

Rapporti ISTISAN

10/8



Metodi chimici per l'analisi degli intasi
in materiale elastomerico impiegati
nei campi da gioco in erba sintetica



ISSN 1123-3117

A cura di B. Bocca,
A. di Domenico, G. Forte,
A.L. Iamiceli ed E. Menichini

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Metodi chimici per l'analisi degli intasi
in materiale elastomerico impiegati
nei campi da gioco in erba sintetica**

A cura di
Beatrice Bocca, Alessandro di Domenico, Giovanni Forte,
Anna Laura Iamiceli ed Edoardo Menichini
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

ISSN 1123-3117
Rapporti ISTISAN
10/8

Istituto Superiore di Sanità

Metodi chimici per l'analisi degli intasi in materiale elastomerico impiegati nei campi da gioco in erba sintetica.

A cura di Beatrice Bocca, Alessandro di Domenico, Giovanni Forte, Anna Laura Iamiceli ed Edoardo Menichini
2010, iv, 34 p. Rapporti ISTISAN 10/8

Da analisi effettuate su diverse tipologie di intasi usati nei campi in erba sintetica, le sostanze di maggiore interesse per rilevanza tossicologica e quantità sono risultate: benzo[*a*]pirene (BaP) e altri idrocarburi policiclici aromatici (IPA), policlorobifenili (PCB) policlorodibenzodiossine (PCDD), policlorodibenzofurani (PCDF) e zinco (Zn). In questo Rapporto vengono descritti tre metodi per determinare tali sostanze negli intasi. I metodi sono idonei per verificare il rispetto dei parametri chimici riportati nella normativa attualmente in preparazione sui campi da gioco in erba sintetica. Le analisi strumentali vengono condotte in HRGC-LRMS per IPA e PCB, in HRGC-HRMS per PCDD e PCDF, e in HR- o LR-ICP-MS per lo Zn. Per ogni metodo, vengono dettagliatamente descritti esempi di condizioni operative strumentali e viene indicato un programma di assicurazione di qualità. Per IPA e Zn, vengono riportate le prestazioni ottenute nell'ambito della validazione intra-laboratorio dei relativi metodi.

Parole chiave: Campi sportivi, Elastomeri riciclati, Pneumatici usati, Rischio cancerogeno

Istituto Superiore di Sanità

Chemical methods for the analysis of rubber granulates used in synthetic-turf sport fields.

Edited by Beatrice Bocca, Alessandro di Domenico, Giovanni Forte, Anna Laura Iamiceli and Edoardo Menichini
2010, iv, 34 p. Rapporti ISTISAN 10/8 (in Italian)

Based on analyses of various types of rubber granulates used in synthetic-turf fields, the following substances were found of major concern due to toxicity and content: benzo[*a*]pyrene (BaP) and other polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and zinc (Zn). In this Report three methods are described to determine these substances in rubber granulates. The methods are suitable to check compliance with the chemical parameters reported in the legislation currently in preparation on synthetic-turf sport fields. The instrumental analysis is carried out by HRGC-LRMS for PAHs and PCBs, HRGC-HRMS for PCDDs and PCDFs, and HR- or LR-ICP-MS for Zn. For each method, examples of instrumental operating conditions are detailed and a quality assurance programme is given. As to PAHs and Zn, the performances obtained by the in-house validation of methods are also reported.

Key words: Playing fields, Elastomeric recycled materials, Used tyres, Carcinogenic risk

Per informazioni su questo documento scrivere a: edoardo.menichini@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Bocca B, di Domenico A, Forte G, Iamiceli AL, Menichini E. (Ed.). *Metodi chimici per l'analisi degli intasi in materiale elastomerico impiegati nei campi da gioco in erba sintetica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2010. (Rapporti ISTISAN 10/8).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2010

INDICE

Premessa	iii
Metodo per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in materiali d'origine elastomerica in forma di <i>pellet</i>	1
1. Avvertenze	1
2. Abbreviazioni.....	1
3. Definizioni	2
4. Scopo e campo di applicazione	3
5. Principio del metodo	4
6. Materiali e apparecchiature	4
6.1. Strumentazione per l'estrazione del campione.....	4
6.2. Strumentazione per la concentrazione del campione	4
6.3. Materiale per la purificazione del campione	5
6.4. Materiale cromatografico.....	5
6.5. Strumentazione per l'analisi del campione	5
7. Solventi e standard	5
7.1. Solventi	5
7.2. Standard	5
8. Interferenze e cause d'errore	5
9. Conservazione del campione.....	6
10. Procedura analitica	7
10.1. Pretrattamento del campione.....	7
10.2. Estrazione.....	7
10.3. Purificazione	7
10.4. Determinazione strumentale	8
10.5. Calcoli ed espressione dei risultati	10
11. Verifica della qualità dei dati	11
12. Risultati della validazione intra-laboratorio (<i>in-house</i>) del metodo	12
Bibliografia.....	13
Allegato I - Esempio di preparazione del gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua	14
Allegato II - Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-LRMS	15
Allegato III - Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-HRMS	16
Metodo per la determinazione di policlorobifenili (PCB), policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF) in materiali d'origine elastomerica in forma di <i>pellet</i>	17
1. Avvertenze	17
2. Abbreviazioni.....	18
3. Definizioni	18
4. Scopo e campo di applicazione	19
5. Principio del metodo	21
6. Materiali e apparecchiature	21

6.1.	Strumentazione per l'estrazione del campione.....	21
6.2.	Strumentazione per la concentrazione del campione	21
6.3.	Materiale per la purificazione del campione	21
6.4.	Reagenti e materiale cromatografico	22
6.5.	Strumentazione per l'analisi del campione	22
7.	Solventi e standard	22
7.1.	Solventi	22
7.2.	Standard	23
8.	Interferenze e cause d'errore	23
9.	Conservazione del campione.....	24
10.	Procedura analitica	24
10.1.	Estrazione.....	24
10.2.	Purificazione	24
10.3.	Determinazione strumentale	25
10.4.	Calcoli ed espressione dei risultati.....	25
11.	Verifica della qualità dei dati	27
	Bibliografia	27

Metodo per la determinazione dello zinco nell'eluato di materiali d'origine elastomerica in forma di *pellet*.....

		29
1.	Definizioni	29
2.	Scopo e campo di applicazione	30
3.	Principio del metodo	30
4.	Materiali e apparecchiature	30
5.	Soluzioni	31
6.	Procedura analitica	31
6.1.	Estrazione.....	31
6.2.	Determinazione strumentale	31
6.3.	Interferenze	32
6.4.	Calcoli ed espressione dei risultati.....	32
7.	Verifica della qualità dei dati	33
8.	Risultati della validazione intra-laboratorio (<i>in-house</i>) del metodo	33
	Bibliografia.....	34

PREMESSA

È ormai ampiamente diffuso l'uso di campi da gioco in erba sintetica, realizzati con materiali riempitivi ("da intaso") costituiti da granuli (*pellets*) di origine elastomerica. Una parte dei campi utilizza materiali di nuova produzione ma, in molti casi, vengono utilizzati materiali provenienti da rifiuti riciclati, quali pneumatici per autoveicoli e guarnizioni di varia origine, nei quali è nota la presenza di numerose sostanze pericolose per la salute.

La possibilità di un'esposizione a tali sostanze, rilasciate dai granuli durante l'utilizzazione dei campi, ha destato preoccupazione per i possibili rischi sanitari a carico dei frequentatori dei campi. Su parere del Gruppo di lavoro "Campi in erba sintetica" istituito presso il Ministero della salute, quest'ultimo ha chiesto all'ISS di svolgere un'indagine conoscitiva sulla presenza di sostanze pericolose in 13 campioni di materiali da intaso di diverse tipologie. L'indagine ha riguardato la presenza di composti inorganici, aromatici, policiclici aromatici, alifatici clorurati, nitrobenzeni, clorobenzeni e amianto, per un totale di 64 analiti; questi sono stati selezionati, in mancanza di una normativa specifica sui campi da gioco, sulla base dell'elenco delle sostanze indicate nella normativa sui suoli dei siti da bonificare (Decreto Ministeriale 25 ottobre 1999, n. 471; elenco successivamente aggiornato con il Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152). Assumendo come riferimento le concentrazioni limite accettabili per i siti destinati "ad uso verde pubblico e residenziale", le analisi hanno evidenziato concentrazioni elevate di zinco (Zn), di benzo[*a*]pirene (BaP) e altri idrocarburi policiclici aromatici (IPA), superiori – in molti campioni – ai limiti fissati da tale normativa.

La presenza di IPA, ben nota nei pneumatici e regolamentata in quelli di nuova costruzione (Decreto Ministeriale 18 ottobre 2006), è stata dunque oggetto di successive indagini in considerazione della loro attività cancerogena: il BaP è infatti classificato come cancerogeno umano e numerosi IPA come probabili o possibili cancerogeni umani (IARC *Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, Vol. 92, in preparazione).

L'analisi di un ulteriore materiale da intaso, prelevato presso un altro campo e proveniente da pneumatici riciclati, ha confermato gli elevati livelli di IPA, superiori a quelli accettabili per la suddetta normativa sui suoli, ed ha anche evidenziato livelli elevati di policlorobifenili (PCB), superiori alla concentrazione limite accettabile, e di policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF), prossimi alla concentrazione limite accettabile.

Infine, l'ISS ha fatto un'indagine sulla presenza di IPA in aria durante l'attività sul campo da gioco e una conseguente valutazione del rischio associato all'esposizione ad IPA durante l'attività sportiva. A completamento di queste indagini, è attualmente in preparazione una normativa sui campi da gioco in erba sintetica, che – tenendo conto di tale valutazione del rischio – disciplina le modalità di analisi degli intasi e fissa i limiti da rispettare per il contenuto negli intasi di BaP, IPA "totali" (somma di nove IPA selezionati), Zn, PCB, PCDD e PCDF.

Il presente rapporto descrive i metodi sviluppati dall'ISS per determinare queste sostanze nei materiali da intaso. Tali metodi sono idonei per verificare il rispetto dei limiti previsti dalla normativa in preparazione e, dunque, l'idoneità degli intasi dal punto di vista chimico.

METODO PER LA DETERMINAZIONE DI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA) IN MATERIALI D'ORIGINE ELASTOMERICA IN FORMA DI *PELLET*

Vittorio Abate, Alessandro di Domenico, Silvia De Luca, Igor Fochi, Nicola Iacovella, Anna Laura Iamiceli
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

1. Avvertenze

Il metodo è basato sull'uso della "diluizione isotopica". Esso è stato sottoposto a validazione intra-laboratorio (*in-house*) mediante misura dei parametri discussi nella sezione "Verifica della qualità dei dati". Il metodo è stato sviluppato utilizzando per il rilevamento strumentale la gascromatografia ad alta risoluzione abbinata alla spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS).

Al riguardo, si fa presente quanto segue:

- 1.1. A causa della complessità intrinseca delle analisi di cui trattasi, l'applicazione del metodo si basa sulla disponibilità di infrastrutture e strumentazione specialistiche e personale esperto o adeguatamente addestrato.
- 1.2. A causa della forma in *pellet* della matrice – e non finemente suddivisa – e dell'osservata mancanza di dissoluzione della medesima durante il processo estrattivo, deve assumersi che il metodo proposto tenda a sottostimare le concentrazioni degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) presenti nel *pellet*. Tuttavia, ai fini della valutazione dell'esposizione e del rischio conseguente, si osserva che la parte di matrice non raggiunta efficacemente dal solvente d'estrazione è quella più all'interno del *pellet* e dunque verosimilmente meno soggetta a cedere IPA nelle condizioni di impiego.
- 1.3. A causa della diversa composizione tecnica del materiale, la cui origine è generalmente indicata grossolanamente (es. materiale termoplastico vergine, pneumatici post-uso nobilitati, pneumatici post-uso, triturazioni di varie guarnizioni), il grado di purificazione ottenibile con la procedura prevista dal presente metodo può variare.
- 1.4. I contaminanti in oggetto sono altamente tossici e idonee misure protettive devono essere presenti nel laboratorio per evitare contaminazioni ambientali e rischi occupazionali.

