INNOVAZIONE AL SERVIZIO DELL'AMBIENTE: IL LABORATORIO DI ARPA LOMBARDIA DI MILANO

L'ANALISI DEI CONTAMINANTI EMERGENTI

L. Colzani, C. Forni, C. Locatelli, G. Garramone

ARPA Lombardia – Dipartimento Regionale Prestazioni Analitiche

U.O. Laboratorio Milano Matrici Solide e Contaminanti Emergenti

L’analisi dei contaminanti emergenti

- Cosa sono?
- Come è organizzato il monitoraggio dei CE nelle acque superficiali a livello Europeo / Normativa
- Il monitoraggio dei CE in Italia / il ruolo di ARPA Lombardia
- Elenchi «Watch List»
- Criticità analitiche

Contaminanti Emergenti - Cosa sono?

Composti chimici generalmente non regolamentati dalla normativa relativa al monitoraggio delle acque superficiali (farmaci, pesticidi, prodotti utilizzati in ambito cosmetico e nell'industria).

D.Lgs. 172/2015 Acque superficiali

Attuazione della direttiva 2013/39/UE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque.

Stabilisce gli **Standard di Qualità Ambientale (SQA)**, per le sostanze classificate come **«pericolose prioritarie» (PP)**, conosciute per l'elevato livello di pericolosità per l'ambiente e di conseguenza per la salute umana e animale.

Contaminanti Emergenti - Cosa sono?

- Sostanze poco o non monitorate
- Assenza di metodi ufficiali per la loro analisi
- Poche informazioni relative alla loro diffusione nell'ambiente
- Dati di vendita rilevanti
- Conoscenza della loro pericolosità per l'ambiente

Decisioni UE - Watch List

- La Commissione Europea predispone un **elenco di contaminanti emergenti** da monitorare denominato **Watch List**.

- La prima **Watch List** è stata stilata dalla **Commissione Europea** nel **2015.**

- Tra il 2015 e il 2025 sono state emesse dalla UE cinque successive Watch List, l'ultima è stata pubblicata il 28 febbraio 2025.

Decisioni UE - Watch List

I CE degli elenchi Watch List devono essere monitorati:

- in **tutto il territorio europeo**
- su un **numero ristretto di stazioni significative**
- per un periodo di **almeno 4 anni**
- in determinati momenti dell'anno e con una frequenza definita
- l'elenco di controllo viene rinnovato ogni **2 - 4 anni**

Watch List 2024 – Punti di prelievo

Posizione delle stazioni di monitoraggio Watch List sul territorio italiano nono anno di monitoraggio

Watch List

- Non stabilisce uno SQA ma un **Limite di Quantificazione,** spesso **LOQ = PNEC**

PNEC = Predicted No Effects Concentration:
concentrazione al di sotto della quale non si prevedono effetti avversi nella sfera ambientale di riferimento (acqua, aria, suolo).

- Tutte le sostanze devono essere monitorate in **campioni integrali d'acqua (whole sample)**, per garantire la comparabilità dei risultati ottenuti nei diversi Stati Membri.

Watch List

- I risultati ottenuti dal monitoraggio WL vengono rielaborati a livello europeo per valutare l'inserimento dei CE nella lista delle sostanze PP.

- A livello nazionale l'Istituto per la Protezione dell'Ambiente (ISPRA) coordina i monitoraggi Watch List.

- Nel 2016 è iniziato il monitoraggio degli analiti WL, **ARPA Lombardia** e **ARPA FVG** hanno analizzato la maggior parte dei campioni prelevati sul territorio nazionale e tutt'ora supportano altre Agenzie Ambientali.

Watch List 2015 DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2015/495 DELLA COMMISSIONE del 20 marzo 2015

ESTROGENI

ANTINFIAMMATORIO

ANTI-OSSIDANTE

FILTRO SOLARE

ANTIBIOTICI
(Azitromicina, Claritromicina Eritromicina)

PESTICIDI - ERBICIDI
(Neonicotinoidi: imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidin, acetamiprid)

ALLEGATO

Elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione di cui all'articolo 8 *ter* della direttiva 2008/105/CE

Denominazione della sostanza o del gruppo di sostanze	Numero CAS (1)	Numero UE (2)	Metodi di analisi indicativi (3) (4) (5)	Limite massimo ammissibile del metodo di rilevazione (ng/l)
17-alfa-etinilestradiolo (EE2)	57-63-6	200-342-2	SPE — LC-MS-MS su grandi volumi	0,035
17-beta-estradiolo (E 2), estrone (e 1)	50-28-2, 53-16-7	200-023-8	SPE — LC-MS-MS	0,4
diclofenac	15307-86-5	239-348-5	SPE — LC-MS-MS	10
2,6-di-terz-butil-4-metilfenolo	128-37-0	204-881-4	SPE — GC-MS	3 160
4-metossicinnamato di 2-etilesile	5466-77-3	226-775-7	SPE — LC-MS-MS oppure GC-MS	6 000
Antibiotici macrolidi (6)			SPE — LC-MS-MS	90
Metiocarb	2032-65-7	217-991-2	SPE — LC-MS-MS oppure GC-MS	10
Neonicotinoidi (7)			SPE — LC-MS-MS	9
Ossadiazone	19666-30-9	243-215-7	LLE/SPE — GC-MS	88
Tri-allato	2303-17-5	218-962-7	LLE/SPE — GC-MS oppure LC-MS-MS	670

ESTROGENI

ESTROGENI $\Longrightarrow$ **interferenti endocrini** (IE), sospettati di alterare la funzione del sistema endocrino e causare effetti avversi sugli organismi.

Le principali fonti degli estrogeni sono gli esseri umani e gli animali

17-α-Etinilestradiolo (EE2): estrogeno di sintesi, utilizzato come anticoncezionale in combinazione con progestinici.

17-β-Estradiolo (E2): è l'estrogeno naturale maggiormente prodotto

Estrone (E1): è un estrogeno naturale o di sintesi, è il secondo ormone per attività (dopo l'estradiolo)

LOQ EE2 = 0,035 ng/L.
Un granello di sale 0,1 mg in una piscina olimpionica (2500000 L)

Analisi Estrogeni

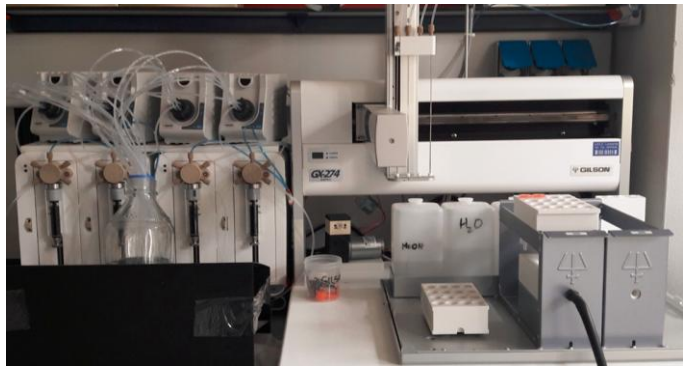
La sfida analitica della determinazione degli ESTROGENI

La principale difficoltà per la determinazione degli ormoni è il raggiungimento del **LOQ = 0,035 ng/L** per **EE2**.

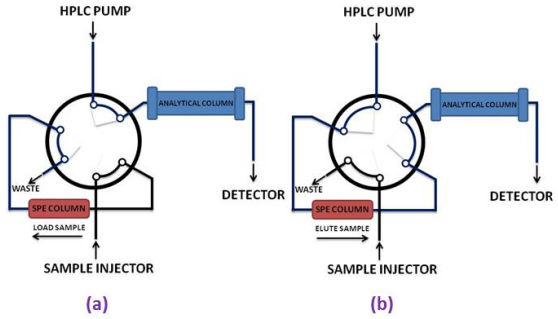
Per evitare l'estrazione di un elevato volume di campione ⟹

Doppia estrazione: SPE offline + SPE online

1 litro di campione



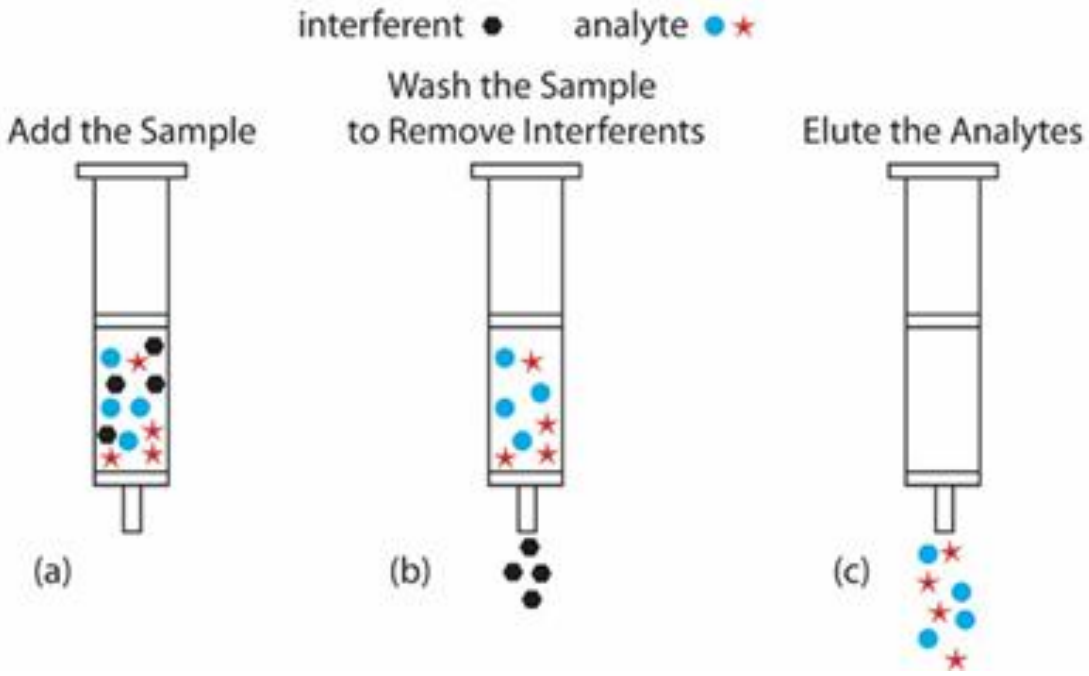
I estrazione: SPE offline



II estrazione: SPE online

Analisi Estrogeni

- Campione acidificato a pH=2 con HCl (stabilizzazione)
- SPE stirene/divinilbenzene (200mg/6mL)
- Volume campione estratto: 1 L
- Eluizione con Metanolo
- Riduzione a piccolo volume sotto flusso di azoto
- Ricostituzione con acqua
- Iniezione di 5 mL dell'estratto nel sistema SPE online - UHPLC - MS/MS

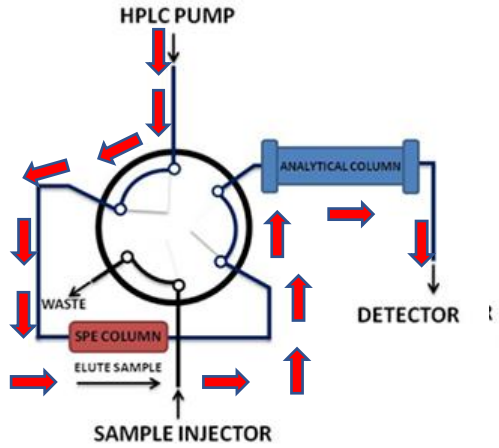


Analisi Estrogeni

On-line SPE

- Colonna di concentrazione:
  Strata C18-E 20 µm, 20x2 mm
- Volume di iniezione: 5mL
- Eluente per la fase di carico: Acqua
- Eluenti per la fase di lavaggio:

