

Rapporti ISTISAN

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**La determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici
nelle emissioni atmosferiche da inceneritori:
risultati di uno studio collaborativo nazionale**

Edoardo Menichini (a), Angelo Cecinato (b), Salvatore Chiavarini (c), Ernesto Corradetti (d),
Carlo Cremisini (c), Giorgio Croce (e), Sergio Fuselli (a), Cinzia La Rocca (f),
Cristina Martines (g), Fabio Monfredini (a), Mauro Pala (h), Giuseppe Viviano (a)

(a) Laboratorio di Igiene Ambientale, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Istituto sull'Inquinamento Atmosferico, CNR, Monterotondo

(c) ENEA, Casaccia

(d) Unità Sanitaria Locale 13, Ascoli Piceno

(e) Unità Sanitaria Locale 10/A, Firenze

(f) Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(g) Unità Socio-Sanitaria Locale 75/III, Milano

(h) Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

Documento preparato per il Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità
"Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento".

Istituto Superiore di Sanità

La determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici nelle emissioni atmosferiche da inceneritori: risultati di uno studio collaborativo nazionale.

Edoardo Menichini, Angelo Cecinato, Salvatore Chiavarini, Ernesto Corradetti, Carlo Cremisini, Giorgio Croce, Sergio Fuselli, Cinzia La Rocca, Cristina Martines, Fabio Monfredini, Mauro Pala, Giuseppe Viviano
1995, ii, 64 p. Rapporti ISTISAN 95/19

Nove laboratori hanno analizzato campioni di cenere mediante un metodo comunemente in uso in Italia, basato sull'estrazione in soxhlet, purificazione per cromatografia su strato sottile (TLC) o su colonna (CC), e analisi gascromatografica. Il metodo con la procedura TLC è sostanzialmente affidabile per gli IPA con 4-6 anelli, con peso molecolare fino a 278; può tuttavia dar luogo ad elevata variabilità intra- ed interlaboratorio. La procedura CC non è risultata idonea.

Parole chiave: Gascromatografia, Impianti di incenerimento, Inquinamento ambientale.

Istituto Superiore di Sanità

The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric emissions from incinerators: results of a national collaborative study.

Edoardo Menichini, Angelo Cecinato, Salvatore Chiavarini, Ernesto Corradetti, Carlo Cremisini, Giorgio Croce, Sergio Fuselli, Cinzia La Rocca, Cristina Martines, Fabio Monfredini, Mauro Pala, Giuseppe Viviano
1995, ii, 64 p. Rapporti ISTISAN 95/19 (in Italian)

Nine laboratories analysed fly ash samples by a method commonly used in Italy, based on soxhlet extraction, cleanup by thin-layer (TLC) or column (CC) chromatography, and gas chromatographic analysis. The method using TLC procedure is substantially reliable for 4- to 6-ring PAHs, with a molecular weight up to 278; however, it may give rise to a high intra- and interlaboratory variability. Unsatisfactory results were obtained by CC procedure.

Key words: Environmental pollution, Gas chromatography, Incineration plants.

INDICE

Premessa	1
Lista delle abbreviazioni	4
INTRODUZIONE	5
DISEGNO DELLO STUDIO	7
Valutazione statistica	9
PARTE SPERIMENTALE	11
Preparazione dei materiali	11
Prodotti chimici	11
Preparazione della cenere	11
Miscela per l'arricchimento della cenere	12
Arricchimento della cenere	12
Miscela di riferimento	12
Materiale distribuito ai Laboratori	13
Analisi dei campioni	13
Estrazione e purificazione	13
Analisi	14
Bianco-reagenti	14
RISULTATI E DISCUSSIONE	15
Metodo con purificazione per cromatografia su strato sottile	15
Riproducibilità	15
Ripetibilità	16
Efficienza di recupero	16
Test per i valori aberranti	17
Metodo con purificazione per cromatografia su colonna (procedura del metodo 'GdS')	18
Metodo con purificazione per cromatografia su colonna (procedura 'alternativa')	19
Parametri analitici vari	19
Programma termico gascromatografico	19
Standard interni	20
Calibrazione degli standard esterni	20

Dosaggio mediante misura delle aree o delle altezze	21
CONCLUSIONI	22
Metodo con purificazione per cromatografia su strato sottile	22
Metodo con purificazione per cromatografia su colonna	24
Riferimenti bibliografici	43
APPENDICE 1 - Procedura 'alternativa' di purificazione per cromatografia su colonna	47
APPENDICE 2 - Protocollo operativo distribuito ai Laboratori partecipanti	48
APPENDICE 3 - Tabelle (A/1-A/6) relative ai test statistici per i valori aberranti	59

Premessa

Il Gruppo di Studio (GdS) dell'Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento", attivato su specifica richiesta del Ministero della Sanità, ha iniziato i suoi lavori nel dicembre del 1986. La partecipazione di esperti del Ministero della Sanità e del Ministero dell'Ambiente, delle Regioni, del CNR, dell'ISPESL, di USL, di Università e di alcuni settori dell'industria, ha consentito di poter affrontare alcuni dei principali problemi legati alle emissioni di impianti di incenerimento dei rifiuti, quali: i cicli tecnologici, il contenimento delle emissioni, il censimento degli impianti, le metodiche per l'analisi degli effluenti.

In particolare, per quanto riguarda quest'ultimo aspetto, sono stati messi a punto dal GdS alcuni metodi per il rilevamento delle emissioni di determinati microinquinanti, tra cui - in collaborazione con il gruppo Emissioni dell'UNICHIM - gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) (Gruppo di Studio ISS, 1988, 1990a,b).

Relativamente agli IPA, si è ritenuto inoltre necessario costituire un gruppo 'ad hoc' con l'obiettivo di valutare, attraverso uno studio collaborativo, l'affidabilità del metodo per la loro determinazione mediante gascromatografia.

Su proposta del coordinatore del GdS, e con l'accordo del GdS stesso, si designava il dott. Edoardo Menichini dell'ISS quale responsabile del Gruppo ad hoc "Validazione del metodo per la determinazione degli IPA".

I lavori del Gruppo ad hoc, conclusi nel 1994, hanno prodotto una serie di dati che consentono, oltre alla verifica della affidabilità del metodo, l'individuazione di possibili modifiche ed integrazioni al metodo stesso.

Il presente documento riporta quindi i dati dello studio collaborativo e le conclusioni del Gruppo ad hoc; si può ritenere che questo lavoro costituisca un ulteriore concreto punto di riferimento a

disposizione degli operatori del settore, sia per quanto riguarda gli aspetti legati al controllo delle emissioni, sia per l'elaborazione di linee guida e normative di settore.

Il coordinatore del Gruppo di Studio ISS
"Emissioni atmosferiche da
impianti di incenerimento"
Giuseppe Viviano

Composizione del Gruppo ad hoc "Validazione del metodo per la determinazione degli IPA":

- E. Menichini (coordinatore), Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Igiene Ambientale, Roma
- M. Berlincioni, USL 10/A, Servizio Multizonale di Prevenzione Ambientale, Unità Operativa Chimica Ambientale 4 dei Microinquinanti, Firenze
- A. Cavallaro, USSL 75/III, Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione, Milano
- A. Cecinato, CNR, Area della Ricerca di Roma, Istituto sull'Inquinamento Atmosferico, Monterotondo (Roma)
- E. Corradetti, USL 13, Servizio Multizonale di Sanità Pubblica, Area Chimica, Ascoli Piceno
- C. Cremisini, ENEA Casaccia, Divisione di Chimica Ambientale, S. Maria di Galeria (Roma)
- A. di Domenico, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Roma
- S. Fuselli, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Igiene Ambientale, Roma

- F. Merli, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Igiene Ambientale, Roma
- F. Valerio, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Laboratorio di Chimica Ambientale, Genova
- G. Viviano, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Igiene Ambientale, Roma

Hanno inoltre collaborato allo studio:

- L. Cellini, G. Arcangeli, USL 13, Servizio Multizonale di Sanità Pubblica, Area Chimica, Ascoli Piceno
- S. Chiavarini, ENEA Casaccia, Divisione di Chimica Ambientale, S. Maria di Galeria (Roma)
- G. Croce, USL 10/A, Servizio Multizonale di Prevenzione Ambientale, Unità Operativa Chimica Ambientale 4 dei Microinquinanti, Firenze
- C. La Rocca, F. Volpi, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Roma
- C. Martines, I. Rocchi, USSL 75/III, Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione, Milano
- F. Monfredini, S. Lanternari, A.R. Proietto, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Igiene Ambientale, Roma
- M. Pala, A. Lazzarotto, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Laboratorio di Chimica Ambientale, Genova

Lista delle abbreviazioni

BFA	Benzofluoranteni (somma degli isomeri 'b', 'j', 'k')
BR	Non dosabile perchè presente anche nel bianco-reagenti
CC	Cromatografia su colonna
CV	Coefficiente di variazione (v. Nota)
DBP	Dibenzopireni
DS	Deviazione standard (v. Nota)
GdS	Secondo quanto riportato nel metodo in studio (Gruppo di Studio ISS, 1990a)
M	Miscela di riferimento fornita ai Laboratori
n	Numero di campioni (ai fini dei calcoli statistici, n non comprende i dati 'ni', 'BR', 'nc', 'o/l')
nc	Non calcolabile (riferito a calcoli statistici basati su dati 'nr', 'ni' o 'BR')
ni	Non identificabile per la presenza di interferenti
nr	Non rivelato (limite di rivelabilità: ca. 1-10 ng/g)
(nr)	Non rivelato in parte dei campioni analizzati (1 o 2 campioni su 3, oppure 1 su 2)
OC	Iniettore 'on-column'
o/l	Valore aberrante ('outlier')
PTV	Iniettore 'Programmed-Temperature Vaporizer'
TLC	Cromatografia su strato sottile (Thin-layer chromatography)

Abbreviazioni di IPA e standard interni: v. tabella 1

Nota: nelle tabelle, i dati statistici (medie, DS e CV) non sono stati calcolati per gli IPA risultati 'nr' in uno o più Laboratori, salvo eccezioni segnalate

INTRODUZIONE

Il decreto ministeriale concernente le linee guida per le emissioni industriali (Gazz. Uff., 1990) ha fissato, tra i valori limite di emissione, un valore cumulativo per un gruppo di sostanze "ritenute cancerogene e/o teratogene e/o mutagene". Tra queste, sono inclusi i seguenti idrocarburi policiclici aromatici (IPA), classificati dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC, 1987) come "probabilmente" o "possibilmente" cancerogeni per l'uomo (tab. 1): benz[a]antracene, benzo[a]pirene, dibenz[a,h]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[j]fluorantene, benzo[k]fluorantene e (con nomenclatura impropria; v. sez. "Disegno dello studio") dibenzo[a]pirene.

Per quanto riguarda la determinazione degli IPA, il decreto ha fatto riferimento al "Metodo Istisan 88/19" (Gruppo di Studio ISS, 1988), il quale descrive la procedura di campionamento per la classe degli IPA e rimanda, per il dosaggio dei singoli composti, a due metodi all'epoca in preparazione e successivamente pubblicati, relativi all'analisi mediante gascromatografia (GC) (Gruppo di Studio ISS, 1990a) e mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (Gruppo di Studio ISS, 1990b). In particolare il metodo GC (di gran lunga il più usato dei due), pubblicato anche - con alcune modifiche secondarie - come metodo UNICHIM (1989), pur non citato nella normativa, è diventato 'di fatto' un metodo di riferimento.

Per tale motivo, si è ritenuto opportuno condurre uno studio collaborativo relativo a tale metodo (di seguito chiamato metodo 'GdS'), con lo scopo di ottenere una valutazione di massima dei seguenti parametri: riproducibilità (precisione interlaboratorio), ripetibilità (precisione intralaboratorio), efficienza di recupero (accuratezza), eventuali problemi derivanti dalla sua applicazione. Allo studio hanno partecipato nove Laboratori già in possesso di esperienza nella determinazione degli IPA (tab. 2).

Lo studio ha riguardato le procedure di estrazione, purificazione e analisi; è stato dunque escluso dallo studio il prelievo del campione. Per motivi pratici, le determinazioni sono state condotte su un

campione di ceneri, provenienti da un impianto di incenerimento di Rifiuti Solidi Urbani, abbattute mediante elettrofiltro. Si è assunto che le prestazioni del metodo non siano sostanzialmente differenti quando esso viene applicato alle ceneri campionate alle emissioni. Poichè la purificazione e l'analisi dell'estratto sono in comune per le tre fasi raccolte (materiale particolato, condensato ed incondensabile), risultano escluse dallo studio collaborativo, e dunque dalla valutazione del metodo, solo le procedure di estrazione relative al materiale condensato e a quello incondensabile (riportate in: Gruppo di Studio ISS, 1988). Tuttavia, si ritiene che gli errori, sia sistematici che casuali, associati all'estrazione di queste due fasi siano dello stesso ordine di grandezza di quelli associati all'estrazione del materiale particolato e che, comunque, tali errori siano trascurabili - in prima approssimazione - rispetto a quelli relativi alla purificazione e all'analisi del campione.

DISEGNO DELLO STUDIO

Ogni Laboratorio ha analizzato tre porzioni cieche di un campione di cenere. Le porzioni erano state artificialmente arricchite dal Laboratorio coordinante con una miscela di 11 IPA, ad un livello (100-200 ng/g; tab. 1) compatibile con i livelli riscontrabili in condizioni reali (Morselli e Zappoli, 1988; Williams et al., 1994). Tutte le porzioni avevano la stessa composizione teorica; trattandosi di uno studio per una valutazione di massima del metodo, non si è ritenuto necessario estendere lo studio a diversi livelli di concentrazione. La composizione teorica era nota solo al Laboratorio coordinante.

Gli IPA aggiunti sono stati scelti con i seguenti criteri: (a) essere 'naturalmente' presenti nel campione a livelli trascurabili (in pratica, inferiori al 5%) rispetto a quelli risultanti dall'aggiunta, (b) rappresentare le strutture molecolari con diverso numero di anelli, (c) includere - compatibilmente con il punto 'a' - i composti cancerogeni. Il BaA è stato aggiunto in quantità superiore rispetto agli altri IPA, per ridurre la possibile inaccuratezza analitica dovuta ad interferenti gascromatografici.

Il dosaggio è stato mirato a 20 composti (tab. 1): i 16 riportati nel metodo GdS come esemplificativi della classe degli IPA, comunemente noti come "IPA prioritari" (US EPA, 1984), e quattro dibenzopireni (DBP). Con il nome 'dibenzo[a]pirene', riportato nel decreto (v. "Introduzione"), non è possibile identificare un singolo composto. Tuttavia, considerando che tale nome è incluso nel decreto tra le sostanze cancerogene, esso dovrebbe essere inteso come l'insieme dei quattro dibenzo[a]pireni - cioè, i composti ottenuti dalla condensazione del pirene con due anelli benzenici, di cui uno sul lato 'a' del pirene - classificati dalla IARC come "possibili cancerogeni" per l'uomo.)

I Laboratori hanno sottoposto ad estrazione le porzioni di cenere nello stesso periodo (dopo circa 40 giorni dall'arricchimento), in modo che i risultati si riferissero a campioni ugualmente 'invecchiati' dopo l'arricchimento.

Ogni estratto è stato suddiviso in due sottoestratti, ognuno dei quali è stato purificato mediante una delle due procedure descritte nel metodo: cromatografia su strato sottile (TLC) e cromatografia su colonna (CC). Tuttavia, poiché alcune prove preliminari avevano fornito risultati non soddisfacenti per la procedura mediante CC prevista dal metodo, si è ritenuto opportuno che questa fosse adottata solo da una parte dei Laboratori. I rimanenti hanno adottato, come procedura CC, una procedura alternativa precedentemente messa a punto per altra matrice da alcuni partecipanti a questo studio (Berlincioni et al., 1993) e leggermente modificata per adattarla all'analisi della cenere (appendice 1). Un Laboratorio ha purificato i sottoestratti con le due procedure CC (invece di usare la procedura TLC ed una delle due CC), in modo da rendere possibile un confronto diretto tra esse.