2. Abbreviazioni

BaP	benzo[<i>a</i>]pirene
BbFA	benzo[<i>b</i>]fluorantene
BghiP	benzo[<i>ghi</i>]perilene
BjFA	benzo[<i>j</i>]fluorantene
BkFA	benzo[<i>k</i>]fluorantene
CHR	crisene
CRM	<i>certified reference material</i> o materiale di riferimento certificato

D	deuterio
DBacA	dibenz[<i>a,c</i>]antracene
DBahA	dibenz[<i>a,h</i>]antracene
FR	fattore di risposta
FRR	fattore di risposta relativo
HRGC	gascromatografia ad alta risoluzione
HRMS	spettrometria di massa ad alta risoluzione
IP	indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene
IPA	idrocarburi policiclici aromatici
LOD	<i>limit of detection</i> o limite di rivelabilità
LRMS	spettrometria di massa a bassa risoluzione
N	<i>noise</i> o rumore di fondo
PTV (iniettore)	<i>programmed temperature vaporizing (injector)</i>
PY	pirene
S	(intensità del) segnale
SI	standard interno, composto marcato con D
SIM	<i>single (o selected) ion monitoring</i>
TRI	trifenilene

3. Definizioni

Ai fini del presente metodo si applicano le seguenti definizioni:

- 3.1. *Batch*: gruppo di campioni costituito da 3–5 unità.
- 3.2. Bianco procedurale: matrice inerte (es. solfato di sodio) esente da IPA sottoposta alla medesima procedura analitica dei campioni allo scopo di verificare l'eventuale contributo al fondo (*background*) procedurale.
- 3.3. Incertezza estesa: grandezza che definisce, intorno al risultato di una misurazione, un intervallo che ci si aspetta comprendere una frazione rilevante della distribuzione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando (1); è calcolata in accordo con le indicazioni fornite da Eurachem/Citac (2) applicando un fattore di copertura $k = 2$.
- 3.4. Limite di rivelabilità strumentale (LOD, *limit of detection*: $S \times N^{-1} \approx 3$): stimato sul campione reale, calcolando per ciascun analita la concentrazione che produce una risposta strumentale pari a ca. 3 volte il valore del *noise* (N).
- 3.5. Ripetibilità: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti in condizioni di ripetibilità (stesso operatore, stessa strumentazione, in un breve intervallo di tempo) e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.6. Precisione intermedia con tempi diversi: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti dallo stesso operatore, con la stessa strumentazione e in un lungo intervallo di tempo, e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.7. *Solution keeper*: sostanza utilizzata per mantenere in soluzione gli analiti d'interesse così da evitarne l'evaporazione (nel presente metodo è usato l'*n*-tetradecano).
- 3.8. Standard d'iniezione: sostanza, assente nella matrice da analizzare, aggiunta immediatamente prima dell'analisi strumentale per stimare l'efficienza di recupero degli SI (nello sviluppo del presente metodo è stato usato il BaP-¹³C₄).

- 3.9. *Medium bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili ($< \text{LOD}$) sono inseriti come “ $\text{LOD} \times 0,5$ ”.
- 3.10. *Upper bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili ($< \text{LOD}$) sono inseriti come “ $\text{LOD} \times 1$ ”.

4. Scopo e campo di applicazione

- 4.1. Il metodo è stato sviluppato per la determinazione di IPA con 4–6 anelli, mediante gascromatografia ad alta risoluzione abbinata a spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS), in materiali d’origine elastomerica presenti in forma di *pellet* lenticolari. I *pellet* hanno in genere colore variabile, sono gommosi al tatto, e presentano grandezza variabile. La composizione tecnica di tale materiale, indicata grossolanamente all’origine, è riconducibile a prodotti termoplastici vergini o a materiali riciclati.
- 4.2. Il metodo consente, in particolare, la determinazione dei nove IPA richiesti dalla normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica (Figura 1). La determinazione di questi nove IPA è anche richiesta dal Decreto Legislativo 3 aprile 2006 n. 152 per il suolo destinato a uso verde pubblico, privato e residenziale, insieme a quattro dibenzopireni: dibenzo[*a,e*]pirene, dibenzo[*a,h*]pirene, dibenzo[*a,i*]pirene, dibenzo[*a,l*]pirene (3). La procedura analitica descritta nel presente metodo non è applicabile alla determinazione dei dibenzopireni. Infatti, la loro risposta strumentale è fortemente soppressa in quanto interferita da un elevato *bleeding* di matrice.

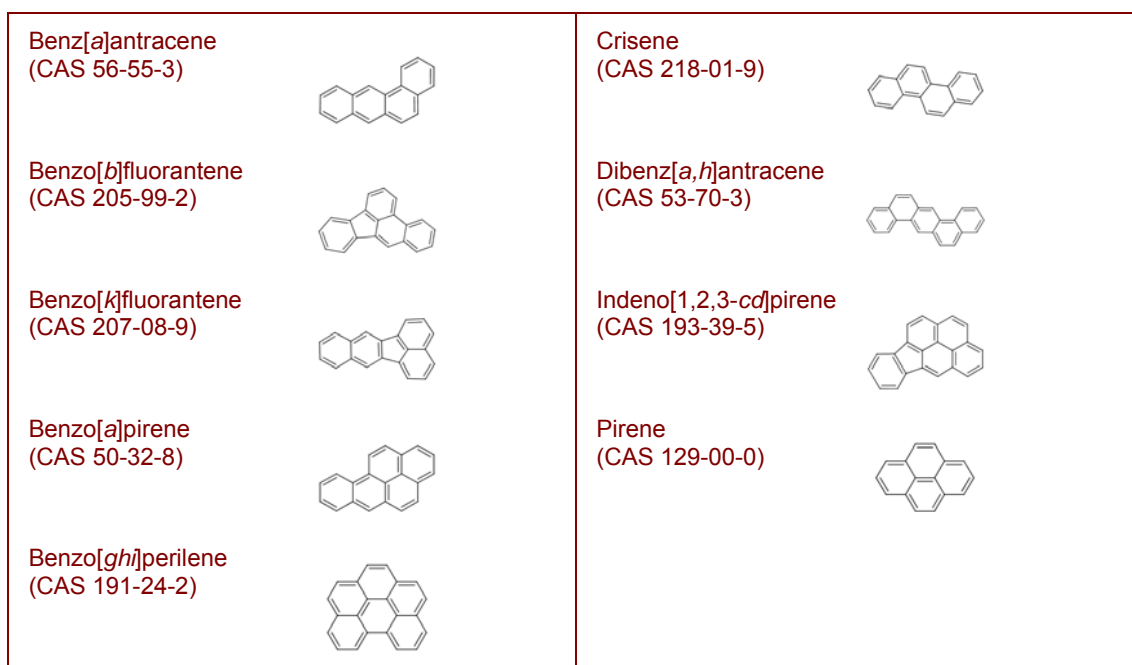


Figura 1. IPA da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

- 4.3.** I livelli di concentrazione rivelabili con il presente metodo dipendono dal grado di purificazione ottenibile. Il metodo consente di rivelare concentrazioni di singolo IPA approssimativamente intorno a 0,005-0,01 mg/kg (tranne per il DBahA: circa 0,03 mg/kg) (v. 12).

5. Principio del metodo

La determinazione degli analiti di interesse è basata sull'impiego estensivo di standard interni (SI), o traccianti, completamente deuterati. Gli SI vengono aggiunti al campione prima dell'estrazione. Gli analiti di interesse sono estratti con diclorometano e successivamente con *n*-esano in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è purificato mediante cromatografia su gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Dopo purificazione, gli analiti sono quantificati mediante HRGC-LRMS(SIM). A ciascun *batch* di campioni è abbinata l'analisi di un bianco procedurale.

6. Materiali e apparecchiature

6.1. Strumentazione per l'estrazione del campione

- 6.1.1. Bagno ad ultrasuoni.

6.2. Strumentazione per la concentrazione del campione

- 6.2.1. Evaporatore rotante.
6.2.2. Apparato per la concentrazione sotto corrente di azoto.

6.3. Materiale per la purificazione del campione

- 6.3.1. Colonna in vetro con rubinetto (d.i. 1 cm, lunghezza minima 18 cm) munita di setto in vetro sinterizzato.
6.3.2. Palloni di vetro da 50, 100, e 250 mL.
6.3.3. *Vial* a fondo piatto da 70 mL.
6.3.4. *Vial* a fondo conico da 9 mL con tappo a vite.
Nota. Questo elenco è fornito a titolo di esempio.

6.4. Materiale cromatografico

- 6.4.1. Azoto per gascromatografia, ultrapuro.
6.4.2. Elio per gascromatografia, ultrapuro.
6.4.3. Gel di silice per cromatografia su colonna, 70-230 *mesh*; diametro medio dei pori 60 Å.

6.5. Strumentazione per l'analisi del campione

- 6.5.1. HRGC-LRMS.

7. Solventi e standard

7.1. Solventi

- 7.1.1. Acetone per HPLC, purezza $\geq 98,0\%$, acqua $\leq 0,1\%$.
- 7.1.2. Acetone, grado tecnico.
- 7.1.3. Diclorometano per HPLC, purezza $\geq 99,8\%$.
- 7.1.4. *n*-Esano, grado tecnico.
- 7.1.5. *n*-Esano per HPLC, purezza $\geq 98,0\%$.
- 7.1.6. *n*-Nonano per HPLC, purezza $\geq 99,7\%$.
- 7.1.7. *iso*-Ottano per analisi strumentale (UV, IR, o HPLC), purezza $\geq 99,5\%$.

7.2. Standard

- 7.2.1. Benzo[*a*]pirene ^{13}C -marcato, impiegato come standard d'iniezione (purezza $\geq 99\%$) o, in alternativa, un qualsiasi altro IPA marcato purché non usato come standard interno.
- 7.2.2. IPA, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.3. IPA deuterati, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.4. *n*-Tetradecano, standard per GC, purezza $\geq 99,5\%$.

8. Interferenze e cause d'errore

- 8.1. A causa delle minute quantità di analiti che devono essere identificate e quantificate, solo un laboratorio adeguatamente costruito ed equipaggiato può ritenersi idoneo all'esecuzione delle analisi d'interesse. All'interno del medesimo, dovrà essere mantenuta la massima pulizia, per evitare apporti di contaminazione atmosferica dall'esterno.
- 8.2. Poiché la vetreria, i solventi, i reagenti, e ogni tipo di strumentazione utilizzata durante l'analisi possono introdurre sostanze interferenti, è necessario dimostrare che in tutti i materiali impiegati esse siano non rivelabili o presenti in quantità non pregiudiziali per il risultato dell'analisi.
- 8.3. La vetreria, tutta di Pyrex, viene preventivamente lavata con detersivo e acqua, risciacquata accuratamente con acqua distillata, e poi tenuta in stufa a $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 12–24 h (la vetreria tarata, di Classe A ove opportuno, non viene sottoposta al trattamento termico). Prima dell'uso, la vetreria è ulteriormente e ripetutamente risciacquata con acetone tecnico seguito da *n*-esano per HPLC, e fatta asciugare in zona protetta. L'ultimo risciacquo della vetreria con *n*-esano viene raccolto quantitativamente e concentrato a piccolo volume – da 1/100 a 1/500 del volume di partenza – per verificarvi mediante rilevamento HRGC-LRMS(SIM) l'eventuale presenza d'interferenze pregiudiziali sui segnali degli analiti d'interesse. Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre sottoporre la vetreria di cui trattasi a nuovo lavaggio oppure sostituirla. Dopo l'uso, se opportuno, la vetreria impiegata viene recuperata dopo decontaminazione con lavaggi ripetuti con miscela equivolometrica di acetone e *n*-esano (eventualmente entrambi di grado tecnico), seguita dalla procedura di lavaggio precedentemente descritta. In

una valutazione costo-beneficio, parte della vetreria usata può essere eliminata secondo le prassi di scarico dei rifiuti in atto nel laboratorio.

