



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Linee guida per il rilevamento
di PCB e PCT in fluidi dielettrici**

A cura di
E. De Felip e R. Miniero

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

99/29

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Linee guida per il rilevamento
di PCB e PCT in fluidi dielettrici**

A cura di
Elena De Felip e Roberto Miniero
Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

99/29

Istituto Superiore di Sanità

Linee guida per il rilevamento di PCB e PCT in fluidi dielettrici.

A cura di Elena De Felip e Roberto Miniero

1999, ii, 69 p. Rapporti ISTISAN 99/29

Viene descritta una procedura basata sull'impiego della HRGC(ECD) per la determinazione di residui di miscele commerciali di PCB e PCT in fluidi dielettrici. La procedura, che ricorre all'impiego di uno standard interno (D₁₀CB), risulta applicabile a un intervallo di concentrazioni da qualche mg/kg a 50-100 mg/kg, con buone caratteristiche di affidabilità.

Parole chiave: Analisi HRGC(ECD), Fluidi dielettrici

Istituto Superiore di Sanità

Guidelines for quantification of PCBs and PCTs in dielectric fluids.

Edited by Elena De Felip and Roberto Miniero

1999, ii, 69 p. Rapporti ISTISAN 99/29 (in Italian)

The HRGC(ECD) technique has been employed to develop a procedure to determine residues of commercial PCB and PCT mixtures in dielectric fluids. The procedure utilizes D₁₀CB as an internal standard and is applicable to a concentration range from a few mg/kg up to 50-100 mg/kg. High accuracy and good precision characterize analytical outcomes.

Key words: Dielectric fluids, HRGC(ECD) analysis

Unità operativa:

Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Massimo Cardelli

Elena De felip

Alessandro di Domenico

Fabiola Ferri

Carlo Lupi

Fabrizio Rodriguez

Polo Tecnico, ENEL, Brindisi

Monica Mazzanti

Giuseppe Quattroni

Josè Scarano

Le presenti linee guida sono state sviluppate nell'ambito della convenzione tra ENEL e l'ISS "Studio per la definizione e la validazione sperimentale di procedure per il rilevamento di PCB in fluidi dielettrici", sotto la responsabilità scientifica dei Dr. A. di Domenico e G. Quattroni.

INDICE

INTRODUZIONE.....	1
Premessa.....	1
Terminologia e unità di misura.....	2
Sicurezza.....	2
1. DESTINAZIONE D'IMPIEGO.....	2
2. CRITERI APPLICATIVI.....	3
2.1. Principio del metodo.....	3
2.2. Campo d'applicazione.....	3
2.3. Interferenze.....	4
2.4. Apparecchiature, strumenti, e prodotti chimici.....	5
2.4.1. Vetreteria.....	5
2.4.2. Condizionamento della vetreria.....	5
2.4.3. Strumentazione.....	6
2.4.4. Reagenti e materiali di riferimento.....	6
2.5. Gas compressi.....	7
2.6. Campioni di prova.....	7
2.7. Condizioni ambientali di prova.....	7
2.8. Risultati.....	7
3. MODALITÀ D'ESECUZIONE DELLA PROCEDURA.....	8
3.1. Preparazione dello <i>standard</i> interno.....	8
3.2. "Bianchi" procedurali.....	9
3.3. Preparazione del diluente.....	9
3.4. Preparazione delle soluzioni di calibrazione.....	9
3.5. Trattamento preparativo dei reperti di fluido dielettrico.....	11
3.6. Analisi gas cromatografica.....	11
3.7. Calibrazione strumentale e calcolo delle concentrazioni.....	13
3.8. Espressione dei risultati.....	16
4. CARATTERIZZAZIONE APPLICATIVA DELLA PROCEDURA.....	16
4.1. Controllo interlaboratorio.....	16
4.2. Caratteristiche delle distribuzioni dei CV.....	17
4.3. Analisi delle differenze interlaboratorio.....	19
4.4. Analisi della linearità di risposta del sistema strumentale.....	20
4.5. Estensione dell'applicabilità della procedura al rilevamento dei PCT.....	22
APPENDICE A — <i>Acronimi, abbreviazioni, e unità di misura</i>	25
APPENDICE B — <i>PCB: Aroclor 1242, 1260, e D₁₀CB — Esempi di gas cromatogrammi (HRGC(ECD)) e condizioni operative</i>	
Tabella B.1.....	33
Figura B.1.....	35
Figura B.2.....	36
Figura B.3.....	37

APPENDICE C — *PCT: Aroclor 5432, 5442, e 5460 — Esempi di gas cromatogrammi (HRGC(ECD))*

Figura C.1	41
Figura C.2	42
Figura C.3	43

APPENDICE D — *PCB: Aroclor 1242, 1254, e 1260 — Esempi di linearità di risposta strumentale*

Tabella D.1	47
Figura D.1	48

APPENDICE E — *PCB: Aroclor 1242, 1254, e 1260 — Esempi di linearità di risposta strumentale e condizioni operative per HRGC(ECD)*

Tabella E.1	52
Tabella E.2	53
Figura E.1	54

APPENDICE F — *Analisi dei PCB: Controllo interlaboratorio (ISS-ENEL) — Risultati e valutazione*

Tabella F.1	58
Figura F.1	59
Figura F.2	60
Figura F.3	61
Figura F.4	62
Figura F.5	63
Figura F.6	64

APPENDICE G — *PCT: Aroclor 5432, 5442, e 5460 — Esempi di linearità di risposta strumentale*

Tabella G.1	68
Figura G.1	69
Figura G.2	70

INTRODUZIONE

Premessa

Questo documento fornisce un'esempio di procedura operativa definita per la determinazione di formulazioni commerciali di policlorobifenili (PCB) e policloroterfenili (PCT) — nel seguito eventualmente denominati “analiti” — in fluidi dielettrici a base di olii minerali. I rilevamenti vengono eseguiti mediante gas cromatografia ad alta risoluzione e rivelatore a cattura d'elettroni (HRGC(ECD)), previo un semplice passaggio di purificazione del campione.

Il grado di dettaglio che caratterizza la descrizione della procedura è tale da consentirne l'impiego in laboratori adeguatamente predisposti senza ulteriori informazioni. Giova comunque sottolineare che trattasi di attività specialistica e delicata, per l'esecuzione della quale si è assunto sia disponibile personale qualificato ed esperto del settore.

La procedura descritta, originariamente sviluppata e saggiata nei laboratori dell'ENEL, è stata sottoposta a verifica sperimentale e a ulteriore caratterizzazione operativa presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS): essa riflette pertanto le esperienze acquisite da entrambi gli organismi. Per maggiore chiarezza, sono stati forniti diversi esempi applicativi, la cui origine è di volta in volta identificata. Si desidera anticipare come la diversità di maggiore rilievo nell'applicazione della procedura da parte dei due laboratori coinvolti sia il metodo d'iniezione, manuale nel caso dell'ISS, automatico per l'ENEL.

La linea-guida qui riportata lascia margine a eventuali adattamenti, modifiche, o sostituzioni, variazioni che potranno essere introdotte dal personale specializzato disponibile. La validità di procedure alternative dovrà comunque essere valutata a fronte delle prestazioni descritte e valutate nel seguito.

Terminologia e unità di misura

Un elenco di acronimi, abbreviazioni, e unità di misura ricorrenti è riportato nell'APPENDICE A. Si nota peraltro come, nella linea-guida, le tolleranze nominali siano numericamente riportate con una cifra (es., 10.0 (± 0.2) mg/mL), mentre deviazioni *standard* (σ), coefficienti di variazione (CV o CV%), e limiti fiduciali (LCL(95%) e UCL(95%)) sono in genere espressi con due cifre.

Sicurezza

PCB e PCT sono composti ritenuti tossici. Per tali motivi, il loro impiego come sostanze di riferimento e la loro ricerca in matrici con livelli di contaminazione non noti richiedono infrastrutture di laboratorio adeguate alla protezione occupazionale e adeguati codici comportamentali.

Tutte le operazioni di diluizione dei campioni e degli *standard* vanno effettuate sotto cappa indossando indumenti protettivi e guanti, possibilmente monouso. Per quanto riguarda l'utilizzo di acido solforico, se ne raccomanda la manipolazione di piccole quantità. I residui delle lavorazioni vengono raccolti in appositi contenitori e destinati allo smaltimento classificati secondo normativa.

1. DESTINAZIONE D'IMPIEGO

La procedura è stata sviluppata per l'identificazione e la quantificazione delle miscele di PCB rappresentative di quelle abitualmente presenti negli Askarel o in matrici simili: essa non può considerarsi *a priori* applicabile a PCB provenienti da altre fonti o contenuti in fluidi di tipo non dielettrico. Si nota peraltro come il termine Askarel individui genericamente una vasta categoria di liquidi isolanti dielettrici sintetici ininfiammabili a base di idrocarburi aromatici alogenati.

Poiché non sono stati rinvenuti fluidi dielettrici reali contenenti PCT, l'attuale versione della linea-guida non fornisce esempi applicativi in tal senso. Tuttavia, sia per le forti analogie chimico-fisiche con gli analoghi inferiori (PCB), sia in base a studi

mirati eseguiti *ad hoc* — linearità di risposta, limite di quantificazione, affidabilità del referto, etc. — la procedura riportata è ritenuta potenzialmente utilizzabile anche per il dosaggio di tali composti previa adeguata verifica sperimentale e l'introduzione di eventuali adattamenti.

2. CRITERI APPLICATIVI

2.1. Principio del metodo

Il reperto di fluido dielettrico viene diluito quantitativamente con un solvente adatto, e purificato per l'eliminazione di eventuali interferenze. Un'aliquota della soluzione purificata (campione) viene prelevata e iniettata in una colonna capillare per l'analisi gas cromatografica. Gli analiti d'interesse vengono eluiti per singoli congeneri o gruppi di questi. All'uscita della colonna, gli analiti vengono rilevati mediante ECD e i loro segnali registrati sotto forma di cromatogramma. Si misura l'area totale sottesa al profilo gas cromatografico o mediante un'unica operazione d'integrazione o sommando le aree parziali corrispondenti ai singoli congeneri o a gruppi di questi; eventuali contributi dovuti a interferenze vengono riconosciuti e sottratti alla computazione. Se è riconoscibile un profilo riconducibile ad una formulazione di Aroclor — Serie 1200 (APPENDICE B), o Serie 5400 (APPENDICE C), o loro miscele — si procede alla determinazione quantitativa.

2.2. Campo d'applicazione

La procedura consente il rilevamento e la quantificazione di miscele di analiti riconducibili a formulazioni commerciali di Aroclor. Ogni determinazione viene eseguita partendo da una valutazione qualitativa del reperto, con l'identificazione della formulazione più vicina alla composizione incognita. Si determina il limite di quantificazione (DT) relativo alla specifica formulazione di Aroclor individuata — anche come combinazione di più formulazioni — e si procede alla verifica dell'intervallo di linearità della risposta dell'ECD iniettandone diluizioni scalari (APPENDICI D ed E).

Essenziale per una quantificazione affidabile con metodi strumentali automatizzati, la verifica della linearità di risposta del sistema GC — e in particolare del rivelatore — è d'interesse anche quando l'analisi viene effettuata mediante iniezione manuale. In questo caso, comunque, si tende a eseguire confronti fra quantità iniettate di analita e *standard* che siano approssimativamente comparabili.

Se il campione preparato per l'analisi presenta una concentrazione troppo elevata, tale da non rientrare nell'intervallo di linearità di risposta accertato, si procederà a ulteriori diluizioni avendo cura di mantenere la concentrazione di olio minerale nella matrice al valore di 10.0 (± 0.2) mg/mL mediante impiego di un adatto diluente (cfr. #3.3). In generale, per tutte le formulazioni di Aroclor oggetto della presente procedura, il campo d'applicazione di quest'ultima corrisponde a una concentrazione di analita nel reperto tra 2–10 e 50–100 mg/kg di fluido dielettrico. Contenuti maggiori d'analita vengono determinati mediante opportuna diluizione. Il limite inferiore dell'intervallo di linearità (2–10 mg/kg) viene inteso come DT.

2.3. Interferenze

Gli ECD sono sensibili a un'ampia componente elettrofila eventualmente presente all'origine nel fluido dielettrico (es., PCB, PCT, policlorobenzene, policloronaftaleni), e anche ad altri composti che possono formarsi come prodotti di ossidazione nell'impiego prolungato dei fluidi stessi. Questi composti possono produrre segnali con tempi di ritenzione comparabili a quelli degli analiti indagati, e interferire con la determinazione dei medesimi; a causa del maggiore peso molecolare rispetto ai PCB, questi fenomeni sono in genere meno frequenti e/o rilevanti nel dosaggio dei PCT. Tali interferenze vengono minimizzate con l'uso di metodi di purificazione.

Di-, tri-, e tetraclorobenzene sono contenuti in alcuni Askarel, ma poichè eluiscono a bassi tempi di ritenzione essi normalmente non interferiscono con l'analisi e non vengono conteggiati nella valutazione delle aree totali per la quantificazione degli analiti.

Infine, l'olio minerale stesso agisce come interferente e, se presente in misura troppo elevata, produce modifiche significative nel cromatogramma alterando la risposta dei singoli congeneri e provocando errori nella quantificazione. Questi vengono minimizzati diluendo il campione con solvente idoneo (cfr. #3.3), in modo che la concentrazione d'olio si mantenga costante ($10.0 (\pm 0.2)$ mg/mL); la stessa quantità d'olio viene aggiunta in tutte le soluzioni di lavoro utilizzate per la calibrazione (o, in generale, le misurazioni). Normalmente non è possibile l'utilizzo dello specifico olio che costituisce la matrice dielettrica del reperto; pertanto, di regola si ricorre a un prodotto commerciale fresco compatibile, comunque esente dagli organoclorurati d'interesse.

2.4. Apparecchiature, strumenti, e prodotti chimici

Oltre all'attrezzatura e alla vetreria normalmente presenti in un laboratorio chimico, è altresì necessario quanto segue.

2.4.1. VETRERIA

- a. Provette in vetro da 10–20 mL, con tappo foderato in Teflon;
- b. provette in polietilene o polipropilene da 10 mL, con tappo;
- c. pipette graduate in vetro con doppia tacca, da 0.5, 1, 2, e 5 mL (tolleranze, ± 1 %);
- d. micropipette automatiche a volume fisso, da 250, 500, e 1000 μ L (tolleranze, ± 0.6 % (come accuratezza e precisione));
- e. *vial* per autocampionatore;
- f. matracci tarati in vetro con tappo in Teflon, da 5, 10, 20, 25, 50, 100, 200, 250, e 500 mL (tolleranze, ± 0.5 %);
- g. pipette Pasteur.

2.4.2. CONDIZIONAMENTO DELLA VETRERIA

- a. Prima d'impiegare gli apparati in vetro è necessario effettuare un'accurata pulizia e il condizionamento dei medesimi secondo quanto di seguito specificato:
 - trattare, nell'ordine e ripetutamente, con acetone e *n*-esano;
 - lavare in lavavetreria con detersivo e risciacquare abbondantemente con acqua demineralizzata o distillata;
 - trattare ripetutamente con acetone per analisi;
 - sistemare la vetreria non tarata in stufa a 70–80 °C, fino ad asciugatura completa;
 - lasciare all'aria la vetreria tarata opportunamente protetta, fino a evaporazione del solvente, o asciugare sotto ventilazione;

- riporre la vetreria pulita, opportunamente protetta, fino al momento dell'uso;
- b. può essere conveniente riservare l'attrezzatura unicamente ai fini del rilevamento degli analiti d'interesse.

2.4.3. STRUMENTAZIONE

- a. Gas cromatografo di buona qualità equipaggiato con:
 - iniettore *splitless*, oppure *on-column*, oppure SPI (*septum programmable injector*);
 - colonna capillare termostabile fenilmetilpolisilossanica con: lunghezza, 10–50 m; \varnothing_i , 0.32 mm; spessore di fase, 0.17 o 0.25 μm ;
 - ECD con sorgente di ^{63}Ni ;
 - autocampionatore di buona qualità, compatibile con l'unità GC per introduzione automatizzata; o, in alternativa,
 - siringhe di precisione da 10 μL per introduzione manuale;
- b. stampante tipo *deskjet* o *laserjet*, o equivalenti;
- c. bilancia analitica di precisione, con eventuale doppio intervallo di misura (es., 30–160 g) e precisione nell'intervallo superiore pari a 0.1 mg.

La gestione dei parametri operativi dell'unità GC può essere condotta o direttamente dalla tastiera dello strumento o tramite *software* dedicato installato su *personal computer* collegato alla strumentazione. Il sistema d'integrazione del segnale dell'ECD può essere attivato da *personal computer* per l'acquisizione dei gas cromatogrammi, l'integrazione dei segnali, e l'elaborazione dei dati; oppure può utilizzarsi un normale integratore.

2.4.4. REAGENTI E MATERIALI DI RIFERIMENTO

- a. Aroclor *standard* delle Serie 1200 (tipo 1242, 1254, e 1260) e 5400 (tipo 5442, 5454, e 5460), con concentrazioni in olii minerali dielettrici certificate;
- b. olio minerale isolante esente da PCB o PCT;
- c. *n*-esano, *n*-eptano, e *iso*-ottano, per analisi di pesticidi; per ogni lotto, verrà controllata l'eventuale presenza d'interferenze riproducendo le condizioni specifiche d'uso per l'analisi;
- d. acido solforico concentrato 95–97 %, puro per analisi;
- e. D_{10}CB da utilizzare come *standard* interno (SI) per la verifica della riproducibilità delle condizioni operative d'analisi; soluzione certificata da 100 (± 2) $\mu\text{g/mL}$ in *n*-esano;
- f. acetone tecnico e per analisi.