I Laboratori hanno potuto scegliere se utilizzare le misure dell'integratore relative alle aree ovvero alle altezze dei picchi cromatografici. E' stato anche richiesto ai Laboratori di usare, oltre al programma termico GC previsto dal metodo (caratterizzato da un lento incremento della temperatura: $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$), anche un eventuale programma alternativo più veloce comunemente in uso nel proprio Laboratorio: ciò, al fine di valutare eventuali effetti del programma sui risultati.

Quando possibile, il dosaggio degli IPA è stato effettuato, sullo stesso campione, sia - come previsto dal metodo - con gli standard interni (tab. 1) sia con gli standard esterni: ciò, al fine di evidenziare e quantificare eventuali inaccuratezze dovute a picchi interferenti con gli standard interni. Inoltre, per valutare l'effetto della calibrazione degli standard di riferimento sulla variabilità interlaboratorio, il dosaggio tramite standard esterni è stato fatto sia mediante la miscela di riferimento fornita per lo studio (dunque a titolo uguale per tutti i Laboratori), sia mediante l'eventuale miscela normalmente in uso nel Laboratorio.

L'impiego della spettrometria di massa è stato escluso dallo studio collaborativo, per poter valutare l'affidabilità della tecnica gascromatografica - in particolare, nell'identificazione dei picchi - senza l'ausilio fornito da tale rivelatore.

La figura 1 mostra lo schema riepilogativo delle possibili analisi previste dallo studio. In pratica, per vari motivi - alcuni dei quali discussi più avanti -, ogni Laboratorio ha potuto fornire risultati relativi solo ad una parte, più o meno numerosa, di queste analisi.

I dettagli procedurali dello studio sono riportati nel protocollo distribuito ai Laboratori, riprodotto in appendice 2.

I Laboratori sono stati identificati, durante lo studio ed in questo rapporto, tramite una lettera-codice.

Valutazione statistica

I risultati sono stati preliminarmente esaminati da parte del coordinatore per individuare eventuali dati 'sospetti' (cioè, palesemente non corretti o incongruenti), ascrivibili ad errori di calcolo, ad errori nell'identificazione del picco GC, oppure ad una trascrizione dei risultati sbagliata o mancante o non conforme alla terminologia concordata. In questi casi, i Laboratori sono stati informati ed hanno fornito i risultati corretti.

Tutti i dati, così corretti, sono stati considerati validi e analizzati allo scopo di valutare, per ogni IPA, i seguenti parametri del metodo: la riproducibilità (stimata mediante il coefficiente di variazione (CV) dei valori medi ottenuti dai singoli Laboratori), la ripetibilità (stimata mediante i CV delle misure replicate effettuate dai singoli Laboratori) e l'efficienza di recupero (rapporto tra la quantità trovata e quella aggiunta; sono state considerate trascurabili le quantità 'naturalmente' presenti nel campione).

I risultati ottenuti mediante la purificazione per TLC sono stati sottoposti ai test per l'individuazione dei valori aberranti, secondo una procedura specificamente raccomandata per gli studi collaborativi (AOAC, 1988; IUPAC, 1988; Pocklington, 1990). Tale procedura prevede l'applicazione sequenziale del test di Cochran sulle varianze intralaboratorio e dei test di Grubbs sulle medie ottenute dai Laboratori. Dopo aver scartato i valori aberranti, sono stati ricalcolati i

tre parametri suddetti ed è stato valutato se mantenere, come dati validi, quelli statisticamente aberranti.

I risultati ottenuti mediante la purificazione per CC non sono stati sottoposti ai test per i valori aberranti, a causa del basso numero di Laboratori partecipanti.

Un'analisi statistica più complessa sarebbe andata oltre gli obiettivi dello studio.

PARTE SPERIMENTALE

Preparazione dei materiali

Prodotti chimici

Le miscele di IPA, sia quella utilizzata per l'arricchimento della cenere che quella di riferimento distribuita ai Laboratori, sono state preparate da standard puri disponibili commercialmente (Aldrich, Fluka, Community Bureau of Reference della Commissione delle Comunità europee), disciolti in solventi 'per HPLC' (Carlo Erba RS). La miscela di riferimento 'propria' (v. figura 1), utilizzata in alcuni Laboratori, è stata preparata per diluizione di una miscela commerciale (Supelco, cod. 4-8743). Gli standard interni o-T e TPB sono stati ottenuti commercialmente (rispettivamente, Aldrich e Merck).

Preparazione della cenere

Un campione di 1.1 kg di cenere, prelevato all'elettrofiltro di un impianto per incenerimento di Rifiuti Solidi Urbani di una grande città italiana, è stato pestato in mortaio per romperne i grumi e poi posto in un miscelatore rotante orbitale per 24 h. Cento porzioni di 10.00 (± 0.03) g di questo campione sono state pesate in barattoli (numerati progressivamente) di vetro da 60 ml (Wheaton, cod. 221464) con tappi in plastica provvisti di guarnizione in foglio metallico (Wheaton, cod. 240321). Queste operazioni, così come quelle di seguito descritte, sono state effettuate al riparo da luce solare diretta.

Cinque porzioni a caso sono state analizzate e sono risultate soddisfacentemente omogenee, con CV tra il 6% ed il 9% per otto IPA con 3-6 anelli (tali CV includono ovviamente la variabilità analitica).

Le scelte 'a caso', qui e oltre, sono state effettuate mediante tabella di numeri casuali.

Miscela per l'arricchimento della cenere

Gli 11 IPA sono stati pesati (ca. 5 mg ognuno; precisione: ± 0.01 mg) e disciolti singolarmente in 25.0 ml di toluene. Opportune aliquote di ca. 1-2 ml (precisione: ± 0.01) delle 11 soluzioni madre sono state prelevate e unite; la soluzione risultante è stata diluita con toluene in modo da avere una soluzione a concentrazione di singoli IPA pari a ca. 10-20 $\mu\text{g/ml}$. Otto millilitri di questa soluzione sono stati infine diluiti a 800 ml con diclorometano.

Arricchimento della cenere

A 60 porzioni, scelte a caso, sono stati aggiunti 10.0 ml della miscela per l'arricchimento, mediante prelievo con dosatore manuale (Fortuna, mod. Optifix-30 ml; precisione: ± 0.05 ml, determinata per pesata, dapprima su 60 prelievi di prova di diclorometano e poi confermata durante l'arricchimento). La soluzione aggiunta nel barattolo ricopriva totalmente la porzione di cenere. Dopo l'aggiunta, ogni barattolo è stato lasciato 10 secondi su piastra vibrante (Supelco). I barattoli sono stati quindi lasciati aperti sotto cappa aspirante ed al riparo da luce diretta, sia solare che artificiale, fino ad essiccamento della cenere (ca. 13 h). I livelli di arricchimento sono riportati in tabella 1.

Tre porzioni a caso sono state analizzate per verificare l'omogeneità - tra le porzioni - dei recuperi degli IPA aggiunti; tali recuperi sono risultati soddisfacentemente omogenei: CV relativo alle tre porzioni <11% per tutti gli IPA aggiunti, tranne che per l'AC (41%).

Le porzioni sono state quindi assegnate a caso ai Laboratori partecipanti.

Miscela di riferimento

E' costituita da una soluzione di tutti gli IPA oggetto dello studio: gli 11 IPA 'aggiunti' ed i rimanenti nove.

La soluzione madre dei rimanenti nove è stata preparata pesando in uno stesso vial l'ACL ed il NA (composti ad elevata tensione di vapore) ed in un altro vial i restanti sette. Questi ultimi sono stati pesati in ordine decrescente di peso molecolare (PM), cui corrisponde un ordine crescente di tensione di vapore (Menichini, 1994), aggiungendo il solvente subito dopo la pesata del FL (ultimo composto ad essere pesato), il quale tende a sublimare velocemente. Le due miscele sono state disciolte in alcuni millilitri di toluene, con l'aiuto dell'agitazione magnetica per ca. 2 h, e poi unite; la soluzione risultante è stata portata a 25.0 ml.

La miscela di riferimento (M) è stata ottenuta unendo 2.0 ml di tale soluzione ed opportune aliquote (ca. 1-2.5 ml) delle soluzioni madre degli 11 IPA aggiunti (vedi sez. "Miscela per l'arricchimento della cenere"), e diluendo a 22.0 ml con toluene (tab. 1).

Poichè le ultime analisi dello studio sono state condotte dopo un anno dalla preparazione della miscela di riferimento, è stata verificata e confermata la stabilità - dopo un anno - della miscela stessa, conservata in frigorifero a +4°C.

Materiale distribuito ai Laboratori

Ogni Laboratorio ha ricevuto il seguente materiale, da conservare in frigorifero, a +4°C: quattro porzioni di cenere (tre da analizzare ed una di riserva), un flaconcino contenente 2 ml di miscela di riferimento a titolo incognito (con relativo gascromatogramma), gli standard interni o-T e TPB (ca. 100 mg l'uno).

Analisi dei campioni

Estrazione e purificazione

Ogni Laboratorio ha sottoposto l'intera porzione di cenere contenuta nel barattolo ad estrazione in Soxhlet con toluene per almeno 300 cicli. Un Laboratorio (Lab. F) ha miscelato la cenere con 10 g di Na₂SO₄ anidro prima del travaso nel ditale.

L'estratto, concentrato a ca. 1 ml, è stato suddiviso in due aliquote, secondo la procedura riportata nel protocollo (appendice 2) o con procedura equivalente.

Ogni Laboratorio ha poi purificato i due sottoestratti mediante due diverse procedure (tab. 3).

Analisi

In tabella 3 sono riportati i parametri analitici adottati dai vari Laboratori.

Tutti i Laboratori hanno usato un integratore elettronico per l'acquisizione e il trattamento dei dati; ove ritenuto opportuno, alcuni Laboratori hanno misurato manualmente le altezze di alcuni picchi.

Come iniettore GC, è stato impiegato il tipo 'on-column' (OC; di gran lunga attualmente il più usato), tranne che in due Laboratori dove sono stati usati il 'PTV' (Programmed-Temperature Vaporizer) e lo 'Split-splitless'. (Il metodo prevede la possibilità di impiegare l'OC od il PTV.)

I benzofluoranteni (BFA) (gli isomeri 'b' e 'k', presenti nella lista dei 16 "IPA prioritari", ed il 'j') sono stati determinati cumulativamente, essendo solo parzialmente risolti in GC.

I Laboratori hanno espresso i risultati calcolati mediante la miscela M di standard esterni, assumendo una concentrazione nominale di ogni IPA nella miscela M pari a 20 µg/ml. La conversione nel risultato effettivo è stata eseguita dal Laboratorio coordinante.

Bianco-reagenti

Ogni Laboratorio ha analizzato anche due campioni di bianco-reagenti per ognuna delle due procedure adottate. I Laboratori hanno quindi fornito i risultati relativi all'analisi della cenere corretti sul bianco-reagenti, cioè sottraendo dalla misura dei picchi degli IPA - o, se del caso, degli standard interni - il contributo derivante da eventuali picchi interferenti provenienti dal bianco-reagenti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Vengono dapprima presentati i risultati in funzione della procedura di purificazione, e poi i risultati relativi ai vari parametri analitici considerati nello studio.

Alcuni Laboratori hanno fornito, per gli IPA risultati 'non rivelati', i limiti di rivelabilità stimati. Nelle tabelle, tali valori non sono stati riportati (salvo alcune eccezioni) per evitare valutazioni falsate da criteri di stima non omogenei. Come ordine di grandezza, il limite di rivelabilità è stimabile intorno a 1-10 ng/g.

Metodo con purificazione per cromatografia su strato sottile

I risultati sono riportati cumulativamente in tabella 4 ed in figura 2. Per il dosaggio, tutti i Laboratori hanno utilizzato gli standard esterni forniti (miscela M) ed hanno effettuato i calcoli mediante le aree dei picchi.

La variabilità tra i risultati delle singole analisi è molto elevata, come risulta - in particolare - dagli intervalli minimo-massimo: l'estremo superiore è infatti generalmente maggiore, rispetto a quello inferiore, di uno-due ordini di grandezza.

Sono state rilevate difficoltà analitiche a carico dei composti bassobollenti a 2 e 3 anelli (da NA ad AN), sia nell'identificazione e dosaggio, per presenza di interferenti nella cenere o nel bianco-reagenti, che nell'efficienza di recupero (come risulta per i due IPA aggiunti AC e AN).

Riproducibilità

Quando si confrontano le concentrazioni medie ottenute da ogni Laboratorio, gli intervalli minimo-massimo si riducono, come atteso, ma rimangono elevati: intorno ad un ordine di grandezza (tab. 5). Tale bassa riproducibilità viene espressa da un CV medio (tra i vari IPA, esclusi i bassobollenti con 2 e 3 anelli ed i DBP) del 58%; il CV relativo ai benzofluoranteni è particolarmente elevato (98%),

verosimilmente per le difficoltà di integrazione di un picco costituito da due o più isomeri con tempi di ritenzione prossimi.

Le concentrazioni misurate dal Lab. H sono sensibilmente inferiori alle altre, indicando la probabile presenza di un errore sistematico nella procedura analitica. Se esse vengono escluse dal calcolo della riproducibilità, il CV medio suddetto scende al 50%.

La riproducibilità relativa agli IPA con 2 e 3 anelli è decisamente insoddisfacente.

Ripetibilità

Il CV medio relativo alla ripetibilità è intorno al 28%, escludendo - analogamente alla stima della riproducibilità - gli IPA a 2 e 3 anelli ed i DBP (tab. 6).

La ripetibilità risulta migliore, per i composti medio- ed altobollenti, nei Laboratori che hanno impiegato programmi termici alternativi (più veloci di quello GdS; v. tab. 3). L'indicazione di una migliore ripetibilità con programmi più veloci troverebbe conferma nel confronto operato dal Lab. F, il quale ha analizzato gli stessi campioni con due programmi. Una possibile spiegazione è nel minore errore che può commettere l'integratore elettronico nel misurare picchi più stretti, più alti e meno scodati.

Efficienza di recupero

Il recupero medio degli IPA con 4-6 anelli (escludendo i DBP ed i risultati del Lab. H) è del 65%; per i Laboratori che hanno misurato le concentrazioni più elevate, i recuperi sono intorno o superiori all'80% (tab. 7). Il recupero medio scende al 42% per gli IPA con 3 anelli.

Tuttavia, i recuperi dei vari IPA (4-6 anelli) non presentano sempre una buona uniformità intralaboratorio. In particolare, i risultati indicano una possibilità di misure sottostimate per il BaP (Lab. A,C,G,L) e sovrastimate per il BaA (Lab. B,F,G). Si osservano inoltre singoli recuperi 'sospetti' (eccessivamente elevati rispetto

ai recuperi degli altri IPA nello stesso Laboratorio), per il DBahA (Lab. C) ed il BaP (Lab. E). E' probabile che scarti marcati dal recupero medio riflettano un'inaccuratezza della misura dovuta ad interferenti, più che un effettivo recupero selettivamente differente rispetto a quello medio della classe.

Per quanto riguarda i DBP, i Laboratori hanno ottenuto recuperi costantemente inferiori a quelli relativi agli altri IPA con più di 3 anelli, e generalmente non omogenei tra loro. L'isomero 'a,h' (l'ultimo ad eluire) è risultato 'non rivelato' nella maggior parte delle analisi (dunque con un recupero <10% circa) o recuperato a livelli medi inferiori al 30% (fig. 2). I risultati indicano dunque che il metodo in studio, previsto per gli IPA con PM fino a 278 (DBahA), non è idoneo per la determinazione di IPA con PM superiore.

Test per i valori aberranti

Il test di Cochran applicato alle varianze intralaboratorio ha individuato cinque risultati come aberranti ($P=0.01$) (tab. A/1; le tabelle relative alla statistica dei valori aberranti sono riunite nell'appendice 3). Un controllo visivo dei gascromatogrammi ha mostrato che, in tre casi su cinque, il valore aberrante è stato causato da un'integrazione inficiata dalla presenza di un interferente e, in un altro caso, da un'erronea individuazione del picco.

