

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Metodi analitici per le acque
destinate al consumo umano
Volume secondo.**

Parte 1. Metodi chimici

A cura di
Massimo Ottaviani e Lucia Bonadonna
Laboratorio di Igiene Ambientale

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN
00/14 Pt.1**

*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, giugno 2000 (n. 2) 2° Suppl.

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

Istituto Superiore di Sanità

Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano. Volume 2. Parte 1. Metodi chimici.

A cura di Massimo Ottaviani e Lucia Bonadonna

2000, xi, p. 1-223 Rapporti ISTISAN 00/14 Pt. 1

Il manuale raccoglie i metodi analitici di riferimento per la determinazione dei parametri chimici e microbiologici inseriti nel “controllo occasionale C₄” dell’Allegato I del DPR 236/88. La presente raccolta di metodi, elaborati nell’ambito della Seconda Sottocommissione del Comitato permanente di Studio sulle acque (ex art. 9, DM 26 marzo 1991), istituita presso il Ministero della Sanità, si aggiunge alla precedente (*Rapporti ISTISAN 97/8*) concernente i parametri elencati nei controlli C₁, C₂ e C₃.

Parole chiave: Acque potabili, Metodi analitici, Metodi chimici.

Istituto Superiore di Sanità

Analytical methods for drinking water. Volume 2. Part 1. Chemical methods.

Edited by Massimo Ottaviani and Lucia Bonadonna

2000, xi, p. 1-223 Rapporti ISTISAN 00/14 Pt. 1 (in Italian)

This guidebook reports reference analytical methods for the determination of chemical and microbiological parameters included in the “occasional control C₄” of the Annex I of the Decree 236/88 of the President of Italian Republic. The present collection of methods, which were elaborated by the Second Subcommittee of the Permanent Study Committee (ex-article 9 of the Italian Ministerial Decree of March 26, 1991) established at the Ministry of Health, follows a previous report (*Rapporti ISTISAN 97/8*) relating to the parameters of controls C₁, C₂ and C₃.

Key words: Analytical methods, Chemical methods, Drinking water.

I metodi analitici per le acque destinate al consumo umano (Volume 1 e 2) sono disponibili anche in Internet in formato PDF all’indirizzo: <http://www.iss.it>

INTRODUZIONE

Il DPR 236/88, relativo all'attuazione della Direttiva CEE 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, nell'Allegato III, elenca i metodi analitici di riferimento per i parametri organolettici, fisici, chimico-fisici, chimici e microbiologici. Al fine di elaborare in modo omogeneo i metodi analitici stabiliti dalla legislazione, è stata istituita una 2^a Sottocommissione di Studio presso il Ministero della Sanità nell'ambito del Comitato Permanente di Studio (CPS) sulle acque (ex art. 9, DM 26 marzo 1991). Tale Sottocommissione ha coinvolto sia esperti del Ministero e dell'Istituto Superiore di Sanità sia esperti e tecnici appartenenti a differenti istituzioni nazionali (Università, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Presidi Multizonali di Prevenzione, Aziende Regionali per la Prevenzione e l'Ambiente, Aziende Acquedottistiche).

Nel 1997 la 2^a Sottocommissione di Studio ha prodotto una raccolta di metodi (Rapporto ISTISAN 97/8) per la determinazione dei parametri inseriti nel “controllo minimo C_1 ”, nel “controllo normale C_2 ” e nel “controllo periodico C_3 ”, così come prescritto nell'Allegato I del DPR 236/88. In questo secondo elaborato sono stati raccolti i metodi analitici dei restanti parametri appartenenti al “controllo occasionale C_4 ”. Inoltre sono stati revisionati e/o aggiunti metodi analitici alternativi per alcuni parametri chimici del “controllo normale C_2 ” e del “controllo periodico C_3 ”. Per quanto concerne i parametri chimici del “controllo occasionale C_4 ” non sono stati elaborati metodi analitici per la determinazione di “anidride carbonica libera”, “ossigeno disciolto”, “silice” e “sostanze estraibili in cloroformio”, poiché tali parametri attualmente sono ritenuti poco indicativi dal punto di vista igienico-sanitario e per alcuni di essi i metodi analitici attualmente in uso non sembrano essere idonei per il raggiungimento delle finalità previste dalla legge. Per i parametri “fenoli”, “idrocarburi disciolti ed emulsionati”, “antimonio” e “cianuri” i metodi proposti dai relativi Sottogruppi di Lavoro non sono stati completamente condivisi da tutta la Sottocommissione, per cui la loro stesura sarà curata in un prossimo futuro. Nel caso di alcuni parametri microbiologici, per i quali era disponibile più di una procedura analitica, è stato proposto più di un metodo, ciascuno elaborato anche in funzione delle nuove acquisizioni tecniche e scientifiche e degli aggiornamenti segnalati in ambito internazionale (APHA, EPA) o inseriti nelle linee guida dall'OMS. Inoltre introdotto un capitolo riguardante le “buone pratiche di laboratorio”, comprendente anche una sezione relativa al controllo della ripetibilità del metodo.

I metodi riportati vogliono essere uno strumento applicativo di riferimento utile alla pianificazione e all'unificazione delle procedure analitiche per tutte le strutture che operano nel settore del controllo della qualità delle acque destinate al consumo umano. Per tale motivo, nella stesura dei metodi di analisi, sono state selezionate le tecniche strumentali maggiormente utilizzate dalle strutture operanti nel campo del controllo della qualità delle acque. Ne consegue che alcune tecniche analitiche non sono state prese in considerazione nei metodi proposti; ciò non significa che tali tecniche non possano essere utilizzate da quelle strutture e/o laboratori dotati di capacità operative e professionali adeguate.

L'evoluzione delle conoscenze scientifiche e lo sviluppo di nuove tecniche strumentali utilizzate nel settore potranno determinare un'inadeguatezza dei metodi proposti. Pertanto sarà effettuato un aggiornamento dei metodi in base alle esperienze applicative e di validazione nel frattempo maturate e degli eventuali suggerimenti che perverranno alla Sottocommissione da parte degli operatori e degli esperti del settore.

Recentemente (ottobre '99) il Comitato Permanente di Studio ha riconfermato il mandato alla 2^a Sottocommissione di Studio per cui i lavori della stessa proseguiranno sia per aggiornare che per integrare i metodi con quanto previsto dalla nuova direttiva europea sulle acque destinate al consumo umano (Direttiva CE 89/98).

Infine, si ritiene opportuno evidenziare che, ai soli fini dell'espressione del dato, il risultato analitico debba essere ricondotto alle stesse cifre significative previste dalle CMA del DPR 236/88 indipendentemente dalla sensibilità della tecnica analitica utilizzata. Il DPR 236/88 è, infatti, una legge sanitaria ed in tale ambito l'eventuale arrotondamento dei risultati sperimentali non comporta nessuna implicazione di carattere tossicologico.

La Sottocommissione ringrazia UNICHIM per l'apporto e la collaborazione forniti.

Il Coordinatore della 2^a Sottocommissione
del Comitato Permanente di Studio
Dott. Massimo Ottaviani

**METODI PER LA DETERMINAZIONE
DEI PARAMETRI CHIMICI**

DETERMINAZIONE DEI RESIDUI DI PRODOTTI FITOSANITARI (ANTIPARASSITARI). METODO PER ESTRAZIONE IN FASE SOLIDA C-18 E ANALISI GASCROMATOGRAFICA CON RIVELATORI SELETTIVI

0. Generalità e definizioni

I prodotti fitosanitari sono le sostanze attive o i preparati contenenti una o più sostanze attive utilizzate per la lotta contro i parassiti delle piante e nel controllo delle infestanti nella pratica agronomica.

I residui di questi prodotti (le sostanze attive ed i loro eventuali prodotti di degradazione) possono inquinare le acque superficiali e sotterranee in relazione alla loro solubilità, mobilità nel terreno e persistenza.

Le concentrazioni che vengono generalmente riscontrate nelle acque contaminate sono comprese fra 0,01 µg/L (comunemente considerato come limite di rivelabilità) e 10 µg/L.

1. Campo di applicazione

Il metodo consente l'analisi di un elevato numero di residui di sostanze attive contenute nei prodotti fitosanitari (erbicidi, insetticidi, acaricidi, fungicidi ecc.) nelle acque sotterranee, sorgive, superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Il metodo è applicabile ad un elevato numero di sostanze attive ed in un ampio intervallo di concentrazione.

In Tabella 1 è riportato un elenco indicativo di sostanze attive che possono essere determinate con il presente metodo, il numero CAS, la sensibilità ai rivelatori selettivi e gli ioni più significativi per l'analisi mediante spettrometria di massa.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione gascromatografica con rivelatori selettivi (NPD, ECD, MS) delle sostanze attive, dopo che queste sono state estratte dall'acqua mediante cartucce o dischi (estrazione in fase solida) contenenti C-18 (fase organica a base di gruppi ottadecilici legata chimicamente ad un supporto inerte).

3. Interferenze e cause di errori

Le maggiori fonti di contaminazione ed interferenza possono derivare dai solventi, dai reagenti, dalla vetreria e dai materiali plastici utilizzati, dalle stesse cartucce o dischi di estrazione in fase solida.

Si raccomanda pertanto l'adozione di particolari precauzioni finalizzate a ridurre questi inconvenienti.