2.5. Gas compressi

Elio e azoto vengono utilizzati rispettivamente come *carrier* e come gas specifico per l'ECD. La procedura richiede l'impiego di gas al massimo grado di purezza commerciale e purificati ulteriormente con l'utilizzo di opportuni filtri, attivi e/o passivi, per eliminare eventuali tracce residue di idrocarburi, acqua, e ossigeno. Azoto o aria puri (es., per GC) verranno impiegati per eventuali operazioni di concentrazione sotto ventilazione delle soluzioni.

2.6. Campioni di prova

Al fine di saggiare l'attendibilità d'esecuzione della procedura, si suggerisce di ricorrere a campioni di prova la cui composizione — eseguita da personale esperto secondo le esigenze indicate in PREMessa — sia sconosciuta agli operatori analitici. Campioni dello stesso tipo (unitamente alle soluzioni *standard* e a reperti reali) possono essere impiegati per verifiche e calibrazioni interlaboratorio. I campioni vengono conservati refrigerati a 4 °C, in condizioni di sicurezza. All'atto dell'accettazione, deve verificarsi che ogni campione risponda ai seguenti requisiti:

- sia conservato in un contenitore di vetro o polietilene, integro e opportunamente sigillato;
- non presenti residui solidi o separazioni di fasi;
- sia munito di una sigla univoca di identificazione;
- la quantità di campione non sia inferiore a 5 mL.

2.7. Condizioni ambientali di prova

L'applicazione della procedura richiede laboratori molto puliti e ben equipaggiati, e un ambiente possibilmente climatizzato.

2.8. Risultati

Prima di considerarli definitivi, i risultati dell'analisi verranno esaminati in modo esaustivo per stabilirne l'affidabilità e la congruenza a fronte delle informazioni

disponibili sui reperti analizzati. L'applicazione sperimentale della linea-guida verrà in ogni caso effettuata attivando i corretti protocolli di buone pratiche di laboratorio (GLP e QA/QC) per garantire la qualità dell'analisi. In tali pratiche rientra anche la verifica occasionale e all'insaputa dei soggetti destinatari delle capacità d'esecuzione dell'analisi da parte degli operatori di laboratorio.

3. MODALITÀ D'ESECUZIONE DELLA PROCEDURA

3.1. *Preparazione dello standard interno*

La presenza di uno SI nelle soluzioni d'analizzare permette di tener conto delle variazioni delle condizioni operative durante una o più sequenze d'analisi. Lo SI viene utilizzato per diluire sia le matrici dei fluidi dielettrici in esame, sia le soluzioni di riferimento contenenti concentrazioni note di Aroclor in olii minerali (cfr. #2.4.4). Da queste ultime si ottengono le soluzioni di lavoro per la definizione della o delle rette di calibrazione.

In accordo con l'*iter* di definizione della procedura e le successive verifiche incrociate interlaboratorio, viene suggerito d'impiegare uno SI costituito da una soluzione esanica di D₁₀CB alla concentrazione di 20.0 (± 0.5) ng/mL.

La soluzione di SI predetta si ottiene per diluizioni successive a partire da una soluzione-madre di D₁₀CB (concentrazione, 100 (± 2) $\mu\text{g/mL}$) (cfr. #2.4.4). Viene di seguito riportato un esempio di procedimento preparativo, evidenziando che le quantità possono essere opportunamente variate in funzione della quantità di soluzione necessaria per il trattamento dei campioni:

- a. si preleva 1.00 mL della soluzione a 100 $\mu\text{g/mL}$, e si diluisce a 50 mL con *n*-esano (cfr. #2.4.4) in matraccio tarato, ottenendo così una concentrazione di D₁₀CB pari a 2.00 $\mu\text{g/mL}$;
- b. si preleva un'aliquota di 2.00 mL di quest'ultima soluzione, poi diluita a 200 mL con *n*-esano, in matraccio tarato, per ottenere una concentrazione finale di 20.0 (± 0.5) ng/mL;
- c. tutte le soluzioni, ben chiuse, vengono conservate in frigorifero a 4 °C; esse risultano stabili per almeno sei mesi.

3.2. "Bianchi" procedurali

Nella sequenza dei campioni viene inserito un numero adeguato di prove in "bianco", ovvero di prove di controllo caratterizzate dalle stesse operazioni previste per l'analisi dei reperti (cfr. #3.5), ma eseguite trattando un'analogia quantità di olio minerale esente da analita (cfr. #2.4.4), oppure utilizzando direttamente la soluzione del diluente.

3.3. Preparazione del diluente

Questa soluzione viene utilizzata per diluire sia matrici incognite ad alto contenuto in analita — matrici che non rientrano nel campo di linearità accertato sperimentalmente (cfr. #3.4) — sia le soluzioni di lavoro per la definizione della retta di calibrazione. Il diluente contiene olio minerale (esente da analita) e D₁₀CB in concentrazioni rispettivamente pari a 10.0 (± 0.2) mg/mL e 20.0 (± 0.5) ng/mL; esso viene utilizzato allo scopo di mantenere invariata, con la diluizione, i livelli di olio e SI nel campione e nelle soluzioni *standard* di riferimento.

Il diluente viene preparato dalla soluzione di SI a diluizione finale, aggiungendo una quantità di olio minerale tale da raggiungere la concentrazione di 10.0 (± 0.2) mg/mL nel volume di soluzione preparata. Per esempio:

- a. si pesano 5.0 (± 0.1) g di olio esente da analita in un matraccio da 500 mL;
- b. si porta a volume con la soluzione di D₁₀CB a 20.0 (± 0.5) ng/mL;
- c. si agita accuratamente;
- d. la soluzione viene mantenuta in frigorifero a 4 °C; così conservata, essa è stabile per almeno sei mesi.

3.4. Preparazione delle soluzioni di calibrazione

Dopo aver individuato la formulazione *standard* — come Aroclor singolo o miscela di più Aroclor — ritenuta più vicina per composizione a quella del reperto in esame (cfr. #3.6), si preparano le soluzioni di calibrazione da una soluzione-madre di

standard (tipicamente, 50 (± 1) $\mu\text{g/mL}$ in olio minerale), diluendo opportunamente con la soluzione dello SI (cfr. 3.1).

- a. Si pesano circa 0.1 g di soluzione di Aroclor in olio (cfr. #2.4.4) in un matraccio da 10 mL, e se ne registra esattamente il peso;
- b. si porta a volume con la soluzione di SI;
- c. si agita accuratamente;
- d. la soluzione viene mantenuta in frigorifero a 4 °C; così conservata, essa è stabile per almeno un mese.

Dalla soluzione predetta vengono preparate quelle di lavoro per la calibrazione diluendo (es., 1, 2.5, 5, 10, e 25 volte) con il diluente in modo da mantenere costante la presenza di olio minerale nella matrice. Di fatto, ogni soluzione di calibrazione conterrà 10.0 (± 0.2) mg/mL di olio esente da analita, e D₁₀CB in concentrazione pari a 20.0 (± 0.5) ng/mL. Ogni singola formulazione *standard* nelle soluzioni di lavoro dovrà coprire un intervallo di concentrazione che tipicamente si estende da 10–20 a 500–1000 ng/mL.

Se dall'analisi qualitativa (cfr. #3.6) risulta presente nel reperto di fluido dielettrico più di una formulazione commerciale di analita, le soluzioni di calibrazione impiegate saranno costituite, come detto, da opportune miscele di due o più Aroclor *standard*, tali da simulare il più possibile il profilo analitico rilevato preliminarmente. Anche queste soluzioni conterranno 10.0 (± 0.2) mg/mL di olio minerale esente da analita, e D₁₀CB al livello di 20.0 (± 0.5) ng/mL. Analogamente, ogni singola miscela di Aroclor *standard* nelle soluzioni di lavoro dovrà coprire un intervallo approssimativo di concentrazioni da 10–20 a 500–1000 ng/mL.

Poiché contengono olio minerale, le soluzioni di lavoro vengono sottoposte a procedimento di purificazione (*cleanup*) con acido solforico, in genere come segue:

- a. in una provetta di polietilene s'introducono 5.0 mL di una delle soluzioni di calibrazione e 2.0 mL di acido solforico concentrato (cfr. #2.4.4);
- b. dopo chiusura, si agita vigorosamente a mano per circa un minuto;
- c. si lasciano separare le due fasi per qualche minuto;
- d. un'aliquota di fase organica surnatante (1–3 mL) viene prelevata e trasferita in *vial* (eventualmente, per autocampionatore);
- e. la soluzione viene sottoposta subito a HRGC(ECD), o
- f. viene conservata in frigorifero a 4 °C; le soluzioni di calibrazione sono stabili per almeno un mese se mantenute al freddo.

3.5. *Trattamento preparativo dei reperti di fluido dielettrico*

Il campione per l'analisi strumentale viene predisposto come segue:

- a. si pesano 50.0 (\pm 0.5) mg di fluido dielettrico in una provetta di polietilene da 10 mL, e se ne registra il peso esatto;
- b. si aggiungono 5.0 mL di SI (cfr. #3.1) e 2.0 mL di acido solforico concentrato (cfr. #2.4.4);
- c. dopo chiusura, si agita vigorosamente per circa un minuto;
- d. si lasciano separare le due fasi per qualche minuto;
- e. un'aliquota di fase organica surnatante (1–3 mL) viene prelevata e trasferita in *vial* (eventualmente, per autocampionatore);
- f. la soluzione viene sottoposta subito a HRGC(ECD), o
- g. viene conservata in frigorifero a 4 °C; i campioni così preparati sono stabili per almeno cinque giorni se mantenuti al freddo.

Se dalla valutazione dei cromatogrammi qualitativi, il reperto in esame sembra avere un livello d'analita che non rientri nell'intervallo di linearità del sistema strumentale, o che comunque si prevede sia superiore a quello delle formulazioni *standard* di confronto, per evitare l'eventuale sovraccarico della colonna e del rivelatore si diluisce ulteriormente il campione prima del trattamento con acido solforico, e si procede poi secondo prassi.

L'errore sulla determinazione del peso del campione si ripercuote percentualmente sul valore della concentrazione calcolata. Si suggerisce di eseguire verifiche periodiche e frequenti dell'affidabilità della pesata mediante riscontro con pesi certificati in Classe E2, almeno al valore di 50 mg. Nel caso le pesate si discostino dalle nominali di un valore superiore a 0.5 mg, la bilancia sarà considerata "non conforme" e dovrà essere sottoposta a un intervento di taratura.

3.6. *Analisi gas cromatografica*

Le specifiche condizioni per eseguire i rilevamenti HRGC(ECD) con metodi strumentali automatizzati, e i parametri per la memorizzazione e l'integrazione dei picchi vengono inseriti nell'eventuale *software* di gestione sotto denominazione appropriata. Avviato il metodo, il sistema imposta i parametri in esso elencati e attiva il

gas cromatografo per il raggiungimento delle condizioni di operative. Lo strumento rimane poi in posizione di attesa fino all'avvio dell'analisi GC.

Laddove il laboratorio preferisca impiegare metodi strumentali caratterizzati da interventi manuali, l'attività analitica sarà controllata, nelle forme appropriate, dal personale specializzato disponibile.

A scopo esemplificativo, tipiche condizioni operative sono riportate nella Tabella B.1 per una gestione automatizzata del rilevamento strumentale, e nella Tabella E.1 per un'esecuzione caratterizzata da maggiore manualità. Le condizioni riportate devono ritenersi indicative: vari fattori (es., il deterioramento della colonna, la particolare natura del campione) possono richiedere variazioni dei parametri al fine di ottenere il miglior risultato analitico. Tali variazioni non inficiano la validità dell'analisi, purchè introdotte dal personale specializzato disponibile (cfr. Introduzione) in armonia con le indicazioni della procedura.

Prima di procedere alla determinazione quantitativa, in assenza di indicazioni sulla composizione, il campione purificato viene analizzato qualitativamente per via gas cromatografica al fine di individuare la formulazione più probabile di Aroclor. A tale scopo s'inietta un'aliquota di soluzione preparata come descritto al #3.5, opportunamente diluita.

Se, confrontando il gas cromatogramma ottenuto con quello delle tipiche formulazioni di Aroclor *standard* (APPENDICI B e C), s'individua in una di esse un possibile riferimento analitico, si procede a una valutazione semiquantitativa della concentrazione dell'analita nel campione mediante confronto tra le aree totali come risultano dai gas cromatogrammi del campione e dello *standard*.

Successivamente, con le prescelte condizioni GC si procede a iniettare le soluzioni di calibrazione relative all'Aroclor identificato, singolo *standard* o miscela a titolo definito di due o più formulazioni. Si costruisce la retta di calibrazione (cfr. #3.7) e si verifica l'intervallo di linearità dell'ECD.

Quindi si procede all'iniezione del "bianco" e del campione, quest'ultimo opportunamente diluito in modo che la concentrazione dell'analita rientri nell'intervallo di linearità dell'ECD.

Nel caso di metodi strumentali automatizzati, se il numero dei campioni è rilevante e l'analisi dovrà protrarsi per più giorni non è in genere necessario ripetere la calibrazione: sarà sufficiente iniettare giornalmente una delle soluzioni di calibrazione e calcolarne la concentrazione, oppure preparare un campione di formulazione a concentrazione nota e iniettarlo trattandolo come un campione incognito. Se il risultato non rientra nell'intervallo di incertezza previsto, si consiglia di verificare la retta di calibrazione.

Se non è possibile riconoscere — e pertanto utilizzare come riferimento analitico quali-quantitativo — alcuna formulazione, come singolo *standard* o come miscela, la presente procedura non è applicabile.

3.7. Calibrazione strumentale e calcolo delle concentrazioni

Il calcolo della concentrazione totale dell'analita in un campione viene eseguito sommando le aree dei picchi GC relativi a tutti i congeneri presenti nella formulazione utilizzata come *standard* esterno (SE). L'area dello SI ed eventuali picchi significativi non presenti nell'intervallo dei tempi di ritenzione della formulazione di riferimento (SE), non vengono conteggiati nel calcolo.

Per metodi strumentali automatizzati, l'integrazione e il calcolo delle aree totali — nell'intervallo dei tempi di ritenzione d'interesse — vengono effettuati attraverso il *software* di gestione e d'integrazione del gas cromatografo (cfr. #2.4.3). Per sistemi che richiedono interventi di controllo manuali, è sufficiente collegare l'unità GC a un integratore di buona qualità per rilevare le aree dei segnali come di prassi: in questo caso, quanto descritto nei punti qui di seguito ha limitato interesse.

L'analisi quantitativa viene effettuata mediante l'ausilio di un foglio elettronico, inserendo i dati della retta di calibrazione (cfr. #3.6) come aree totali A_S in *count* in

funzione delle relative concentrazioni C_S (variabile indipendente, X). Utilizzando le specifiche funzioni del foglio elettronico, si calcolano le aree A_{SE} (variabile dipendente, Y) al netto del correlato contributo dello SI (infatti, $A_S = A_{SE} + A_{SI}$) e i parametri

- m , coefficiente angolare, e
- b , termine noto,

della retta di calibrazione $Y = mX + b$, ottenuti mediante regressione con metodi canonici. Definita l'equazione della retta, dal valore dell'area A_C in *count* del campione analizzato (variabile dipendente, Y) si risale al corrispondente valore di concentrazione C_C (variabile indipendente, X) secondo il procedimento seguente.

Per ogni misurazione GC nell'esecuzione di un dato rilevamento — costituito di una o più misurazioni — A_C è ottenuta dall'area totale A_T al netto del correlato contributo dello SI (A_I), introducendo un'eventuale correzione in riferimento a un valore selezionato dell'area del medesimo (A_{RIF}):

$$A_C = (A_T - A_I) \times (A_{RIF} \times A_I^{-1})$$

A_{RIF} può essere scelto con criteri diversi: per esempio, fra i valori di A_I disponibili dal rilevamento effettuato, oppure come stima media elaborata dai medesimi. In quest'ultimo caso, si suggerisce di fissare la massima variazione tollerata dell'area del $D_{10}CB$ in una serie di iniezioni sequenziali al $|\pm 5|$ % rispetto al valore medio: mentre tale variabilità non comporterebbe correzioni ($A_{RIF} \times A_I^{-1} = 1$), per variazioni maggiori le iniezioni corrispondenti dovrebbero essere ripetute, oppure i valori di A_C potrebbero essere corretti come sopra descritto eventualmente imponendo $A_{RIF} \equiv \langle A_I^{-1} \rangle$.

In sintesi, la concentrazione dell'analita nel campione viene calcolata nella seguente maniera:

- si definiscono i coefficienti m e b dell'equazione $Y = mX + b$, dove Y rappresenta l'area della soluzione di calibrazione (A_{SE}) e X la sua concentrazione (C_S) espressa, per esempio, in $\mu\text{g/mL}$;
- la concentrazione in $\mu\text{g/mL}$ dell'analita nel campione è fornita dall'equazione $C_C = (A_C - b) \times m^{-1}$, dove A_C è l'area misurata dall'analisi GC dell'analita in esame, eventualmente corretta per le variazioni del segnale del $D_{10}CB$.

La concentrazione C_C così ottenuta può fornire direttamente il livello dell'analita nel reperto (es., in mg/kg di fluido dielettrico) laddove si tenga conto delle diluizioni introdotte dall'*iter* analitico e delle unità di misura impiegate. Siano Q_R e V_C rispettivamente il peso dell'aliquota di reperto effettivamente utilizzata per l'analisi e il volume (iniziale) del campione (cfr. #3.5); viene definita come "fattore di diluizione" la grandezza

- $F_D = [V_C (\text{mL})] \times [Q_R \times 10^{-3} (\text{g})]^{-1}$

Per esempio, nel caso che $Q_R = 50.0 \text{ mg}$ e $V_C = 5.0 \text{ mL}$,

- $F_D = 5.0 \times 50.0^{-1} \times 10^3 = 100 \text{ mL/g}$.