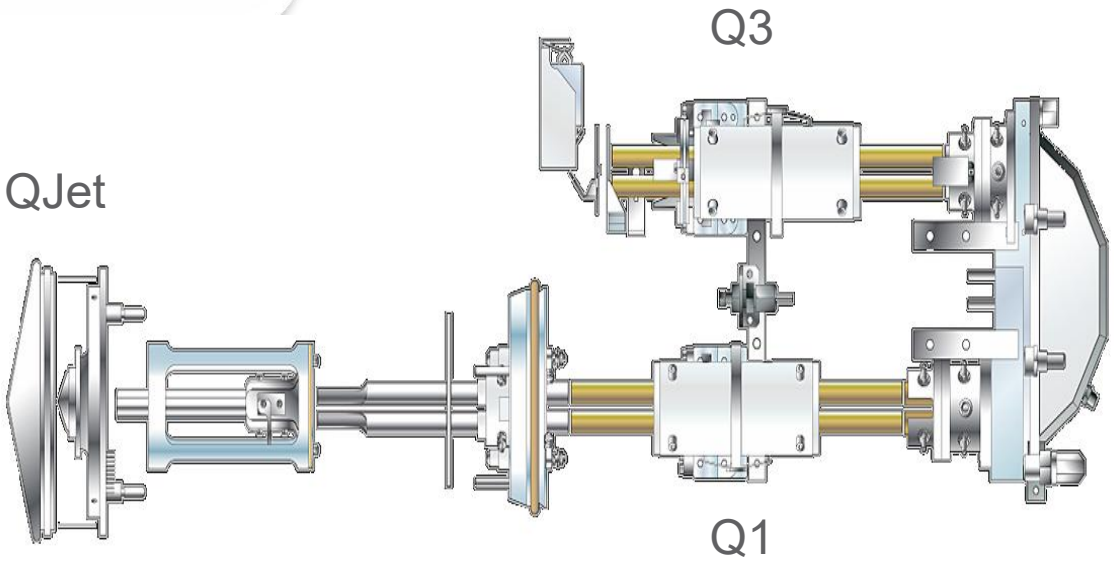
Acetone : Isopropanolo: Acetonitrile (1:1:1)



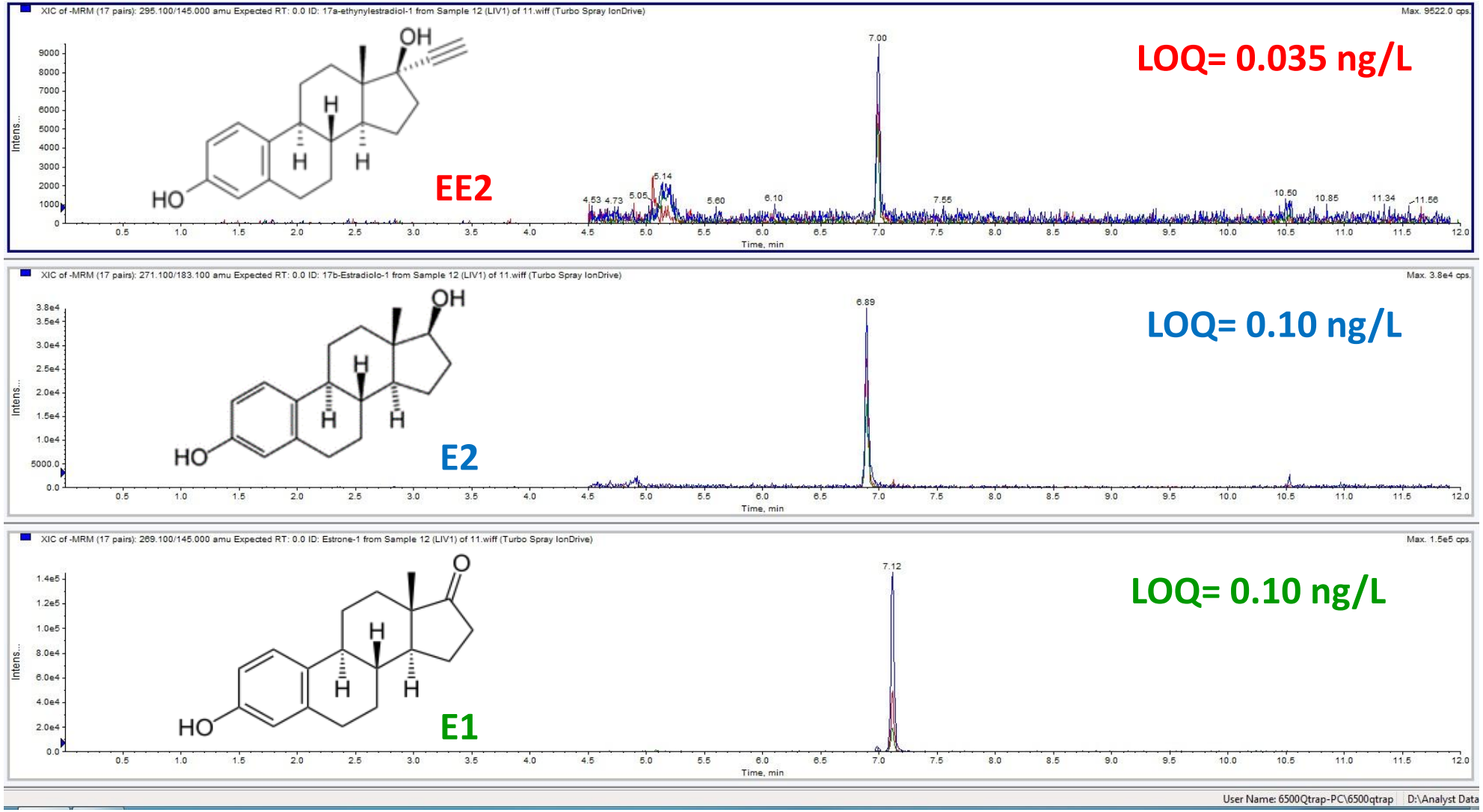
MS/MS

Una configurazione tipica è la seguente:

- Q1: utilizzato come filtro per uno specifico valore di *m/z* (ione precursore)
- Q2: utilizzato come cella di collisione per frammentare lo ione precursore e generare gli ioni prodotto
- Q3: impostato su uno specifico valore di *m/z* (SRM o MRM) o in modalità di scansione (scansione degli ioni prodotto)



Estrogeni


XIC of -MRM (17 pairs): 295.100/145.000 amu Expected RT: 0.0 ID: 17a-ethynylestradiol-1 from Sample 12 (LIV1) of 11.wiff (Turbo Spray IonDrive)
Max. 9522.0 cps.
OH
HO
EE2
LOQ= 0.035 ng/L
7.00
5.14
4.53
4.73
5.05
5.60
6.10
7.55
10.50
10.85
11.34
11.56
Intens...
Time, min
XIC of -MRM (17 pairs): 271.100/183.100 amu Expected RT: 0.0 ID: 17b-Estradiolo-1 from Sample 12 (LIV1) of 11.wiff (Turbo Spray IonDrive)
Max. 3.8e4 cps.
OH
HO
E2
LOQ= 0.10 ng/L
6.89
Intens...
Time, min
XIC of -MRM (17 pairs): 269.100/145.000 amu Expected RT: 0.0 ID: Estrone-1 from Sample 12 (LIV1) of 11.wiff (Turbo Spray IonDrive)
Max. 1.5e5 cps.
O
HO
E1
LOQ= 0.10 ng/L
7.12
Intens...
Time, min
User Name: 6500Qtrap-PC\6500qtrap
D:\Analyst Data

MS/MS

L’analisi richiede l’utilizzo di **standard interni marcati** (addizionati prima dell’estrazione)

Gli analiti vengono identificati:

- per confronto dei **tempi di ritenzione** tra standard e campioni
- attraverso le **transizioni ione precursore / ione prodotto** (scostamento massimo accettabile Ion Ratio standard e campioni = 25%)

Esiti monitoraggio Watch-List 2016-2017-2018 in Italia

SOSTANZA	N. DI RITROVAMENTI => LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI => LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI => LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)
	2016		2017		2018	
17-alfa-etinilestradiolo (EE2)	0/35	-	0/31	-	1/23	2/57
17-beta-estradiolo (E2)	11/35	0,10-1,02	6/31	0,1 - 0,58	6/24	0,1 - 1,3
Estrone (E1) Metabolita di E2	28/35	0,10 - 4	16/31	0,1 - 3,23	18/24	0,1 - 5,2
Diclofenac	22/35	5-683	16/28	10 - 890	14/22	11 - 626
2,6 - di-terz-butil-4-metilfenolo	0/37	-	0/25	-	0/23	-
4-metossicinnamato di 2-etilesile	1/38	40	0/27	-	0/24	-
eritromicina	1/36	20	0/28		0/21	-
claritromicina	3/36	54-200	5/28	50 - 248	0/21	-
azitromicina	4/36	20 - 459	6/28	14 - 264	0/21	-
metiocarb	0/36	-	0/27	-	0/33	-
Imidacloprid	7/37	13 - 338	9/27	10 - 170	13/30	7,2 - 140
tiacloprid	0/34	-	1/27	10	0/24	-
tiatomexan	1/34	10	1/25	10	1/23	30
clotianidin	0/36	-	0/27	-	0/23	-
acetamiprid	1/34	32	3/26	0,2 - 30	0/24	-
ossadiazione	0/55	-	2/27	20 - 28	3/39	26 - 54
Tri-allato	0/37	-	0/27	-	0/26	-
TOTALI	79/626 (13%)		65 su 470 (14%)		56/425 (13%)	

Elaborazione ISPRA

Watch List 2018 DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2018/840 DELLA COMMISSIONE del 5 GIUGNO 2018

ALLEGATO

Elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione di cui all'articolo 8 *ter* della direttiva 2008/105/CE

Denominazione della sostanza o del gruppo di sostanze	Numero CAS (1)	Numero EU (2)	Metodi di analisi indicativi (3) (4)	Limite massimo ammissibile di rilevazione del metodo (ng/l)
17-alfa-etinilestradiolo (EE2)	57-63-6	200-342-2	SPE — LC-MS-MS su grandi volumi	0,035
17-beta-estradiolo (E2), estrone (E1)	50-28-2, 53-16-7	200-023-8	SPE - LC-MS-MS	0,4
Antibiotici macrolidi (5)			SPE - LC-MS-MS	19
Metiocarb	2032-65-7	217-991-2	SPE - LC-MS-MS oppure GC-MS	2
Neonicotinoidi (6)			SPE - LC-MS-MS	8,3
Metaflumizone	139968-49-3	604-167-6	LLE - LC-MS-MS oppure SPE – LC-MS-MS	65
Amoxicillina	26787-78-0	248-003-8	SPE - LC-MS-MS	78
Ciprofloxacina	85721-33-1	617-751-0	SPE - LC-MS-MS	89

INSETTICIDA

ANTIBIOTICI

Rimossi:

Diclofenac

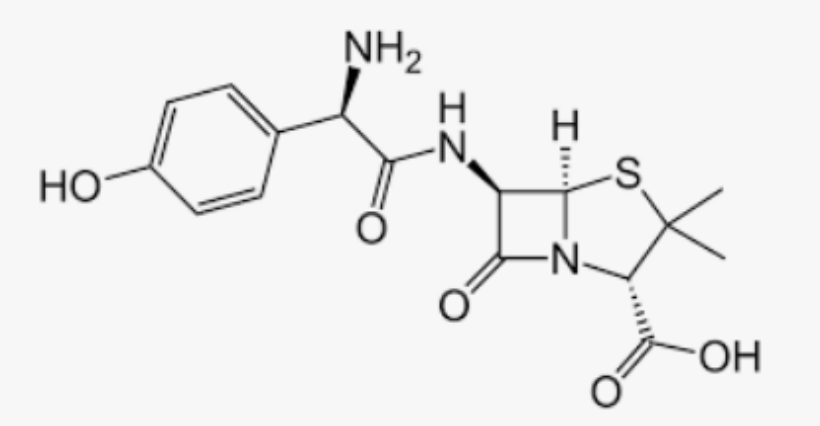
Oxadiazon

Triallato

BHT

Metossi-cinnammato

Amoxicillina



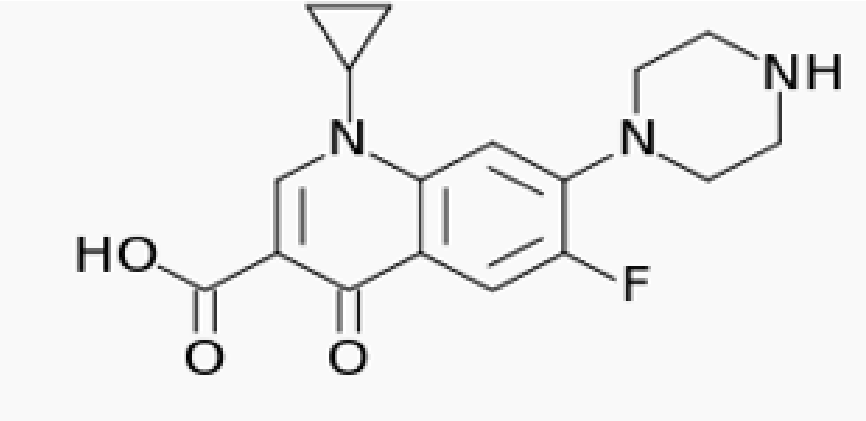
LOQ RICHIESTO: 78 ng/L

E’ un antibiotico ad ampio spettro largamente usato per il trattamento di malattie sia umane che animali e appartiene al gruppo delle penicilline (antibiotici β-lattamici), viene escreto immodificato.