Tabella 1. *Elenco di alcuni antiparassitari determinabili con il presente metodo.*

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni	MS
ALACLOR	15972-60-8	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	269	X	X	160 188 146	238
ALDRIN	309-00-2	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	362	O	X	66 261 263	265
ALFAMETRINA	67375-30-8	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	415	X	X	163 165 181	209
AMETRINA	834-12-8	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	227	X	O	227 212 170	185
ATRAZINA	1912-24-9	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215	X	X	200 202 215	217
AZINFOS-ETILE	2642-71-9	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS ₂	345	X	X	132 160 77	105
AZINFOS-METILE	86-50-0	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317	X	X	77 160 132	105
BENALAXIL	71626-11-4	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325	X	O	148 206 204	176
BENFLURALIN	1861-40-1	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	335	X	X	292 264 145	318
BENZOILPROP ETILE	22212-55-1	C ₁₈ H ₁₇ Cl ₂ NO ₃	365	X	X	105 77 292	
BITERTANOLO	55179-31-2	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	337	X	X	170 168 171	112
BROMOFOS-ETILE	4824-78-6	C ₁₀ H ₁₂ BrCl ₂ O ₃ PS	392	X	X	357 359 301	303
BROMOFOS-METILE	2104-96-3	C ₈ H ₈ BrCl ₂ O ₃ PS	364	X	X	329 331 333	125
BROMOPROPILATO	18181-80-1	C ₁₇ H ₁₆ Br ₂ O ₃	426	O	X	339 341 183	185
CARBOFENOTION	786-19-6	C ₁₁ H ₁₆ ClO ₂ PS ₃	342	X	X	157 159 121	153
CARBOFURAN	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221	X	X	164 149 122	121
CIANAZINA	21725-46-2	C ₉ H ₁₃ ClN ₆	240	X	X	225 227 172	198
CICLOATE	1134-23-2	C ₁₁ H ₂₁ NOS	215	X	O	83 154 215	
CLORFENSON	80-33-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ O ₃ S	302	O	X	175 177 111	113
CLORFENVINFOS	470-90-6	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	358	X	X	267 269 323	325
CLOROTALONIL	1897-45-6	C ₈ Cl ₄ N ₂	264	X	X	264 266 268	133
CLORPIRIFOS	2921-88-2	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	349	X	X	197 199 314	316
CLORPIRIFOS-METILE	5598-13-0	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	321	X	X	286 288 125	109
CLORPROFAM	101-21-3	C ₁₀ H ₁₂ ClNO ₂	213	X	X	127 129 213	215
CLORTAL DIMETILE	1861-32-1	C ₁₀ H ₆ Cl ₄ O ₄	330	O	X	299 301 303	332
CLORTOLURON	15545-48-9	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂ O	212	X	X	72 212 214	
DDD op'	53-19-0	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	318	O	X	235 237 165	199
DDD pp'	72-54-8	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	318	O	X	235 237 165	199
DDE op'	3424-82-6	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	316	O	X	246 248 316	318
DDE pp'	72-55-9	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	316	O	X	246 248 316	318
DDT op'	784-02-6	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	352	O	X	235 237 165	199
DDT pp'	50-29-3	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	352	O	X	235 237 165	199
DIAZINONE	333-41-5	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304	X	X	179 137 152	304
DICLOBENIL	1194-65-6	C ₇ H ₃ Cl ₂ N	171	X	X	171 173 100	136
DICLOFLUANIDE	1085-98-9	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂	332	X	X	123 167 224	226
DIELDRIN	60-57-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	378	O	X	79 263 277	237
DIMETAFLOR	50563-36-5	C ₁₃ H ₁₈ ClNO ₂	255	X	X	134 197 199	
DINITRAMINA	29091-05-2	C ₁₁ H ₁₃ F ₃ N ₄ O ₄	322	X	X	305 307 261	232
ENDOSULFAN alfa	959-98-7	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	404	O	X	195 237 239	241
ENDOSULFAN beta	33213-65-3	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	404	O	X	195 237 239	241
ENDOSULFAN solfato	1031-07-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	420	O	X	270 272 274	237
ENDRIN	72-20-8	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	378	O	X	261 263 265	243

(continua)

Tabella 1 (segue).

SOSTANZA ATTIVA	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni	MS
EPTACLORO	76-44-8	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	370	O	X	100 270	272 274
EPTENOFOS	23560-59-0	C ₉ H ₁₂ ClO ₄ P	250	X	X	124 126	89 215
ESACONAZOLO	79983-71-4	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	313	X	X	83 214	216 231
ETION	563-12-2	C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄	384	X	X	97 231	153 125
ETOPROFOS	13194-48-4	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	242	X	X	158 97	126 200
FENAMIFOS	22224-92-6	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	303	X	O	154 303	217 260
FENARIMOL	60168-88-9	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	330	X	X	139 141	251 253
FENCLORFOS	299-84-3	C ₈ H ₈ Cl ₃ O ₃ PS	320	X	X	285 287	125 109
FENITROTION	122-14-5	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	277	X	X	125 109	277 260
FENSON	80-38-6	C ₁₂ H ₉ ClO ₃ S	268	O	X	77 141	268 270
FENTION	55-38-9	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	278	X	O	278 125	109 169
FENTOATO	2597-03-7	C ₁₂ H ₁₇ O ₄ PS ₂	320	X	X	274 125	121 93
FLAMPROP ISOPROPILE	52756-22-6	C ₁₉ H ₁₉ ClFNO ₃	363	X	X	105 77	276
FLUVALINATE	69409-94-5	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃	502	X	X	250 252	209 181
FORATE	298-02-2	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	260	X	X	75 121	97 93
FOSALONE	2310-17-0	C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂	367	X	X	182 184	121 97
FOSFAMIDONE	13171-21-6	C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P	299	X	X	127 264	72 138
FOSMET	732-11-6	C ₁₁ H ₁₂ NO ₄ PS ₂	317	X	X	160 161	104 76
FURALAXIL	57646-30-7	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301	X	O	95 242	152
IPRODIONE	36734-19-7	C ₁₃ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ O ₃	329	X	X	314 316	187 189
ISOFENFOS	25311-71-1	C ₁₅ H ₂₄ NO ₂ PS	345	X	X	213 121	185 255
ISOPROPALIN	33820-53-0	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄	309	X	X	280 238	264 309
LINDANO	58-89-9	C ₆ H ₆ Cl ₆	288	O	X	181 183	217 219
LINURON	330-55-2	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	248	X	X	61 248	250 160
MALATION	121-75-5	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330	X	X	127 125	173 158
METALAXIL	57837-19-1	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279	X	O	206 160	192 132
METAZACLOR	67129-08-2	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O	277	X	X	81 132	133 134
METIDATION	950-37-8	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	302	X	X	145 85	93 125
METABENZTIAZURON	18691-97-9	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	221	X	O	164 135	
METOBROMURON	3060-89-7	C ₉ H ₁₁ BrN ₂ O ₂	258	X	X	61 258	260 170
METOLACLOR	51218-45-2	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	283	X	X	162 238	240 146
METOPROTRINA	841-06-5	C ₁₁ H ₂₁ N ₅ OS	271	X	O	256 213	226 271
MICLOBUTANIL	88671-89-0	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	288	X	X	179 181	150 152
MOLINATE	2212-67-1	C ₉ H ₁₇ NOS	187	X	O	126 55	83 187
NITROTAL ISOPROPILE	10552-74-6	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	295	X	X	236 194	212 254
NUARIMOL	63284-71-9	C ₁₇ H ₁₂ ClFN ₂ O	314	X	X	235 237	314 316
OXADIAZON	19666-30-9	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	344	X	X	175 177	258 262
OXADIXIL	77732-09-3	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	278	X	X	163 132	233 278
OXIFLUORFEN	42874-03-3	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	361	X	X	252 361	363 300
PARATION	56-38-2	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291	X	X	97 109	291 139
PARATION-METILE	298-00-0	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	264	X	X	109 125	263 93

(continua)

Tabella 1 (segue).

SOSTANZA ATTIVA	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni	MS
PENCONAZOLO	66246-88-6	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	283	X	X	159 161 248	250
PENDIMETALIN	40487-42-1	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281	X	X	252 162 192	281
PERMETRINA	52645-53-1	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	390	O	X	183 163 165	127
PIRAZOFOS	13457-18-6	C ₁₄ H ₂₀ N ₃ O ₅ PS	373	X	X	221 232 237	373
PIRIDAFENTION	119-12-0	C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	340	X	X	199 340 125	188
PIRIMICARB	23103-98-2	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	238	X	O	166 72 238	123
PIRIMIFOS-METILE	29232-93-7	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	305	X	X	290 276 305	233
PROCIMIDONE	32809-16-8	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	283	X	X	96 67 283	285
PROCLOLAZ	67747-09-5	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	375	X	X	144 130 145	102
PROFAM	122-42-9	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179	X	O	93 179 137	120
PROFENOFOS	41198-08-7	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	372	X	X	206 208 139	339
PROMETON	1610-18-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	210 225 183	168
PROMETRINA	7287-19-6	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241	X	O	184 241 226	199
PROPACLOR	1918-16-7	C ₁₁ H ₁₄ ClNO	211	X	X	120 176 211	213
PROPAZINA	139-40-2	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229	X	X	214 216 229	231
PROPICONAZOLO	60207-90-1	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	341	X	X	173 175 259	261
PROPIZAMIDE	23950-58-5	C ₁₂ H ₁₁ Cl ₂ NO	255	X	X	173 175 255	257
QUINALFOS	13593-03-8	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ PS	298	X	X	146 157 156	298
SECBUMETON	26259-45-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	196 169 225	210
SIMAZINA	122-34-9	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201	X	X	201 203 186	188
TERBUFOS	13071-79-9	C ₉ H ₂₁ O ₃ PS ₃	288	X	X	231 153 288	186
TERBUMETON	33693-04-8	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	169 210 154	225
TERBUTILAZINA	5915-41-3	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229	X	X	214 216 173	175
TERBUTILAZINA DESETIL		C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201	X	O	186 188 201	
TERBUTRINA	886-50-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241	X	O	185 226 170	241
TETRACLORVINFOS	22248-79-9	C ₁₀ H ₉ Cl ₄ O ₄ P	364	X	X	329 331 333	109
TETRADIFON	116-29-0	C ₁₂ H ₆ Cl ₄ O ₂ S	354	O	X	354 356 159	161
TIOCARBAZIL	36756-79-3	C ₁₆ H ₂₅ NOS	279	X	O	91 100 156	279
TOLCLOFOS METILE	57018-04-9	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ O ₃ PS	300	X	X	265 267 125	93
TRIADIMEFON	43121-43-3	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	293	X	X	57 208 210	128
TRIADIMENOL	55219-65-3	C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂	295	X	X	112 168 128	130
TRIAZOFOS	24017-47-8	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	313	X	O	161 162 172	257
TRIFLURALIN	1582-09-8	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	335	X	X	306 264 307	206
VINCLOZOLIN	50471-44-8	C ₁₂ H ₉ Cl ₂ NO ₃	285	X	X	212 214 285	287

PM: peso molecolare;
 O: non rivelato dal detector
 X: rivelato dal detector
 Ioni MS: masse di ioni caratteristici per l'analisi in GC-MS

Il materiale plastico delle cartucce di estrazione, dei tappi delle bottiglie di prelievo, dei puntali delle micropipette, dei tappi delle *vial*, ecc. può rilasciare, specialmente a seguito del contatto con i solventi, plastificanti ed altri additivi delle plastiche, come ad esempio ftalati, adipati, zolfo, solfonammidi, alchil- e aril-fostati, cloro-alchil-fosfati, siliconi, ecc.; gli stessi composti possono anche derivare da contaminazioni riconducibili alla cessione degli impianti e delle reti di distribuzione.

