

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità
"Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento"**

**Determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)
Metodo per cromatografia liquida (HPLC)**

A cura di G. Viviano e S. Fuselli

Laboratorio di Igiene Ambientale

Istituto Superiore di Sanità, Roma

Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA). Metodo per cromatografia liquida (HPLC).

G. Viviano, S. Fuselli (Ed)

Dic 90, 15 p. Rapporti ISTISAN 90/34 (In Italiano)

Viene proposta una metodica per la determinazione analitica cromatografica di Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle emissioni di impianti di incenerimento. Questa metodica integra quella già pubblicata dallo stesso gruppo di studio Emissioni Atmosferiche da Impianti di Incenerimento nel rapporto ISTISAN 88/19 "Campionamento e dosaggio di micropollutanti in flussi gassosi convogliati". Per la parte di campionamento ed estrazione si fa riferimento alle metodiche già descritte nel citato rapporto. L'analisi per la determinazione degli IPA viene descritta partendo dall'estratto organico dei campioni: procedure di purificazione, concentrazione, condizioni analitiche, analisi, resoconto.

Parole chiave: Analisi mediante cromatografia liquida (HPLC), Emissioni, Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), Micropollutanti organici.

Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy)

Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento" (Study group of the Italian National Institute of Health "Atmospheric emissions from incinerator plants"). Sampling and dosage of micropollutants in incinerator emissions. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH). High performance liquid chromatography (HPLC).

G. Viviano, S. Fuselli (Eds)

Dec 90, 15 p. Rapporti ISTISAN (ISTISAN Reports) 90/34 (In Italian)

A method is proposed for determining Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in incinerator emissions. This method integrates the one already published by this study group on Atmospheric Emissions from Incinerator Plants in ISTISAN report 88/19 entitled "Campionamento e dosaggio di micropollutanti in flussi gassosi convogliati" (Sampling and dosage of micropollutants in emissions). Reference can be made to the above mentioned report for more details regarding the sampling and extraction methods. The analysis for determining PAH is described starting from the organic extract of samples: procedures of purification, concentration, analytic conditions, analysis and conclusions.

Key words: Emission monitoring, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Organic micropollutants, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH).

Premessa

Le problematiche ambientali connesse con lo smaltimento dei rifiuti sono state oggetto in questi anni, di numerose iniziative sia sul campo della ricerca che della normativa, tese a regolamentare tale settore.

La necessità di fornire indicazioni atte a portare maggiore chiarezza in tale importante settore ha sollecitato numerosi interventi; in particolare, a seguito di specifiche richieste del Ministero della Sanità, è stato attivato presso l'Istituto Superiore di Sanità, che peraltro segue da tempo queste problematiche, un Gruppo di Studio (GdS) "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento".

Detto gruppo ha iniziato i suoi lavori nel dicembre 1986 con la partecipazione di esperti del Ministero della Sanità e dell'Ambiente, delle Regioni, del CNR, Dell'ISPESL ed anche di singoli esperti di Università, dell'UNICHIM, di alcuni settori dell'industria, che vengono di volta in volta invitati a collaborare.

Lo scopo che il GdS si propone è quello di fare il punto della situazione attuale in Italia degli impianti di incenerimento (cicli tecnologici, emissioni, fattori di emissione, contenimento del carico inquinante) e di esaminare il problema del campionamento e della successiva analisi delle emissioni di questi impianti.

Le metodiche che qui si propongono vengono già utilizzate con buoni risultati sia in termini di praticità e flessibilità di applicazione, sia dal punto di vista analitico.

Va tuttavia ricordato come l'utilizzo di qualsiasi metodica di rilevamento e di analisi vada modulato di volta in volta a seconda della situazione specifica da affrontare. A tale proposito si ricorda che i metodi proposti dal GdS, pur essendo già in uso, sono tuttavia in corso di ulteriore verifica fra vari Laboratori.

Il presente lavoro è stato elaborato con la collaborazione del Gruppo di Lavoro "Emissioni" dell'UNICHIM, coordinato dal Perito industriale Sig. Aurelio Quercia.

Si ritiene che i lavori di questo GdS possano costituire un concreto punto di riferimento per operatori di settore, in particolare per la elaborazione di Linee Guida e Normative che possano portare un pratico contributo alla soluzione dei problemi legati alla gestione dei rifiuti.