In Italia nel 2001 ne sono state vendute 209 tonnellate.

L’Amoxicillina è molto solubile in acqua (solubilità = 3430 mg/L).

Ciprofloxacina



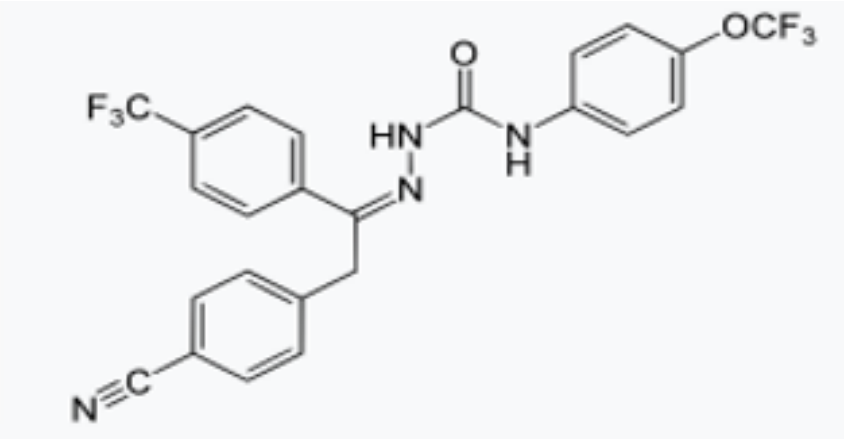
LOQ RICHIESTO: 89 ng/L

E’ un antibiotico sintetico del gruppo dei fluorochinoloni ed uno degli antibiotici più largamente utilizzati al mondo.

Nel 2016, in Italia, solo per uso veterinario ne sono state vendute 9.592 tonnellate.

E’ solubile in acqua (solubilità = 30 mg/L), ma poco stabile a pH acidi.
(Braschi, et al., 2013; Moarefian et al., 2014)

Metaflumizone



E’ un <u>insetticida ad ampio spettro</u>, utilizzato nella difesa delle colture orticole.

Vendita media nazionale (2009-2012) = 4,5 tonnellate/anno

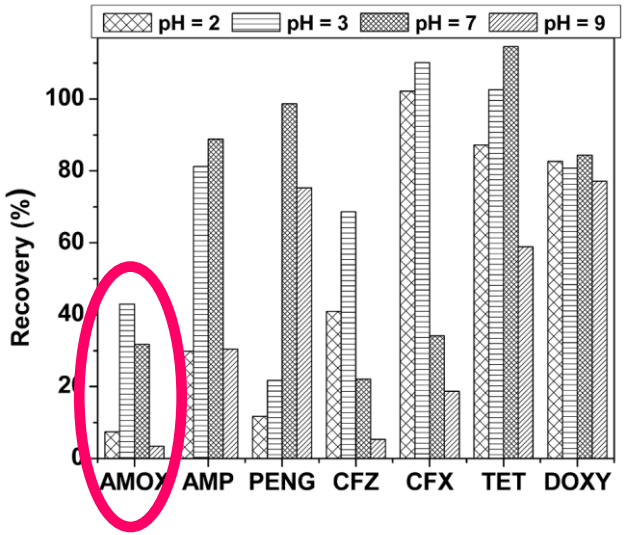
LOQ RICHIESTO: 65 ng/L

Ha una bassa solubilità in acqua (0.0018 mg/L), tende a precipitare dalle soluzioni acquose.

Stabilizzazione per aggiunta di solvente (20% ACN / MeOH)

Amoxicillina

A causa delle differenti proprietà chimico-fisiche delle sostanze, l'uso di un singolo metodo di estrazione non è possible. I recuperi riportati in letteratura per Amoxicillina non raggiungono valori soddisfacenti.



Cent. Eur. J. Chem. • 11(8) • 2013 • 1343-1351

SPE recovery for studied pharmaceuticals (concentration, 200 ng L^{-1})

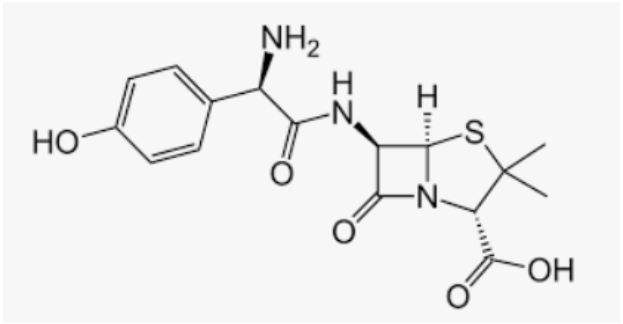
Compound	Recovery (%) ($n = 3$)				Literature recovery (%)
	HQ water		BB water		Mineral/tap/surface water
	Absolute	Relative[a]	Absolute	Relative[a]	Absolute
5-Aminosalicylic acid	22.7 ± 1.0	21.9 ± 1.5[l]	5.2 ± 0.3	7.3 ± 0.4[l]	–
Metronidazole	35.3 ± 1.4	34.0 ± 2.2[l]	34.0 ± 1.0	47.7 ± 2.5[l]	33–37[b(c)]
Paracetamol	8.5 ± 0.3	8.2 ± 0.8[l]	8.7 ± 0.1	12.2 ± 0.7[l]	10–29[c]; 62–85[d]; 61[e(a)]; 75[e(b)]; 60–71[f]
Amoxicillin	53.1 ± 1.6	51.9 ± 2.4[l]	40.6 ± 8.5	57 ± 10.2[l]	36[b(c)]
Ranitidine	63.4 ± 2.2	62.1 ± 1.7[l]	44.3 ± 3.3	62.2 ± 6.3[l]	27–54[d]; 51–94[f]; 95[g]
Salbutamol	71.5 ± 0.5	69.3 ± 2.8[l]	88.2 ± 1.9	119.2 ± 2.9[l]	76[g]; 66–80[b(a)]
Atenolol	75.3 ± 2.2	73.5 ± 0.9[l]	90.0 ± 3.2	119.6 ± 1.5[l]	87–96[f]; 106[g]; 67–86[b(a)]
Sulfapyridine	77.8 ± 1.2	76.6 ± 2.3[l]	68.8 ± 1.9	96.7 ± 5.9[l]	–
Cimetidine	53.6 ± 2.1	51.8 ± 1.8[l]	64.8 ± 5.6	91.1 ± 3.4[l]	21–52[d]
Codeine	88.3 ± 2.4	86.9 ± 2.9[l]	75.1 ± 5.7	101.7 ± 3.4[l]	–
Gabapentin	61.6 ± 2.9	75.5 ± 1.1[l]	85.9 ± 2.9	113.8 ± 3.1[l]	–
Amphetamine	107.4 ± 4.9	105.6 ± 1.3[l]	90.5 ± 1.2	121.4 ± 3.7[l]	–
Trimethoprim	80.5 ± 1.7	76.7 ± 3.8[l]	83.7 ± 5.6	107.8 ± 5.4[l]	28–66[c]; 71–124[d]; 39[e(a)]; 123[e(b)]; 93–96[f]; 50–55[b(c)]
Benzoylecgonine	95.9 ± 3.3	90.6 ± 2.7[l]	131.2 ± 2.8	175.9 ± 7.3[l]	–
Ciprofloxacin	82.5 ± 1.1	79.9 ± 2.1[l]	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.4[l]	107–112[c]; 32[g];

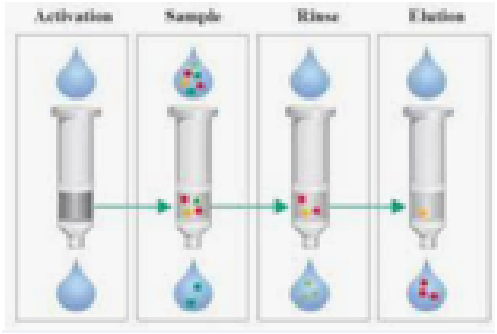
[a] Recovery relative to surrogate/internal standard: [1]phenacetin-ethoxy-1-^{13}C, [2]Caffeine-d9 (1,3,7-trimethyl-d9).
[b] (a) Varian Bond Elut, 200 mg, (b) C18, 1 g, (c) Isolute ENV+, 100 mg; tap and surface water [44].
[c] Oasis HLB, 500 mg; surface water [26].
[d] Oasis HLB, 500 mg [24].
[e] (a) Varian Bond Elut C_{18}, (b) Phenomenex Strata X, 200 mg; tap water [46].
[f] Oasis, HLB, 60 mg; surface water [27].
[g] (a) Oasis MCX, 60 mg, mineral water; (b) Lichrolut EN, 200 mg; mineral water [25].
[h] Oasis, HLB, 60 mg; surface water [43].
[i] (a) HLB, (b) Bond Elute C8, (c) DSC-18; surface water [47].

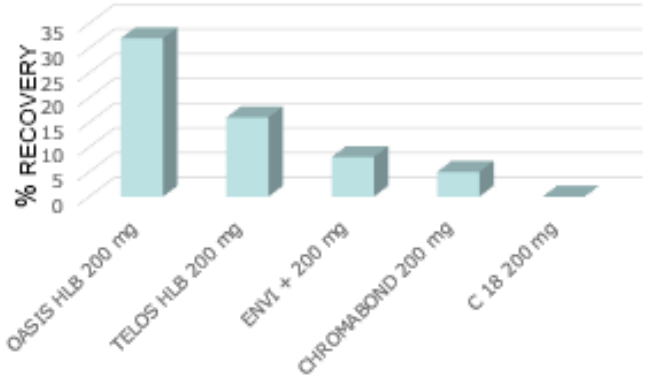
B. Kasprzyk-Hordern et al. J. Chromatogr. A 1161 (2007) 132–145

Amoxicillina

E’ solubile in acqua e scarsamente trattenuta dalle comuni fasi stazionarie. I test condotti mediante SPE offline (Divinylbenzene / Vinylpyrrolidone, Styrene / Divinylbenzene, C18) non hanno dato esiti soddisfacenti.

