

Indagini analitiche su oli alimentari sofisticati responsabili della « polmonite atipica » verificatasi in Spagna

A. GAUDIANO, A. BOCCA, A. CANTAFORA, F. FABIETTI, A. DI BIASE, M. DELISE e L. DEL GIOVINE

Laboratorio degli Alimenti, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Gli AA. hanno elaborato alcuni metodi sensibili per evidenziare e dosare l'anilina e le anilidi presenti in alcuni oli adulterati provenienti dalla Spagna. Due metodi sono qualitativi e semiquantitativi: un metodo spettrofotometrico basato sulla misura dell'azocolore che si forma tra anilina libera diazotata e sale R, ed un metodo basato sulla determinazione nell'U.V. dopo separazione per cromatografia su strato sottile. Il terzo metodo, quantitativo oltre che qualitativo, consiste nella separazione per cromatografia in fase liquida ad alta pressione, dopo una purificazione preliminare.

Summary (Analytical Study on Adulterated Cooking Oils Responsible for « Toxic Pneumonia » in Spain). - The Authors have worked out some sensitive methods to detect and determine aniline and anilides which are present in some adulterated oils from Spain. Two methods are qualitative and semi-quantitative: a spectrophotometric one, based on the measure of the azocolour that is formed in the reaction between diazotized free aniline and R salt, and an U.V. method, employed after TLC-separation. The third method is quantitative, as well as qualitative; it consists on separation by HPLC, after a preliminary purification.

INTRODUZIONE.

Motivazione dell'indagine. - A partire dal mese di maggio 1981 si sono verificati in Spagna numerosi casi, talora mortali, di una sindrome morbosa che, per il fatto di interessare precipuamente i polmoni, pur non avendo tutte le caratteristiche di una polmonite, è stata denominata « polmonite atipica ».

Esclusa, dopo le prime incertezze, la natura infettiva del morbo, si scoprì che la sua insorgenza era legata al consumo di un olio (venduto come olio di oliva in recipienti di plastica anonimi non sigillati) ricavato da olio di colza denaturato per uso industriale mediante aggiunta del 2% di anilina grezza. L'olio così denaturato aveva un colore bruno e un odore sgradevole che ne escludevano l'impiego alimentare. La sua raffinazione, effettuata fraudolentemente per renderlo commestibile, era riuscita a conferirgli proprietà organolettiche accettabili, ma aveva provocato, almeno in alcune partite, una reazione chimica imprevista, in seguito alla quale si erano formate anilidi di acidi grassi. All'oleo-anilide, prodotto presente in maggiore concentrazione, sarebbe da attribuire, essenzialmente se non esclusivamente, l'azione tossica del predetto olio [1].

Sebbene non fossero segnalati, in Italia, casi di intossicazione da olio, l'Istituto Superiore di Sanità si preoccupò, allo scopo di prevenire tale eventualità, di elaborare rapidamente un metodo analitico atto a svelare la presenza di olio tossico, anche se miscelato in basse percentuali con olio commestibile, onde fornirlo tempestivamente ai laboratori di controllo periferici. Solo a metà ottobre l'I.S.S. venne in possesso di due campioni di olio incriminato (A e B), provenienti dall'Ambasciata spagnola a Roma (di essi, tuttavia, solo uno risultò contenere derivati dell'anilina). Successivamente, l'Istituto ricevette dall'Ambasciata italiana a Madrid, tramite il Ministero degli Affari Esteri, un altro campione di olio tossico (C) e, infine, un olio denaturato con il 2% di anilina grezza (D). Lavorando su tali campioni sono stati elaborati alcuni metodi atti a svelare e/o dosare anilina e suoi derivati negli oli alimentari.

Orientamento nell'elaborazione dei metodi analitici. - Ci si è preoccupati di predisporre innanzitutto metodi sensibili e di facile attuazione in laboratori muniti di normali attrezzature, anche se solo semiquantitativi; è stato poi elaborato un metodo più sofisticato, che usa la cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) ed è rigorosamente quantitativo.

Il metodo I è basato sull'idrolisi acida dell'olio e successiva determinazione colorimetrica [2], mediante diazotazione e copulazione, con sale R, dell'anilina libera. Esso è quantitativo per l'anilina libera, ma siccome il processo di idrolisi non è completo neanche dopo 12 ore, viene qui suggerito, per non prolungare troppo l'analisi, di fermare l'idrolisi dopo 4 ore. In queste condizioni si libera circa 1/3 dell'anilina combinata. Se si omette l'idrolisi si può dosare l'anilina libera preesistente.

Il metodo II permette di svelare rapidamente la presenza di anilina libera e anilidi mediante cromatografia su strato sottile (TLC). Esso può essere reso semiquantitativo procedendo ad eluzione delle frazioni separate e loro misura nell'U.V.

Il metodo III permette una rigorosa misura quantitativa, sia delle singole anilidi che dell'anilina libera, sottoponendo un estratto dell'olio ad esame HPLC.

PARTE SPERIMENTALE.

Preparazione delle anilidi di acidi grassi. - Per la messa a punto dei metodi II e III è stato necessario prepa-

rare alcune anilidi di acidi grassi, non disponibili in commercio: l'oleo-anilide e la stearo-anilide. La loro preparazione è stata realizzata scaldando a fiamma diretta, per 2 ore, in presenza di una traccia di acido solforico (oppure in tubo chiuso a 230° per 5 ore), una miscela di acido grasso e anilina, con un lieve eccesso molare di questa. Si è poi purificato il prodotto mediante ripetuti lavaggi della soluzione eterea con HCl dil., poi con KOH dil., leggermente alcolico, e infine con acqua [3].

L'identità delle anilidi ottenute per HPLC, ipotizzabile dai tempi di ritenzione, è stata confermata, per alcune di esse, mediante spettrometria di massa. I relativi spettri mostrano infatti un pattern di frammentazione tipico di una anilide (frammento $m/e = 93$, corrispondente allo ione anilinio, ed un ben evidente ione molecolare).

L'identificazione dell'eruco-anilide, che delle anilidi di acidi grassi è quella presente nei campioni in percentuale più bassa, è stata effettuata confrontando il gascromatogramma degli acidi grassi di un olio di colza (ad alto tenore di acido erucico) con il cromatogramma HPLC delle anilidi formatesi nello stesso olio dopo trattamento all'ebollizione (per 2 ore) con anilina (0,2 %) e acido acetico (10 %): il cromatogramma HPLC mostrava, oltre a parecchia acetanilide, un quadro di anilidi di acidi grassi largamente corrispondente al quadro degli acidi grassi risultante dal gascromatogramma (Figg. 1 e 2).

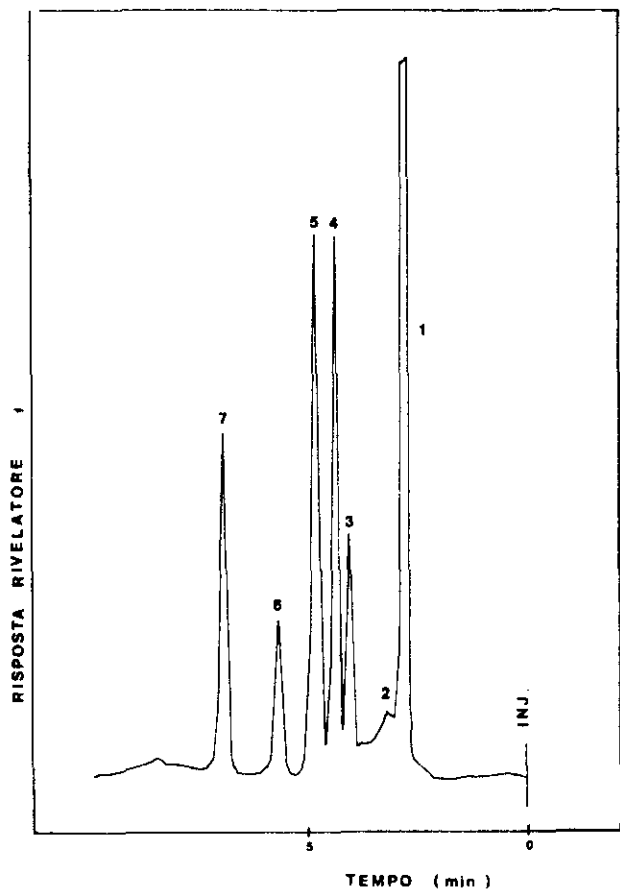


FIG. 1. - Cromatogramma HPLC di un estratto ottenuto da olio di colza (ad alto tenore di acido erucico) trattato all'ebollizione, per 2 ore, con lo 0,2 % di anilina e il 10 % di acido acetico. Identificazione dei picchi: 1) acetanilide; 2) anilina; 3) linolenanilide; 4) linoleo-anilide; 5) oleo-anilide; 6) stearo-anilide; 7) eruco-anilide

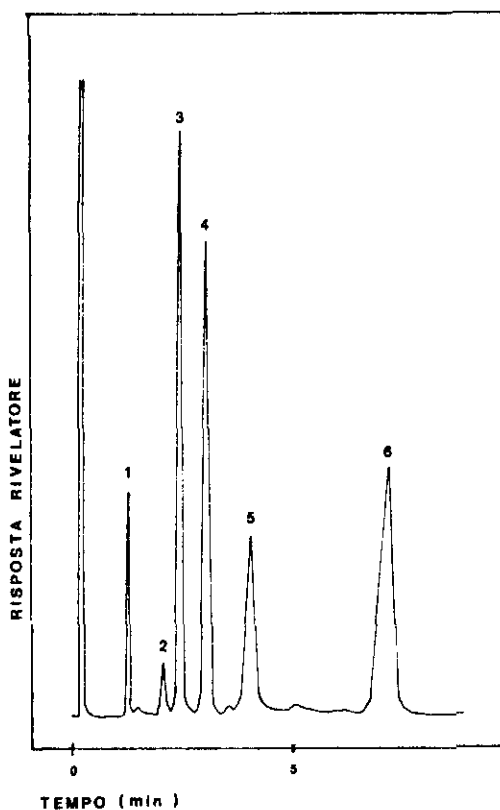


FIG. 2. - Gascromatogramma degli acidi grassi dell'olio di colza trattato con anilina e acido acetico di cui alla precedente figura. Identificazione dei picchi: 1) ac. palmitico; 2) ac. stearico; 3) ac. oleico; 4) ac. linoleico; 5) ac. linolenico + cicosenoico; 6) ac. erucico

Primo metodo (spettrofotometria nel visibile).

Reattivi.

- 1) Acido cloridrico ca. 6 N: diluire 1 : 1 con acqua l'acido cloridrico concentrato del commercio.
- 2) Soluzione di nitrito di sodio al 3,5 % m/V . La soluzione è stabile per circa un mese se conservata in frigorifero.
- 3) Soluzione di carbonato di sodio anidro al 10 % m/V .
- 4) Soluzione del sale R: sciogliere 0,8 g di sale sodico dell'acido 2-naftol-3,6-disolfonico (purificato) in 100 ml di acqua bollente; portare il pH a 7,5-8,5 aggiungendo la soluzione di carbonato di sodio (3), raffreddare a temperatura ambiente e filtrare. Questo reattivo deve essere conservato al riparo dalla luce. È stabile per non oltre un mese.
- 5) Soluzione di ammoniaca: diluire 20 ml di ammoniaca conc. (d 0,88) a 100 ml con acqua.

Procedura.

Introdurre in un pallone da 500 ml, munito di collo a smeriglio, 5 g di olio, 20 ml di acido cloridrico (1) e alcuni pezzetti di quarzo; inserire sul pallone un refrigerante a bolle e far bollire alla fiamma per 4 ore. Travasare il liquido in un imbuto separatore e lasciar separare la fase inferiore. Prelevare un'aliquota di que-

sta e diluirla 1 : 10 con acqua (se si dovesse fare una diluizione diversa, curare che la concentrazione finale dell'acido cloridrico sia circa 0,6 N). Introdurre 5 ml di questa soluzione diluita in un matraccio tarato da 25 ml assieme a 0,5 ml della soluzione di nitrito di sodio (2) e mescolare. Aggiungere, dopo due minuti, 2 ml della soluzione di carbonato di sodio (3) e, dopo agitazione, 0,5 ml della soluzione del sale R (4). Agitare, aggiungere 2 ml della soluzione di ammoniaca (5) e agitare ancora.

In presenza di anilina si sviluppa una colorazione arancione.

Portare a volume e misurare l'assorbanza a 490 nm, in una vaschetta da 1 cm, rispetto a un bianco contenente tutti i reattivi e 5 ml di HCl 0,6 N.

La quantità di anilina libera, presente dopo l'idrolisi, può essere calcolata da una curva di taratura costruita impiegando quantità scalari di anilina (da 1 a 5 ml di una soluzione acquosa, preparata di fresco, contenente 20 µg di anilina per ml).

Limite di rivelabilità.

Il limite di rivelabilità, utilizzando la tecnica sopra descritta, è di 20 µg di anilina.

Secondo metodo (cromatografia su strato sottile e spettrofotometria nell'U.V.).

Reattivi.

- 1) Metanolo puro per analisi, saturato con iso-ottano.
- 2) Iso-ottano puro per analisi, saturato con metanolo.
- 3) Etere di petrolio (*p.e.* 40-60 °C), etere etilico e acido formico (98-100 %), puri per analisi.
- 4) Lastre per cromatografia su strato sottile al gel di silice, con indicatore di fluorescenza, spessore dello strato 0,25 mm (tipo Carlo Erba - Stratocrom SIF 254), attivate in stufa a 110 °C per un'ora.
- 5) Miscela eluente per TLC: etere di petrolio ÷ etere etilico ÷ acido formico, 60 : 40 : 2 (V/V).
- 6) Soluzione standard di acetanilide all'1 % in metanolo.
- 7) Soluzione standard di oleo-anilide all'1 % in metanolo.
- 8) Soluzione standard di anilina all'1 % in metanolo.

Procedura.

a) *Estrazione.* - 2 g dell'olio in esame vengono posti in un becher e sciolti in 10 ml di iso-ottano (2). La soluzione viene trasferita in imbuto separatore. Il becher viene rilavato con altri 10 ml di iso-ottano (2), che vengono pure trasferiti nell'imbuto separatore. Si aggiungono nell'imbuto 20 ml di metanolo (1) e si agita per circa 1 minuto.

Si lasciano separare le fasi e si trasferisce la fase inferiore metanolica in un secondo imbuto separatore. La fase superiore viene estratta altre due volte con porzioni da 20 ml di metanolo (1).

Le fasi metanoliche, riunite nel secondo imbuto separatore, vengono riestratte due volte con porzioni

da 10 ml di iso-ottano (2); la fase superiore iso-ottanica viene eliminata.

La fase metanolica, purificata così dai trigliceridi, viene trasferita in un pallone a fondo tondo ed evaporata a secchezza mediante evaporatore rotante.

Il residuo viene ripreso con 2 ml di metanolo e viene conservato quindi in una provetta fornita di buona chiusura.

Tale soluzione costituisce l'*estratto purificato* da utilizzare nelle successive fasi.

b) *Analisi cromatografica su strato sottile (qualitativa).* - 10 µl dell'estratto purificato vengono deposti sulla lastra per cromatografia su strato sottile. A fianco del campione vengono deposti, come riferimento, 5 µl di ciascuna delle soluzioni standard di acetanilide (6), di oleo-anilide (7) e di anilina (8). Dopo cromatografia, si lascia asciugare la lastra e quindi la si osserva sotto la luce della lampada U.V. a bassa lunghezza d'onda. L'acetanilide e l'oleo-anilide appaiono come macchie scure su un fondo giallo con R_f , rispettivamente, di 0,15-0,20 e 0,55-0,60. Le anilidi di altri acidi grassi hanno lo stesso valore di R_f dell'oleo-anilide.

Non interferiscono il BHA (che ha un R_f di 0,70-0,72) e il BHT (che si muove col fronte del solvente); se presenti alla concentrazione dello 0,03 %, essi danno, nelle condizioni operative descritte, deboli macchie. La presenza nel campione di macchie con mobilità uguale all'acetanilide o all'oleo-anilide costituisce indizio delle sostanze sopra indicate. Il metodo può essere considerato come un efficace sistema di *screening*, pre-eliminarlo all'analisi mediante HPLC.

Limite di rivelabilità.

Il limite di rivelabilità, operando nelle condizioni sopra descritte, è di 0,5-1,0 µg di oleo-anilide.

Applicazioni semiquantitative.

Per un'accurata analisi quantitativa delle anilidi di acidi grassi si consiglia il metodo III (per HPLC). È tuttavia possibile un'analisi semiquantitativa per TLC, operando come di seguito indicato.

100 µl dell'*estratto purificato* vengono deposti sotto forma di banda, lunga 5 cm, sulla lastra. Vengono deposti al suo fianco 5 µl della soluzione standard di oleo-anilide (7). Si pone a sviluppare la lastra e, come in precedenza, la si esamina sotto luce U.V. Si delimita la banda delle anilidi in corrispondenza dello standard di oleo-anilide e si raschia il gel di silice corrispondente a questa zona. Si trasferisce quantitativamente la polvere in una colonnina di vetro munita di setto poroso e si eluisce percolando con circa 10 ml di metanolo. Si porta ad un volume esatto di 10 ml con metanolo e si esegue la determinazione spettrofotometrica misurando l'assorbanza a 241 nm contro metanolo.

