



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità
"Metodiche per il rilevamento delle emissioni
in atmosfera da impianti industriali"

**Determinazione degli idrocarburi
policiclici aromatici (IPA)
Metodo gascromatografico**
(Revisione settembre 1997)

A cura di
E. Menichini e G. Viviano

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

97/35

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità
"Metodiche per il rilevamento delle emissioni
in atmosfera da impianti industriali"

**Determinazione degli idrocarburi
policiclici aromatici (IPA)
Metodo gascromatografico**
(Revisione settembre 1997)

A cura di
Edoardo Menichini e Giuseppe Viviano
Laboratorio di Igiene Ambientale

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

97/35

Istituto Superiore di Sanità

Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali"

Determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA). Metodo gascromatografico.

(Revisione settembre 1997)

A cura di Edoardo Menichini e Giuseppe Viviano

1997, ii, 19 p. Rapporti ISTISAN 97/35

Il metodo consente la determinazione degli IPA con 4-6 anelli ed in particolare di quelli cancerogeni regolamentati dalla normativa italiana. La presente revisione si basa sui risultati di uno studio collaborativo nazionale. L'estratto dei campioni, ottenuto mediante un metodo descritto in un precedente lavoro (*Rapporto ISTISAN: 90/33*), viene purificato per cromatografia su stato sottile e analizzato mediante gascromatografia; l'identificazione viene confermata mediante spettrometria di massa. Si descrive un programma per il controllo di qualità intralaboratorio.

Parole chiave: Emissioni, Impianti industriali, Metodi analitici

Istituto Superiore di Sanità

Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali"

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Gas chromatographic method.

(Revision September 1997)

Edited by Edoardo Menichini and Giuseppe Viviano

1997, ii, 19 p. Rapporti ISTISAN 97/35 (in Italian)

The method enables the determination of 4- to 6-ring PAHs and particularly of carcinogenic PAHs regulated in Italy. This revision is based on the results of a national collaborative study. Sample extract, obtained by a method described in a previous report (*Rapporto ISTISAN: 90/33*), is cleaned up by thin-layer chromatography and analysed by gas chromatography; identification is confirmed by mass spectrometry. An intralaboratory quality control program is described.

Key words: Analytical methods, Emissions, Industrial plants

Si ringraziano Fabio Monfredini per la collaborazione tecnica nella messa a punto del metodo analitico, Andrea Gordiani e Gaetano Settimo per la collaborazione tecnica nel prelievo dei campioni utilizzati per mettere a punto il metodo, Natascia Masciocchi per l'*editing* del presente rapporto.

INDICE

Premessa	1
1. Abbreviazioni e acronimi	3
2. Oggetto.....	3
3. Campo di applicazione.....	3
4. Misure di sicurezza.....	3
5. Principio del metodo.....	3
6. Interferenze.....	5
7. Reagenti.....	5
8. Apparecchiature	5
9. Preparazione delle soluzioni di standard.....	6
9.1 Miscela standard di IPA	6
9.1.1 Preparazione dai singoli materiali puri	6
9.1.2 Preparazione dalle soluzioni commerciali dei singoli IPA	7
9.2 Soluzione dello standard surrogato.....	7
10. Controllo di qualità.....	7
10.1 Bianco-reagenti	7
10.2 Recupero.....	7
10.3 Ripetibilità.....	8
11. Campionamento ed estrazione	8
12. Concentrazione degli estratti.....	9
13. Purificazione per TLC	9
14. Analisi GC.....	10
14.1 Condizioni operative	10
14.2 Identificazione.....	10
14.3 Dosaggio.....	10
14.4 Interferenze.....	11
15. Analisi GC/MS	12
15.1 Conferma dell'identificazione	12
15.2 Altri impieghi relativi al dosaggio	12
16. Calcolo dei risultati.....	12
17. Resoconto della determinazione.....	13
Riferimenti bibliografici	13
Note.....	14
Appendice 1 - Metodo per il campionamento di microinquinanti in flussi gassosi convogliati	18

Composizione del Gruppo di Lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali"

Giuseppe Viviano (coordinatore)	Istituto Superiore di Sanità
Carla Contardi	Regione Piemonte
Alessandro di Domenico	Istituto Superiore di Sanità
Patrizia di Filippo	Ist. Superiore Prevenzione e Sicurezza sul Lavoro
Sergio Fuselli	Istituto Superiore di Sanità
Giuliana Gasparri	Ministero dell'Ambiente
Achille Marconi	Istituto Superiore di Sanità
Giovanni Marconi	Regione Lazio
Edoardo Menichini	Istituto Superiore di Sanità
Franco Merli	Istituto Superiore di Sanità
Marina Penna	Ministero dell'Ambiente
Piero Pagotto	Regione Emilia Romagna
Giuseppe Puglisi	Ministero Industria, Comm. e Artigianato
Emma Quaresima	Ministero della Sanità
Elvezio Ranaldi	ENEA
Mario Romanelli	Regione Toscana
Mauro Rotatori	CNR
Marco Scanagatta	UNI
Sergio Tammaro	Regione Lombardia
Maurizio Tava	Provincia di Trento
Luigi Turrio Baldassarri	Istituto Superiore di Sanità
Gianni Ziemacki	Istituto Superiore di Sanità
(in attesa di designazione)	ANPA

Altri collaboratori

Hanno inoltre collaborato alla revisione del metodo i seguenti colleghi che avevano già partecipato allo studio collaborativo (Rapporto ISTISAN 95/19) per la validazione del metodo originale:

Moreno Berlincioni	USL 10/A, Servizio Multizonale di Prevenzione, Unità Operativa Chimica Ambientale 4 dei Microinquinanti, Firenze
Angelo Cecinato	CNR, Area della Ricerca di Roma, Istituto sull'Inquinamento Atmosferico, Monterotondo Stazione (Roma)
Salvatore Chiavarini	ENEA Casaccia, Sezione AMB/TEIN/CHIM, S. Maria di Galeria (Roma)
Ernesto Corradetti	Azienda Sanitaria USL 13, Servizio Multizonale di Sanità Pubblica, Area Chimica, Ascoli Piceno
Giorgio Croce	USL 10/A, Servizio Multizonale di Prevenzione, Unità Operativa Chimica Ambientale 4 dei Microinquinanti, Firenze
Cinzia La Rocca	Istituto Superiore di Sanità, Lab. di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Roma
Mauro Pala	Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Laboratorio Chimica Ambientale, Genova
Federico Valerio	Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Laboratorio Chimica Ambientale, Genova

Premessa

Nell'ambito della Commissione per la Revisione delle Linee guida, di cui all'art. 2 del dm 12 luglio 1990 "Linee guida per il contenimento delle emissioni inquinanti degli impianti industriali e la fissazione dei valori minimi di emissione", istituita presso il Ministero dell'Ambiente, è emersa la necessità e l'urgenza di aggiornare ed integrare le metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali. A tal fine il Ministero dell'Ambiente ha richiesto all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) di attivare, presso il Laboratorio di Igiene Ambientale, uno specifico gruppo di lavoro (GdL). L'ISS, accogliendo tale richiesta, ha istituito il GdL "*Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali*" costituito da esperti dello stesso ISS e di altri Istituti di ricerca ed Enti (la composizione del GdL è riportata nelle pagine precedenti).

I lavori del Gruppo hanno avuto inizio con una ricognizione preliminare delle diverse metodiche di rilevamento delle emissioni industriali (ufficiali o in preparazione in altri gruppi di lavoro o comunque di uso comune). Ciò ha consentito di effettuare una valutazione delle necessità operative e di individuare alcune priorità, tenendo anche conto delle esigenze normative sui controlli alle emissioni.