Tutto il materiale plastico dovrà quindi essere opportunamente testato prima dell'uso.

Se si fa uso di *vial* per autocampionatore si raccomandano tappi con guarnizione a doppio strato silicone-teflon; una volta forata la guarnizione, è raccomandata la sua sostituzione, se il campione dovesse essere conservato per successive analisi.

Una possibile fonte di contaminazione è rappresentata dall'uso di materiale che sia venuto a contatto con campioni contenenti alte concentrazioni di residui.

Tutta la vetreria utilizzata per l'analisi ed il prelievo deve essere meticolosamente lavata con detergenti per vetreria, risciacquata in successione con acqua, acqua distillata ed acetone.

I gas di trasporto per la gascromatografia e l'azoto utilizzato per l'evaporazione degli estratti devono essere esenti o a bassissimo tenore di ossigeno, acqua e composti organici volatili.

I solventi e gli altri reagenti devono avere grado di purezza idoneo per l'analisi dei residui.

L'analisi di bianchi consente di avere informazioni sulla presenza di eventuali contaminanti o interferenti.

Altre sostanze organiche coestratte insieme ai residui di prodotti fitosanitari, in modo particolare nel caso di acque superficiali, possono rappresentare una causa di interferenza.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

I campioni vengono prelevati in recipienti di vetro scuro e mantenuti in frigorifero fino al momento dell'analisi. I tempi di conservazione sono variabili e dipendono dalla sostanza attiva. In linea generale si consiglia di effettuare le determinazioni non oltre i 15 giorni.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

5.2. Dispositivo per l'aspirazione sottovuoto di cartucce o dischi

5.3. Dispositivo per l'evaporazione in corrente di azoto

5.4. Evaporatore rotante

5.5. Strumentazione analitica ed accessori

5.5.1. *Gascromatografo con rivelatori selettivi* di tipo azoto-fosforo (GC-NPD) e a cattura di elettroni (GC-ECD).

5.5.2. *Gascromatografo con rivelatore a selezione di massa* (GC-MS).

5.5.3. *Colonne gascromatografiche*: colonne capillari in silice fusa di lunghezza 25-30 m, diametro interno 0,25-0,32 mm, spessore film della fase stazionaria 0,10-0,25 μm , con fasi stazionarie a base di metilsilicone o metilsilicone con 5% fenilsilicone; altre fasi stazionarie a diversa polarità, impiegabili per la conferma, sono: metilsilicone con 50% fenilsilicone o cianopropilfenilsilicone.

5.6. *Kit in vetro per filtrazione sotto vuoto con membrane da 47 mm.*

5.7. Filtri

5.7.1. *Filtri fibra di vetro* con diametro 47 mm.

5.7.2. *Filtri in esteri di cellulosa* con pori di 0,45 μm e diametro 47 mm.

5.8. *Cartucce o dischi per estrazione in fase solida*

Cartucce tipo C-18 da 500 mg o dischi tipo C-18 47 \times 0,5 mm.

6. Reagenti

6.1. *Acqua pura esente da ftalati*

6.2. *Etile acetato per l'analisi di residui*

6.3. *Metanolo per l'analisi di residui*

6.4. *Sodio solfato anidro preferibilmente granulare o terra di diatomee*

6.5. *Soluzioni di riferimento*

Il laboratorio deve disporre di materiale di riferimento costituito dalle sostanze attive nel loro stato fisico originale o, se queste non fossero reperibili in commercio, in soluzione a titolo noto.

Tale materiale di riferimento deve essere di elevata purezza, preferibilmente certificato o comunque garantito, conservato secondo le modalità indicate nella scheda tecnica.

Le soluzioni dei materiali di riferimento vengono preparate solubilizzando i composti in un solvente organico appropriato.

Per la preparazione delle soluzioni primarie concentrate si pesano in genere almeno 10 mg di composto e si sciolgono in solventi quali, ad esempio, toluene, acetone o etanolo, tenendo conto della solubilità degli analiti.

Le soluzioni primarie concentrate (circa 1000 µg/mL) delle sostanze attive sono stabili, in linea generale, per molti mesi se tenute al riparo dalla luce, a bassa temperatura e in contenitori di vetro ben chiusi al fine di evitare perdite per evaporazione.

Le soluzioni secondarie diluite (circa 10 µg/mL) hanno in genere un periodo di stabilità più breve (3-6 mesi). Le miscele di più sostanze possono essere meno stabili delle soluzioni dei singoli analiti.

Le soluzioni diluite dei materiali di riferimento (concentrazione ≤ 1 µg/mL) devono essere indicativamente preparate ad ogni ciclo di analisi.

6.6. Standard interno (internal standard)

Lo standard interno è un particolare analita aggiunto all'estratto finale prima della determinazione gascromatografica; non deve essere una sostanza attiva presente nei campioni reali, deve avere elevata stabilità, non deve avere reattività con le sostanze attive da determinare, deve essere sensibile ai rivelatori utilizzati, deve avere un tempo di ritenzione intermedio ai composti da determinare e deve essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze attive da determinare.

L'aggiunta di standard interno alla soluzione, prima dell'iniezione nel sistema cromatografico, elimina la necessità di conoscere esattamente il volume iniettato.

Le modalità di preparazione e i tempi di conservazione sono gli stessi delle soluzioni dei materiali di riferimento (6.5.).

6.7. Standard di processo (surrogate)

Lo standard di processo è un particolare analita aggiunto al campione prima dell'estrazione per segnalare la presenza di errori grossolani verificatisi durante l'analisi di ogni campione; non deve essere una sostanza attiva presente nei campioni reali, deve avere un comportamento chimico analogo alle sostanze attive da determinare, avere elevata stabilità, non deve avere reattività con le sostanze attive da determinare, deve essere sensibile ai rivelatori utilizzati e deve essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze attive da determinare.

Le modalità di preparazione e i tempi di conservazione sono gli stessi delle soluzioni dei materiali di riferimento (6.5.).

6.8. Soluzione per il controllo delle prestazioni strumentali

Allo scopo di verificare le prestazioni strumentali, possono essere preparate soluzioni di varie sostanze attive a concentrazione nota, scelte in modo opportuno, ad esempio, fra quelle riscontrate più frequentemente e fra quelle analiticamente più critiche.

L'iniezione di queste soluzioni consente di verificare il buon funzionamento e il grado di prestazione analitica dell'apparecchiatura per quanto riguarda, ad esempio, la sensibilità, la ripetibilità, la risoluzione, la linearità e la reattività nei confronti di particolari analiti.

Questa operazione deve essere condotta preliminarmente all'analisi dei campioni.

Le modalità di preparazione e i tempi di conservazione sono gli stessi delle soluzioni dei materiali di riferimento (6.5.).

7. Procedimento

7.1. Estrazione delle sostanze attive

Il campione di acqua (500-1000 mL), eventualmente filtrato sotto vuoto su filtro in fibra di vetro e/o in esteri di cellulosa, viene addizionato di metanolo (0,5 mL ogni 100 mL di acqua) e dello standard di processo (6.7.).

La soluzione così ottenuta viene fatta fluire attraverso:

- una cartuccia C-18 da 500 mg lavata e condizionata eluendo in successione 5 mL di etile acetato, 5 mL di metanolo e 10 mL di acqua pura, ad una velocità di circa 8 mL/min. Al termine del trattamento si lascia un battente di acqua alto alcuni mm.

oppure:

- un disco C-18 47 × 0,5 mm lavato e condizionato eluendo 5 mL di etile acetato, 5 mL di metanolo e 10 mL di acqua pura, ad una velocità di circa 50 mL/min.

Dopo il completo passaggio del campione, la cartuccia o il disco vengono lavati con 10 mL di acqua pura; la maggior parte dell'acqua residua viene eliminata mediante aspirazione o flusso di azoto.

La cartuccia viene eluita con 3-5 mL di etile acetato. L'eluato può essere anidrificato ponendo in serie una cartuccia contenente sodio solfato anidro o terra di diatomee; in questo caso sarà necessario un maggior volume di eluente (circa 10 mL).

Il disco viene eluito con 20 mL di etile acetato.

L'eluato raccolto viene evaporato cautamente fino a secchezza in evaporatore rotante e/o sotto corrente di azoto a temperatura $\leq 40^{\circ}\text{C}$.

Il residuo si riprende con 0,5-1,0 mL di soluzione contenente lo standard interno (soluzione ricostruita).

7.2. Identificazione e dosaggio delle sostanze attive

La soluzione ricostruita dell'estratto viene analizzata mediante gascromatografia capillare con rivelatori selettivi: ECD, NPD, MS.

Le soluzioni ricostruite in solvente sono stabili in linea generale per alcuni giorni. Tuttavia, in soluzione diluita alcune sostanze attive possono essere adsorbite alle pareti in vetro del contenitore in modo irreversibile o degradarsi; in questi casi è consigliabile

procedere all'analisi gascromatografica nel più breve tempo possibile. L'identificazione degli analiti viene fatta per confronto dei tempi di ritenzione relativi con quelli delle soluzioni di riferimento degli analiti da determinare. Considerata la presenza di possibili interferenti, l'identificazione degli analiti deve essere confermata; la combinazione di tecniche diverse come l'uso di una colonna a diversa polarità, l'analisi con un diverso rivelatore, l'analisi GC-MS in modalità *selected ion monitoring* (SIM), l'analisi GC-MS in modalità *full scan*, rappresentano metodi di conferma qualitativa con gradi di affidabilità crescente. Prima dell'uso, ogni apparecchiatura deve essere opportunamente tarata e controllata. Particolari accorgimenti consentono di prolungare e mantenere costante l'efficienza analitica degli strumenti: uso di pre-colonne e post-colonne, pulizia e silanizzazione dei *liner* di iniezione, uso di setti a basso spurgo, pulizia dei rivelatori e delle sorgenti, filtrazione dei gas di trasporto, ecc.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Analisi quantitativa

E' necessario disporre di un sistema in grado di misurare accuratamente le aree dei picchi cromatografici; è pertanto consigliato l'uso di sistemi di acquisizione su personal computer.