Il valore di ϵ della soluzione metanolica di oleo-anilide, da noi determinato, è 12.400.

Terzo metodo (cromatografia in fase liquida ad alta pressione).

Reattivi e apparecchi.

- 1) Metanolo puro per HPLC.
- 2) Iso-ottano puro per spettrofotometria.

3) Soluzione standard di acetanilide allo 0,1% in metanolo (1).

4) Soluzione standard di oleo-anilide allo 0,1% in metanolo (1).

5) Soluzione standard di anilina allo 0,1% in metanolo (1).

6) Apparecchiatura per cromatografia in fase liquida ad alta pressione munita di rivelatore spettrofotometrico nell'U.V. e di compartimento termostato per la colonna.

Procedura.

10 µl dell'estratto metanolico purificato (vedi metodo secondo) vengono iniettati nelle seguenti condizioni operative.

Rivelatore regolato ad una lunghezza d'onda di 250 nm, attenuazione del rivelatore regolata in modo da avere il segnale a fondo scala con l'iniezione di 5 µl della soluzione standard di acetanilide.

Colonna cromatografica con fase stazionaria tipo *reversed phase* (LiChrosorb RP-18, 7 µm, 250 mm × 4 mm *i.d.*, Merck), termostata a 60 °C.

Eluente: metanolo (1) ad un flusso di 1 ml/min.

Il cromatogramma ottenuto (Fig. 3) presenta, nel caso dei campioni contaminati, un evidente picco relativo all'oleo-anilide ed altri picchi minori attribuibili alle anilidi degli altri acidi grassi e a tracce di anilina ed acetanilide.

La valutazione quantitativa delle anilidi presenti nel campione si ottiene effettuando preventivamente una serie di iniezioni scalari delle soluzioni standard di oleo-anilide (4) e di acetanilide (3). L'altezza del picco ottenuto dal campione in esame viene misurata e trasformata in quantità di anilide per mezzo della curva di calibrazione precedentemente ottenuta.

I tempi di ritenzione osservati con le soluzioni standard sono: 2,75 min per l'acetanilide, 2,90 min per l'anilina, 4,30 min per l'oleo-anilide e 4,80 min per la stearo-anilide.

È probabile che con colonne cromatografiche equivalenti a quella da noi impiegata si ottengano risultati diversi o non soddisfacenti. È necessario in tal caso sperimentare miscele eluenti, composte da metanolo ed acqua, tali da dare risoluzioni paragonabili a quelle ottenute nel cromatogramma della Fig. 3.

Limite di rivelabilità.

Utilizzando la tecnica sopra descritta, il limite di rivelabilità è di 0,5-1,0 µg di oleo-anilide.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

I metodi primo e secondo presentano il vantaggio di non richiedere particolari attrezzature, ma permettono, oltre all'analisi qualitativa, una valutazione solo semi-quantitativa delle anilidi totali. Il metodo primo è più lungo del secondo, ma è probabile che risenta meno di eventuali interferenze.

Il metodo terzo richiede l'apparecchio per la cromatografia liquida ad alta pressione, del quale non tutti i laboratori di analisi sono forniti; ha il vantaggio di

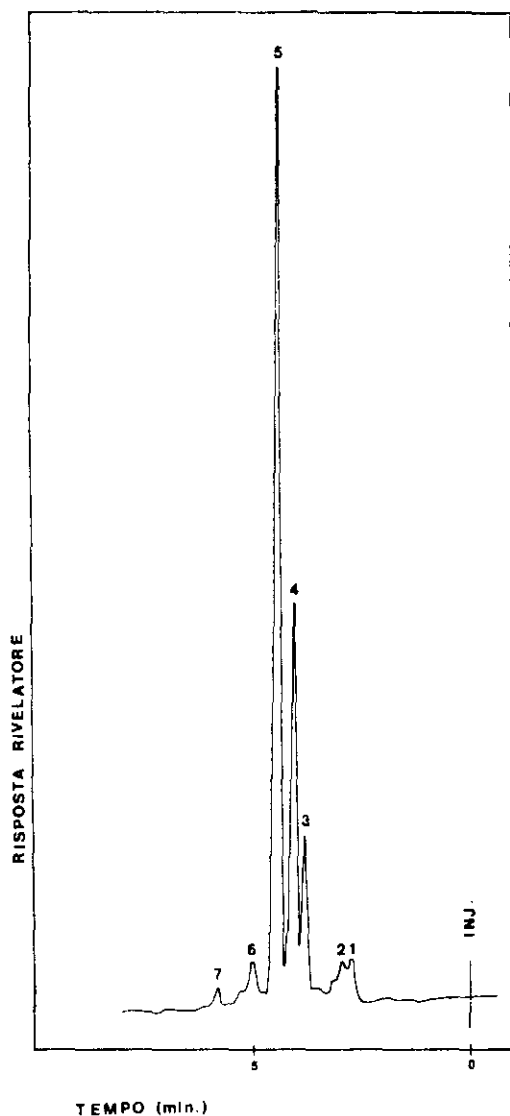


Fig. 3. - Cromatografia HPLC delle anilidi presenti nell'olio B (v. Fig. 1)

Tabella 1. - Risultati analitici forniti dagli oli esaminati.

SIGLA DEL CAMPIONE	Natura dell'olio (dalla GLC degli acidi grassi)	Anilina libera ppm	Anilidi (esprese come anilina) ppm	Caratteri organolettici
A	Girasole	Assente	Assenti	Normali
B	Colza a basso tenore di acido erucico + soja	7	1.340	Colore giallo-verdognolo. Odore gradevole
C	Colza a basso tenore di acido erucico + soja	13	2.290	Colore giallo. Odore poco gradevole
D	Colza a basso tenore di acido erucico	10.500	7.950	Colore bruno. Odore molto sgradevole

essere specifico per le singole anilidi e rigorosamente quantitativo; è anche abbastanza rapido.

La sensibilità di tutti e tre i metodi, ma specialmente del secondo e terzo, è tale da consentire l'analisi di oli ottenuti per miscelazione, anche a basse percentuali, dell'olio tossico con altri oli.

I risultati analitici dei quattro campioni esaminati sono riportati nella Tab. 1. I due oli sofisticati (B e C) hanno un contenuto in anilina di poche ppm, mentre contengono quantità relativamente elevate — rispetti-

vamente 1,34 % e 2,29 % — di anilidi (esprese come anilina). Evidentemente l'anilina aggiunta come denaturante ha reagito, nella sua quasi totalità, con gli acidi grassi presenti, formando composti la cui tossicità è molto diversa, qualitativamente e quantitativamente, da quella dell'anilina di partenza.

Si desidera ringraziare il Prof. Luigi Boniforti per la collaborazione prestata nell'esecuzione e interpretazione degli spettri di massa.

Ricevuto il 20 febbraio 1982.

Accettato il 22 aprile 1982.

BIBLIOGRAFIA

1. TABUENCA, J. M. 1981. Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denaturated with aniline. *Lancet*, **11**: 567.
2. CLIPSON, J. L. & THOMAS, L. C. 1963. A field test for analine vapour in air. *Analyst*, **88**: 971.
3. DE' CONNO, E. 1917. Azione delle ammine aromatiche sugli acidi grassi. *Gazz. Chim. Ital.* **47** (I): 93.

Metodologia di controlli ambientali in caso di emergenza nucleare (*)

R. BIANCASTELLI, G. CAMPOS VENUTI, S. FRULLANI, S. RISICA, E. TABET e P. VECCHIA

Laboratorio delle Radiazioni, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Nella seguente relazione ad invito tenuta al Convegno AIRP sono affrontati i problemi connessi con l'organizzazione e l'effettuazione dei controlli ambientali in caso di emergenza nucleare.

Dopo una prima parte di analisi dei possibili incidenti e di valutazione del loro impatto ambientale vengono presentate le metodiche di misura con relativi limiti e difficoltà, anche alla luce del dibattito sviluppatosi a livello internazionale dopo l'incidente di TMI.

Le tematiche in oggetto sono trattate seguendo lo schema temporale tipico di una emergenza nucleare: fase pre-rilascio, fase corrispondente al rilascio ed alla propagazione della nube, fase immediatamente seguente al passaggio della nube, fase ritardata.

Summary (Environmental Radiation Measurement Methodology for Nuclear Emergency). - *Environmental measurement methodology for light water reactor nuclear accidents is dealt with.*

Types of possible nuclear accidents and their environmental effects are analyzed. Measurement problems and limitations are discussed in consideration of new developments and regulations after the TMI accident. The subject is approached according to the typical nuclear emergency accident time scale of period before radioactive release, release and plume diffusion period, initial post plume passage period and final phase.

INTRODUZIONE.

Nel caso di rilasci accidentali che configurino una situazione di emergenza nucleare, le principali fonti di rischio per la popolazione sono l'irradiazione esterna ed interna dovute al passaggio della nube radioattiva originata dalla diffusione degli effluenti, l'irradiazione esterna da contaminazione del suolo e l'irradiazione interna dovuta all'ingestione di cibo e acqua contaminati. Queste vie di esposizione entrano in gioco in tempi diversi, rendendo quindi la scala temporale un fattore molto importante nella programmazione di una pianificazione d'emergenza. Ciò spiega perché questa relazione è stata strutturata seguendo una scala temporale, individuando, cioè, nell'affrontare una situazione d'emergenza, quattro fasi:

- una fase di allarme senza rilascio;
- una fase corrispondente al rilascio ed alla propagazione della nube;

- una fase immediatamente seguente al passaggio della nube;

- una fase finale, corrispondente a tempi lunghi rispetto a quelli precedentemente considerati.

Per poter valutare le aree interessate da una situazione incidentale, i livelli di radioattività da misurare e le zone entro le quali prendere dei provvedimenti operativi, la trattazione è preceduta da una analisi dei possibili incidenti e delle relative conseguenze.

GLI INCIDENTI E LE GRANDEZZE IN GIOCO.

In questi ultimi anni da più parti [1-3] si è andata sottolineando la necessità, nell'ambito dell'analisi di sicurezza, di non limitare l'attenzione agli incidenti di progetto, ma di prendere in considerazione anche quelli che, sebbene corrispondono a valori di probabilità assai inferiori, sono tuttavia capaci di produrre conseguenze sensibilmente più gravose di quelle associate agli incidenti di progetto. Così si sostiene che [4]: « There is no single definition for postulated reactor accidents. A recent interim policy statement by the NRC [5], requires that Environmental Impact Statements include consideration of the site-specific impact attributable to releases of radioactive materials or radiation from accidents involving degraded fuel and melting of the reactor core. The only limitation to these accident scenarios is the human imagination, and many of the postulated scenarios and consequences challenge the fundamental laws of physics and chemistry ».

Nella nostra analisi, in armonia con quanto da più parti raccomandato, si sono scelte dall'insieme di categorie di rilascio considerate di riferimento [6] le quattro più significative dal punto di vista del dimensionamento delle situazioni d'emergenza: il PWR 1, PWR 5, PWR 7 e PWR 9 in ordine decrescente di gravità. La scelta dei PWR — rispetto ai BWR — è dovuta a diversi fattori: il più avanzato stadio di sviluppo delle analisi, la maggiore diffusione di questo tipo di reattori e il loro largo utilizzo previsto dal Piano Energetico Nazionale. In Tab. 1 sono riportati in forma schematica i quattro incidenti considerati, con le loro principali caratteristiche e, per confronto, i dati dell'incidente di TMI.

(*) Presentato a: AIRP - Giornate di informazione e studio sull'intervento in caso di emergenza nucleare, Roma 17 settembre 1981.

Tabella 1. - *Classi di incidenti [6] considerate, loro caratteristiche, e confronto con l'incidente di TMI.*

Descrizione delle varie sequenze dominanti per ogni categoria di rilascio	Probabilità r. a	Gas nobili (Kr-Xe) (Ci)	I (Ci)	Tempo t perché inizi il rilascio (h)	Durata (Δt) rilascio (h)
PWR 1: - perdita refrigerante (LOCA); - mancato intervento salvaguardie; - rottura catastrofica contenimento.	$\sim 10^{-6}$	$3 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$	2,5	0,5
PWR 5: - LOCA, intervento sistemi rimozione radioattività ma perdita integrità contenimento.	$\sim 10^{-6}$	10^8	$2 \cdot 10^7$	2	4
PWR 7: - LOCA con percolazione del nocciolo fuso, ma contenimento intatto.	$4 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^4$	10	10
PWR 9: - LOCA con corretto funzionamento ECCS e contenimento intatto.	$4 \cdot 10^{-4}$	$\sim 10^3$	$\sim 10^2$	0,5	0,5
TMI: - come il precedente ma con il sistema di contenimento parzialmente degradato.	—	$(2,4 \div 13) \cdot 10^6$	$13 \div 17$	qualche ora	$\sim 3 \cdot 10^2$

Si osservi che la scelta di tale categoria è assai simile a quella del rif. [7], ove, per una revisione critica delle ipotesi di rilascio, si raggruppano tutte le possibili categorie in cinque tipi di incidenti, quattro corrispondenti a quelli della Tab. 1, assieme ad uno di gravità intermedia tra il PWR 7 e il PWR 9, che si può far corrispondere a quello di TMI. Va ricordato però che in Tab. 1 i valori relativi ai primi quattro incidenti sono ovviamente risultati di analisi su modelli, mentre quelli relativi a TMI sono i risultati di dati sperimentali. Occorre tuttavia notare che:

- le probabilità riportate sono tratte dalla Bibliografia [6] e, come è noto, non possono essere considerate immuni da correzioni di diversa natura [8-10];

- nell'incidente di TMI i rilasci sono stati in una certa misura diversi da quanto si era ipotizzato per un incidente di quel tipo: in particolare, mentre i rilasci di iodio sono avvenuti in misura minore dell'atteso, si è potuto accertare che le previsioni per i rilasci dei gas nobili erano eccessivamente ottimiste: per questo motivo, a seguito di TMI, l'NRC ha iniziato un riesame dei meccanismi chimico-fisici di ritenzione dello iodio, per un esame critico dei quali si rinvia a [7, 11];

- anche i tempi nell'incidente di TMI si sono rivelati piuttosto anomali: infatti, poiché per lungo tempo si è temuto che la situazione incidentale potesse degenerare in modo catastrofico, il tempo di durata dell'effettivo rilascio (così lungo rispetto a quanto previsto nei modelli [6]) avrebbe potuto essere anche un lunghissimo tempo di attesa di eventi più gravi, tempo, quindi, da sfruttare per un'efficace organizzazione dell'emergenza.

Ancora riguardo ai tempi, va sottolineato che sequenze accidentali che terminano con eventi di gravità diversa hanno in comune alcune fasi iniziali, così che, sebbene il mancato intervento degli Emergency Core Cooling Systems entro pochi minuti dall'inizio dell'in-

cidente costituisca un segnale inequivocabile di innescio della fusione del combustibile, la discriminazione tra incidenti di fusione di limitata gravità e quelli catastrofici non può sovente essere effettuata con altrettanta tempestività.

In Tab. 2 si è riportato, per i 9 incidenti di cui al punto [6] della Bibliografia, la somma ($t + \Delta t$) del tempo di attesa del rilascio (t) e della durata del rilascio stesso (Δt). Si può notare che questo tempo rilevante per la messa in opera dei provvedimenti d'emergenza è piuttosto grande per il PWR 6 e PWR 7 e diminuisce, poi, in modo molto netto all'aumentare della gravità delle sequenze incidentali.

Per il calcolo delle conseguenze degli incidenti presi in considerazione, si sono fatte le seguenti ipotesi:

- si è scelta come condizione di stabilità atmosferica la categoria E di Pasquill, con una velocità del vento pari a 3,66 m/s;

Tabella 2. - *Tempi rilevanti per l'emergenza per le diverse classi di incidenti.*

CLASSI DI INCIDENTI	Tempo di attesa del rilascio (t ore)	Durata del rilascio (Δt ore)	Tempo totale ((t + Δt) ore)
PWR 1	2,5	0,5	3,0
PWR 2	2,5	0,5	3,0
PWR 3	5,0	1,5	6,5
PWR 4	2,0	3,0	5,0
PWR 5	2,0	4,0	6,0
PWR 6	12,0	10,0	22,0
PWR 7	10,0	10,0	20,0
PWR 8	0,5	0,5	1,0
PWR 9	0,5	0,5	1,0

- trattandosi generalmente di rilasci relativamente brevi si è ritenuto, in prima approssimazione, di poter mantenere la direzione del vento costante;

- come livelli di dose per l'emergenza (e di conseguenza come livelli di riferimento derivati) sono stati scelti quelli del Medical Research Council del 1975: infatti, senza entrare nella discussione sui livelli di riferimento da adottarsi per l'emergenza - tema di un'altra relazione nello stesso convegno - la scelta di livelli corrispondenti ad un equivalente di dose al corpo intero pari a 10 rem (0,1 Sv) permette una semplice individuazione degli ordini di grandezza del problema. D'altronde i livelli di base e quelli derivati della circolare n. 70 del Ministero degli Interni (1973) non sono, come è noto, molto diversi;

- tutte le conseguenze sono state calcolate nell'ipotesi che non venga preso nessun provvedimento di protezione degli individui; ovviamente i provvedimenti d'emergenza di volta in volta attuati variano i risultati complessivi.