Il test di Grubbs applicato alle medie non ha individuato alcun risultato aberrante ($P=0.01$) (tabb. A/2 e A/3).

Il ricalcolo dei parametri precedentemente esaminati (riproducibilità, ripetibilità ed efficienza di recupero), dopo aver escluso i cinque risultati aberranti, comporta - come atteso - la diminuzione di alcuni punti percentuali nei CV medi relativi alla reproducibilità (tab. A/4) ed alla ripetibilità (tab. A/5), mentre non comporta alcuna modifica significativa nei risultati relativi ai recuperi (tab. A/6).

Avendo constatato che l'applicazione dei test non modifica comunque i risultati sostanziali dello studio, non si è proceduto a

prendere in considerazione i risultati dei test stessi (eliminando, cioè, i valori aberranti), per i seguenti motivi:

- 1) Non c'è concordanza tra i valori statisticamente aberranti e quelli che appaiono 'chiaramente' anomali: ad es., i risultati relativi al PHE nel Lab. C, i valori 'sospetti' citati nella sezione "Efficienza di recupero", l'insieme dei risultati del Lab. H; in altri termini, i test non hanno individuato quelli che appaiono come risultati 'analiticamente meno affidabili', verosimilmente anche a causa dell'elevata dispersione dei dati su numeri relativamente bassi di osservazioni. Studi di valutazione dell'applicazione della procedura suddetta hanno già messo in luce l'insuccesso della procedura nell'individuare alcuni 'evidenti' valori aberranti, particolarmente quando pochi Laboratori (≤ 10) partecipano allo studio (Horwitz e Albert, 1993).
- 2) I test sono stati necessariamente applicati a risultati non completi: infatti, molte osservazioni sono state escluse dai calcoli per la difficoltà di gestirne il relativo risultato ('non rivelato', 'non identificabile', 'non dosabile').

Metodo con purificazione per cromatografia su colonna (procedura del metodo 'GdS')

Le analisi con questo metodo sono state effettuate solo da due Laboratori: vengono presentati i risultati relativi agli IPA aggiunti (tab. 8).

Un Laboratorio ha ottenuto un recupero medio pari al 38% e al 47%, calcolati tramite, rispettivamente, le aree e le altezze dei picchi; l'altro Laboratorio ha ottenuto recuperi marcatamente inferiori ($< 9\%$), che non sono migliorati impiegando il programma termico alternativo (risultati non mostrati in tabella). Quest'ultimo Laboratorio ha anche rilevato la presenza di interferenti, provenienti dal bianco-reagenti, che ha impedito il dosaggio di alcuni composti.

Degli altri tre Laboratori che avevano in programma questa prova, uno non l'ha conclusa avendo riscontrato tempi di eluizione della colonna di gel di silice troppo lunghi, mentre un secondo (il Lab. D, che aveva in programma il confronto diretto delle due procedure CC)

non ha potuto interpretare affidabilmente i gascromatogrammi poichè si presentavano molto 'sporchi'. Questo stesso problema è stato riscontrato dal Lab. E, limitatamente ad un campione.

Metodo con purificazione per cromatografia su colonna (procedura 'alternativa')

I recuperi risultano nell'insieme piuttosto bassi e discordanti (tab. 9): il Laboratorio L ha infatti ottenuto recuperi quantitativi per tre IPA altobollenti ma <30% per i rimanenti composti, mentre negli altri Laboratori i recuperi non hanno comunque superato valori intorno al 60%.

Per quanto riguarda sia la determinazione dei DBP che la ripetibilità associata agli IPA aggiunti, i risultati confermano sostanzialmente le indicazioni ottenute dall'applicazione del metodo mediante TLC (v. sez. "Metodo con purificazione per TLC").

Parametri analitici vari

Alcuni Laboratori hanno adottato, sugli stessi campioni, due diverse opzioni procedurali riguardo determinati parametri analitici (v. sez. "Disegno dello studio" e fig. 1). Ciò ha consentito di confrontare gli effetti di tali opzioni sul risultato. Il numero ridotto di Laboratori che, per ogni parametro, ha effettuato questi confronti limita tuttavia la validità statistica delle osservazioni. I risultati che seguono non vanno dunque considerati come conclusivi ma solo indicativi di possibili fenomeni.

Programma termico gascromatografico

Come già visto (v. sez. "Ripetibilità"), l'adozione di programmi più veloci sembra aver favorito una migliore ripetibilità. Inoltre, si osserva come, in due Laboratori, l'uso di due diversi programmi - quello del metodo ed uno alternativo - abbia comportato risultati sensibilmente differenti (tab. 10): con il programma alternativo sono

state misurate concentrazioni (degli IPA aggiunti) corrispondenti a recuperi medi superiori del 20% (Lab. F) e del 40 % (Lab. L) circa rispetto a quelli calcolati con il programma del metodo. Lo scarso numero di misure non consente una valutazione appropriata di queste osservazioni.

Standard interni

Le concentrazioni misurate mediante gli standard interni risultano sottostimate rispetto a quelle ottenute con il metodo degli standard esterni: le prime risultano mediamente intorno all'80-95% delle seconde (tab. 11).

Inoltre, due Laboratori non hanno potuto adottare questo metodo, poichè hanno trovato nella cenere sia l'o-T che, in maggior quantità, il TPB (o loro interferenti). Il TPB è stato trovato anche dai Laboratori B (il quale ha, per questo motivo, usato solo l'o-T), C ed L.

Queste osservazioni rivelano una non idoneità dell'o-T e, soprattutto, del TPB ad essere usati come standard interni o perchè già presenti nella cenere o perchè eluiscono in una zona del cromatogramma non 'pulita'.

Calibrazione degli standard esterni

Quattro partecipanti hanno confrontato le concentrazioni calcolate mediante la miscela di riferimento in uso nel proprio laboratorio con quelle calcolate tramite la miscela fornita per lo studio (tab. 12).

I rapporti medi così calcolati vanno approssimativamente dal 60% al 140%, indicando la possibilità di differenze importanti nell'espressione dei risultati da parte di Laboratori diversi che sottopongono ad analisi GC lo stesso campione, nelle stesse condizioni, ma con miscele di riferimento differenti.

Dosaggio mediante misura delle aree o delle altezze

Tre Laboratori hanno confrontato le concentrazioni calcolate utilizzando, come risposta dell'integratore, le misure delle altezze oppure le integrazioni delle aree (tab. 13). Rispetto alle aree, le altezze forniscono risultati inferiori in un Laboratorio (rapporto medio intorno al 90%) e superiori negli altri due (rapporti medi intorno al 110% e 160%). Questa mancanza di uniformità si osserva anche tra i risultati relativi ai vari IPA determinati dal singolo Laboratorio.

Confrontando, per queste stesse analisi, le ripetibilità invece delle concentrazioni, la variabilità - sia tra i Laboratori che tra gli IPA - risulta ancora maggiore (tab. 14).

I risultati indicano, nel loro insieme, la possibilità di importanti differenze nell'espressione del risultato analitico, a seconda del metodo di integrazione scelto. Il problema degli errori nella misura dell'area e dell'altezza di picchi parzialmente sovrapposti è stato discusso da vari autori (si vedano, ad es.: Foley, 1987; Meyer, 1994): la conclusione generale sembra essere che la misura dell'altezza è affetta da un errore inferiore; tuttavia, l'entità dell'errore - e della differenza rispetto all'errore associato alla misura dell'area - dipende da vari fattori (rapporti quantitativi tra i due picchi, ordine di eluizione del picco maggiore e di quello inferiore, simmetria dei picchi, entità della sovrapposizione). Si osserva al riguardo che l'EPA ha espressamente raccomandato la misura dell'altezza nel caso di picchi gascromatografici sovrapposti (US EPA, 1986, 1990).

CONCLUSIONI

Metodo con purificazione per cromatografia su strato sottile

Il metodo è risultato idoneo per la determinazione degli IPA da 4 a 6 anelli, come si ricava dall'analisi dei dati migliori (in termini di recuperi e ripetibilità) ottenuti nello studio. L'applicazione del metodo in diversi Laboratori (pur con esperienza nella determinazione degli IPA) si presta, tuttavia, ad un'elevata variabilità interlaboratorio, per quanto riguarda sia i livelli misurati (scarsa riproducibilità) che la ripetibilità osservata. Tale variabilità sembra sia da imputarsi in misura rilevante a difficoltà nella fase di interpretazione dei gascromatogrammi, dovute a: interferenti i cui picchi si sovrappongono parzialmente ai picchi dei composti in esame, approssimazioni adottate dall'integratore nel quantificare le aree o le altezze dei picchi, impostazione non ottimale dei parametri di integrazione con conseguente costruzione non ottimale della linea di base, erronea identificazione dei picchi (particolarmente in zone ricche di picchi del cromatogramma) da parte dell'analista.

Alla luce dei risultati di questo studio, nonché delle osservazioni fatte dai partecipanti e dello scambio di opinioni avuto dai partecipanti stessi, è verosimile che questa variabilità possa ridursi modificando parzialmente il metodo, in modo da includervi:

1) La descrizione di maggiori dettagli operativi, sia per la fase di purificazione del campione che - soprattutto - per l'analisi, al fine di standardizzare quanto più possibile la procedura.

2) Alcune modifiche riguardanti:

- L'adozione di un programma termico più veloce.
- L'abbandono del dosaggio mediante gli standard interni o-T e TPB, salvo che non venga verificata l'assenza (o la presenza a livelli trascurabili) di queste sostanze, o loro interferenti, nel campione.
- L'uso delle altezze dei picchi per il dosaggio.
- L'applicazione del metodo delle aggiunte per confermare l'identificazione dei picchi operata mediante i tempi di ritenzione.

- L'effettuazione di una prova di recupero (di massima, in triplicato) degli IPA da determinare. Come matrice di prova per l'arricchimento, dovrebbe essere impiegata un'aliquota di un estratto relativo ad uno dei campioni in esame. La prova andrebbe ripetuta per ogni insieme di campioni ritenuti sostanzialmente omogenei per composizione e per tipologia di materiale incenerito.

- L'effettuazione - per ogni campione - di un numero idoneo n di determinazioni replicate sullo stesso estratto (di massima, almeno tre; n può variare in funzione della ripetibilità ottenuta dal Laboratorio, dei livelli misurati, dell'obiettivo dell'indagine). Tutto il campione dovrebbe essere sottoposto ad estrazione e poi, n aliquote di estratto, verrebbero purificate ed analizzate, assumendo come risultato il valore medio delle n determinazioni.

3) Alcune raccomandazioni riguardanti:

- Il controllo dei parametri di integrazione elettronica, con particolare attenzione all'ottimizzazione della linea di base.
- Il controllo del titolo degli standard di riferimento.

Il metodo non risulta affidabile per la determinazione degli IPA a 2 e 3 anelli, particolarmente per quanto riguarda la precisione delle misure. Questo risultato era atteso, sulla base della volatilità relativamente elevata di tali composti. La non idoneità del metodo per questi IPA ha implicazioni limitate da un punto di vista sanitario, in considerazione della minore importanza tossicologica ad essi riconosciuta. Non ha altresì implicazioni rispetto all'applicazione del citato decreto sulle emissioni industriali (Gazz. Uff., 1990), laddove questo richiede il dosaggio degli IPA cancerogeni (v. sez. "Introduzione"); tuttavia, il decreto richiede anche il dosaggio del naftalene (allegato 1 del decreto, § 4 "Sostanze organiche sotto forma di gas, vapori o polveri" - tabella 4, classe III), che non andrebbe dunque effettuato con questo metodo senza idonee modifiche.

Per quanto riguarda i DBP, il metodo non risulta idoneo alla determinazione dell'isomero 'a,h' (l'ultimo ad eluire). Per gli altri tre, si rileva una tendenza a recuperi bassi e poco riproducibili; sulla base dei migliori risultati ottenuti (in particolare, per gli isomeri 'a,l' ed 'a,e', i primi due ad eluire), sembra tuttavia

possibile ottenere un recupero accettabile, dello stesso ordine di grandezza di quelli mediamente ottenuti per gli altri IPA.

Metodo con purificazione per cromatografia su colonna

La purificazione mediante CC, secondo la procedura prevista dal metodo GdS, ha comportato una scarsa efficienza di recupero e bianchi-reagenti generalmente più 'sporchi' rispetto alla purificazione per TLC.

Migliori risultati sono stati ottenuti con la procedura 'alternativa': in particolare, i recuperi sono risultati più elevati rispetto alla procedura GdS ma, in genere, ancora inferiori rispetto a quelli ottenibili con la purificazione per TLC. Recuperi bassi e non omogenei sono stati ottenuti, in particolare, per i DBP.

Anche in considerazione del numero ridotto di Laboratori che ha partecipato a questa parte dello studio, si rendono necessarie ulteriori prove per valutare appropriatamente tale procedura e, eventualmente, apportarvi modifiche tali da renderla affidabilmente idonea per questa analisi.

In mancanza, dunque, di ulteriori risultati, sembra opportuno che nel prossimo aggiornamento del "Metodo gascromatografico" (Gruppo di Studio ISS, 1990a) venga omessa la procedura con purificazione per CC e mantenuta - opportunamente modificata (v. sez. precedente) - quella con purificazione per TLC.

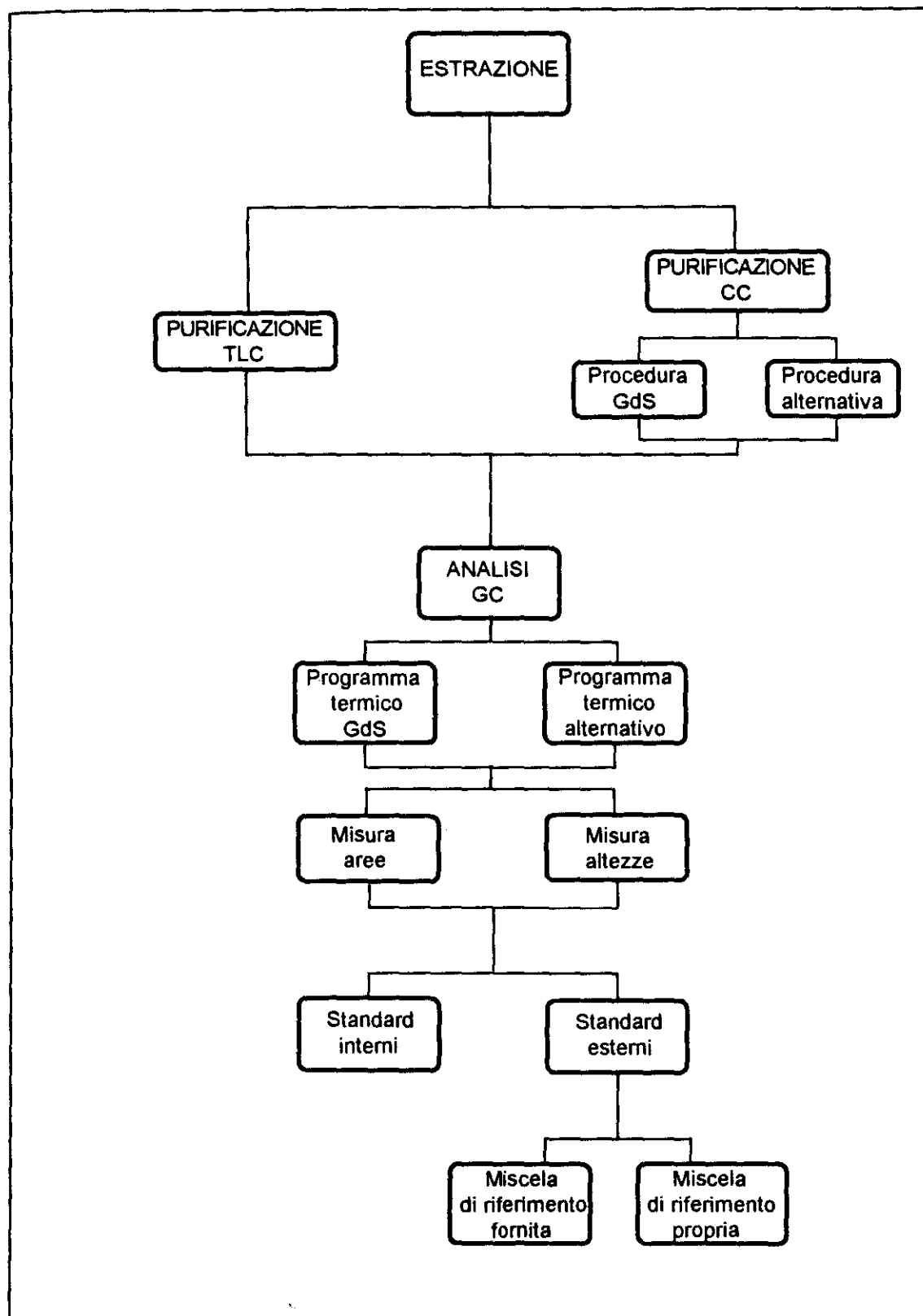


Figura 1 - Schema delle analisi previste dallo studio collaborativo. (Abbreviazioni: v. Lista)