La concentrazione C_R (mg/kg) di analita nel reperto viene quindi calcolata dall'equazione

- $C_R = C_C \times F_D \times F_C$

dove F_C (≥ 1) è un ulteriore fattore di correzione, ovvero il rapporto volumetrico tra V_C — o una sua aliquota — e il volume finale analizzato. Vale evidenziare come il volume di soluzione iniettato sia normalmente pari a $1.0 \mu\text{L}$.

Per quanto riguarda analisi GC eseguite mediante introduzione manuale, è criterio generale che le quantità iniettate delle soluzioni di campione e di *standard* siano sufficientemente simili ($A_C \approx A_{SE}$) da poter ammettere una correlazione totalmente lineare fra le due. Ciò implica che il calcolo di C_C potrà essere eseguito direttamente tramite la proporzione

- $C_C = C_S \times A_C \times A_{SE}^{-1}$

nella quale le grandezze evidenziate sono già state introdotte nei punti precedenti. Determinata C_C , il calcolo prosegue secondo quanto sopra ulteriormente indicato. In questo caso, la verifica della linearità di risposta del sistema HRGC(ECD) serve sia come generica verifica delle condizioni di lavoro del sistema, sia per avere piena assicurazione che l'intervallo di risposta utilizzato per le misurazioni sia comunque parte di un intervallo lineare.

3.8. *Espressione dei risultati*

I risultati verranno espressi in mg/kg di fluido dielettrico utilizzando due o al massimo tre cifre significative. L'incertezza del risultato verrà espressa come σ o CV%, secondo quanto indicato nella sezione seguente.

4. CARATTERIZZAZIONE APPLICATIVA DELLA PROCEDURA

4.1. *Controllo interlaboratorio*

Al fine di valutare l'applicabilità e l'affidabilità della procedura di cui trattasi, 16 reperti di altrettanti fluidi dielettrici di apparati funzionanti sono stati saggiati in doppio e indipendentemente sia dall'ISS che dall'ENEL. Per l'esecuzione delle analisi è stata utilizzata la presente linea-guida, adottando l'introduzione manuale nel caso dell'ISS (APPENDICE E, Tabella E.1) e un sistema strumentale dotato di autocampionatore per l'ENEL (APPENDICE B, Tabella B.1). I risultati analitici ottenuti e la loro caratterizzazione statistica sono riportati nel dettaglio nell'APPENDICE F. Nessuno dei fluidi reali analizzati conteneva PCT.

L'insieme dei dati dell'ISS (Tabella F.1, Colonna 2) contiene 21 termini poiché cinque reperti sono stati analizzati due volte, indipendentemente l'una dall'altra. Il secondo rilevamento è sempre stato eseguito con un'unica misurazione (una sola analisi GC), mentre i risultati degli altri 16 compaiono come stime medie da almeno tre misurazioni strumentali; ciascuna stima risulta associata al proprio CV% (Colonna 3). A scopo puramente indicativo, alle misurazioni singole è stato applicato il valore $\langle CV\% \rangle$ ottenuto dalle stime dei 16 CV% sperimentali.

Può essere utile osservare come le coppie di replicati dell'ISS — con riferimento alla Colonna 1: 12-14, 13-11, 15-17, 18-16, e 20-19 — presentino scarti normalizzati (medi) (cfr. #4.3) che approssimativamente vanno dal 2 al 14 %, con una media intorno all'8 %: questi valori appaiono del tutto compatibili con le caratteristiche della distribuzione dei 16 CV%, soprattutto in considerazione del fatto che, in ogni coppia, uno dei due rilevamenti è una misurazione unica manuale (cfr. #4.2).

Per quanto riguarda l'insieme dei 16 dati dell'ENEL (Tabella F.1, Colonna 4), in esso prevalgono i rilevamenti con misurazioni singole (frequenza, 9/16). Per i rimanenti sette reperti — con riferimento alla Colonna 1: 1, 3, 4, 6-8, e 19 — ogni rilevamento appare essere stato eseguito con non meno di 11 misurazioni GC: anche in questo caso, a ciascuna stima media è stato abbinato il valore della propria dispersione (CV%) (Colonna 5). A scopo puramente indicativo, alle misurazioni singole sono stati applicati i valori CV% valutati in base al modello interpolativo empirico descritto nel seguito.

4.2. *Caratteristiche delle distribuzioni dei CV*

Come si è detto, nel caso dei rilevamenti dell'ENEL i CV% risultano disponibili solo per sette reperti su 16. Allo scopo di ottenere comunque una valutazione della variabilità analitica laddove tali stime mancavano, si è cercato d'individuare una correlazione tra i CV% disponibili (Y) e le concentrazioni analitiche corrispondenti (X). Nel perseguire quest'approccio, si è assunto che i CV% predetti riflettano andamenti sperimentali effettivamente caratterizzati da ragionevole stabilità, siano cioè riproducibili o quanto meno ricorrenti. In particolare, il valore $CV\% = 11.1\%$ (cfr. Tabella F.1, Colonna 5) appare critico in quanto in sostanza unico dato che orienta l'andamento del modello interpolante prescelto in corrispondenza dei livelli di concentrazione — e quantità iniettate — più bassi. L'interpolazione dei punti sperimentali è stata effettuata utilizzando la funzione empirica

$$\bullet \quad Y = k_0 \exp(-k_1 X) + k_2,$$

selezionata dopo una serie di tentativi. I valori dei parametri k_0 , k_1 , e k_2 (APPENDICE F, Figura F.1) corrispondono alla migliore interpolazione ottenuta (metodo dei "minimi quadrati").

L'elevato valore del CV% sopra evidenziato riflette ragionevolmente il fatto che il livello di PCB nel Reperto 1 è dichiaratamente al limite (DT) delle capacità operative della procedura (cfr. #2.2): mentre non può non notarsi il buon accordo con il dato parallelo dell'ISS — rispettivamente, 4.60 e 4.39 mg/kg — operare vicino al limite di

quantificazione implica, per definizione, un aumento della dispersione dei risultati delle misurazioni.

Se si esclude dall'insieme dei sette CV% disponibili il valore di 11.1 % come aberrante (ben oltre 4σ dalla media, 1.68 %), deve ancora osservarsi come i rimanenti sei valori forniscano un'immagine di una dispersione analitica mediamente estremamente contenuta ($UCL(95\%) < 3\%$) (cfr. Tabella F.1, Colonna 5): ciò è verosimilmente effetto dell'impiego di metodi strumentali automatizzati nell'intervallo di lavoro raccomandato. Comunque, poiché le stime degli indicatori statistici utilizzati — σ , CV, e CL — sono una funzione inversa di N, i bassi livelli di dispersione evidenziati sono almeno in parte attribuibili all'elevato numero ($N > 10$) di misurazioni effettuate nei rilevamenti presi in considerazione, condizione difficilmente attuata negli accertamenti di *routine*.

I 16 CV% stimati dai rilevamenti dell'ISS mostrano una distribuzione non significativamente differente da una distribuzione normale, indipendente dai livelli di concentrazione, e caratterizzata dagli indicatori statistici riportati in Tabella F.1, Colonna 3 (es., $\langle CV\% \rangle$ e $UCL(95\%)$ rispettivamente pari a 5.66 e 6.59 %). Si evidenzia come la dispersione dei dati ISS, comunque limitata, sia sensibilmente superiore a quella dei dati ENEL (si confrontino, per esempio, le stime parallele dei $\langle CV\% \rangle$ e degli $UCL(95\%)$). Tale differenza è imputabile ad almeno due fattori:

- a. la minore ripetibilità generale dell'introduzione manuale rispetto a quella automatizzata, e
- b. il numero comparativamente ridotto di misurazioni eseguite in ogni rilevamento.

La mancanza di un'evidente "impennata" esponenziale alle basse concentrazioni si giustifica con l'eventuale effetto di mascheramento, più o meno marcato, che può accompagnare una dispersione sensibile dei dati.

Infine, la Figura F.2 mostra la curva di probabilità cumulativa costruita sulla base dei 16 valori di CV% dell'ISS. Ogni punto della curva consente di rilevare la probabilità di avere, per un singolo rilevamento, un valore di CV% pari o inferiore a quello corrispondente all'ascissa del punto stesso: si osserva, di fatto, come la quasi totalità (97–99 %) dei CV% attesi cade entro un accettabile 9–10 %.

4.3. Analisi delle differenze interlaboratorio

Con riferimento al #4.1, nella Tabella F.1 sono mostrati i valori degli scarti (normalizzati) tra le coppie di rilevamenti Z-W eseguiti rispettivamente dall'ISS (Colonna 2) e dall'ENEL (Colonna 4) sui 16 reperti di fluidi dielettrici analizzati in doppio. In particolare, nelle Colonne 6, 7, e 8 sono riportati gli insiemi dei dati stimati con le seguenti equazioni (nell'ordine):

- $\Delta = (Z - W) \times [0.5 (Z + W)]^{-1}$
- $|\Delta| = |(Z - W) \times [0.5 (Z + W)]^{-1}|$
- $\ln |\Delta| = \ln |(Z - W) \times [0.5 (Z + W)]^{-1}|$

L'analisi dei tre insiemi (per ciascuno, $N = 21$) ha messo in evidenza come le specifiche distribuzioni non siano significativamente differenti da una distribuzione normale — elemento peraltro apprezzabile dalle riduzioni grafiche mostrate nella Figura F.3 — anche se può dimostrarsi come il più alto livello di normalità sia raggiunto dall'insieme dei valori log-trasformati (Figura F.3b).

Dagli indicatori statistici calcolati per Δ — identificabile come scarto medio algebrico — si osserva come i due laboratori abbiano fornito referti mediamente privi di un errore sistematico significativo ($\langle \Delta \rangle \approx 0.4\%$); anche le conservative stime dei limiti fiduciali — $LCL(95\%) = -7.16\%$; $UCL(95\%) = 7.98\%$ — confermano che un eventuale errore sistematico sarebbe contenuto entro pochi punti percentuali. Al di là delle figure numeriche, questo risultato appare di spiccato interesse in quanto conseguito senza calibrazione interlaboratorio e con il solo utilizzo di *standard* (SE e SI) comuni.

Dagli indicatori statistici calcolati per $|\Delta|$, si osserva come lo scarto medio massimo (assoluto) fra i due laboratori sia pari a circa il 12 %, con una variabilità (CI(95%)) contenuta approssimativamente tra il 6 e il 17 %. Si nota come l'apparente errore sistematico evidenziato da questo particolare trattamento è solo un artefatto determinato dall'esclusivo impiego dei valori assoluti degli scarti. Piuttosto, $|\Delta|$ fornisce una stima pessimistica dell'accordo che può attendersi fra rilevamenti paralleli di PCB in fluidi dielettrici, eseguiti nelle condizioni realizzate per il presente studio.

Infine, la Figura F.4 mostra la curva di probabilità cumulativa costruita sulla base dei 21 valori degli scarti tra coppie di referti Z (ISS) e W (ENEL): qui presentata in coordinate lineari, la curva è stata sviluppata sulla base dell'analisi dell'insieme determinato dalla grandezza conservativa $\ln |\Delta|$. Come visto, ogni punto della curva rappresenta la probabilità di avere, per un singolo rilevamento Z-W, un valore di $|\Delta\%|$ pari o inferiore a quello corrispondente all'ascissa del punto stesso: si osserva, per esempio, come la frequenza attesa di valori di $|\Delta\%|$ inferiori al 15 % sia pari a circa il 75 %, mentre nel 90 % dei casi $|\Delta\%|$ sarà inferiore al 30 %.

4.4. *Analisi della linearità di risposta del sistema strumentale*

Come anticipato (cfr. #2.2), nelle Figure D.1 ed E.1 sono mostrati alcuni esempi di risultati di verifiche sulla linearità della risposta strumentale; esse sono state effettuate rispettivamente dall'ENEL e dall'ISS utilizzando vari PCB *standard* del tipo Aroclor. Per tutti i diversi insiemi di dati PCB-specifici — previamente normalizzati (Tabelle D.1 ed E.2) — si osservano andamenti chiaramente lineari su intervalli di quantità iniettate pari a un ordine di grandezza o superiori. In particolare, tutte le regressioni lineari effettuate sono risultate altamente significative, come può dedursi dalle informazioni riportate nelle didascalie delle figure predette. Nelle equazioni derivate, i parametri m e b stimati dalle regressioni sono accompagnati da un'"incertezza" misurata dall'ampiezza $\delta(95\%)$ del correlato CI(95%). Vale evidenziare come la risposta strumentale appaia aumentare, anche significativamente, in funzione del grado di clorosostituzione del PCB saggiato.

Dall'analisi delle equazioni lineari ottenute, si osserva come l'"incertezza" (relativa) su m vari approssimativamente dal 3-5 al 10 % passando dagli *standard* maggiormente clorurati all'Aroclor 1242. Aldilà dei valori numerici predetti, eventualmente legati alle specifiche condizioni operative realizzate per le verifiche cui viene fatto riferimento, l'"incertezza" su m è comunque destinata a propagarsi in modo sostanzialmente costante in qualsiasi rilevamento quantitativo: essa è dunque indipendente dalla quantità iniettata purché quest'ultima sia tale da rendere comparativamente trascurabile il contributo di b rispetto a mX e quello di δ_b rispetto all'"incertezza" totale associata alla funzione. Con riferimento alla generica

equazione della retta (cfr. #3.7), questi concetti possono essere visualizzati matematicamente come segue (per semplicità si è assunto: $\delta_m > 0$; $b > 0$; $\delta_b \leq b$):

- $F(\delta_m) = \{[(m + \delta_m)X + b] - [mX + b]\} \times [mX + b]^{-1}$, da cui
- $F(\delta_m) = [\delta_m X] \times [mX + b]^{-1}$; se $mX \gg b$, si ha
- $F(\delta_m) \approx \delta_m X \times [mX]^{-1} = \delta_m \times m^{-1} = \text{cost.}$

Con riferimento alle equazioni lineari di cui trattasi (Figure D.1 ed E.1), le Figure F.5 ed F.6 offrono, caso per caso, una sinopsi del contributo relativo dell' "incertezza" associata al termine noto (come $\delta(95\%)$) all' "incertezza" totale. In tutti i casi, le diverse funzioni assumono un valore definito nell'origine (per $X = 0$, $Y = \delta_b \times b^{-1}$), decrescono rapidamente con andamento iperbolico, e tendono asintoticamente a 0 con l'aumentare della quantità iniettata. Anche in questo caso possiamo ricorrere alla seguente rappresentazione matematica semplificata (si è assunto: $\delta_b > 0$; $b > 0$; $\delta_m \ll m$):

- $F(\delta_b) = \{[mX + (b + \delta_b)] - [mX + b]\} \times [mX + b]^{-1}$, da cui
- $F(\delta_b) = \delta_b \times [mX + b]^{-1}$; se $mX \gg b$, si ha
- $F(\delta_b) \approx \delta_b \times [mX]^{-1}$.

Per $X = 0$, $F(\delta_b)$ risulta assumere valori intorno al 40–60 % per l'ENEL (Figura F.5) e approssimativamente tra il 15 e il 170 % per l'ISS (Figura F.6); in questa figura, in particolare, la funzione associata all'Aroclor 1260 (primo grafico in basso) presenta un andamento anomalo — una discontinuità per $X \approx 25$ pg — a causa del valore negativo di b . Al riguardo delle considerazioni su espresse, vale comunque ricordare che le equazioni lineari riportate nelle Figure D.1 ed E.1 sono correttamente definite solo sugli intervalli di quantità iniettate effettivamente saggiati ($X \geq 20$ pg). In conclusione, dagli studi di linearità surriportati si deduce che l'impiego di una retta di calibrazione — da cui ricavare le concentrazioni dell'analita nei reperti analizzati con metodi strumentali automatizzati — può essere ottimizzato limitandolo all'intervallo di quantità iniettate ove le "incertezze" misurate da $F(\delta_m)$ ed $F(\delta_b)$ siano adeguatamente minimizzate (cfr. Figure F.5 ed F.6 per alcuni esempi numerici). Si ricorda, al riguardo, che il contributo combinato di $F(\delta_m)$ ed $F(\delta_b)$ determina l'entità dell'errore atteso sul risultato del rilevamento effettuato.

4.5. Estensione dell'applicabilità della procedura al rilevamento dei PCT

Come si è detto, nel corso del controllo interlaboratorio non si sono trovati reperti di fluidi dielettrici contenenti PCT. Di conseguenza manca un'osservazione fenomenologica sulla cui base procedere a una analisi di dati come quella effettuata per i PCB. Tuttavia, la forte analogia chimica fra le due famiglie di composti, nonché la similitudine del comportamento GC (APPENDICI C e G) fanno ritenere che la presente linea-guida possa essere applicata anche al dosaggio dei PCT, previa adozione di appropriate condizioni strumentali (APPENDICE B, Tabella B.1, e APPENDICE E, Tabella E.1) e valutazione di alcuni problemi specifici.

L'esame qualitativo della predetta documentazione porta alle seguenti considerazioni, riportate soprattutto per evidenziare alcune potenziali sorgenti d'errore.

- a. Le formulazioni di Aroclor 5400 sono caratterizzate da una composizione in congeneri così complessa da rendere problematico il conseguimento di un buon livello di risoluzione GC: nell'APPENDICE C, ciò è chiaramente apprezzabile quando si confrontino i gas cromatogrammi di PCT con grado di clorurazione crescente (nell'ordine: Aroclor 5432, 5442, e 5460).
- b. La difficoltà di risolvere adeguatamente la complessità di tali formulazioni può favorire il coesistere di interferenze difficilmente individuabili: da qui la necessità di valutare molto attentamente i profili GC ottenuti, eventualmente anche eseguendo analisi GC con condizioni operative modificate.
- c. Poiché il sistema di dosaggio si autocalibra sul segnale dello SI, la possibilità d'isolare integralmente tale segnale per misurarne l'area nel modo più corretto appare condizione pregiudiziale per conseguire rilevamenti affidabili: questa condizione è sostanzialmente garantita nel caso dei PCB (APPENDICE B) ma non in quello dei PCT (APPENDICE C, Figura C.2).
- d. L'uso di colonne GC capillari piuttosto corte (APPENDICE E, Tabella E.1) può essere vantaggioso per abbreviare i tempi d'analisi; tuttavia, tale scelta può esaltare i problemi introdotti ai Punti (b) e (c).