Occorre altresì notare che, contrariamente a quanto avviene in alcuni paesi, dove l'esperienza di evacuazione di significativi gruppi di popolazione (in occasione di eventi catastrofici quali incendi, tornado, ecc.) è stata utilizzata per la formulazione ed il controllo di modelli previsionali per successive operazioni di evacuazione, nel nostro paese l'esperienza raccolta in questo campo non è stata analizzata e formalizzata in modo paragonabile.

Comunque, dato il gran numero di parametri utilizzati per il calcolo e la notevole incertezza associata ad alcuni di essi, i dati che seguono vanno presi unicamente come *ordini di grandezza* e come tali bisogna considerarli nella discussione che segue.

In Fig. 1 è riportato, per i quattro incidenti scelti, l'andamento dell'equivalente di dose totale al corpo intero da inalazione e irraggiamento per il passaggio della nube, al variare della distanza dal punto di rilas-

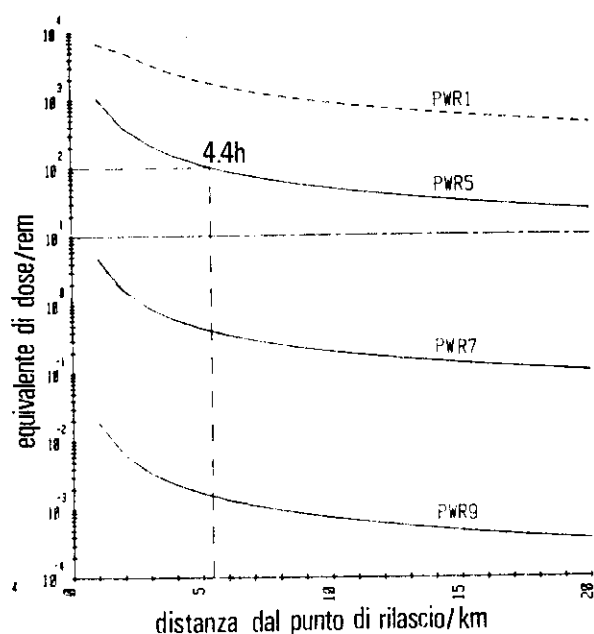


FIG. 1. - Equivalente di dose totale al corpo intero da inalazione e irraggiamento nube al variare della distanza del punto di rilascio, per varie classi di incidenti

scio. Se si considerano i 10 rem (0,1 Sv) al corpo intero del M.R.C. già nominati, si vede che separano nettamente il grafico in due parti: i due incidenti più gravi determinano a qualsiasi distanza entro i primi 20 km un equivalente di dose a corpo intero superiore a tale limite, i due meno gravi un valore sempre inferiore.

Ad un ordine di grandezza superiore, considerando quindi un equivalente di dose pari a 100 rem (1 Sv), mentre per un PWR 1 entro i primi 20 km l'equivalente di dose è sempre maggiore di tale livello, per il PWR 5 oltre i 5 ÷ 6 km è inferiore e, comunque, per cumulare a quella distanza di 5 ÷ 6 km un tale equivalente di dose sono necessarie 4,4 ore dall'inizio del rilascio e quindi 6,4 dall'inizio dell'incidente. Si vede così che, per quanto riguarda le scale temporali in gioco, i diversi incidenti di fusione possono presentarsi con caratteristiche assai differenti, rendendo quindi per alcuni di essi, anche di notevole gravità, credibili ed utili interventi di emergenza.

FASE DI ALLARME SENZA RILASCIO.

Una valutazione iniziale corretta della situazione incidentale e una previsione adeguata delle conseguenze all'esterno, assieme a misure protettive tempestive, possono diminuire notevolmente il rischio sanitario.

Secondo l'NRC: « The time between the initial recognition at the nuclear facility that a serious accident is in progress and the beginning of the radioactive release to the surrounding environment is critical in determining the type of protective actions which are feasible.

Knowledge of the potential duration of release and the time available before exposures are expected several miles offsite is important in determining what specific instructions can be given to the public.

A knowledge of kinds of radioactive materials potentially released is necessary to decide the characteristics of monitoring instrumentation, to develop tools for estimating projected doses, and to identify the most important exposure pathways [12]. »

Questa fase, quindi, è di estrema importanza nell'organizzazione di un'emergenza nucleare e in essa il ruolo e la responsabilità dell'utente sono determinanti, come è stato sottolineato più volte da parte di enti di controllo [13, 14] e organismi internazionali [15].

In questa fase, compito principale ed urgente è l'attivazione del centro di emergenza, un centro per la ricezione ed elaborazione continua dei dati dell'incidente, che diventa quindi centro decisionale - operativo nell'ambito delle sue competenze e consultivo per le autorità (a). Il centro di emergenza deve essere collegato con la sala controllo, dalla quale riceve i dati sull'evolversi dell'incidente da un punto di vista impiantistico e sull'evolversi del rilascio e deve ricevere, possibilmente in tempo reale, i dati dai rivelatori meteorologici, dai monitori al canino e dalle stazioni fisse di monitoraggio. Ad esso, inoltre, debbono fare capo le squadre di emergenza mobili, fornendo i livelli di radioattività in campo, e il laboratorio di emergenza

(a) Esula dagli scopi di questa relazione entrare nel merito della gestione di un tale centro, va comunque sottolineata la necessità della presenza o della partecipazione ad esso delle autorità sanitarie locali.

che può essere collegato con tale centro o, anche, fare parte di esso.

Molto importante sarebbe sin da questa primissima fase la conoscenza dell'altezza dell'eventuale strato d'inversione, fondamentale per il calcolo della dispersione degli effluenti aeriformi.

In questa fase, utilizzando i dati provenienti dalla sala controllo e quelli meteorologici e del camino, si dovrebbe elaborare una mappatura previsionale — prima ancora che inizi il rilascio — della dispersione della radioattività nell'ambiente, mediante elaboratore posto *in loco* o eventualmente con collegamento in linea ad un centralizzato in una sede unica nazionale, tipo CNEN.

FASE CORRISPONDENTE AL RILASCIO ED ALLA PROPAGAZIONE DELLA NUBE.

Questa fase, che normalmente ha una durata dell'ordine di alcune ore, è quella in cui avviene il rilascio e la propagazione della nube radioattiva. Tipici di questa fase sono i rischi cosiddetti « immediati » di inalazione di materiale radioattivo, di irraggiamento da parte dei radionuclidi contenuti nella nube e di quelli depositati al suolo (quest'ultima sorgente di irraggiamento interviene con un breve ritardo legato al tempo necessario alla deposizione del particolato al suolo).

In questa fase, l'obiettivo da perseguire è la definizione dell'area interessata al rilascio, per poter stimare il rischio radioattivo.

Al centro d'emergenza devono continuare ad essere forniti i dati già menzionati nella fase precedente e cioè:

- i dati meteorologici, quelli forniti dalla « engineering » dell'impianto e quelli al punto di rilascio che insieme danno una definizione della « sorgente »;

- i risultati delle misure in campo, atte a seguire l'evolversi della dispersione della contaminazione, eseguite con:

(a) strumentazione fissa;

(b) strumentazione mobile: misure a terra e rilevamenti aerei. Riguardo alle misure in campo, è necessario precisare che scopo della relazione è lo studio dei problemi ambientali esterni all'impianto, per cui non verranno discussi i problemi relativi all'area delimitata dai confini dell'impianto;

Strumentazione fissa.

In seguito a TMI, l'NRC [16] ha imposto un requisito ulteriore, al programma di monitoraggio radiologico ambientale dell'utente: « Due o più dosimetri o uno strumento per misurare e registrare con continuità il rateo di dose, da posizionarsi nel modo seguente:

- 16 stazioni, una in ciascun settore di un cerchio più interno contenuto nell'area generale delimitata dai confini dell'impianto;

- 16 stazioni, una in ciascun settore di un cerchio più esterno situato entro un raggio di 4-5 miglia dal sito;

- 8 stazioni in aree di particolare interesse, quali centri popolati, abitazioni vicine, scuole e in 2 o 3 aree da utilizzare come stazioni di controllo » [4].

Secondo la prescrizione dell'NRC, queste stazioni fisse dovrebbero avere una distanza angolare di $22,5^\circ$; confrontando questa distanza con quella dell'estensione orizzontale del pennacchio, si può avere una prima informazione sull'utilità della prescrizione: in Fig. 2 è riportata al variare della distanza dal punto di rilascio la distanza angolare delle stazioni, assieme all'estensione orizzontale del pennacchio (*b*) nelle condizioni di stabilità atmosferica scelta per il calcolo (cat. E di Pasquill) e nelle due condizioni di stabilità estreme (cat. A e F). Dal confronto immediato nella figura si può innanzitutto dedurre che una tale rete è stata progettata per segnalare il passaggio della nube per un dato punto e misurarne i parametri caratteristici e non per eseguire una vera mappatura della nube, per la quale sarebbe richiesta una rete molto più fitta.

Di conseguenza si è esaminata questa proposta, al fine di verificare se il numero di stazioni fisse fosse tale da garantire almeno la rivelazione del passaggio della nube anche per la sequenza incidentale meno grave (PWR 9); nei calcoli si è considerato significativo un incremento di rateo di esposizione che raddoppiasse almeno il fondo naturale. Il tipo di strumentazione, infatti, dovrebbe consistere in rivelatori di rateo di esposizione con un range di misura dal valore medio del fondo ambientale ($10^{-6}R/h$) al valore massimo realizzabile in uno stesso rivelatore (es. camere a ionizzazione a più scale). Dato che, come si può notare in Fig. 3, i livelli di rateo di esposizione « di picco » al passaggio della nube, per la sequenza accidentale più grave, arrivano fino a $10^4 R/h$, è necessario garantirsi che i monitori non vengano messi fuori uso e sarebbe auspicabile prevedere l'uso di monitori supplementari — a minore sensibilità, ma con fondo scala molto più

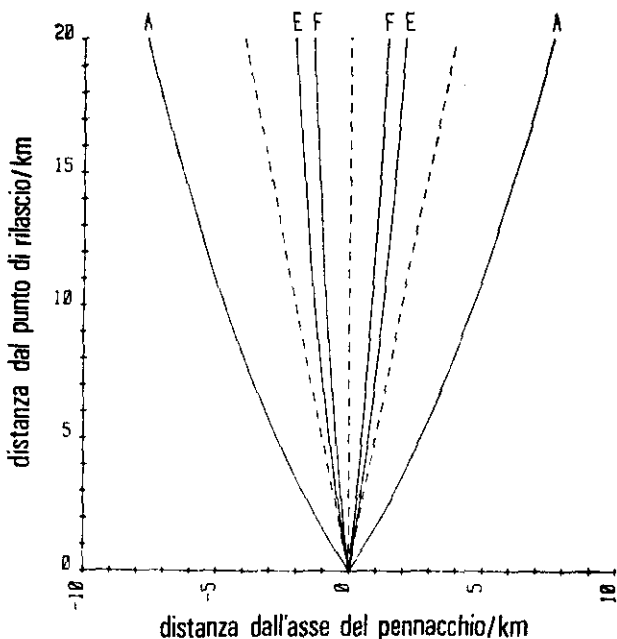


Fig. 2. — Confronto tra l'estensione orizzontale del pennacchio ($3\sigma_x$) per varie categorie atmosferiche e distribuzione delle stazioni di monitoraggio

(b) Come estensione orizzontale del pennacchio, seguito nel suo evolversi con modello gaussiano di Pasquill, è stato qui utilizzato il triplo del coefficiente di dispersione orizzontale (σ_x).

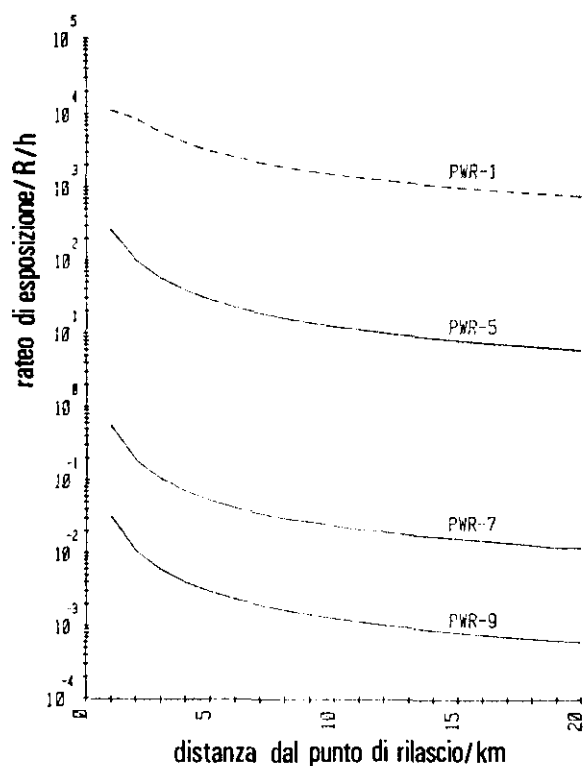


FIG. 3. - Rateo di esposizione « di picco » al passaggio della nube, in funzione della distanza dal punto di rilascio, per varie classi di incidenti

ampio — che dovrebbero entrare in funzione una volta che i primi andassero a fondo scala.

Dall'analisi della rete proposta risulta che il primo cerchio di monitori, sia se di raggio 1 km (estensione dei confini dell'impianto nella situazione italiana), che di raggio 3,5 km (probabile situazione USA) è in grado di rivelare il passaggio della nube, mentre invece nel PWR 9, ma anche verosimilmente nel PWR 7, la nube potrebbe attraversare il secondo cerchio di monitori — proposto dall'NRC a 5 miglia (circa 8 km) — senza essere rivelata. È da notare che questo accade non perché i ratei di esposizione per questo incidente siano sotto i limiti di rivelabilità (cfr. Fig. 4), ma perché la nube nelle ipotesi fatte si riduce a un pennacchio sottile; ovviamente in diverse condizioni meteorologiche, con maggiore dispersione del pennacchio, aumenterebbe la probabilità che la nube investa più di un monitor, ma è corretto verificare la fattibilità ed efficacia di una tale rete nell'ipotesi più sfavorevole.

Dall'analisi si ricava ancora che per gli incidenti più gravi, invece, risulta efficace non solo il cerchio di monitori interno ai confini dell'impianto, ma anche quello a 8 km. Per garantirsi la rivelazione del passaggio della nube in qualsiasi situazione, sarebbe necessario diminuire il raggio del secondo cerchio o aumentare il numero di monitori dello stesso; quest'ultima scelta, però, a meno di raddoppiarne il numero, farebbe perdere l'allineamento e quindi renderebbe meno immediato lo studio dell'andamento della nube al variare della distanza.

In conclusione, quindi, la rete dell'NRC di monitori fissi, a lettura in tempo reale, non garantisce una mappatura della nube (per la quale divengono indispensabili misure con strumentazione mobile) ed è anzi

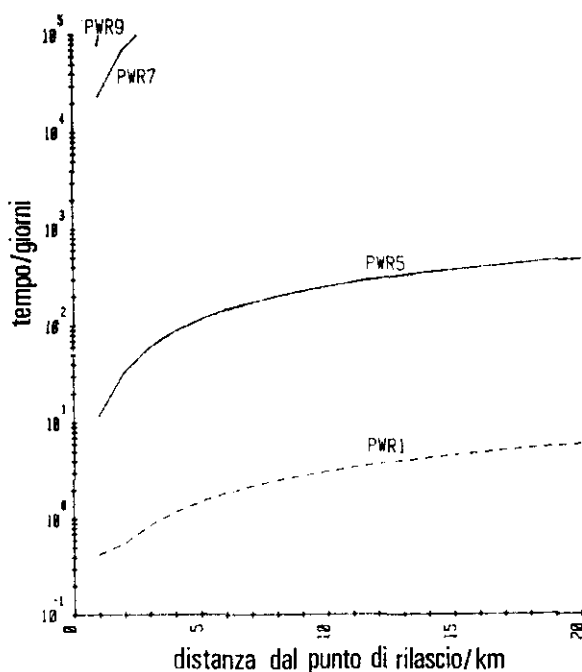


FIG. 4. - Tempo necessario affinché l'equivalente di dose a corpo intero da isotopi del cesio raggiunga il valore di 10 rem per varie classi di incidenti, in funzione della distanza dal punto di rilascio

necessario ottimizzare la disposizione dei monitori attorno all'impianto, al fine di sfruttare a pieno la loro possibilità di registrare in tempo reale il passaggio della nube e il suo evolversi nel tempo.

Un'analisi analoga è stata condotta prendendo in considerazione la rete nazionale di misura e raccolta dei dati ambientali, che nel nostro Paese il Ministero degli Interni — Direzione Generale della Protezione Civile e dei Servizi Antincendio — ha elaborato come ristrutturazione di quella già esistente. Tale rete (quadrata di circa 10 km di lato) è stata programmata per scopi diversi da quelli esposti nella presente trattazione, ma si è voluto ugualmente verificarne l'utilità in caso di incidente ad un reattore nucleare. Ovviamente, tale rete dovrebbe intervenire per incidenti gravi e per distanze maggiori di quelle controllate dai monitori connessi con l'impianto di cui sopra (cioè a distanze maggiori di 8 km). Scegliendo lo stesso limite di rivelabilità già detto, risulta che in condizioni medie (non estreme) anche la sequenza accidentale PWR 1 rischia di non essere rivelata. Quindi la rete nazionale, così come originariamente proposta, non risulterebbe — probabilmente — utile in caso di incidente nucleare. Per questo motivo si sta attualmente valutando se non sia possibile modificarne le caratteristiche in prossimità delle centrali elettronucleari, così da poterla utilizzare nel caso di incidenti nucleari.