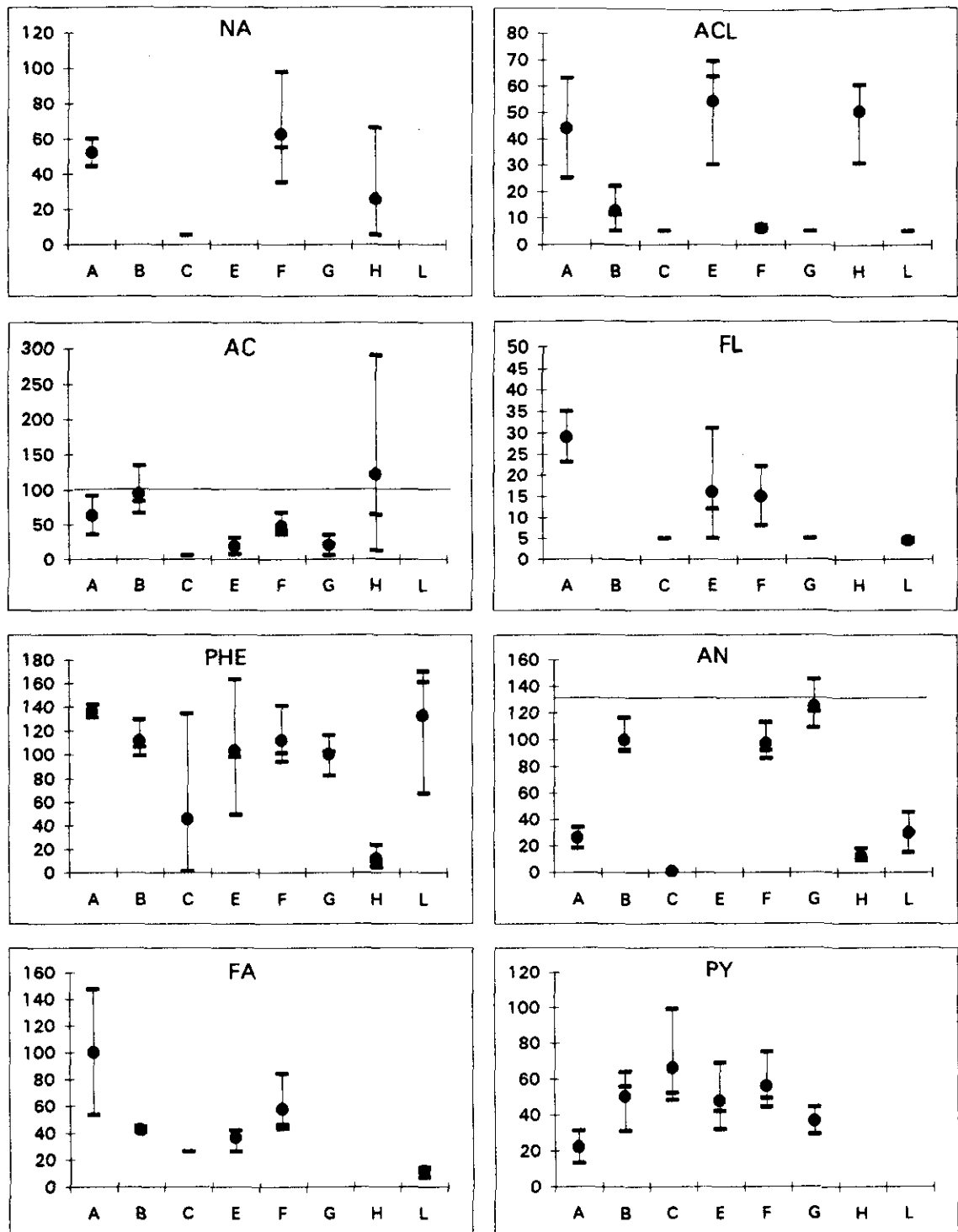


Figura 2 - Metodo con purificazione per TLC: risultati cumulativi (ng/g). Sulle linee verticali sono riportati i risultati delle singole misure (trattini orizzontali) ed il valore medio (cerchio pieno). I dati 'non rivelati' sono stati approssimati a 5 ng/g. La linea orizzontale (per gli IPA 'aggiunti') indica la concentrazione teorica.

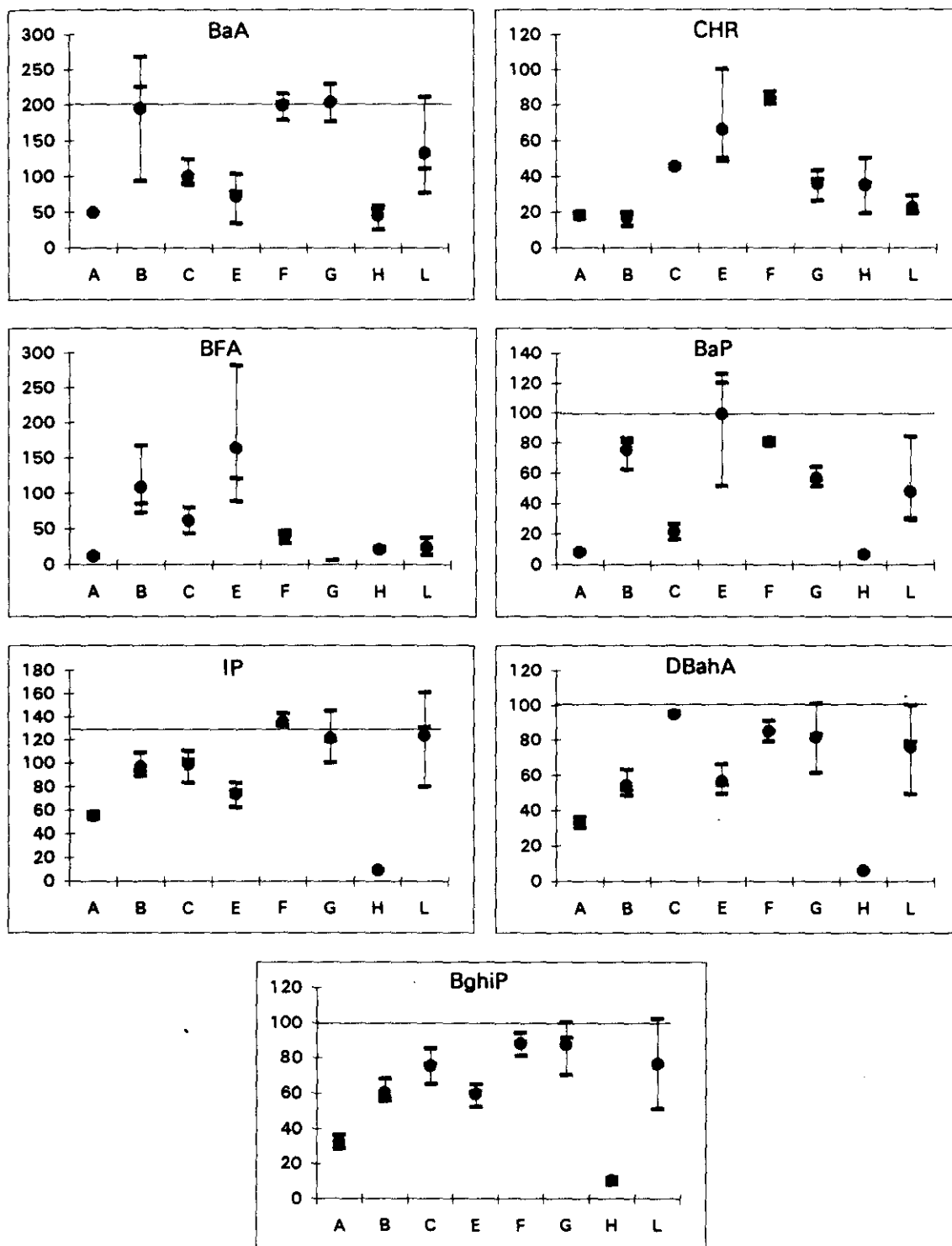


Figura 2 (continua)

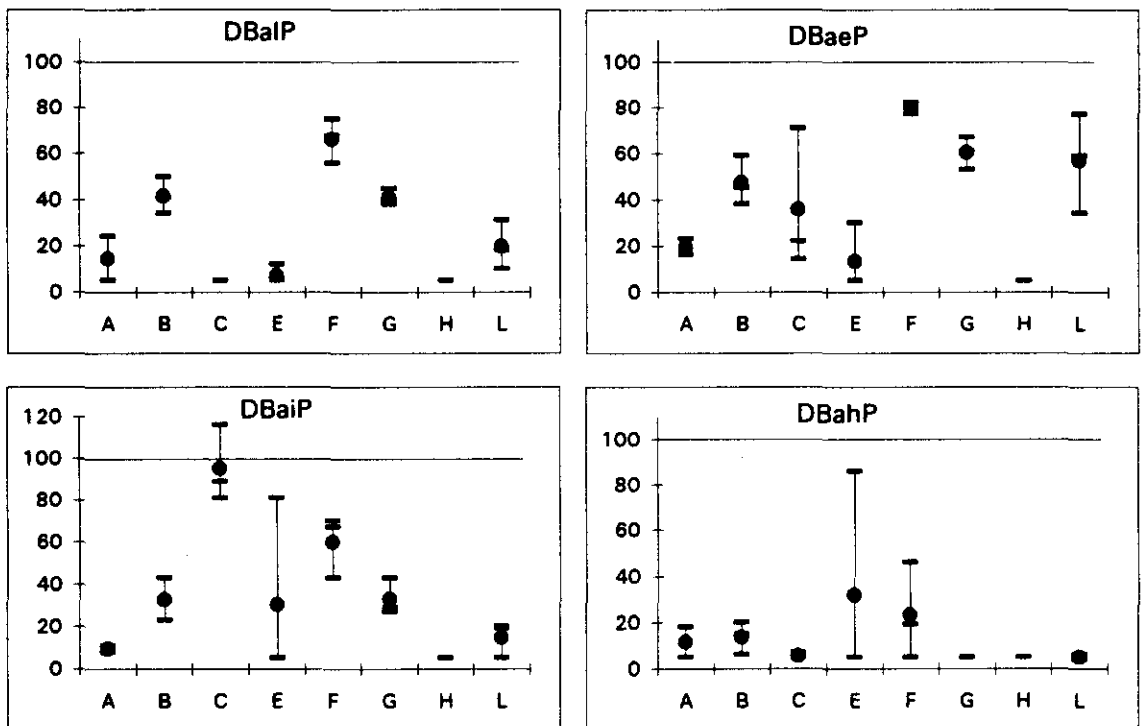


Figura 2 (continua)

Tabella 1 - IPA e standard interni oggetto dello studio.

Sostanza	Abbr.	Peso molec.	N. di anelli	Class. IARC ^b	Livello di arricchim. ^c (ng/g)	Conc. nella miscela M di riferimento (µg/ml)
<u>IPA^a</u>						
Naftalene	NA	128	2	-	-	14.6
Acenaftilene	ACL	152	3	-	-	14.4
Acenaftene	AC	154	3	-	100	16.9
Fluorene	FL	166	3	3	-	19.6
Fenantrene	PHE	178	3	3	-	19.7
Antracene	AN	178	3	3	150	19.0
Fluorantene	FA	202	4	3	-	18.0
Pirene	PY	202	4	3	-	19.8
Benz[a]antracene	BaA	228	4	2A	200	24.5
Crisene	CHR	228	4	3	-	19.0
Benzo[b]fluorantene	BbFA	252	5	2B	-	16.2
Benzo[k]fluorantene	BkFA	252	5	2B	-	23.7
Benzo[a]pirene	BaP	252	5	2A	100	18.7
Indeno[1,2,3-cd]pirene	IP	276	6	2B	151	17.9
Dibenz[a,h]antracene	DBahA	278	5	2A	100	13.2
Benzo[ghi]perilene	BghiP	276	6	3	100	15.7
Dibenzo[a,l]pirene	DBalP	302	6	2B	100	15.3
Dibenzo[a,e]pirene	DBaeP	302	6	2B	100	15.7
Dibenzo[a,i]pirene	DBaiP	302	6	2B	100	17.8
Dibenzo[a,h]pirene	DBahP	302	6	2B	100	17.7
<u>Standard interni</u>						
o-Terfenile	o-T	230	3	-	-	-
1,3,5-Trifenilbenzene	TPB	306	4	-	-	-

^a In ordine crescente di tempo di ritenzione GC.

^b Classificazione di cancerogenicità per l'uomo (IARC, 1987):

2A: probabilmente cancerogeno

2B: possibilmente cancerogeno

3: non classificabile

-: non valutato.

^c Concentrazione teorica risultante dall'arricchimento delle porzioni di cenere; l'eventuale presenza 'naturale' è ritenuta trascurabile (v. testo);

'-': IPA non aggiunto.

Tabella 2 - Laboratori partecipanti.

CNR, Istituto Inquinamento Atmosferico, Monterotondo (Roma)
ENEA, Divisione Chimica Ambientale, S. Maria di Galeria (Roma)
Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST), Lab. Chimica Ambientale, Genova
Istituto Superiore di Sanità, Lab. Igiene Ambientale/1, Roma ^a
Istituto Superiore di Sanità, Lab. Igiene Ambientale/2, Roma
Istituto Superiore di Sanità, Lab. Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Roma
USL 13 - Ascoli Piceno, Servizio Multizonale di Sanità Pubblica, Area Chimica
USL 10/A - Firenze, Servizio Multizonale di Prevenzione, Unità Operativa Chimica Ambientale/4
USSL 75/III - Milano, Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione, Unità Operativa Chimica

^a Laboratorio coordinante.

Tabella 3 - Procedura di purificazione e parametri analitici GC adottati dai Laboratori.

Codice Labor.	Purificazione		Colonna		Progr. termico		Misura del picco		Iniettore		
	CC	CC	Fase	Dimensioni	GdS	Altern.	Aree	Altezze	OC	PTV	SSL ¹
	TLC	GdS altern. ^a	staz. ^b	l d.i. spess.							
A	X		X	SPB-5	30mx0.32mmx0.25µm	X		X		X	
B	X	X		AT-5	30mx0.25mmx0.25µm	X		X			X
C	X	X		RSL-200	25mx0.32mmx0.3 µm	X ^c		X		X	
D		X	X	SPB-5	30mx0.32mmx0.25µm	X		X	X ^h	X	
E	X	X		Ultra 2	25mx0.20mmx0.33µm	X		X	X	X	
F	X	X		NB-54	25mx0.32mmx0.25µm	X	X ^d	X	X	X	
G	X		X	Ultra 2	25mx0.20mmx0.11µm		X ^e	X		X	
H	X		X	DB-5	30mx0.25mmx0.25µm		X ^f	X			X
L	X		X	SPB-1	30mx0.32mmx0.25µm	X	X ^g	X	X	X	

Abbreviazioni: v. Lista.