Per ogni analita identificato viene calcolato il valore dell'area relativa che è uguale al rapporto fra il valore dell'area del picco dell'analita d'interesse e il valore dell'area dello standard interno.

Per ogni analita da quantificare vengono preparate soluzioni di calibrazione a concentrazione nota da utilizzare nel calcolo per confronto.

La calibrazione sarà effettuata su un unico livello, ad una concentrazione molto vicina a quella degli analiti da quantificare oppure costruendo una curva di calibrazione multilivello.

8.2. Espressione dei risultati

I risultati sono espressi in $\mu\text{g/L}$ con due cifre significative per concentrazioni $\geq 0,10$ $\mu\text{g/L}$ e con una cifra significativa per valori $< 0,10$ $\mu\text{g/L}$.

9. Prestazioni del metodo

Il laboratorio dovrà condurre la messa a punto e la validazione interna del metodo prima di eseguire analisi su campioni. La valutazione dovrà essere condotta verificando i parametri di qualità descritti nei paragrafi (9.1.) - (9.4.).

9.1. Precisione

La precisione del metodo di prova, intesa come ripetibilità intermedia, è riferita agli errori casuali e viene stimata effettuando una serie definita di prove non inferiore a 6, a vari livelli di concentrazione compresi nel campo di misura.

Per ripetibilità intermedia si intende il grado di accordo tra risultati ottenuti con uno stesso procedimento su campioni identici nello stesso laboratorio, anche da operatori diversi o in condizioni ambientali e strumentali diverse.

Indicativamente, i valori raccomandabili di ripetibilità, espressa come scarto tipo relativo percentuale, nel campo di misura compreso fra 0,01 µg/L e 1,0 µg/L sono i seguenti:

Concentrazione (µg/L)	≥1,0	0,10	0,01
CV (%)	5	10	20

9.2. Accuratezza

L'estrazione incompleta degli analiti rappresenta la causa più ricorrente di errore sistematico, con conseguente perdita di accuratezza.

Le prove di recupero dovranno essere condotte per ogni analita a diversi livelli di concentrazione compresi nel campo di misura, su campioni di acqua additivati, in numero non inferiore a 6.

Sono considerati accettabili recuperi non inferiori al 70%.

9.3. Limite di determinazione

Per ogni sostanza attiva deve essere misurato il limite di determinazione (*quantification limit*) cioè la minima quantità di analita misurabile con un accettabile grado di precisione.

Salvo diversa indicazione, il limite di determinazione dovrà essere almeno la metà del valore parametrico di riferimento.

Il limite di determinazione deve essere riportato nel rapporto di prova per ogni principio attivo.

9.4. Intervallo di linearità

Per ogni sostanza attiva si dovrà accertare l'intervallo di linearità strumentale. Per fare questo, si costruiscono curve di calibrazione dopo aver iniettato soluzioni diluite degli analiti, anche in miscela fra loro, a varie concentrazioni, indicativamente comprese fra 0,05 e 2 µg/L. Le modalità di preparazione delle soluzioni sono riportate nei paragrafi (6.5.) e (6.6.).

9.5. Controllo di qualità intralaboratorio

Ha lo scopo di valutare il verificarsi di variazioni della precisione e dell'accuratezza e, quindi, di valutare l'attendibilità dei risultati analitici di una serie di campioni.

Consente il monitoraggio delle prestazioni nel tempo garantendo il rispetto dei livelli di qualità prestabiliti.

A titolo di esempio si riportano alcune modalità di controllo interno di qualità.

9.5.1. Campione di controllo.

Durante ogni serie analitica (10-15 campioni) viene parallelamente eseguita una analisi su un “campione di controllo”.

Come campione di controllo può essere utilizzato materiale di riferimento certificato oppure preparato in laboratorio, ottenuto dall’aggiunta ad acqua pura (6.1.) di una miscela di analiti a concentrazione nota scelti in modo opportuno.

In questo modo è possibile valutare il grado di recupero e, nel tempo, la ripetibilità intermedia.

I risultati dell’analisi sul campione di controllo sono riportati sulla carta di controllo che consente di visualizzarne graficamente la dispersione e la tendenza per intervenire in caso di situazione anomala.

Nel caso in cui i risultati analitici del controllo non rientrino nei limiti di accettabilità stabiliti, saranno ripetute le prove sui campioni ai quali il controllo si riferisce.

9.5.2. Bianco.

Il bianco è costituito da acqua pura (6.1.), analizzata secondo la metodica con lo scopo di evidenziare eventuali contaminazioni provocate da solventi, vetreria o altro materiale utilizzato. Se l’analisi del bianco non rispetta i criteri di accettabilità stabiliti, dovranno essere ripetute le prove relative alla serie a cui esso si riferisce.

Di norma sarà condotta un’analisi del bianco per ogni serie analitica.

9.5.3. Analisi in duplicato.

Consente di verificare la propria ripetibilità. Ad intervalli prestabiliti, un campione della serie in analisi o un campione di controllo viene analizzato in doppio. La differenza dei risultati ottenuti è correlata alla propria ripetibilità. I risultati sono riportati sulla carta di controllo.

9.5.4. Standard di processo (surrogate) (6.7.).

Consente di segnalare la presenza di errori grossolani verificatisi nel corso delle analisi su ciascun campione.

Nel caso di analisi in GC-MS possono essere usati come standard di processo opportuni derivati isotopici delle sostanze che devono essere determinate. In questo caso può essere usata la tecnica della diluizione isotopica per l’analisi quantitativa.

9.6. Controllo di qualità interlaboratorio

E’ opportuno che il laboratorio partecipi ad un programma di controllo di qualità interlaboratorio in circuiti locali o nazionali, per una valutazione obiettiva dell’affidabilità delle proprie prestazioni.

Lo scopo è valutare e migliorare la propria accuratezza e verificare nel tempo la

comparabilità dei propri risultati con quelli forniti da laboratori che eseguono lo stesso tipo di prova.

Se i risultati ottenuti non soddisfano i criteri minimi di accettabilità, il laboratorio dovrà adottare le necessarie azioni correttive prima di riprendere il normale ciclo analitico.

La frequenza ottimale per questi controlli è semestrale.

10. Precauzioni di sicurezza

Il metodo deve essere preventivamente valutato sotto l'aspetto del rischio di tipo chimico, cancerogeno, fisico e infortunistico.

Le operazioni potenzialmente pericolose dovranno essere segnalate nel metodo o nelle istruzioni operative.

Il personale addetto alle analisi deve essere messo a conoscenza dei rischi, addestrato e costantemente aggiornato.

Devono essere disponibili e prontamente consultabili le schede di sicurezza, in lingua italiana, di ogni prodotto o reattivo utilizzato.

I dispositivi individuali di protezione (DPI) come guanti, maschere, occhiali, ecc. devono essere presenti sul luogo di lavoro e facilmente accessibili.

Nel metodo qui riportato le operazioni potenzialmente più pericolose per l'operatore riguardano l'uso dei solventi e la manipolazione dei prodotti fitosanitari.

Nella preparazione delle soluzioni primarie devono essere adottate, da parte degli operatori, tutte le precauzioni previste nei casi di manipolazione di sostanze tossiche o nocive descritte nelle istruzioni operative e nelle schede di sicurezza e indossare se richiesto appropriati DPI (guanti, maschere).

BIBLIOGRAFIA

EPA. *Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry*. Metodo n° 525.2. EPA-500, supplement III, Revision 1.1 August 1995

GRUPPO DI LAVORO PER I RESIDUI DI ANTIPARASSITARI DELLA COMMISSIONE PERMANENTE DI COORDINAMENTO INTERREGIONALE PER I PROBLEMI RELATIVI AL CONTROLLO UFFICIALE DEI PRODOTTI ALIMENTARI. *Metodo multiresiduo per l'analisi di residui di antiparassitari in prodotti vegetali*. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 1997. (Rapporti Istituzionali; 97/23).

GRUPPO DI LAVORO PER I RESIDUI DI ANTIPARASSITARI DELLA COMMISSIONE PERMANENTE DI COORDINAMENTO INTERREGIONALE PER I PROBLEMI RELATIVI AL CONTROLLO UFFICIALE DEI PRODOTTI ALIMENTARI. *Linee guida per l'applicazione delle buone pratiche di laboratorio e l'assicurazione e il controllo della qualità nell'analisi di residui di prodotti fitosanitari*. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 1997. (Rapporti Istituzionali; 97/24).

DETERMINAZIONE DEI COMPOSTI ORGANICI ALOGENATI VOLATILI. METODO GASCROMATOGRAFICO APPLICATO ALL'ESTRATTO PENTANICO, ALLO SPAZIO DI TESTA STATICO O ALLO SPAZIO DI TESTA DINAMICO

0. Generalità e definizioni

Con il termine “composti organoalogenati volatili” (VOX) si intende una classe di composti organici in massima parte derivati dai primi termini (C₁-C₄) della serie degli idrocarburi alifatici per sostituzione di uno o più atomi di idrogeno con altrettanti atomi di alogeno. In questa categoria vengono classificate anche altre sostanze aventi struttura chimica diversa da quella descritta (ad esempio: 2-cloroetilvinil etero, clorobenzene, diclorobenzeni), ma con proprietà chimico-fisiche sostanzialmente riconducibili a quelle dei VOX alifatici.

Alcuni di questi composti (in particolare i trialometani, il tetracloruro di carbonio, l'1,1,1-tricloroetano, il tricloroetilene e il tetracloroetilene) hanno acquisito una notevole importanza dal punto di vista igienico-sanitario in quanto tossici, sospetti cancerogeni e/o mutageni.

La loro presenza nell'ambiente idrico è stata attribuita, quasi esclusivamente, agli scarichi di attività produttive e ai processi di neoformazione innescati dai trattamenti di disinfezione, con cloro e suoi derivati, di acque contenenti precursori organici come gli acidi umici e fulvici.