Sempre nell'ambito della revisione degli standard e delle procedure iniziate dopo TMI, l'NRC ha posizionato attorno agli impianti di potenza, in aggiunta ai monitori fissi dell'utente, dei dosimetri a termoluminescenza (TLD) disposti su due cerchi, uno entro il cerchio di 2-3 miglia e l'altro oltre quello a 5 miglia già citati [4].

Com'è noto, i TLD sono dosimetri a integrazione che non danno informazioni a tempi brevi: essi sono indispensabili per determinare la *posteriori* l'esposi-

zione della popolazione — pertanto vanno utilizzati in abbondanza, specialmente presso case o luoghi comunque abitati — ma non possono fornire alcuna informazione tempestiva, utile per prendere decisioni operative di radioprotezione. I dosimetri a termoluminescenza usati a TMI hanno presentato due tipi di problemi, che per completezza vogliamo ricordare: insufficienza numerica e difficoltà nella taratura e nella relativa intercalibrazione. Pare superfluo, infatti, sottolineare che per avere risultati significativi è necessario disporre di numerosi TLD posizionati in luoghi adatti e che i problemi di taratura e di intercalibrazione vanno studiati e risolti in precedenza.

Strumentazione mobile.

a) Rilevamenti aerei. — I rilevamenti aerei permettono di « inseguire » la nube e di muoversi sul territorio senza limitazioni dovute alle condizioni del terreno; se utilizzati poi, com'è auspicabile, nella fase successiva al passaggio della nube, danno anche la possibilità di prelevare campioni da aree fortemente contaminate. (Per brevità, in questo contesto non si entra nella discussione sulle caratteristiche che nella scelta farebbero propendere verso l'uso di aerei o di elicotteri).

Gli scopi dei rilevamenti aerei sono la localizzazione della nube in tempo reale e la determinazione della sua composizione in orizzontale ed in verticale. Deve quindi essere previsto:

- una mappatura veloce dell'intensità totale gamma, realizzata con strumentazione a lettura diretta, istantanea (es. camera a ionizzazione o Geiger) che serva anche a determinare le zone di rischio per lo stesso pilota/operatore;

- una spettrometria gamma anche grossolana (con NaI [Tl]) o almeno l'uso di analizzatori monocalari predisposti per la misura in campo dello iodio;

- un campionamento del particolato mediante aspirazione su filtri dell'aria attraversata, per avere possibilmente una registrazione in continuo dell'attività totale beta/gamma raccolta — nel qual caso il filtro dovrebbe essere ad avanzamento continuo — e comunque la determinazione dei radionuclidi presenti, mediante misura successiva in laboratorio con rivelatori del tipo Ge(Li).

Le misure eseguite in laboratorio sono ritardate nel tempo ma sono in genere più accurate — sia per la maggiore completezza e complessità della strumentazione a disposizione, sia per le diverse condizioni organizzative in cui si opera — e risultano fondamentali nello studio dell'incidente (verifica delle misure al camino, verifica dei modelli di diffusione...); le misure in volo, invece, vanno programmate in modo tale da bilanciare correttamente la precisione che si vuole ottenere con la semplicità di esecuzione: infatti, una maggiore complessità delle operazioni da eseguire in volo può comportare una minore affidabilità delle misure, tenendo conto del fatto che in una situazione di emergenza entra in gioco anche un fattore emozionale degli operatori.

L'organizzazione di questo tipo di misure comporta dei problemi non indifferenti, quali quello della tempestività di intervento (e quindi di reperibilità e relativo

immobilizzo delle risorse necessarie), dell'addestramento, qualificazione e aggiornamento del personale, dell'interazione tra i vari enti e organismi civili e militari interessati, e così via.

b) Misure a terra. — Le misure a terra devono essere condotte da squadre di emergenza, le quali devono eseguire:

- una mappatura del rateo di esposizione per determinare il rischio da irraggiamento esterno da parte della nube (anche se non è credibile che le squadre possano « inseguire la nube ») e del suolo; queste misure sono normalmente eseguite con camere a ionizzazione, posizionate ad 1 m dal suolo;

- una mappatura al suolo della contaminazione del terreno, attraverso misure gamma e beta/gamma; la Regulatory Guide 1.97 dell'NRC [17] per questo tipo di strumentazione portatile prevede dei range di misura di $(10^3 \div 10^4)$ R/h per i gamma e $(10^{-3} \div 10^4)$ rad/h per beta e gamma di bassa energia. Questi range corrispondono ai livelli attesi secondo la nostra elaborazione (cfr. Fig. 4);

- prelievi di campioni di matrici ambientali nei luoghi in cui, con le misure predette, venisse riscontrata una deposizione significativa;

- prelievi di aria su filtro, con prefiltro per lo iodio, seguito da filtro a carbone attivo per lo iodio.

Le squadre si dovrebbero muovere specialmente nelle zone dove, secondo le proiezioni iniziali, è prevista la massima contaminazione, eseguendo, con misure ripetute nel tempo, uno scanning per zone.

C'è infine da sottolineare che, per gli incidenti più gravi, può essere necessario tenere sotto controllo zone di territorio molto ampie e quindi avere reperibili più squadre con tutta l'attrezzatura relativa e coi problemi di immobilizzo di risorse che questo comporta.

Riguardo a queste misure con strumentazione mobile, l'esperienza di TMI ha mostrato che, come era prevedibile, i valori dei ratei di esposizione misurati dai mezzi aerei non corrispondevano al valore dei ratei di esposizione al suolo, cioè ai valori che riguardavano la popolazione. Questo conferma che, mentre i dati dei rilevamenti aerei sono utilissimi per conoscere l'andamento del pennacchio e per affinare i modelli di diffusione, per valutare l'esposizione della popolazione sono indispensabili i risultati delle misure eseguite dalle squadre, dei TLD e degli eventuali monitori fissi [18].

Alla fine di questa prima fase, dai risultati di questi tre tipi di misure si potrà:

- stabilire le zone contaminate e stimare i livelli di contaminazione;

- predire i livelli di contaminazione probabili in alcuni cibi;

- stimare la dose totale gamma alle persone esposte;

- avere in poche ore la stima dello ^{131}I nel latte (prima delle 24^h necessarie perché la contaminazione passi nel latte);

- confrontare la mappatura prevista con quella misurata, verificando così la congruenza delle proiezioni e il modello di dispersione utilizzato con la reale evoluzione della nube;

- infine, eseguire una proiezione temporale dei livelli di contaminazione per prendere i provvedimenti operativi del caso (argomento che esula dai limiti di questa relazione).

FASE IMMEDIATAMENTE SEGUENTE AL PASSAGGIO DELLA NUBE.

Questa fase può sovrapporsi parzialmente alla precedente e può durare da alcuni giorni a settimane dopo la prima fase.

I rischi per la popolazione tipici di questa fase sono l'irraggiamento esterno da deposizione al suolo, l'irraggiamento interno da inalazione di particolato radioattivo risospeso, l'irraggiamento interno da ingestione di cibo fresco contaminato e l'irraggiamento interno da consumo di acque superficiali contaminate.

Per valutare l'irraggiamento esterno da deposizione al suolo e l'irraggiamento interno da inalazione di particolato radioattivo risospeso, devono continuare in modo selezionato le misure di rateo di esposizione e contaminazione al suolo nei modi presentati precedentemente. Per queste misure si potrebbe anche prevedere l'installazione di postazioni fisse, come fatto a TMI dall'EPA, che, alcuni giorni dopo l'incidente, predispose una rete di misura e di prelievo consistente in circa 30 stazioni così suddivise: 12 a circa 5 km dall'impianto, 11 tra 10 e 11 km e 8 nei principali centri abitati oltre i 10 km. Ogni stazione era fornita di un monitoratore del rateo di esposizione e di un aspiratore della capacità di circa 400 m³/giorno, con un prefiltro a fibre di vetro ed un filtro a cartuccia di carbone attivo, misurati giornalmente con spettrometria gamma [19].

Per valutare, invece, l'irraggiamento interno da ingestione di cibo fresco contaminato (latte, vegetali, frutta) e acqua contaminata, sono necessari campionamenti e misure spettrometriche sui campioni freschi o trattati. Si tratta di misure entrate ormai nella routine, sulle quali non ci si soffermerà oltre, se non per sottolineare l'importanza e la necessità che siano eseguite con la massima accuratezza e tempestività.

Risulta interessante, invece, osservare quali siano le probabili estensioni delle zone da tenere sotto controllo e quali i tempi da considerare. In Fig. 4 è rappresentato quanto tempo è necessario, alle varie distanze, perché l'equivalente di dose a corpo intero da isotopi del cesio raggiunga il valore di 10 rem (0,1 Sv); si può notare che per le sequenze meno gravi questo tempo (che si può in un certo senso considerare come un « tempo di intervento » per i radionuclidi a vita lunga) è molto lungo e comunque il limite è superato a distanze molto piccole.

In Fig. 5 si può osservare come diminuisce, al variare del tempo, il territorio contaminato da ¹³¹I equivalente a livelli superiori al livello di riferimento per l'emergenza derivato per i bambini (concentrazione iniziale sul pascolo riferita alla produzione di latte: 2 μ Ci/m², corrispondente a 30 rem alla tiroide), il che fornisce informazioni sull'estensione della zona da controllare per quanto riguarda il pascolo e la produzione di latte.

La Fig. 6, invece, riportando per le varie distanze le concentrazioni di ¹³⁷Cs equivalente 30 gg dopo il passaggio della nube fornisce un'indicazione della dimensione dei problemi connessi con la contamina-

zione del suolo da radionuclidi a vita lunga; la retta rappresenta il livello di riferimento di ¹³⁷Cs equivalente derivato per l'emergenza per i bambini (concentrazione iniziale sul pascolo riferita alla produzione di

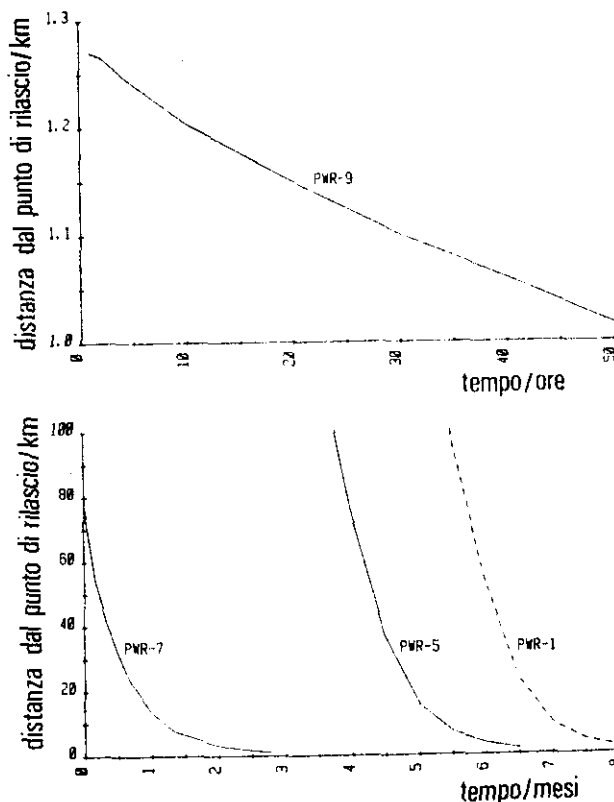


Fig. 5. - Diminuzione al variare del tempo del territorio contaminato da ¹³¹I equivalente a livelli superiori al livello di riferimento derivato (2 μ Ci/m²), per varie classi di incidenti

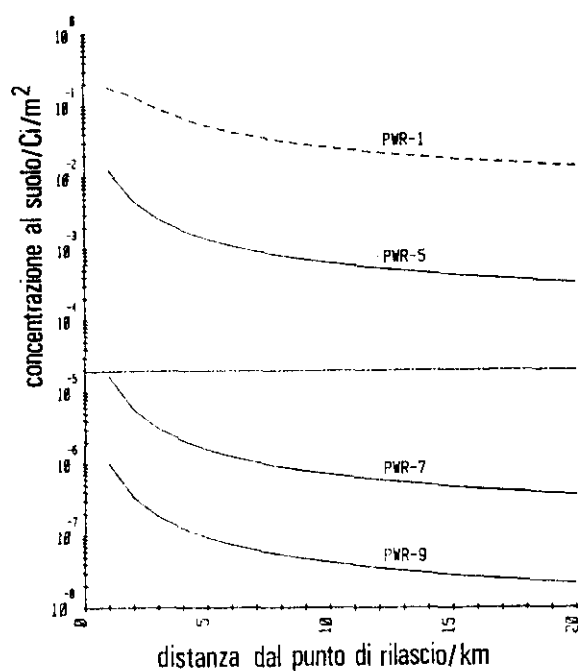


Fig. 6. - Concentrazione al suolo di ¹³⁷Cs equivalente, al variare della distanza dal punto di rilascio, 30 gg dopo il passaggio della nube, per varie classi di incidenti

latte: 20 $\mu\text{Ci}/\text{m}^2$); anche in questo caso si può notare che il livello di riferimento divide totalmente le due sequenze accidentali meno gravi (che dopo 30 gg non presentano più zone di contaminazione superiore al livello di riferimento derivato) da quelle più gravi.

FASE FINALE.

Quest'ultima fase dell'incidente può durare da poche settimane a diversi anni dopo le prime fasi, a seconda del tipo di rilascio.

In questo periodo di tempo continuano per la popolazione i rischi di irraggiamento esterno da terreno contaminato, con eventuale espansione della zona contaminata, e di irraggiamento interno da inalazione di particolato risospeso. Inoltre si aggiungono i rischi di irraggiamento interno da derrate alimentari (non più solo di rapido consumo) contaminate e da consumo di acqua contaminata in profondità (inquinamento delle falde sotterranee dovuto a dilavamento da parte dell'acqua piovana di sostanze radioattive contenute nel terreno).

È una fase tipicamente di studio e di approfondimento che implica un riesame globale delle misure già eseguite per deciderne l'eventuale riduzione o continuazione; è necessario in particolare seguire l'evolversi della contaminazione sul terreno, nelle derrate e nel-

l'acqua per un eventuale sblocco delle restrizioni e il riutilizzo del territorio.

È in quest'ultima fase, infine, che va condotta a termine la valutazione dell'incidente in termine di dose alle persone e al bestiame.

CONCLUSIONI.

A conclusione di quanto esposto, sembra importante innanzitutto sottolineare nuovamente la necessità di padroneggiare l'intero spettro degli incidenti, con le relative probabilità, come in varie sedi è stato fortemente raccomandato. Ciò richiede che i piani di emergenza siano progettati con un'alta flessibilità, per adattarsi alle diverse possibili situazioni incidentali. In quest'ottica è importante ricordare che anche incidenti molto gravi in taluni casi possono essere fronteggiati con misure adeguate e quindi nessuno sforzo organizzativo in questo senso va tralasciato. Da questo discende, specificatamente per la situazione italiana, la necessità di una pianificazione territoriale che preveda attorno ai siti nucleari un'ampia zona a sviluppo sorvegliato e quella della revisione dei piani di emergenza esistenti, come più volte affermato da questo Istituto [20, 21]. In questo ambito, la chiarificazione del ruolo che i diversi enti e le strutture locali dovrebbero assumere in tale evenienza assume un valore fondamentale.

Ricevuto il 27 aprile 1982.

Accettato l'11 maggio 1982.

BIBLIOGRAFIA

1. KEMENY, J. G., chairman president. 1979. *Rapporto al presidente degli Stati Uniti d'America della Commissione sull'incidente di Three Mile Island*. Darmount College Washington. Traduzione dal testo originale a cura dell'ENEL. Genn. 1980.
2. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION & FEDERAL EMERGENCY MANAGEMENT AGENCY. 1980. *Criteria for Preparation and Evaluation of Radiological Emergency Response Plans and Preparedness in Support of Nuclear Power Plants*. NUREG 0654 - FEMA - REP 1. Rev. 1. 1980. Washington, p. 6 e seg.
3. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1981. *Planning for off - site response to radiation accidents in nuclear facilities*. Safety Series n. 55. Vienna § 2. 04.
4. LEWIS, B. 1981. Environmental Measurement Requirements resulting from the TMI-2 Accident. *IEEE Trans. Nucl. Sci.* NS 28 (1) 231-235.
5. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1980. *Nuclear Power Plant Accident Considerations Under the National Environmental Policy Act of 1969*. 45 FR 40101, 10 CFR Parts 50 and 51.
6. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1975. *Reactor Safety Study*. Wash 1400 (NUREG 75/014). October 1975.
7. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1981. *Regulatory Impact of Nuclear Reactor Accident Source Term Assumptions*. NUREG 0771 For Comment. June 1981, Washington D.C. 20555.
8. LEWIS, H. W., chairman 1978. *Risk Assessment review group report to the U.S. Nuclear Regulatory Commission*. NUREG/CR. 0400 Sept. 1978. Washington D.C. 20555.
9. THE FEDERAL MINISTER OF RESEARCH AND TECHNOLOGY. 1979. *The German Risk Study (Summary)*. August 1979.
10. OKRENT, D. 1980. New trends in safety design and analysis. In: *International Conference on Current Nuclear Power Plant Safety Issues*. Stoccolma 20-24 ottobre 1980.
11. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1981. *Technical Bases for Estimating Fission Product Behavior during LWR Accidents*. NUREG 0772 March 1981. Washington D.C. 20555.
12. Cfr. rif. 2, pp. 7, 8.
13. Cfr. rif. 2, p. 26.
14. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1979. *Manual of Protective Action Guides and Protective Actions for Nuclear Incidents*. EPA 520/1-75-001. Rev. July 1979. Washington D.C. 20460, p. 1, 21.