^a Secondo la procedura alternativa riportata in appendice 1.^b SPB-5, AT-5 e NB-54 sono equivalenti alla fase SE-54; RSL-200, DB-5 e Ultra 2 sono equivalenti alla fase SE-52; SPB-1 è equivalente alla fase SE-30.^c Temp. finale: 290°C.^d 90-280°C ● 8°C/min.^e 2 min ● 90°C, 90-120°C ● 30°C/min, 120-240°C ● 3°C/min, 240-300°C ● 5°C/min.^f 130-320°C ● 8°C/min.^g a) 1 min ● 90°C, 90-140°C ● 25°C/min, 140-300°C ● 8°C/min

b) 1 min ● 120°C, 120-160°C ● 25°C/min, 160-300°C ● 6°C/min

(solo per l'analisi riportata nelle tabelle 13 e 14, Lab. L, colonna 'al').

^h Misure manuali in caso di picchi risolti solo parzialmente.¹ Split-splitless.

Tabella 4 - Concentrazioni trovate con il metodo mediante purificazione per TLC: risultati cumulativi (ng/g).

IPA	Conc. teorica*	Campione																				n	Interv.	Media	DS	CV %			
		A/4	A/86	B/16	B/29	B/62	C/71	C/72	C/80	E/14	E/54	E/76	F/8	F/33	F/85	G/28	G/58	G/89	H/43	H/57	H/70						L/6	L/42	L/92
NA	-	44	60	BR	BR	BR	nr	nr	nr	nr	nr	nr	55	35	nr	nr	nr	nr	nr	66	nr	nr	nr	11	nr-98				
ACL	-	25	63	5	22	11	nr	nr	nr	30	64	70	5	6	7	nr	nr	nr	31	61	61	nr	nr	nr	23	nr-70			
AC	100	36	91	66	134	83	nr	nr	nr	31	nr	7	167	41	36	35	nr	22	12	64	290	nr	nr	nr	19	nr-290			
FL	-	35	23	BR	BR	BR	nr	nr	nr	12	31	nr	22	15	8	nr	nr	nr	BR	BR	BR	4	nr	nr	16	nr-35			
PHE	-	131	142	99	129	106	134	1	1	98	163	49	141	101	94	116	82	102	4	8	23	170	67	161	23	1-170	92	54	59
AN	150	18	34	91	116	92	nr	1	1	BR	BR	BR	113	86	92	121	109	145	9	11	18	45	15	30	19	1-145	60	48	86
FA	-	53	147	41	45	41	nr	26	nr	42	42	26	184	46	43	nr	nr	nr	BR	BR	BR	14	7	14	15	7-147	45	34	76
PY	-	13	31	56	64	31	48	52	99	42	69	32	175	44	49	29	37	44	BR	BR	BR	nr	nr	nr	17	13-99	48	21	43
BaA	200	49	49	93	225	268	89	123	88	103	78	34	203	178	215	229	176	205	58	25	54	1211	76	110	23	25-268	128	75	59
CHR	-	20	16	20	12	19	46	45	44	50	100	48	187	83	80	43	26	38	36	19	50	16	20	29	23	12-100	41	25	61
BFA	-	9	13	85	72	167	43	nr	79	120	88	282	46	40	29	nr	nr	nr	19	18	24	37	13	22	22	nr-282			
BaP	100	7	9	80	62	83	16	nr	26	126	51	120	178	80	83	64	51	55	7	7	6	184	29	30	22	6-126	52	37	70
IP	151	58	52	109	93	89	83	103	110	62	76	83	143	132	132	145	100	119	9	9	9	161	80	131	23	9-161	91	43	48
DBaHA	100	36	30	63	51	48	94	94	96	54	49	66	191	85	79	101	61	83	6	6	6	100	49	79	23	6-101	62	30	49
BghiP	100	36	28	68	57	55	65	85	76	61	52	65	194	89	81	100	70	91	12	11	8	102	51	76	23	8-102	62	28	45
DBaIP	100	24	5	50	41	34	nr	nr	nr	nr	12	nr	56	68	75	45	40	38	nr	nr	nr	31	10	18	23	nr-75			
DBaEP	100	16	23	59	45	38	14	71	22	nr	30	nr	181	82	77	67	53	61	nr	nr	nr	77	34	59	23	nr-77			
DBaIP	100	11	8	43	32	23	116	89	81	nr	81	nr	143	67	70	43	29	27	nr	nr	nr	20	5	19	23	nr-116			
DBaHP	100	nr	18	20	15	6	nr	7	nr	nr	86	nr	nr	19	46	nr	nr	nr	nr	nr	nr	4	nr	6	23	nr-86			

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: GC con programma termico GdS (Lab. A,B,C,E,L) o alternativo (Lab. F,G,H): calcoli mediante le aree; metodo degli standard esterni (miscela M).

Lab.H/IP e DBaHA: la conc. corrispondente alla somma dei due IPA (15 ng/g) è stata misurata, mentre le due conc. singole riportate (9 e 6 ng/g, rispettivamente) sono state stimate sulla base delle quantità aggiunte.

* Vedi tabella 1, nota 'c'.

Tabella 5 - Metodo mediante purificazione per TLC: riproducibilità.

Concentrazioni medie (ng/g)																	
IPA	Conc. teorica	Laboratorio								Tutti i Laboratori					Escl. Lab. H		
		A	B	C	E	F	G	H	L	n	Interv.	Media	DS	CV %	Media	DS	CV %
NA	-	52	BR	nr	ni	63	ni	(nr)	ni	4	nr-63						
ACL	-	44	12	nr	55	6	nr	51	nr	8	nr-55						
AC	100	63	94	<1 ^a	19	48	24 ^b	122	ni	7	<1-122	53	43	82	42	34	81
FL	-	29	BR	nr	(nr)	15	nr	BR	(nr)	6	nr-29						
PHE	-	136	111	46	103	112	100	11	133	8	11-136	94	43	46	106	30	28
AN	150	26	99	1	BR	97	125	13	30	7	1-125	56	50	89	63	50	80
FA	-	100	43	26	37	58	ni	BR	12	6	12-100	46	31	67	46	31	67
PY	-	22	51	66	48	56	37	BR	ni	6	22-66	47	15	33	47	15	33
BaA	200	49	196	100	72	199	204	45	132	8	45-204	125	68	54	136	65	48
CHR	-	18	17	45	66	83	36	35	22	8	17-83	40	24	59	41	26	62
BFA	-	11	108	61	163	38	<15 ^a	20	24	8	≤11-163	55	54	98	60	56	94
BaP	100	8	75	21	99	80	57	7	48	8	7-99	49	35	71	55	33	59
IP	151	55	97	98	74	135	121	9	124	8	9-135	89	42	47	101	29	29
DBaH	100	33	54	95	56	85	82	6	76	8	6-95	61	30	49	69	22	32
BghiP	100	32	60	76	59	88	87	10	76	8	10-88	61	27	45	68	20	29
DBaP	100	15	42	nr	(nr)	66	41	nr	20	8	nr-66						
DBaP	100	20	47	36	(nr)	80	60	nr	57	8	nr-80						
DBaP	100	9	33	95	(nr)	60	33	nr	15	8	nr-95						
DBaP	100	(nr)	14	(nr)	(nr)	(nr)	nr	nr	(nr)	8	nr-14						
<u>media</u>																	
Tutti gli IPA ^c													62			53	
FA-BghiP													58			50	
<u>mediana</u>																	
Tutti gli IPA ^c													57			54	
FA-BghiP													54			48	

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: GC con programma termico GdS (Lab. A,B,C,E,L) o alternativo (Lab. F,G,H):

calcoli mediante le aree; metodo degli standard esterni (miscela M).

AC e BFA: nei calcoli statistici, i dati "<..." sono stati considerati, in prima approssimazione, pari ai limiti di rivelabilità.

^a Limite di rivelabilità stimato.^b Valore approssimato ottenuto considerando per un dato "nr" il limite di rivelab. stimato (15 ng/g).^c I 12 IPA per cui è stato calcolato il CV.

Tabella 6 - Metodo mediante purificazione per TLC: ripetibilità.

CV% intralaboratorio															
Programma termico GdS								Progr. term. alternat.							
Laboratorio								Laboratorio				Media totale ^a		Media totale s/H ^b	alt/GdS ^c (%)
IPA	A	B	C	E	F	L	Interv. Media	F	G	H	Media	Media totale ^a		Media totale s/H ^b	F
NA	22	nc	nc	nc	nc	nc	(22)	51	nc	nc	(51)	(22)	(22)	nc	
ACL	60	70	nc	39	3	nc	3-70	43	18	nc	34	41	43	593	
AC	60	37	nc	88	37	nc	37-88	56	36	nc	121	69	56	97	
FL	31	nc	nc	nc	58	nc	31-58	45	48	nc	nc	45	45	83	
PHE	6	14	168	55	10	43	6-168	49	23	17	86	50	45	235	
AN	44	14	nc	nc	8	49	8-49	29	15	15	35	27	26	176	
FA	67	5	nc	25	nc	35	5-67	33	40	nc	nc	33	33	nc	
PY	58	35	43	41	59	nc	35-58	47	30	20	nc	43	43	51	
BaA	10	47	19	48	30	53	0-53	33	10	13	40	31	30	32	
CHR	15	24	2	45	nc	31	2-45	23	4	25	45	27	24	nc	
BFA	24	48	42	64	56	51	24-64	47	22	nc	16	43	47	39	
BaP	20	15	35	42	9	66	9-66	31	3	11	14	27	28	38	
IP	8	11	14	14	8	33	8-33	15	5	19	3	14	15	60	
DBaH	13	15	1	16	41	34	1-41	20	7	25	3	18	20	18	
BghiP	17	11	13	11	9	34	9-34	16	7	18	20	17	16	86	
DBaIP	93	20	nc	nc	29	55	20-93	49	15	9	nc	41	41	50	
DBaeP	25	24	86	nc	14	37	14-86	37	3	11	nc	33	33	24	
DBaIP	19	30	20	nc	38	56	19-56	33	24	26	nc	32	32	63	
DBaH	nc	50	nc	nc	nc	nc	(50)	nc	nc	nc	nc	(50)	(50)	nc	
<u>media</u>															
NA-BghiP												34	33		
NA-DBaH												35	34		
FA-BghiP												28	29		
<u>mediana</u>															
NA-BghiP	22	24	19	42	20	39		33	18	18	34	31	30	72	
NA-DBaH	23	24	20	42	29	43		33	16	17	34	33	33	60	
FA-BghiP												27	28	39	

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: calcoli mediante le aree; metodo degli standard esterni (miscela M).

In corsivo: CV% relativi a 2 campioni, anziché 3.

^a Tutti i Laboratori. Per il Lab. F, sono stati utilizzati i risultati relativi al programma GdS.^b Tutti i Laboratori, escluso il Lab. H. Lab. F: v. nota a.^c Rapporto % tra i CV% ottenuti, dal Lab. F, con i due diversi programmi termici.

Tabella 7 - Metodo mediante purificazione per TLC: recuperi %.

IPA	Laboratorio								n	Interv.	Media	Media s/H ^a
	A	B	C	E	F	G	H	L				
AC	63	94	1	19	48	24	122	nc	7	1-122	53	42
AN	17	66	1	nc	65	83	9	20	7	1-83	37	42
BaA	24	98	50	36	99	102	23	66	8	23-102	62	68
BaP	8	75	21	99	80	57	7	48	8	7-99	49	55
IP	36	64	65	49	90	81	6	82	8	6-90	59	67
DBaH	33	54	95	56	85	82	6	76	8	6-95	61	69
BghiP	32	60	76	59	88	87	10	77	8	10-88	61	69
<u>media</u>												
tutti											55	59
BaA-BghiP											59	65
<u>mediana</u>												
tutti											59	67
BaA-BghiP											61	68
DBaIP	15	42	nr	(nr)	67	41	nr	20	8	<10-67		
DBaEP	20	47	36	(nr)	80	60	nr	57	8	<10-80		
DBaIP	9	33	95	(nr)	60	33	nr	15	8	<10-95		
DBaHP	(nr)	14	(nr)	(nr)	(nr)	nr	nr	(nr)	8	<10-14		

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni:

GC con progr. termico GdS (Lab. A,B,C,E,L) o altern. (Lab. F,G,H);

calcoli mediante le aree; metodo degli standard esterni (miscela M).

DBP: limite di rivelabilità stimabile intorno a 10 ng/g.

^a Escludendo i risultati del Laboratorio H.

Tabella 8 - Metodo mediante purificazione per CC, procedura 'GdS': recuperi e ripetibilità.

IPA	Calcoli con aree				Calcoli con altezze			
	Recuperi		CV%		Recuperi		CV%	
	%		intralabor.		%		intralabor.	
	Laboratorio		Laboratorio		Laboratorio		Laboratorio	
	E	F	E	F	E	F	E	F
AC	51	nr	18	nc	34	nr	37	nc
AN	7	nc	44	nc	14	nc	58	nc
BaA	31	8	63	12	21	7	43	13
BaP	44	nr	75	nc	58	nr	17	nc
IP	71	nc	93	nc	59	nc	19	nc
DBaA	34	10	59	29	68	9	6	23
BghiP	30	nr	57	nc	72	nr	5	nc
<u>media</u>	38		58		47		26	
<u>mediana</u>	34	<9	59	(21)	58	<8	19	(18)
DBa1P	nr	8	nc	41	nr	7	nc	31
DBaeP	nr	nr	nc	nc	nr	nr	nc	nc
DBaiP	nr	nr	nc	nc	nr	nr	nc	nc
DBahP	nr	nr	nc	nc	nr	nr	nc	nc

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni:

GC con progr. termico GdS;

metodo degli standard est. (miscela M).

Lab. E: medie relative a 2 campioni (v. testol).

Tabella 9 - Metodo mediante purificazione per CC, procedura 'alternativa': recuperi e ripetibilità.

IPA	Recuperi %							CV% intralaboratorio						
	Programma termico GdS			Programma termico alternat. Laborat.				Programma termico GdS			Progr. termico altern. Laborat.			
	A	D	L	G	H	Interv.	Media	A	D	L	G	H	Media	
AC	63	nc	nc	50	nc		nc	112	nc	nc	14	nc	63	
AN	14	(nr)	4	62	25	<5-62	<22	10	nc	67	13	20	27	
BaA	39	26	23	76	64	23-76	46	12	61	69	18	12	35	
BaP	28	nc	43	57	53	28-57	46	57	nc	43	16	19	34	
IP	47	114	46	57	34	34-114	60	2	21	53	25	15	23	
DBaH	38	105	53	62	39	38-105	59	7	30	48	31	23	28	
BghiP	43	95	44	62	45	43-95	58	3	36	48	18	19	25	
<u>media</u>	39		36	61	43			29	37	55	19	18	33	
<u>mediana</u>	39	(95)	43	62	42		52	10	33	50	18	19	28	
DBa1P	14	(nr)	17	46	17	<10-46		14	nc	51	29	20	27	
DBaeP	33	nr	47	52	38	<10-52		17	nc	39	7	13	19	
DBaiP	(nr)	nr	24	35	17	<10-35		nc	nc	53	44	24	41	
DBahP	nr	nr	nc	nr	32	<10-32		nc	nc	nc	nc	16	nc	

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: metodo degli standard esterni (miscela M).

Lab. A: risultati relativi a 2 campioni, anziché 3.

DBP: vedi nota in tab. 7.

Tabella 10 - Confronto dei risultati ottenuti adottando il programma termico GdS o un programma alternativo.

IPA	Conc. air x 100 / Conc. gas ^a	
	Laboratorio F	Laboratorio L
AC	184	
AN	113	144
BaA	86	186
BaP	122	104
IP	120	149
DBaA	139	113
BghiP	108	140
DBaIP	115	
DBaPeP	115	
DBaIP	122	
DBaHP	nc	
media	122	139
mediana	118	142

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: purificazione TLC;

standard esterni M (Lab. F) o interni (Lab. L).