- 8.4. Tutti i solventi utilizzati in quantità relativamente rilevanti, che subiscono sensibili processi di concentrazione durante il percorso dell'analisi, devono essere sottoposti a un controllo di congruità analitica preventiva per verificarne l'eventuale contributo al *background* procedurale. Per tale accertamento, volumi congrui dei solventi d'interesse, presi singolarmente, vengono concentrati a piccolo volume secondo quanto si verifica nell'applicazione del metodo e sottoposti ad analisi HRGC-LRMS(SIM). Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre purificare il o i solventi inadeguati, o effettuarne la sostituzione.
- 8.5. Tutti gli standard acquisiti da ditte specializzate devono essere certificati all'origine in merito alle identità degli IPA forniti e al loro titolo effettivo. In genere, è opportuno verificare tali parametri direttamente mediante analisi HRGC-LRMS(SIM): qualora si rilevi un'incongruenza sensibile tra il dichiarato e il risultato dell'analisi, il prodotto dovrà essere sostituito. Le soluzioni di riferimento derivate dagli standard commerciali utilizzano solventi relativamente poco volatili (*n*-nonano, *iso*-ottano, o toluene) per le diluizioni: di esse se ne accerta la stabilità nel tempo.

9. Conservazione del campione

Il campione è conservato al buio a temperatura ambiente.

10. Procedura analitica

10.1 Pretrattamento del campione

Circa 2 g di campione sono posti in un becher da 100 mL e addizionati con una quantità nota di una miscela di standard interni costituita dagli IPA marcati riportati in Tabella 1.

Tabella 1. Ioni caratteristici degli IPA e degli IPA isotopicamente marcati (LRMS)

IPA	<i>m/z</i>	IPA isotopicamente marcati	<i>m/z</i>
Benz[<i>a</i>]antracene	228	Benz[<i>a</i>]antracene-D ₁₂	240
Benzo[<i>b</i>]fluorantene	252	Benzo[<i>b</i>]fluorantene-D ₁₂ ^a	264
Benzo[<i>k</i>]fluorantene	252		
Benzo[<i>a</i>]pirene	252	Benzo[<i>a</i>]pirene-D ₁₂	264
Benzo[<i>ghi</i>]perilene	276		
Crisene	228	Crisene-D ₁₂	240
Dibenz[<i>a,h</i>]antracene	278	Dibenz[<i>a,h</i>]antracene-D ₁₄	292
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene	276	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene-D ₁₂ ^b	288
Pirene	202	Pirene-D ₁₀	212

^a Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BkFA

^b Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BghiP

10.2. Estrazione

- 10.2.1. Il campione viene sottoposto a quattro estrazioni sequenziali in bagno ad ultrasuoni, della durata di 30 min ciascuna. Le prime tre estrazioni vengono effettuate con diclorometano, l'ultima con *n*-esano. Sono utilizzati 20 mL di solvente per ciascuna estrazione.
- 10.2.2. Gli estratti vengono separati dalla matrice solida mediante pipetta Pasteur e riuniti in pallone da 250 mL dove vengono concentrati a pressione ridotta alla temperatura massima di 40 °C.
- 10.2.3. L'estratto totale viene trasferito in *vial* a fondo piatto da 70 mL e poi diluito con diclorometano fino ad un volume di circa 40 mL.

10.3. Purificazione

- 10.3.1. Di seguito è riportata la procedura di purificazione impiegata nell'ambito della validazione del presente metodo. Possono essere utilizzate condizioni sperimentali differenti purché non pregiudichino una sufficiente pulizia del tracciato cromatografico e l'efficienza di recupero degli analiti.
- 10.3.2. Un'aliquota pari a circa il 10% in peso dell'estratto viene trasferita in un *vial* da 9 mL e lasciata adsorbire su circa 0,5 mL di gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Un esempio di procedura di preparazione è riportato nell'Allegato I.
- 10.3.3. Il solvente viene evaporato sotto un leggero flusso di azoto finché l'estratto non si presenti sotto forma di polvere asciutta.
- 10.3.4. L'estratto sotto forma di polvere viene caricato su colonna di gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Dopo eluizione del volume morto (14 mL), vengono raccolte due frazioni: Frazione I (14 mL di *n*-esano, contenente idrocarburi alifatici leggeri); Frazione II (70 mL di *n*-esano, contenente idrocarburi alifatici pesanti e IPA).
- 10.3.5. La Frazione II viene concentrata a pressione ridotta alla temperatura massima di 40 °C fino al volume di 1-2 mL e trasferita in *vial* a fondo conico da 9 mL.
- 10.3.6. Dopo l'aggiunta di 1 µL di *n*-tetradecano (*solution keeper*), il campione è concentrato fin quasi a secchezza con leggero flusso di azoto, ripreso con 500 µL di una soluzione di BaP-¹³C₄ (standard di iniezione, es. 200 pg/µL) in *iso*-ottano, e diluito a 1,5 mL con *iso*-ottano prima della determinazione strumentale.

10.4. Determinazione strumentale

- 10.4.1. Gli IPA sono determinati tramite HRGC-LRMS in modalità SIM utilizzando, es. le condizioni operative descritte nell'Allegato II.
- 10.4.2. Si segnala che, con la colonna GC riportata nell'Allegato II, si riscontrano difficoltà nella risoluzione:
 - 10.4.2.1. del CHR, che co-eluisce con il TRI (la concentrazione del CHR viene espressa come somma dei due isomeri);
 - 10.4.2.2. del BkFA e del BbFA, che co-eluiscono con il BjFA, costituendo un unico picco (la concentrazione del BkFA e del BbFA viene espressa come somma dei tre isomeri);

- 10.4.2.3. del DBahA, che co-eluisce con il DBacA (la concentrazione del DBahA viene espressa come somma dei due isomeri).
- 10.4.3. Qualora una concentrazione somma risultasse superiore al valore limite indicato nella normativa per la sostanza in questione (CHR, BkFA, BbFA o DBahA), al fine di determinare la concentrazione di tale sostanza si possono utilizzare, caso per caso, colonne con le seguenti fasi stazionarie:
- (50% fenil)-metilpolisilossano (60 m) per la separazione parziale del CHR dal TRI (quest'ultimo co-eluyente con il ciclopenta[*cd*]pirene); oppure (5% fenil)-policarborano-silossano (HT5 o equivalente, 30 m) per la separazione parziale del TRI dal CHR (quest'ultimo co-eluyente con il ciclopenta[*cd*]pirene): la concentrazione del TRI così calcolata viene poi sottratta dalla somma CHR+TRI ottenuta con la colonna di cui all'Allegato II (v. 10.4.2.1);
 - (50% fenil)-metilpolisilossano (30 m) per la separazione dei tre isomeri BkFA, BbFA e BjFA;
 - (5% fenil)-policarborano-silossano (HT5 o equivalente, 30 m) per la separazione parziale del DBahA dal DBacA, oppure (50% fenil)-metilpolisilossano (60 m) per la separazione del DBacA da un picco costituito da DBahA+IP; la concentrazione del DBacA viene poi sottratta dalla somma DBahA+DBacA ottenuta con la colonna di cui all'Allegato II (v. 10.4.2.3).
- 10.4.4. Gli analiti e gli IPA isotopicamente marcati sono quantificati utilizzando le masse più intense dello spettro di massa (Tabella 1). Le Figure 2 e 3 riportano i cromatogrammi, rispettivamente, di una miscela di standard e di un campione di materiale elastomerico analizzati secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II.
- 10.4.5. Il rilevamento quantitativo viene eseguito impiegando una miscela di standard esterni (SE) costituita dagli analiti d'interesse, ottenuti da standard commerciali certificati.

C:\XCALIBUR\...108-05-20\stdipaFioroniB2

20/05/2008 10.49.47

std ipa

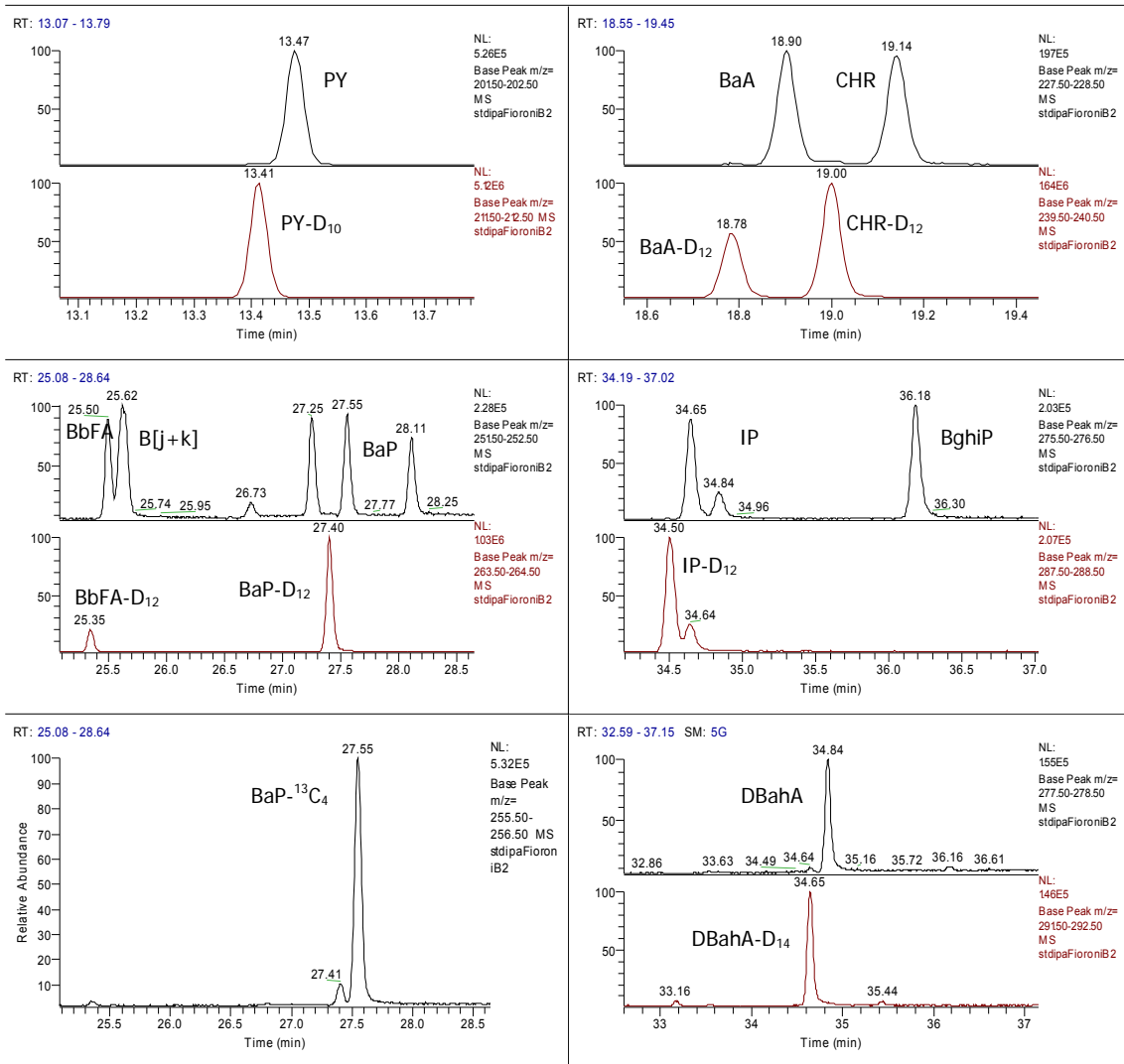


Figura 2. Cromatogramma di IPA naturali e isotopicamente marcati analizzati secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II