Tra tali priorità si colloca l'aggiornamento del metodo per gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), già messo a punto nell'ambito del Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità (GdS ISS) "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento", con la collaborazione del gruppo "Emissioni" dell'UNICHIM (Viviano e Fuselli, 1990). Tale metodo è stato oggetto di uno studio collaborativo nazionale (Menichini *et al.*, 1995) i cui risultati hanno consentito di valutare l'affidabilità del metodo e di individuare possibili modifiche e integrazioni al metodo stesso.

Il presente lavoro costituisce, quindi, una revisione del metodo originale, basata sui risultati sperimentali del suddetto studio.

Il metodo consente di determinare, in particolare, gli IPA regolamentati dal citato dm 12/7/1990, allegato 1, punto 1.1 "Sostanze ritenute cancerogene e/o teratogene e/o mutagene" (benz[a]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[j]fluorantene, benzo[k]fluorantene, benzo[a]pirene, dibenz[a,h]antracene, dibenzo[a,e]pirene, dibenzo[a,h]pirene, dibenzo[a,i]pirene, dibenzo[a,l]pirene; per questi ultimi quattro si è ritenuto di interpretare in modo estensivo la dizione incompleta dibenzo[a]pirene del decreto) oltre all'indeno[1,2,3-cd]pirene. Tutti questi IPA sono classificati dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC, 1987) come "probabilmente" o "possibilmente" cancerogeni per l'uomo.

Il metodo può considerarsi generalmente applicabile alle emissioni da fonti stazionarie. Si consideri comunque che la presenza di IPA nelle emissioni atmosferiche è associata agli impianti di combustione (inceneritori, centrali termiche e termoelettriche) e agli impianti che utilizzano prodotti che già contengono IPA o che possono dar luogo alla loro formazione (conglomerati bituminosi, cottura elettrodi, ecc.).

Il metodo, per la parte relativa al prelievo e all'estrazione dei campioni, rimanda ad un precedente rapporto (GdS ISS, 1988; riprodotto per la parte di interesse in Appendice 1), che può ritenersi sostanzialmente ancora valido anche se in alcune sue

parti potrà in futuro essere aggiornato nell'ambito dei lavori dello stesso GdL. La procedura di campionamento descritta in tale rapporto risulta, peraltro, in linea con gli attuali orientamenti internazionali espressi in sede CEN e ISO.

Nella stesura del metodo sono stati introdotti vari dettagli operativi mirati a consentire una migliore e più uniforme applicazione del metodo stesso. Alcuni di essi sono presentati come 'suggerimenti' o 'raccomandazioni' e quindi vanno intesi a titolo indicativo e non impositivo, nell'intenzione di facilitare il lavoro di quei laboratori che non abbiano ancora una consolidata esperienza in tali metodiche.

Si confida che i lavori del GdL, oltre a fornire un contributo all'aggiornamento della normativa tecnica, consentano soprattutto una migliore omogeneità nei rilevamenti delle emissioni da impianti industriali, non solo ai fini di controllo ma anche per una ottimizzazione della conduzione degli stessi.

Il coordinatore del GdL
Giuseppe Viviano

1. Abbreviazioni e acronimi

CV	coefficiente di variazione
d.i.	diametro interno
GC	gascromatografia
GC/MS	gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa
HPLC	cromatografia liquida ad alta prestazione
IPA	idrocarburi policiclici aromatici
TLC	cromatografia su strato sottile
t _R	tempo di ritenzione

2. Oggetto

Descrizione di un metodo per la determinazione degli IPA con 4-6 anelli nell'estratto dei campioni prelevati alle emissioni di impianti industriali. I campioni possono essere costituiti da una delle tre fasi prelevate (materiale particolato, condensato e incondensabile) o da una combinazione di esse.

Il metodo è applicabile, in particolare, alla determinazione degli IPA classificati dalla IARC (1987) come "probabilmente" o "possibilmente cancerogeni" per l'uomo (Tabella 1; nota 1). Tra tali IPA sono inclusi quelli la cui determinazione è richiesta - quali "sostanze ritenute cancerogene" - dalla normativa per le emissioni degli impianti industriali (Gazzetta Ufficiale, 1990) (Tabella 1; nota 2).

3. Campo di applicazione

Il campo di applicazione dipende dalla matrice, dal grado di purificazione ottenibile, dalla quantità di materiale prelevabile. A titolo indicativo, il metodo consente generalmente di rivelare concentrazioni di singoli IPA dell'ordine di 0,02 µg/Nm³ (nota 3).

4. Misure di sicurezza

In considerazione dell'attività cancerogena associata alle sostanze oggetto di questo metodo, occorre prestare la massima attenzione affinché la custodia, l'uso e lo smaltimento degli IPA, delle loro soluzioni e dei campioni estratti avvenga sempre con le dovute cautele e nel rispetto della normativa, per non causare danni agli operatori e all'ambiente.

5. Principio del metodo

L'estratto viene purificato mediante TLC su gel di silice. L'identificazione ed il dosaggio dei singoli IPA vengono effettuati mediante GC con colonna capillare e rivelatore a ionizzazione di fiamma. L'identificazione degli IPA viene confermata, se necessario ai fini della conformità ai valori limite, mediante GC/MS su campioni selezionati.

Tabella 1 - IPA di riconosciuto interesse tossicologico a cui è applicabile il metodo.^a

Nome comune ^b	Abbrev.	Nome CAS	Altro sinonimo	Formula molec.	Peso molec.	N. CAS	P.f. (°C)	P.eb. (°C)	Classif. IARC ^c	DM 1990 ^d
Benz[<i>a</i>]antracene	BaA	Benz[<i>a</i>]anthracene	1,2-Benzanthracene	C ₁₈ H ₁₂	228,3	56-55-3	161	400	2A	x
Benz[<i>b</i>]fluorantene	BbFA	Benz[<i>e</i>]acephenanthrylene	3,4-Benzofluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	252,3	205-99-2	168	481	2B	x
Benz[<i>j</i>]fluorantene	BjFA	Benz[<i>j</i>]fluoranthene	10,11-Benzofluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	252,3	205-82-3	165	480	2B	x
Benz[<i>k</i>]fluorantene	BkFA	Benz[<i>k</i>]fluoranthene	11,12-Benzofluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	252,3	207-08-9	216	480	2B	x
Benz[<i>a</i>]pirene	BaP	Benz[<i>a</i>]pyrene	3,4-Benzopyrene	C ₂₀ H ₁₂	252,3	50-32-8	178	496	2A	x
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pirene	IP	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	2,3- <i>o</i> -Phenylpyrene	C ₂₂ H ₁₂	276,3	193-39-5	164	536	2B	
Dibenzo[<i>a,h</i>]antracene	DBaA	Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene	1,2,5,6-Dibenzanthracene	C ₂₂ H ₁₄	278,4	53-70-3	267	524	2A	x
Dibenzo[<i>a,i</i>]pirene	DBaI	Dibenzo[<i>def,p</i>]chrysene	1,2,3,4-Dibenzopyrene	C ₂₄ H ₁₄	302,4	191-30-0	162	595 ^e	2B	x ^f
Dibenzo[<i>a,e</i>]pirene	DBaE	Naphto[1,2,3,4- <i>def</i>]chrysene	1,2,4,5-Dibenzopyrene	C ₂₄ H ₁₄	302,4	192-65-4	244	592 ^e	2B	x ^f
Dibenzo[<i>a,i</i>]pirene	DBaI	Benzo[<i>rst</i>]pentaphene	3,4,9,10-Dibenzopyrene	C ₂₄ H ₁₄	302,4	189-55-9	282	594 ^e	2B	x ^f
Dibenzo[<i>a,h</i>]pirene	DBaH	Dibenzo[<i>b,def</i>]chrysene	3,4,8,9-Dibenzopyrene	C ₂₄ H ₁₄	302,4	189-64-0	317	596 ^e	2B	x ^f

(Modificata da: Menichini, 1994).

