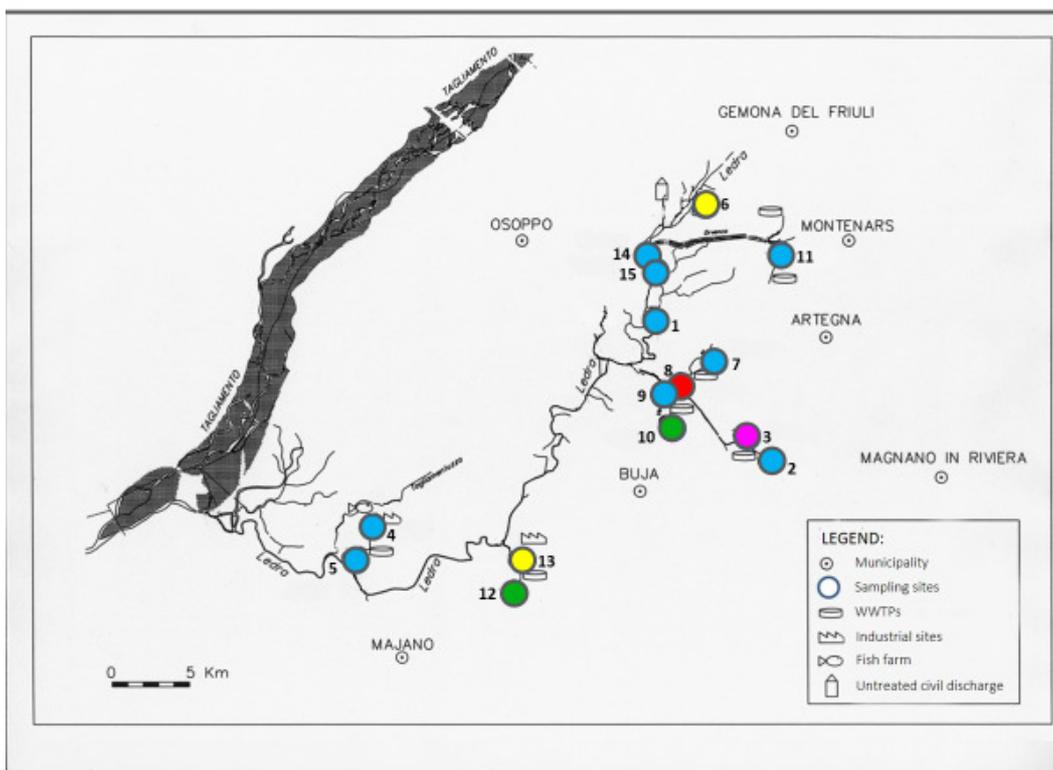


Fig.5 Mappa relativa all'impatto dei contaminanti studiati sulla popolazione umana (tossicità cancerogena e non) secondo gli scenari di esposizione ipotizzati.

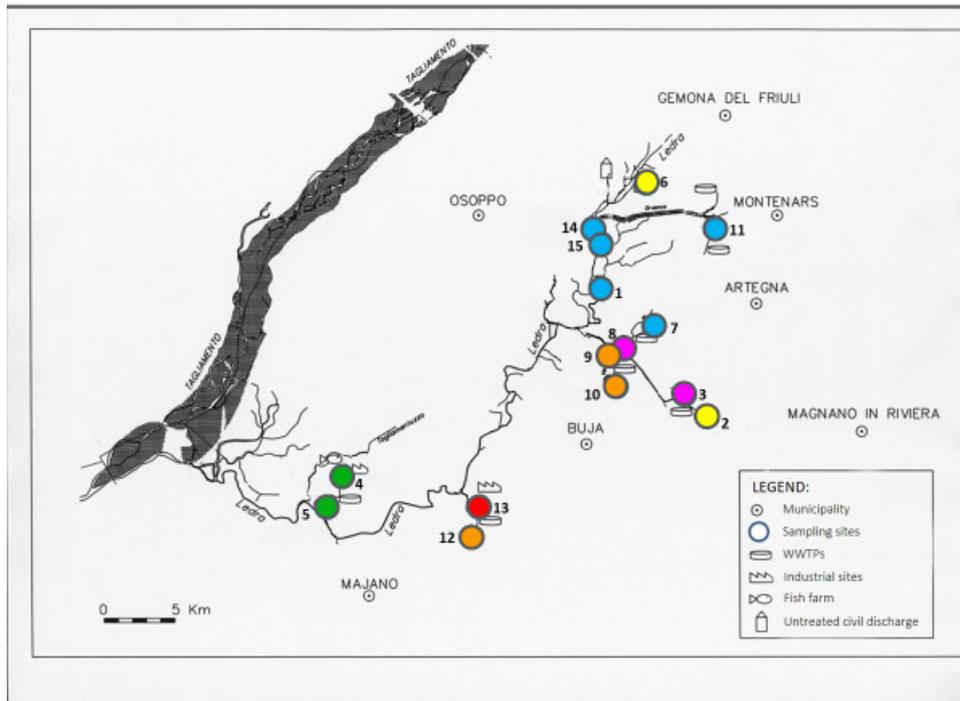


Fig.6 Mappa derivante dall' indice IWR che mette insieme le precedenti informazioni