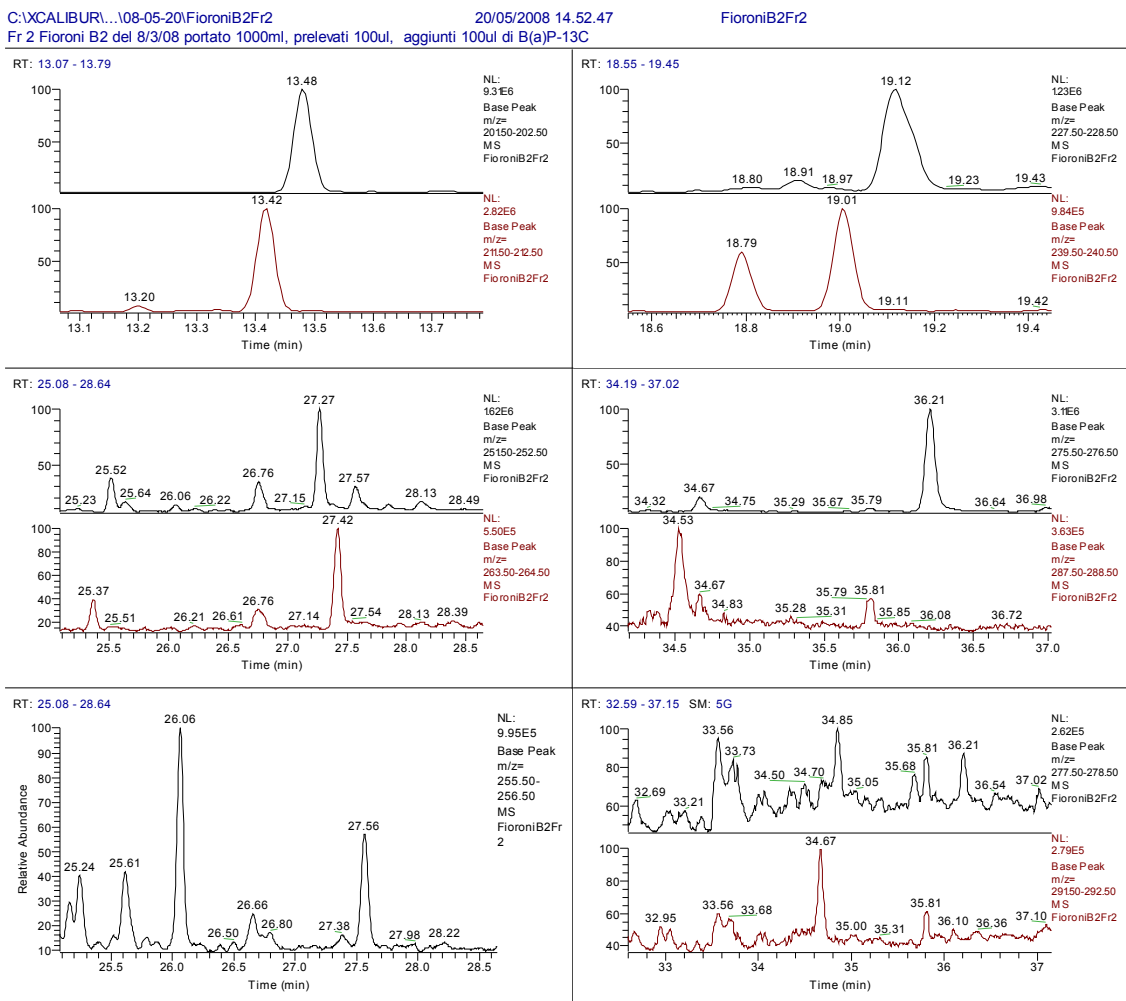


Figura 3. Cromatogramma di un campione di materiale elastomerico analizzato secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II

10.5. Calcoli ed espressione dei risultati

10.5.1. La quantificazione degli analiti di interesse viene eseguita applicando l'Equazione [1], avendo determinato i fattori di risposta (FR) e i fattori di risposta relativi (FRR), stimati dalle aree dei segnali relativi alla massa più abbondante di ciascun analita.

$$X_{AN} = (A_{AN} / FRR_{AN}) \times (Q_{SI} / A_{SI}) \quad [1]$$

dove:

X_{AN} è la quantità assoluta dell'analita nel campione;

A_{AN} è l'area del segnale analitico nel campione;

Q_{SI} è la quantità assoluta dello SI marcato;

A_{SI} è l'area corrispondente al segnale dello SI marcato;
 FRR_{AN} è il fattore di risposta relativo calcolato mediante l'Equazione [2]:

$$FRR_{AN} = FR_{AN} / FR_{SI} \quad [2]$$

dove:

FR_{AN} e FR_{SI} sono rispettivamente i fattori di risposta determinati per l'analita e per lo standard interno nello standard di calibrazione, utilizzando l'Equazione [3]:

$$FR_i = A_i / Q_i \quad [3]$$

dove:

FR_i è il fattore di risposta dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione;

A_i è l'area del segnale analitico dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione;

Q_i è la quantità assoluta dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione.

10.5.2. Il calcolo del recupero (%) degli IPA marcati viene effettuata mediante l'Equazione [4]:

$$\text{Recupero (\%)} = (X_{SI} / Q_{SI}) \times 100 \quad [4]$$

dove:

Q_{SI} è la quantità assoluta di SI aggiunta al campione;

X_{SI} è la quantità assoluta di SI determinata nel campione utilizzando l'Equazione [5]:

$$X_{SI} = A_{SI} / FRR_{SI} \times Q_{ING} / A_{ING} \quad [5]$$

dove:

A_{SI} è l'area del segnale relativo allo SI nel campione;

FRR_{SI} è il fattore di risposta relativo dello SI rispetto allo standard di iniezione determinato nello standard di calibrazione;

Q_{ING} è la quantità assoluta di standard di iniezione nel campione;

A_{ING} è l'area del segnale relativo allo standard di iniezione nel campione.

10.5.3. Ai fini della conformità ai valori limite indicati nella normativa, i risultati con valore di ufficialità devono essere riportati nelle stesse unità di misura e con lo stesso numero di cifre decimali riportati nell'atto normativo.

10.5.4. In accordo con GEMS/Food (4) e con il protocollo raccomandato nel Rapporto ISTISAN 04/15 (5), nel calcolo della sommatoria degli IPA si effettua una stima cumulativa *medium bound*, ponendo i dati non rivelabili ($< LOD$) pari a $LOD \times 0,5$. In caso di verifica di conformità, la stima *upper bound* ($LOD \times 1$) non deve superare il 50% del valore limite indicato nella normativa.

11. Verifica della qualità dei dati

I parametri elencati in questa sezione devono essere verificati dal laboratorio che usa il presente metodo. Valori diversi da quelli riportati comportano una specifica valutazione di congruenza ed eventuali azioni correttive (es. la ripetizione della determinazione nel caso di resa di recupero non accettabile) se influiscono significativamente sul risultato, in particolare sulla valutazione di conformità.

- 11.1. LOD del BaP (il LOD strumentale deve essere tale per cui il LOD del metodo, espresso in mg/kg *pellet*, nelle condizioni analitiche adottate per i campioni reali, sia $\leq 10\%$ del valore limite indicato nella normativa).
- 11.2. Ripetibilità (scarto tipo relativo accettabile sui singoli IPA: $\leq 30\%$).
- 11.3. Precisione intermedia con tempi diversi (scarto tipo relativo accettabile sui singoli IPA: $\leq 60\%$).
- 11.4. Efficienza di recupero di standard interni marcati (rese di recupero accettabili sui singoli IPA: nell'intervallo 40-120%).
- 11.5. Risoluzione gascromatografia (sovrapposizione di uno o più componenti adiacenti: $\leq 40\%$).
- 11.6. Ripetibilità dei fattori di risposta relativi (RRF) (scarto tipo relativo accettabile: $\leq 15\%$).

12. Risultati della validazione intra-laboratorio (*in-house*) del metodo

Le prestazioni ottenute nell'ambito della validazione sono riportate in Tabella 2.

Tabella 2. Prestazioni del metodo così come determinate in fase di validazione intra-laboratorio (*in-house*)

IPA	LOD del metodo (mg/kg) ^a	Ripetibilità ^b	Precisione intermedia con tempi diversi ^c	Scostamento dai metodi di riferimento ^d	Incertezza estesa ^e
Benz[<i>a</i>]antracene	0,01	6%	23%	-13%	47%
Benzo[<i>b</i>]fluorantene	0,005	4%	29%	-19%	59%
Benzo[<i>k+</i>]fluorantene ^f	0,005	5%	25%	+30%	50%
Benzo[<i>a</i>]pirene	0,01	7%	15%	+5%	31%
Benzo[<i>ghi</i>]perilene	0,005	7%	14%	-18%	29%
Crisene	0,01	5%	11%	-5%	22%
Dibenz[<i>a,h</i>]antracene	0,03	13%	11%	+10%	29%
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene	0,005	5%	10%	-10%	20%
Pirene	0,005	5%	— ^g	-16%	14%

^a Stima approssimata basata sul LOD strumentale (v. 3.4)

^b Scarto tipo ottenuto da cinque analisi replicate eseguite su uno stesso campione

^c Scarto tipo ottenuto da 10 analisi replicate eseguite su uno stesso campione

^d Misurato in termini di differenza percentuale fra la media ($n = 5$) dei risultati ottenuti con il metodo LRGC-HRMS in esame rispetto alla media ($n = 5$) dei risultati ottenuti con l'HRGC-HRMS, assunto quale metodo di riferimento (condizioni operative riportate nell'Allegato III)

^e Incertezza estesa stimata secondo le indicazioni Eurachem/Citac (2) applicando un fattore di copertura $k = 2$

^f BkFA determinato cumulativamente con il BjFA in quanto i due isomeri non sono risolti cromatograficamente

^g Non determinata

- 12.1. Lo scostamento dal metodo di riferimento, misurato in termini di differenza percentuale della media dei risultati ottenuti con il metodo HRGC-LRMS in esame rispetto alla media dei risultati ottenuti con l'HRGC-HRMS, assunto quale metodo di riferimento, è risultato $< \pm 20\%$ per ogni IPA (tranne che per il BkFA, determinato con il BjFA: +30%) (Tabella 2).
- 12.2. L'incertezza estesa stimata per la sommatoria dei nove IPA è $\leq 30\%$; per i singoli IPA l'incertezza estesa è riportata in Tabella 2.

Bibliografia

1. UNI CEI ENV 13005. *Guida all'espressione dell'incertezza di misura*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2000.
2. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A. (Ed.). *Eurachem/Citac Guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement (QUAM)*. Teddington (UK): Eurachem-LGC; 2000. Traduzione italiana: Patriarca M, Chiodo F, Corsetti F, Rossi B, Menditto A, Segà M, Plassa M. *Quantificazione dell'incertezza nelle misure analitiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/30).
3. Italia. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 88, 14 aprile 2006.
4. Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food). *Instructions for electronic submission of data on chemical contaminants in food and the diet - Appendix 4, Evaluation of low level contamination of foods*. Ginevra: WHO, Food Safety Department; 2003. Disponibile all'indirizzo: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/gemsmanual.pdf>; ultima consultazione 22/4/2010.
5. Menichini E, Viviano G e il Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali". *Trattamento dei dati inferiori al limite di rivelabilità nel calcolo dei risultati analitici*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2004. (Rapporti ISTISAN 04/15).

ALLEGATO I

Esempio di preparazione del gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua

- scaldare il gel di silice in stufa per 12 ore a 170 °C;
- lasciare raffreddare la fase in essiccatore per circa 30 min;
- trasferire la fase in pallone, pesarla, e aggiungere il 10% in peso d'acqua distillata;
- dibattere vigorosamente il pallone affinché l'acqua si distribuisca per quanto possibile uniformemente nel gel di silice;
- lasciare la fase in essiccatore per 12 ore;
- aggiungere *n*-esano fino a ricoprire il gel di silice;
- degassare sotto vuoto a temperatura ambiente.