In Tabella 1 sono elencati i principali VOX determinabili con il presente metodo, il corrispondente numero CAS, la formula bruta, il peso molecolare, la densità e i rapporti m/z più significativi per l'analisi mediante spettrometria di massa.

1. Campo di applicazione

Le procedure descritte consentono la determinazione dei composti organici alogenati volatili presenti in acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano. In particolare possono essere applicati al dosaggio dei trialometani (cloroformio, bromodichlorometano, dibromoclorometano, bromoformio), derivanti dai trattamenti di disinfezione, e dei principali composti organoalogenati di sintesi (tetracloruro di carbonio, 1,1,1-tricloroetano, tricloroetilene, tetracloroetilene) ampiamente utilizzati nell'industria come solventi.

Il campo di applicazione, la sensibilità ed il limite di rivelabilità del metodo dipendono sensibilmente dalla procedura applicata durante il pretrattamento del campione e dalle prestazioni della strumentazione utilizzata. In ogni caso il metodo descritto consente la determinazione quantitativa dei composti organoalogenati volatili quando ognuno di essi è presente in concentrazione almeno superiore a 0,5 µg/L.

Tabella 1. *Elenco di alcuni VOX determinabili con il presente metodo*

Composto	CAS	Formula	Densità a 20°C (g/mL)	M ⁺ (uma)	Ioni MS (m/z)			
diclorometano	75-09-2	CH ₂ Cl ₂	1,32	84,0	49	84	86	51
cloroformio	67-66-3	CHCl ₃	1,49	117,9	83	85	47	
bromodiclorometano	75-27-4	CHBrCl ₂	2,00	161,9	83	85	47	
dibromoclorometano	124-48-1	CHBr ₂ Cl	2,45	205,8	129	127	131	
bromoformio	75-25-2	CHBr ₃	2,89	249,8	173	171	175	
tetracloruro di carbonio	56-23-5	CCl ₄	1,59	151,9	117	119	121	
bromotriclorometano	75-62-7	CBrCl ₃	2,01	195,8	117	119	163	
1,1-dicloroetano	75-34-3	C ₂ H ₄ Cl ₂	1,17	98,0	63	27	65	
1,2-dicloroetano	107-06-2	C ₂ H ₄ Cl ₂	1,25	98,0	62	27	49	
1-bromo-2-cloroetano	107-04-0	C ₂ H ₄ BrCl	1,73	141,9	63	27	65	
1,2-dibromoetano	106-93-4	C ₂ H ₄ Br ₂	2,18	185,9	109	107	73	
1,1,1-tricloroetano	71-55-6	C ₂ H ₃ Cl ₃	1,34	131,9	97	99	61	
1,1,2-tricloroetano	79-00-5	C ₂ H ₃ Cl ₃	1,44	131,9	97	83	99	85
1,1,1,2-tetracloroetano	630-20-6	C ₂ H ₂ Cl ₄	1,54	165,9	131	133	117	119
1,1,2,2-tetracloroetano	79-34-5	C ₂ H ₂ Cl ₄	1,59	165,9	83	85		
1,2-dibromo-1,2-dicloroetano	638-68-1	C ₂ H ₂ Br ₂ Cl ₂	2,27	253,8	177	175	179	
1,1-dicloroetilene	75-35-4	C ₂ H ₂ Cl ₂	1,22	96,0	61	96	98	63
cis-1,2-dicloroetilene	156-59-2	C ₂ H ₂ Cl ₂	1,28	96,0	61	96	98	63
trans-1,2-dicloroetilene	156-60-5	C ₂ H ₂ Cl ₂	1,26	96,0	61	96	98	
tricloroetilene	79-01-6	C ₂ HCl ₃	1,46	129,9	95	130	132	
tetracloroetilene	127-18-4	C ₂ Cl ₄	1,62	163,9	166	164	129	131
clorobenzene	180-90-7	C ₆ H ₅ Cl	1,11	112,0	112	77	114	
1,2-diclorobenzene	95-50-1	C ₆ H ₄ Cl ₂	1,30	146,0	146	148	111	75
1,3-diclorobenzene	541-73-1	C ₆ H ₄ Cl ₂	1,29	146,0	146	148	111	75
1,4-diclorobenzene	106-46-7	C ₆ H ₄ Cl ₂	1,23	146,0	146	148	111	75

M⁺: massa molecolare monoisotopica calcolata a partire dalla massa atomica dell'isotopo pi abbondante di ciascun elemento presente nella molecola.

Ioni MS: rapporti m/z relativi ai frammenti caratteristici utilizzabili nell'analisi GC-MS. Valori elencati in ordine decrescente di intensità dei picchi corrispondenti.

2. Principio del metodo

Il metodo consiste nella separazione gascromatografica della miscela, contenente i composti organoalogenati volatili, ottenuta mediante una delle seguenti tecniche di preconcentrazione: estrazione con solvente organico apolare, campionamento dello spazio di testa statico, *purge and trap*. I diversi componenti della miscela, separati da una colonna cromatografica contenente una fase stazionaria apolare o mediamente polare, vengono determinati da un rivelatore selettivo o dallo spettrometro di massa.

2.1. Procedimento basato sull'estrazione liquido-liquido

Consiste nell'analisi gascromatografica dell'estratto organico ottenuto dibattendo un'aliquota del campione acquoso con un volume noto di n-pentano. Le risposte strumentali vengono trasformate in concentrazioni mediante confronto diretto con i corrispondenti segnali prodotti, nelle medesime condizioni gascromatografiche, da soluzioni a titolo noto in n-pentano. La preparazione di queste ultime si basa sull'estrazione liquido-liquido di matrici acquose precedentemente additivate di quantità note dei composti in esame. L'estrazione delle soluzioni a titolo noto è effettuata nelle medesime condizioni operative applicate durante la manipolazione dei campioni. Tale accorgimento consente la correzione degli errori sistematici derivanti da un'efficienza estrattiva inferiore al 100%.

L'aggiunta di sali inorganici a tutte le soluzioni acquose consente di aumentare la resa di estrazione e di livellare le differenze di forza ionica riscontrabili tra i campioni e le soluzioni di riferimento.

2.2. Procedimento basato sull'estrazione dello spazio di testa

Consiste nell'analisi gascromatografica della fase vapore in equilibrio termodinamico con il campione racchiuso in un contenitore sigillato.

Un volume noto del liquido in esame è introdotto in una fiala di vetro (*vial*) contenente una quantità prefissata di un sale inerte. Dopo chiusura con una membrana siliconica teflonata, la fiala è immersa in un bagno ad acqua termostato ad una temperatura opportunamente prescelta (30-80°C) per un tempo sufficientemente lungo (almeno 30 min). Al raggiungimento dell'equilibrio di ripartizione si preleva un'aliquota della fase gassosa (spazio di testa) forando la membrana teflonata con una siringa da gas. Il campione gassoso prelevato dal *vial* viene iniettato nel gascromatografo.

Il processo di estrazione ed iniezione della fase gassosa può essere completamente automatizzato mediante l'impiego di un campionatore dello spazio di testa.

A temperatura costante, ciascun composto volatile A_i presente nel campione si ripartisce tra le due fasi acqua-aria:



All'equilibrio ed in assenza di scambi di materia tra il recipiente contenente il campione e l'ambiente esterno, il sistema in esame è regolato dall'equazione fondamentale dello spazio di testa statico:

$$[A_i]_{aria} = \frac{[A_i]_{iniziale}}{\frac{V_{aria}}{V_{acqua}} + \frac{1}{K_{d,i}} \cdot \frac{g_{i,aria}}{g_{i,acqua}}} \quad (2)$$

dove:

- $[A_i]_{aria}$ è la concentrazione della specie A_i nello spazio di testa;
- $[A_i]_{iniziale}$ è la concentrazione iniziale incognita dell'analita nel campione;
- V_{aria}/V_{acqua} è il rapporto tra i volumi occupati dalle due fasi;
- $K_{d,i}$ è il coefficiente di distribuzione corrispondente all'equilibrio (1);
- $g_{i,aria}/g_{i,acqua}$ è il rapporto tra i coefficienti di attività dell'analita nelle due fasi.

La relazione (2) evidenzia il legame esistente tra la concentrazione dell'analita nello spazio di testa e la corrispondente concentrazione nel campione prima della ripartizione. Inoltre fornisce una serie di elementi molto utili ai fini della valutazione e della scelta delle condizioni operative più idonee per il dosaggio dei composti in esame. Dal momento che la specie A_i viene determinata gascromatograficamente iniettando un'aliquota ($V_{iniettato}$) dello spazio di testa in equilibrio con il campione acquoso, la sensibilità S_i del metodo è espressa dalla seguente equazione:

$$S_i = \frac{f_i \cdot V_{iniettato}}{\frac{1}{K_{d,i}} \cdot \frac{g_{i,aria}}{g_{i,acqua}} + \frac{V_{aria}}{V_{acqua}}} \quad (3)$$

dove f_i è il fattore di risposta del rivelatore gascromatografico nei confronti della specie A_i esaminata.

In generale la sensibilità del metodo dipende dalla natura chimica dell'analita, la quale influenza sia il fattore di risposta f_i del rivelatore cromatografico che il coefficiente di ripartizione $K_{d,i}$.

Un incremento della temperatura del sistema bifasico acqua-aria promuoverà un maggior rilascio dell'analita dalla fase acquosa (aumento di $K_{d,i}$) che si accumulerà nella fase vapore (aumento di S_i). Questo fenomeno ha ripercussioni sulle modalità di applicazione della tecnica descritta. Come regola generale l'analisi quantitativa dello spazio di testa statico deve essere condotta su un sistema termostato con una precisione non inferiore al decimo di grado centigrado.

La sensibilità può essere migliorata anche riducendo il rapporto tra i volumi delle due fasi in equilibrio. Occorre comunque osservare che, al diminuire dello spazio occupato

dalla fase vapore, è necessario operare con volumi rigorosamente noti per non incrementare l'errore sulla misura della concentrazione incognita della specie A_i nel campione. Ne deriva l'inconveniente di dover misurare accuratamente sia il volume interno di tutti i *vial* utilizzati che il volume delle soluzioni acquose introdotte in tali recipienti.