CAS: Chemical Abstract Service.

^a Per l'applicabilità ai dibenzopireni, si veda la nota 1.

^b In ordine di eluizione gascromatografica.

^c Cancerogenicità per l'uomo secondo IARC (1987). 2A: probabilmente cancerogeno, 2B: possibilmente cancerogeno.

^d IPA la cui determinazione è richiesta dal DM 12-7-1990 (Gazzetta Ufficiale, 1990).

^e Stimato dal tempo di ritenzione gascromatografico.

^f Si veda la nota 2.

6. Interferenze

Interferisce qualunque composto che, presente nel campione dopo la purificazione, eluisca in GC con t_R approssimativamente uguale a quello degli IPA da determinare. Le interferenze possono essere costituite, oltre che da altri IPA presenti nel campione, anche da contaminanti presenti nei solventi, nei reagenti, nella vetreria ed in altra attrezzatura di laboratorio. L'uso, in particolare, di vetreria scrupolosamente pulita (nota 4) e di solventi ad elevata purezza aiuta a minimizzare i problemi dovuti alle interferenze. L'analisi del bianco-reagenti (v. sez. 10.1) consente di tenere sotto controllo eventuali interferenze provenienti dai materiali e dai reagenti.

7. Reagenti

La purezza deve essere comunque tale che l'analisi del bianco-reagenti soddisfi i criteri riportati in sez. 10.1.

7.1 Toluene, *n*-esano ed acetone: tutti a purezza almeno 'per HPLC' o equivalente, oppure ridistillati prima dell'uso.

7.2 Solfato di sodio anidro, per analisi.

7.3 Benz[a]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[k]fluorantene, benzo[a]pirene, dibenz[a,h]antracene, dibenzo[a,e]pirene, dibenzo[a,h]pirene, dibenzo[a,i]pirene, dibenzo[a,l]pirene, indeno[1,2,3-cd]pirene, eventuali altri IPA (nota 5): ognuno come standard puro a purezza nota ovvero in soluzione a concentrazione nota e preferibilmente certificata.

7.4 Miscela commerciale dei 16 IPA 'prioritari' per l'US EPA (1984) o altra miscela equivalente ai fini del controllo delle prestazioni della colonna e del sistema GC (v. sez. 14.1).

7.5 Standard surrogato (nota 6).

7.6 Standard interno (eventuale; v. sez. 14.3): standard puro a purezza nota ovvero in soluzione a concentrazione nota e preferibilmente certificata.

8. Apparecchiature

8.1 Normale attrezzatura di laboratorio.

8.2 Palloni per evaporatore rotante da 50 ml in vetro scuro.

8.3 Microsiringhe in vetro da 100 - 250 - 500 μ l.

8.4 Vials (flaconcini) in vetro, con tappo a vite munito di guarnizione teflonata, con le seguenti capacità approssimate: 5 ml, in vetro chiaro, graduati e a fondo conico; 20 ml, in vetro chiaro; 40 ml, in vetro scuro (o da avvolgere accuratamente in foglio d'alluminio).

8.5 Attrezzatura per TLC preparativa; la seguente è suggerita a titolo indicativo:

8.5.1 micropipette monouso in vetro da 100 μ l per la deposizione del campione;

8.5.2 lastre al gel di silice 70-230 mesh con indicatore di fluorescenza, spessore 1 mm, su vetro 20 x 20 cm;

8.5.3 vasche di vetro con coperchio, per il lavaggio e lo sviluppo delle lastre;

8.5.4 lampada UV a 254 nm e occhiali per protezione UV;

8.5.5 spatola in acciaio inossidabile con bordo tagliato dritto;

8.5.6 colonnina di vetro, senza rubinetto, d.i. 1-2 cm, lunghezza minima 15 cm, con setto in vetro sinterizzato sostituibile con un batuffolo di ovatta sgrassata (mediante estrazione in Soxhlet con n-esano per una notte e poi lavata con il solvente d'eluizione prima dell'uso).

8.6 Attrezzatura per GC:

8.6.1 gascromatografo con iniettore *on column* e rivelatore a ionizzazione di fiamma;

8.6.2 colonna capillare in silice fusa, con fase stazionaria (preferibilmente 'chimicamente legata') '5% fenil, 1% vinilmetilpolisilossano' oppure '5% fenilmetilpolisilossano', lunghezza 25-30 m, d.i. 0,20-0,32 mm, spessore 0,25-0,33 μm ;

8.6.3 sistema elettronico per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati (integratore o computer con idoneo programma);

8.6.4 gas di trasporto ultrapuro costituito da: elio, ulteriormente purificato mediante setacci molecolari, oppure - preferibilmente - idrogeno fornito da un generatore;

8.6.5 siringa da 5 μl per l'introduzione del campione.

8.7 Gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa: con caratteristiche idonee al tipo di analisi richiesta (v. sez. 15).

8.8 Azoto ad elevata purezza, ulteriormente purificato attraverso gel di silice e setacci molecolari.

8.9 Illuminazione del laboratorio.

Deve essere evitata l'esposizione a luce solare diretta delle matrici prelevate, dei campioni a qualunque stadio della procedura, delle soluzioni di IPA. Usare illuminazione al tungsteno. Le lampade fluorescenti possono essere usate solo se fornite di schermo per le radiazioni UV.

8.10 Conservazione degli standard.

Gli standard puri e in soluzione, così come le miscele di standard sia concentrate che diluite, devono essere conservati in frigorifero a +4°C.

9. Preparazione delle soluzioni di standard

9.1 Miscela standard di IPA

Contiene tutti gli IPA da determinare. E' raccomandabile che contenga anche lo standard surrogato (nota 6).

9.1.1 Preparazione dai singoli materiali puri

Si pesano accuratamente ca. 5,0 mg di sostanza dentro un *vial* di vetro chiaro da 20 ml e si aggiungono alcuni millilitri di toluene (nota 7). A dissoluzione avvenuta (prestare particolare attenzione nel valutare visivamente la completa dissoluzione della sostanza), la soluzione viene trasferita quantitativamente in pallone tarato da 25 ml, con ripetuti lavaggi; è raccomandabile un controllo GC dell'ultimo lavaggio per verificare che siano assenti tracce rivelabili della sostanza e dunque che il trasferimento sia stato quantitativo. La soluzione viene portata a volume (concentrazione risultante della soluzione madre: ca. 0,2 mg/ml). Si analizzano in GC ca. 0,5 μl della soluzione madre, al fine di verificare l'effettiva purezza della sostanza disciolta. Si trasferisce poi la soluzione madre in *vial* da 40 ml di vetro scuro, per la conservazione (nota 8).

Si prelevano volumi noti di ognuna delle soluzioni madre e si trasferiscono in pallone tarato di idoneo volume. Si porta a volume con toluene e si trasferisce in *vial* di vetro scuro. Per opportuna diluizione di tale miscela con toluene, si prepara la miscela standard (o, se necessario, più di una) a concentrazione dell'ordine di grandezza di quella attesa nei campioni in esame. Si analizza in GC 1 μ l della miscela standard e si verifica l'assenza di picchi interferenti. Si trasferisce infine in *vial* di vetro scuro (nota 9).

9.1.2 Preparazione dalle soluzioni commerciali dei singoli IPA

Le soluzioni commerciali concentrate vengono analizzate in GC al fine di verificare l'effettiva purezza della sostanza disciolta. Opportune aliquote di tali soluzioni vengono unite e la miscela risultante viene diluita con toluene in modo da ottenere la miscela (o le miscele) standard, come riportato al precedente punto 9.1.1.