Nell'APPENDICE G sono riportati alcuni esempi di risultati di verifiche sulla linearità della risposta strumentale effettuate dall'ISS utilizzando vari PCT *standard* del tipo Aroclor. Per tutti i diversi insiemi di dati PCT-specifici — previamente normalizzati (Tabella G.1) — si osservano andamenti chiaramente lineari su intervalli di quantità iniettate pari a circa un ordine di grandezza (Figura G.1). In particolare, tutte le regressioni lineari effettuate sono risultate altamente significative, come può

dedursi dalle informazioni riportate nella didascalia della figura. Come in precedenza, nelle equazioni derivate i parametri m e b stimati dalle regressioni sono accompagnati da un'"incertezza" misurata dall'emiampiezza $\delta(95\%)$ del correlato $CI(95\%)$.

Si osserva come l'"incertezza" (relativa) su m sia approssimativamente pari al 4-5 %: come si è detto per i PCB (cfr. #4.4), essa è indipendente dalla quantità iniettata purché quest'ultima sia tale da rendere comparativamente trascurabile il contributo di b rispetto a mX e quello di δ_b rispetto all'"incertezza" totale associata alla funzione. Questi concetti possono essere visualizzati matematicamente, similmente a quanto già fatto per i PCB.

Con riferimento alle equazioni lineari di cui trattasi (Figura G.1), la Figura G.2 offre, caso per caso, una sinopsi del contributo relativo dell'"incertezza" associata al termine noto (come $\delta(95\%)$) all'"incertezza" totale. In tutti i casi, e similmente a quanto visto per i PCB (cfr. #4.4), le diverse funzioni assumono un valore definito nell'origine (per $X = 0$, $Y = \delta_b \times b^{-1}$), decrescono rapidamente con andamento iperbolico, e tendono asintoticamente a 0 con l'aumentare della quantità iniettata. Per $X = 0$, $F(\delta_b)$ risulta assumere valori approssimativamente al disotto dell'80 % (Figura G.2); in questa figura, in particolare, la funzione associata all'Aroclor 5460 (primo grafico in basso) presenta un andamento anomalo — una discontinuità per $X \approx 17$ pg — a causa del valore negativo di b . Anche in questo caso si ricorda che le equazioni lineari di cui trattasi sono correttamente definite solo sugli intervalli di quantità iniettate effettivamente saggiati ($X \geq 63$ pg). Dunque, l'impiego di una retta di calibrazione può essere ottimizzato limitandolo all'intervallo di quantità iniettate ove le "incertezze" misurate da $F(\delta_m)$ ed $F(\delta_b)$ siano adeguatamente minimizzate (cfr. Figura G.2 per alcuni esempi numerici). Come anticipato altrove (cfr. #4.4), il contributo combinato di $F(\delta_m)$ ed $F(\delta_b)$ determina l'entità dell'errore atteso sul risultato del rilevamento effettuato.

APPENDICE A

*Acronimi, abbreviazioni,
e unità di misura*

GLOSSARIO

A_C	area GC fornita dall'analita nel campione
A_I	area GC fornita dallo SI nel campione
A_{RIF}	area GC selezionata dello SI nel campione
A_S	$A_{SE} + A_{SI}$
A_{SE}	area GC fornita dallo SE
A_{SI}	area GC fornita dallo SI nelle soluzioni di calibrazione (SE)
A_T	$A_C + A_I$
Analita	la specie chimica sotto rilevamento
Aroclor	formulazione commerciale di PCB (Serie 1200) o PCT (Serie 5400)
Askarel	fluido dielettrico
b	termine noto di un'equazione lineare
C_C	concentrazione dell'analita nel campione
C_R	concentrazione dell'analita nel reperto
C_S	concentrazione dello SE
Campione	la matrice di fluido dielettrico sottoposta a <i>cleanup</i>
Carrier	gas di trasporto per l'analisi GC
CI	intervallo fiduciale
CI(95%)	intervallo fiduciale, $P = 0.95$
CL	limite fiduciale
CL(95%)	limite fiduciale, $P = 0.95$
<i>Cleanup</i>	procedimento preparativo di purificazione
Congenere	ogni singolo componente dei PCB e PCT
CV	coefficiente di variazione, $\sigma \times \text{media}^{-1}$
CV%	$CV \times 100$
δ	emiampiezza di CI
$\delta(95\%)$	$CI(95\%) \times 0.5$
Δ	scarto tra i risultati di due rilevamenti o due misurazioni
$D_{10}CB$	decaclorobifenile (<i>standard</i> interno)
DT	<i>detection threshold</i> (limite di quantificazione: la più piccola quantità iniettata di una formulazione <i>standard</i> che ancora ne mantiene tutte le caratteristiche identificative GC)
Fluido dielettrico	un liquido isolante, privo di conducibilità elettrica

ECD	<i>electron capture detector</i>
F _C	fattore di correzione volumetrico
F _D	fattore di diluizione, $V_C \times Q_R^{-1}$
Ø _i	diametro interno
g	grammo
GC	gas cromatografia, e terminologia derivata
GLP	Good Laboratory Practice
HR	alta risoluzione
ISS	Istituto Superiore di Sanità (Roma)
kg	$g \times 10^3$
L	litro
LCL(95%)	<i>lower confidence limit, P = 95 %</i>
m	metro
m	coefficiente angolare di un'equazione lineare
µg	$g \times 10^{-6}$
µL	$L \times 10^{-6}$
mg	$g \times 10^{-3}$
mL	$L \times 10^{-3}$
mm	$m \times 10^{-3}$
Misurazione	quantificazione GC del livello di concentrazione dell'analita
N	dimensione dell'insieme di dati
ng	$g \times 10^{-9}$
Olio minerale	costituente principale dei fluidi dielettrici analizzati
PCB	bifenile clorurato (grado di clorosostituzione, 1-10)
PCT	terfenile clorurato (grado di clorosostituzione, 1-14)
pg	$g \times 10^{-12}$
Q _R	quantità di reperto analizzata
QA/QC	<i>quality assurance/quality control</i>
Reperto	la matrice originale, non trattata, di fluido dielettrico
Rilevamento	determinazione del livello di concentrazione dell'analita
SE	<i>standard</i> esterno
SI	<i>standard</i> interno
σ	deviazione <i>standard</i>
SPI	<i>septum programmable injector</i>

UCL(95%)	<i>upper confidence limit, P = 95 %</i>
V _C	volume iniziale del campione
W	risultato del rilevamento dell'ENEL
X	variabile indipendente
Y	variabile dipendente
Z	risultato del rilevamento dell'ISS

APPENDICE B

*PCB: Aroclor 1242, 1260, e D₁₀CB
Esempi di gas cromatogrammi (HRGC(ECD))
e condizioni operative*

Tabella B.1. Condizioni gas cromatografiche utilizzate presso il laboratorio dell'ENEL per l'analisi di fluidi dielettrici tipo Askarel mediante HRGC(ECD).

PARAMETRO	CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCB			CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCT		
GAS CHROMATOGRAPH						
Hewlett-Packard Mod. 6890						
COLUMN						
Tipo: DB-5 (J&W) Lunghezza: 30 m Ø: 0.32 mm Spessore di fase: 0.25 µm						
OVEN						
Initial temperature	50 °C (On)			50 °C (On)		
Initial time	1.00 min			1.00 min		
Ramps						
	Rate (°C/min)	Final temperature	Final time	Rate (°C/min)	Final temperature	Final time
Ramp 1	20.0	200 °C	0.00 min	20.0	200 °C	0.00 min
Ramp 2	5.0	280 °C	0.00 min	5.0	300 °C	5.50 min
Ramp 3	0 (Off)			0 (Off)		
Post temperature	0 °C			0 °C		
Post time	0.00 min			0.00 min		
Run time	ca. 25 min			ca. 34 min		
FRONT INLET (SPLIT/SPLITLESS)						
Mode	Splitless			Splitless		
Initial temperature	280 °C (On)			280 °C (On)		
Pressure	10.0 psi (On)			10.0 psi (On)		
Purge flow	95.6 mL/min			95.6 mL/min		
Purge time	0.75 min			0.75 min		
Total flow	100.0 mL/min			100.0 mL/min		
Gas saver	On			On		
Saver flow	20.0 mL/min			20.0 mL/min		
Saver time	1.00 min			1.00 min		
Gas type	Helium			Helium		
FRONT DETECTOR (ECD-⁶³Ni)						
Temperature	320 °C (On)			320 °C (On)		
Anode purge flow	6.0 mL/min (On)			6.0 mL/min (On)		
Mode	Costant column-plus-makeup flow			Costant column-plus-makeup flow		
Combined flow	60.0 mL/min			60.0 mL/min		
Makeup flow	On			On		
Gas type	Nitrogen			Nitrogen		
Adjust offset	60.00			60.00		
Electrometer	On			On		

(Continua)

(Tabella B.1, continuazione)

PARAMETRO	CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCB	CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCT
SIGNAL 1		
<i>Data rate</i>	20 Hz	20 Hz
<i>Type</i>	Font detector	Font detector
<i>Save data</i>	On	On
<i>Zero</i>	0.0 (Off)	0.0 (Off)
<i>Range</i>	0	0
<i>Fast peaks</i>	Off	Off
<i>Attenuation</i>	0	0
HP GC (FRONT) INJECTOR		
<i>Sample washes</i>	2	2
<i>Sample pumps</i>	5	5
<i>Injection volume</i>	1.0 µL	1.0 µL
<i>Syringe size</i>	10 µL	10 µL
<i>Nanoliter adapter</i>	Off	Off
<i>Preinjection Solvent A washes</i>	2	2
<i>Preinjection Solvent B washes</i>	2	2
<i>Postinjection Solvent A washes</i>	4	4
<i>Postinjection Solvent B washes</i>	2	2
<i>Viscosity delay</i>	0 seconds	0 seconds
<i>Plunger speed</i>	Fast	Fast
<i>Preinjection dwell</i>	0.00 min	0.00 min
<i>Postinjection dwell</i>	0.00 min	0.00 min
<i>Sampling depth</i>	Off	Off

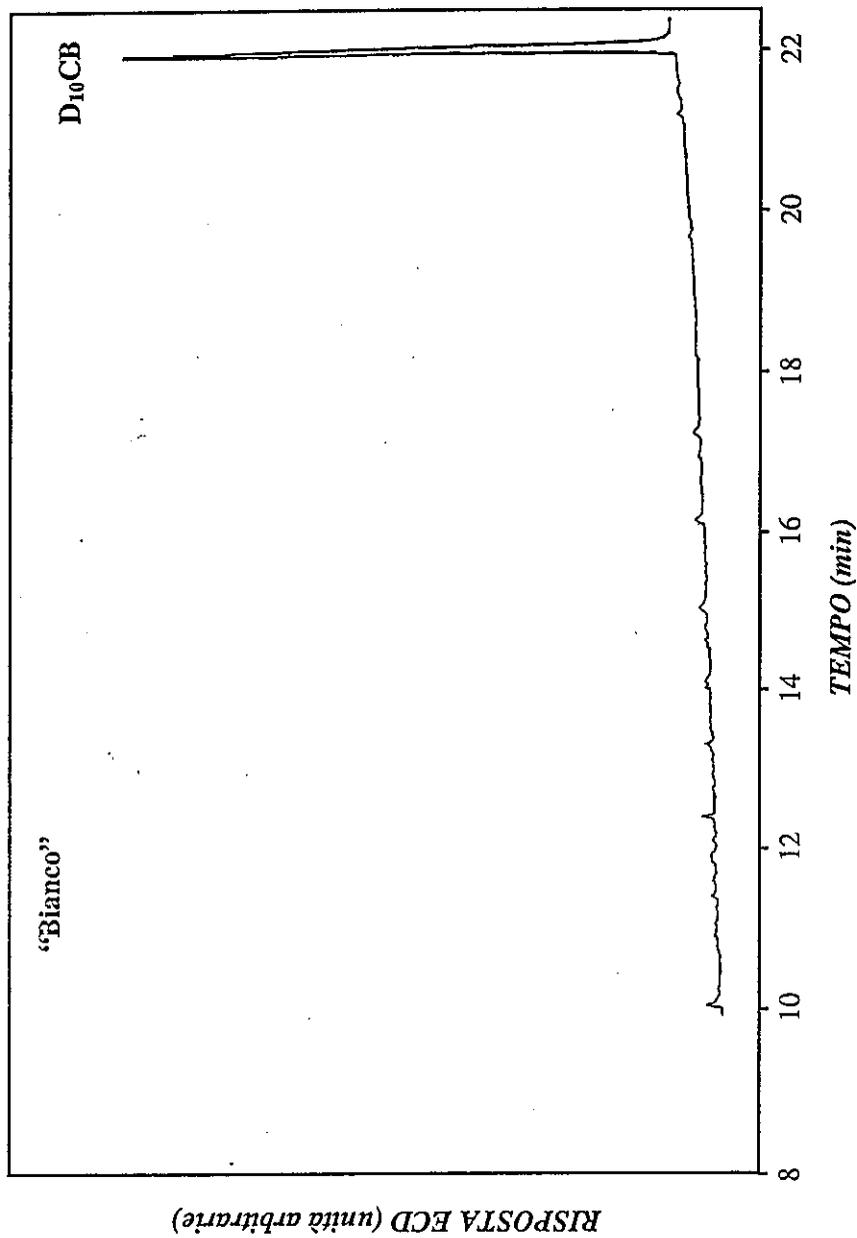


Figura B.1. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL di "bianco" procedurale in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B.1.

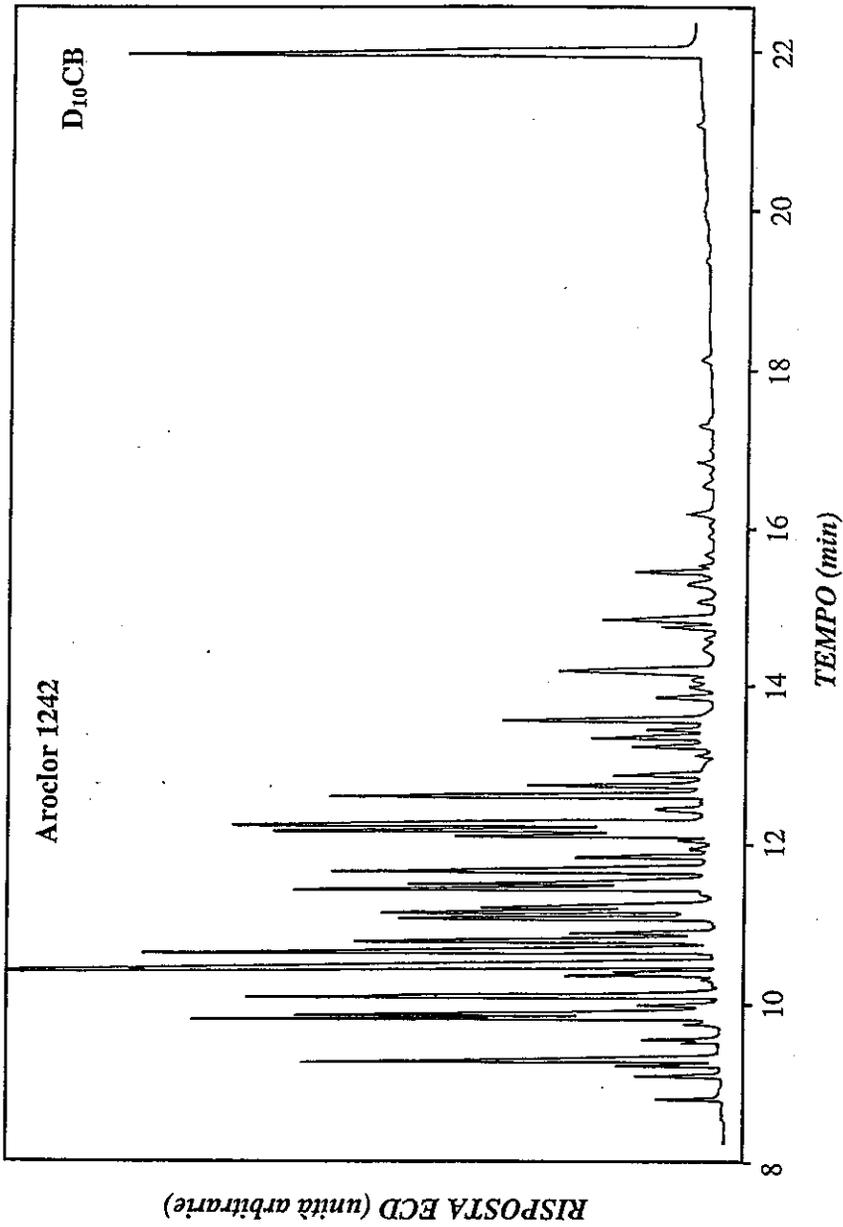


Figura B.2. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL ottenuto iniettando 500 pg dello *standard* di PCB Aroclor 1242, in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B.1.