Il Coordinatore del GdS
Dott. Giuseppe Viviano
Reparto: Metodologie per la Tutela dell'Ambiente
Laboratorio di Igiene Ambientale
Istituto Superiore di Sanità, Roma

COMPONENTI DEL GRUPPO DI STUDIO ED ENTE DI APPARTENENZA

Leonello Angelini	Ministero dell'Ambiente
Domenico Brocco	CNR Roma
Giancarlo Canciani	Regione Liguria
Riccardo Cenerini	AMIU Bologna
Saverio Ciriminna	Regione Sicilia
Eli Cosma	Regione Veneto
Carla Contardi	Regione Piemonte
Anna M. Cultrera	Regione Umbria
Vincenzo Di Croce	Regione Basilicata
Alessandro di Domenico	Istituto Superiore di Sanità
Iris Flacco	Regione Abruzzo
Gianni Frizzera	Provincia Autonoma di Trento
Sergio Fuselli	Istituto Superiore di Sanità
Luca Lepore	ISPESL
Marina Lucchini	Regione Lombardia
Michele Marras	Regione Sardegna
Franco Merli	Istituto Superiore di Sanità
Luciano Morselli	Università di Bologna
Eugenio Pacelli	Regione Lazio
Piero Pagotto	Regione Emilia Romagna
Gilberto Paoloni	Regione Marche
Augusto Piccioni	Istituto Superiore di Sanità

Elio Ramaglia	Regione Campania
Martino Raffaele Repole	Regione Puglia
Mario Romanelli	Regione Toscana
Mauro Rotatori	CNR Roma
Luciano Seller	Ministero della Sanità
Antonio Senni	Ministero dell'Ambiente
Raffaele Vistocco	Provincia A. Bolzano
Giuseppe Viviano (Coordinatore)	Istituto Superiore di Sanità
Giovanni Zapponi	Istituto Superiore di Sanità
Giovanni Ziemacki	Istituto Superiore di Sanità

COMITATO DI REDAZIONE

Sergio Fuselli	Istituto Superiore di Sanità
Antonia Incerti	USL n. 9 Reggio Emilia
Luciano Morselli	Università di Bologna
Giovanni Muccioli	ANIC Ravenna
M. Laura Speranza	Provincia di Roma (Sett. Ambiente)
Vanio Viola	PMP Terni
Giuseppe Viviano	Istituto Superiore di Sanità

Gli altri documenti del GdS Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da Impianti di Incenerimento", Laboratorio di Igiene Ambientale, Reparto Metodologie per la Tutela dell'Ambiente, già pubblicati nei Rapporti ISTISAN sono:

- "CAMPIONAMENTO E DOSAGGIO DI MICROINQUINANTI IN FLUSSI GASSOSI E CONVOGLIATI":
 - A) Campionamento.
 - B) Determinazione delle Policlorodibenzodiossine (PCDD) e dei Policlorodibenzofurani (PCDF) - Metodo Gascromatografico e Spettrometria di Massa.
 - C) Determinazione dei metalli - Metodo per Spettrofotometria di Assorbimento Atomico.
 - C.1) Determinazione del Mercurio totale - Metodo ad Assorbimento Atomico.

(Rapporto ISTISAN 88/19)

- "CENSIMENTO DEGLI IMPIANTI DI INCENERIMENTO DI RIFIUTI NEL TERRITORIO NAZIONALE"
Lavoro svolto in collaborazione con il progetto "RIRI" (Rilevamento dati sulla produzione e smaltimento dei rifiuti)

(Rapporto ISTISAN 88/37)

- "CICLI TECNOLOGICI DI TERMODISTRUZIONE DEI RIFIUTI SOLIDI URBANI".

(Rapporto ISTISAN 89/15)

- "DETERMINAZIONE DEGLI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA) - METODO GASCROMATOGRAFICO".

(Rapporto ISTISAN 90/33)

DETERMINAZIONE DEGLI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA) METODO PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA (HPLC)

1. Oggetto e campo di applicazione

Il metodo descrive l'analisi per cromatografia liquida degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) presenti sotto forma particellare ed allo stato di vapore, in aeriformi convogliati.

Il metodo consente l'identificazione e il dosaggio degli IPA individuali riportati in tabella 1, (elencati in ordine di eluizione cromatografica), indicati come prioritari dall'EPA per la loro determinazione nelle acque.