^a Rapporto % tra le concentrazioni misurate, adottando i due diversi programmi.

Tabella 11 - Confronto dei risultati ottenuti con gli standard esterni (est) ed interni (int)

Concentrazioni medie* (ng/g)

IPA	Laboratorio												Conc.intx100/Conc.est						
	A		B		C		L/1		L/2		G		A		B	C	L/1	L/2	G
	est	int	est	int	est	int	est	int	est	int	est	int							
NA	52	28											54						
ACL	44	20	12	7									46	58					
AC	63	47	94	71									75	76					
FL	29	27											93						
PHE	136	128	111	91	46	45	133	97	185	126	78	81	94	82	99	73	58	104	
AN	26	24	99	83			30	25	42	33	99	105	93	83		84	79	106	
FA	100	86	43	34	26	26							86	80	100				
PY	22	21	51	38	66	62					31	32	95	75	95			104	
BaA	49	66	196	158	100	80	132	112	189	147	144	125	134	81	80	85	78	86	
CHR	18	18	17	12	45	40	22	19	29	24	28	23	97	70	89	88	83	85	
BFA	11	23	108	87	61	48	24	21	31	25			210	81	79	66	79		
BaP	8	12	75	64	21	20	48	33	76	48	48	42	142	85	96	69	63	87	
IP	55	54	97	81	98	91	124	111	178	147	97	84	98	83	92	89	83	86	
DBaA	33	23	54	43	95	88	76	68	112	93	68	57	72	79	93	90	83	85	
BghiP	32	28	60	50	76	67	76	69	92	76	71	61	85	83	89	90	83	85	
DBa1P	15	12	42	35			20	16					79	83		83			
DBa2P	20	18	47	39	36	28	57	50					88	83	77	89			
DBa1P	9	9	33	25	95	69	15	12					95	77	72	84			
DBahP			14	11									78						
media													96	79	88	84	78	92	
mediana													93	81	91	86	79	86	

Abbreviazioni: v. Lista.

Purificazione: TLC.

Condizioni:

Lab. A,B,C,L/1: standard esterni forniti (miscela M) e programma termico GdS.

Lab. L/2: standard esterni propri e programma termico GdS.

Lab. G: standard esterni propri e programma termico alternativo.

* Sono stati omessi i risultati non utili ai fini di questo confronto.

Standard interni usati:

Lab. A,C,G: o-T e TPB;

Lab. B: solo o-T.

Tabella 12 - Confronto dei risultati ottenuti con gli standard esterni forniti (M) e quelli propri (P).

Concentrazioni medie (ng/g)

IPA*	Lab. B		Lab. D		Lab. G		Lab. L		Conc. $\times 100$ / Conc. M			
	Standard		Standard		Standard		Standard		Laboratorio			
	M	P	M	P	M	P	M	P	B	D	G	L
PHE	111	106	100	48	100	78	133	185	95	48	78	139
AN	99	94	(nr)	(nr)	125	99	30	42	94	nc	79	141
FA	43	35	57	33	ni	ni	12	17	82	58	nc	139
PY	51	41	91	58	37	31	ni	ni	81	64	83	nc
BaA	196	161	53	36	204	144	132	189	82	69	71	143
CHR	17	14	34	21	36	28	22	29	82	63	78	131
BFA	108	76	36	28	nr	nr	24	31	71	77	nc	131
BaP	75	68	ni	ni	57	48	48	76	90	nc	85	159
IP	97	83	172	105	121	97	124	178	86	61	80	143
DBahA	54	44	105	60	82	68	76	112	81	57	83	148
BghiP	60	51	95	58	87	71	76	92	85	61	82	120
<u>media</u>									85	62	80	139
<u>mediana</u>									82	61	80	140

Abbreviazioni: v. Lista.

Purificazione: TLC (Lab. B, G, L) o CC/procedura alternativa (Lab. D).

* Sono stati omessi gli IPA per i quali i risultati ottenuti non consentono il confronto.

Tabella 13 - Confronto dei risultati ottenuti mediante le aree (ar) e le altezze (al) fornite dall'integratore.

Concentrazioni medie^a (ng/g)

IPA	Lab. E ^b		Lab. F ^b		Lab. F ^c		Lab. L ^d		Conc. _{al} x 100 / Conc. _{ar}			
	ar	al	ar	al	ar	al	ar	al	Lab. E	Lab. F ^b	Lab. F ^c	Lab. L
NA					63	63					100	
ACL	55	61	8	6	6	5			111	79	84	
AC	19	47	26	26	48	38			242	97	80	
FL			8	10	15	13				124	91	
PHE	103	121	91	83	112	92	148	191	117	91	82	129
AN			86	72	97	80	40	48		84	83	119
FA	37	64			58	32			175		55	
PY	48	63	26	26	56	55			133	38	98	
BaA	72	96	232	152	199	177	231	216	134	66	89	94
CHR	66	85	48	40	83	63	89	85	129	83	76	95
BFA	163	330	12	9	38	29	57	32	202	72	77	56
BaP	99	171	66	62	80	76	23	35	173	95	94	149
IP	74	73	112	102	135	128	139	145	100	91	95	105
DBaH	56	86	61	70	85	84	84	102	154	114	99	122
BghiP	59	107	82	68	88	83	93	105	181	83	95	112
DBaIP			58	50	66	63	16	18		87	95	110
DBaeP			69	64	80	80	66	80		92	101	121
DBaIP			49	45	60	60				91	100	
DBaHP												
intervallo									100-242	66-124	55-101	56-149
media									154	90	88	110
mediana									164	91	93	112

Abbreviazioni: v. lista.

Purificazione: TLC.

^a Sono stati omessi i dati non utili ai fini di questo confronto.

^b Programma termico GdS e standard esterni M.

^c Programma termico alternativo e standard esterni M.

^d Programma termico alternativo e standard interni. Le due serie di dati ('ar' e 'al') sono state ottenute con due diversi programmi termici (rispettivamente, programmi (a) e (b) riportati nella nota 'g' della tabella 3).

Tabella 14 - Calcoli mediante le aree (ar) o le altezze (al) fornite dall'integratore: confronto della ripetibilità.

CV% intralaboratorio^a

IPA	Lab. E ^b		Lab. F ^b		Lab. F ^c		Lab. L ^d		CV% _{ar} x 100 / CV% _{al}			
	ar	al	ar	al	ar	al	ar	al	Lab. E	Lab. F ^b	Lab. F ^c	Lab. L
NA					51	44					87	
ACL	39	26	3	9	18	19			67	298	103	
AC	88	13	37	30	36	38			15	82	106	
FL			58	33	48	41				56	84	
PHE	55	60	10	8	23	19	10	7	108	79	83	75
AN			8	12	15	13	17	18		139	88	107
FA	25	57			40	23			227		58	
PY	41	20	59	25	30	11			48	43	37	
BaA	48	40	30	4	10	5	5	9	82	15	54	192
CHR	45	20			4	7	3	12	46		175	440
BFA	64	46	56	6	22	32	5	13	72	12	146	269
BaP	42	15	9	11	3	6	28	25	34	128	185	88
IP	14	6	8	3	5	5	10	11	44	35	110	104
DBahA	16	3	41	3	7	6	2	12	17	9	88	509
BghP	11	52	9	5	7	7	6	14	476	58	95	256
DBaIP			29	25	15	17	27	23		84	118	85
DBaeP			14	7	3	3	9	18		52	97	212
DBaIP			38	34	24	23				89	97	
DBahP												
intervallo									15-47	9-298	37-185	75-50
media									103	79	101	212
mediana									58	58	97	192

Note: v. tabella 13.

Riferimenti bibliografici

AOAC (1988) Association of Official Analytical Chemists. Guidelines for Collaborative Study Procedure to Validate Characteristics of a Method of Analysis. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 161-173.

Berlincioni M., Croce G., di Domenico A., La Rocca C., Lolini M., Megli A., Pupp M., Rizzi L. (1993) Reliability assessment of a method for detecting priority organic microcontaminants in urban air. In: Dioxin '93 - 13th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds (Vienna, September 1993), Short Papers (Fiedler H., Frank H., Hutzinger O., Parzefall W., Riss A., Safe S., Eds.), Vol. 11. Federal Environmental Agency, Austria, pp. 171-174.

Foley J.P. (1987) Systematic errors in the measurement of peak area and peak height for overlapping peaks. J. Chromat. 384, 301-313.

Gazz. Uff. (1990) Decreto ministeriale 12/7/1990 "Linee guida per il contenimento delle emissioni inquinanti degli impianti industriali e la fissazione dei valori minimi di emissione". Suppl. ord. G.U. n. 176 del 30/7/1990.

Gruppo di Studio ISS (1988) "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Campionamento e dosaggio di microinquinanti in flussi gassosi convogliati. Rapporti Istisan 88/19. Ist. Super. Sanità, Roma.

Gruppo di Studio ISS (1990a) "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) - Metodo gascromatografico (a cura di G. Viviano e S. Fuselli). Rapporti Istisan 90/33. Ist. Super. Sanità, Roma, 1990.

Gruppo di Studio ISS (1990b) "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) - Metodo per cromatografia liquida (HPLC) (a cura di G. Viviano e S. Fuselli). Rapporti Istisan 90/34. Ist. Super. Sanità, Roma.

Horwitz W. and Albert R. (1993) Experience with the IUPAC-1987 Harmonized Protocol for Method-Performance Studies: Suggestions for Revision and Application to Internal Quality Control Systems. In: Quality Assurance for Analytical Laboratories (M. Parkany, Ed.) Proceedings of the Fifth International Symposium on the Harmonization of Internal Quality Assurance Schemes for Analytical Laboratories (Washington, 22-23 July 1993). Special Publication No. 130. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 80-95.

IARC (1987) Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Mon. Eval. Carcin. Risk Hum., Suppl. 7. IARC, Lyon.

IUPAC (1988) International Union of Pure and Applied Chemistry. Protocol for the design, conduct and interpretation of collaborative studies. Pure Appl. Chem. 60, 855-864.

Menichini E. (1994) Polycyclic aromatic hydrocarbons: identity, physical and chemical properties, analytical methods. Rapporti Istisan 94/5. Ist. Super. Sanità, Roma.

Meyer V.R. (1994) Chromatographic Integration Errors: A Closer Look at a Small Peak. LC-GC International 7, 94-100.

Morselli L. and Zappoli S. (1988) PAH determination in samples of environmental interest. Sci. Total Environ. 73, 257-266.

Pocklington W.D. (1990) Guidelines for the development of standard methods by Collaborative Study. LGC Publ. No. 1986 OP 001. Laboratory of the Government Chemist, Teddington, Middlesex, UK.

UNICHIM (1989) Metodo 825 'Campionamento e determinazione di microinquinanti organici'; sez. 1 'Campionamento' e sez. 2 'Determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), metodo gascromatografico'. In: Misure alle emissioni, Parte III. Manuale N. 122 (Edizione 1989). UNICHIM, Milano, pp. 825/1-15.

US EPA (1984) Method 610-Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. In: Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act. Environmental Protection Agency, US Federal Register 49, No. 209, October 26, 1984, 43344-43352.

US EPA (1986) Method 8000 'Gas chromatography'. In: Test Methods for Evaluating Solid Waste, 3rd ed., Vol. 1B. Report EPA SW-846. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA (1990) Determination of benzo(a)pyrene [B(a)P] and other polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor air (Chapter IP-7). In: Compendium of Methods for the Determination of Air Pollutants in Indoor Air (Winberry W.T., Forehand L., Murphy N.T., Ceroli A., Phinney B., Evans A.). Report EPA 600/4-90/010. US Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC.

Williams R., Meares J., Brooks L., Watts R., Lemieux P. (1994) Priority pollutant PAH analysis of incinerator emission particles using HPLC and optimized fluorescence detection. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 54, 299-314.

**APPENDICE 1 - Procedura 'alternativa' di purificazione per
cromatografia su colonna**

Materiali:

- Colonna in vetro con rubinetto in teflon; d.i. 2 cm, h ca. 35 cm
- Gel di silice 100-200 mesh

Essiccare il gel di silice in stufa a 110°C per una notte. Dopo raffreddamento, aggiungere n-esano (fino a coprire abbondantemente) e degasare per alcuni minuti in evaporatore rotante. Versare lo 'slurry' in colonna per un'altezza di 11 cm (impaccamento manuale). Lavare con 100 ml di n-esano/toluene 70:30 e poi con 60 ml di n-esano.

Depositare l'estratto in testa alla colonna. Eluire con 80 ml di n-esano (che vengono scartati) e poi con 150 ml di n-esano/toluene 75:25 che vengono raccolti (frazione contenente gli IPA) e concentrati a ca. 50 µl secondo la procedura riportata nel protocollo operativo.

APPENDICE 2 - Protocollo operativo distribuito ai Laboratori partecipanti

DETERMINAZIONE DEGLI IPA NELLE EMISSIONI ATMOSFERICHE DA IMPIANTI DI INCENERIMENTO - STUDIO COLLABORATIVO N.1 (Rif.: Ceneri/SC/1)

Oggetto: il metodo per la determinazione degli IPA, mediante gascromatografia, proposto dal Gruppo di Studio ISS "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento" e pubblicato in due precedenti Rapporti [1,2]. Lo studio riguarda le fasi di estrazione, purificazione e analisi del campione; è esclusa la fase del campionamento. Gli IPA da determinare (Tab. 1) sono i 16 cui fa riferimento il metodo [2], più quattro dibenzopireni la cui determinazione è richiesta dal DM 51/1990 [3] (sotto la voce impropria "dibenzo(a)pirene").

Obiettivo: una valutazione di massima del metodo in relazione a: accuratezza, ripetibilità (variabilità intralaboratorio), riproducibilità (variabilità interlaboratorio), eventuali problemi di applicazione.

Partecipanti: nove Laboratori già in possesso di esperienza nella determinazione degli IPA (Tab. 2). Nei resoconti del confronto, essi vengono individuati unicamente attraverso un codice (una lettera) assegnato a caso. Ogni Laboratorio conosce solo il proprio codice.

Lo studio è stato impostato in modo da: (a) permettere la massima confrontabilità dei risultati, compatibilmente con i margini operativi concessi dal metodo; (b) ottenere il maggior numero di informazioni (su affidabilità, fonti di errore, ecc.) con un limitato numero di determinazioni analitiche. Per questo motivo, è essenziale che venga seguito rigorosamente il protocollo che segue.

Si sottolinea che questo è uno studio mirato alla valutazione del metodo e non dei Laboratori.

PROTOCOLLO

Lo studio viene condotto su porzioni cieche di un campione di cenere, prelevato all'elettrofiltro di un inceneritore per RSU. Le porzioni sono state arricchite con alcuni IPA ad un determinato livello di concentrazione (per il momento, non si ritiene necessario approfondire lo studio valutando l'efficienza di recupero a diversi livelli di concentrazione). La procedura seguita dal Laboratorio coordinante per il pretrattamento del campione e delle porzioni è riportata in Allegato 1.

Criteri generali. Tutte le determinazioni devono essere effettuate contemporaneamente, impiegando gli stessi lotti di reagenti, la stessa apparecchiatura, la stessa procedura e le stesse manipolazioni.

Salvo quanto specificato in questo protocollo, devono essere utilizzate strettamente le procedure, le condizioni operative (compresi i parametri analitici) ed i materiali (compresa la colonna gascromatografica con le caratteristiche richieste) riportati nel

metodo [1,2] (riprodotto, per la parte di interesse, in Allegato 3). Per tutto quanto non specificato nel metodo e nel protocollo, ogni Laboratorio decide autonomamente la procedura secondo le proprie abitudini e le buone pratiche di laboratorio.

Affinchè i risultati dello studio siano realistici, gli operatori dovrebbero analizzare i campioni prestando lo stesso livello di attenzione che prestano normalmente in questo tipo di analisi.