ALLEGATO II

Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-LRMS

- l'analisi è eseguita con iniettore PTV e selettore di massa a bassa risoluzione quadrupolare;
- colonna gascromatografica: (5% fenil)-metilpolisilossano (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm);
- gas di trasporto: He, 1,5 mL/min;
- programmata PTV (modalità *splitless*): temperatura iniziale 50 °C, tempo di *splitless* 1,5 min, tempo d'iniezione 0,2 min, velocità di riscaldamento 14,5 °C/s, temperatura finale 280 °C, tempo di trasferimento 1,5 min;
- programmata GC: 80 °C per 1 min, 30 °C/min fino a 230 °C, 2,5 °C/min fino 310 °C, 330 °C per 5 min;
- temperatura della *transfer line*, 290 °C;
- temperatura della sorgente ionica, 250 °C;
- altre condizioni MS, standard.

ALLEGATO III

Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-HRMS

- l'analisi è eseguita con iniettore *on-column* e selettore di massa magnetico con risoluzione di massa pari a circa 3000 o superiore (10% di valle);
- colonna capillare (5% fenil)-metilpolisilossano (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm);
- iniettore in modalità *oven-track* (+3 °C rispetto al forno);
- gas di trasporto He, 1,5 mL/min;
- programmata del forno GC: a 60 °C per 1 min, da 60 a 110 °C a 40 °C/min, da 110 a 230 °C a 3 °C/min, da 230 a 320 °C a 6 °C/min, a 320 °C per 4 min;
- temperatura della *transfer line*, 280 °C;
- temperatura della sorgente ionica, 260 °C;
- altre condizioni MS, standard.

Tabella A1. Masse degli IPA e degli IPA isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti di interesse

IPA	<i>m/z</i>	IPA isotopicamente marcati	<i>m/z</i>
Benz[<i>a</i>]antracene	228,0939	Benz[<i>a</i>]antracene-D ₁₂	240,1692
Benzo[<i>b</i>]fluorantene	252,0939	Benzo[<i>b</i>]fluorantene-D ₁₂ ^a	264,1692
Benzo[<i>k</i>]fluorantene	252,0939		
Benzo[<i>a</i>]pirene	252,0939	Benzo[<i>a</i>]pirene-D ₁₂	264,1692
Benzo[<i>ghi</i>]perilene	276,0939		
Crisene	228,0939	Crisene-D ₁₂	240,1692
Dibenz[<i>a,h</i>]antracene	278,1096	Dibenz[<i>a,h</i>]antracene-D ₁₄	292,1974
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene	276,0939	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene-D ₁₂ ^b	288,1692
Pirene	202,0783	Pirene-D ₁₀	214,1410

^a Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BkFA

^b Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BghiP

METODO PER LA DETERMINAZIONE DI POLICLOROBIFENILI (PCB), POLICLORODIBENZODIOSSINE (PCDD) E POLICLORODIBENZOFURANI (PCDF) IN MATERIALI D'ORIGINE ELASTOMERICA IN FORMA DI *PELLET*

Vittorio Abate, Alessandro di Domenico, Silvia De Luca, Igor Fochi, Nicola Iacovella, Anna Laura Iamiceli
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

1. Avvertenze

Il metodo proposto, in accordo con il Metodo 1613B della US EPA (1), è stato sviluppato per la determinazione, nei materiali d'origine elastomerica in forma di *pellet*, di policlorobifenili ad azione non diossina-simile (NDL-PCB), policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD), e policlorodibenzofurani (PCDF) mediante gascromatografia ad alta risoluzione abbinata con spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRGC-HRMS) per PCDD e PCDF, e gascromatografia ad alta risoluzione abbinata con spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS) per NDL-PCB. Questo metodo non riguarda la determinazione di policlorobifenili ad azione diossina-simile (DL-PCB), non richiesta esplicitamente dalla normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica, in quanto può introdurre difficoltà analitiche a fronte di un contributo trascurabile alla sommatoria di PCB richiesta dalla normativa stessa.

Al riguardo, si fa presente quanto segue.

- 1.1. A causa della complessità intrinseca delle analisi di cui trattasi, l'applicazione del metodo si basa sulla disponibilità di infrastrutture e strumentazione specialistiche e personale esperto o adeguatamente addestrato.
- 1.2. A causa della forma in *pellet* della matrice – e non finemente suddivisa – e dell'osservata mancanza di dissoluzione della medesima durante il processo estrattivo, deve assumersi che il metodo proposto tenda a sottostimare le concentrazioni degli analiti presenti nel *pellet*. Tuttavia, ai fini della valutazione dell'esposizione e del rischio conseguente, si osserva che la parte di matrice non raggiunta efficacemente dal solvente d'estrazione è quella più all'interno del *pellet* e dunque verosimilmente meno soggetta a cedere PCB, PCDD e PCDF nelle condizioni di impiego.
- 1.3. A causa della diversa composizione tecnica del materiale, la cui origine è generalmente indicata grossolanamente (es. materiale termoplastico vergine, pneumatici post-uso nobilitati, pneumatici post-uso, triturazioni di varie guarnizioni, ecc.), il grado di purificazione ottenibile con la procedura prevista dal presente metodo può variare.
- 1.4. Prodotti consumabili o strumenti identificati commercialmente nel testo, e portati come esempi, possono essere sostituiti con prodotti o strumentazione equivalenti di differente origine.
- 1.5. La tecnica della "diluizione isotopica" utilizzata nel metodo è descritta nel dettaglio nel Metodo 1613B della US EPA (1): a esso si rinvia per adeguata informazione.

- 1.6. I contaminanti in oggetto sono altamente tossici e idonee misure protettive devono essere presenti nel laboratorio per evitare contaminazioni ambientali e rischi occupazionali.

2. Abbreviazioni

ASE	<i>accelerated solvent extractor (o extraction)</i>
DL-PCB	congeneri dei PCB con azione tossica diossina-simile
EI	<i>electron impact</i>
FR	fattore di risposta
FRR	fattore di risposta relativo
GC	gascromatografia, e terminologia derivata
HR	<i>high resolution</i> o alta risoluzione
LR	<i>low resolution</i> o bassa risoluzione
MS	spettrometria di massa, e terminologia derivata
N	<i>noise</i> o rumore di fondo
NDL-PCB	congeneri dei PCB con azione tossica non-diossina-simile
PCB	policlorobifenili
PCDD	policlorodibenzo- <i>p</i> -diossine
PCDF	policlorodibenzofurani
PTV (iniettore)	<i>programmed temperature vaporizing (injector)</i>
S	(intensità del) segnale
SI	standard interno
SIM	<i>single (o selected) ion monitoring</i>
2,3,7,8-T ₄ CDD	il congenere più tossico e più studiato di PCDD, PCDF, e DL-PCB
TEF	<i>toxicity equivalency factor</i> o fattore di tossicità equivalente
TE	equivalenti di tossicità di 2,3,7,8-T ₄ CDD
v/v	volume/volume

3. Definizioni

Ai fini del presente metodo si applicano le seguenti definizioni:

- 3.1. *Batch*: gruppo di campioni costituito da 3–5 unità.
- 3.2. Bianco procedurale: matrice inerte (es. solfato di sodio) esente da PCB, PCDD, e PCDF sottoposta alla medesima procedura analitica dei campioni allo scopo di verificare l'eventuale contributo al fondo (*background*) procedurale.
- 3.3. Congenere: ogni singolo componente di PCB, PCDD, e PCDF.
- 3.4. Limite di rivelabilità strumentale (LOD, *limit of detection*: $S \times N^{-1} \approx 3$): stimato sul campione reale, calcolando per ciascun analita la concentrazione che produce una risposta strumentale pari a ca. 3 volte il valore del *noise* (N).
- 3.5. *Medium bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili (< LOD) sono inseriti come "LOD × 0,5".

- 3.6. Ripetibilità: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti in condizioni di ripetibilità (stesso operatore, stessa strumentazione, in un breve intervallo di tempo) e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.7. Precisione intermedia con tempi diversi: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti dallo stesso operatore, con la stessa strumentazione e in un lungo intervallo di tempo, e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.8. *Solution keeper*: sostanza utilizzata per mantenere in soluzione gli analiti d'interesse così da evitarne l'evaporazione (nel presente metodo è usato l'*n*-tetradecano).
- 3.9. Standard d'iniezione: sostanza, assente nella matrice da analizzare, aggiunta immediatamente prima dell'analisi strumentale per stimare l'efficienza di recupero degli SI (nello sviluppo del presente metodo è stata usata una miscela di ¹³C-1,2,3,7,8,9-H₆CDF e ¹³C-1,2,3,6,7,8-H₆CDD).
- 3.10. *Upper bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili (< LOD) sono inseriti come "LOD × 1".

4. Scopo e campo di applicazione

- 4.1. Il metodo è stato sviluppato per la determinazione di NDL-PCB e PCDD+PCDF, in materiali di origine elastomerica in forma di *pellet* lenticolari, mediante gascromatografia ad alta risoluzione in *tandem* con spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS) o spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRGC-HRMS). I *pellet* hanno in genere colore variabile, sono gommosi al tatto, e presentano grandezza variabile. La composizione tecnica di tale materiale, indicata grossolanamente all'origine, è riconducibile a prodotti termoplastici vergini o a materiali riciclati.
- 4.2. Il metodo consente la determinazione di: a) 30 congeneri di NDL-PCB (cfr. Avvertenze) appartenenti ai gruppi omologhi tri- (T₃), tetra- (T₄), penta- (P₅), esa- (H₆), epta- (H₇), e otta- (O₈) clorosostituiti; b) 17 congeneri tossici di PCDD+PCDF appartenenti ai gruppi omologhi tetra- (T₄), penta- (P₅), esa- (H₆), epta- (H₇), e otta- (O₈) clorosostituiti. L'elenco dei singoli congeneri determinabili con il presente metodo è riportato nelle Tabelle 1 e 2.

Tabella 1. Congeneri di NDL-PCB da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

Congenero	N. CAS
2,2',5-T ₃ CB [18]	37680-65-2
2,4,4'-T ₃ CB [28]	7012-37-5
2,4',5-T ₃ CB [31]	16606-02-3
2,3',4'-T ₃ CB [33]	38444-86-9
2,2',4,5'-T ₄ CB [49]	41464-40-8
2,2',5,5'-T ₄ CB [52]	35693-99-3
2,3',4,4'-T ₄ CB [66]	32598-10-0
2,3',4',5-T ₄ CB [70]	32598-11-1
2,4,4',5-T ₄ CB [74]	32690-93-0
2,2',3,4',6-P ₅ CB [91]	68194-05-8
2,2',3,5',6-P ₅ CB [95]	38379-99-6
2,2',4,4',5-P ₅ CB [99]	38380-01-7
2,2',4,5,5'-P ₅ CB [101]	37680-73-2
2,3,3',4',6-P ₅ CB [110]	38380-03-9
2,2',3,3',4,4'-H ₆ CB [128]	38380-07-3
2,2',3,4,4',5'-H ₆ CB [138]	35065-28-2
2,2',3,4,5,5'-H ₆ CB [141]	52712-04-6
2,2',3,4',5,5'-H ₆ CB [146]	51908-16-8
2,2',3,4',5',6-H ₆ CB [149]	38380-04-0
2,2',3,5,5',6-H ₆ CB [151]	52663-63-5
2,2',4,4',5,5'-H ₆ CB [153]	35065-27-1
2,2',3,3',4,4',5-H ₇ CB [170]	35065-30-6
2,2',3,3',4,5,6'-H ₇ CB [174]	38411-25-5
2,2',3,3',4,5',6'-H ₇ CB [177]	52663-70-4
2,2',3,4,4',5,5'-H ₇ CB [180]	35065-29-3
2,2',3,4,4',5',6-H ₇ CB [183]	52663-69-1
2,2',3,4',5,5',6-H ₇ CB [187]	52663-68-0
2,2',3,3',4,4',5,5'-O ₈ CB [194]	35694-08-7
2,2',3,3',4,4',5,6'-O ₈ CB [196]	42740-50-1
2,2',3,4,4',5,5',6-O ₈ CB [203]	52663-76-0

Tabella 2. Congeneri di PCDD+PCDF da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

Congenero	N. CAS	Congenero	N. CAS
2,3,7,8-T ₄ CDD	1746-01-6	2,3,7,8-T ₄ CDF	51207-31-9
1,2,3,7,8-P ₅ CDD	40321-76-4	1,2,3,7,8-P ₅ CDF	57117-41-6
		2,3,4,7,8-P ₅ CDF	57117-31-4
1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD	39227-28-6	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF	70648-26-9
1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD	57653-85-7	1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF	57117-44-9
1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	19408-74-3	1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF	72918-21-9
		2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF	60851-34-5
1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	35822-46-9	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF	67562-39-4
		1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF	55673-89-7
1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDD	3268-87-9	1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDF	39001-02-0

4.3. I livelli di concentrazione rivelabili con il presente metodo dipendono dal grado di purificazione ottenibile. Per la maggior parte degli analiti di interesse il metodo consente di rivelare concentrazioni di singolo congenero comprese approssimativamente tra 0,3 e 1,3 ng/kg per PCDD e PCDF e intorno a 10-20 ng/kg per ND-L-PCB, risultando idoneo a verificare la conformità ai valori limite indicati

nella normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica. La determinazione dei suddetti congeneri di PCDD+PCDF e dei PCB è anche richiesta dal Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152 (2).