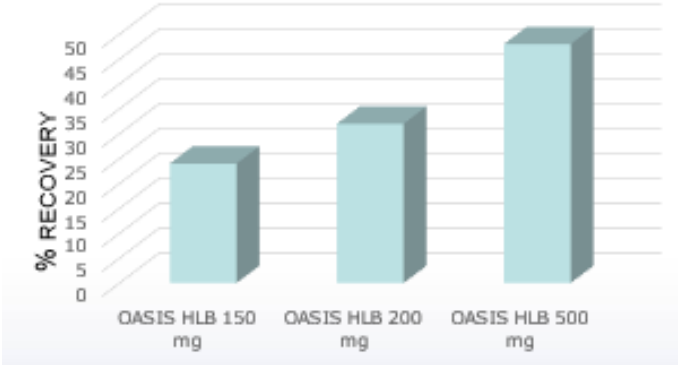






Amoxicillina log K_{ow} 0,87

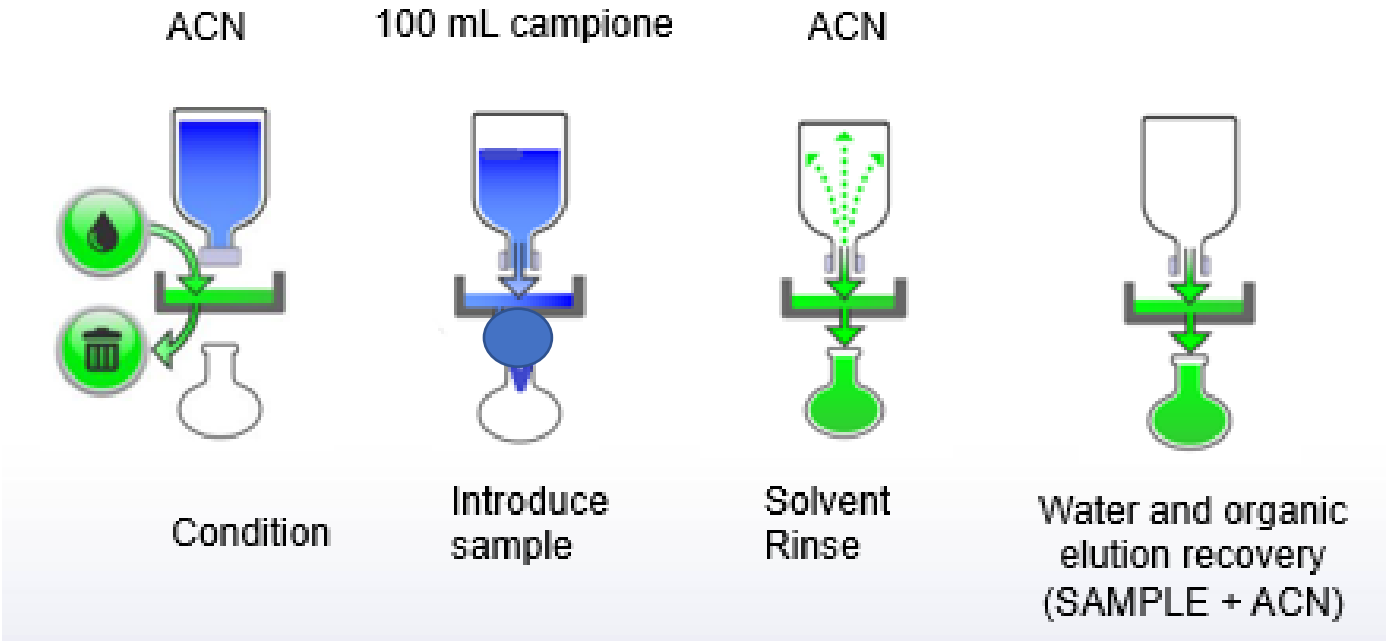
Come effettuare l’analisi sull’intero campione ottenendo recuperi accettabili



Approccio innovativo

Analisi sull'intero campione (whole sample).
Estrazione del campione acidificato (acido acetico)

Uso non convenzionale dell'autoestrattore (SPE Empore-Disk)



Analiti riscontrati 2019

SOSTANZA	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)
17-alfa-etinilestradiolo (EE2)	4/22	0.002-0,245
17-beta-estradiolo (E2)	9/24	0,1-2,66
Estrone (E1)	18/24	0,16-7,98
Eritromicina	4/24	6-38
Claritromicina	14/24	5-443,5
Azitromicina	9/24	5-489,7
Metiocarb	3/24	2-3
Amoxicillina	3/22	17-88
Ciprofloxacina	5/23	24,5-206
Imidacloprid	8/22	5-178
Tiacloprid	3/24	1-29
Tiatomexan	2/24	1-5
Clotianidin	2/24	1-5
Acetamiprid	5/24	5-115
Metaflumixone	1/24	5

Elaborazione ISPRA

Analiti riscontrati 2020

SOSTANZA	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)
17-alfa-etinilestradiolo (EE2)	2/ 25	0,03-0,06
17-beta-estradiolo (E2)	2/ 25	0,44- 0,5
Estrone (E1)	14/ 25	0,4- 3,25
Eritromicina	1/ 25	7
Claritromicina	3/ 25	18- 145
Azitromicina	5 / 25	24,6- 221
Metiocarb	<LOQ	-
Amoxicillina	2/ 25	140- 310
Ciprofloxacina	2/ 25	218- 1663
Imidacloprid	15/ 25	7- 769
Tiacloprid	1/ 25	10
Tiatomexan	<LOQ	-
Clotianidin	<LOQ	-
Acetamiprid	2/ 25	17- 20
Metaflumixone	<LOQ	-

Elaborazione ISPRA

Watch List 2020 DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2020/1161 DELLA COMMISSIONE del 4 agosto 2020

ALLEGATO

Elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione di cui all'articolo 8 *ter* della direttiva 2008/105/CE

Denominazione della sostanza o del gruppo di sostanze	Numero CAS (1)	Numero EU (2)	Metodi di analisi indicativi (3) (4)	Limite massimo ammissibile di rilevabilità del metodo (ng/l)
Metaflumizone	139968-49-3	604-167-6	LLE-LC-MS-MS oppure SPE-LC-MS-MS	65
Amoxicillina	26787-78-0	248-003-8	SPE-LC-MS-MS	78
Ciprofloxacina	85721-33-1	617-751-0	SPE-LC-MS-MS	89
Sulfametossazolo (5)	723-46-6	211-963-3	SPE-LC-MS-MS	100
Trimetoprim (5)	738-70-5	212-006-2	SPE-LC-MS-MS	100
Venlafaxina e O-desmetilvenlafaxina (6)	93413-69-5 93413-62-8	618-944-2 700-516-2	SPE-LC-MS-MS	6
Composti azolici (7)			SPE-LC-MS-MS	
Clotrimazolo	23593-75-1	245-764-8		20
Fluconazolo	86386-73-4	627-806-0		250
Imazalil	35554-44-0	252-615-0		800
Ipconazolo	125225-28-7	603-038-1		44
Metconazolo	125116-23-6	603-031-3		29
Miconazolo	22916-47-8	245-324-5		200
Penconazolo	66246-88-6	266-275-6		1 700
Procloraz	67747-09-5	266-994-5		161
Tebuconazolo	107534-96-3	403-640-2		240
Tetraconazolo	112281-77-3	407-760-6		1 900
Dimossistrobina	149961-52-4	604-712-8	SPE-LC-MS-MS	32
Famoxadone	131807-57-3	603-520-1	SPE-LC-MS-MS	8,5