Ogni Laboratorio riceve:

- 4 barattoli contenenti ognuno una porzione di 10,0 g della cenere da analizzare;
- 1 flaconcino contenente 2 ml di una miscela (M) costituita dai 16 IPA dell'EPA più i quattro dibenzopireni, in toluene, a titolo incognito;
- 1 flaconcino contenente lo standard interno o-terfenile (o-T, purezza 99%; circa 100 mg);
- 1 flaconcino contenente lo standard interno trifenilbenzene (TPB, purezza >97%; circa 100 mg);
- un gascromatogramma della miscela M.

Conservazione. Tutti i suddetti campioni devono essere conservati in frigorifero a +4 °C e non devono essere esposti alla luce solare diretta o al neon.

Analisti. Tutte le determinazioni devono essere compiute dallo stesso analista; se più di un analista è impegnato nella determinazione (ad es., uno nella fase di estrazione e purificazione, un altro nella fase di analisi strumentale), ogni fase deve essere comunque condotta dallo stesso analista. Gli analisti devono essere qualificati e possedere familiarità con le tecniche utilizzate.

Data di inizio della determinazione. L'inizio dell'estrazione delle porzioni di cenere dovrebbe avvenire il 14 giugno 1993, o quanto più vicino possibile a tale data.

Porzioni da analizzare. Devono essere analizzate solo tre delle quattro porzioni fornite. La quarta porzione è da utilizzare come riserva, se necessario, in caso di incidente occorso ad una delle prime tre. (Ovviamente, in quest'ultimo caso, si perde il requisito della contemporaneità di tutte le determinazioni).

Punti particolari (in aggiunta a quanto riportato nel metodo):

Stabilità. Durante l'intera determinazione, i campioni vanno protetti dalla luce solare diretta o al neon. Usare, per quanto possibile, vetreria scura.

Bianco-reagenti. L'intera procedura va anche eseguita su 2 campioni "bianco-reagenti" (# BR): gli eventuali picchi interferenti con gli IPA e con gli standard interni vanno poi considerati nei risultati relativi alla cenere, sottraendo il valore medio relativo ai due # BR. (Se lo scarto tra i due valori relativi ai due # BR viene considerato elevato, in relazione alla quantità del composto effettivamente

Appendice 2

trovato nei campioni di cenere, segnalarlo nel resoconto). Uno dei due # BR andrebbe analizzato in anticipo rispetto alla data fissata per l'analisi della cenere, per individuare in tempo utile eventuali fonti di contaminazione, oltrechè per prendere familiarità con la procedura. Standard interni. L'o-T ed il TPB vengono aggiunti subito prima dell'analisi GC, come previsto dal metodo (sez. 6.3). Tuttavia, può essere aggiunto un ulteriore standard interno (secondo le abitudini del Laboratorio) prima dell'estrazione, per evidenziare un eventuale errore nel trattamento di un campione e decidere quindi la sostituzione con una porzione di riserva.

Estrazione. Viene effettuata sull'intera aliquota di 10,0 g, con toluene.

Concentrazione dell'estratto. Viene condotta dapprima all'evaporatore rotante (ad una T del bagno non superiore a 40° C, a pressione ridotta mediante pompa ad acqua o sistema equivalente) e poi sotto leggero flusso d'azoto.

Purificazione. La purificazione dell'estratto deve essere effettuata sia mediante TLC (sez. 6.1 del metodo [2]) che mediante cromatografia su colonna (sez. 6.2), ma non mediante HPLC preparativa (accennata ma non descritta nella sez. 6.2). A tal fine, l'estratto, concentrato a ca. 1 ml, viene suddiviso in 2 sottoestratti di uguale volume (ad es., mediante prelievi successivi con una microsiringa da 500 µl o con una pipetta graduata; suddividere anche i lavaggi del recipiente) o, comunque, di volume noto. Un sottoestratto viene poi concentrato a ca. 100 µl e purificato per TLC. L'altro (ca. 500 µl) viene purificato su colonna: alcuni Laboratori (v. Allegato 2), mediante la procedura del metodo [2; sez. 6.2], depositando i 500 µl in testa alla colonnina cromatografica; i rimanenti Laboratori, mediante una procedura alternativa che verrà fornita successivamente. Dopo la purificazione, entrambe le soluzioni risultanti vengono concentrate a ca. 50 µl per l'analisi (in tal modo, si ottiene la stessa concentrazione finale del metodo, il quale non prevede la suddivisione dell'estratto ma richiede di concentrare a ca. 100 µl). Il volume della soluzione finale va misurato, al momento dell'analisi, con una microsiringa da 100 µl.

GC - Programma termico: se l'analista ritiene di ottenere risultati migliori con un programma termico diverso da quello indicato nel metodo (sez. 6.3), devono essere riportati i risultati ottenuti sia con il programma del metodo che con quello alternativo. Sistema di iniezione: l'iniezione (sez. 5.6 del metodo) va fatta, se disponibile, col metodo "on-column"; se è disponibile anche il "PTV", devono essere riportati i risultati ottenuti con entrambi i sistemi. Gas di trasporto: oltre l'elio, può essere usato l'idrogeno. Gas make-up: l'eventuale uso è a scelta dell'analista.

Analisi quantitativa. Viene effettuata mediante standard sia interni (come riportato nella sez. 6.3 del metodo) che esterni. Ciò consente di evidenziare l'eventuale errore dovuto a picchi interferenti con gli standard interni.

Il confronto con gli standard esterni va fatto impiegando sia la miscela di standard di riferimento comunemente in uso nel Laboratorio

(anche se incompleta rispetto alla lista della Tab. 1), sia la miscela fornita (flaconcino M): ciò consente di valutare l'effetto della calibrazione degli standard di riferimento sulla variabilità interlaboratorio del metodo. Nel secondo caso (uso della miscela fornita), le quantità trovate vanno riportate assumendo una concentrazione nominale di ogni IPA, nella miscela di riferimento (flaconcino M), pari a 20 µg/ml: la trasformazione nel risultato "effettivo" sarà eseguita dal Laboratorio coordinante.

Per i calcoli, ogni Laboratorio sceglie se utilizzare i dati dell'integratore relativi alle aree o alle altezze dei picchi.

Viste le difficoltà di separazione, il BbFA ed il BkFA nei calcoli vengono considerati cumulativamente.

GC/MS e HPLC. Per ovvi motivi di confrontabilità dei risultati, queste due tecniche, pur se disponibili, non devono essere impiegate per confermare i risultati, nè qualitativi nè quantitativi.

Resoconto. Va riportato nei moduli qui allegati e recapitato al Laboratorio coordinante al più presto dopo l'analisi: in tal modo, se dai risultati c'è un'indicazione di valori aberranti ("outlier"), dopo discussione con il Laboratorio coordinante sulle possibili cause, si può ripetere la determinazione su nuove porzioni. Il resoconto comprende:

(a) I risultati, espressi in ng/g di cenere, non corretti per il recupero ma corretti rispetto al bianco-reagenti. (La determinazione dell'efficienza di recupero non viene richiesta ai Laboratori: tale parametro sarà poi calcolato conoscendo le quantità di IPA aggiunte dal Laboratorio coordinante).

(b) La data in cui è stata iniziata l'estrazione dei 3 campioni e - se del caso - le osservazioni di cui agli ultimi 2 trattini della sez. 8 del metodo e altre indicazioni utili.

(c) Una copia di tutti i gascromatogrammi, compresi quelli del bianco-reagenti e della miscela di standard, recante i tempi di ritenzione, il programma termico e l'assegnazione dei picchi relativi agli IPA ed agli standard interni. La copia dovrebbe essere possibilmente in originale (gli integratori consentono generalmente di stampare più copie del tracciato, prima dell'analisi successiva); se è in fotocopia, essa deve essere quanto più nitida possibile, non ridotta nè ingrandita. Ogni campione va identificato sul cromatogramma mediante una sigla costituita da: Codice Laboratorio / codice campione (che sarà il numero della porzione di cenere riportato sul barattolo, oppure una delle seguenti sigle: BR1, BR2, M).

Conservazione Dopo l'analisi, i campioni vengono diluiti con toluene a ca. 1 ml e conservati in frigorifero a +4° C (per eventuali ripetizioni della misura che si dovessero rendere necessarie in seguito).

Precauzioni. Si ricorda che molti IPA posseggono attività cancerogena, con diversi livelli di evidenza sperimentale; alcuni, in particolare, sono "probabili" o "possibili cancerogeni per l'uomo".

Appendice 2

[4]. Devono essere dunque adottate tutte le precauzioni per evitare ogni esposizione ad IPA, in particolare quella cutanea.

Riferimenti bibliografici

(1) Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Campionamento e dosaggio di microinquinanti in flussi gassosi convogliati. Rapporto Istisan 88/19. Ist. Super. Sanità, Roma, 1988.

(2) Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) - Metodo gascromatografico (a cura di G. Viviano e S. Fuselli). Rapporto Istisan 90/33. Ist. Super. Sanità, Roma, 1990.

(3) Linee guida per il contenimento delle emissioni inquinanti degli impianti industriali e la fissazione dei valori minimi di emissione. Decreto Ministeriale 12 luglio 1990, n. 51. Suppl. ord. G.U. n. 176 del 30 luglio 1990.

(4) IARC. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Mon. Eval. Carcin. Risk Hum., Suppl. 7. IARC, Lyon, 1987.

(5) Menichini E. e Rossi L. (curatori). Idrocarburi policiclici aromatici: basi scientifiche per la proposta di linee guida. Rapporto Istisan 91/27. Ist. Super. Sanità, Roma, 1991.

Tabella 1 - IPA da determinare.

Abbreviazione	IPA
NA	Naftalene
ACL	Acenaftilene
AC	Acenaftene
FL	Fluorene
PHE	Fenantrene
AN	Antracene
FA	Fluorantene
PY	Pirene
BaA	Benzo[a]antracene
CHR	Crisene
BbFA	Benzo[b]fluorantene
BkFA	Benzo[k]fluorantene
BaP	Benzo[a]pirene
IP	Indeno[1,2,3-cd]pirene
DBaA	Dibenzo[a,h]antracene
BPE	Benzo[ghi]perilene
DBaP	Dibenzo[a,l]pirene
DBaP	Dibenzo[a,e]pirene
DBaP	Dibenzo[a,i]pirene
DBaP	Dibenzo[a,h]pirene

Tabella 2 - Laboratori partecipanti e relativi responsabili per questo studio.

Ascoli P.	Serv. Multiz. Sanità Pubbl., Area Chimica	E. Corradetti
Firenze	Serv. Multiz. Prevenz., Un.Op.Ch.Amb./4	M. Berlincioni
Genova	Ist. Naz. Ric. Cancro, Lab. Ch. Ambientale	F. Valerio
Milano	Pres. Multiz. Ig. Prevenz., Un. Op. Chim.	A. Cavallaro
Roma	CNR - Istituto Inquinamento Atmosferico	A. Cecinato
Roma	ENEA - Divisione Chimica Ambientale	C. Cremisini
Roma	Ist. Super. Sanità, Lab. Toss. Comp. Ecot.	A. di Domenico
Roma	Ist. Super. Sanità, Lab. Igiene Ambientale	S. Fuselli
Roma	Ist. Super. Sanità, Lab. Igiene Ambientale ^a	E. Menichini

^a Laboratorio coordinante.

Appendice 2

Ceneri/SC/1, Mod. 1

Codice Laboratorio: ...

Risultati (non corretti per il recupero; corretti sul bianco-reagenti)
Metodo dello standard interno ^a

IPA	Concentrazione (ng/g) ^b			s.i. ^d
	# ^c ..	#...	#...	
NA				
ACL				
AC				
FL				
PHE				
AN				
FA				
PY				
BaA				
CHR				
B(b+k)FA				
BaP				
IP				
DBaH				
BghiP				
DBaIP				
DBaeP				
DBaiP				
DBaHP				

(Note nel Mod. 3)

Iniettore: ☐ on-column ☐ PTV

Colonna (tipo, lung. x d.i. x spessore film):

Programma termico: ☐ indicato nel metodo (sez. 6.3)
☐ alternativo; indicare quale:

IPA e standard interni determinati nel bianco-reagenti e relative
 quantità (ng/g):

Ceneri/SC/1, Mod. 2

Codice Laboratorio: ...

Risultati (non corretti per il recupero; corretti sul bianco-reagenti)
Metodo degli standard esterni

	Concentrazione (ng/g) ^b calcolata con					
	gli standard propri ^e			gli standard forniti ^f		
IPA	# ^c ..	#...	#...	#...	#...	#...
NA						
ACL						
AC						
FL						
PHE						
AN						
FA						
PY						
BaA						
CHR						
B(b+k)FA						
BaP						
IP						
DBaH ^A						
BghiP						
DBaIP						
DBaeP						
DBaiP						
DBahP						

(Note nel Mod. 3)

Iniettore: ☐ on-column ☐ PTV

Colonna (tipo, lung. x d.i. x spessore film):

Programma termico: ☐ indicato nel metodo (sez. 6.3)
☐ alternativo; indicare quale:

IPA e standard interni determinati nel bianco-reagenti e relative
 quantità (ng/g):

Appendice 2

Ceneri/SC/1, Mod. 3

Codice Laboratorio: ...

Note alle tabelle dei risultati:

^a Secondo quanto riportato nelle sez. 6.3 e 7 del metodo.

^b Approssimare all'unità se $\geq 10,0$ e alla prima cifra decimale se $< 10,0$. Risultati che si ritengono, per qualunque motivo, approssimati a livelli maggiori vengono riportati come "ca. ...".

Se la misura per la singola porzione viene effettuata più di una volta (cioè, se si fanno analisi gascromatografiche replicate della stessa porzione), riportare in tabella solo il valore medio delle misure.

^c Riportare il numero che si trova sul barattolo.

^d Indicare per ogni IPA quale standard interno è stato utilizzato: o-terfenile (o-T) o trifenilbenzene (TPB).

^e Per confronto con gli standard di riferimento comunemente in uso nel Laboratorio. Mettere un trattino al posto dei valori corrispondenti agli IPA di cui non sono disponibili gli standard di riferimento.

^f Per confronto con la miscela di standard di riferimento fornita (flaconcino M).

Casi particolari:

- IPA "non rivelati" vengono riportati come " $< x$ ", dove x è il limite di rivelabilità stimato, nel campione in esame (ai fini pratici di questo studio, si assume come limite di rivelabilità la quantità che produce un picco la cui altezza è approssimativamente 3 volte quella del fondo nell'intorno del t_R corrispondente al composto).

- Identificazioni incerte vengono segnalate con un "?" di seguito al risultato.

- IPA non identificabili per la presenza di interferenti analitici (ad es., perchè coperti o perchè in una zona "sporca" del cromatogramma) vengono segnalati con "n.i.".

- Se un IPA risulta maggiore nel bianco-reagenti rispetto alla cenere, la quantità viene riportata come valore negativo.

Ceneri/SC/1, Mod. 4

Codice Laboratorio: ...

Data di inizio dell'estrazione dei 3 campioni: ...

Eventuali osservazioni:

Particolarità rilevate nel corso della determinazione:

Operazioni non citate nel metodo [1,2], a cui si è dovuto far ricorso:

Irregolarità, rispetto alla corretta applicazione del metodo, che sono sopravvenute:

Modifiche (anche se ritenute banali) rispetto al metodo descritto:

Altre informazioni ritenute utili:

Appendice 2

Allegato 1. Procedura utilizzata dal Laboratorio coordinante per la preparazione del campione di cenere e l'arricchimento delle porzioni da analizzare.

Un campione di 1,1 kg di cenere è stato pestato in mortaio per romperne i grumi e poi posto in un miscelatore rotante orbitale per 24 ore. 100 porzioni di 10,0 g di questo campione sono state pesate nei barattoli e numerate in ordine crescente. Cinque di esse, scelte a caso, sono state analizzate dal Laboratorio coordinante e sono risultate soddisfacentemente omogenee.