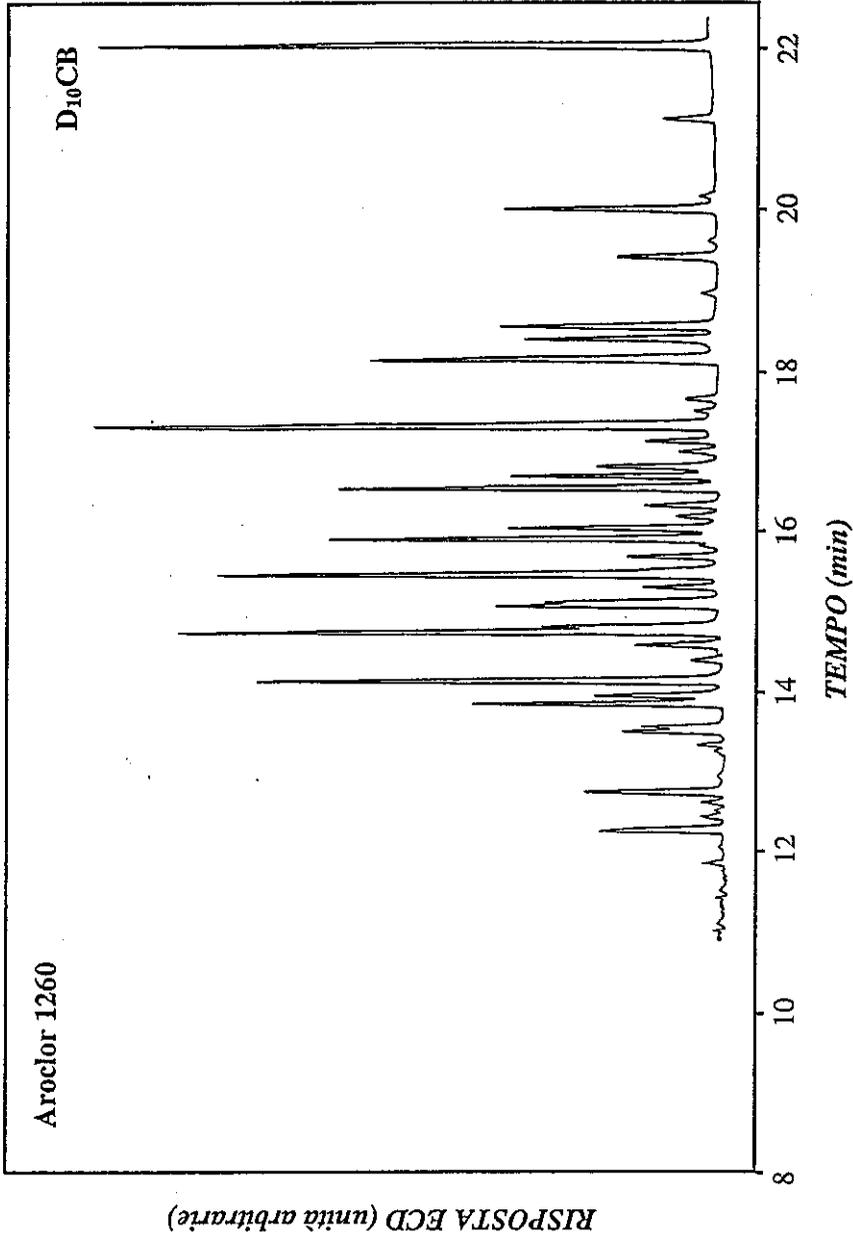


Figura B.3. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL ottenuto iniettando 250 pg dello *standard* di PCB Aroclor 1260, in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B. 1.

APPENDICE C

*PCT: Aroclor 5432, 5442, e 5460
Esempi di gas cromatogrammi (HRGC(ECD))*

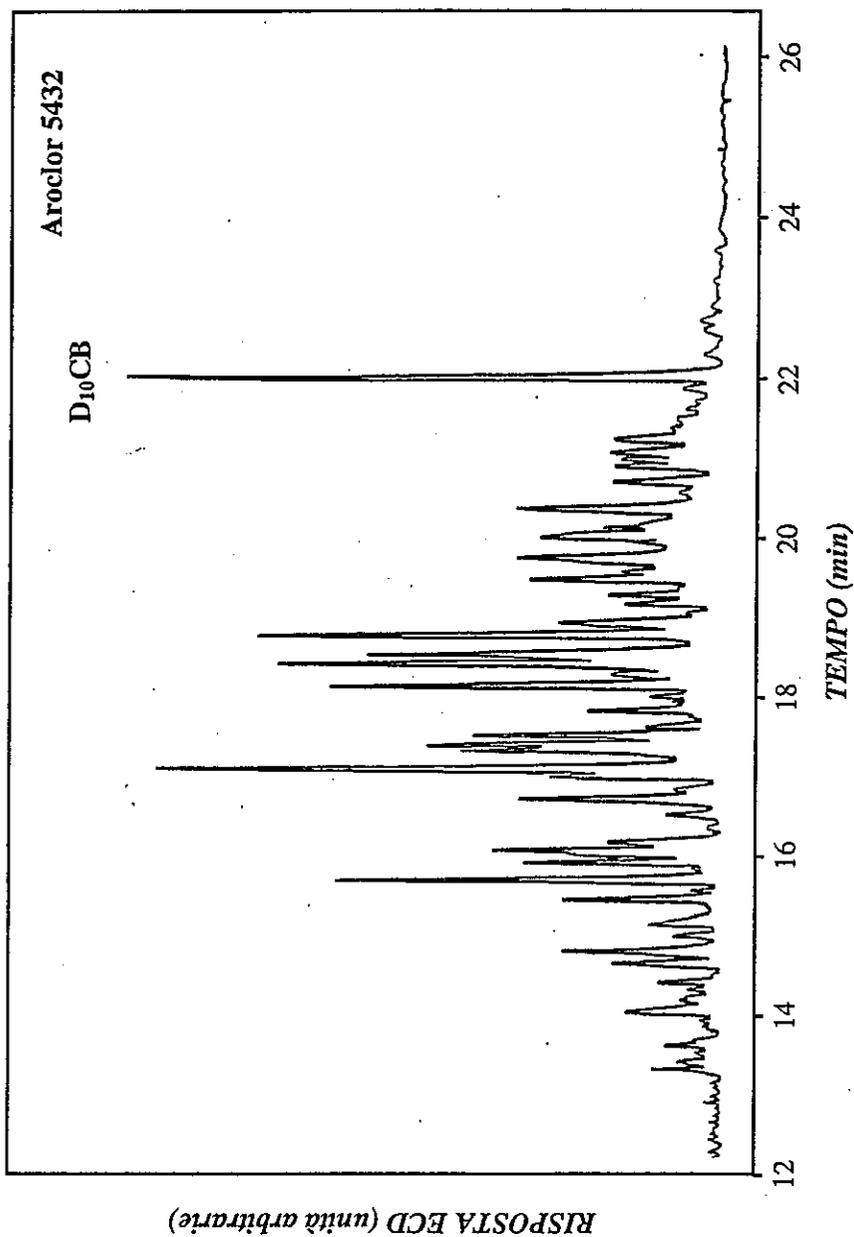


Figura C.1. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL ottenuto iniettando 200 pg dello *standard* di PCT Aroclor 5432, in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B.1.

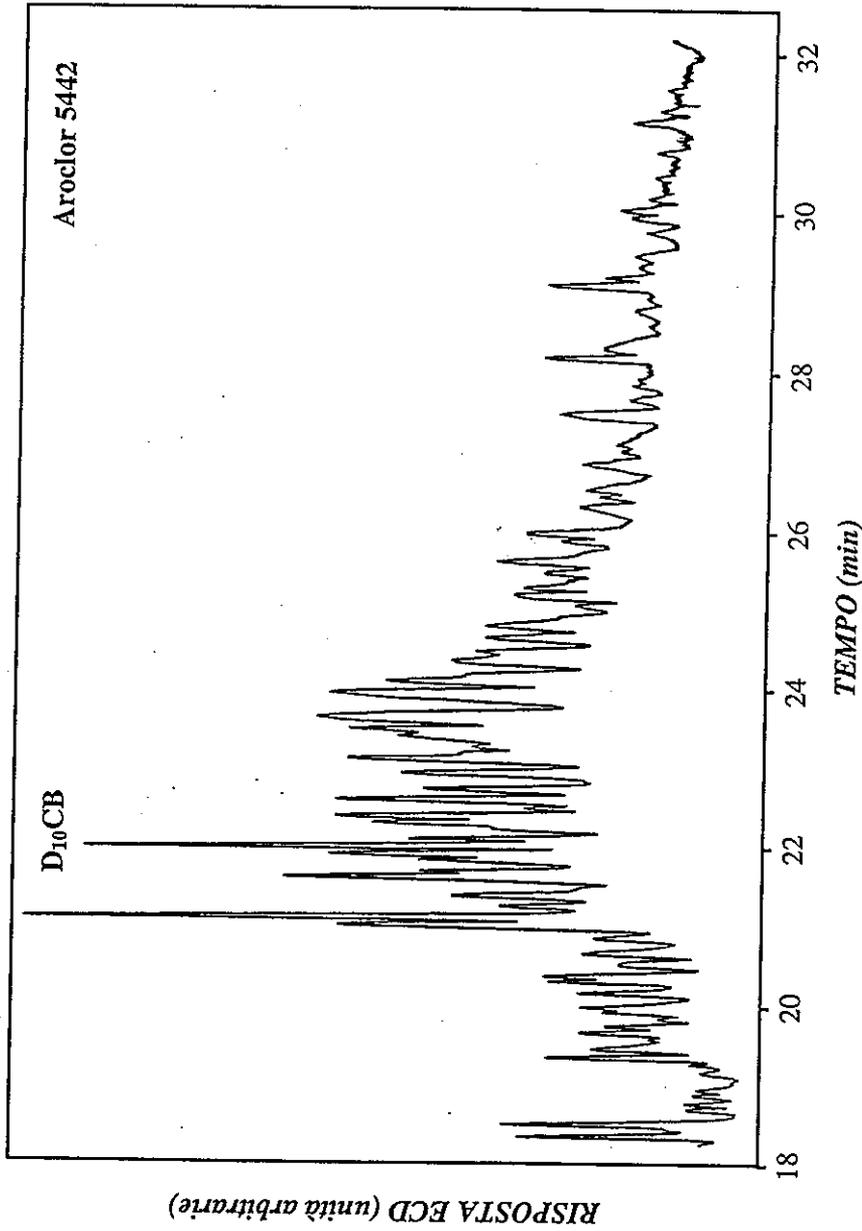


Figura C.2. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL ottenuto iniettando 500 pg dello *standard* di PCT Aroclor 5442, in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B.1.

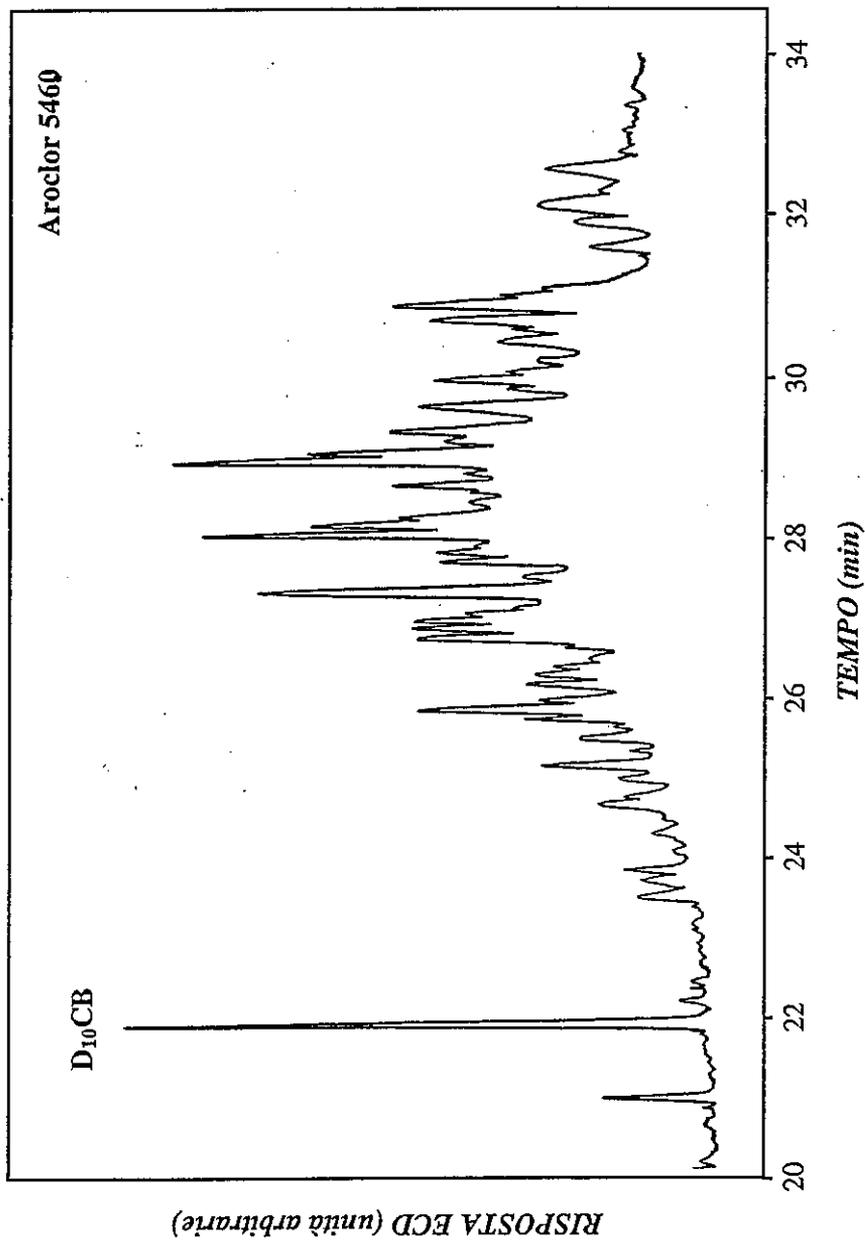


Figura C.3. Gas cromatogramma fornito dall'ENEL, ottenuto iniettando 500 pg dello *standard* di PCT Aroclor 5460, in condizioni canoniche di lavoro. Il segnale dello SI corrisponde a una quantità iniettata di D₁₀CB pari a 20.0 pg. Le condizioni operative per l'analisi strumentale sono riportate nella Tabella B.1.

APPENDICE D

PCB: Aroclor 1242, 1254, e 1260
Esempi di linearità di risposta strumentale

Tabella D.1. Studio effettuato dall'ENEL sulla linearità di risposta di diversi *standard* di PCB iniettati in un sistema strumentale HRGC(ECD). X e Y rappresentano, rispettivamente, la quantità iniettata e la risposta strumentale normalizzata.

X ^a (pg)	N	D ₁₀ CB ^b (count × 10 ⁻⁷)	Y ^c (count × 10 ⁻⁷)	σ _Y	CV%	D ₁₀ CB ^d (count × 10 ⁻⁷)	Y ^e (count × 10 ⁻⁷)	δ(95%) ^f
Aroclor 1242								
20.0	1	0.48	0.719	—	—	1	1.49	—
50.0	1	0.48	0.879	—	—	1	1.82	—
110	1	0.48	1.54	—	—	1	3.19	—
210	1	0.48	2.90	—	—	1	6.01	—
520	1	0.48	6.12	—	—	1	12.7	—
Aroclor 1254 + Aroclor 1260^g								
20.0	2	0.41	0.438	0.456	—	—	1	1.07 1.11
50.0	2	0.41	1.04	1.04	—	—	1	2.54 2.53
100	2	0.41	1.93	1.81	—	—	1	4.73 4.42
210	2	0.41	3.36	3.37	—	—	1	8.21 8.23
510	2	0.41	7.37	7.52	—	—	1	18.0 18.4
Aroclor 1260								
20.0	1	0.50	0.699	—	—	1	1.39	—
50.0	1	0.50	1.30	—	—	1	2.59	—
110	1	0.50	2.48	—	—	1	4.93	—
210	1	0.50	4.50	—	—	1	8.95	—
510	1	0.50	9.86	—	—	1	19.6	—

(a) Quantità iniettate.

(b) Valori di riferimento intra-gruppo, PCB-specifici, dello SI.

(c) Risposte GC normalizzate sul riferimento (SI) intra-gruppo.

(d) Valore di riferimento inter-gruppo dello SI.

(e) Risposte GC normalizzate sul riferimento (SI) inter-gruppo.

(f) Emiampiezza dell'intervallo fiduciale ($P = 95\%$).

(g) Miscela equiponderale.