15. Cfr. rif. 3 § 4. 11 b.
16. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1979. *Radiological Assessment Branch, Branch Technical Position*, Rev. 1, November 1979. Washington, D.C.
17. U.S. NUCLEAR REGULATORY COMMISSION. 1980. *Instrumentation for light-water-cooled nuclear power plants to assess plant and environs conditions during and following an accident*. Regulatory Guide 1. 97 Rev. 2. Dec. 1980. Washington D.C.
18. COMITATO NAZIONALE PER L'ENERGIA NUCLEARE. Direzione Centrale Sicurezza Nucleare e Protezione Sanitaria. 1979. *Rapporto informativo preliminare sulle conseguenze ambientali dell'incidente della centrale di Three Mile Island 2 iniziato il 28 marzo 1979*. Doc. DISP (79) 3, p. 11.
19. Ibid., pp. 13, 14.
20. ROGANI, A. & Tabet, E. 1979. Dimensione del rischio nucleare. *Ist. Super. Sanità, Lab. Fis. (Rapp.)*, ISS P 79/1: 1-11.
21. CAMPOS VENUTI, G. & Tabet, E. 1979. Problemi ambientali e sanitari connessi con gli incidenti nucleari: la situazione italiana. In: *Atti del XXI Congresso Nazionale dell'Associazione Italiana di Protezione contro le Radiazioni*. Palermo, 16-19 ottobre, 1979, pp. 25-48.

Proposals for the evaluation of the purity of steroids for pharmaceutical preparations by means of HPLC

G. CAVINA (a), G. MORETTI (a), R. ALIMENTI (a), B. GALLINELLA (a), R. PORRÀ (b) e L. VALVO (b)

(a) Laboratorio di Chimica del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma; (b) Borsista presso il Laboratorio.

Summary. - *The authors examine the application of HPLC procedures to the evaluation of the purity of corticosteroids. According to the authors, two kinds of procedures can be defined for evaluating the degree of purity:*

- a) *indirect analysis procedures;*
- b) *direct analysis procedures.*

The procedures sub a) consist in the analysis of the titre of the sample by means of HPLC by reference to a standard preparation; these procedures require the introduction in column of few µg of sample and normally don't allow to obtain informations about the number and the nature of the impurities which are present in the sample.

The procedures sub b) which are described in the present Note require the use of comparatively higher quantities of the sample and allow to record a characteristic profile of the impurities of each sample. The single impurities can be quantitatively evaluated by reference to a calibration curve obtained with scalar dilutions of the steroid sample.

A general solvent system, for direct phase chromatography, is described with examples of application to different corticosteroids.

Riassunto (Proposte per la valutazione della purezza di steroidi per impieghi farmaceutici mediante HPLC). - *Viene presa in esame l'applicazione di procedimenti di HPLC alla valutazione della purezza di corticosteroidi. Vengono definiti due tipi di procedimenti per la valutazione del grado di purezza:*

- a) *di analisi indiretta;*
- b) *di analisi diretta.*

I procedimenti del tipo indicato in a) richiedono l'analisi mediante HPLC del titolo del campione per riferimento ad una preparazione standard. Questi procedimenti richiedono l'introduzione in colonna di pochi µg di campione e normalmente non consentono di ottenere informazioni sul numero e sulla natura delle impurezze presenti.

I procedimenti del tipo indicato in b), dettagliatamente trattati nella presente Nota, richiedono l'introduzione in colonna di quantità relativamente elevate di campione, l'uso di idonee condizioni cromatografiche e consentono di valutare quantitativamente le singole impurezze per riferimento ad una curva di calibrazione ottenuta con diluizioni scalari della soluzione campione. Viene descritto un procedimento cromatografico di base mediante tecnica in fase diretta con esempi di applicazione a vari corticosteroidi.

The ormonal steroids are widely employed in a large number of potent drugs and show in most of the cases a very close relationship between biopotency and structure: for this reason these steroids require a careful verification of their purity index in order to avoid loss of potency or cross contamination. This principle is clearly taken into account in most of the Pharmacopocias, which include procedures for the evaluation of foreign substances for a large number of steroids as can be seen by considering the statements of the European Pharmacopocia, [1], USP, [2], BP, [3] and NF XIV, [4]. In these statements the concept of foreign substances is generally limited to those which are structurally correlated with the steroid drug, arising from the synthetic procedures which are generally complex and multireactional.

Until now, the evaluation of related foreign substances has been generally achieved by means of chromatographic procedures based on TLC. Actually, in the literature many methods based on HPLC are described. These procedures have become more generally widespread, in particular for certain classes of steroids such as corticosteroids, which, owing to their complex structures, cannot be analysed by GLC procedures without derivatisation.

In the present communication we report on some HPLC procedures developed by our group for the characterization and evaluation of the principal impurities which can be present in commercial samples of synthetic corticosteroids for pharmaceutical use.

General procedures based on HPLC for the analysis of corticosteroids, especially in pharmaceutical preparations, are described by many authors [5-9]. In some cases detailed procedures are also described for the analysis of specific impurities in steroidal drugs as raw materials [10-13]. In other cases procedures are described for the single steroid assay of corticosteroids of pharmaceutical interest, as for example in the recent USP XX [14] which includes these HPLC procedures for a large number of corticosteroid monographs. A report by E. A. Bunch [15] discusses this topic further.

If we consider as a primary objective the problem of the evaluation of impurities in corticosteroids, we can consider HPLC procedures in two groups: a) indirect analysis procedures; b) direct analysis procedures.

The first group essentially describes cases where HPLC is used for the specific assay of a sample by reference to a standard of well established and high quality.

They may require in addition the choice of a suitable internal standard and they give a sample assay subject to the limits of variability of the analytical procedure. These limits must be carefully checked before analysis in order to be able to express the total impurities by the difference (100 - % assay of the sample). Normally these procedures do not provide any indication of the number or nature of the impurities and must be supplemented by collateral tests in order to get information on those side products, which may be responsible for the difference from theoretical in the assay. Procedures of this type require for the chromatographic analysis small loads of sample on columns (usually 0,5-5 μg) and chromatographic systems which are not necessarily very selective, bearing in mind that the identification is performed by means of collateral tests.

The second group of procedures utilize HPLC in order to detect directly and evaluate the related substances present in a steroid sample. They require selective chromatographic systems that must be able to resolve the main and the secondary peaks in the presence of the relatively high load of sample necessary for detecting secondary peaks, using a detector of suitable sensitivity. The present paper describes some procedures for the investigation of steroid purity, based on the direct analysis approach.

EXPERIMENTAL.

A) *Sample preparation.* - Master solutions of the steroids to be examined were prepared in ethanol (1-2 mg/ml); working solutions were obtained from the masters by evaporating the solvent with nitrogen and dissolving the residues with the appropriate isocratic solvent; sample loads were between 25 and 250 μg in 20-100 μl as injection volume; details for the different steroids are reported in the legends to the figures. For the calibration lines, required to evaluate the content of the secondary peaks, reference solutions were prepared by dilution of one of the samples to be examined in order to obtain scalar quantities from 0.2 to 2.0 μg in the injection volume. Results were expressed in μg of sample belonging to the secondary peak (assuming that sample and related substances show about the same absorbance index) and calculated as a percentage of the total sample. The calibration lines were described in terms of their regression equations (x in $\mu\text{g ml}^{-1}$, y in area units (cm^2) or integrator counts) with the respective correlation coefficients. The percent contents of the impurities are reported in the tables only for levels of 0.05 % or more.

B) *Apparatus.* - Analyses were performed either with a Hewlett Packard 1084 or a Perkin Elmer System 3 liquid chromatograph, each instrument being equipped with a variable wavelength detector and the appropriate integrator.

C) *Chromatographic conditions.* - Each sample was studied by normal and reversed phase chromatography. For normal phase analysis, a column of LiChrosorb Si-100^B (5 or 10 μm) was used with solvent mixtures of chloroform (washed and saturated with water) (1)

(1) Chloroform must be deprived of ethanol, a polar modifier used as stabilizer, by means of water washings; alternatively chloroform stabilized with amylene can be used.

- methanol - water starting from 95 : 5 : 0.3v/v, which was described by us [9] as strong eluent in the gradient separations of corticosteroid mixtures. Variations in eluent composition or in the flow rate are described in the text. For reversed phase analysis, columns of μ -Bondapack C - 18 or LiChrosorb RP - 18 (5 μm) were used with solvent mixtures of methanol and water, derived from Tymes [5] and O' Hare *et al.* [16]. Details of columns, solvents and operating conditions are reported in the figure-captions.

D) *Tentative identification of the peaks.* - In some cases, with favourable resolution of the peaks to be studied, separations were performed on 500 μg - 1 mg samples. The eluates were then collected, concentrated and utilized for specific identification reactions as described in the text or for mass-spectrometry, using a LKB 2091 instrument, with the direct inlet technique, operating at 70 eV, temperature range 100-180 $^{\circ}\text{C}$.

RESULTS.

1) *Hydrocortisone.* - Two samples were studied, for which typical profiles and operating conditions in normal phase chromatography are reported in Figs. 1 and 2, the relative percentage content of the related substances being reported in Tab. 1. Sample 1 shows a significant impurity peak (1,20 %) with r.t. 15.84 min, whereas the second sample shows the principal impu-

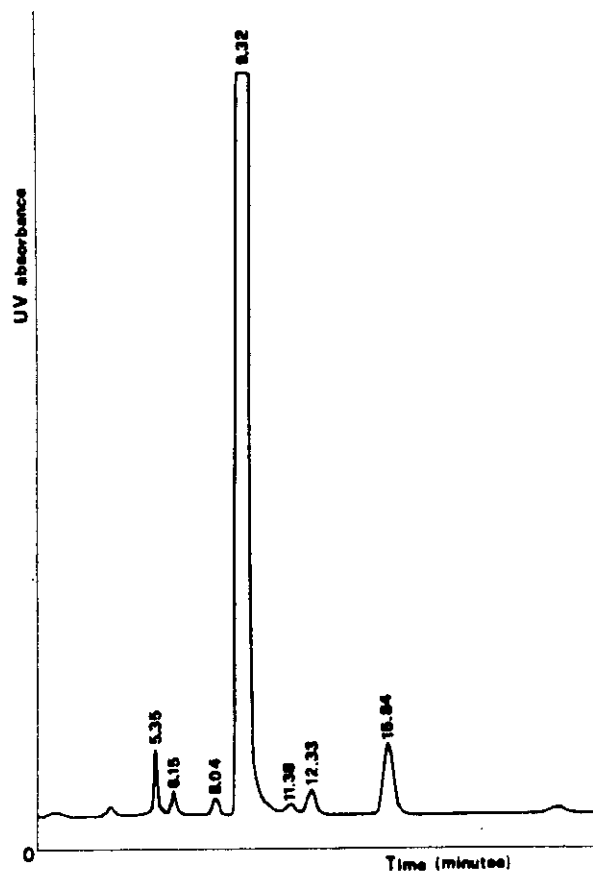


FIG. 1. - Sample: Hydrocortisone n. 1, 50 $\mu\text{g}/175 \mu\text{l}$. Column: LiChrosorb Si-100 (10 μm) n. 3, 250 \times 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Methanol 5 % in water saturated chloroform + 0.3 % water. Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 160 \times 10⁻⁴ A.U./1 cm (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 9.32 min

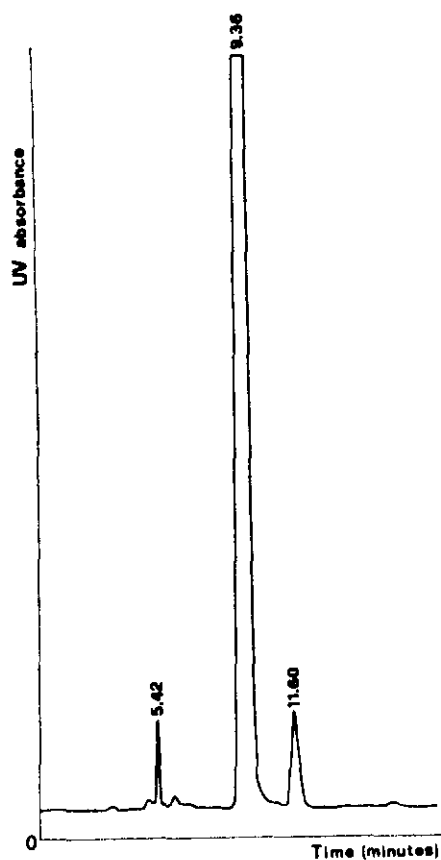


FIG. 2. - Sample: Hydrocortisone n. 2, 50 $\mu\text{g}/175 \mu\text{l}$. Column: LiChrosorb Si-100 (10 μm) n. 3, 250 \times 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Methanol 5% in water saturated chloroform + 0.3% water. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: 160×10^{-4} A.U./1 cm (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 9.36 min

Table 1. - Related foreign substances of hydrocortisone observed in normal phase chromatography. Load 50 μg .

PEAK	Retention time min (a)	% of Related substances (a)
Sample n ^o 1		
1/A	—	—
2/A	5.38	0.28
3/A	6.13	0.11
4/A	8.06	0.03
Main	9.32	—
1/B	11.44	0.06
2/B	12.37	0.24
3/B	16.03	1.20
		Σ 1.92
Sample n ^o 2		
1/A	5.05	0.002
2/A	5.44	0.28
3/A	6.13	0.04
4/A	—	—
Main	9.36	—
1/B	11.63	1.18
2/B	—	—
3/B	—	—
		Σ 1.502

(a) Mean values of four replications.

rity peak (1.18%) very near to the main peak (r.t. 11.60 min) and a lower total content of impurities. The reversed phase chromatograms of the same samples, are reported in Figs. 3 and 4. Sample 1 still shows a higher impurity content than sample 2, but the total impurity content of sample 2 is very low (Tab. 2),

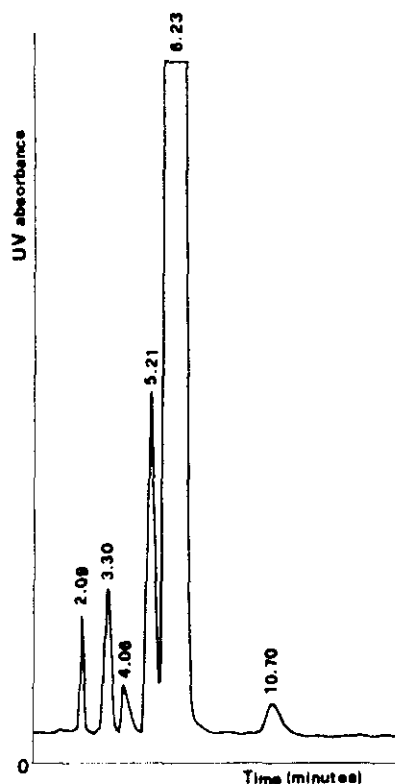


FIG. 3. - Sample: Hydrocortisone n. 1, 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$. Column: μ -Bondapak C₁₈ (10 μm) 300 \times 3.9 mm. Flow rate: 2 ml/min. Eluent: A) Water; B) Methanol; A : B = 55 : 45 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: 28×10^{-4} A.U. (det. UV 240 nm). Main peak r.t.: 6.23 min

Table 2. - Related foreign substances of hydrocortisone observed in reversed phase chromatography. Load 250 μg .

PEAK	Retention time min (a)	% of Related substances (a)
Sample n ^o 1		
1/A	2.11	0.20
2/A	3.28	0.59
3/A	4.04	0.19
4/A	5.16	1.49
Main	6.10	—
1/B	7.90	—
2/B	10.50	0.25
		Σ 2.72
Sample n ^o 2		
1/A	1.80	—
2/A	—	—
3/A	—	—
4/A	4.95	0.09
Main	6.05	—
1/B	7.90	0.29
2/B	10.10	0.09
		Σ 0.47

(a) Mean values of two replications.

compared with the value from normal phase chromatography. For the calibration graphs, obtained in the range 0.5–1.5 μg , the regression equations were: $y = 2.6445x + 0.1573$, $r = 0.9998$ for normal phase chromatography and $y = 110367.6x - 4643.3$, $r = 0.9955$ for reversed phase, with x in μg and y in integrator counts.

As concerns the impurity peak with r.t. 11.60 min in Fig. 2, which we have subsequently found in other samples, we were able to identify it as prednisolone, verifying also that the peak of this latter substance can not be separated from hydrocortisone by using the reversed phase conditions described.