Un gruppo di porzioni, scelte a caso, è stato addizionato con 10,0 ml di una soluzione diclorometanica di alcuni IPA (la cui presenza nella cenere è stata preventivamente determinata a livelli trascurabili rispetto a quelli aggiunti). Il diclorometano è stato lasciato evaporare a temperatura ambiente sotto cappa aspirante ed al riparo da luce diretta, sia solare che artificiale. Tre porzioni, scelte a caso, sono state analizzate (24 ore dopo l'evaporazione del solvente) dal Laboratorio coordinante e sono risultate soddisfacentemente omogenee rispetto al recupero degli IPA aggiunti.

Quindi, tutte le porzioni sono state lasciate in frigorifero a +4° C, fino al giorno in cui sono state distribuite, a caso, ai Laboratori partecipanti.

(Le scelte "a caso" sono state effettuate mediante tabella di numeri casuali).

Allegato 2.

Laboratori che, per la purificazione su colonna, utilizzano la procedura prevista dal metodo [2; sez. 6.2]:

IST Genova

CNR

ISS/IA

ISS/IA

Laboratori che utilizzano la procedura alternativa:

SMSP Ascoli Piceno

SMP Firenze

PMIP Milano

ENEA

ISS/TCE

Allegato 3. Testo del metodo oggetto dello studio.

[omesso nel presente Rapporto]

APPENDICE 3 - Tabelle (A/1-A/6) relative ai test statistici per i valori aberranti

Tabella A/1 - Test di Cochran per i valori aberranti, applicato alle varianze intralaboratorio.

Varianza intralaboratorio															
IPA	Programma termico GdS					Progr. term. altern.			Ivar	n	Var _{max} /Ivar				
	A	B	C	E	L	F	G	H			n=8	n=7	n=6	n=5	
NA	<u>128.1</u>	nc	nc	nc	nc	<u>1028.2</u>	nc	nc	1156	2					
ACL	<u>704.8</u>	74.4	nc	460.3	nc	1.2	nc	299.4	1540	5				.46	
AC	<u>1465.8</u>	1240.6	nc	<u>288.6</u>	nc	289.9	nc	<u>2.2E+4</u>	25159	5				.87	
FL	<u>81.5</u>	nc	nc	nc	nc	50.8	nc	nc	132	2					
PHE	<u>58.8</u>	251.5	<u>5865.2</u>	3234.5	3261.6	653.8	281.8	97.4	13705	8	.43				
AN	<u>129.7</u>	194.8	nc	nc	215.8	202.5	<u>348.2</u>	20.0	1111	6				.31	
FA	<u>4445.3</u>	4.3	nc	87.1	17.2	519.5	nc	nc	5073	5				.88	
PY	<u>159.1</u>	310.3	<u>822.3</u>	381.0	nc	283.2	56.0	nc	2012	6				.41	
BaA	<u>.0</u>	<u>8338.0</u>	378.7	1208.5	4904.0	365.0	695.7	331.7	16221	8	.51				
CHR	<u>7.2</u>	17.2	.9	<u>864.9</u>	47.0	12.0	77.6	246.9	1274	8	.68				
BFA	<u>7.2</u>	2692.0	<u>643.1</u>	<u>10854.5</u>	145.9	70.3	nc	10.3	14423	7		.75			
BaP	<u>2.7</u>	132.1	<u>52.9</u>	<u>1762.9</u>	998.6	7.7	40.6	.9	2998	8	.59				
IP	<u>19.5</u>	109.4	192.2	108.6	<u>1651.3</u>	40.5	515.0	.1	2637	8	.63				
DBaH A	<u>17.6</u>	62.0	1.0	77.2	<u>653.8</u>	37.3	401.3	.0	1250	8	.52				
Bgh1P	<u>31.0</u>	44.8	97.2	41.5	<u>654.7</u>	43.5	245.3	4.3	1162	8	.56				
DBa1P	<u>188.0</u>	70.7	nc	nc	117.4	93.5	13.4	nc	483	5				.59	
DBaeP	<u>24.8</u>	125.1	<u>943.3</u>	nc	451.5	6.7	47.1	nc	1599	6				.59	
DBaiP	<u>3.3</u>	95.8	<u>347.6</u>	nc	68.2	211.1	74.4	nc	800	6				.43	
DBahP	<u>nc</u>	<u>45.8</u>	nc	nc	nc	nc	nc	nc	46	1					
Valore critico per il test di Cochran (r=3; P=0.01)												.62	.66	.72	.79

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: purificazione TLC; standard esterni M. Cfr. tabella 6.

In corsivo: varianze relative a 2 campioni (r=2), anzichè 3.

Sottolineate: varianze massime (Var_{max}) per ogni IPA.

In neretto: valori aberranti risultanti dall'applicazione di questo test.

Appendice 3

Tabella A/2 - Test di Grubbs ("singolo valore") per i valori aberranti, applicato alle medie ottenute nei vari Laboratori.

IPA ^a	Concentrazioni medie (ng/g)								n	s	sn	sl	100 x [1-(sn/s)]	100 x [1-(sl/s)]
	A	B	C	E	F	G	H	L						
PHE	<u>136</u>	111	46	103	112	100	<u>11</u>	133	8	43.4	43.1	30.0	.8	30.9
AN	<u>26</u>	99	<u>1</u>	BR	97	<u>125</u>	13	30	7	49.7	43.0	47.5	13.5	4.5
FA	<u>o/l</u>	43	<u>26</u>	37	<u>58</u>	ni	BR	<u>12</u>	5	17.2	13.4	13.2	21.8	23.4
PY	<u>22</u>	51	<u>66</u>	48	56	37	BR	ni	6	15.5	13.6	10.8	12.2	30.3
BaA	<u>49</u>	196	100	72	199	<u>204</u>	<u>45</u>	132	8	67.9	64.7	64.6	4.7	4.7
CHR	<u>18</u>	<u>17</u>	45	<u>o/l</u>	<u>83</u>	36	35	22	7	23.0	11.3	23.4	50.9	-1.7
BFA	<u>11</u>	<u>108</u>	<u>61</u>	<u>o/l</u>	38	15 ^b	20	24	7	34.5	18.4	35.2	46.7	-2.0
BaP	<u>8</u>	75	<u>21</u>	<u>99</u>	80	57	<u>7</u>	48	8	34.7	30.6	32.5	11.8	6.3
IP	<u>55</u>	97	98	74	<u>135</u>	121	<u>9</u>	<u>o/l</u>	7	42.8	39.9	29.6	6.9	30.8
DBaHA	<u>33</u>	54	<u>95</u>	56	85	82	<u>6</u>	76	8	29.9	28.7	21.7	4.0	27.4
BghiP	<u>32</u>	60	76	59	<u>88</u>	87	<u>10</u>	76	8	27.4	27.1	19.6	.9	28.5

Abbreviazioni: v. Lista.

Condizioni: purificazione TLC: standard esterni M. Cfr. tabella 5.

o/l: valori aberranti ('outlier') secondo il test di Cochran sulle varianze.

s: DS di tutte le conc. medie; sn (sl): DS dopo aver escluso la media più alta (più bassa).

In corsivo: medie ottenute da 2 campioni (n=2), anziché 3; FA/Lab.C: 1 solo campione.

Sottolineate: concentrazioni minima e massima per ogni IPA.

^a Il test non è stato applicato agli IPA dal NA al FL ed ai DBP, perché sono risultati "nr" in 2 o più Laboratori.

^b IPA "nr" (ai fini dei calcoli, è riportato in tabella, in prima approssimazione, il valore pari al limite di rivelabilità).

Valori critici per il test di Grubbs ("singolo valore", P=0.01):

57.4 (n=8), 63.6 (n=7), 71.3 (n=6), 80.7 (n=5).

Tabella A/3 - Test di Grubbs ("coppia di valori") per i valori aberranti, applicato alle medie ottenute nei vari Laboratori.

Concentrazioni medie (ng/g)														100 x	
IPA*	A	B	C	E	F	G	H	L	n	s	S _{2H}	S _{2L}	S _{NL}	S _{min}	[1-(S _{min} /s)]
PHE	136	111	46	103	112	100	11	133	8	43.4	42.0	15.3	29.3	15.3	64.9
AN	26	99	1	8	97	125	13	30	7	49.7	37.4	44.7	41.7	37.4	24.7
FA	o/1	43	26	37	58	ni	8	12	5	17.2	12.5	10.7	8.4	8.4	51.2
PY	22	51	66	48	56	37	8	ni	6	15.5	13.0	8.1	8.1	8.1	47.4
BaA	49	196	100	72	199	204	45	132	8	67.9	57.5	57.0	62.8	57.0	16.0
CHR	18	17	45	o/1	83	36	35	22	7	23.0	9.1	23.3	10.9	9.1	60.3
BFA	11	108	61	o/1	38	15	20	24	7	34.5	10.4	36.0	18.3	10.4	69.8
BaP	8	75	21	99	80	57	7	48	8	34.7	28.1	27.4	28.8	27.4	21.0
IP	55	97	98	74	135	121	9	o/1	7	42.1	36.9	23.9	25.5	23.9	43.3
DBahA	33	54	95	56	85	82	6	76	8	29.9	28.1	16.2	20.2	16.2	45.6
BghiP	32	60	76	59	88	87	10	76	8	27.4	26.1	12.5	19.2	12.5	54.2

Note e condizioni: v. tabella A/2.

S_{2H} (S_{2L}): DS dopo aver escluso le 2 medie più alte (più basse);

S_{NL}: DS dopo aver escluso sia la media più alta che quella più bassa;

S_{min}: la minima delle 3 DS suddette (S_{2H}, S_{2L}, S_{NL}).

Valori critici per il test di Grubbs ("coppia di valori", P=0.01):

75.0 (n=8), 81.4 (n=7), 88.3 (n=6), 95.4 (n=5).

Appendice 3

Tabella A/4 - Metodo con purificazione per TLC: ricalcolo della riproducibilità, dopo aver escluso i valori aberranti (cfr. tabella 5).

Concentrazioni medie (ng/g)															
Laboratorio										Tutti i Laboratori				Escl. Lab. H	
IPA	A	B	C	E	F	G	H	L	n	Interv.	Media	DS	CV %	Media	CV %
NA	52	BR	nr	ni	63	ni	(nr)	ni	4	nr-63					
ACL	44	12	nr	55	6	nr	51	nr	8	nr-55					
AC	63	94	<i	19	48	ca.24	o/l	ni	6	<1-94	42	34	81	42	34 81
FL	29	BR	nr	(nr)	15	nr	BR	(nr)	8	nr-29					
PHE	136	111	46	103	112	100	11	133	8	11-136	94	43	46	106	30 28
AN	26	99	1	BR	97	125	13	30	7	1-125	56	50	89	63	50 80
FA	o/l	43	26*	37	58	ni	BR	12	5	12-58	35	17	49	35	17 49
PY	22	51	66	48	56	37	BR	ni	6	22-86	47	15	33	47	15 33
BaA	49	196	100	72	199	204	45	132	8	45-204	125	68	54	136	65 48
CHR	18	17	45	o/l	83	36	35	22	7	17-83	37	23	63	37	25 69
BFA	11	108	61	o/l	38	<15	20	24	7	511-108	40	35	87	43	37 86
BaP	8	75	21	99	80	57	7	48	8	7-99	49	35	71	55	33 59
IP	55	97	98	74	135	121	9	o/l	7	9-135	84	43	51	97	30 31
DBaH	33	54	95	56	85	82	6	76	8	6-95	61	30	49	69	22 32
BghiP	32	60	76	59	88	87	10	76	8	10-88	61	27	45	68	20 29
DBaP	15	42	nr	(nr)	66	41	nr	20	8	nr-66					
DBaP	20	47	36	(nr)	80	60	nr	57	8	nr-80					
DBaP	9	33	95	(nr)	60	33	nr	15	8	nr-95					
DBaP	(nr)	14	(nr)	(nr)	(nr)	nr	nr	(nr)	8	nr-14					
<u>media</u>															
AC, PHE-BghiP													60		52
FA-BghiP													56		48
<u>mediana</u>															
AC, PHE-BghiP													53		49
FA-BghiP													51		48

Abbreviazioni: v. Lista e tabella 5.

Tabella A/5 - Metodo con purificazione per TLC: ricalcolo della ripetibilità, dopo aver escluso i valori aberranti (cfr. tabella 6).

CV% intralaboratorio

IPA	Programma termico GdS								Progr. termico alt.				Media totale*	
	Laboratorio								Laboratorio					
	A	B	C	E	F	L	Interv.	Media	F	G	H	Media		
NA	22	nc	nc	nc	nc	nc	(22)	51	nc	nc	(51)	22		
ACL	60	70	nc	39	3	nc	3-70	43	18	nc	34	26	41	
AC	60	37	nc	88	37	nc	37-88	56	36	nc	o/l	(36)	56	
FL	31	nc	nc	nc	58	nc	31-58	45	48	nc	nc	(48)	45	
PHE	6	14	168	55	10	43	6-168	49	23	17	86	42	50	
AN	44	14	nc	nc	8	49	8-49	29	15	15	35	21	27	
FA	o/l	5	nc	25	nc	35	5-35	22	40	nc	nc	(40)	22	
PY	58	35	43	41	59	nc	35-59	47	30	20	nc	25	43	
BaA	.0	47	19	48	30	53	0-53	33	10	13	40	21	31	
CHR	15	24	2	o/l	nc	31	2-31	18	4	25	45	25	24	
BFA	24	48	42	o/l	56	51	24-56	44	22	nc	16	19	39	
BaP	20	15	35	42	9	66	9-66	31	3	11	14	10	27	
IP	8	11	14	14	8	o/l	8-14	11	5	19	3	9	11	
DBahA	13	15	1	16	41	34	1-41	20	7	25	3	12	18	
BghiP	17	11	13	11	9	34	9-34	16	7	18	20	15	17	
DBaIP	93	20	nc	nc	29	55	20-93	49	15	9	nc	12	41	
DBaeP	25	24	86	nc	14	37	14-86	37	3	11	nc	7	33	
DBaiP	19	30	20	nc	38	56	19-56	33	24	26	nc	25	32	
DBahP	nc	50	nc	nc	nc	nc	(50)	nc	nc	nc	nc	nc	50	
<u>mediana</u>														
NA-BghiP														27
NA-DBahP														32
FA-BghiP														24

Abbreviazioni: v. Lista e tabella 6.

Appendice 3

Tabella A/6 - Metodo con purificazione per TLC: ricalcolo dei recuperi %, dopo aver escluso i valori aberranti (cfr. tabella 7).

Laboratorio											Media s/H ^a	
IPA	A	B	C	E	F	G	H	L	n	Interv.	Media	s/H ^a
AC	63	94	<1	19	48	24	o/l	nc	6	<1-94	42	42
AN	17	66	1	nc	65	83	9	20	7	1-83	37	42
BaA	24	98	50	36	99	102	23	66	8	23-102	62	68
BaP	8	75	21	99	80	57	7	48	8	7-99	49	55
IP	36	64	65	49	90	81	6	o/l	7	6-90	56	64
DBaA	33	54	95	56	85	82	6	76	8	6-95	61	69
BghiP	32	60	76	59	88	87	10	77	8	10-88	61	69
<u>media</u>												
tutti											53	58
BaA-BghiP											58	65
<u>mediana</u>												
tutti											56	64
BaA-BghiP											61	68
DBaP	15	42	nr	(nr)	67	41	nr	20	8	nr-67		
DBaP	20	47	36	(nr)	80	60	nr	57	8	nr-80		
DBaP	9	33	95	(nr)	60	33	nr	15	8	nr-95		
DBaP	(nr)	14	(nr)	(nr)	(nr)	nr	nr	(nr)	8	nr-14		

Abbreviazioni: v. Lista e tabella 7.

Dibenzopireni: il limite di rivelabilità è stimabile intorno a 10 ng/m³.

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità
e Responsabile scientifico: Giuseppe Vicari*

Direttore responsabile: Vilma Alberani

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

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

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

Roma, giugno 1995 (n. 2) 2° Suppl.