9.2 Soluzione dello standard surrogato

Si scioglie lo standard nel solvente usato per l'estrazione della fase corrispondente (materiale particolato, condensato od incondensabile). La soluzione madre va opportunamente diluita in modo tale che l'aliquota da aggiungere alla fase da estrarre (v. sez. 11) contenga una quantità di surrogato sull'ordine di grandezza atteso degli IPA da determinare.

10. Controllo di qualità

I seguenti controlli devono essere effettuati:

- (a) inizialmente, prima di effettuare il prelievo dei campioni reali (nota 10);
- (b) come controllo regolare, in linea di massima ogni 20 determinazioni od ogni tre mesi;
- (c) ogniqualvolta si modifichi la procedura di trattamento dei campioni;
- (d) limitatamente al controllo del bianco-reagenti (v. sez. 10.1), ogniqualvolta si cambi marca, tipo o lotto di un qualunque materiale (nota 11).

10.1 Bianco-reagenti

Si sottopone ogni substrato utilizzato per il campionamento (sistema filtrante, materiale adsorbente o assorbente; v. sez. 11) 'bianco' (cioè, non esposto) all'intero processo analitico, a partire dall'estrazione, nelle stesse condizioni e con gli stessi materiali impiegati per l'analisi dei campioni reali.

Nel gascromatogramma del bianco-reagenti, picchi interferenti con gli IPA da determinare dovrebbero essere assenti oppure presenti a livelli trascurabili (con un segnale inferiore indicativamente al 10% di quello dell'IPA 'interferito' nei campioni reali).

Nel calcolo dei risultati, occorre tener conto di un'eventuale presenza di picchi interferenti non eliminabili. In questo caso, la quantità dell'interferenza deve essere calcolata come media - in linea di massima - di tre analisi replicate del bianco-reagenti. Ciò è necessario a causa della variabilità, generalmente elevata, del segnale di tali interferenze.

10.2 Recupero

La prova viene effettuata in triplicato su campioni 'bianchi'. Un'opportuna aliquote di miscela standard (v. sez. 9.1), tale che le quantità risultanti di IPA e

dell'eventuale surrogato siano sull'ordine di grandezza di quelle attese nei campioni reali, viene aggiunta al materiale che deve essere sottoposto ad estrazione, e precisamente a: (a) il sistema filtrante; (b) una quantità d'acqua distillata (pre-estratta con cloruro di metilene) circa uguale a quella attesa per la condensa; (c) l'adsorbente ovvero il liquido assorbente.

Si versa il solvente d'estrazione nell'estrattore. Quindi, si eseguono l'estrazione e le successive fasi della determinazione nelle stesse condizioni e con gli stessi materiali impiegati per i campioni reali. Il campione finale da analizzare in GC viene concentrato allo stesso volume della miscela standard inizialmente aggiunta.

Il recupero percentuale viene determinato rapportando la risposta gascromatografica del campione (valore medio delle tre determinazioni) a quella ottenuta, nello stesso giorno, con la miscela standard usata per l'aggiunta. Ogni analisi GC (sia dei campioni che della miscela standard) deve essere effettuata in duplicato, con i criteri riportati nella sez. 14. Il recupero dovrebbe risultare $> 60\%$, con un CV relativo alle tre determinazioni $\leq 20\%$, per ogni IPA da determinare e per il surrogato. In particolari condizioni, il superamento di questi livelli può essere considerato accettabile (nota 12).

10.3 Ripetibilità

(a) Per ogni insieme omogeneo di campioni (nota 13), deve essere valutata la ripetibilità ottenibile nell'applicazione del metodo da parte di un determinato operatore con una determinata apparecchiatura. La prova viene effettuata su n (≥ 3) estratti provenienti da n campioni dell'insieme, purificando ed analizzando z (≥ 3) aliquote di ogni estratto.

(b) In alternativa, ed in particolare quando i campioni da analizzare non si ritengano omogenei oppure siano in numero limitato (uno o alcune unità), si può valutare la ripetibilità campione per campione, purificando ed analizzando z (≥ 3) aliquote dell'estratto. In questo caso, il risultato di ogni campione è la media delle z determinazioni.

In entrambi i casi *a* e *b*, il CV relativo ad ogni campione dovrebbe risultare $\leq 20\%$ per ogni IPA da determinare e per il surrogato. In particolari condizioni, il superamento di questi livelli può essere considerato accettabile (nota 12).

Una volta così determinati il recupero e la ripetibilità, tutte le misure relative all'insieme omogeneo di campioni devono essere effettuate senza modificare operatore ed apparecchiatura (nota 14).

11. Campionamento ed estrazione

Il prelievo e l'estrazione dei campioni sono descritti in un precedente documento (GdS ISS, 1988) riprodotto, per la parte di interesse, in Appendice 1.

Prima dell'estrazione viene depositata la soluzione dell'eventuale standard surrogato (in volume di almeno 500 μ l) sul materiale che deve essere sottoposto ad estrazione, direttamente dentro l'estrattore.

12. Concentrazione degli estratti

Gli estratti del materiale particolato, del materiale condensato e di quello incondensabile vengono combinati in un unico estratto, il quale viene concentrato in evaporatore rotante a ca. 2 ml, sotto vuoto (mediante pompa ad acqua o sistema equivalente) e ad una temperatura del bagno inferiore a 40°C (nota 15). Si trasferisce l'estratto concentrato, insieme ai lavaggi (prestare particolare attenzione al lavaggio quantitativo dell'intera superficie interna del pallone), in un *vial* di vetro chiaro, graduato e a fondo conico da 5 ml, e si concentra a ca. 0,1 ml sotto leggero flusso d'azoto.

13. Purificazione per TLC

Prima dell'uso, la lastra viene preparata e lavata con la seguente procedura.

Con una matita a mina dura, vengono segnate con tratto leggero sulla lastra: la linea di deposizione, a 2 cm da un bordo; l'arrivo del fronte del solvente, a 2 cm dal bordo opposto; le demarcazioni, sulla linea di deposizione, per i campioni ed il riferimento (nota 16).

A titolo orientativo, si suggerisce la seguente disposizione delle demarcazioni per il trattamento simultaneo di due campioni: bordo esterno di 2 cm - corridoio di 4 cm per il primo campione - corridoio di separazione di 2 cm - corridoio centrale di 4 cm per il riferimento - corridoio di separazione di 2 cm - corridoio di 4 cm per il secondo campione - bordo esterno di 2 cm (le demarcazioni risultano dunque a 2-6-8-12-14-18 cm da un bordo laterale).

La lastra viene quindi lavata con acetone, ponendola in una vasca per TLC e facendo correre il fronte del solvente per circa 19 cm (senza fargli raggiungere il bordo superiore della lastra) (nota 17). Si fa quindi asciugare sotto cappa aspirante e si conserva in essiccatore con gel di silice fino al momento dell'uso. La lastra va utilizzata entro una settimana dal lavaggio.

Subito prima di effettuare la cromatografia, si prepara la miscela eluente (*n*-esano-toluene 1:1 vol.), la si sversa in una vasca per TLC (contenente due fogli di carta da filtro prelavati con la stessa miscela di solventi, appoggiati contro le due pareti maggiori) imbibendo i due fogli in modo che aderiscano alle pareti, e si lascia equilibrare per almeno un'ora.