Un altro fattore che influisce sulla sensibilità del metodo è la forza ionica della fase acquosa. Incrementando la salinità del mezzo acquoso si verifica un progressivo aumento del relativo coefficiente di attività che, a sua volta, determina un miglioramento della risposta analitica. L'entità di questo fenomeno, noto col termine *salting-out*, dipende dalla natura e dalla molalità del sale disciolto in fase acquosa. L'aggiunta di un elettrolita inerte a tutte le soluzioni acquose consente, inoltre, di livellare le differenze di forza ionica riscontrabili sia tra i campioni che tra ciascun campione e le soluzioni di riferimento.

2.3. Procedimento basato sul *purge and trap*

Consiste nell'analisi gascromatografica delle sostanze estratte da un gas inerte, preconcentrate in una trappola adsorbente e focalizzate criogenicamente.

I composti organici volatili, inizialmente presenti nel campione, vengono "strippati" dalla fase acquosa mediante gorgogliamento di un gas inerte a temperatura ambiente (*purging*). Il vapore così prodotto è convogliato all'interno di una trappola adsorbente capace di ritenere quantitativamente le sostanze estratte dal campione (*trapping*). Al termine della fase estrattiva la trappola viene riscaldata a 200-250°C, mentre un flusso di gas inerte la percorre in senso inverso (termodesorbimento). I composti desorbiti dalla trappola per azione della temperatura sono focalizzati criogenicamente in una precolonna in silice fusa (interfaccia capillare) raffreddata a -150°C da azoto liquido. In una fase successiva l'interfaccia viene riscaldata balisticamente a 200-250°C consentendo il rapido deflusso, nella colonna gascromatografica, delle sostanze precedentemente focalizzate.

Il recupero di ciascun composto dal campione acquoso dipende dalla temperatura della fase liquida, dalla tensione di vapore dell'analita e dal tempo di *purge*.

3. Interferenze e cause di errori

La determinazione dei composti organici alogenati volatili può essere affetta da errori in eccesso a seguito di contaminazioni introdotte durante il prelievo o la successiva manipolazione del campione. Tutto il materiale impiegato nel corso dell'analisi deve essere accuratamente lavato e trattato termicamente come descritto in (5.).

E' opportuno effettuare un rigoroso controllo dell'ambiente di lavoro prima dell'indagine analitica, al fine di eliminare la presenza di solventi organici contenenti VOX e di altre fonti di contaminazione.

Il prelievo e i successivi trattamenti del campione devono essere effettuati adottando gli

accorgimenti descritti nei paragrafi successivi in modo da evitare perdite delle sostanze ricercate.

Composti organici diversi da quelli dosati con questo metodo possono dare origine ad interferenze nel caso in cui vengano rivelati dal *detector* in corrispondenza di uno dei tempi di ritenzione degli analiti. Quando si sospetti la presenza di sostanze interferenti è necessario ripetere la determinazione dopo aver modificato le condizioni cromatografiche (temperatura e/o lunghezza della colonna, fase stazionaria). L'impiego di colonne capillari consente spesso di raggiungere una risoluzione sufficiente tra le bande cromatografiche degli analiti e quelle degli eventuali interferenti. In alternativa si consiglia l'impiego di un rivelatore a selezione di massa.

Errori in eccesso possono essere indotti anche da effetti memoria dell'autocampionatore o del dispositivo di estrazione o di estrazione ed arricchimento della fase vapore. In tal caso la contaminazione deve essere eliminata lavando o flussando l'apparecchiatura utilizzata e/o analizzando ripetutamente bianchi dei reagenti fino alla totale scomparsa dei segnali attribuiti all'effetto memoria.

Alcuni composti organoalogenati, in particolare quelli contenenti atomi di bromo, sono fotosensibili per cui si decompongono in seguito ad un'esposizione prolungata alla luce ambientale. Soluzioni contenenti queste sostanze devono essere maneggiate in ambienti non eccessivamente illuminati e conservati in recipienti di vetro scuro.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Il campionamento rappresenta una fase estremamente delicata e decisiva per tutto il procedimento analitico, perché è soprattutto in questa sede che si può verificare la perdita dell'analita o la contaminazione del campione.

Il prelievo deve essere effettuato con cura, evitando gorgogliamenti, possibilmente nello stesso recipiente (*vial* o bottiglia di vetro scuro provvista di tappo di vetro con svasatura conica) che verrà utilizzato per la successiva determinazione analitica. Il recipiente dovrà contenere 1 g di sodio solfato (6.7.) per 100 mL di campione, prima di iniziare le operazioni di campionamento.

Nel caso di acque condottate si procede, innanzi tutto, ad un lavaggio sommario del rubinetto e si lascia defluire l'acqua fino a temperatura costante (circa 10 min). Si riempie il contenitore completamente fino all'orlo con l'acqua da analizzare facendola fluire lungo le pareti interne. Evitare accuratamente spruzzi, proiezioni di liquido e formazione di bolle o sacche d'aria.

Qualora l'acqua contenga cloro residuo, introdurre 10 mg di sodio tiosolfato (6.5.) per 100 ml di campione immediatamente prima del prelievo. Nel caso in cui l'acqua contenga anidride carbonica disciolta, neutralizzare la CO₂ con l'aggiunta di una quantità sufficiente (fino a 2 g per 100 mL di campione) di sodio carbonato (6.6.). Anche questa aggiunta deve essere effettuata prima di introdurre il campione nel contenitore.

Chiudere ermeticamente la bottiglia avendo cura di allontanare l'eccesso di acqua senza che si formino bolle o sacche di gas. Agitare il contenitore per uniformarne il contenuto

e conservare al buio alla temperatura di 4°C in luoghi sufficientemente lontani dai solventi organici. Effettuare l'analisi entro 2-3 giorni dal prelievo.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Sia la vetreria che i contenitori impiegati nel corso della determinazione devono essere sottoposti ad un trattamento preliminare in modo da rimuovere eventuali tracce di composti organici alogenati.

Lavare tutta la vetreria con un detergente e risciacuarla abbondantemente con acqua (6.1.1.) e successivamente con acqua (6.1.2.). Asciugare i contenitori riscaldandoli in stufa ad una temperatura compresa tra 150°C e 180°C per almeno 2-3 ore. Bagnare le pareti interne della vetreria tarata con metanolo (6.3.) e successivamente con n-pentano (6.4.).

5.2. vial (flaconcini) in vetro, setti in gomma siliconica rivestiti di Teflon, ghiere metalliche, pinza piegatrice

Per il prelievo del campione e l'analisi dello spazio di testa utilizzare *vial* provvisti di ghiere metalliche e di setti in gomma siliconica monouso rivestiti da uno strato di Teflon. Per la conservazione degli estratti organici e delle soluzioni di riferimento o di lavoro utilizzare *vial* con tappi a vite e setti in gomma siliconica rivestiti da uno strato di Teflon.

Trattare i contenitori come descritto in (5.1.), estrarre i setti con aliquote successive di n-pentano (6.4.) ed essicarli per una notte in stufa a 70-80°C.

5.3. Microsiringhe

5.3.1. Per il prelievo quantitativo di piccoli volumi durante la preparazione delle soluzioni di riferimento è consigliabile l'impiego di microsiringhe tarate, lavate accuratamente con acetone (6.2.), metanolo (6.3.) e n-pentano (6.4.). Questi dispositivi possono essere impiegati anche per iniettare manualmente soluzioni ed estratti organici nel gascromatografo.

Controllare periodicamente l'accuratezza e la precisione delle microsiringhe utilizzate, pesando su bilancia analitica aliquote note di acqua ultrapura prelevate con tali dispositivi.

5.3.2. Per l'iniezione manuale di aliquote di gas nel gascromatografo utilizzare microsiringhe tarate e a tenuta di gas.

5.4. Strumentazione analitica ed accessori

5.4.1. *Gascromatografo*. Si raccomanda l'uso di apparecchiature che consentano l'installazione di colonne cromatografiche capillari.

5.4.2. *Iniettore split/splitless, on-column* o vaporizzatore a temperatura programmabile (PTV).

5.4.3. *Autocampionatore di liquidi*. Per l'introduzione di soluzioni ed estratti organici nell'iniettore gascromatografico si consiglia l'uso di un autocampionatore gestito da computer o da un sistema di controllo locale.

In alternativa è possibile iniettare manualmente le soluzioni in n-pentano utilizzando microsiringhe da 10 μL . In quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità dell'operatore e può essere notevolmente migliorata applicando il metodo dello standard interno.

5.4.4. *Campionatore dello spazio di testa statico*. Per la termostatazione del campione e delle soluzioni di lavoro, nonché per il campionamento e la successiva iniezione dello spazio di testa si consiglia l'uso di un dispositivo automatico gestito da computer o da un sistema di controllo locale.

In alternativa è possibile iniettare manualmente un'aliquota della fase gassosa in equilibrio con le suddette soluzioni acquose utilizzando microsiringhe da 50-250 μL a tenuta di gas. In quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità dell'operatore e può essere notevolmente migliorata applicando il metodo dello standard interno.

5.4.5. *Dispositivo per il purge and trap*. L'analisi mediante *purge and trap* può essere effettuata solo utilizzando un'apparecchiatura automatica gestita da computer o da un sistema di controllo locale. Tale dispositivo è il risultato dell'assemblaggio dei seguenti componenti: un'unità di estrazione dei VOX dal campione acquoso (*purging device*); una trappola adsorbente contenente Tenax (poli-2,6-difenil-p-fenilenossido), carbone grafitato, metilfenilpolisilossano, combinazioni delle suddette fasi stazionarie o altri adsorbenti; un desorbitor termico; una linea di trasferimento termostata (*transfer line*) ed, eventualmente, un dispositivo per la criofocalizzazione dei VOX in testa alla colonna gascromatografica.

Prima dell'uso condizionare la trappola per una notte alla temperatura massima compatibile con l'adsorbente impiegato facendo fluire il gas inerte in controcorrente.

5.4.6. *Rivelatore a cattura di elettroni (ECD)* o a cella elettrolitica (EICD). Se disponibile può essere vantaggiosamente impiegato un rivelatore a selezione di massa (MSD) con sorgente ad impatto elettronico (EI) e/o a ionizzazione chimica negativa (NCI).

Attivare il rivelatore seguendo le indicazioni descritte nel manuale fornito dalla casa costruttrice.