Va sottolineato che, quanto alle determinazioni quantitative, i risultati relativi alle specie più volatili (i primi quattro IPA della tabella 1) possono essere inficiati da notevoli incertezze in quanto il loro recupero non è costante nella procedura di purificazione.

Per l'analisi di campioni di emissioni aventi masse pari a 1 g se particolati, ovvero volumi pari a 1 l. se acquosi, il metodo consente di valutare concentrazioni di IPA individuali come riportato in tabella 2.

2. Principio

Un'aliquota degli estratti organici provenienti dalla estrazione del materiale particellare, dalla condensa e dai vapori non condensati (vedi figura 1) viene concentrata, purificata e sottoposta ad analisi mediante cromatografia liquida con rivelatore UV in serie ad un rivelatore a Fluorescenza.

3. Interferenze

Le operazioni di purificazione dei campioni per isolare gli IPA permettono di ridurre al minimo le interferenze.

4. Reagenti

Per l'analisi utilizzare reagenti aventi grado di

purezza analitica tale che una prova in bianco, nelle stesse condizioni analitiche, non dia interferenze.

- 4.1. Solfato di sodio anidro
- 4.2. Toluene
- 4.3. Standard di IPA
- 4.4. Gel di silice (tipo Merck 60, 70 - 230 mesh), essiccato a 180°C per due ore e, dopo lavaggio con circa 200 ml di Alcool metilico (4.10) e con 200 ml di Metilene cloruro (4.11), viene nuovamente essiccato a 180°C per circa 1 ora
- 4.5. n-esano
- 4.6. Acqua bidistillata
- 4.7. Acetonitrile per HPLC
- 4.8. Lastrine di gel di silice con indicatore di fluorescenza, 20x20 cm con spessore 1 mm, per cromatografia su strato sottile (TLC)
- 4.9. Azoto UPP ulteriormente purificato con gel di silice e setacci molecolari
- 4.10. Alcool metilico
- 4.11. Metilene cloruro

5. Apparecchiature

Normale attrezzatura di laboratorio e:

- 5.1. Colonna cromatografica in vetro (diametro interno 1 cm, lunghezza 15 cm).
- 5.2. Microsiringhe da 10-100 µl.
- 5.3. Strumentazione cromatografica costituita da:
 - cromatografo liquido a doppia pompa corredato da un sistema di gradiente - precolonna e colonna cromatografica C18 che permetta la separazione degli IPA riportati in tabella 1;
 - rivelatore UV;
 - rivelatore a Fluorescenza;
 - sistema di registrazione per i rivelatori;
- 5.4. Pipette Pasteur.
- 5.5. Vaschetta per l'eluizione delle lastrine 4.8.
- 5.6. Lampada UV ad emissione 254 nm.

6. Purificazione ed analisi cromatografica (HPLC)

Per il dosaggio degli IPA nei campioni, è necessario operare sulla aliquota degli estratti organici (figura 1),

con una delle due procedure di purificazione descritte al punto 6.1, 6.2. e calcolare la percentuale dei recuperi, applicando la procedura analitica a miscele standard di IPA ad opportune concentrazioni.

6.1. Purificazione degli IPA mediante cromatografia su colonna.

Impaccare la colonna (5.1.) con 3 g di gel di silice (4.4.) e 0.5 g di solfato di sodio anidro (4.1.) nella parte superiore e pre-eluire con 5 ml circa di n-esano.

Trasferire la soluzione campione degli estratti organici per la determinazione degli IPA (figura 1), portata a piccolo volume (300-400 μ l), in testa alla colonna: evitare durante tutta l'operazione che il solfato di sodio anidro, rimanga esposto all'aria a causa della completa eluizione del solvente.

Eluire con 10 ml di n-esano per eliminare gli idrocarburi alifatici.

Eluire quindi gli IPA con 20 ml di toluene che vengono raccolti e concentrati a piccolo volume (50-100 μ l) ed addizionati di piccole quantità (circa 200 μ l) di acetone trile concentrando dopo ogni aggiunta in corrente di azoto UPP a temperatura ambiente. Si opera in tal modo per almeno tre volte per eliminare il più possibile la presenza di toluene al fine di evitare interferenze nell'analisi.

Diluire il campione a volume noto (200-300 μ l) con aggiunta di acetonitrile (4.7.) e sottoporre ad analisi.