L'estratto concentrato viene depositato con capillare di vetro sulla lastra TLC, insieme ai lavaggi del *vial*, lungo una sottile striscia di 4 cm. Come riferimento, viene depositata, sotto forma di macchia e al centro del corridoio centrale, un'opportuna aliquota di miscela standard (v. sez. 9.1), tale che ogni IPA sia presente in quantità approssimativamente pari a 1 µg. Verificare in una prova preliminare che il bordo inferiore della striscia e della macchia siano sopra il livello del solvente presente nella vasca al momento dell'introduzione della lastra nella vasca stessa.

Lasciato evaporare il solvente (non impiegare aria sotto pressione!), la lastra viene posta nella vasca per TLC (la vasca e la faccia superiore del coperchio vanno accuratamente ricoperti con foglio d'alluminio) e sviluppata al buio, fino a 2 cm dal bordo superiore. Si lascia la lastra sotto cappa aspirante per 1-2 min, al buio. Osservando la lastra ancora umida sotto la lampada UV, per un tempo quanto più breve possibile, si delimita con una matita a mina dura e con tratto leggero un riquadro intorno alla macchia

fluorescente dei due campioni (*indossare guanti e occhiali per protezione dalle radiazioni UV!*). Dopo evaporazione del solvente, viene inciso con la spatola il primo riquadro; poi viene grattato, raccolto, frantumato e versato in colonnina (*effettuare queste operazioni sotto cappa aspirante!*) (nota 18).

Gli IPA vengono eluiti con 20 ml di toluene. Al termine dell'eluizione, il gel di silice viene posto sotto pressione con azoto per raccogliere la maggior quantità possibile di solvente.

L'eluato viene raccolto in pallone scuro da 50 ml e concentrato a ca. 1 ml, dapprima in evaporatore rotante e poi sotto flusso d'azoto in un *vial* di vetro chiaro, graduato e a fondo conico da 5 ml (v. sez. 12).

Se l'analisi non viene effettuata immediatamente, il campione viene conservato in frigorifero a +4°C.

14. Analisi GC

Subito prima dell'analisi, il campione viene ulteriormente concentrato sotto flusso d'azoto a poco meno di 100 µl e se ne misura accuratamente il volume mediante microsiringa da 100 µl (nota 19).

14.1 Condizioni operative

Di volta in volta, in funzione della strumentazione e dei campioni in esame, devono essere definite le condizioni ottimali. Le prestazioni della colonna e del sistema GC devono essere controllate con regolarità mediante analisi della miscela riportata in sez. 7.4 (nota 20).

Le seguenti condizioni, con la colonna riportata in sez. 8.6.2, vengono indicate a scopo orientativo per la determinazione degli IPA riportati in tabella 1:

Temperatura del rivelatore: 310°C.

Temperatura del forno: 1 min a 90°C, 90-190°C a 25°C/min, 190-300°C a 6°C/min, isoterma finale a 300°C per il tempo necessario all'uscita degli ultimi picchi (nota 21).

Volume da iniettare: 1,0 µl.

Dopo l'analisi, il campione - diluito a ca. 1 ml con toluene - viene conservato in frigorifero a +4°C.

14.2 Identificazione

L'individuazione dei picchi di interesse viene provvisoriamente effettuata mediante confronto dei tempi di ritenzione con quelli della miscela standard (v. sez. 9.1). Poi, viene confermata con il "metodo delle aggiunte", cioè analizzando il campione arricchito con la miscela standard (nota 22). Per un insieme omogeneo di campioni (nota 13), l'arricchimento può essere effettuato *una tantum*.

Per una conferma definitiva, si effettua l'analisi GC/MS (v. sez. 15.1).

Particolare attenzione va posta nella conferma di eventuali picchi il cui t_R è compatibile con quello dei dibenzopireni (nota 23).

14.3 Dosaggio

L'analisi quantitativa viene effettuata con il metodo degli standard esterni, impiegando la miscela standard (v. sez. 9.1). Il metodo dello standard interno non è

generalmente raccomandabile (nota 24).

Il risultato di ogni determinazione (sia del campione che della miscela standard) è dato dalla media di 2 (o più) analisi replicate. La ripetibilità di due analisi dovrebbe essere tale che la seconda misura sia contenuta entro $\pm 10\%$ del valore della prima, per ogni IPA (valgono anche in questo caso le indicazioni della nota 12).

Le analisi del campione e della miscela standard devono essere effettuate nello stesso giorno e nelle stesse condizioni operative. Prima di accettare come valida l'analisi, si verifica che il recupero percentuale del surrogato sia simile a quello ottenuto nelle prove preliminari su campioni 'bianchi' (v. sez. 10.2).

La diluizione del campione da analizzare deve essere aggiustata in modo che, per ogni IPA da determinare, la risposta (area o altezza del picco) non sia superiore o inferiore di oltre 10 volte rispetto a quella ottenuta con la miscela standard.

Al fine di poter valutare l'affidabilità della misura fornita dal sistema di acquisizione ed elaborazione dei dati, questo deve essere impostato in modo da mostrare sia la linea di base costruita sia (in caso di misura dell'area) l'inizio e la fine di ogni picco integrato. Occorre quindi controllare che la linea di base costruita segua effettivamente la base dei picchi di interesse. Non potendo attuare questo controllo, è preferibile dosare la sostanza misurando manualmente le altezze dei picchi.

Inoltre, affinché siano evidenti eventuali picchi parzialmente sovrapposti, è opportuno che il parametro 'attenuazione' sia scelto in modo tale che i picchi di interesse siano tutti 'in scala'.

In caso di picchi parzialmente sovrapposti a picchi interferenti, è preferibile utilizzare le misure relative alle altezze piuttosto che alle aree, tranne che per i tre benzofluoranteni. Questi rappresentano infatti un caso particolare: non sono risolti tra loro e, dovendo essere tutti e tre determinati, il risultato viene riportato come somma delle tre sostanze. Dunque, è più accurata una loro misura mediante l'area del picco risultante (la somma delle aree, nel caso siano integrati come due o tre picchi).

14.4 Interferenze

Una volta adottato un programma termico per un insieme di campioni, se in un determinato campione si osservano picchi di IPA parzialmente sovrapposti a picchi interferenti, si può, in funzione dell'obiettivo dell'analisi:

- (a) tentare di separare le interferenze modificando l'incremento di temperatura nella seconda rampa (v. sez. 14.1. Può essere sufficiente anche una variazione di $1^\circ\text{C}/\text{min}$; occorre ovviamente analizzare nelle condizioni modificate anche la miscela standard di riferimento);
- (b) ricorrere all'analisi GC/MS (v. sez. 15.2.a);
- (c) stimare la concentrazione e riportare il risultato come "approssimato" o, se del caso, come "<..." o ">...".

La presenza di un'interferenza viene generalmente evidenziata dalla forma del picco gascromatografico, a meno che non sia esattamente coeluyente con l'IPA.

15. Analisi GC/MS

15.1 Conferma dell'identificazione

L'identificazione effettuata in GC con il "metodo delle aggiunte" (v. sez. 14.2) deve essere confermata mediante GC/MS. Tale analisi può essere effettuata *una tantum* per ogni insieme omogeneo di campioni (nota 13). Essa va comunque ripetuta:

(a) quando si è a conoscenza di (o si suppongono) variazioni delle emissioni (modifiche del materiale combusto o delle condizioni di combustione, ecc.);

(b) ogniqualvolta si abbia motivo di ritenere che il profilo gascromatografico possa essere cambiato.

La conferma deve essere comunque effettuata per quei campioni che - sulla base dell'analisi GC - risultino non conformi ai valori limite di emissione o ad eventuali altri standard di riferimento (comunque siano fissati: per singoli IPA, per la classe degli IPA, ovvero per una classe più generale che li includa).

Si può evitare invece di effettuare l'analisi GC/MS se le concentrazioni risultanti dall'analisi GC sono inferiori ai valori limite. In questo caso, i risultati devono essere tuttavia considerati come "possibilmente sovrastimati", non potendosi escludere il contributo di interferenze.