5.4.7. *Colonne capillari in silice fusa* con diametro interno compreso tra 250 e 530 μm , spessore di fase non inferiore a 1 μm e lunghezza pari a 25-60 m. Utilizzare una colonna gascromatografica con fase stazionaria mediamente polare (ad esempio: 6%-cianopropildimetilpolisilossano oppure 50%-fenildimetilpolisilossano). L'eventuale analisi di conferma deve essere effettuata impiegando una fase stazionaria con polarità

differente dalla precedente (ad esempio: 0-10%-fenildimetilpolisilossano).

In commercio sono disponibili colonne specifiche ottimizzate per la separazione di alcuni VOX.

5.4.8. Sistema di acquisizione dei dati. Può essere costituito da un computer collegato all'apparecchiatura o al rivelatore mediante un'apposita interfaccia o, più semplicemente, da un integratore cromatografico.

5.4.9. Gas di trasporto (elio o idrogeno), gas di estrazione dello spazio di testa (elio) e gas per il make up dell'ECD (azoto o argon-metano al 5% di CH₄). Utilizzare gas di elevata purezza filtrati *on-line* mediante uno strato di gel di silice e uno strato di setacci molecolari.

6. Reagenti

In generale tutti i reagenti devono essere di grado analitico e con qualifiche speciali per gascromatografia. Si consiglia di controllare la purezza di ogni partita prima dell'impiego.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da composti organici clorurati. Quest'ultima può essere ottenuta sottoponendo l'acqua deionizzata (*6.1.1.*) a demineralizzazione o ridistillazione, seguita da filtrazione attraverso una colonna impaccata con carbone attivo granulare (GAC) o da trattamento termico prolungato (60-70°C per almeno 1 h) in corrente di azoto (150-200 mL/min) filtrato su GAC.

6.2. Acetone

Utilizzare un prodotto ultrapuro.

6.3. Metanolo

Utilizzare un prodotto ultrapuro dopo aver verificato l'assenza di impurezze che rispondono al rivelatore impiegato e che interferiscono con la determinazione in oggetto.

6.4. n-pentano

Utilizzare un prodotto ultrapuro dopo aver verificato l'assenza di impurezze che rispondono al rivelatore impiegato e che interferiscono con la determinazione in oggetto.

6.5. Sodio tiosolfato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)

Utilizzare un prodotto puro per analisi, lavato ripetutamente con piccole aliquote di n-pentano (6.4.) e conservato a temperatura ambiente in essiccatore per almeno 48 h.

6.6. Sodio carbonato

Utilizzare un prodotto puro per analisi, lavato ripetutamente con piccole aliquote di n-pentano (6.4.) ed essiccato in muffola a 400°C per almeno 24 h.

6.7. Sodio solfato

Utilizzare un prodotto puro per analisi, lavato ripetutamente con piccole aliquote di n-pentano (6.4.) ed essiccato in muffola a 400°C per almeno 24 h.

6.8. Composti organoalogenati volatili

6.8.1. *Cloroformio, bromodichlorometano, dibromoclorometano, bromoformio, tetracloruro di carbonio, 1,1,1-tricloroetano, tricloroetilene, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetracloroetilene* ed eventualmente altri VOX da determinare. Impiegare prodotti puri, in soluzione a titolo noto o, in alternativa, sottoforma di miscele commerciali a composizione nota.

Al fine di evitare fenomeni di contaminazione incrociata, è opportuno conservare tali prodotti in un ambiente separato da quello dei campioni e al riparo dalla luce.

6.8.2. *Standard interno (internal standard)*. E' una sostanza aggiunta al campione o ad un suo estratto prima dell'iniezione gascromatografica. La sua introduzione consente di eliminare gli errori dovuti alle fluttuazioni della quantità iniettata.

Affinché un determinato composto possa essere utilizzato come standard interno deve:

- a) non essere presente nei campioni reali;
- b) essere stabile ed inerte nei confronti dei composti da determinare;
- c) dare una risposta al rivelatore impiegato;
- d) avere un tempo di ritenzione compreso nell'intervallo dei tempi di ritenzione dei composti da determinare;
- e) essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze da determinare.

A causa di tali limitazioni, non è possibile individuare un'unica sostanza come standard interno per ogni tipo di campione. E' necessario scegliere caso per caso il composto più

idoneo a tale utilizzo. Pertanto si segnalano i seguenti composti come possibili standard interni: 1-bromo-2-cloroetano, 1,2-dibromoetano, bromotriclorometano, 1,2-dibromo-1,2-dicloroetano. Impiegare prodotti puri o in soluzione a titolo noto.

Al fine di evitare fenomeni di contaminazione incrociata, è opportuno conservare tali prodotti in un ambiente separato da quello dei campioni e al riparo dalla luce.

6.8.3. Standard di processo (surrogate). E' una sostanza aggiunta al campione prima di qualsiasi pretrattamento ed utilizzata come tracciante. La sua introduzione consente di tenere sotto controllo l'applicazione del metodo al singolo campione in esame: in presenza di errori grossolani nel trattamento del campione, il recupero dello standard di processo risulterà significativamente inferiore a quello determinato durante la calibrazione.

Affinché un determinato composto possa essere utilizzato come standard di processo deve possedere tutti i requisiti elencati per lo standard interno (6.8.2.) e, inoltre, deve mostrare un recupero simile a quello ottenuto per gli altri composti da determinare.

Non essendo possibile individuare un'unica sostanza come standard di processo per ogni tipo di campione, è necessario scegliere caso per caso il composto più idoneo tra quelli elencati in (6.8.2.). Nel caso in cui si utilizzi anche uno standard interno, quest'ultimo deve essere una sostanza diversa da quella prescelta come standard di processo.

6.9. Soluzioni primarie di riferimento (1,00 g/L) dei VOX

6.9.1. Soluzioni primarie di riferimento dei VOX da dosare. Queste soluzioni sono preparate in laboratorio a partire da ciascun composto puro elencato in (6.8.1.). Possono essere sostituite da soluzioni commerciali a titolo noto (6.8.1.) di ciascun composto.

In un matraccio tarato da 100 mL, contenente circa 50 mL di metanolo (6.3.), introdurre 100 mg di un composto alogenato puro (6.8.1.) sotto la superficie del solvente utilizzando una microsiringa di vetro da 100 µL. Il volume corrispondente ai 100 mg di sostanza si calcola dividendo il suddetto peso per la densità della sostanza alla temperatura di lavoro (Tabella 1). Diluire a volume con metanolo (6.3.), omogeneizzare e conservare la soluzione in un *vial* chiuso ermeticamente al riparo dalla luce e alla temperatura di 4°C.

6.9.2. Soluzioni primarie di riferimento degli standard interni e degli standard di processo. Queste soluzioni sono preparate in laboratorio a partire da ciascun composto puro elencato in (6.8.2.). Possono essere sostituite da soluzioni commerciali a titolo noto (6.8.2.) di ciascun composto.

In un matraccio tarato da 100 mL, contenente circa 50 mL di metanolo (6.3.), introdurre 100 mg di un composto alogenato puro (6.8.2.) sotto la superficie del solvente utilizzando una microsiringa di vetro da 100 µL. Il volume corrispondente ai 100 mg di sostanza si calcola dividendo il suddetto peso per la densità della sostanza alla temperatura di lavoro (Tabella 1). Diluire a volume con metanolo (6.3.), omogeneizzare e conservare la soluzione in un *vial* chiuso ermeticamente al riparo dalla luce e alla temperatura di 4°C.

6.10. Soluzione secondaria di riferimento contenente una miscela dei VOX da dosare

6.10.1. Soluzione secondaria di riferimento contenente una miscela dei VOX da dosare. Questa soluzione viene preparata settimanalmente tenendo conto delle concentrazioni degli analiti nei campioni, dell'intervallo dinamico lineare del rivelatore impiegato e del procedimento applicato.

Prelevare volumi noti delle soluzioni primarie di riferimento (6.9.1.) e/o delle miscele (6.8.1.) di VOX, contenenti i composti da dosare, ed introdurli in un matraccio tarato da 100 mL riempito parzialmente con circa 50 mL di metanolo (6.3.). Effettuare le aggiunte immergendo l'ago della microsiringa sotto la superficie del solvente. Diluire a volume con metanolo (6.3.), omogeneizzare e conservare la soluzione in un *vial* chiuso ermeticamente al riparo dalla luce e alla temperatura di 4°C.

6.10.2. Soluzione secondaria di riferimento contenente uno o più standard interni in miscela. Questa soluzione viene preparata settimanalmente tenendo conto dell'intervallo dinamico lineare del rivelatore impiegato e del procedimento applicato.

Prelevare volumi noti delle soluzioni primarie di riferimento (6.9.2.), contenenti le sostanze prescelte come standard interni, ed introdurli in un matraccio tarato da 100 mL riempito parzialmente con circa 50 mL di metanolo (6.3.). Effettuare le aggiunte immergendo l'ago della microsiringa sotto la superficie del solvente. Diluire a volume con metanolo (6.3.), omogeneizzare e conservare la soluzione in un *vial* chiuso ermeticamente al riparo dalla luce e alla temperatura di 4°C.

6.10.3. Soluzione secondaria di riferimento contenente uno o più standard di processo in miscela. Questa soluzione viene preparata in base alle indicazioni fornite in (6.10.2.).

6.11. Soluzioni di lavoro contenenti la miscela dei VOX da dosare ed eventualmente uno o più standard di processo

Preparare almeno tre soluzioni di riferimento in acqua aggiungendo volumi diversi della soluzione (6.10.1.) ad un volume noto di acqua (6.1.2.) contenente sodio solfato (6.7.), sodio tiosolfato (6.5.) e sodio carbonato (6.6.) in quantità pari a quelle introdotte nei campioni durante il prelievo (4.). Le concentrazioni dei composti nella soluzione (6.10.1.) dovrebbero essere scelte in modo tale che il volume aggiunto al solvente acquoso sia il più piccolo possibile ($\leq 10 \mu\text{L} / \text{mL}$ di acqua) al fine di non alterare la forza ionica e la costante dielettrica della soluzione acquosa.

Si consiglia l'aggiunta di un'aliquota della soluzione (6.10.3.) a tutte le soluzioni acquose di lavoro.