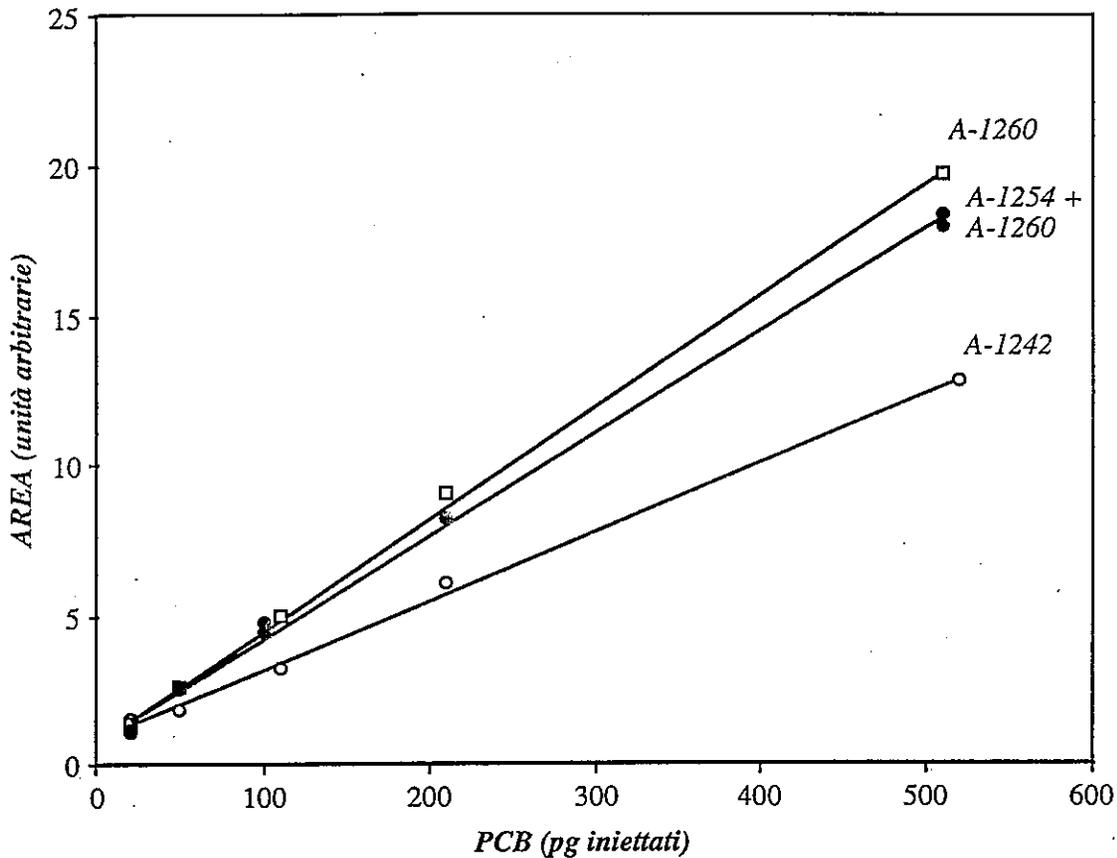


Figura D.1. Studio eseguito presso l'ENEL delle correlazioni tra le aree cumulative (in unità arbitrarie ($\times 10^{-7}$)) e le quantità (pg) di PCB *standard* (Aroclor 1242, 1254 + 1260 (1:1, p/p), e 1260) iniettate in un sistema strumentale HRGC(ECD) (per le condizioni operative e i dati originali, cfr. Tabelle B.1 e D.1). Ogni gruppo di dati (aree cumulative in *count*) PCB-specifico è stato normalizzato su uno stesso valore sperimentale di riferimento intra-gruppo del $D_{10}CB$ (per i diversi Aroclor, rispettivamente: 0.480×10^7 , 0.410×10^7 , e 0.500×10^7 *count*). Successivamente, per agevolare la comparabilità delle diverse regressioni lineari, tutti i dati così trattati sono stati ulteriormente normalizzati assumendo uguale a 1×10^7 *count* il valore di riferimento associato al $D_{10}CB$. Nel grafico sono visibili i punti sperimentali normalizzati (come valori singoli) e le rette di regressione. Le regressioni lineari effettuate sono risultate altamente significative e hanno fornito le seguenti equazioni (in parentesi, stime medie e pertinenti limiti fiduciali ($P = 95\%$)):

<i>A-1242</i>	$Y = (0.0230 \pm 0.0022) X + (0.88 \pm 0.55)$ N = 5 R = 0.999 F(1, 3) = 1180 $P_F \ll 0.01$
<i>A-1254 + A-1260</i>	$Y = (0.0343 \pm 0.0013) X + (0.81 \pm 0.32)$ N = 10 R = 0.999 F(1, 8) = 3860 $P_F \ll 0.01$
<i>A-1260</i>	$Y = (0.0373 \pm 0.0019) X + (0.82 \pm 0.49)$ N = 5 R = 1.000 F(1, 3) = 3747 $P_F \ll 0.01$

APPENDICE E

*PCB: Aroclor 1242, 1254, e 1260
Esempi di linearità di risposta strumentale
e condizioni operative per HRGC(ECD)*

Tabella E.1. Condizioni gas cromatografiche utilizzate presso il laboratorio dell'ISS per l'analisi di fluidi dielettrici tipo Askarel mediante HRGC(ECD).

PARAMETRO	CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCB			CONDIZIONI DI LAVORO PER I PCT		
GAS CHROMATOGRAPH						
Varian Mod. 3300 o 3400						
COLUMN						
Per PCB	Tipo: Ultra-2 (HP)	Lunghezza: 50 m	Ø _i : 0.32 mm	Spessore di fase: 0.17 µm		
Per PCT	Tipo: Ultra-2 (HP)	Lunghezza: 13 m	Ø _i : 0.32 mm	Spessore di fase: 0.17 µm		
OVEN						
Initial temperature	50 °C			60 °C		
Initial time	1.00 min			1.00 min		
Ramps						
	Rate (°C/min)	Final temperature	Final time	Rate (°C/min)	Final temperature	Final time
Ramp 1	50.0	200 °C	1.00 min	30.0	250 °C	1.00 min
Ramp 2	2.0	280 °C	10.0 min	8.0	310 °C	14.0 min
Ramp 3	0 (Off)			0 (Off)		
Post temperature	50 °C			60 °C		
Post time	5.00 min			10.0 min		
Run time	ca. 60 min			ca. 40 min		
FRONT INLET (SPI) AND INJECTOR						
Temperature	250 °C			250 °C		
Pressure	13 psi (On)			6.0 psi (On)		
Column flow	1.5-3 mL/min			1.5-3 mL/min		
Purge flow	ca. 5 mL/min			ca. 5 mL/min		
Purge time	Continuo			Continuo		
Total flow	ca. 7 mL/min			ca. 7 mL/min		
Carrier gas	Helium			Helium		
Injection volume (manual)	1.0 µL			1.0 µL		
Syringe size	10 µL			10 µL		
DETECTOR (ECD-⁶³Ni)						
Temperature	300 °C			300 °C		
Makeup flow	40-60 mL/min			40-60 mL/min		
Makeup gas	Nitrogen			Nitrogen		
Electrometer range	1			1		

Tabella E.2. Studio effettuato dall'ISS sulla linearità di risposta di diversi *standard* di PCB iniettati in un sistema strumentale HRGC(ECD). X e <Y> rappresentano, rispettivamente, la quantità iniettata e la risposta strumentale normalizzata (medie di più misurazioni).

X ^a (pg)	N	$D_{10}CB^b$ <Y> ^c σ_Y CV%				$D_{10}CB^d$ <Y> ^e $\delta(95\%)^f$		
		(count $\times 10^{-7}$)				(count $\times 10^{-7}$)		
Aroclor 1242								
63.0	5	2.03	1.065	0.041	3.8	1	0.525	0.018
263	5	2.03	2.120	0.079	3.7	1	1.045	0.034
375	7	2.03	3.32	0.14	4.3	1	1.637	0.052
536	6	2.03	5.21	0.14	2.6	1	2.569	0.054
Aroclor 1254								
50.0	8	1.16	3.51	0.21	6.0	1	3.03	0.13
100	7	1.16	6.21	0.31	4.9	1	5.35	0.20
200	7	1.16	9.56	0.29	3.0	1	8.24	0.19
500	7	1.16	20.33	0.78	3.9	1	17.53	0.50
Aroclor 1254 + Aroclor 1260^g								
66.6	7	1.26	3.18	0.20	6.4	1	2.52	0.12
166	6	1.26	10.48	0.41	3.9	1	8.32	0.26
416	7	1.26	25.0	1.1	4.4	1	19.85	0.64
1040	6	1.26	57.1	2.3	4.0	1	45.3	1.4
Aroclor 1260								
54.0	7	1.50	3.28	0.14	4.2	1	2.184	0.068
108	8	1.50	6.57	0.37	5.7	1	4.38	0.17
216	7	1.50	15.21	0.42	2.8	1	10.14	0.21
540	7	1.50	43.3	1.8	4.1	1	28.88	0.87

(a) Quantità iniettate.

(b) Valori di riferimento intra-gruppo, PCB-specifici, dello SI.

(c) Risposte medie GC normalizzate sul riferimento (SI) intra-gruppo.

(d) Valore di riferimento inter-gruppo dello SI.

(e) Risposte medie GC normalizzate sul riferimento (SI) inter-gruppo.

(f) Emiampiezza dell'intervallo fiduciale ($P = 95\%$).

(g) Miscela equiponderale.

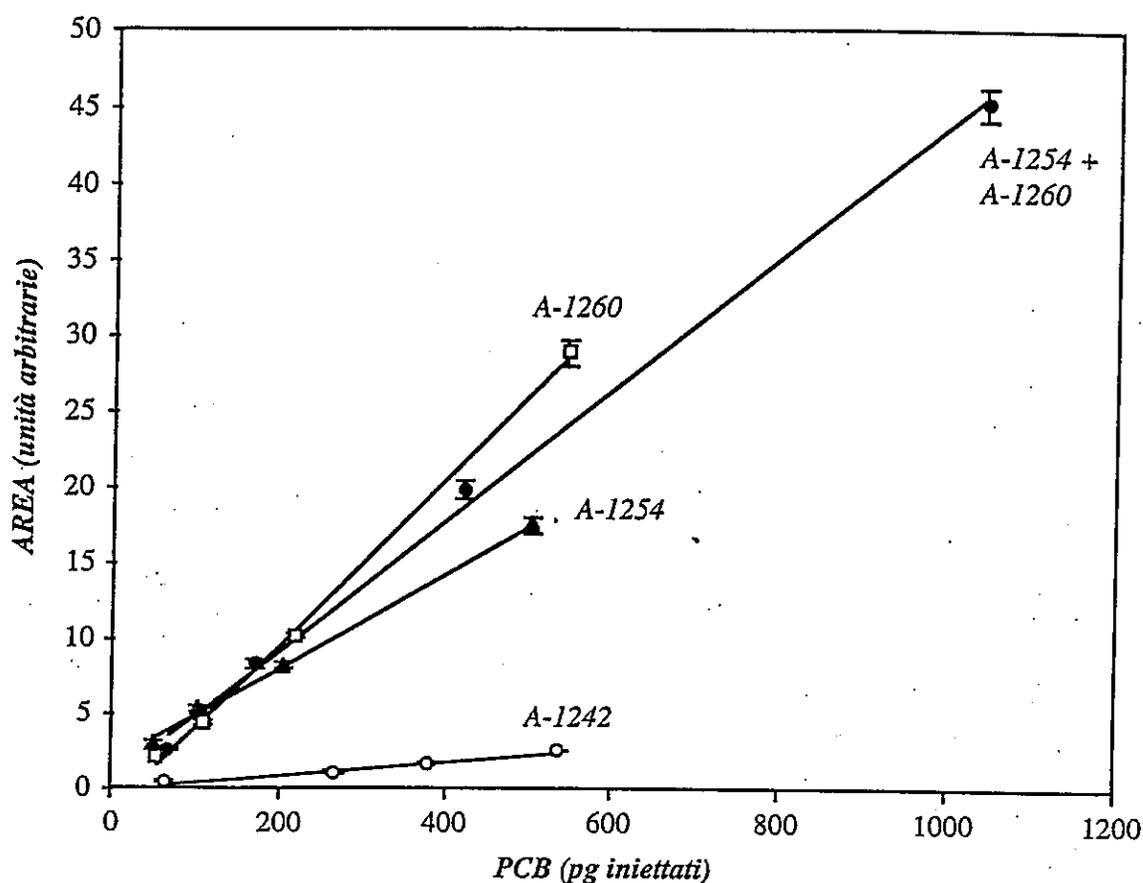


Figura E.1. Studio eseguito presso l'ISS delle correlazioni tra le aree cumulative (in unità arbitrarie ($\times 10^{-7}$)) e le quantità (pg) di PCB *standard* (Aroclor 1242, 1254, 1254 + 1260 (1:1; p/p), e 1260) iniettate in un sistema strumentale HRGC(ECD) (per le condizioni operative e i dati originali, cfr. Tabelle E.1 e E.2). Ogni gruppo di dati (aree cumulative in *count*) PCB-specifico è stato normalizzato su uno stesso valore sperimentale di riferimento intra-gruppo del $D_{10}CB$ (per i diversi Aroclor, rispettivamente: 2.03×10^7 , 1.16×10^7 , 1.26×10^7 , e 1.50×10^7 *count*). Successivamente, per agevolare la comparabilità delle diverse regressioni lineari, tutti i dati così trattati sono stati ulteriormente normalizzati assumendo uguale a 1×10^7 *count* il valore di riferimento associato al $D_{10}CB$. Nel grafico sono visibili i punti sperimentali normalizzati (stime medie e intervalli fiduciali ($P = 95\%$)) e le rette di regressione. Le regressioni lineari effettuate sono risultate altamente significative e hanno fornito le seguenti equazioni (in parentesi, stime medie e pertinenti limiti fiduciali ($P = 95\%$)):

A-1242	$Y = (0.00436 \pm 0.00042) X + (0.09 \pm 0.15)$ N = 23 R = 0.978 F(1, 21) = 471 $P_F \ll 0.001$
A-1254	$Y = (0.0316 \pm 0.0010) X + (1.81 \pm 0.28)$ N = 29 R = 0.997 F(1, 27) = 3962 $P_F \ll 0.001$
A-1254 + A-1260	$Y = (0.0433 \pm 0.0013) X + (0.71 \pm 0.76)$ N = 26 R = 0.997 F(1, 24) = 4886 $P_F \ll 0.001$
A-1260	$Y = (0.0557 \pm 0.0015) X - (1.40 \pm 0.43)$ N = 29 R = 0.998 F(1, 27) = 6117 $P_F \ll 0.001$

APPENDICE F

Analisi dei PCB: Controllo interlaboratorio (ISS-ENEL) Risultati e valutazione

Tabella F.1. Sintesi dei risultati ottenuti presso l'ISS (Z) e l'ENEL (W) da rilevamenti di PCB in fluidi dielettrici eseguiti indipendentemente sugli stessi reperti reali ($N = 16$). L'ISS ha effettuato la maggior parte dei rilevamenti mediante misurazioni strumentali ripetute ($N \geq 3$), mentre fra i dati dell'ENEL prevalgono i rilevamenti eseguiti con misurazioni singole.^a

RE- PERTO ^b	RISULTATI ISS		RISULTATI ENEL		SCARTI NORMALIZZATI ^c		
	PCB	CV%	PCB	CV%	Δ	$ \Delta $	$\text{LN}(\Delta)$
1	2	3	4	5	6	7	8
1	4.390	6.79	4.600	11.1	-0.0467	0.0467	-3.0634
2	8.047	5.45	5.000	9.9 ^d	0.467	0.467	-0.7613
3	15.19	8.11	11.10	2.6	0.311	0.311	-1.1672
4	18.29	4.23	14.90	1.9	0.204	0.204	-1.5873
5	22.05	5.45	25.00	1.3 ^d	-0.125	0.125	-2.0760
6	29.52	2.28	24.70	1.6	0.178	0.178	-1.7269
7	54.30	5.87	53.60	1.1	0.0130	0.0130	-4.3453
8	58.67	4.41	55.50	0.8	0.0555	0.0555	-2.8916
9	71.61	6.87	76.00	1.3 ^d	-0.0595	0.0595	-2.8222
10	72.76	7.78	76.00	1.3 ^d	-0.0435	0.0435	-3.1345
11	183.5 ^e	5.66 ^f	204.0	1.3 ^d	-0.106	0.106	-2.2487
12	187.6	3.97	226.0	1.3 ^d	-0.186	0.186	-1.6827
13	209.9	4.68	204.0	1.3 ^d	0.0284	0.0284	-3.5631
14	216.3 ^e	5.66 ^f	226.0	1.3 ^d	-0.0440	0.0440	-3.1245
15	233.5	6.14	257.0	1.3 ^d	-0.0957	0.0957	-2.3467
16	245.9 ^e	5.66 ^f	274.0	1.3 ^d	-0.108	0.108	-2.2262
17	248.0 ^e	5.66 ^f	257.0	1.3 ^d	-0.0357	0.0357	-3.3326
18	255.9	8.85	274.0	1.3 ^d	-0.0682	0.0682	-2.6849
19	364.6 ^e	5.66 ^f	368.6	2.1	-0.0110	0.0110	-4.5142
20	371.5	4.03	368.6	2.1	0.00785	0.00785	-4.8476
21	1137	5.69	1462	1.3 ^d	-0.250	0.250	-1.3859
<i>N</i>		16		6 ^g	21	21	21
<i>Media</i>		5.66		1.68	0.00410	0.116	-2.6444
σ		1.74		0.662	0.166	0.116	1.1009
<i>LCL(95%)</i>		4.74		0.989	-0.0716	0.0637	-3.1456
<i>UCL(95%)</i>		6.59		2.38	0.0798	0.169	-2.1433

- (a) Per le condizioni operative utilizzate, cfr. Tabelle E.1 per l'ISS e B.1 per l'ENEL. I livelli di PCB sono in mg/kg di fluido dielettrico; tutti i valori sono espressi in un formato unico a quattro cifre.
- (b) L'ISS ha analizzato due volte, in modo indipendente, cinque reperti. Il doppio rilevamento è identificato dai seguenti abbinamenti (il primo numero identifica il primo rilevamento): 12-14; 13-11; 15-17; 18-16; 20-19. L'intera tabella è stata ordinata secondo l'ordine crescente dei risultati dell'ISS.
- (c) Elaborazioni basate sulla definizione di $\Delta = (Z - W) \times [0.5(Z + W)]^{-1}$. Nelle Colonne 7 e 8 vengono riportati i rispettivi valori assoluti e la correlata log-trasformazione.
- (d) CV% indicativo stimato in base al modello interpolativo presentato in Figura F.1.
- (e) Rilevamenti da misurazioni singole.
- (f) CV% indicativo sulla base della stima media ottenuta dagli altri 16 rilevamenti.
- (g) Analisi basata sui risultati di sette rilevamenti eseguiti mediante misurazioni ripetute. Il dato più alto è stato in seguito considerato aberrante (cfr. anche Figura F.1) ed escluso dal calcolo.