- 4.4. L'incertezza estesa del metodo (fattore di copertura $k = 2$), stimata nell'ambito dello sviluppo del metodo in accordo con le indicazioni fornite da Eurachem/Citac (3), è risultata $\leq 25\%$ per il singolo congenere, e $\leq 20\%$ per la sommatoria dei congeneri di cui al punto 4.2.

5. Principio del metodo

In accordo con il Metodo 1613B della US EPA (1), il rilevamento degli analiti di interesse è basato sull'impiego estensivo di standard interni (SI), o traccianti, completamente marcati con ^{13}C . Gli SI vengono aggiunti al campione prima dell'estrazione, ed eventualmente di passaggi analitici intermedi ritenuti critici. Gli analiti di interesse sono estratti con diclorometano e successivamente con *n*-esano in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è soggetto a una procedura di purificazione comprendente un trattamento con acido solforico concentrato per distruggere il carico organico chimicamente labile co-estratto con gli analiti, seguito da passaggi su colonne cromatografiche in sequenza che permettono di concentrare gli analiti in forma purificata. Dopo purificazione, il campione è quantificato contro standard esterni (SE, tanti quanti sono gli analiti da dosare) mediante HRGC-LRMS per la determinazione dei NDL-PCB e mediante HRGC-HRMS per la determinazione dei PCDD+PCDF. A ciascun *batch* di campioni è abbinata l'analisi di un bianco procedurale.

6. Materiali e apparecchiature

6.1. Strumentazione per l'estrazione del campione

- 6.1.1. Bagno ad ultrasuoni.

6.2. Strumentazione per la concentrazione del campione

- 6.2.1. Evaporatore rotante.
6.2.2. Apparato per la concentrazione sotto corrente di azoto.

6.3. Materiale per la purificazione del campione

- 6.3.1. Colonna in vetro (d.i. 2,5 cm) per Extrelut[®].
6.3.2. Sistema di purificazione automatizzato che utilizza un kit commerciale di tre colonne sequenziali impaccate, nell'ordine, con gel di silice, allumina, e carbone.
6.3.3. Palloni di vetro da 50, 100, e 250 mL.
6.3.4. Vial a fondo piatto da 70 mL.

6.4. Reagenti e materiale cromatografico

- 6.4.1. Acido solforico per analisi, concentrato (96%).
- 6.4.2. Azoto per gascromatografia, ultrapuro.
- 6.4.3. Elio per gascromatografia, ultrapuro.
- 6.4.4. Extrelut®.
- 6.4.5. Gel di silice per cromatografia su colonna, 70–230 *mesh*; diametro medio dei pori 60 Å (*).
- 6.4.6. *Kit* di tre colonne commerciali preimpaccate (gel di silice, allumina e carbone).
- 6.4.7. Sodio solfato anidro per analisi, purezza ≥ 99,0% (*).

(*). Queste sostanze vengono scaldate a 110 °C per 12–24 h prima dell'uso.

6.5. Strumentazione per l'analisi del campione

- 6.5.1. HRGC-HRMS (Tabella 3).
- 6.5.2. HRGC-LRMS (Tabella 3).

Tabella 3. Esempi di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti d'interesse

Strumentazione	Condizioni operative
HRGC-LRMS (EI, 35 eV) colonna GC gas di trasporto Iniettore programmata GC	8% fenil polisilossano-carborano (25 m × 0,22 mm × 0,1 µm) He PTV oppure <i>on-column</i> 120 °C per 1 min, 20 °C/min fino a 180 °C, 5 °C/min fino a 310 °C, 120 °C/min fino a 340 °C per 5 min
HRGC-HRMS (EI, 35 eV) colonna GC gas di trasporto Iniettore programmata GC	polisilossano modificata con silfenilene (BPX-DXN o equivalente; 60 m × 0,25 mm × 0,25 µm) He iniettore PTV oppure <i>on-column</i> 80 °C per 1 min, 40 °C/min fino a 227 °C, 2 °C/min fino a 305 °C, 30 °C/min fino a 340 °C, 340 °C per 5 min

7. Solventi e standard

7.1. Solventi

- 7.1.1. Acetone per HPLC, purezza ≥ 98,0%, acqua ≤ 0,1%.
- 7.1.2. Acetone grado tecnico.
- 7.1.3. Diclorometano per HPLC, purezza ≥ 99,8%.
- 7.1.4. *n*-Esano grado tecnico.
- 7.1.5. *n*-Esano per LC, purezza ≥ 98,0%.
- 7.1.6. Etile acetato per HPLC, purezza ≥ 99,8%.
- 7.1.7. *iso*-Ottano per analisi strumentale (UV, IR, o HPLC), purezza ≥ 99,5%.
- 7.1.8. Metanolo per HPLC, purezza ≥ 99,9%.
- 7.1.9. *n*-Nonano per HPLC, purezza ≥ 99,7%.

- 7.1.10. *n*-Pentano per analisi, purezza $\geq 99,0\%$.
- 7.1.11. Toluene per HPLC, purezza $\geq 99,5\%$.
- 7.1.12. Tetracloruro di carbonio, purezza $\geq 99,5\%$.

7.2. Standard

- 7.2.1. Clordano ^{13}C -marcato impiegato come standard d'iniezione nella determinazione dei NDL-PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.2. Congeneri PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.3. Congeneri PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.4. Congeneri PCDD+PCDF, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.5. Congeneri PCDD+PCDF ^{13}C -marcati, purezza $\geq 99\%$. Questo gruppo di composti include tutti gli SI propriamente utilizzati come tali più due congeneri impiegati come standard d'iniezione (^{13}C -1,2,3,7,8,9- H_6CDF e ^{13}C -1,2,3,6,7,8- H_6CDD).
- 7.2.6. *n*-Tetradecano standard per GC, purezza $\geq 99,5\%$.

8. Interferenze e cause d'errore

- 8.1. A causa delle minute quantità di analiti che devono essere identificate e quantificate, solo un laboratorio adeguatamente costruito ed equipaggiato può ritenersi idoneo all'esecuzione delle analisi d'interesse. All'interno del medesimo, dovrà essere mantenuta la massima pulizia, eventualmente in pressione positiva per evitare apporti di contaminazione atmosferica dall'esterno. Gli operatori, tutti esperti, dovranno attenersi rigorosamente ai protocolli di "buone pratiche" in vigore nel laboratorio.
- 8.2. Poiché la vetreria, i solventi, i reagenti, e ogni tipo di strumentazione utilizzata durante l'analisi possono introdurre sostanze interferenti, è necessario dimostrare che in tutti i materiali impiegati esse siano non rivelabili o presenti in quantità non pregiudiziali per il risultato dell'analisi.
- 8.3. La vetreria, tutta di Pyrex, viene preventivamente lavata con detersivo e acqua, risciacquata accuratamente con acqua distillata, e poi tenuta in stufa a $170\text{ }^\circ\text{C}$ per 12–24 h (la vetreria tarata, di Classe A ove opportuno, non viene sottoposta al trattamento termico). Prima dell'uso, la vetreria è ulteriormente e ripetutamente risciacquata con acetone seguito da *n*-esano, e fatta asciugare in zona protetta. L'ultimo risciacquo della vetreria con *n*-esano viene raccolto quantitativamente e concentrato a piccolo volume – da 1/100 a 1/500 del volume di partenza – per verificarvi mediante rilevamento HRGC-LRMS(SIM) e HRGC-HRMS(SIM) l'eventuale presenza d'interferenze pregiudiziali sui segnali degli analiti d'interesse. Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre sottoporre la vetreria di cui trattasi a nuovo lavaggio oppure sostituirla. Dopo l'uso, se opportuno, la vetreria impiegata viene recuperata dopo decontaminazione con lavaggi ripetuti con miscela equivolumetrica di acetone e *n*-esano (eventualmente entrambi di grado tecnico), seguita dalla procedura di lavaggio precedentemente descritta. In una valutazione costo-beneficio, parte della vetreria usata può essere eliminata secondo le prassi di scarico dei rifiuti in atto nel laboratorio.

- 8.4. Tutti i solventi utilizzati in quantità relativamente rilevanti, che subiscono sensibili processi di concentrazione durante il percorso dell'analisi, devono essere sottoposti a un controllo di congruità analitica preventiva per verificarne l'eventuale contributo al *background* procedurale. Per tale accertamento, volumi congrui dei solventi d'interesse, presi singolarmente, vengono concentrati a piccolo volume secondo quanto si verifica nell'applicazione del metodo e sottoposti a rilevamento HRGC-LRMS(SIM) e HRGC-HRMS(SIM). Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre purificare il o i solventi inadeguati, o effettuarne la sostituzione.
- 8.5. Tutti gli standard acquisiti da ditte specializzate devono essere certificati all'origine in merito alle identità dei congeneri forniti, e al loro titolo effettivo. In genere, è opportuno verificare tali parametri direttamente mediante analisi HRGC-LRMS(SIM) e HRGC-HRMS(SIM): qualora si rilevi un'incongruenza sensibile tra il dichiarato e il risultato del rilevamento, il prodotto dovrà essere sostituito. Le soluzioni di riferimento derivate dagli standard commerciali utilizzano solventi relativamente poco volatili (*n*-nonano, *iso*-ottano, o toluene) per le diluizioni: di esse se ne accerta la stabilità nel tempo.

9. Conservazione del campione

Il campione è conservato al buio a temperatura ambiente.

10. Procedura analitica

10.1. Estrazione

- 10.1.1. Dopo l'aggiunta di una quantità nota di standard interni (SI) a ca. 5 g di matrice, questa viene sottoposta a quattro estrazioni sequenziali in bagno ad ultrasuoni, della durata di 30 min ciascuna. Le prime tre estrazioni vengono effettuate con diclorometano, l'ultima con *n*-esano. Sono utilizzati 20 mL di solvente per ciascuna estrazione.
- 10.1.2. Gli estratti vengono separati dalla matrice solida mediante pipetta Pasteur e riuniti in pallone da 250 mL dove vengono concentrati a pressione ridotta alla temperatura massima di 40 °C.
- 10.1.3. L'estratto totale viene trasferito in *vial* a fondo piatto da 70 mL e poi diluito con diclorometano fino ad un volume di circa 40 mL.