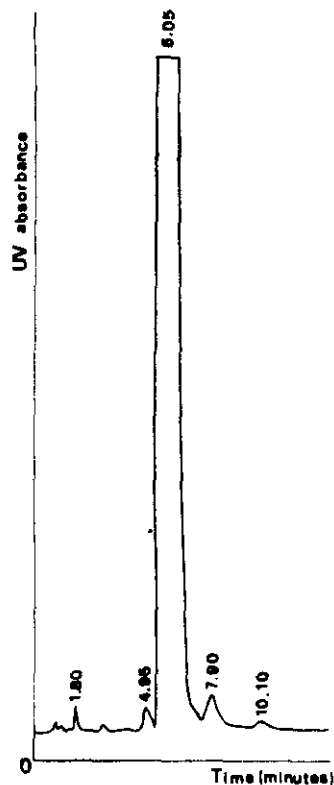


FIG. 4. - Sample: Hydrocortisone n. 2, 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$. Column: μ -Bondapak C_{18} (10 μm) $300 \times 3.9 \text{ mm}$. Flow rate: 2 ml/min. Eluent: A) Water; B) Methanol; A : B = 55 : 45 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 28.1 cm = 256×10^4 A.U. (det. UV 240 nm). Main peak r.t.: 6.05 min

This impurity peak, isolated by means of chromatography at the 500–1000 μg level, displayed the following behaviour during tentative identification: a) after oxidation on about 10 μg of calculated residue with sodium bismuthate, following the procedures described by E. Bailey [17] and J.K. Norimbersky [18] it gives a 17-keto derivative (androst-1,4-dien-11 β -hydroxy-3-17-dione) with a positive m-dinitrobenzene reaction, clearly separated in HPLC and TLC from the corresponding derivative of hydrocortisone and characterized by an intensive orange-red colour and fluorescence after sulphuric acid spraying, as described elsewhere by us [19]; b) after collection of about 5–6 μg of calculated residue, redissolution in 5 μl of ethanol and analysis by direct inlet mass-spectrometry, it shows characteristic fragments of prednisolone at m/e 121, 122, 283, 301, 342 and 360 (M^+).

A corresponding impurity was found in a sample of hydrocortisone acetate (Fig. 5) at about 0.4% level, r.t. 11.09 min and identified as prednisolone acetate: the eluent strength was reduced by lowering the methanol content to 2.0%. The separation of the acetic esters of the parent steroids was again impossible by reversed phase chromatography, confirming the results obtained earlier by Timis [5].

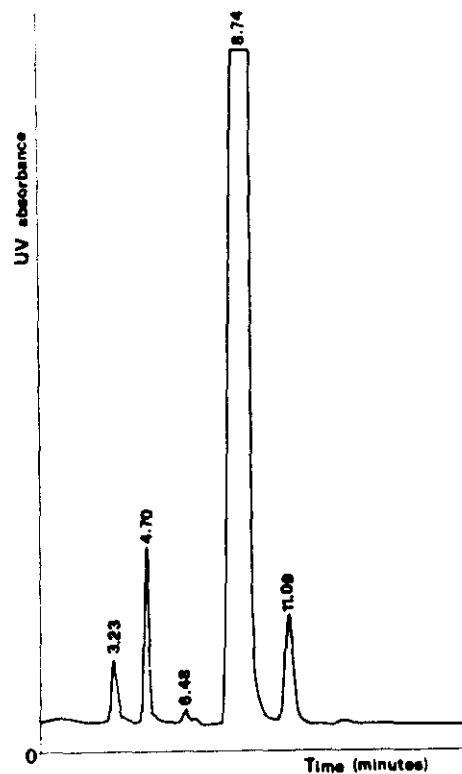


FIG. 5. - Sample: Hydrocortisone acetate, 50 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$. Column: LiChrosorb Si-100 (10 μm) n. 3, $250 \times 4.6 \text{ mm}$. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: A) water saturated chloroform; B) 5% methanol in water saturated chloroform + 0.3% water A : B = 60 : 40 v/v; Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 26.1 cm = 64×10^4 A.U. (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 8.74 min

Hydrocortisone hemisuccinate can be analysed by straight phase with a small modification of the basic solvent (water saturated chloroform, methanol, water, acetic acid 95 : 5 : 0.3 : 1 v/v) but for a purity check a reversed phase condition is preferable, as described in Fig. 6, which shows a clear separation of the hydrocortisone impurity (r.t. 7.00).

2) *Prednisolone*. - Three samples of this compound were studied as shown in Tab. 3 for normal phase analysis: some differences between the samples can be noticed as concerns the components with high retention times but all the samples show a distinct peak with r.t. 8.66 min, as it is shown in Fig. 7. This peak, obtained as specified in D) under "tentative identification" and submitted to the same analytical procedures described in a) and b) under Hydrocortisone, was identified as the latter substance which is a well known impurity of prednisolone (m/e fragments for the isolated peak: 285, 303, 344, 362 (M^+)).

The calibration line was performed in the range 0.25 – 4.0 μg , the regression equation was: $y = 158567.85x + 2505.27$, $r = 0.9999$, x in μg , y in integrator

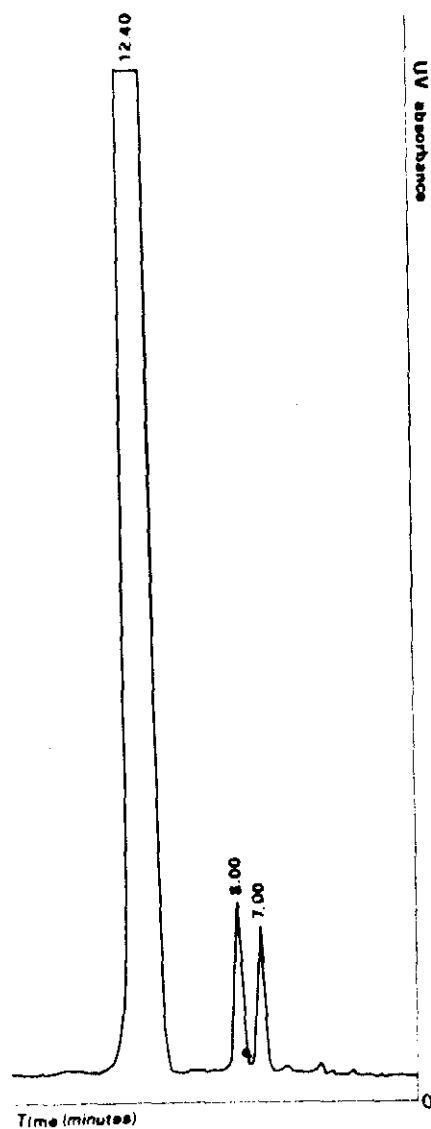


FIG. 6. - Sample: Hydrocortisone hemisuccinate n. 1, 50 $\mu\text{g}/$ 20 μl . Column: μ -Bondapak C_{18} (10 μm) 300 \times 3.9 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: acetonitrile-water-acetic acid 35 : 65 : 3 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 1 cm = 80×10^4 A.U. (det. UV 241 nm). Main peak r.t.: 12.4 min

counts. Tab. 4 shows a parallel study of this compound performed by using a reversed phase technique which reveals fewer impurities than the normal phase method (see Fig. 8). It seems likely that, as in the corresponding case of hydrocortisone, the reversed phase technique is less selective for the secondary peaks than normal phase chromatography.

3) *Prednisone*. - Four samples of this compound were studied: Tab. 5 summarizes the data obtained in normal phase analysis and Fig. 9 shows the operating conditions (reduced strength of the eluent) with sample N^o 1 profile: all the samples show an impurity with r.t. = 10.40 which was identified as cortisone. In reversed phase the cortisone peak follows very close the main peak of prednisone and it can be noticed only using a very efficient column (5 μm dp is preferable). The calibration lines were obtained in the range 0.25 - 1.0 μg , regression equation: $y = 3.1808x - 0.0407$, $r = 0.9994$ for the normal phase and $y = 5859x + 0.4163$,

Table 3. - Related foreign substances of prednisolone observed in normal phase chromatography. Load 100 μg .

PEAK	Retention time (min) (a)	% of Related substances (a)
Sample n ^o 1		
1/A	4.03	0.13
2/A	4.56	0.13
3/A	5.28	-
4/A	5.52	0.39
5/A	5.99	--
6/A	6.57	-
7/A	7.54	-
8/A	8.66	0.19
Main	10.71	-
1/B	18.55	-
2/B	-	-
		Σ 0.84
Sample n ^o 2		
1/A	-	--
2/A	-	--
3/A	5.04	0.35
4/A	5.62	0.21
5/A	6.04	0.12
6/A	6.63	0.11
7/A	-	--
8/A	8.67	0.14
Main	10.69	--
1/B	17.67	0.17
2/B	18.68	0.20
		Σ 1.30
Sample n ^o 3		
1/A	-	-
2/A	4.54	0.12
3/A	-	-
4/A	5.43	0.20
5/A	-	-
6/A	6.70	0.05
7/A	7.60	0.06
8/A	8.66	0.25
Main	10.70	-
1/B	-	-
2/B	-	-
		Σ 0.68

(a) Mean values of two replications.

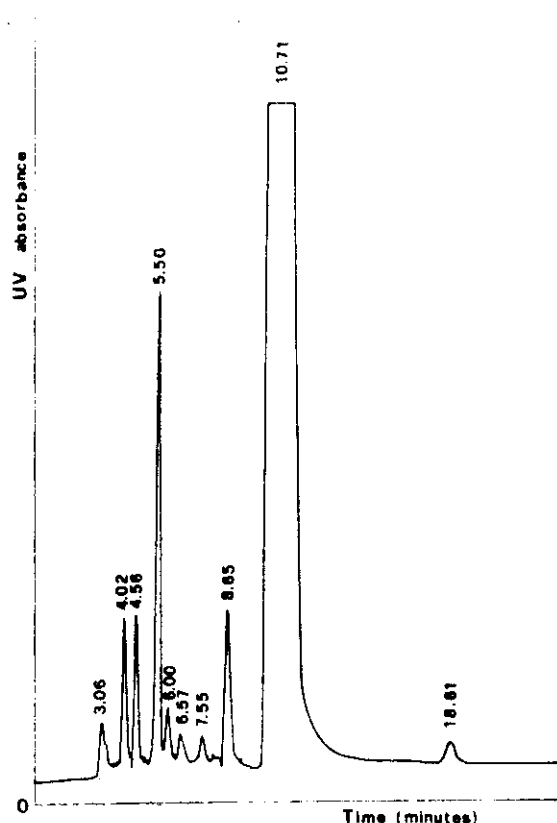


FIG. 7. - Sample: Prednisolone n. 1, 100 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$. Column: LiChrosorb Si-100 (5 μm) n. 2,250 \times 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Methanol 5% in water saturated chloroform + 0.3% water. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: $26 \text{ 1 cm} = 64 \times 10^{-4} \text{ A.U.}$ (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 10.71 min

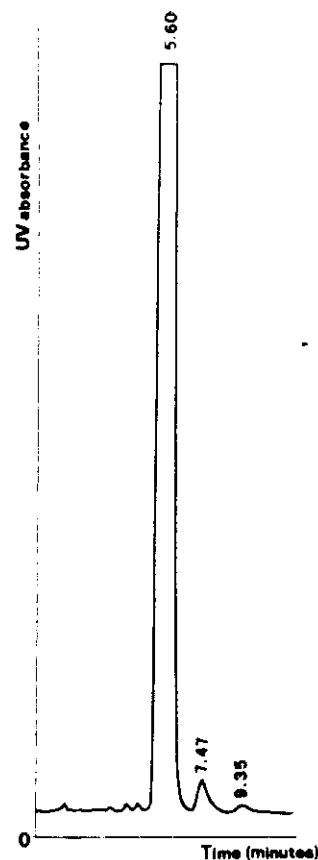


FIG. 8. - Sample: Prednisolone n. 1, 50 $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$. Column: μ -Bondapak C_{18} (10 μm) 300 \times 3.9 mm. Flow rate: 2 ml/min. Eluent: A) Water; B) Methanol; A : B = 48 : 52 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: $1 \text{ cm} = 160 \times 10^{-4} \text{ A.U.}$ (det. UV 241 nm). Main peak r.t.: 5.60 min

Table 4. - Related foreign substances of prednisolone observed in reversed phase chromatography. Load 100 μg .

PEAK	Retention time min	% α Related substances
Sample n ^o 1		
	(a)	(a)
1/A	—	—
Main	5.62	—
1/B	7.50	0.37
2/B	9.38	0.07
		Σ 0.44
Sample n ^o 2		
	(b)	(b)
1/A	3.98	0.46
Main	5.62	—
1/B	6.85	0.48
2/B	—	—
		Σ 0.94
Sample n ^o 3		
	(b)	(b)
1/A	—	—
Main	5.62	—
1/B	7.56	0.46
2/B	9.54	0.26
		Σ 0.72

(a) Mean values of five replications.
(b) Mean values of four replications.

$r = 0.9989$ for the reversed phase, x in μg and y in integrator counts.

4 and 5) *Betamethasone and Dexamethasone*. - Three samples of betamethasone and one sample of dexamethasone were examined. In normal phase chromatography the basic conditions were utilized for the analysis of betamethasone samples as illustrated in Fig. 10. Tab. 6 shows the impurity list of the 3 samples, one is characterized by a relatively high content of a single impurity, all by the lack of compounds with r.t. higher than the main peak: this could be in agreement with some synthetic patterns of this corticosteroid. In reversed phase chromatography the behaviour of the samples is as expected, i.e. the order of the peaks reversed as compared with the normal phase. But here again there are probably some peaks which are not well resolved and discrepancies are observed in the quantitative results for the two chromatographic techniques (see Fig. 11 and Tab. 7).

The dexamethasone sample was studied mainly by normal phase chromatography with a reduction of the flow rate to 0.5 ml/min (Fig. 12). The impurity pattern is similar to that of betamethasone with most of the secondary peaks eluting ahead of the main peak, again in accordance with the synthetic route for this type of steroids. There is however a small following peak which shows the same retention time as betamethasone and the addition of this compound to the sample

Table 5. - Related foreign substances of prednisone observed in normal phase chromatography. Load 50 μ g.

PEAK	Retention time min. (a)	% of Related substances (a)
<i>Sample n° 1</i>		
1/A	5.42	0.34
2/A	9.41	0.24
3/A	10.46	3.39
Main	12.10	—
1/B	16.85	0.85
		Σ 4.82
<i>Sample n° 2</i>		
1/A	5.37	0.17
2/A	—	—
3/A	10.40	0.18
Main	12.02	—
1/B	—	—
		Σ 0.35
<i>Sample n° 3</i>		
1/A	5.38	0.10
2/A	9.37	0.09
3/A	10.39	0.69
Main	12.02	—
1/B	—	—
		Σ 0.88
<i>Sample n° 4</i>		
1/A	—	—
2/A	9.51	0.10
3/A	10.43	0.28
Main	12.02	—
1/B	17.13	0.10
		Σ 0.48

(a) Mean values of four replications.

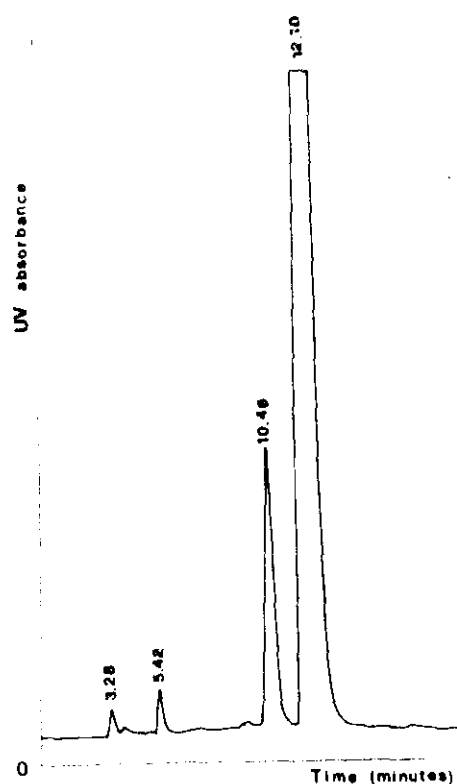


FIG. 9. - Sample: Prednisone n. 1, 50 μ g/100 μ l. Column: LiChrosorb Si-100 (5 μ m) 250 \times 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Chloroform (amyl. stab.)-Methanol-Water 97.35 : 2.5 : 0.15 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: 1 cm = 160×10^{-4} A.U. (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 12.10 min

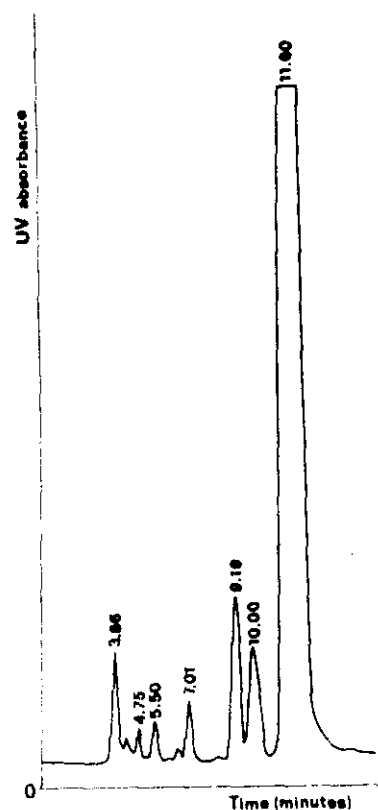


FIG. 10. - Sample: Betamethasone n. 1, 25 μ g/50 μ l. Column: LiChrosorb Si-100 (10 μ m) n. 3, 250 \times 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Methanol 5% in water saturated chloroform - 0.3% water. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: 26 1 cm = 64×10^{-4} A.U. (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 11.6 min

increases the peak height. The clear separation of these two isomeric steroids in a wide range of reciprocal contamination was confirmed by examining the 3 betamethasone samples: two of them (samples n° 2 and 3) show a small peak preceding the main peak

Table 6. - Related foreign substances of betamethasone observed in normal phase chromatography. Load 25 µg.