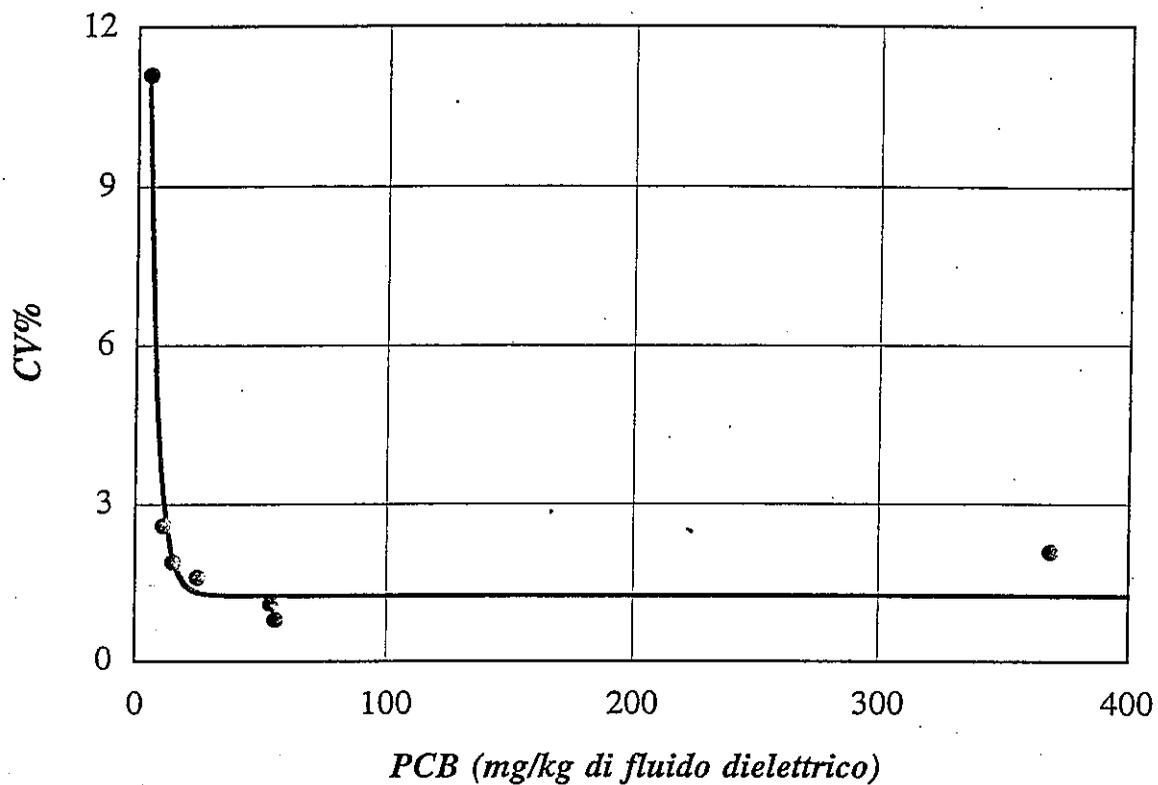


Figura F.1. Rappresentazione mediante il modello empirico $Y = k_0 \exp(-k_1 X) + k_2$ della distribuzione dei CV% (Y) associati a sette referti dell'ENEL in funzione dei livelli di PCB (X) rilevati nei referti analizzati (cfr. Tabella F.1, Colonne 4 e 5). In base al metodo dei "minimi quadrati", la migliore interpolazione è conseguita con i seguenti parametri: $k_0 = 30.18$; $k_1 = 0.2497$; $k_2 = 1.253$.

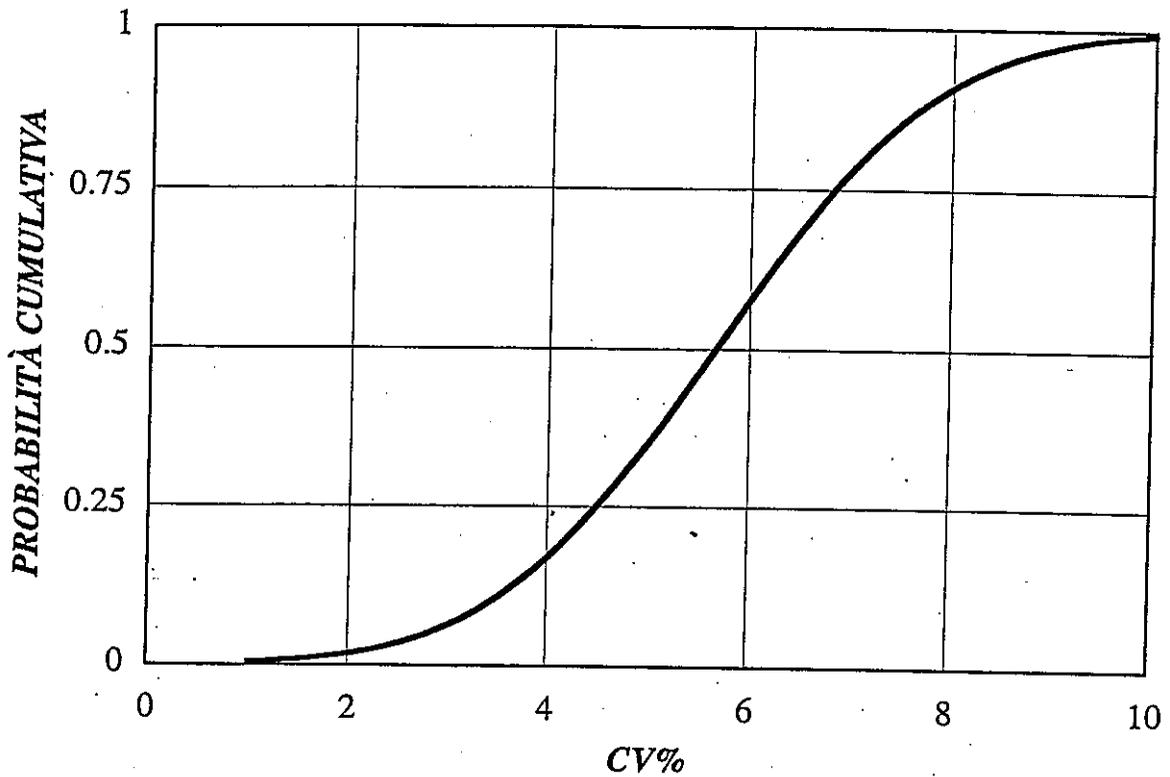


Figura F.2. Curva di probabilità cumulativa dei CV% sperimentali di 16 rilevamenti (Z) eseguiti dall'ISS su altrettanti reperti di fluidi dielettrici contenenti PCB (cfr. Tabella F.1, Colonna 3). Ciascun punto della curva rappresenta la probabilità di avere, per ogni singola determinazione, un valore di CV% pari o inferiore a quello corrispondente all'ascissa del punto stesso. Per esempio, le frequenze attese di valori di CV% inferiori al 3.0 e al 7.5 % sono rispettivamente pari al 6.3 e all'85 %.

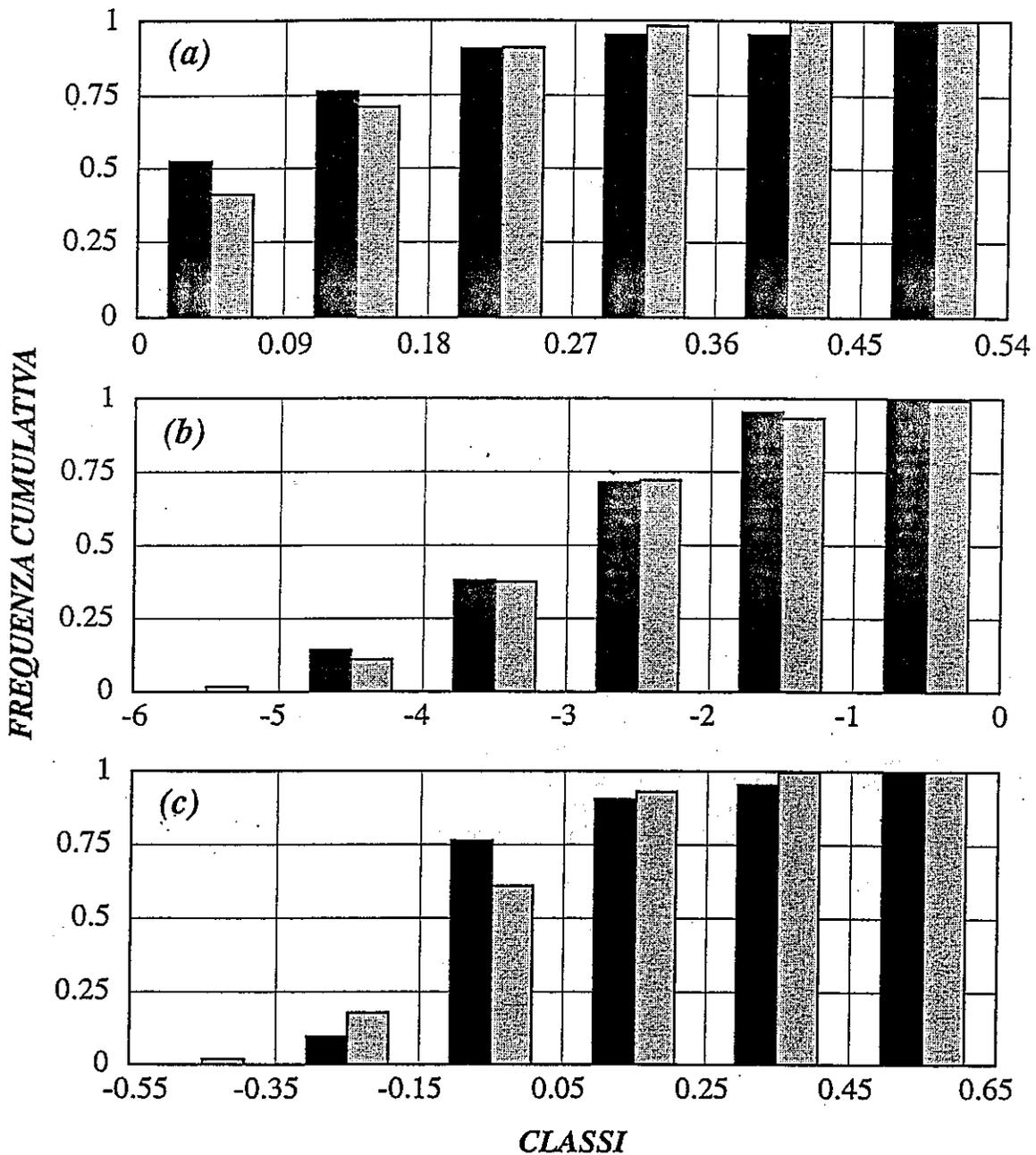


Figura F.3. Distribuzioni delle frequenze cumulative di $\Delta = (Z - W) \times [0.5(Z + W)]^{-1}$, gli scarti relativi associati alle coppie di risultati Z-W: le due quantità sono rispettivamente il referto analitico dell'ISS e quello dell'ENEL (cfr. Tabella F.1), stime indipendenti del livello di PCB in un dato reparto di fluido dielettrico. In (a) si osserva l'andamento dei valori assoluti di Δ (cfr. Tabella F.1, Colonna 7), log-trasformati in (b) (cfr. Tabella F.1, Colonna 8). La distribuzione di frequenza cumulativa di Δ è mostrata in (c) (cfr. Tabella F.1, Colonna 6). Nei tre grafici, le distribuzioni sperimentali (■) sono messe a confronto con quelle teoriche (▨): in tutti i casi, esse non sono significativamente differenti da una distribuzione normale. La distribuzione dei valori log-trasformati (grafico (b)) è quella che presenta il più alto livello di normalità.

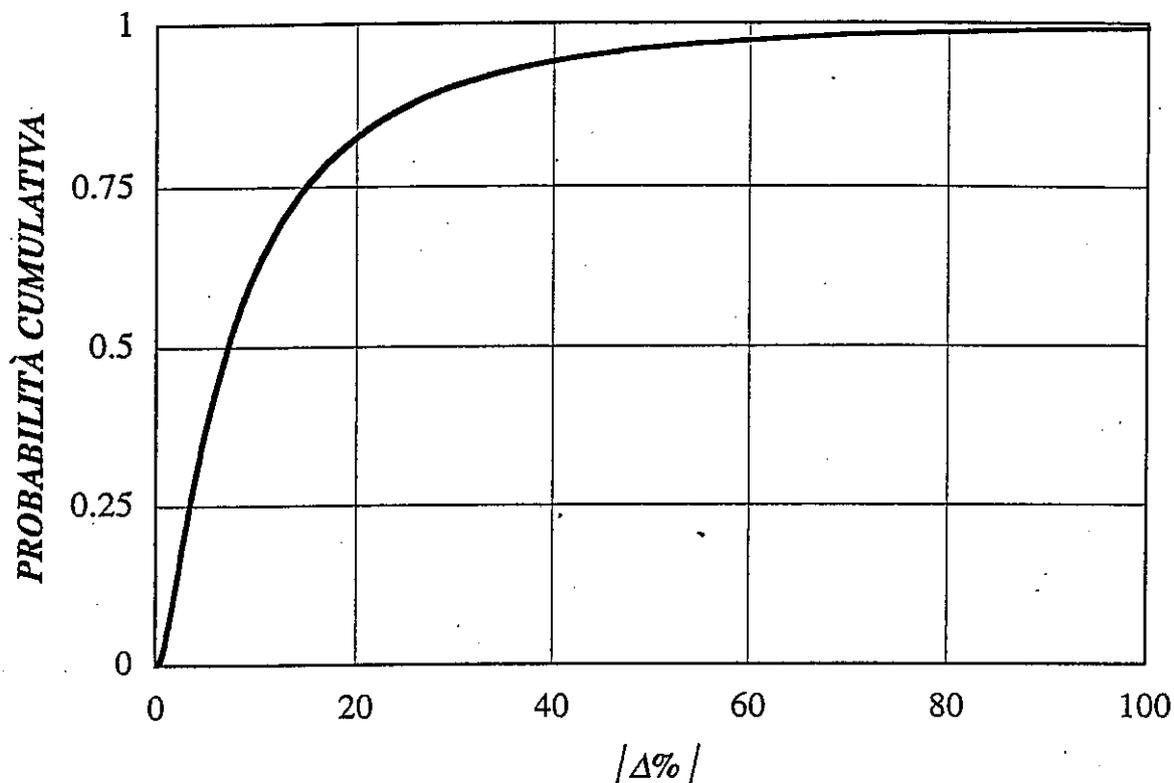


Figura F.4. Curva di probabilità cumulativa degli scarti relativi, assoluti e percentualizzati, associati alle 21 coppie di valori sperimentali Z-W precedentemente definiti (cfr. Tabella F.1, Colonne 6-8, e Figura F.3). Ciascun punto della curva rappresenta la probabilità di avere, per ogni singola determinazione, un valore di $|\Delta\%|$ pari o inferiore a quello corrispondente all'ascissa del punto stesso. Per esempio, le frequenze attese di valori di $|\Delta\%|$ inferiori al 20 e al 50 % sono rispettivamente pari all'83 e al 96 %. La curva è calcolata sulla base dell'insieme dei dati log-trasformati.

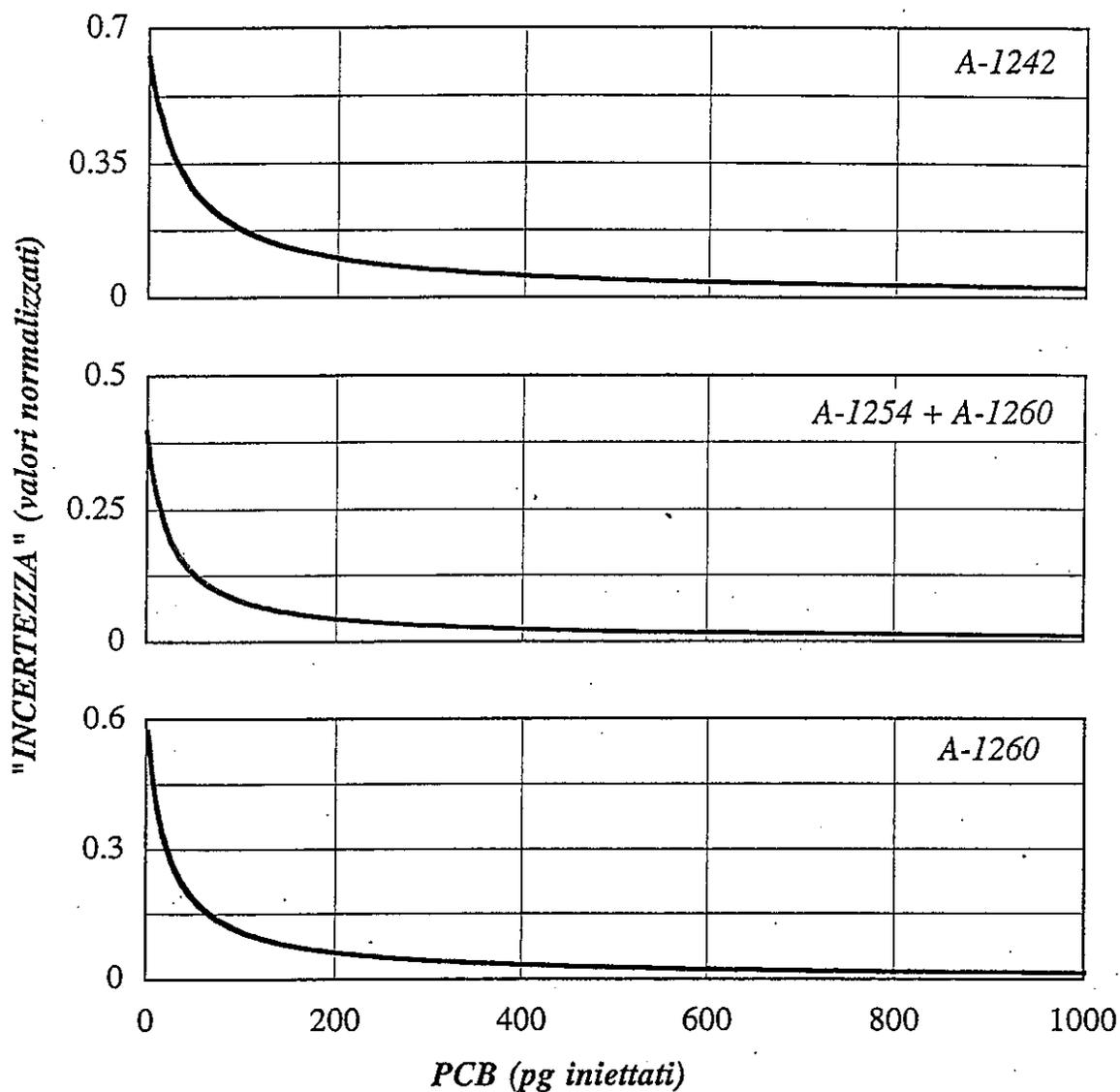


Figura F.5. Con riferimento alle equazioni in Figura D.1, i grafici mostrano l'andamento del contributo relativo dell'"incertezza" associata al termine noto (come $\delta(95\%)$) all'"incertezza" totale, in funzione della quantità d'analita effettivamente iniettata. Per esempio, secondo i rilevamenti ENEL, per gli Aroclor 1242, 1254 + 1260 (1:1, p/p), e 1260, tali contributi cadono al disotto del 15 % per quantità iniettate rispettivamente non inferiori a 120, 39, e 66 pg, riducendosi progressivamente per quantità maggiori.