10.2. Purificazione

- 10.2.1. Di seguito è riportata la procedura di purificazione impiegata nello sviluppo del presente metodo. Possono essere utilizzate condizioni sperimentali differenti purché non pregiudichino una sufficiente pulizia del tracciato cromatografico e l'efficienza di recupero degli analiti.
- 10.2.2. Un'aliquota pari a circa il 10% in peso dell'estratto viene trasferita in un *vial* da 70 mL, diluita con 50 mL di *n*-esano, e fatta percolare su una colonna di vetro (d.i., 4 cm) riempita con ca. 20 g di Extrelut[®] impregnato con 20 mL di acido solforico

concentrato. Dopo eluizione con 250 mL di *n*-esano, l'eluato è concentrato a pressione ridotta fino al volume di 15 mL.

- 10.2.3. L'eluato dell'Extrelut® è sottoposto a purificazione e frazionamento. Per lo scopo si utilizza un sistema automatizzato, capace di prestazioni elevate, e munito di un *kit* commerciale di tre colonne in serie impaccate, nell'ordine, con gel di silice, allumina, e carbone. Il campione è eluito sequenzialmente con *n*-esano (Frazione 0), con una miscela 50:1 (v/v) di *n*-esano-diclorometano (Frazione I, contenente i NDL-PCB), con una miscela 1:1 (v/v) di *n*-esano-diclorometano (per consentire il trasferimento di PCDD e PCDF alla colonna di carbone), e in ultimo con toluene a flusso invertito (Frazione II, contenente PCDD e PCDF).
- 10.2.4. Le frazioni d'interesse sono concentrate a pressione ridotta e poi trasferite in *vial* a fondo conico. Aggiunto 1 µL di *n*-tetradecano (*solution keeper*), le frazioni sono ulteriormente concentrate sotto leggera corrente di azoto fin quasi a secchezza e poi riprese con 50–100 µL di *iso*-ottano contenente gli standard d'iniezione (es. ¹³C-clordano per la Frazione I, e ¹³C-1,2,3,6,7,8-H₆CDD e ¹³C-1,2,3,7,8,9-H₆CDF per la Frazione II).

10.3. Determinazione strumentale

- 10.3.1. I NDL-PCB sono determinati tramite HRGC-LRMS (EI, 35 eV) in modalità SIM utilizzando le condizioni operative riportate in Tabella 3.
- 10.3.2. I 17 congeneri di PCDD+PCDF sono determinati mediante HRGC-HRMS (EI, 35 eV), operante alla risoluzione di 10000 in modalità SIM (le condizioni operative sono riportate in Tabella 3).
- 10.3.3. La quantificazione congenere-specifica è eseguita impiegando una miscela dei congeneri naturali d'interesse (standard di calibrazione) e di quelli isotopicamente marcati a concentrazione nota.

10.4. Calcoli ed espressione dei risultati

- 10.4.1. La quantificazione dei congeneri di interesse è eseguita applicando l'Equazione [1], dopo aver determinato nello standard di calibrazione i fattori di risposta (FR) e i fattori di risposta relativi (FRR). Questi sono stimati dalle aree dei segnali più intensi presenti nei multipletti corrispondenti agli ioni molecolari dei vari omologhi (Tabelle 4 e 5).

Tabella 4. Masse in bassa risoluzione dei congeneri di PCB e di PCB isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti d'interesse

Congenere	M	M+2	M+4	Congenere ¹³ C-sostituito	M	M+2	M+4
T ₃ CB	256	258		¹³ C-T ₃ CB	268	270	
T ₄ CB	290	292		¹³ C-T ₄ CB	302	304	
P ₅ CB	324	326		¹³ C-P ₅ CB		336	338
H ₆ CB		360	362	¹³ C-H ₆ CB		372	374
H ₇ CB		394	396	¹³ C-H ₇ CB		406	408
O ₈ CB		428	430	¹³ C-O ₈ CB		440	442

Tabella 5. Masse esatte in alta risoluzione dei congeneri di PCDD+PCDF e di PCDD+PCDF isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti d'interesse

Congeneri	M	M+2	M+4	Congeneri ¹³ C-sostituito	M	M+2	M+4
T ₄ CDD	319,8965	321,8936		¹³ C-T ₄ CDD	331,9368	333,9339	
P ₅ CDD		355,8546	357,8516	¹³ C-P ₅ CDD		367,8949	369,8919
H ₆ CDD		389,8157	391,8127	¹³ C-H ₆ CDD		401,8559	403,8529
H ₇ CDD		423,7766	425,7737	¹³ C-H ₇ CDD		435,8169	437,8140
O ₈ CDD		457,7377	459,7348	¹³ C-O ₈ CDD		469,7779	471,7750
T ₄ CDF	303,9016	305,8987		¹³ C-T ₄ CDF	315,9419	317,9389	
P ₅ CDF		339,8597	341,8567	¹³ C-P ₅ CDF		351,9000	353,8970
H ₆ CDF		373,8208	375,8178	¹³ C-H ₆ CDF	383,8639	385,8610	
H ₇ CDF		407,7818	409,7789	¹³ C-H ₇ CDF	417,8253	419,8220	
O ₈ CDF		441,7428	447,7399				

$$X_{AN} = A_{AN} / FRR_{AN} \times Q_{SI} / A_{SI} \quad [1]$$

dove:

X_{AN} è la quantità assoluta dell'analita nel campione;

A_{AN} è l'area del segnale analitico nel campione;

Q_{SI} è la quantità assoluta dello SI ¹³C-marcato;

A_{SI} è l'area corrispondente al segnale dello SI ¹³C-marcato;

FRR_{AN} è il fattore di risposta relativo calcolato mediante l'Equazione [2]:

$$FRR_{AN} = FR_{AN} / FR_{SI} \quad [2]$$

dove:

FR_{AN} e FR_{SI} sono rispettivamente i fattori di risposta determinati per l'analita e per lo standard interno dallo standard di calibrazione utilizzando l'Equazione [3]:

$$FR_i = A_i / Q_i \quad [3]$$

dove:

FR_i è il fattore di risposta dell'analita o dello SI ¹³C-marcato nello standard di calibrazione;

A_i è l'area del segnale analitico dell'analita o dello SI ¹³C-marcato nello standard di calibrazione;

Q_i è la quantità assoluta dell'analita o dello SI ¹³C-marcato nello standard di calibrazione.

10.4.2. Il calcolo del recupero (%) dei congeneri marcati è effettuata mediante l'Equazione [4]:

$$\text{Recupero (\%)} = (X_{SI} / Q_{SI}) \times 100 \quad [4]$$

dove:

Q_{SI} è la quantità assoluta di standard interno aggiunta al campione;

X_{SI} è la quantità assoluta di standard interno determinata nel campione utilizzando l'Equazione [5]:

$$X_{SI} = A_{SI} / FRR_{SI} \times Q_{ING} / A_{ING} \quad [5]$$

dove:

A_{SI} è l'area del segnale relativo allo standard interno nel campione;

FRR_{SI} è il fattore di risposta relativo dello standard interno rispetto allo standard di iniezione determinato standard di calibrazione;

Q_{ING} è la quantità assoluta di standard di iniezione nel campione;

A_{ING} è l'area del segnale relativo allo standard di iniezione nel campione.

- 10.4.3. Ai fini della conformità ai valori limite indicati nella normativa, i risultati con valore di ufficialità devono essere riportati nelle stesse unità di misura e con lo stesso numero di cifre decimali riportati nell'atto normativo.
- 10.4.4. In accordo con GEMS/Food (4) e con il protocollo raccomandato nel Rapporto ISTISAN 04/15 (5), la sommatoria degli analiti viene data come stima cumulativa *medium bound*, dunque ponendo i dati non rivelabili ($< \text{LOD}$) pari a $\text{LOD} \times 0,5$. In caso di verifica di conformità, la stima *upper bound* ($\text{LOD} \times 1$) non deve superare il 50% del valore limite indicato nella normativa.

11. Verifica della qualità dei dati

I parametri elencati di seguito devono essere verificati dal laboratorio che usa il presente metodo. Valori diversi da quelli qui riportati comportano una specifica valutazione di congruenza ed eventuali azioni correttive (es. la ripetizione della determinazione nel caso di resa di recupero non accettabile), se influiscono significativamente sul risultato, in particolare sulla valutazione di conformità.

- 11.1. Ripetibilità (scarto tipo relativo accettabile sui singoli congeneri o sui valori cumulativi, analitici o in unità TE: $\leq 20\%$).
- 11.2. Precisione intermedia con tempi diversi (scarto tipo relativo accettabile sui singoli congeneri o sui valori cumulativi, analitici o in unità TE: $\leq 30\%$).
- 11.3. Efficienza di recupero di standard interni marcati (efficienza di recupero accettabili sui singoli congeneri nell'intervallo: 40–120%).
- 11.4. Ripetibilità dei tempi di ritenzione relativi (scarti accettabili: $\leq 0,2\%$).
- 11.5. Ripetibilità dei fattori di risposta relativi (RRF) (scarti accettabili: $\leq 15\%$).
- 11.6. Correttezza del rapporto delle masse isotopiche critiche (le masse ioniche, es. M e M+2, campionate con tecnica SIM per identificazione/quantificazione dovrebbero fornire il rapporto teorico dato dallo standard o un rapporto simile; scarti accettabili dal rapporto teorico: $\leq 20\%$).
- 11.7. Quantificazioni parallele basate su due masse isotopiche, es. M e M+2 (scarti accettabili: $\leq 20\%$).

Bibliografia

1. US EPA. Method 1613B. *Tetra- through octachlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC-HRMS*. Washington: Environmental Protection Agency; 1994.
2. Italia. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 88, 14 aprile 2006.
3. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A (Ed.). *Eurachem/Citac Guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement (QUAM)*. Teddington (UK): Eurachem-LGC; 2000. Traduzione italiana: Patriarca M, Chiodo F, Corsetti F, Rossi B, Menditto A, Segal M, Plassa M (2003). *Quantificazione dell'incertezza nelle misure analitiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/30).
4. Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food). *Instructions for electronic submission of data on chemical contaminants*

in food and the diet - Appendix 4, Evaluation of low level contamination of foods. Ginevra: WHO, Food Safety Department; 2003. Disponibile all'indirizzo: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/gemsmanual.pdf>; ultima consultazione 22/4/2010.

5. Menichini E, Viviano G e il Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali". *Trattamento dei dati inferiori al limite di rivelabilità nel calcolo dei risultati analitici.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2004. (Rapporti ISTISAN 04/15).

METODO PER LA DETERMINAZIONE DELLO ZINCO NELL'ELUATO DI MATERIALI D'ORIGINE ELASTOMERICA IN FORMA DI *PELLET*

Beatrice Bocca, Sergio Costantini, Giovanni Forte
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

1. Definizioni

Ai fini del presente metodo si applicano le seguenti definizioni:

- 1.1. Reperto: campione di materiale d'origine elastomerica ("intaso") pervenuto al Laboratorio per la determinazione analitica oggetto del presente metodo.
- 1.2. Estratto: acqua deionizzata posta a contatto con il *pellet*.
- 1.3. Soluzione del bianco dei reagenti: acqua deionizzata che ha subito l'intero processo analitico, utilizzata per la determinazione del fondo strumentale e delle eventuali contaminazioni provenienti dai reagenti.
- 1.4. Soluzione per l'ottimizzazione dello strumento: soluzione multielementare a concentrazione nota di ogni elemento, utilizzata al fine di verificare quotidianamente le prestazioni dello strumento.
- 1.5. Soluzioni di riferimento per la curva di taratura: serie di soluzioni contenenti quantità note di Zn, utilizzate per il metodo di taratura mediante aggiunte note (v. 1.6).
- 1.6. Metodo di taratura mediante aggiunte note: metodo per la preparazione della curva di taratura che prevede l'aggiunta in quantità crescente delle soluzioni 1.5 a più aliquote dell'estratto. Tale metodo è utilizzato per ridurre le interferenze fisiche e chimiche associate alla matrice.
- 1.7. Soluzione di controllo della deriva strumentale: soluzione a concentrazione nota di Zn, utilizzata per la determinazione della deriva strumentale dovuta agli effetti di riscaldamento dello strumento.
- 1.8. Soluzioni di controllo delle interferenze spettrali: serie di soluzioni contenenti quantità note dell'elemento interferente, utilizzate per tenere sotto controllo le interferenze spettrali sulla massa analitica dello Zn.
- 1.9. Metodo della correzione matematica dell'interferente: metodo che prevede l'aggiunta in quantità crescente delle soluzioni 1.8 a più aliquote dell'estratto. Tale metodo si basa sul calcolo del valore dell'intensità dell'elemento interferente in corrispondenza della massa analitica dello Zn, valore che viene sottratto per ottenere il segnale dovuto allo Zn.
- 1.10. Metodo della standardizzazione interna: metodo che prevede l'aggiunta di quantità note della soluzione dello standard interno alla soluzione del bianco dei reagenti, alle soluzioni di riferimento per la curva di taratura e agli estratti. Tale metodo è utilizzato per la compensazione della deriva strumentale.