L'identificazione viene effettuata mediante esame dello spettro di massa e confronto con lo spettro dello standard puro (nota 25). Tale spettro dovrebbe preferibilmente essere quello ottenuto con il proprio strumento e nelle stesse condizioni d'analisi del campione, piuttosto che lo spettro fornito dalle librerie disponibili in commercio.

15.2 Altri impieghi relativi al dosaggio

Vengono qui accennati, a titolo indicativo:

(a) Per campioni contenenti interferenze che non consentono un dosaggio accurato mediante GC, si può ricorrere all'analisi GC/MS con tecnica *Single Ion Monitoring* (SIM).

(b) L'analisi quantitativa può essere effettuata in GC/MS, mediante l'uso di IPA isotopicamente marcati aggiunti al campione, quali standard interni:

(i) Prima dell'estrazione. Gli standard interni devono essere scelti in modo che i t_R gascromatografici siano compresi nell'intervallo dei t_R degli IPA da determinare. Con tale procedura, i risultati quantitativi già includono, per ogni singolo campione, la correzione per il recupero.

(ii) Prima dell'analisi. Viene aggiunto al campione un piccolo volume (ad es., 10 μ l) di una miscela di IPA isotopicamente marcati, ad idonea concentrazione (cfr. nota 24).

In entrambi i casi *a* e *b*, occorre comunque verificare che il recupero e la ripetibilità della determinazione soddisfino i livelli di qualità riportati nelle sez. 10.2 e 10.3.

16. Calcolo dei risultati

Per calcolare la concentrazione *C* in atmosfera del singolo IPA in un campione, si applica la seguente formula:

$$C = \frac{R_{\text{camp}} \times \text{Conc}_{\text{st}} \times \text{Vol}_{\text{camp}}}{R_{\text{st}} \times \text{Vol}_{\text{ar}} \times 1000} \mu\text{g}/\text{Nm}^3$$

dove:

R_{camp} : risposta (area o altezza) misurata per il campione (volume iniettato = 1,0 μl)

R_{st} : risposta misurata per la miscela standard (volume iniettato = 1,0 μl)

Conc_{st} : concentrazione dell'IPA nella miscela standard ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Vol_{camp} : volume del campione prima dell'analisi (μl)

Vol_{ar} : volume d'aria aspirata durante il campionamento (Nm^3), riferito alle condizioni normali (0°C , 1013 hPa)

Il valore C della concentrazione così calcolata va poi corretto, salvo il caso riportato in sez. 15.2.b.i, in base al recupero percentuale stimato mediante la prova riportata in sez. 10.2, secondo la seguente formula:

$$C_{\text{corr}} = \frac{C \times 100}{\text{Rec}}$$

dove:

C_{corr} : concentrazione corretta per il recupero

Rec: recupero percentuale

Se la ripetibilità della determinazione viene valutata campione per campione (v. sez. 10.3.b), il valore della concentrazione è dato dalla media aritmetica delle z analisi dell'estratto.

17. Resoconto della determinazione

Devono essere riportate le seguenti indicazioni:

- 1) Esatta indicazione del punto di campionamento (ad es.: stabilimento, impianto, linea produttiva, punto di emissione, quota di prelievo, presa di campionamento).
- 2) Data e ora del prelievo.
- 3) Annotazioni circa la conduzione dell'impianto (combustibile/i, carico di processo, ecc.).
- 4) Riferimento al presente metodo; eventuali modifiche a cui si è dovuto far ricorso.
- 5) Risultati.
- 6) Limite di rivelabilità per gli IPA 'non rivelati' (nota 26).
- 7) Eventuali particolarità rilevate durante l'applicazione del metodo.

Riferimenti bibliografici

Gazzetta Ufficiale (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 Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento" (1988). Campionamento e dosaggio di microinquinanti in flussi gassosi convogliati. Istituto Superiore di Sanità, Roma (*Rapporti Istisan*; 88/19).

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

Menichini E. (1994) Polycyclic aromatic hydrocarbons: identity, physical and chemical properties, analytical methods. Istituto Superiore di Sanità, Roma (*Rapporti Istisan*; 94/5).

Menichini E., Cecinato A., Chiavarini S., Corradetti E., Cremisini C., Croce G., Fuselli S., La Rocca C., Martines C., Monfredini F., Pala M., Viviano G. (1995) La determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici nelle emissioni atmosferiche da inceneritori: risultati di uno studio collaborativo nazionale. Istituto Superiore di Sanità, Roma (*Rapporti Istisan*; 95/19).

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.

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

Note

(1)

Il recupero dei quattro dibenzopireni (in particolare, dell'isomero *a,h*) può risultare notevolmente inferiore a quello degli altri IPA (Menichini et al., 1995). Specifica attenzione va posta nella verifica del recupero di tali sostanze e dunque dell'applicabilità del metodo ad esse.

(2)

Le "sostanze ritenute cancerogene" sono elencate, nel citato decreto, in allegato 1, Tabella A1, classe I. In tale elenco, è riportato il 'dibenzo[a]pirene': con questa nomenclatura - impropria - non è possibile identificare un singolo composto; esso va inteso quindi 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 (1987) come "possibili cancerogeni per l'uomo".

(3)

Si ricava tale concentrazione adottando i seguenti valori, tipicamente riscontrabili in questa determinazione: volume di prelievo intorno a 3-5 Nm³, volume del campione concentrato prima dell'analisi pari a ca. 100 µl, limite di rivelabilità analitico dell'ordine di 0,5 ng/µl, efficienza di recupero intorno al 75%. A titolo indicativo, in uno studio (Menichini et al., 1995) su campioni di 10 g di ceneri provenienti da un impianto di incenerimento di rifiuti solidi urbani, abbattute mediante elettrofiltro, il limite di rivelabilità del metodo è risultato intorno a 5 ng/g.

Il metodo consente dunque la verifica del rispetto del valore limite di emissione in vigore (*Gazzetta Ufficiale*, 1990), così come quello della normativa attualmente *in itinere* relativa all'incenerimento di rifiuti urbani e pericolosi, pur considerando che tali limiti si riferiscono cumulativamente ad un insieme di IPA e di altre sostanze.

(4)

E' particolarmente importante che tutta la vetreria, ed in particolare quella contenente soluzioni concentrate, venga lavata - subito dopo l'uso - con l'ultimo solvente impiegato e poi sciacquata abbondantemente con acetone ad elevata purezza. Subito prima dell'uso, la vetreria viene ulteriormente lavata con lo stesso solvente che dovrà esservi impiegato.

(5)

Non è necessario includere anche il benzo[j]fluorantene, in quanto coeluyente con gli altri due isomeri *b* e *k* (il risultato viene infatti espresso come somma dei tre isomeri). Nella preparazione di questa miscela, viene escluso l'isomero *j* per analogia con le miscele in commercio (v. sez. 9.1.2) che contengono di norma solo gli altri due.

(6)

E' una sostanza (IPA o altro composto poliaromatico) che si raccomanda di aggiungere ad ogni campione prima dell'estrazione, con funzione di "tracciante": conoscendone il recupero nelle condizioni

del metodo (determinato in prove replicate sul bianco-reagenti), esso consente di tenere sotto controllo l'applicazione sostanzialmente corretta del metodo al singolo campione in esame; consente, cioè, di verificare l'assenza di errori grossolani nel trattamento del campione. Lo standard surrogato deve avere le seguenti caratteristiche:

- (a) recupero simile a quello degli IPA da determinare;
- (b) presenza in quantità non rivelabili o trascurabili nella matrice in esame e nel bianco-reagenti;
- (c) t_R gascromatografico compreso nell'intervallo dei t_R degli IPA da determinare;
- (d) t_R gascromatografico tale che il picco esca in una zona quanto più possibile pulita del gascromatogramma (il requisito della linea di base pulita è tuttavia meno stringente che per l'eventuale standard interno (v. nota 24), in quanto lo standard surrogato non viene usato - come lo standard interno - per l'analisi quantitativa).