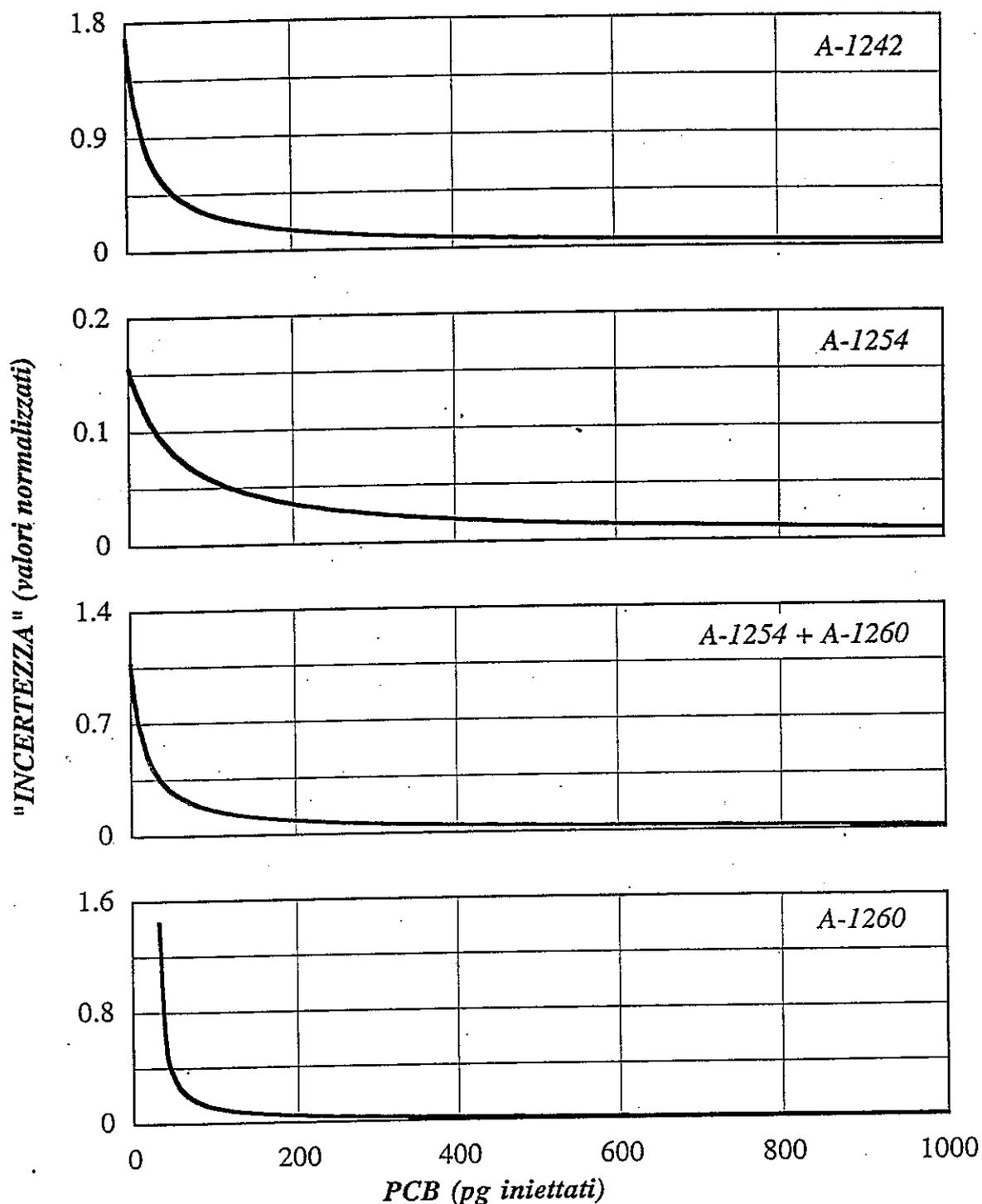


Figura F.6. Con riferimento alle equazioni in Figura E.1, i grafici mostrano l'andamento del contributo relativo dell'"incertezza" associata al termine noto (come $\delta(95\%)$) all'"incertezza" totale, in funzione della quantità d'analita effettivamente iniettata. Per esempio, secondo i rilevamenti ISS, per gli Aroclor 1242, 1254, 1254 + 1260 (1:1, p/p), e 1260, tali contributi cadono al di sotto del 15 % per quantità iniettate rispettivamente non inferiori a 210, ca. 2, 100, e 77 pg, riducendosi progressivamente per quantità maggiori.

APPENDICE G

PCT: Aroclor 5432, 5442, e 5460
Esempi di linearità di risposta strumentale

Tabella G.1. Studio effettuato dall'ISS sulla linearità di risposta di diversi *standard* di PCT iniettati in un sistema strumentale HRGC(ECD). X e <Y> rappresentano, rispettivamente, la quantità iniettata e la risposta strumentale normalizzata (medie di più misurazioni).

X ^a (pg)	N	$\frac{D_{10}CB^b \langle Y \rangle^c}{(\text{count} \times 10^{-7})}$				$\frac{D_{10}CB^d \langle Y \rangle^e \delta(95\%)^f}{(\text{count} \times 10^{-7})}$		
				σ_Y	CV%			
Aroclor 5432								
63.0	5	1.05	1.043	0.043	4.1	1	0.993	0.033
125	5	1.05	1.88	0.10	5.4	1	1.787	0.077
250	4	1.05	3.90	0.14	3.7	1	3.71	0.11
500	4	1.05	7.03	0.25	3.5	1	6.69	0.19
Aroclor 5442								
63.0	5	1.08	1.745	0.029	1.6	1	1.616	0.021
125	4	1.08	2.548	0.086	3.4	1	2.360	0.064
250	4	1.08	3.77	0.12	3.1	1	3.492	0.088
500	4	1.08	6.10	0.12	1.9	1	5.652	0.087
Aroclor 5460								
63.0	6	1.30	1.101	0.040	3.6	1	0.847	0.024
125	7	1.30	2.38	0.18	7.4	1	1.83	0.11
250	7	1.30	5.51	0.36	6.5	1	4.24	0.22
500	5	1.30	11.10	0.80	7.2	1	8.54	0.49

(a) Quantità iniettate.

(b) Valori di riferimento intra-gruppo, PCT-specifici, dello SI.

(c) Risposte medie GC normalizzate sul riferimento (SI) intra-gruppo.

(d) Valore di riferimento inter-gruppo dello SI.

(e) Risposte medie GC normalizzate sul riferimento (SI) inter-gruppo.

(f) Emiampiezza dell'intervallo fiduciale ($P = 95\%$).

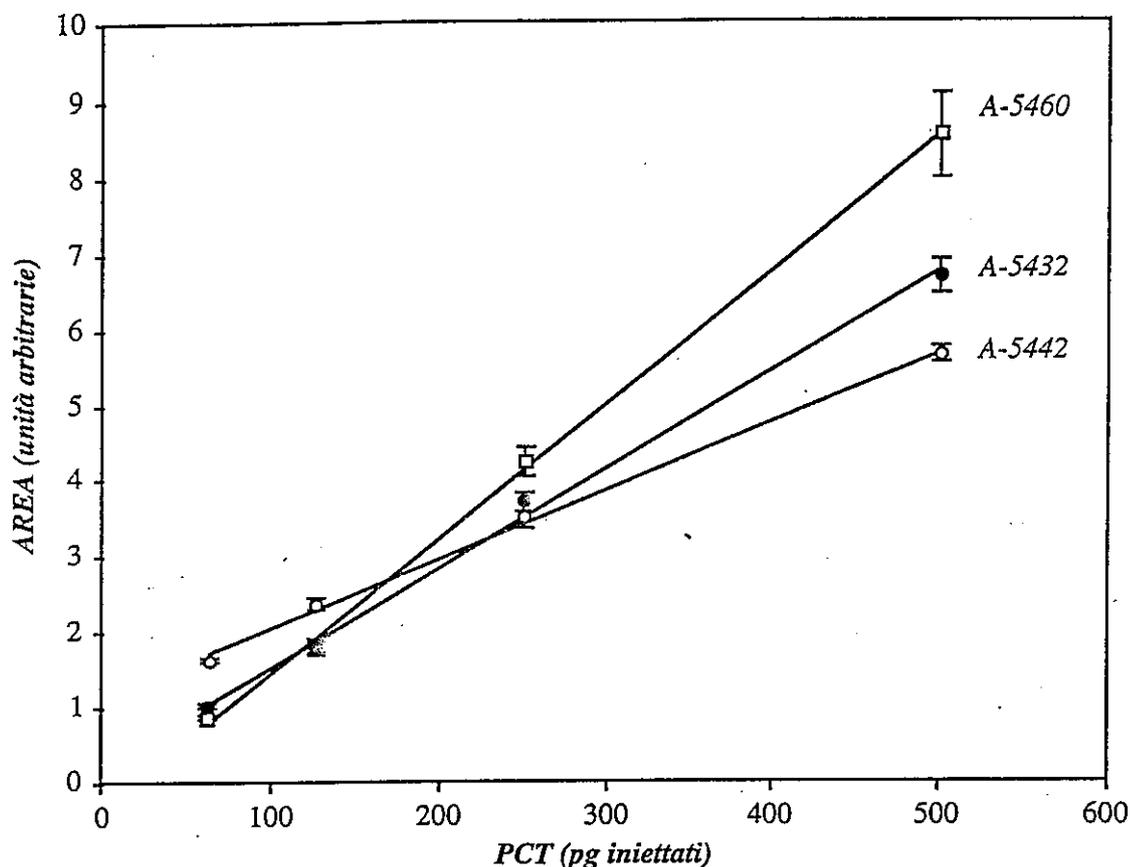


Figura G.1. Studio eseguito presso l'ISS delle correlazioni tra le aree cumulative (in unità arbitrarie ($\times 10^{-7}$)) e le quantità (pg) di PCT *standard* (Aroclor 5432, 5442, e 5460) iniettate in un sistema strumentale HRGC(ECD) (per le condizioni operative e i dati originali, cfr. Tabelle E.1 e G.1). Ogni gruppo di dati (aree cumulative in *count*) PCT-specifico è stato normalizzato su uno stesso valore sperimentale di riferimento intra-gruppo del $D_{10}CB$ (per i diversi Aroclor, rispettivamente: 1.05×10^7 , 1.08×10^7 , e 1.30×10^7 *count*). Successivamente, per agevolare la comparabilità delle diverse regressioni lineari, tutti i dati così trattati sono stati ulteriormente normalizzati assumendo uguale a 1×10^7 *count* il valore di riferimento associato al $D_{10}CB$. Nel grafico sono visibili i punti sperimentali normalizzati (stime medie e intervalli fiduciali ($P = 95\%$)) e le rette di regressione. Le regressioni lineari effettuate sono risultate altamente significative e hanno fornito le seguenti equazioni (in parentesi, stime medie e pertinenti limiti fiduciali ($P = 95\%$)):

$$A-5432 \quad Y = (0.01313 \pm 0.00054) X + (0.21 \pm 0.15) \\ N = 18 \quad R = 0.997 \quad F(1, 16) = 2609 \quad P_F \ll 0.001$$

$$A-5442 \quad Y = (0.00782 \pm 0.00030) X + (0.972 \pm 0.085) \\ N = 17 \quad R = 0.998 \quad F(1, 15) = 3021 \quad P_F \ll 0.001$$

$$A-5460 \quad Y = (0.01776 \pm 0.00083) X - (0.30 \pm 0.22) \\ N = 25 \quad R = 0.994 \quad F(1, 23) = 1979 \quad P_F \ll 0.001$$

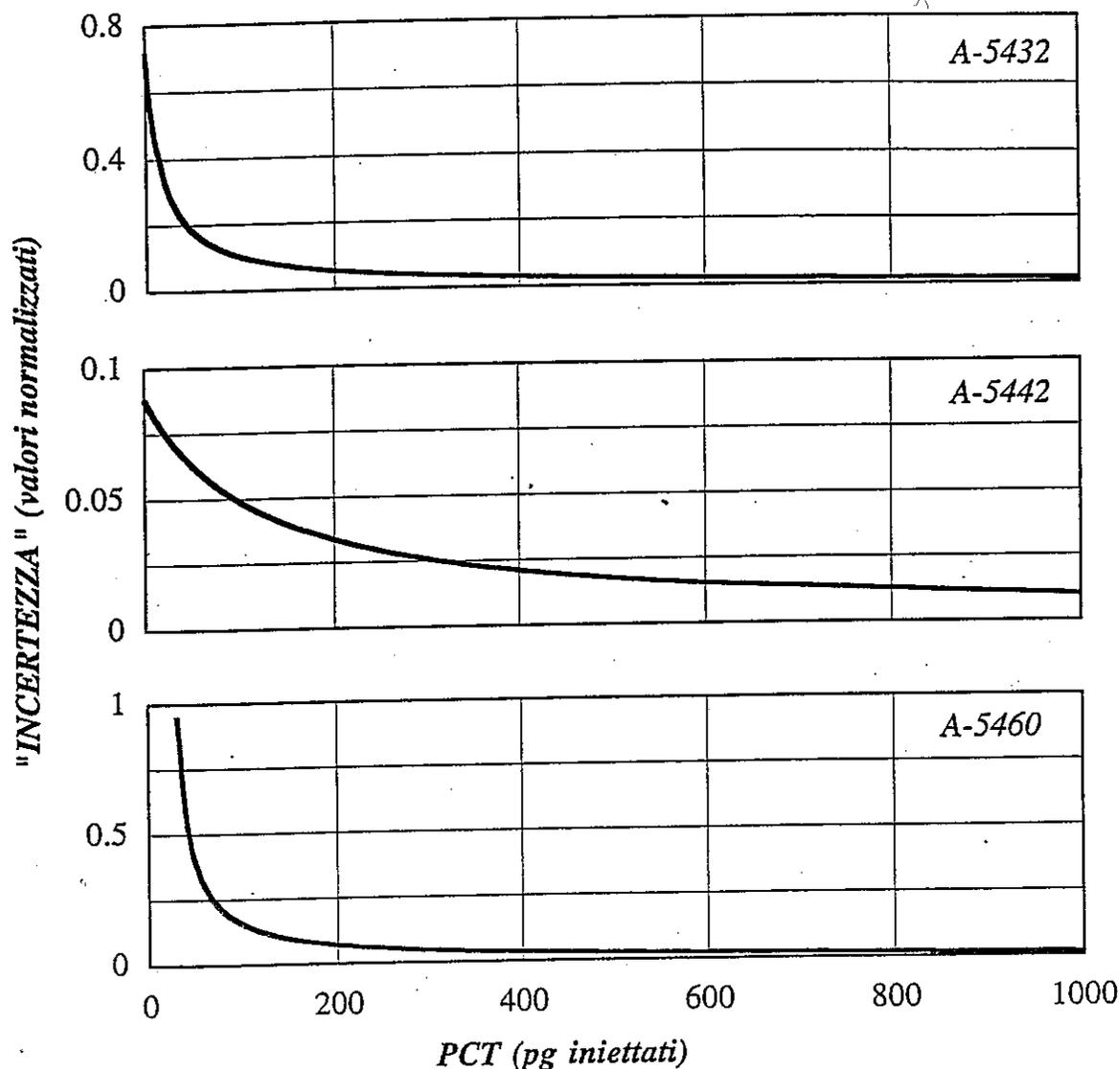


Figura G.2. Con riferimento alle equazioni in Figura G.1, i grafici mostrano l'andamento del contributo relativo dell'"incertezza" associata al termine noto (come $\delta(95\%)$) all'"incertezza" totale, in funzione della quantità d'analita effettivamente iniettata. Per esempio, secondo i rilevamenti ISS, per gli Aroclor 5432 e 5460, tali contributi cadono al di sotto del 15 % per quantità iniettate rispettivamente non inferiori a 60 e 99 pg, riducendosi progressivamente per quantità maggiori. Per l'Aroclor 5442, il valore del contributo relativo predetto risulta essere sempre inferiore al 15 %.

*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 1999 (n. 4) 9° Suppl.

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