PEAK	Retention time min. (a)	% of Related substances (a)
Sample n° 1		
1/A	4.75	0.10
2/A	5.49	0.20
3/A	7.00	0.30
4/A	9.19	1.19
5/A	10.00	1.15
6/A	—	—
Main	11.61	—
		Σ 2.94
Sample n° 2		
1/A	—	—
2/A	—	—
3/A	—	—
4/A	9.70	2.37
5/A	—	—
6/A	10.97	0.46
Main	11.97	—
		Σ 2.83
Sample n° 3		
1/A	5.28	0.42
2/A	—	—
3/A	—	—
4/A	9.29	0.36
5/A	—	—
6/A	10.87	0.37
Main	11.87	—
		Σ 1.15

(a) Mean values of three replications.

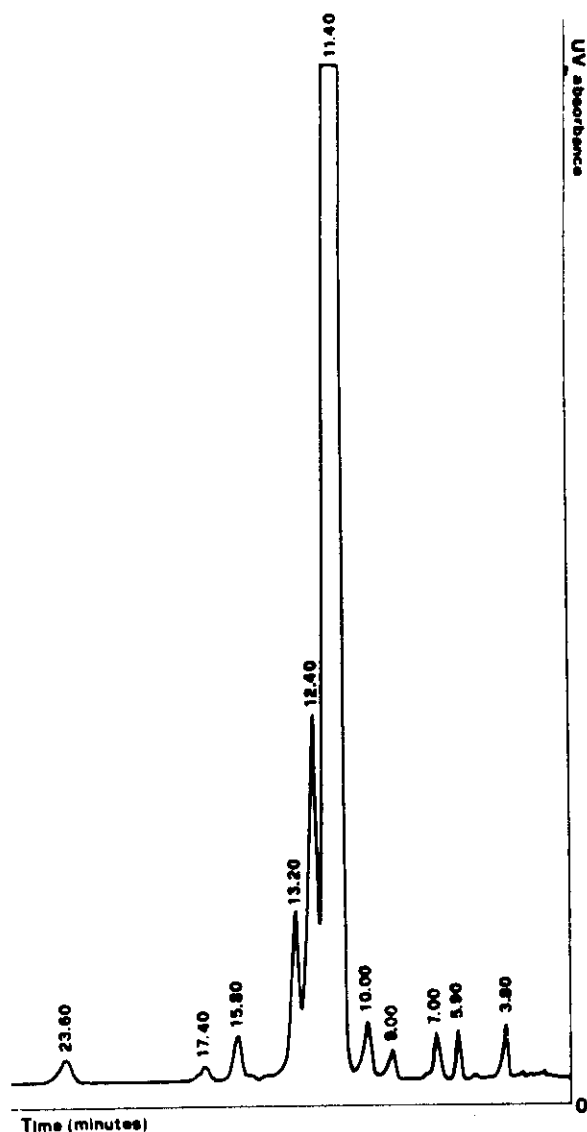


FIG. 11. - Sample: Betamethasone n. 1, 50 µg/50 µl. Column: LiChrosorb RP-18 (5 µm) n. 2, 250 × 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Water-Methanol 40 : 60 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Attn.: 1 cm = 8×10^{-4} A.U. (det. UV 240 nm).
Main peak r.t.: 11.4 min

(see Tab. 6) and this peak can be increased by adding dexamethasone to the sample.

The calibration data were: betamethasone, normal phase $y = 115092.8x - 1378.7$, $r = 0.9998$, x in µg, y in integrator counts; reversed phase, $y = 1.8188x + 0.0073$, $r = 0.9999$, x in µg, y in cm²; dexamethasone $y = 4.61446x + 0.000616$, $r = 0.9997$, x in µg, y in integrator counts.

As a general remark, concerning this first investigation on related substances for corticosteroids, we can say that normal phase procedures are more suitable than reversed phase for a more sensitive regulation of the resolution of one or other group of peaks by means of small modifications in the eluent strength or flow rate. The general resolution of the compounds studied is reported in Fig. 13. We can also say that both techniques give satisfactory, linear calibration curves, for

Table 7. - Related foreign compounds of betamethasone observed in reversed phase chromatography. Load 50 µg.

Sample n° 1			Sample n° 2			Sample n° 3		
PEAK	Retention time min (a)	% of Related substances (a)	PEAK	Retention time min (a)	% of Related substances (a)	PEAK	Retention time min (a)	% of Related substances (a)
1/A	3.60	0.08	1/A	—	—	1/A	—	—
2/A	5.70	0.07	2/A	5.60	—	2/A	5.80	0.07
3/A	6.80	0.08	3/A	6.70	—	3/A	6.80	0.06
4/A	—	—	4/A	—	—	4/A	8.20	0.44
5/A	8.80	—	5/A	8.60	—	5/A	8.80	—
6/A	9.80	0.12	6/A	—	—	6/A	—	—
Main	11.30	—	Main	11.10	—	Main	11.20	—
1/B	12.30	1.10	1/B	12.10	0.81	1/B	12.10	—
2/B	13.10	0.49	2/B	12.70		2/B	13.10	0.38
3/B	—	—	3/B	13.00		3/B	14.30	—
4/B	—	—	4/B	—	—	4/B	15.10	—
5/B	15.70	0.13	5/B	15.80	—	5/B	16.00	—
6/B	17.20	—	6/B	—	—	6/B	17.00	0.09
7/B	23.40	0.07	7/B	22.90	—	7/B	—	—
		Σ 2.14			Σ 0.81			Σ 1.04

(a) Mean values of two replications.

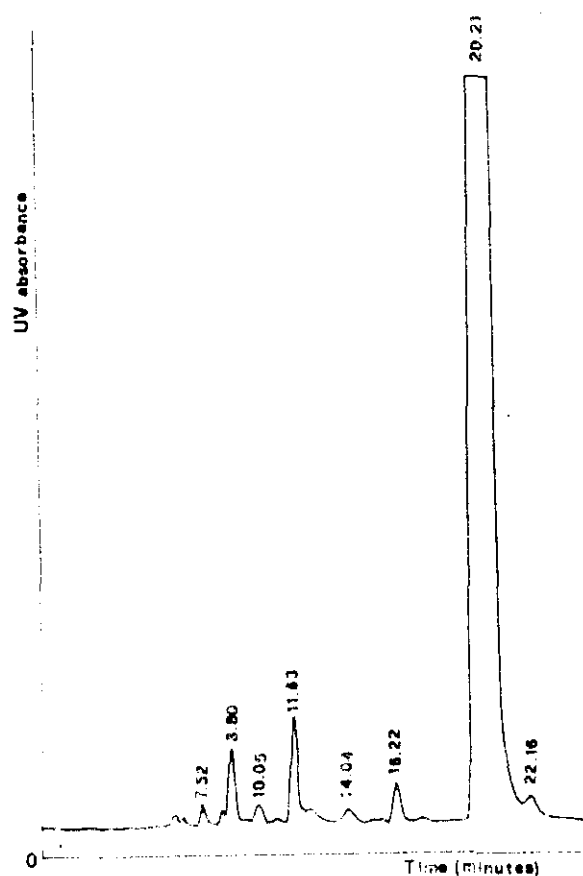


FIG. 12. - Sample: Dexamethasone n. 1, 100 µg/50 µl. Column: LiChrosorb Si-100 (5 µm) 250 × 4.6 mm. Flow rate: 0.5 ml/min. Eluent: Methanol 5% in water-saturated chloroform + 0.3% water. Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 1 cm = 160 × 10⁻⁴ A.U. (det. UV 254 nm). Main peak r.t.: 20.21 min

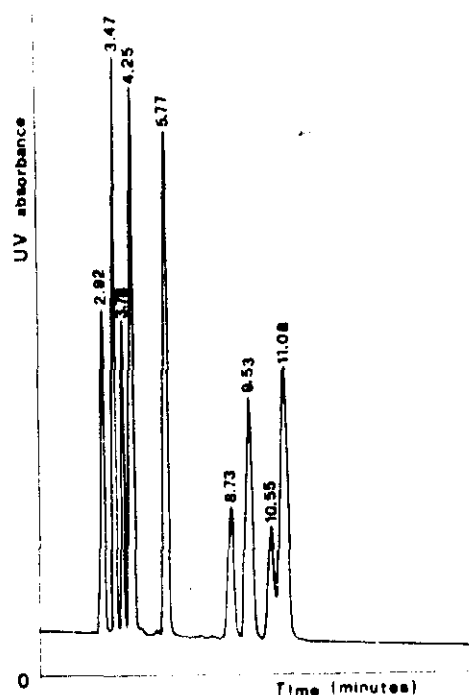


FIG. 13. - Column: LiChrosorb Si-100 (5 µm) 250 × 4.6 mm. Flow rate: 1 ml/min. Eluent: Chloroform (amyl. stab.)-Methanol-Water 94.70 : 5.0 : 0.3 v/v. Chart speed: 0.5 cm/min. Att.: 26, 1 cm = 64 × 10⁻⁴ A.U. (det. UV 254 nm). Sample: in 20 µl (Desoxycorticosterone acetate 0.4 µg r.t., 2.92 min.; Cortisone acetate 0.8 µg r.t., 3.47 min.; Cortisol acetate 0.4 µg r.t., 3.78 min.; Cortisone 0.8 µg r.t., 4.25 min.; Prednisolone acetate 0.4 µg r.t., 4.25 min.; Prednisone 0.8 µg r.t., 5.77 min.; Cortisol 0.4 µg r.t., 8.73 min.; Dexamethasone 0.8 µg r.t., 9.53 min.; Betamethasone 0.4 µg r.t., 10.55 min.; Prednisolone 0.8 µg r.t., 11.08 min)

the quantitative evaluation of the secondary peaks, at least when present at the levels observed in this study. More detailed investigations will be necessary in order to focus the attention on those secondary peaks which are the most interesting for identification and evaluation, probably fixing a percentage content limit under

which minor peaks are to be excluded in order to increase the general reproducibility of the analysis.

Acknowledgement.

The authors thank Prof. L. Boniforti for his help in obtaining the mass spectra.

Ricevuto il 28 maggio 1982.

Accettato il 5 luglio 1982.

REFERENCES

1. EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2nd. Ed. Maisonneuve S.A. France. V: 3.3.7.
2. UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 1980. Mack Printing Co., Easton Pa. XX: 927.
3. BRITISH PHARMACOPOEIA. 1973. University Printing House, Cambridge. A: 95.
4. NATIONAL FORMULARY XIV. 1975. American Pharm. Assn, p. 424.
5. TYMES, N.W., 1977. The determination of corticoids and related steroid analogs by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* **15**: 151-155.
6. BAILEY, F. & BRITTAIN, P.N. 1973. High-efficiency liquid chromatography in pharmaceutical analysis. *J. Chromatogr.* **83**: 431-437.
7. OLSON, M.C. 1973. Analysis of adrenocortical steroids in pharmaceutical preparations by HPLC. *J. Pharm. Sci.* **62**: 2001-2007.
8. CAVINA, G., MORETTI, G., GALLINELLA, B., ALIMENTI, R. & BARCHIESI, R. 1978. Analisi di corticosteroidi in forme farmaceutiche complesse mediante cromatografia liquida ad alta pressione: analisi di preparazioni per uso dermico. *Boll. Chim. Farm.* **117**: 534-544.
9. CAVINA, G., MORETTI, G., ALIMENTI, R. & GALLINELLA, B. 1979. Analysis of natural corticosteroids in adrenal extracts and in biological fluids by HPLC. *J. Chromatogr.* **175**: 125-140.
10. LI WAN PO, A., IRWIN, W.J. & YIP Y.W. 1979. High-performance liquid chromatographic assay of betamethasone-17-valerate and its degradation products. *J. Chromatogr.* **176**: 399-405.
11. AST, TH.M. & ABDOU, H.M. 1979. Analysis of Fludrocortisone acetate and its solid dosage forms by HPLC. *J. Pharm. Sci.* **68**: 421-423.
12. BUTTERFIELD, A.G., LODGE, B.A., POUND, M.J. & SEARS, R.W. 1975. Combined assay, identification and foreign related steroids test for methandrostenolone by HPLC. *J. Pharm. Sci.* **64**: 441-443.
13. WIKBY, A., THALÈN, A. & ORESTEN, G. 1978. Separation of epimers of budesonide and related corticosteroids by HPLC. A comparison between straight and reversed-phase systems. *J. Chromatogr.* **157**: 65-74.
14. UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 1980. XX: 80, 176, 208.
15. BUNCH, E.A. 1978. *Determination of related foreign steroids and assay.* Prednisone, prednisolone, hydrocortisone and cortisone acetate. Edro-Sarap Res. Tech. Report (3): 117-180, through CA 90: 174731 n.
16. O'HARE, M.J., NICE, E.C., MAGEE BROWN, R. & BULLMAN, H. 1976. HPLC of steroids secreted by human adrenal and testis cells in monolayer culture. *J. Chromatogr.* **125**: 357-367.
17. BAILEY, E. 1964. The use of GLC in the assay of some corticosteroids in urine. *J. Endocrinol.* **28**: 131-138.
18. NORIMBERSKY, J.K. 1971. Evaluation of GLC and other techniques for the estimation of corticosteroids. *Clin. Chim. Acta.* **34**: 187-195.
19. CAVINA, G. (to be published).

Elaborazione e valutazione dei risultati del rilevamento delle particelle sospese nell'aria a Roma

M. A. BERTOLACCINI

Laboratorio di Igiene del Territorio, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - *Vengono presentati i risultati di sei anni di rilevamento di particelle sospese nell'aria lungo una strada urbana di Roma. Le concentrazioni medie di 24 ore di particelle sospese rilevate per periodi di osservazione da un trimestre a un anno si adattano alla distribuzione log-normale, di cui vengono determinati i parametri. I risultati dei sei anni di rilevamento vengono confrontati tra loro e con i limiti della Direttiva CEE per le particelle in sospensione, utilizzando come parametri di confronto i valori delle media aritmetica, della mediana e del 95° percentile.*

Summary. - *(Elaboration and Evaluation of the Results of Monitoring Suspended Particulates in Rome). The results of six years' monitoring of suspended particulates near an urban street of Rome are presented. The 24-hour mean concentrations of the suspended particulates monitored during a period from three months to a year fit a log-normal distribution, whose parameters are estimated. Comparisons are made between annual figures for the six-year period and between Rome figures and EEC directive limits for suspended particulates. Arithmetic mean, median and 95th percentile are used as comparison parameters.*

PREMESSA.

Dal 1974 al 1980 è stata in funzione presso l'Istituto Superiore di Sanità una stazione per il rilevamento delle concentrazioni delle particelle sospese nell'aria, con lo scopo di condurre delle indagini sull'inquinamento atmosferico di origine prevalentemente autoveicolare; la stazione di rilevamento pertanto era situata lungo una strada urbana di Roma con traffico di media intensità; il punto di prelievo era collocato a circa 4 metri di distanza dal bordo della carreggiata e ad un'altezza di circa 1,5 metri dal livello della strada.

I dati rilevati in questa stazione sono stati in parte già utilizzati per diverse indagini sulla concentrazione delle particelle sospese nell'aria [1], sull'acidità dell'aerosol [2], sul contenuto in solfati nell'aerosol [3]; ci è sembrato interessante riprendere in considerazione l'insieme dei dati rilevati a partire dal 1974, in quanto essi costituiscono una serie praticamente continua di sei anni di rilevamento, con l'intendimento di mettere in evidenza un'eventuale evoluzione del fenomeno dell'inquinamento atmosferico da particelle sospese in una zona urbana di Roma.

In vista dell'applicazione in Italia della normativa comunitaria [4] e per poter confrontare i risultati del rilevamento con i limiti per le particelle sospese previsti in tale direttiva, sono stati presi in considerazione i dati rilevati a partire dal 1° ottobre 1974, in modo che ogni anno di rilevamento è costituito da due semestri, uno invernale e uno estivo, consecutivi.

METODO DI RILEVAMENTO.

Le particelle sospese nell'aria sono state determinate con il metodo gravimetrico dell'appendice 3 del Regolamento 322 [5], utilizzando per la filtrazione dell'aria un solo filtro a membrana di acetato di cellulosa di porosità media 0,8 micron; il flusso di filtrazione dell'aria era di 18-20 l/min, la superficie effettiva di filtrazione era di 9,62 cm² e la durata del campionamento di 24 ore.

Tutti i dati riportati nel seguito si riferiscono a concentrazioni medie di 24 ore.

RISULTATI.