6.2. Purificazione degli IPA con cromatografia su strato sottile (TLC).

Depositare sulla lastrina per TLC (4.8.) a circa 1 cm dal bordo inferiore, la soluzione campione degli estratti organici per la determinazione degli IPA (figura 1), portata a piccolo volume (100 μ l). Lavare il contenitore del campione con circa 200 μ l di toluene e depositare di nuovo. A lato della lastrina, ad opportuna distanza dalla linea di semina del campione, porre una semina puntiforme della miscela standard degli IPA al fine di individuare successivamente la superficie adsorbente da asportare.

Porre nella vaschetta (5.5) una miscela di n-esano e toluene (1:1), e dopo almeno un'ora, porre la lastrina all'interno della vaschetta. Eluire fino ad 1 cm dal bordo superiore.

Togliere la lastrina e asciugarla all'aria sotto cappa al buio. Con la lampada UV (5.6.) evidenziare la fluorescen-

8. Determinazione quantitativa

Per la determinazione quantitativa di ciascun IPA si utilizza il metodo di calcolo dello standard esterno.

La concentrazione (C_i), espressa in $\mu\text{g}/\text{m}^3$ del componente i esimo nell'emissione, si calcola applicando le seguenti espressioni:

$$1) \quad C_{xi} = \frac{A_{xi} C_{si} R\%}{A_{si} 100}$$

dove C_{xi} = concentrazione in $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ del componente i esimo nel campione

A_{xi} = Area del componente i esimo nel campione

C_{si} = concentrazione in $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ del componente i esimo nella miscela standard.

A_{si} = area del componente i esimo nella miscela standard

$R\%$ = recupero percentuale del componente i esimo

$$2) \quad C_i = \frac{C_{xi} v_t}{V} \times 1000$$

dove v_t = volume del campione in μl dopo purificazione (punto 6.1. o 6.2.)

V = volume in litri aspirati in condizioni di 0°C e 1013 mbar.

9. Considerazioni operative di analisi

Per la determinazione analitica degli IPA riportati in tab. 1 è necessario utilizzare due rivelatori: UV e Fluorescenza in serie per lo scarso o nullo assorbimento di alcuni essi in uno dei due rivelatori e per ridurre gli errori (rivelatore UV) dovuti ad eventuali interferenti coeluenti.

Per il rivelatore UV si utilizza la lunghezza d'onda di 254 nm fissa; con la rivelazione a fluorescenza, onde ottenere una omogeneità di risposta fra i vari IPA, è necessario utilizzare almeno due valori di lunghezza d'onda in emissione mantenendo costante quella di eccitazione.

L'analisi deve essere eseguita utilizzando come eluente la miscela di solventi Acqua/Acetonitrile. Il gradiente di concentrazione e il flusso devono essere scelti in modo tale da ottenere la migliore separazione degli IPA considerati (le colonne cromatografiche C18 in fase inversa presenti in commercio differiscono fra loro nelle caratteristiche di separazione ed è quindi necessario per ogni colonna C18 ottimizzare la separazione degli IPA).

A titolo puramente indicativo si riporta in (tab. 1) l'ordine di eluizione della miscela standard di IPA (4.3): nelle condizioni analitiche riportate al punto 7.

10. Resoconto della prova

Nel resoconto del rilevamento riportare le seguenti indicazioni:

- Esatta indicazione del punto di emissione controllato
- Data ed ora del prelievo con eventuali annotazioni circa la conduzione dell'impianto a monte del condotto controllato
- Riferimento del metodo impiegato
- Risultati ed unità di misura nei quali vengono espressi
- Eventuali particolarità rilevate durante il corso della prova
- Operazioni non citate nel presente metodo, a cui si è dovuto fare ricorso durante le prove.

Tabella 1

IPA in ordine di eluizione cromatografica.

Composto	Abbr.	Peso mol.	Classe di cancer. (1)
1. Naftalene	NA	128	NV
2. Acenaftilene	ACL	152	NV
3. Acenaftene	AC	154	NV
4. Fluorene	FL	166	3
5. Fenantrene	PHE	179	3
6. Antracene	AN	178	3
7. Fluorantene	FA	202	3
8. Pirene	PY	202	3
9. Benzo(a)antracene	BaA	228	2A
10. Crisene	CHR	228	3
11. Benzo(b)fluorantene	BbF	252	2B
12. Benzo(k)fluorantene	BkF	252	2B
13. Benzo(a)pirene	BaP	252	2A
14. Dibenzo(a,h)antracene	DBahA	278	2A
15. Benzo(ghi)perilene	BghiPE	276	3
16. Indeno(1,2,3-cd)pirene	IPY	276	2B

(1) Classificazione di cancerogenicità ("valutazione globale") secondo la International Agency for Research on Cancer (IARC), 1987.