INSETTICIDA

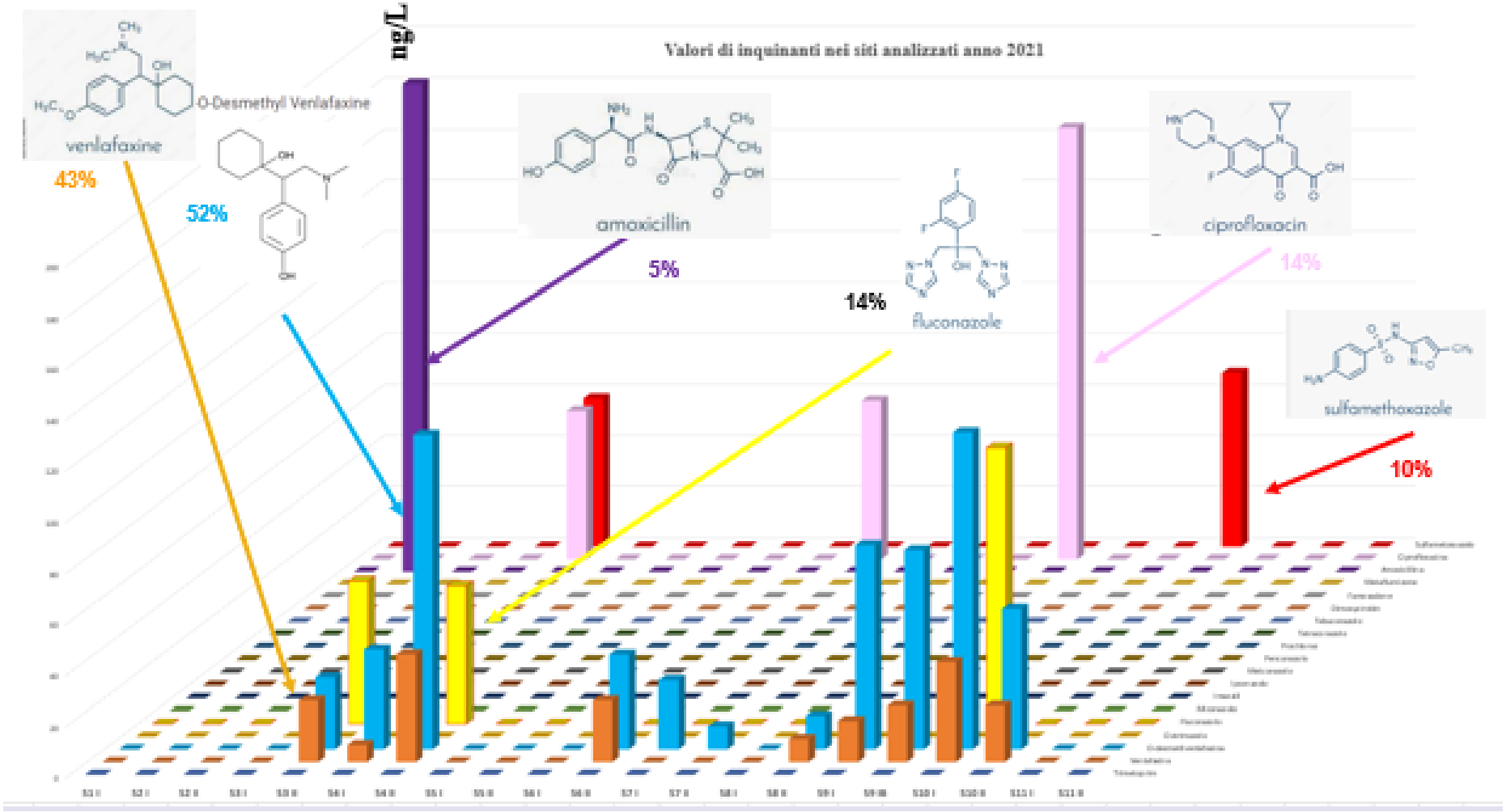
ANTIBIOTICI

ANTIDEPRESSIVO E METABOLITA

PESTICIDI

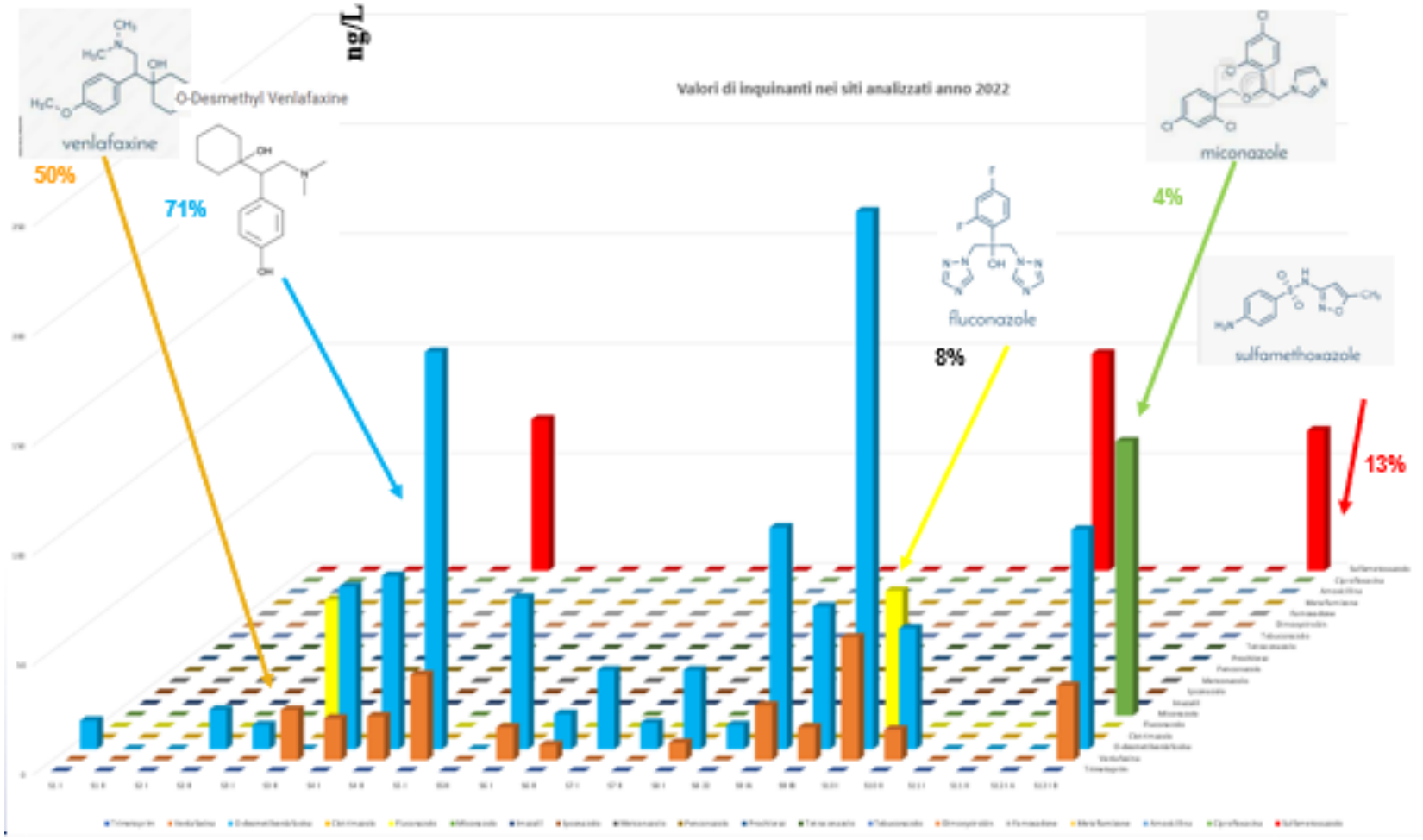
Non si evidenziano criticità particolari per l'analisi dei nuovi composti

Analiti riscontrati 2021



Analiti riscontrati 2022

Analiti riscontrati



Watch List 2022

DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2022/1307 DELLA COMMISSIONE del 22 luglio 2022

che istituisce un elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione nel settore della politica delle acque in attuazione della direttiva 2008/105/CE del Parlamento europeo e del Consiglio

Denominazione della sostanza o del gruppo di sostanze	Numero CAS (1)	Numero EU (2)	Metodi di analisi indicativi (3) (4)	Limite massimo ammissibile di rilevazione o quantificazione del metodo (ng/l)
Sulfametossazolo (5)	723-46-6	211-963-3	SPE-LC-MS-MS	100 (11)
Trimetoprim (5)	738-70-5	212-006-2	SPE-LC-MS-MS	100 (11)
Venlafaxina e O-desmetilvenlafaxina (6)	93413-69-5 93413-62-8	618-944-2 700-516-2	SPE-LC-MS-MS	6 (11)
Composti azolici (7)			SPE-LC-MS-MS	
Clotrimazolo	23593-75-1	245-764-8		20 (11)
Fluconazolo	86386-73-4	627-806-0		250 (11)
Imazalil	35554-44-0	252-615-0		800 (11)
Ipconazolo	125225-28-7	603-038-1		44 (11)
Metconazolo	125116-23-6	603-031-3		29 (11)
Miconazolo	22916-47-8	245-324-5		200 (11)
Penconazolo	66246-88-6	266-275-6		1 700 (11)
Procloraz	67747-09-5	266-994-5		161 (11)
Tebuconazolo	107534-96-3	403-640-2		240 (11)
Tetraconazolo	112281-77-3	407-760-6		1 900 (11)
Dimossistrobina Azossistrobina (8)	149961-52-4 131860-33-8	604-712-8 603-524-3	SPE-LC-MS-MS	32 (11) 200 (12)
Famoxadone	131807-57-3	603-520-1	SPE-LC-MS-MS	8,5 (11)
Diflufenican	83164-33-4	617-446-2	SPE-LC-MS-MS	10 (12)
Fipronil	120068-37-3	424-610-5	SPE-HPLC-MS-MS	0,77 (12)
Clindamicina	18323-44-9	242-209-1	SPE-LC-MS-MS	44 (12)
Ofloxacina	82419-36-1	680-263-1	SPE-UPLC-MS-MS	26 (12)
Metformina e guanilurea (9)	657-24-9 141-83-3	211-517-8 205-504-6	SPE-LC-MS-MS	156 000 (12) 100 000 (12)
Agenti di protezione solare (10)				
Butil metossidibenzoilmetano	70356-09-1	274-581-6	SPE-LC-MS-MS/ESI	3 000 (12)
Octocrilene	6197-30-4	228-250-8		266 (12)
Benzofenone-3	131-57-7	205-031-5		670 (12)

Watch List 2022: nuovi analiti

PESTICIDI

ANTIBIOTICI

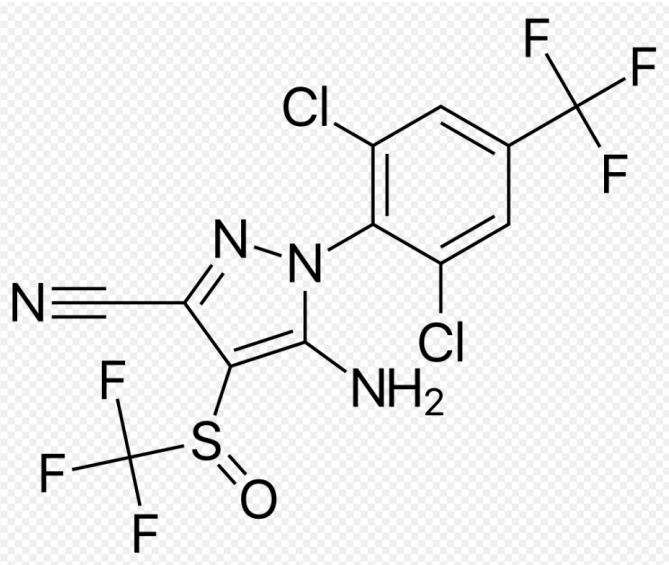
FARMACO ANTIDIABETE e METABOLITA

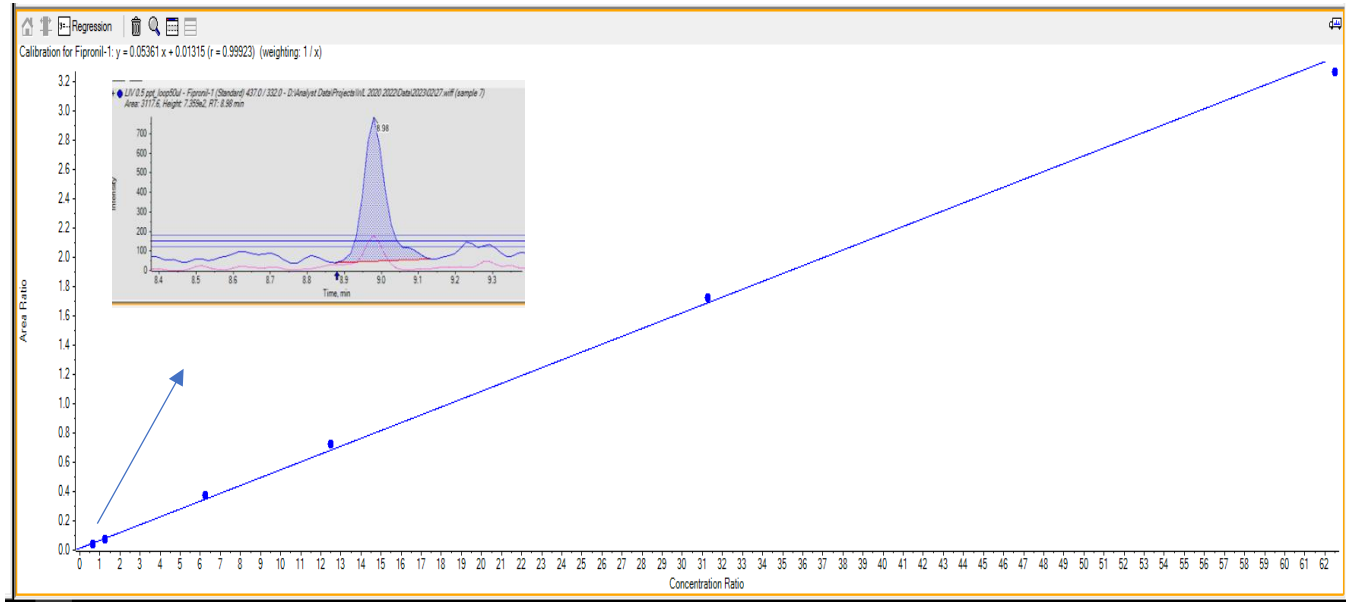
FILTRI SOLARI

Dimossistrobina Azossistrobina [8]	149961-52-4 131860-33-8	604-712-8 603-524-3	SPE-LC-MS-MS	32 [11] 200 [12]
Famoxadone	131807-57-3	603-520-1	SPE-LC-MS-MS	8,5 [11]
Diflufenican	83164-33-4	617-446-2	SPE-LC-MS-MS	10 [12]
Fipronil	120068-37-3	424-610-5	SPE-HPLC-MS-MS	0,77 [12]
Clindamicina	18323-44-9	242-209-1	SPE-LC-MS-MS	44 [12]
Ofloxacina	82419-36-1	680-263-1	SPE-UPLC-MS-MS	26 [12]
Metformina e guanilurea [9]	657-24-9 141-83-3	211-517-8 205-504-6	SPE-LC-MS-MS	156 000 [12] 100 000 [12]
Agenti di protezione solare [10]				
Butil metossidibenzoilmetano	70356-09-1	274-581-6	SPE-LC-MS-MS/ESI	3 000 [12]
Octocrilene	6197-30-4	228-250-8		266 [12]
Benzofenone-3	131-57-7	205-031-5		670 [12]

Fipronil

Insetticida ad ampio spettro utilizzato contro i parassiti per cani e gatti



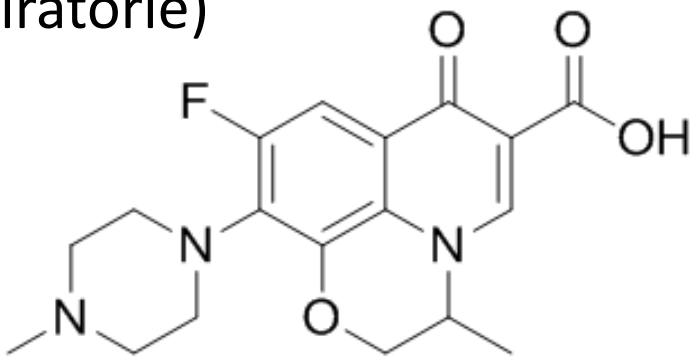


LOQ RICHIESTO: 0.77 ng/L

La molecola risponde bene, linearità nel range 0,5 – 50 ng/L

Ofloxacina

E’ un fluorochinolone ad attività antibatterica (utiizzato nelle infezione di vie urinarie e respiratorie)