- 1.11. Limite di rivelabilità (LOD, *limit of detection*): concentrazione equivalente al segnale dello Zn pari a tre volte lo scarto tipo di misurazioni effettuate su dieci aliquote indipendenti di un campione contenente una bassa concentrazione di Zn.
- 1.12. Ripetibilità: scarto tipo relativo di misurazioni effettuate dallo stesso operatore, con la stessa strumentazione e nello stesso giorno, su dieci estratti indipendenti del *pellet*.
- 1.13. Precisione intermedia con tempi diversi: scarto tipo relativo di misurazioni effettuate dallo stesso operatore, con la stessa strumentazione e in giorni diversi, su dieci estratti indipendenti del *pellet*.
- 1.14. Precisione intermedia con tempi e operatori diversi: scarto tipo relativo di misurazioni effettuate cambiando operatore e in giorni diversi, su dieci estratti indipendenti del *pellet*.

2. Scopo e campo di applicazione

Il metodo è stato sviluppato per la determinazione dello Zn nell'eluato di materiali di origine elastomerica in forma di *pellet* mediante spettrometria di massa con sorgente a plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS).

Per questo scopo è stato impiegato uno strumento ad alta risoluzione (HR-ICP-MS); tuttavia la determinazione può essere effettuata anche con un ICP-MS a bassa risoluzione (LR-ICP-MS) rispettando i requisiti del programma di assicurazione di qualità descritto in sezione 6.5.

Il metodo consente di rivelare concentrazioni di Zn nell'eluato dell'ordine di 0,010 mg/L con un HR-ICP-MS. Se la determinazione viene effettuata in LR-ICP-MS, il Laboratorio deve determinare la minima concentrazione rivelabile di Zn.

Il metodo è stato sottoposto a validazione intra-laboratorio (*in-house*) ottenendo i risultati riportati in sezione 6.6.

3. Principio del metodo

Lo Zn è estratto dal *pellet* con acqua deionizzata e determinato mediante ICP-MS. Per la quantificazione è impiegato il metodo di taratura mediante aggiunte note ed il metodo della standardizzazione interna. A ciascuna serie di estratti è abbinata l'analisi della soluzione del bianco dei reagenti e della soluzione di controllo della deriva strumentale.

4. Materiali e apparecchiature

- 4.1. Bottiglie di materiale plastico di capacità idonea per l'estrazione del campione.
- 4.2. Piastra agitante per l'estrazione dal campione.
- 4.3. Filtri in fibra di vetro per la filtrazione dell'estratto.
- 4.4. Strumento ICP-MS.

5. Soluzioni

- 5.1. Soluzione del bianco dei reagenti (v. 1.3).
- 5.2. Soluzione per l'ottimizzazione dello strumento (v. 1.4).
- 5.3. Soluzioni di riferimento per la curva di taratura (v. 1.5).
- 5.4. Soluzione di controllo della deriva strumentale (v. 1.7).
- 5.5. Soluzioni di controllo delle interferenze spettrali (v. 1.8).
- 5.6. Soluzione dello standard interno (v. 1.10).

6. Procedura analitica

Durante la procedura analitica occorre evitare che si verifichino contaminazioni o perdite di Zn. Sono potenziali fonti di contaminazione la polvere presente nell'ambiente di laboratorio e le impurità nelle apparecchiature di laboratorio che entrano in contatto con il campione. Le bottiglie per l'estrazione devono essere lavate, prima dell'uso, con acido nitrico al 10% in volume e quindi risciacquate con acqua deionizzata.

Ogni reperto (v. 1.1) deve essere analizzato almeno in duplicato, mediante prelievo dal reperto di almeno due aliquote che vengono poi sottoposte a determinazioni indipendenti.

6.1. Estrazione

- 6.1.1. Prima dell'estrazione occorre assicurarsi che il *pellet* sia esente da materiale estraneo di varia provenienza (erba, aghi di pino, ecc.). Qualora necessario, separare manualmente tale materiale dal *pellet*.
- 6.1.2. L'estrazione viene effettuata secondo il Metodo DIN 38414-4 (1). Il *pellet* (almeno 10 g) è estratto con acqua deionizzata in un rapporto 1:10 campione:acqua sotto agitazione su piastra a temperatura ambiente per 24 ore. L'estratto è filtrato su filtro in fibra di vetro. Il *pellet* è estratto una seconda volta con acqua deionizzata fresca in quantità pari alla prima estrazione per altre 24 ore a temperatura ambiente e sotto agitazione su piastra. Dopo filtrazione, il secondo estratto è utilizzato per la determinazione strumentale.

6.2. Determinazione strumentale

- 6.2.1. Lo Zn è determinato sul secondo estratto tramite ICP-MS. Un esempio di condizioni operative per un HR-ICP-MS è riportato in Tabella 1. Il gallio (Ga) è usato come standard interno (v. 1.10).

Tabella 1. Esempio di condizioni operative adottate per la determinazione dello Zn

HR-ICP-MS	Condizione operativa
Radiofrequenza (W)	1200
Nebulizzatore	Tipo Meinhard
Camera di nebulizzazione	Tipo Scott raffreddata con acqua
Torcia	Equipaggiata con <i>guard electrode</i>
Coni all'interfaccia	Nichel
Flussi di argon (L/min)	Plasma, 14,0; Ausiliario, 1,0; Campione, 0,9
Masse analitiche	⁶⁴ Zn, ⁶⁶ Zn, ⁶⁸ Zn
Standard interno	⁶⁹ Ga
Risoluzione (m/Δm)	4000
Interferenze spettrali	SiAr ⁺ , MgAr ⁺ , SAr ⁺ , CaO ⁺ , CrO ⁺ , VO ⁺ , SOO ⁺

- 6.2.2. Nell'ambito della determinazione strumentale sono adottate le seguenti procedure di ottimizzazione e controllo delle prestazioni dello strumento:
- Prima di cominciare, lasciare che lo strumento raggiunga la stabilità termica;
 - verificare le prestazioni dello strumento usando la soluzione per l'ottimizzazione dello strumento;
 - analizzare in sequenza la soluzione del bianco dei reagenti, le soluzioni di riferimento per la curva di taratura e poi gli estratti;
 - analizzare la soluzione di controllo della deriva strumentale ogni 10 campioni. Una deriva > 10% rispetto alla precedente misurazione ottenuta con la stessa soluzione comporta una conseguente azione correttiva.
- 6.2.3. Qualora necessario, effettuare una diluizione dell'estratto prima della determinazione strumentale.

6.3. Interferenze

- 6.3.1. Le interferenze spettrali, fisiche e chimiche possono causare errori nella determinazione dello Zn e perciò devono essere corrette, ridotte o compensate. La Tabella 1 elenca le interferenze spettrali più importanti alle masse analitiche suggerite per l'analisi.
- 6.3.2. Lo strumento HR-ICP-MS permette di separare il segnale degli interferenti spettrali da quello dello Zn lavorando in media risoluzione ($m/\Delta m = 4000$). Con un ICP-MS a bassa risoluzione è possibile correggere l'effetto degli interferenti tramite il metodo della correzione matematica dell'interferente (v. 2.8) o tramite l'uso di celle di reazione o collisione.
- 6.3.3. Le interferenze fisiche e chimiche sono generalmente associate alla nebulizzazione e ionizzazione del campione. Il metodo di taratura mediante aggiunte note è usato per ridurre tali interferenze.

6.4. Calcoli ed espressione dei risultati

Sottrarre il valore della soluzione del bianco dei reagenti da tutti i risultati. Se sono state effettuate delle diluizioni, applicare il fattore appropriato ai risultati. Riportare il risultato come media dei campioni replicati (v. 6). Ai fini della conformità ai valori limite indicati nella normativa, i risultati con valore di ufficialità devono essere riportati nelle stesse unità di misura e con lo stesso numero di cifre decimali presenti nell'atto normativo.

I risultati “non rivelabile” devono essere riportati con la dizione “< LOD”, accompagnata da una nota che riporti il valore, espresso in mg/L eluato, corrispondente al LOD (v. 1.11).

7. Verifica della qualità dei dati

Il seguente programma di assicurazione di qualità deve essere attuato dal Laboratorio che usa il presente metodo. L’ottenimento di valori diversi da quelli qui riportati comporta una specifica valutazione di congruenza ed eventuali azioni correttive, se influiscono significativamente sul risultato, in particolare sulla valutazione di conformità.

- 7.1. Calcolo del LOD: il LOD (v. 1.11), espresso in mg/L eluato, deve essere $\leq 10\%$ del valore limite indicato nella normativa.
- 7.2. Calcolo della ripetibilità (v. 1.12): lo scarto tipo relativo deve essere $\leq 10\%$.
- 7.3. Calcolo della precisione intermedia con tempi diversi (v. 1.13): lo scarto tipo relativo deve essere $\leq 10\%$.
- 7.4. Calcolo della precisione intermedia con tempi e operatori diversi (v. 1.14): lo scarto tipo relativo deve essere $\leq 20\%$.
- 7.5. Calcolo del recupero: è determinato come media delle misurazioni effettuate su dieci estratti indipendenti del *pellet* fortificato. La quantità aggiunta di Zn è quella corrispondente a una concentrazione pari al valore limite indicato nella normativa $\pm 20\%$. La fortificazione è effettuata prima della seconda estrazione. L’intervallo accettabile di recupero è dal 90% al 110%.

8. Risultati della validazione intra-laboratorio (*in-house*) del metodo

Le prestazioni ottenute nell’ambito della validazione sono riportate in Tabella 2.

Tabella 2. Prestazioni ottenute nell’ambito della validazione intralaboratorio (*in-house*) del metodo mediante HR-ICP-MS

Parametro analitico	Valore ottenuto
LOD (mg/L eluato)	0,01
Ripetibilità (%)	3
Precisione intermedia con tempi diversi (%)	5
Precisione intermedia con tempi e operatori diversi (%)	12
Recupero (%)	103
Incertezza estesa (%)	25

Nota. L’incertezza estesa è calcolata in accordo con le indicazioni fornite da Eurachem/Citac (2), applicando un fattore di copertura $k = 2$.

Bibliografia

1. DIN 38414-4. *German standard methods for the examination of water, waste water and sludge; sludge and sediments (group S); determination of leachability by water (S4)*. Berlino: Deutsches Institut für Normung e. V.; 1984.
2. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A (Ed.). *Eurachem/Citac Guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement (QUAM)*. Teddington (UK): Eurachem-LGC; 2000. Traduzione italiana: Patriarca M, Chiodo F, Corsetti F, Rossi B, Menditto A, Segà M, Plassa M (2003). *Quantificazione dell'incertezza nelle misure analitiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/30).

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

Stampato in proprio

Roma, aprile-giugno 2010 (n. 2) 2° Suppl.