NV = Non Valutato.

2A = Probabile cancerogenicità per l'uomo.

2B = Possibile cancerogenicità per l'uomo.

3 = Non classificabile rispetto alla cancerogenicità per l'uomo.

Tabella 2

Concentrazioni minime rivelabili espresse in ng/g di particolato o ng/L di condensa degli IPA considerati, introdotti in un "loop" da 20 µl nelle condizioni operative descritte nel metodo (punto 7.).

IPA	UV 254 nm (ng/g-ng/L)	FLUORESCENZA	
		ec./em. 265-360 nm (ng/g-ng/L)	ec./em. 265-420 nm (ng/g-ng/L)
1. NA	25	n.v.	
2. ACL	25	n.v.	
3. AC	50	n.v.	
4. FL	5	n.v.	
5. PHE	2	n.v.	
6. AN	1	0,5	
7. FA	3	1,0	
8. PY	2	1,0	
9. BaA	3		0,5
10. CHR	2		1,0
11. BbF	2		0,5
12. BKF	3		0,3
13. BaP	3		0,3
14. DBahA	5		1,0
15. BghiPE	5		1,0
16. IPY	2		n.v.

n.v. - Non valutabile nel rapporto segnale-noise >5.

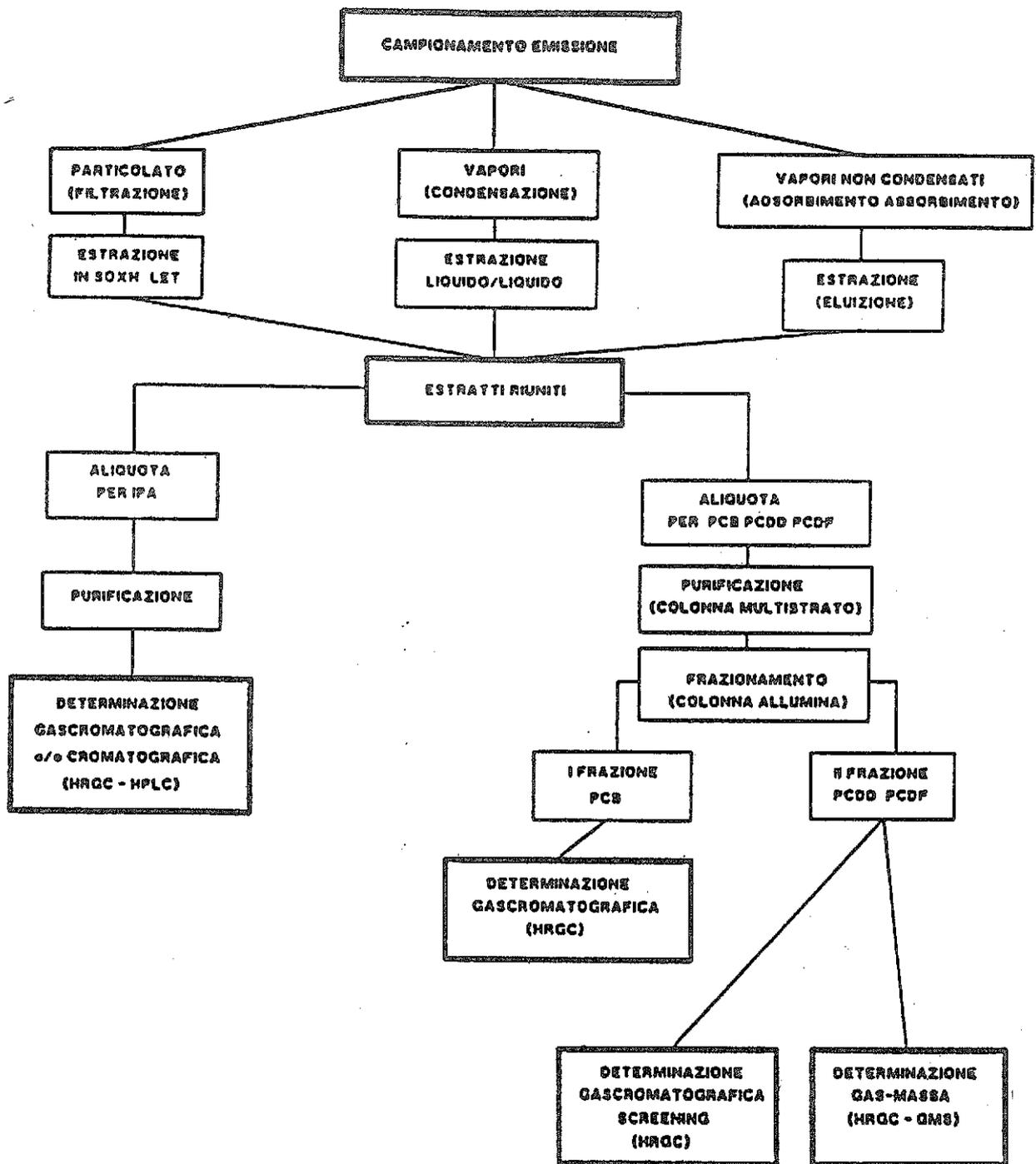


FIGURA 1 - Schema di trattamento dei campioni

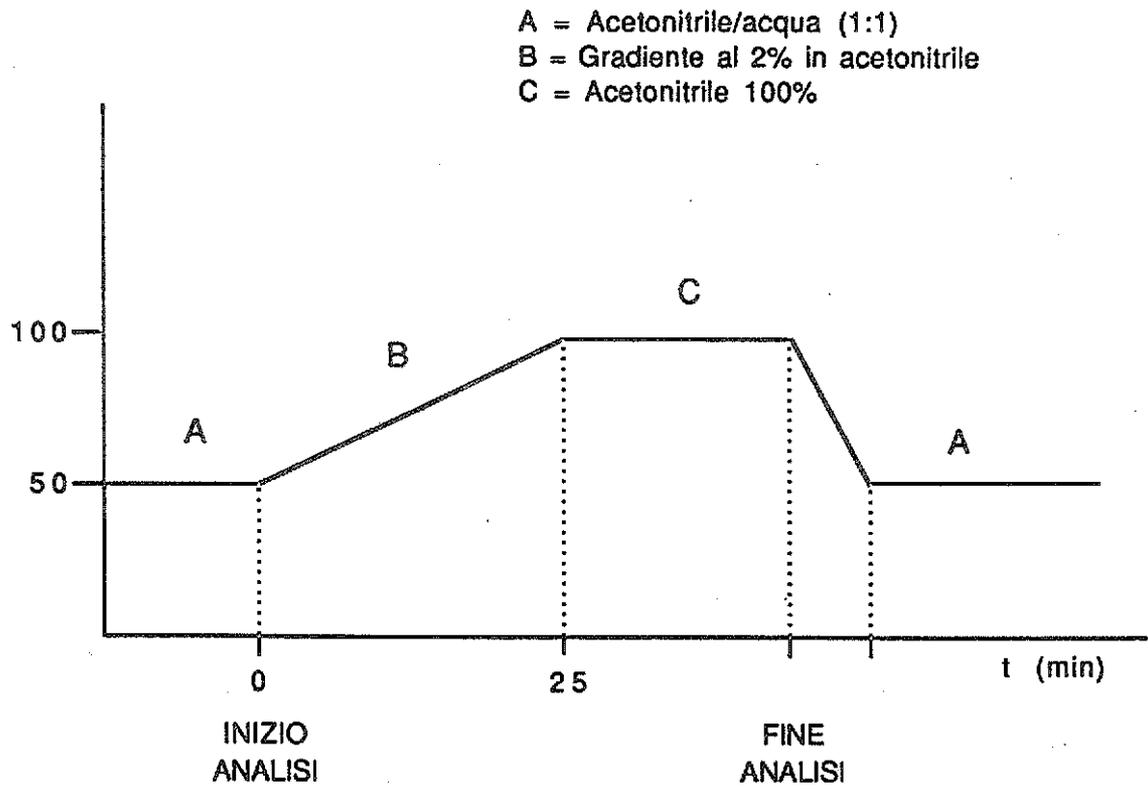


FIGURA 2 - Gradiente di eluizione cromatografico

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità
e Responsabile scientifico: Francesco Antonio Manzoli*

Direttore responsabile: Vilma Alberani

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, dicembre 1990 (n. 4) 5° Suppl.

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*