LOQ RICHIESTO: 26 ng/L

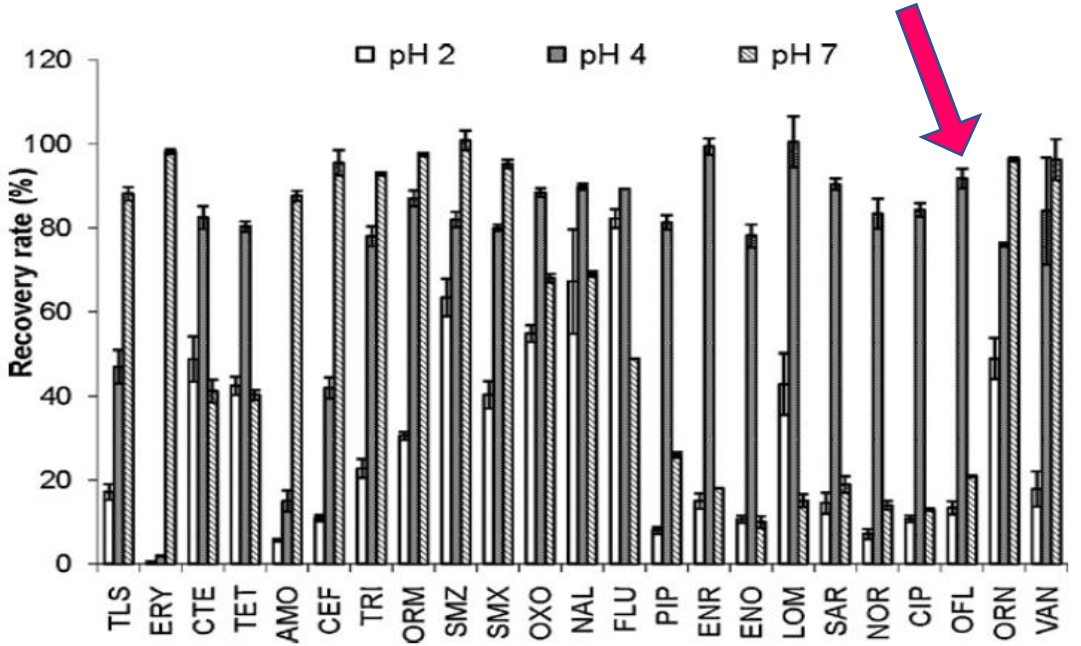
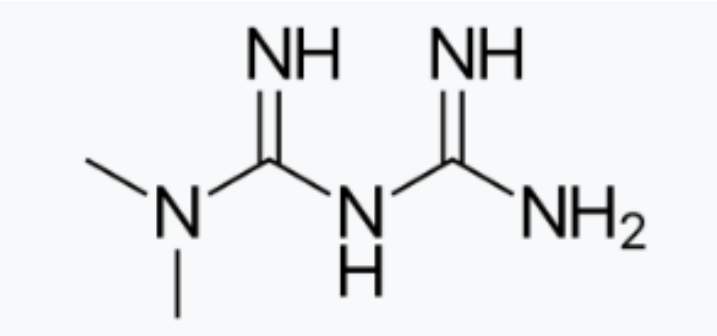


Fig. 2. Effect of sample pH on antibiotic recovery rates (C_{18} cartridge, UP-water spiked at 200 ng L^{-1}, triplicate analysis).

Recuperi e risposta dell’analita migliorano a pH=4 (come per Amoxicillina).

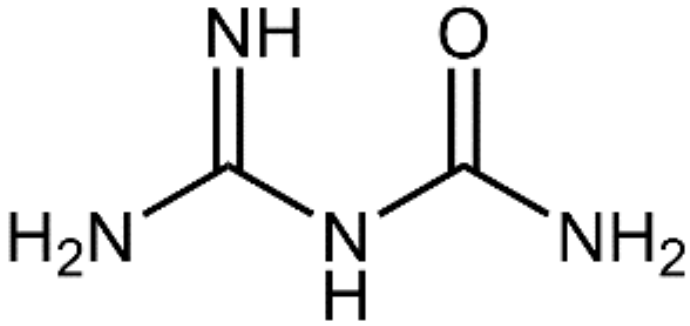
Analisi effettuata su aliquota acidificata con acido acetico.

Metformina e Guanilurea



Metformina

LOQ richiesto: 156000 ng/L

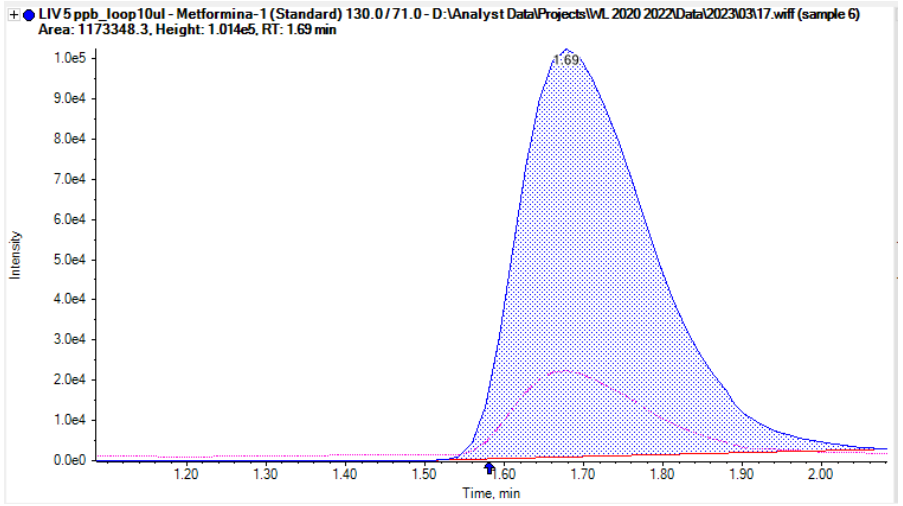


Guanilurea

LOQ richiesto: 100000 ng/L

Metformina, farmaco usato per la cura del diabete, e il suo metabolita Guanilurea sono molecole molto solubili in acqua. L'analisi è condotta per iniezione diretta del campione. LOQ elevati e buona risposta delle molecole, hanno permesso di adottare un loop da 10 uL , ottenendo così un picco affilato.

Metformina e Guanilurea



METFORMINA

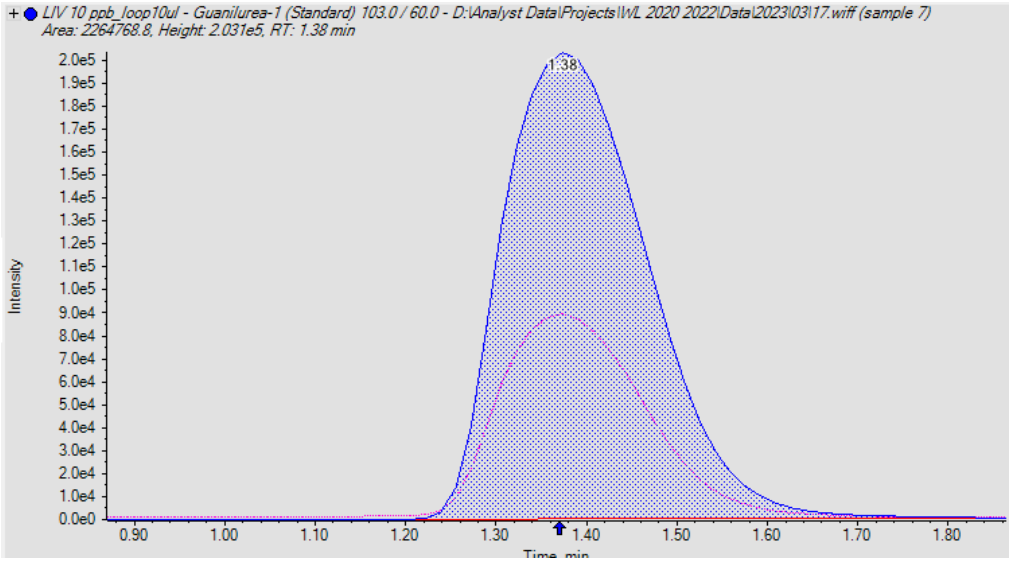
LOQ richiesto: 156000 ng/L

LOQ adottato: 5000 ng/L

GUANILUREA

LOQ richiesto: 100000 ng/L

LOQ adottato: 5000 ng/L



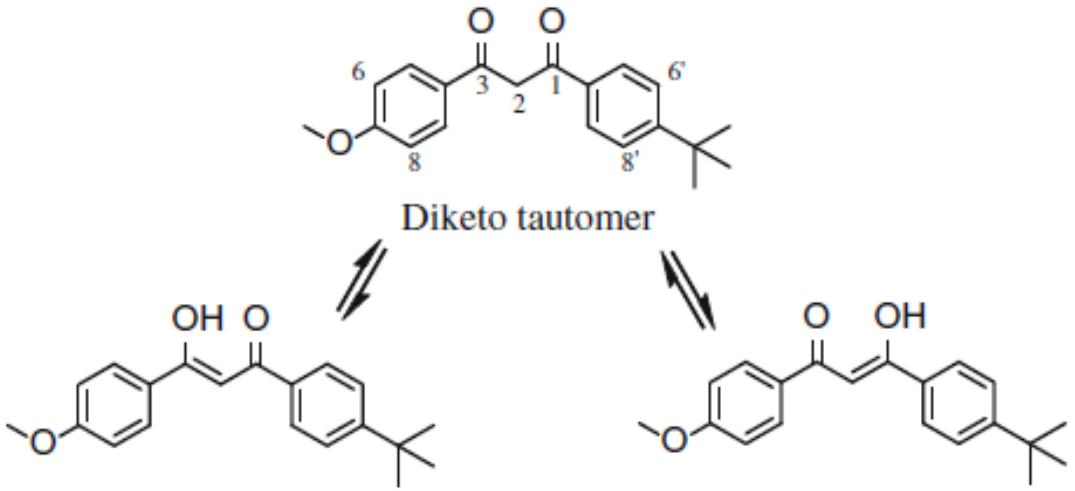
Agenti di protezione solari

AVOBENZONE

(Butil metossidibenzoilmetano)

tra i filtri UV più noti al mondo, è in grado di assorbire la luce ultravioletta

LOQ richiesto: 3000 ppt
LOQ adottato: 500 ng/L
Linearità: 500 - 2500 ng/L
Log Kow= 4.51, solubilità: 0.037 g/L quindi è idrofobico e poco solubile in acqua.



Enol tautomers of butyl methoxy dibenzoylmethane (BMDM)

Agenti di protezione solare

OCTOCRILENE

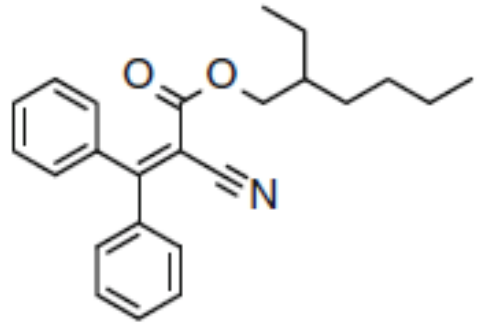
E’ spesso presente nella composizione delle creme solari; il suo prodotto di degradazione è un composto mutageno, cancerogeno ed interferente endocrino.