A causa di tali limitazioni (in particolare, quelle esposte ai punti *b* e *d*), non c'è uno standard raccomandabile come valido per ogni tipo di campione e dunque va scelto caso per caso. Si segnalano le seguenti sostanze come possibili surrogati: benzo[a]crisene (o picene), benzo[b]crisene, indeno[1,2,3-cd]fluorantene.

(7)

A fini di sicurezza, per ridurre la manipolazione degli IPA standard e dunque il rischio di contaminazione, si raccomanda di cercare di prelevare la quantità necessaria con un'unica operazione (si consideri che generalmente 5 mg di IPA corrispondono approssimativamente ad una punta di spatola). Se la quantità di 5 mg dovesse essere largamente superata, potrebbero esserci problemi nel solubilizzare completamente la polvere, particolarmente con i composti a maggior peso molecolare: in questo caso, dopo decantazione, la soluzione surnatante limpida viene travasata nel pallone tarato (se necessario, di capacità superiore a 25 ml) e si aggiunge toluene fresco nel *vial*.

(8)

Marcare il livello della soluzione in occasione della preparazione e poi ad ogni prelievo, per poter verificare che non ci sia stata evaporazione significativa di solvente. Si suggerisce di preparare nuovamente le soluzioni madre dopo circa un anno.

(9)

Marcare il livello della soluzione in occasione della preparazione e poi ad ogni prelievo, per poter verificare che non ci sia stata evaporazione significativa di solvente. Controllare con regolarità che non ci sia stata degradazione a carico di uno o più IPA, verificando la costanza del profilo gascromatografico della miscela. Poiché i t_R dei singoli IPA possono variare (al variare delle condizioni operative, della lunghezza della colonna, ecc.), si raccomanda di effettuare tale verifica mediante le aree (piuttosto che le altezze) dei picchi. Preparare nuovamente la miscela standard appena si constata o si sospetta una modifica nel titolo.

(10)

Per "campioni reali" si intendono i campioni prelevati sul campo nel corso dell'indagine.

(11)

Si raccomanda di programmare l'approvvigionamento di ogni materiale di consumo (filtri, solventi, reagenti, lastre TLC, ecc.) in modo da effettuare un insieme quanto più numeroso possibile di determinazioni senza modificare marca, tipo e lotto di alcun materiale.

(12)

L'accettabilità dei risultati ottenuti nei controlli del recupero e della ripetibilità è legata alla valutazione di fattori quali l'obiettivo dell'indagine ed il rapporto tra i livelli misurati ed i valori limite di emissione (o eventuali altri standard di riferimento). In particolare, a giudizio del responsabile dell'analisi, una ripetibilità relativamente scarsa può essere accettata se la conseguente imprecisione non inficia la conformità o meno del risultato al valore limite. Risultati scarsi, sia nel recupero che nella ripetibilità, sono possibili a concentrazioni intorno o poco superiori al limite di rivelabilità. Qualora non siano raggiunti i livelli di qualità indicati nel testo, i risultati delle analisi devono essere considerati come "concentrazione approssimata".

(13)

Per "insieme omogeneo di campioni" si intende un insieme di campioni prelevati allo stesso impianto e ritenuti sostanzialmente omogenei per condizioni di combustione e per tipologia di materiale combusto. Si considera che il profilo gascromatografico dei campioni (cioè, i rapporti quantitativi tra i vari IPA), in assenza di significative variazioni nelle condizioni di combustione oppure nel materiale combusto, sia sostanzialmente costante.

(14)

L'esigenza che non cambi l'operatore deriva, in particolare, dall'elevata manualità insita nella procedura di purificazione per TLC.

(15)

La pompa ad acqua deve essere in condizioni ottimali di efficienza affinché sia possibile la distillazione del toluene.

Gli estratti relativi alle tre matrici possono anche essere concentrati ed analizzati separatamente. In questo caso, se il solvente di estrazione del materiale condensato o incondensabile è stato cloruro di metilene, conviene che la concentrazione finale in azoto sia effettuata subito prima della deposizione su TLC, per evitare il rischio che l'estratto vada a secco.

(16)

Non risulta la presenza di IPA nel bianco-reagenti conseguenti all'uso della matita. Si tenga comunque presente questa potenziale fonte di interferenze nel valutare i risultati del bianco-reagenti.

(17)

Se necessario (a seguito dei risultati ottenuti con il bianco-reagenti), la lastra viene ulteriormente lavata con la miscela di solventi impiegata come eluente.

(18)

Durante la delimitazione e l'asportazione della macchia, prestare la massima attenzione ad evitare contaminazione incrociata, attraverso la punta della matita e la spatola, sia tra i campioni che tra questi ed il riferimento. La matita per questa operazione deve essere differente da quella usata per le demarcazioni iniziali sulle lastre pulite. Lavare con acetone la spatola dopo aver asportato ogni singolo campione.

Il gel di silice può essere raccolto, ad esempio, sopra un foglio di carta formato protocollo aperto e poi frantumato per compressione dopo aver chiuso il foglio su se stesso.

(19)

Il volume finale di 100 μ l è indicativo: campioni che sono attesi molto carichi possono essere concentrati ad un volume finale maggiore.

Se deve essere aggiustato il volume mediante aggiunta di solvente, si raccomanda di impiegare una microsiringa di capacità immediatamente superiore a quella del volume da aggiungere.

(20)

Tale miscela consente una buona valutazione delle prestazioni in quanto contiene alcune coppie di IPA la cui risoluzione dipende dalle condizioni operative. I gascromatogrammi della miscela dei 16 IPA "dell'EPA" sono comunemente riportati nella documentazione delle ditte che producono tale miscela.

(21)

Il programma termico deve essere comunque tale da consentire: (a) la migliore separazione degli IPA da eventuali interferenze; (b) tempi di analisi relativamente brevi per evitare eccessivi allargamenti dei picchi degli IPA a maggior peso molecolare.

Se la colonna non consente di raggiungere la temperatura di 300°C, è possibile impiegare una temperatura massima inferiore (280-290°C).

(22)

Iniettare il campione tal quale e poi il campione arricchito, ed individuare i picchi che presentano un incremento a seguito dell'arricchimento. A titolo indicativo, il campione arricchito può essere velocemente ottenuto prelevando con la siringa, in sequenza, ca. 0,2 μ l della miscela standard, aria ed infine (dopo aver bagnato la punta dell'ago in toluene di lavaggio) 1,0 μ l di campione. La concentrazione di tale miscela standard deve essere tale che l'aggiunta provochi un incremento dei

picchi chiaramente individuabile ma non eccessivo (al punto da mascherare un eventuale sdoppiamento del picco arricchito). Iniezioni *on column* di volumi superiori sono sconsigliate in quanto possono dar luogo a peggioramento della risoluzione.

(23)

A causa dei lunghi t_r e delle piccole quantità presenti, i dibenzopireni si presentano come picchi relativamente piccoli, a base larga (e, per questo, spesso parzialmente sovrapposti a picchi interferenti) e con un t_r non ben definito (in quanto non risulta graficamente ben definito l'apice del picco). La conferma mediante GC/MS è utile ma non conclusiva, a causa dei numerosi composti con peso molecolare 302, presenti nella zona di eluizione dei quattro dibenzopireni riportati in Tabella 1 (cfr. nota 25). Si raccomanda un'accurata applicazione del "metodo delle aggiunte", con la modifica del programma termico come riportato in sez. 14.4.a.