1) *Concentrazioni medie mensili.* - Nella Tab. 1 sono state riportate le concentrazioni medie mensili di particelle sospese nell'aria rilevate durante sei anni, per mettere in evidenza l'andamento stagionale di tale inquinante, che presenta in genere le concentrazioni più elevate in dicembre e quelle più basse in agosto.

L'andamento stagionale delle concentrazioni di particelle sospese nell'aria rilevate nella stessa stazione è già stato discusso in una nota precedente (1) per quanto riguarda l'anno 1974-75; i successivi anni di rilevamento confermano quanto già osservato in tale nota; abbiamo riportato i dati della Tab. 1 per mettere in evidenza le fluttuazioni delle concentrazioni medie mensili riscontrabili da un anno all'altro.

2) *Adattamento dei dati rilevati al modello statistico log-normale.* - In una nota precedente [3] era stato osservato che le concentrazioni di particelle sospese rilevate nella stessa stazione di prelievo si adattano abbastanza bene ad una distribuzione di tipo log-normale; con una serie di sei anni di rilevamento possiamo confermare che il modello statistico log-normale può essere

Tabella 2-A. - Parametri delle distribuzioni log-normali, media e deviazione standard dei dati rilevati in ciascuna stagione dell'anno per l'insieme dei sei anni di rilevamento.

TRIMESTRE	μ	σ	M	S
Dal 1° ottobre al 31 dicembre	5,062	0,506	179,5	94,4
Dal 1° gennaio al 31 marzo	5,050	0,455	172,1	76,4
Dal 1° aprile al 30 giugno	4,609	0,382	107,8	41,6
Dal 1° luglio al 30 settembre	4,543	0,409	101,8	40,7

Tabella 3. - Parametri delle distribuzioni log-normali e test di Kolmogoroff ($\alpha = 0,05$) per le concentrazioni medie di 24 ore di particelle sospese rilevate in un periodo di osservazione di un semestre, in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

SEMESTRE	Anno	μ	σ	Test di Kolmogoroff	
				Calcolato	Critico
Dal 1° ottobre al 31 marzo	1974-75	5,062	0,409	0,078	0,116
	1975-76	5,216	0,518	0,073	0,120
	1976-77	4,913	0,453	0,031	0,113
	1977-78	5,064	0,453	0,042	0,117
	1978-79	5,097	0,586	0,095	0,200
	1979-80	5,007	0,530	0,089	0,158
Dal 1° aprile al 30 settembre	1974-75	4,614	0,317	0,052	0,153
	1975-76	4,666	0,408	0,061	0,165
	1976-77	4,586	0,381	0,080	0,110
	1977-78	4,528	0,379	0,064	0,132
	1978-79	4,523	0,460	0,064	0,132
	1979-80	4,589	0,400	0,057	0,163

vamento. Nella stessa tabella sono riportati anche i valori della media e della deviazione standard delle concentrazioni di particelle sospese, rilevate in ciascuna stagione come indicazione dei livelli di concentrazione e della loro dispersione.

Dalle Tab. 2 e 2-A si può dedurre, per quanto riguarda le particelle sospese nell'aria nella zona urbana di Roma, che la suddivisione dell'anno in 4 periodi, uno per ogni stagione, è eccessiva e non aggiunge informazioni rispetto alla suddivisione in due semestri, uno di autunno-inverno e uno di primavera-estate; in secondo luogo si può anche dedurre che potrebbe essere sufficiente cseguire il rilevamento solo per sei mesi all'anno, scelti in modo che siano ugualmente rappresentati un trimestre del periodo autunno-inverno e uno del periodo primavera-estate.

Nella Tab. 3 sono riportati i parametri μ e σ e i risultati del test di Kolmogoroff per periodi di osservazione di un semestre, mentre nella Tab. 4 sono riportati gli stessi parametri per periodi di osservazione di un anno.

Tabella 4. - Parametri delle distribuzioni log-normali e test di Kolmogoroff ($\alpha = 0,05$) per le concentrazioni medie di 24 ore di particelle sospese rilevate in un periodo di osservazione di un anno, in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

ANNO	μ	σ	Test di Kolmogoroff	
			Calcolato	Critico
1974-75	4,899	0,437	0,052	0,092
1975-76	5,026	0,551	0,035	0,097
1976-77	4,746	0,454	0,043	0,079
1977-78	4,828	0,499	0,049	0,087
1978-79	4,702	0,566	0,055	0,111
1979-80	4,803	0,516	0,045	0,113

Per quanto riguarda i periodi di osservazione di un semestre, dalla Tab. 3 si può dedurre che, per il valore del parametro μ , le fluttuazioni da un anno all'altro sono relativamente più grandi nel semestre autunno-inverno che non in quello primavera-estate (il coefficiente di variazione di μ è pari a 0,020 nel periodo autunno-inverno e 0,012 nel periodo primavera-estate). Nel caso del parametro σ , invece, le fluttuazioni sono molto più marcate, come del resto è da attendersi, dato che σ è calcolato come deviazione standard dei logaritmi delle concentrazioni, e sono all'incirca uguali nei due periodi dell'anno (il coefficiente di variazione di σ è pari a 0,129 per il semestre autunno-inverno e a 0,119 per il semestre primavera-estate).

I vantaggi derivanti dall'applicazione di modelli statistici ai dati di inquinamento atmosferico sono evidenti. Nel caso che sia applicabile il modello log-normale, attraverso due soli parametri, μ e σ , è possibile descrivere il fenomeno dell'inquinamento atmosferico e, sfruttando le caratteristiche del modello stesso, stimare i valori della media, della mediana, della varianza, le frequenze di superamento di determinati livelli di concentrazione, ecc.

Come esempio della utilizzazione delle caratteristiche del modello statistico, nella Tab. 5 vengono riportati, per periodi di osservazione di un anno, i valori di alcuni percentili stimati in base al modello log-normale e, come termine di confronto, determinati in base all'insieme dei dati ordinati. Per la stima dei percentili della popolazione è stata utilizzata l'equazione (1):

$$(1) \quad \ln C = \mu + z\sigma$$

dove z è la variabile normale standardizzata.

Per la determinazione del valore dei percentili dei campioni rilevati è stata utilizzata la formula (2):

$$(2) \quad r = (P \cdot N + 0,5)/100$$

dove r è il numero d'ordine del dato nella serie ordinata, P è il percentile di cui si vuole determinare il valore, N è il numero di dati del campione; il valore di r viene arrotondato al numero intero superiore.

Nella colonna dei percentili stimati della Tab. 5 è stato riportato anche il valore del 99,86° percentile, che corrisponde all'estremo superiore di una serie di 365 valori della variabile con distribuzione log-normale; si tratta cioè della stima della concentrazione più elevata dell'anno.

Tabella 5. - *Confronto tra i valori di alcuni percentili stimati in base ai parametri μ e σ della Tab. 4 e quelli campionari, in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.*

ANNO	Percentile	Stimato	Campionario
1974-75.....	5,00	65,4	66
	10,00	76,6	78
	50,00	134,1	136
	90,00	234,7	231
	95,00	275,0	260
	98,00	328,8	343
	99,00	370,4	346
	99,86	494,6	—
1975-76.....	5,00	61,5	62
	10,00	75,1	76
	50,00	152,3	155
	90,00	308,6	300
	95,00	377,1	357
	98,00	472,4	452
	99,00	549,0	485
	99,86	791,1	—
1976-77.....	5,00	54,5	58
	10,00	64,3	69
	50,00	115,1	112
	90,00	206,0	208
	95,00	243,0	259
	98,00	292,6	317
	99,00	331,2	338
	99,86	447,5	—
1977-78.....	5,00	55,0	55
	10,00	66,0	66
	50,00	125,0	126
	90,00	236,8	239
	95,00	283,9	274
	98,00	348,1	341
	99,00	398,8	426
	99,86	554,9	—
1978-79.....	5,00	43,4	45
	10,00	53,3	53
	50,00	110,2	112
	90,00	227,6	230
	95,00	279,6	292
	98,00	352,5	385
	99,00	411,3	400
	99,86	598,5	—
1979-80.....	5,00	52,2	54
	10,00	62,9	62
	50,00	121,9	118
	90,00	236,0	250
	95,00	284,6	306
	98,00	351,4	360
	99,00	404,4	364
	99,86	569,1	—

Data l'aderenza dei campioni di dati rilevati al modello statistico, è evidente che la differenza tra i valori stimati in base al modello, che si riferiscono perciò alla popolazione delle concentrazioni medie di 24 ore di un anno, o determinati in base al campione, e che si riferiscono perciò al particolare campione in esame, debba essere piuttosto piccola; in effetti, la concordanza dei valori delle due colonne è molto buona anche per i percentili più elevati, al contrario di quello che era stato riscontrato, per la stessa stazione di prelevamento nel caso del biossido di zolfo, dove lo scostamento del campione dal modello statistico era via via sempre più grande e dello stesso segno negativo a partire dal 90° percentile. Nel caso delle particelle sospese, invece, non si riscontra una differenza sistematica, cioè sempre dello stesso segno, tra il valore stimato e il valore determinato in base al campione, anche alle estremità della distribuzione, e quindi la stima della concentrazione media giornaliera più elevata dell'anno appare sufficientemente attendibile.

Nella Tab. 6 sono riportate la media e la deviazione standard stimate in base alle caratteristiche del modello log-normale e quelle calcolate per i campioni di dati raccolti.

Tabella 6. - *Confronto delle medie e delle deviazioni standard stimate in base ai parametri μ e σ della Tab. 4 e quelle campionarie in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.*

ANNO	Media stimata	Media campionaria	Deviazione standard stimata	Deviazione standard campionaria
1974-75..	147,5	147,2	67,6	64,0
1975-76..	177,2	176,2	105,6	97,4
1976-77..	127,6	127,6	61,1	60,7
1977-78..	141,5	141,8	75,2	77,6
1978-79..	129,3	129,7	79,5	80,4
1979-80..	139,2	139,4	76,8	76,2

Per la stima della media aritmetica e della deviazione standard ci si è valse delle seguenti proprietà del modello [7]:

$$(3) \quad \text{media} = e^{\left(\mu + \frac{\sigma^2}{2}\right)}$$

$$(4) \quad \text{varianza} = e^{(2\mu + \sigma^2)} (e^{\sigma^2} - 1)$$

Anche nel caso della Tab. 6 i valori stimati sono in buon accordo con i valori calcolati per i campioni di dati rilevati.

3) *Valutazione dei sei anni di rilevamento di particelle sospese.* - Per la valutazione dei sei anni di rilevamento di particelle sospese sono stati scelti i seguenti parametri di confronto: i valori della media, della mediana e del 95° percentile, stimati in base al modello statistico log-normale; per tener conto delle differenze stagionali, oltre al periodo annuale di osservazione, sono stati considerati i periodi semestrali; i periodi trimestrali invece sono stati tralasciati per le considerazioni fatte intorno alle Tab. 2 e 2-A. Per maggiore comodità, nella Tab. 7 sono stati raccolti tutti i dati utilizzati per il confronto.

Tabella 7. - *Confronto dei risultati di sei anni di rilevamento della concentrazione media di 24 ore di particelle sospese nell'aria, in $\mu\text{g}/\text{m}^3$.*

PERIODO	Parametro	1974-75	1975-76	1976-77	1977-78	1978-79	1979-80	Media	Coeff. di var.
Semestre: dal 1° ottobre al 31 marzo	Media	170,9	208,7	151,0	175,3	191,8	170,7	178,1	0,112
	50° perc.	157,9	184,3	136,0	158,3	163,6	149,5	158,3	0,101
	95° perc.	309,5	431,8	291,1	333,4	428,8	357,7	358,9	0,166
Semestre: dal 1° aprile al 30 settembre	Media	105,9	115,0	105,2	99,3	101,9	106,4	105,6	0,051
	50° perc.	100,9	106,3	98,1	92,6	92,1	98,2	98,0	0,054
	95° perc.	169,9	208,0	183,7	172,5	196,4	189,7	186,7	0,078
Anno: dal 1° ottobre al 30 settembre	Media	147,2	176,2	127,6	141,8	129,7	139,4	143,6	0,122
	50° perc.	134,1	152,3	115,1	125,0	110,2	121,9	126,4	0,120
	95° perc.	275,0	377,1	243,0	283,9	279,6	284,6	290,5	0,155

Dalla Tab. 7 risulta evidente che la dispersione dei parametri scelti per il confronto, espressa da coefficiente di variazione, è più elevata nel semestre autunno-inverno che in quello primavera-estate per un fattore uguale a circa 2, indipendentemente dal tipo di parametro considerato; inoltre che la dispersione dei parametri per il periodo annuale è circa uguale a quella del semestre autunno-inverno. Questo potrebbe indicare che le fluttuazioni nel semestre autunno-inverno dei parametri presi come termine di confronto possono essere attribuite alla diversità delle condizioni meteorologiche da un inverno all'altro e che nel periodo primavera-estate le condizioni più favorevoli alla dispersione degli inquinanti e la diminuzione delle sorgenti di emissione di particelle sospese producono livelli di inquinamento da particelle sospese non solo più bassi ma anche più riproducibili da un anno all'altro.

Nella zona circostante la stazione di prelievo, non sono intervenute modifiche importanti per quanto riguarda il traffico automobilistico e il riscaldamento domestico dal 1974 in poi, ma nell'anno 1975-76 le misure di particelle sospese possono essere state influenzate dai lavori di un cantiere edilizio posto nelle vicinanze. In effetti questo anno mostra i valori più elevati per tutti i parametri di confronto riportati nella Tab. 7. La differenza dei valori dei parametri di confronto per l'anno 1974-75 rispetto alla media dei sei anni di rilevamento è abbastanza sensibile per il periodo invernale (dal 15 al 25% a seconda del parametro considerato), mentre è molto meno importante nel semestre estivo; in ambedue i casi, però, potrebbe rientrare nelle fluttuazioni dei valori dei parametri di confronto riscontrate da un anno all'altro. Come conseguenza di tali fluttuazioni, per poter valutare lo stato di inquinamento di una zona urbana oppure per valutare l'effetto delle modifiche delle sorgenti di emissione sui livelli di inquinamento da particelle sospese nell'aria, è necessario avere a disposizione molti anni di rilevamento. Per quanto riguarda la scelta dei parametri da impiegare per il confronto dei sei anni di rilevamento,

dalla Tab. 7 si può dedurre che la media aritmetica e la mediana sono parametri tra loro equivalenti, sia per periodi di osservazione annuali che semestrali. I valori del 95° percentile sono più dispersi, sia in valore assoluto che relativo, rispetto a quelli della media o della mediana, soprattutto nel periodo invernale, ma, tenuto conto che tale parametro si riferisce all'estremità superiore della distribuzione, dove è ovvio aspettarsi una dispersione più grande, anch'esso può essere considerato uno strumento utile per il confronto e la valutazione di diversi anni di rilevamento. Naturalmente, tutti i parametri di confronto della Tab. 7 potrebbero essere sostituiti dai parametri μ e σ delle distribuzioni log-normali delle Tab. 4 e 5.

Se si confrontano i valori della media aritmetica e del 95° percentile per periodi di osservazione annuali (terza sezione della Tab. 7) con gli standard di qualità dell'aria per le particelle sospese della direttiva CEE già citata (media aritmetica delle concentrazioni medie di 24 ore rilevate in un anno non superiore a $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$; valore del 95° percentile delle concentrazioni medie di 24 ore rilevate in un anno non superiore a $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$), si può osservare che ambedue i limiti sono stati superati solo nell'anno 1975/76; negli altri anni i valori riscontrati sono inferiori a tali limiti, anche se in misura piuttosto modesta. Ci si trova, cioè, in una situazione in cui è sufficiente un inverno particolarmente sfavorevole oppure un aumento delle emissioni dovuto a cause contingenti perché i limiti della direttiva possano essere superati. Tale conclusione ovviamente è valida solamente per la zona in cui è collocata la stazione di misura e non può essere applicata alle zone di Roma che presentano più elevati flussi di traffico e maggiore densità abitativa o commerciale.

Ringraziamenti.

Desidero ringraziare il sig. Astore Marinelli e la sig.ra Paola Gubbiotti per la collaborazione prestata nel rilevamento delle particelle sospese.

BIBLIOGRAFIA

1. CERQUIGLINI MONTERIOLO, S. & BERTOLACCINI, M. A. 1977. Andamento del materiale in sospensione nell'aria in una zona urbana. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **13**: 137-144.
2. BERTOLACCINI, M. A. & MUSMECI, L. 1977. Determinazione dell'acidità di aerosol urbani. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **13**: 153-160.
3. BERTOLACCINI, M. A. 1981. Inquinamento da biossido di zolfo, solfati e particelle sospese in una zona di Roma. *Chim. Ind.* **63**: 649-656.
4. Direttiva N. 80/779/CEE, *Gazzetta Ufficiale delle C.E. N.L.* 229 del 30 agosto 1980, relativa ai valori limite e ai valori guida di qualità dell'aria per l'anidride solforosa e le particelle in sospensione.
5. D.P.R. 15 aprile 1971, n. 322. Regolamento per l'esecuzione della legge 13 luglio 1966, n. 615, G.U. suppl. ord. N. 145 del 9 giugno 1971.
6. SPIEGEL, R. M. 1973. *Teoria e applicazioni della statistica*. Etas Compass, Milano.
7. BURY, K. V. 1975. *Statistical Models in Applied Science*. J. Wiley & Sons, New York.