LOQ richiesto: 266 ng/L

LOQ adottato: 250 ng/L

Log Kow= 6.88; solubilità = 0.0002 g/L

è idrofobico e insolubile in acqua



Octocrylene (OC)

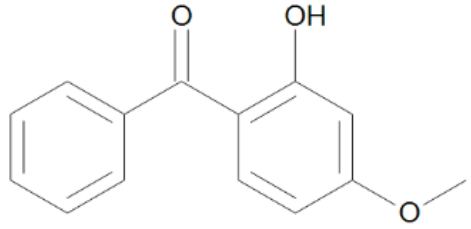
BENZOFENONE-3 (Oxibenzone)

LOQ richiesto: 670 ng/L

LOQ adottato: 500 ng/L

Log Kow= 3.79; solubilità = 0.21 g/L

è il più idrofilico e solubile dei tre filtri solari



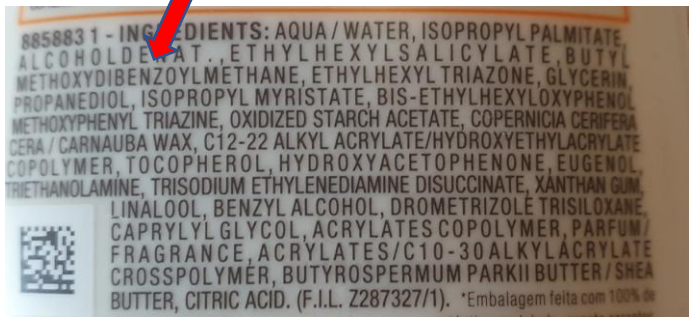
Benzofenone-3

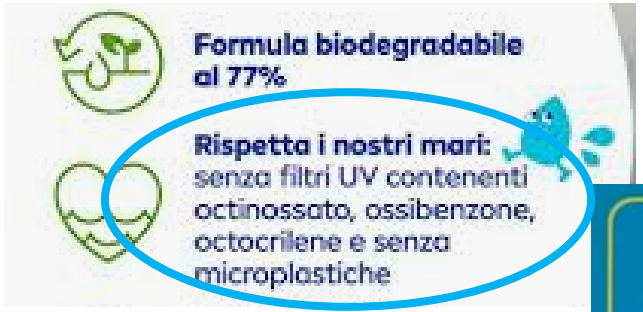
Agenti di protezione solare

Alcuni filtri solari hanno un impatto ambientale e si sono dimostrati dannosi per le barriere coralline e la biodiversità marina; le Hawaii hanno vietato a partire dal 01/01/2021 la vendita di creme solari contenenti oxibenzone e octinoxato

Modo d'uso: Applicare il prodotto prima dell'esposizione. Ripetere con frequenza per mantenere la protezione soprattutto dopo aver trascorso o dopo essersi bagnati o asciugati.

INGREDIENTS: Aloe Barbadensis Leaf Juice, Aqua (Water), Octocrylene, Ethylhexyl Methoxycinnamate, Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate, Propanediol, C12-15 Alkyl Benzoate, Potassium Cetyl Phosphate, Glycerin, Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil, Opuntia Ficus-Indica Stem Extract, Tocopheryl Acetate, Isoamyl Laurate, Cocoglycerides, Butyrospermum Parkii (Shea) Butter, Cetearyl Alcohol, Tocopherol, Ascorbyl Palmitate, Sodium Hyaluronate, Glycine Soja (Soybean) Oil, Hydrolyzed Sweet Almond Protein, Potassium Palmitoyl Hydrolyzed Wheat Protein, Argania Spinosa Kernel Oil, Titanium Dioxide, Silica, Ethylhexylglycerin, Daucus Carota Sativa (Carrot) Root Extract, Sodium Phytate, Alumina, Beta-Carotene, Xanthan Gum, Methyl Decenol, Isopropyl Myristate, Undecylenic Acid, Dehydroacetic Acid, Lecithin, Benzyl Alcohol, Potassium Sorbate, Sodium Benzoate, Sodium Polyacrylate, Citric Acid.


885883 1 - INGREDIENTS: AQUA / WATER, ISOPROPYL PALMITATE, ALCOHOL DENAT., ETHYLHEXYLSALICYLATE, BUTYL METHOXYDIBENZOYLMETHANE, ETHYLHEXYL TRIAZONE, GLYCERIN, PROPANEDIOL, ISOPROPYL MYRISTATE, BIS-ETHYLHEXYLOXYPHENOL METHOXYPHENYL TRIAZINE, OXIDIZED STARCH ACETATE, COPERNICIA CERIFERA CERA / CARNAUBA WAX, C12-22 ALKYL ACRYLATE/HYDROXYETHYLACRYLATE COPOLYMER, TOCOPHEROL, HYDROXYACETOPHENONE, EUGENOL, TRIETHANOLAMINE, TRISODIUM ETHYLENEDIAMINE DISUCCINATE, XANTHAN GUM, LINALOOL, BENZYL ALCOHOL, DROMETRIZOLE TRISILOXANE, CAPRYLYL GLYCOL, ACRYLATES COPOLYMER, PARFUM / FRAGRANCE, ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMER, BUTYROSPERMUM PARKII BUTTER / SHEA BUTTER, CITRIC ACID. (F.I.L. Z287327/1). *Embalagem feita com 100% de



Analiti riscontrati 2023

Elaborazione ISPRA

Numeri di ritrovamenti (misure superiori o uguali ai LOQ dei singoli laboratori) ed intervalli di concentrazioni corrispondenti e numeri di ritrovamenti conteggiando le misure superiori o uguali alle PNEC

Sostanza	n. di ritrovamenti (≥LOQ_{lab})	Intervallo di concentrazione (ug/L)	n. di ritrovamenti (≥LOQ_{PNEC})	LOQ (PNEC) Decisione 1307/2022 (ug/L)
Sulfametossazolo	23/66	0,008-0,18	6/66	0,1
Trimetoprim	10/65	0,0083-0,191	1/65	0,1
Venlafaxina	33/66	0,006-0,706	33/66	0,006
O-desmetilvenlafaxina	44/64	0,0051-0,645	42/64	
Composti azolici				
Clotrimazolo	-	-	-	0,02
Fluconazolo	23/67	0,009-0,21	-	0,25
Imazalil	-	-	-	0,8
Ipconazolo	9/66	0,021-0,038	-	0,044
Metconazolo	-	-	-	0,029
Miconazolo	1/66	0,01	-	0,2
Penconazolo	5/72	0,009-0,023	-	1,7
Procloraz	-	-	-	0,161
Tebuconazolo	6/69	0,0072-0,03	-	0,24
Tetraconazolo	1/71	0,026	-	1,9
Dimossistrobina	1/67	0,01	-	0,032
Azossistrobina [8]	6/72	0,006-0,191	-	0,2
Famoxadone	-	-	-	0,0085
Diflufenican	-	-	-	0,01
Fipronil	23/59	0,0005-0,029	18/59	0,00077
Clindamicina		-	-	0,044
Ofloxacina	15/55	0,027-1,41	15/55	0,026
Metformina e	14/57	0,03-16,887	-	156
guanilurea[9]	19/57	0,08-7,207	-	100
Agenti di protezione solare[10]		-		
Butil metossidibenzoilmetano	3/26	0,3-1,3	-	3
Octocrilene	2/26	0,23-0,596	1/26	0,266
Benzofenone-3	-	-	-	0,67

Analiti riscontrati 2024

Elaborazione ISPRA

Numeri di ritrovamenti (misure superiori o uguali ai LOQ dei singoli laboratori) ed intervalli di concentrazioni corrispondenti e numeri di ritrovamenti conteggiando le misure superiori o uguali alle PNEC

Sostanza	n. di ritrovamenti (≥LOQ_{lab})	Intervallo di concentrazione (ug/L)	n. di ritrovamenti (≥LOQ_{PNEC})	LOQ (PNEC) Decisione 1307/2022 (ug/L)
Sulfametossazolo	28/66	0,01-0,61	10/66	0,1
Trimetoprim	10/66	0,005-0,0478	-	0,1
Venlafaxina	30/63	0,0009-0,1141	28/63	0,006
O-desmetilvenlafaxina	42/63	0,007-0,4859	42/63	
Composti azolici	-		-	
Clotrimazolo	-	---	-	0,02
Fluconazolo	20/57	0,009-0,38	1/57	0,25
Imazalil	-	---	-	0,8
Ipconazolo	2/58	0,0175-0,027	-	0,044
Metconazolo	-	---	-	0,029
Miconazolo	-	---	-	0,2
Penconazolo	2/57	0,0055-0,01	-	1,7
Procloraz	-	---	-	0,161
Tebuconazolo	6/57	0,00426-0,1	-	0,24
Tetraconazolo	2/57	0,015-0,07	-	1,9
Dimossistrobina	-	---	-	0,032
Azossistrobina	9/58	0,005-0,381	3/58	0,2
Famoxadone	-	---	-	0,0085
Diflufenican	-	---	-	0,01
Fipronil	27/66	0,0005-0,095	25/66	0,00077
Clindamicina	3/70	0,0125-0,034	-	0,044
Ofloxacina	19/68	0,02-3,315	17/68	0,026
Metformina e	19/66	0,17-13,406	-	156
guanilurea	15/67	0,21-6,5	-	100
Agenti di protezione solare	-		-	
Butil metossidibenzoilmetano	4/49	0,29-1,659	-	3
Octocrilene	7/48	0,3-3,328	7/48	0,266
Benzofenone-3	1/55	0,714	1/55	0,67

Watch List 2025

DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2025/439 DELLA COMMISSIONE del 28 febbraio 2025

che istituisce un elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione nel settore della politica delle acque in attuazione della direttiva 2008/105/CE del Parlamento europeo e del Consiglio

Elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione di cui all'articolo 8 *ter* della direttiva 2008/105/CE

Denominazione della sostanza o del gruppo di sostanze	Numero del Chemical Abstracts Service (CAS)	Numero Comunità europea (CE) (1)	Metodi di analisi indicativi (2) (3)	Limite massimo ammissibile di quantificazione del metodo (ng/l)
Fipronil	120068-37-3	424-610-5	SPE-HPLC-MS/MS	0,77
Clindamicina	18323-44-9	242-209-1	SPE-LC-MS/MS	44
Ofloxacina	82419-36-1	680-263-1	SPE-UHPLC-MS/MS	26
Metformina e guanilurea (4)	657-24-9 141-83-3	211-517-8 205-504-6	SPE-LC-MS/MS	156 000 100 000
Agenti di protezione solare (5) Butil metossidibenzoilmetano Octocrilene Benzofenone-3 Ottisalato (salicilato di 2-etilesile)	70356-09-1 6197-30-4 131-57-7 118-60-5	274-581-6 228-250-8 205-031-5 204-263-4	SPE-LC-ESI-MS/MS	3 000 266 670 168
N-1,3-dimetilbutil-N'-fenil-p-fenilendiammina (6PPD) e 6PPD-chinone (6)	793-24-8 2754428-18-5	212-344-0 893-269-6	SPE-LC-MS/MS	370
Abamectina (7) Avermectina B1a e avermectina B1b	71751-41-2 65195-55-3 65195-56-4	265-610-3 265-611-9	SPE-LC-MS/MS	1
Composti azolici (8) Bromuconazolo Climbazolo Ciazofamid Difenoconazolo Epossiconazolo Itraconazolo Chetoconazolo Mefentrifluconazolo Propiconazolo Triticonazolo	116255-48-2 38083-17-9 120116-88-3 119446-68-3 133855-98-8 84625-61-6 65277-42-1 1417782-03-6 60207-90-1 131983-72-7	408-060-3 253-775-4 601-671-8 601-613-1 406-850-2 617-596-9 265-667-4 822-682-6 262-104-4 603-543-7	SPE-LC-MS/MS	15 110 130 360 180 8 50 1 600 1 000 1 000
Etossazolo	153233-91-1	604-891-2	SPE-GC-MS/MS	0,4
Fluoxetina	54910-89-3	611-209-7	SPE-LC-QTOF-HRMS	12
Propranololo	525-66-6	208-378-0	SPE-LC-MS/MS	20
Ossitetraciclina e tetraciclina (9)	79-57-2 60-54-8	201-212-8 200-481-9	SPE-LC-MS/MS	500 90

Watch List 2025 - DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2025/439 DELLA COMMISSIONE del 28 febbraio 2025

NUOVI ANALITI:

FILTRI SOLARI

ADDITIVI GOMME

ACARICIDA

FUNGICIDI, ANTIMICOTICI

Agenti di protezione solare (5) Butil metossidibenzoilmetano Octocrilene Benzofenone-3 Ottisalato (salicilato di 2-etilesile)	70356-09-1 6197-30-4 131-57-7 118-60-5	274-581-6 228-250-8 205-031-5 204-263-4	SPE-LC-ESI-MS/MS	3 000 266 670 168
N-1,3-dimetilbutil-N'-fenil-p-fenilendiammina (6PPD) e 6PPD-chinone (6)	793-24-8 2754428-18-5	212-344-0 893-269-6	SPE-LC-MS/MS	370
Abamectina (7) Avermectina B1a e avermectina B1b	71751-41-2 65195-55-3 65195-56-4	265-610-3 265-611-9	SPE-LC-MS/MS	1
Composti azolici (8) Bromuconazolo Climbazolo Ciazofamid Difenoconazolo Epossiconazolo Itraconazolo Chetoconazolo Mefentrifluconazolo Propiconazolo Triticonazolo	116255-48-2 38083-17-9 120116-88-3 119446-68-3 133855-98-8 84625-61-6 65277-42-1 1417782-03-6 60207-90-1 131983-72-7	408-060-3 253-775-4 601-671-8 601-613-1 406-850-2 617-596-9 265-667-4 822-682-6 262-104-4 603-543-7	SPE-LC-MS/MS	15 110 130 360 180 8 50 1 600 1 000 1 000

Watch List 2025: nuovi analiti

ACARICIDA

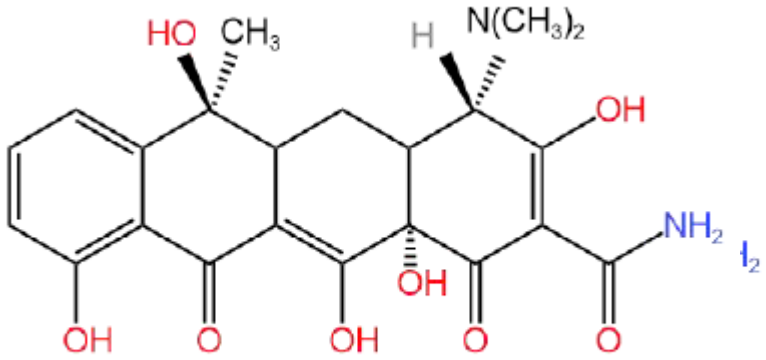
ANTIDEPRESSIVO

FARMACO BETABLOCCANTE

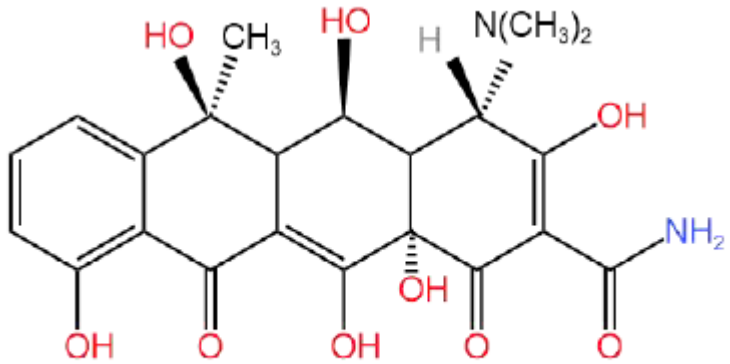
ANTIBIOTICI

Etossazolo	153233-91-1	604-891-2	SPE-GC-MS/MS	0,4
Fluoxetina	54910-89-3	611-209-7	SPE-LC-QTOF-HRMS	12
Propranololo	525-66-6	208-378-0	SPE-LC-MS/MS	20
Ossitetraciclina e tetraciclina (9)	79-57-2 60-54-8	201-212-8 200-481-9	SPE-LC-MS/MS	500 90

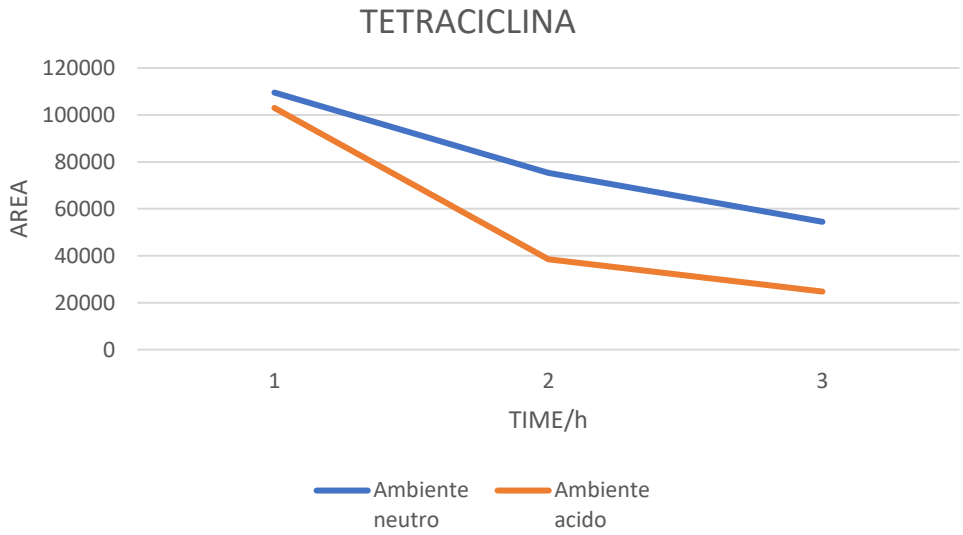
TETRACICLINE

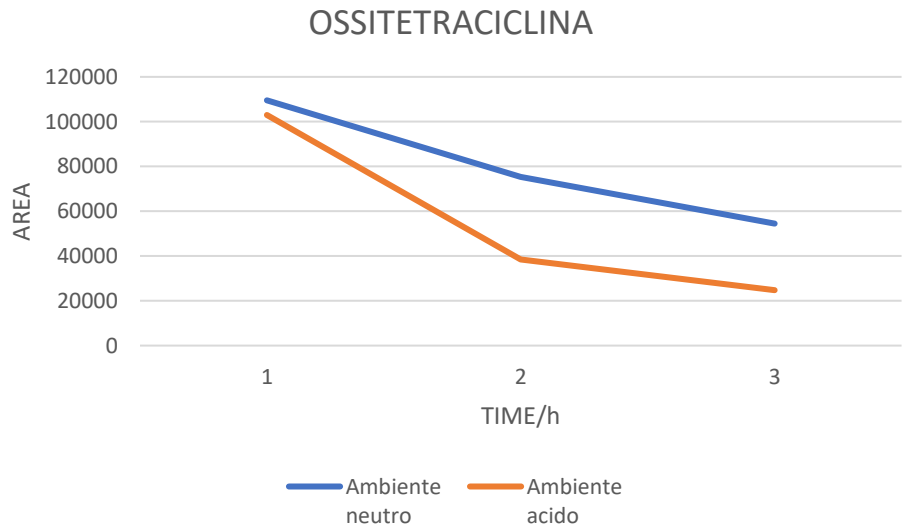


TC

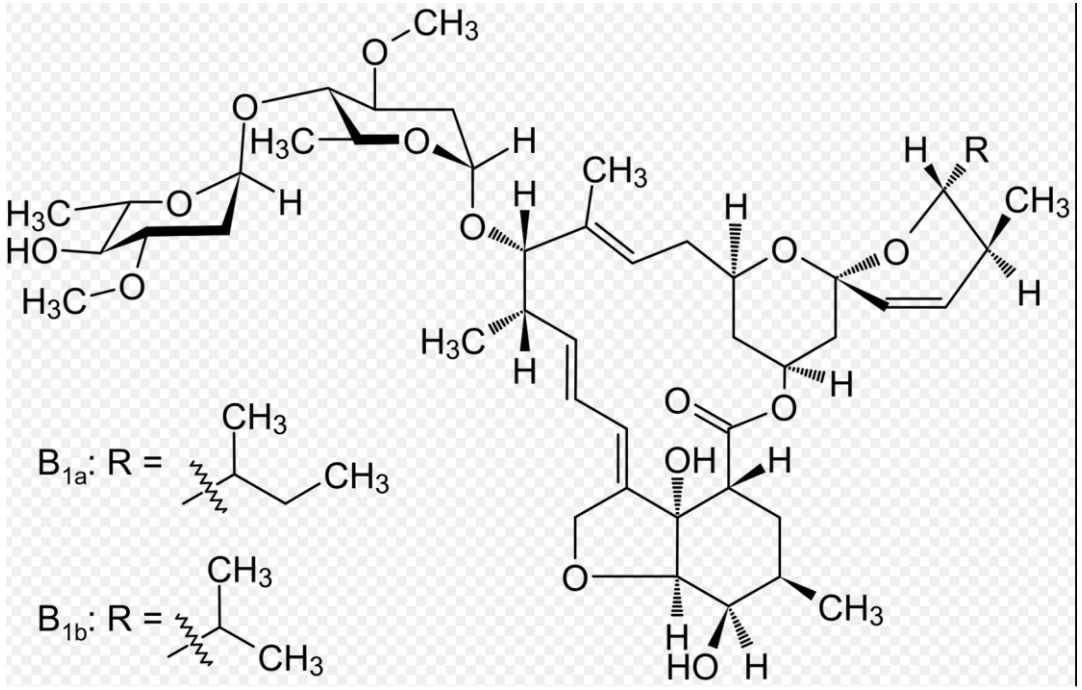


OTC



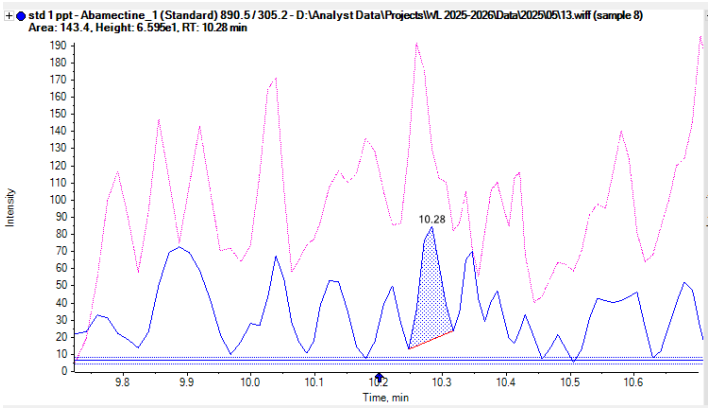


ABAMECTINA

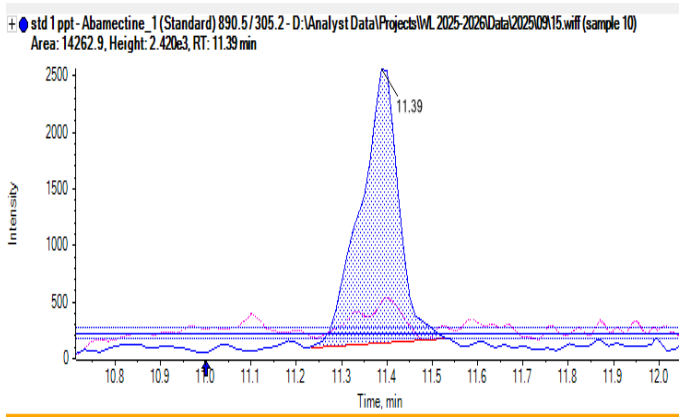


VOLUME DI INIEZIONE: 50µL

Std 1 ng/L



VOLUME DI INIEZIONE: 500µL



ESITI MONITORAGGIO 2025

ANALISI ESEGUITE DA ARPA LOMBARDIA nel 2025
Campioni totali 2025: **60**
Campioni per filtri solari: **16**

Campioni positivi:

	FIPRONIL	ETOSSAZOLO	OFLOXACINA	PROPICONAZOLO	CLINDAMICINA	ABAMECTINA	OCTISALATO
Maggio	10	1	2				
Luglio	10	1	3	1	1		1 (mare)
Settembre		4				1	

CONCLUSIONI

- **CHI CERCA TROVA!**
- **Il crescente numero di CE da monitorare, la diversità delle caratteristiche chimico-fisiche di questi composti, i diversi LOQ richiesti (da ng a ug) comportano la necessità di sviluppare diversi metodi analitici**
- **La richiesta di LOQ sempre più sfidanti (ng – pg) richiede la disponibilità di strumentazione di altissima tecnologia e l'utilizzo di standard interni / surrogati marcati**
- **Necessità di pensare ad un approccio di campionamento alternativo**

GRAZIE PER L'ATTENZIONE!