(24)

In pratica, risulta difficoltoso (se non impossibile per determinate matrici) trovare una sostanza, idonea come standard interno, che eluisca in una zona sufficientemente pulita del gascromatogramma. Il metodo dello standard interno può essere impiegato se è possibile dimostrare che, nei campioni da analizzare, la misura di tale standard non è inficiata da picchi interferenti. In questo caso, lo standard interno (o più d'uno) viene aggiunto al campione purificato e pronto per l'analisi GC, come soluzione a piccolo volume (ad es., 10 μ l) ed in concentrazione tale che la misura del picco GC risultante sia dell'ordine di grandezza di quella attesa per gli IPA da dosare.

Il metodo dello standard interno può trovare idonea applicazione, mediante impiego di IPA isotopicamente marcati, qualora l'analisi venga condotta in GC/MS (v. sez. 15.2.b).

(25)

Si tenga presente, tuttavia, che il rivelatore a spettrometria di massa non consente la differenziazione di alcuni IPA isomeri, che va dunque effettuata mediante l'uso dei t_r gascromatografici. Tale rivelatore consente quindi di confermare la presenza di un IPA con un determinato peso molecolare, il cui spettro può corrispondere - in linea generale - a più isomeri e, solo in particolari casi, ad uno specifico isomero.

(26)

Il limite di rivelabilità deve essere stimato sul campione reale e non sulla miscela standard. Allo scopo, opportune quantità crescenti di una miscela standard di IPA vengono aggiunte ad un campione rappresentativo dell'insieme omogeneo di campioni (nota 13), fino ad ottenimento di un picco rivelabile.

Appendice 1 - Metodo per il campionamento di microinquinanti in flussi gassosi convogliati*

1. Oggetto e campo di applicazione

Descrizione di un metodo per il prelievo dei seguenti microinquinanti particellari ed allo stato di vapore:

- Policlorodibenzodiossine (PCDD);
- Policlorodibenzofurani (PCDF);
- Metalli pesanti;
- Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA);
- Policlorobifenili (PCB);
- Policloronaftaline (PCN).

2. Principio del metodo

Prelievo dell'aeriforme in condizioni isocinetiche secondo quanto descritto nei metodi UNICHIM n. 402, 422, 467, 494.

Poichè i microinquinanti possono essere presenti oltre che allo stato particellare anche allo stato vapore, si rende necessario inserire nella linea di prelievo un condensatore ad alta efficienza. In tal modo è possibile il campionamento della fase allo stato di vapore per le varie classi di composti contenuti nell'emissione.

A valle del condensatore viene inserita una trappola assorbente o adsorbente per trattenere eventuali vapori non condensati, al fine di verificare l'efficacia del campionamento.

Qualora le sostanze sottoposte al campionamento dovessero essere rivelate anche nella suddetta trappola in quantità maggiore del 5% rispetto al totale rivelato, il campionamento dovrà essere ripetuto.

I campioni da sottoporre all'analisi saranno quindi:

- materiale particellare contenuto nel sistema filtrante;
- condensa;
- soluzione di assorbimento o materiale adsorbente.

3. Apparecchiatura

Apparecchiatura per il prelievo delle emissioni già descritta nei metodi UNICHIM 402, 467, 494, con l'aggiunta di un sistema di raffreddamento ad alta efficienza, un condensatore in vetro, una trappola per gli incondensati.

3.1 Sonda di prelievo

Sonda di prelievo in acciaio inox o preferibilmente in vetro Pirex o quarzo, munita di ugelli intercambiabili di varie sezioni e di un cestello contenente il mezzo filtrante.

La scelta del tipo di sonda viene effettuata in funzione della temperatura, della composizione dell'effluente e della classe di composti da rilevare.

Il materiale filtrante è costituito di lana di quarzo e da filtro in fibra di vetro.

3.2 Sistema refrigerante

Sistema refrigerante costituito da criostato e condensatore a serpentina in vetro con raccoglitore di condensa, mantenuto ad una temperatura compresa tra 0 e 5°C, mediante bagno termostatico.

3.3 Sistema adsorbente o assorbente

E' costituito da una trappola contenente materiale adsorbente (Carbopack-B 20-40 mesh, resine sintetiche tipo Tenax, Amberlite, ecc.) a basso sviluppo superficiale o da gorgogliatore contenente glicol etilenico mantenuto alla temperatura di 0-5°C.

* Riprodotto da: Gruppo di Studio Istituto Superiore di Sanità "Emissioni atmosferiche da impianti di incenerimento". Campionamento e dosaggio di microinquinanti in flussi gassosi convogliati. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 1988 (*Rapporti Istisan*, 88/19).

3.4 Procedimento

Per il campionamento dell'emissione seguire le procedure descritte nel metodo UNICHIM 494. Campionare una quantità di aeriforme tale da garantire il raggiungimento del limite di rivelabilità per la classe o lo specifico microinquinante che si vuole valutare.

Al termine delle operazioni di prelievo lavare accuratamente la sonda ed il condensatore con lo stesso solvente che verrà utilizzato per l'estrazione. Tale soluzione viene aggiunta successivamente al solvente utilizzato per la estrazione dei microinquinanti organici dalla condensa.

Alla fine del campionamento portare all'estrazione il materiale particellare, la condensa e l'adsorbente o la soluzione contenuti nella trappola.

Conservare i campioni e gli standards in frigorifero ed al riparo dalla luce al fine di evitare eventuali degradazioni.

4. Estrazione

4.1 Reagenti

Per l'estrazione utilizzare reagenti ad elevato grado di purezza, tale che una prova in bianco, nelle stesse condizioni analitiche, non dia interferenze.

4.1.1 Toluene.

4.1.2 Metanolo.

4.1.3 Metilene Cloruro.

4.2 Particolato

In un estrattore tipo Soxhlet si introduce il sistema filtrante (lana di vetro + filtro in fibra di vetro) sul quale è stato campionato il materiale particellare.

L'estrazione viene effettuata a caldo utilizzando uno dei seguenti solventi:

- toluene, nel caso di matrici a prevalente composizione carboniosa;
- toluene + metanolo 4:1, nel caso di matrici a prevalente composizione inorganica.

In entrambi i casi devono essere effettuati non meno di 300 cicli nell'estrattore.

4.3 Condensato

Il condensato raccolto viene estratto con solvente nell'estrattore liquido-liquido o in imbuto separatore.

Il rapporto solvente/condensa non deve essere inferiore a 1:10.

Nel caso venga utilizzato l'imbuto separatore, l'estrazione viene effettuata con cloruro di metilene per almeno tre volte, agitando ogni volta energicamente per 2 minuti. Il solvente proveniente dall'estrazione viene percolato su colonna contenente Na_2SO_4 anidro per eliminare l'umidità residua.

Si lava il solfato di sodio con una piccola porzione di solvente fresco che viene aggiunto all'eluato secco precedente.

L'estratto viene portato a secco sotto flusso di azoto a temperatura ambiente e ripreso con toluene a piccolo volume.

4.4 Incondensabili

Il materiale adsorbente viene estratto in estrattore tipo Soxhlet con toluene secondo il procedimento già descritto per il particolato.

Il glicol etilenico, diluito con H_2O 1:2, viene estratto con cloruro di metilene secondo il procedimento descritto per il "Condensato".

Gli estratti del particolato e della condensa possono essere trattati separatamente o riuniti in una unica soluzione.

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

Direttore responsabile: Vilma Alberani

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

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

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

Roma, dicembre 1997 (n. 4) 9° Suppl.

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