Queste ultime devono essere preparate immediatamente prima dell'uso.

7. Procedura di misura

7.1. Pretrattamento del campione

7.1.1. Procedimento basato sull'estrazione liquido-liquido. Aprire il recipiente, contenente il campione conservato alla temperatura di 4°C, e svuotarlo rapidamente fino a lasciare un volume noto di liquido (50-200 mL) che può essere determinato esattamente per pesata al termine dell'analisi. Introdurre un'aliquota nota della soluzione secondaria di riferimento (6.10.3.), in modo tale che la concentrazione finale dello o degli standard di processo nel campione sia dello stesso ordine di grandezza atteso per i VOX. Aggiungere un volume noto (5-10 mL) di n-pentano (6.4.), agitare vigorosamente per 5 min e lasciare separare le due fasi in frigorifero per 30 min. Prelevare l'estratto in n-pentano e conservarlo alla temperatura di 4°C in un *vial* chiuso ermeticamente.

La separazione delle fasi può essere complicata dalla particolare geometria del recipiente utilizzato quando si introducono piccoli volumi di n-pentano. In tal caso sostituire il tappo del recipiente con una prolunga asimmetrica a forma di "Y" (Figura 1) e far defluire la fase organica nel tubo capillare della prolunga introducendo, attraverso l'altra apertura, acqua (6.1.2.).

7.2. Operazioni preliminari

Attivare il gascromatografo e predisporlo al funzionamento seguendo le indicazioni descritte nel manuale fornito dalla casa costruttrice. In particolare, dopo aver installato la colonna cromatografica, regolare il flusso del gas di trasporto e condizionare ripetutamente la fase stazionaria programmando la temperatura del forno da 50°C a quella limite consigliata nelle specifiche tecniche della colonna. Durante tutta la fase di condizionamento, effettuato riscaldando il forno cromatografico ad una velocità non superiore a 5°C/min, non collegare l'uscita della colonna al rivelatore.

Ottimizzare le condizioni operative (programma della temperatura del forno, temperatura dell'iniettore e del rivelatore, flusso del gas di trasporto e dell'eventuale *make up*, rapporto di "splittaggio") in funzione della colonna cromatografica, dell'iniettore, del rivelatore e del sistema di preconcentrazione utilizzati.

7.2.1. Procedimento basato sull'estrazione dello spazio di testa. Nel caso in cui si utilizzi un dispositivo automatico, predisporlo al funzionamento seguendo le indicazioni descritte nel manuale fornito dalla casa costruttrice. Ottimizzare le condizioni operative (temperatura del bagno termostato, della valvola di campionamento e della *transfer line*, volume del *vial* e del campione, pressione e tempo di termostatazione del *vial*) in funzione del dispositivo utilizzato e dei composti esaminati.

7.2.2. Procedimento basato sul purge and trap. Condizionare termicamente la trappola facendo contemporaneamente fluire il gas di pulizia per un periodo di tempo sufficiente ad eliminare eventuali residui di VOX.

Predisporre l'apparecchiatura al funzionamento seguendo le indicazioni descritte nel manuale fornito dalla casa costruttrice. Ottimizzare le condizioni operative (temperatura del campione, della trappola e della *transfer line*, volume del *vial* e del campione, pressione e flusso del gas durante l'intrappolamento e il desorbimento) in funzione del dispositivo utilizzato e dei composti esaminati.

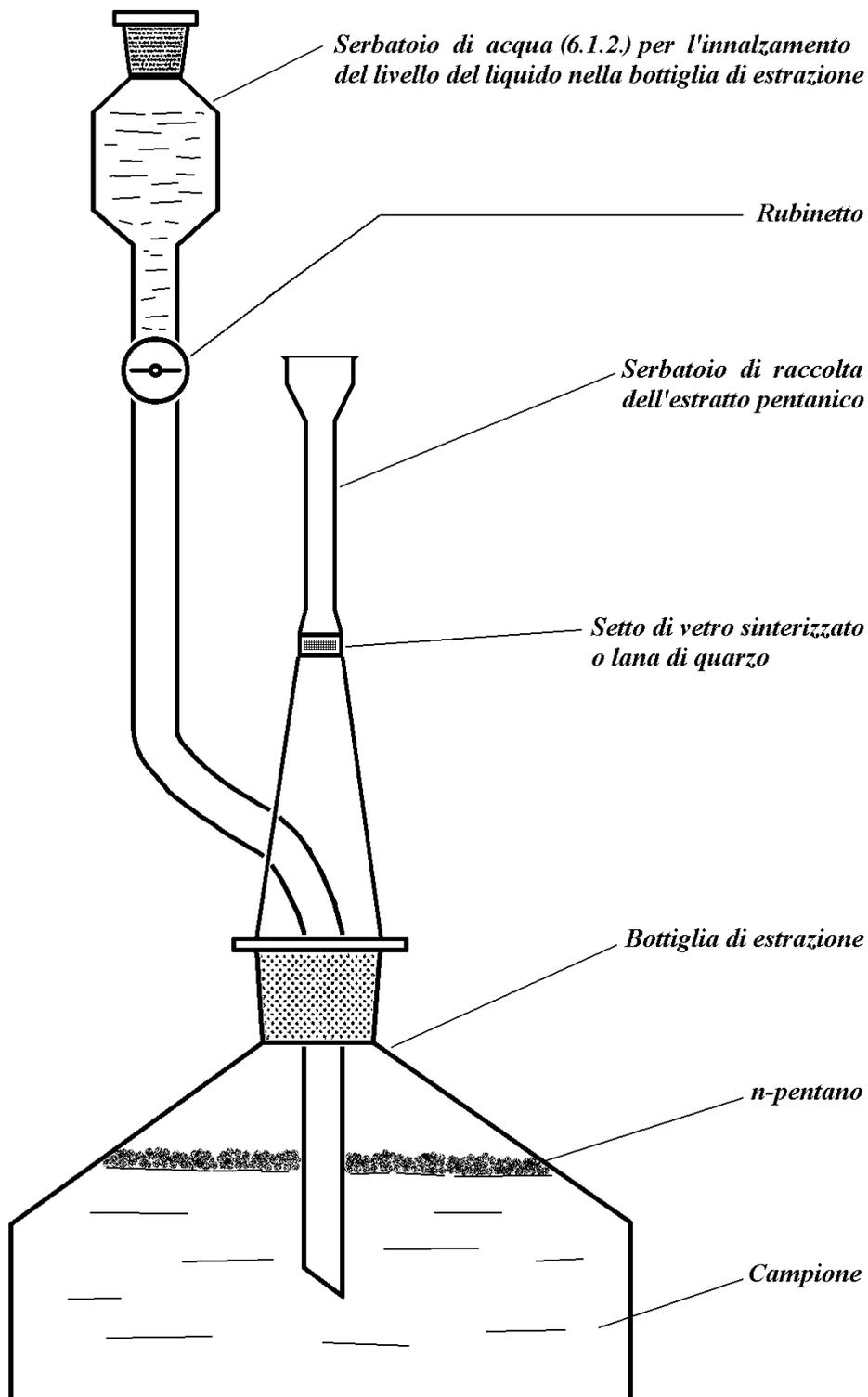


Figura 1. Prolunga asimmetrica a forma di "Y" per facilitare il recupero dell'estratto organico.

7.3. Calibrazione

Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata è impossibile riprodurre la risposta analitica nel tempo. Pertanto si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata all'inizio di ogni ciclo analitico.

7.3.1. Procedimento basato sull'estrazione liquido-liquido. Estrarre le soluzioni acquose di riferimento come indicato nel paragrafo (7.1.1.), previa aggiunta di un'aliquota della soluzione di riferimento (6.10.3.) pari a quella introdotta nei campioni all'inizio del pretrattamento (7.1.1.). Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno, aggiungere un'aliquota nota e costante della soluzione (6.10.2.). Iniettare 1 μL di ciascun estratto ed annotare le aree o le altezze dei picchi cromatografici. Ripetere, almeno due volte, l'analisi gascromatografica di ogni estratto organico e mediare i risultati.

Tracciare i grafici di taratura per tutti i composti in esame riportando in ascisse i valori delle concentrazioni, espresse in $\mu\text{g/L}$, delle sostanze presenti nelle soluzioni acquose di lavoro e in ordinate i valori medi dell'area o dell'altezza dei corrispondenti picchi cromatografici. In alternativa, nel caso in cui siano stati aggiunti uno o più standard interni, riportare in grafico, per ogni VOX ricercato, la sua concentrazione in funzione del rapporto tra l'area o l'altezza del picco associato e l'area o l'altezza dello standard interno caratterizzato da un tempo di ritenzione prossimo a quello dell'analita.

7.3.2. Procedimento basato sull'estrazione dello spazio di testa. Analizzare ciascuna soluzione di lavoro applicando il procedimento descritto di seguito. Introdurre un volume prescelto della soluzione di lavoro all'interno di un *vial* evitando gorgogliamenti e formazione di bolle d'aria. Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno, aggiungere un'aliquota nota e costante della soluzione (6.10.2.). Chiudere ermeticamente il *vial* ed immergerlo in un bagno termostato alla temperatura prescelta (30-50°C) per un tempo non inferiore ai 30 min.

Prelevare un'aliquota nota e costante della fase gassosa all'interno del *vial* utilizzando una microsiringa a tenuta di gas, preriscaldata alla temperatura del bagno termostato. Iniettare il campione gassoso nel gascromatografo. Sia la termostatazione che le successive operazioni di prelievo ed iniezione della fase gassosa possono essere automatizzate impiegando un campionatore dello spazio di testa statico. In tal caso è possibile incrementare la temperatura del bagno termostato fino a 80°C, qualora sia necessario incrementare la risposta di alcuni VOX.

Ripetere, almeno due volte, l'analisi di ogni soluzione di lavoro, annotare le aree o le altezze dei picchi cromatografici e mediare i risultati.

Tracciare i grafici di taratura per tutti i composti in esame riportando in ascisse i valori delle concentrazioni, espresse in $\mu\text{g/L}$, delle sostanze presenti nelle soluzioni acquose di lavoro e in ordinate i valori medi dell'area o dell'altezza dei corrispondenti picchi cromatografici. In alternativa, nel caso in cui siano stati aggiunti uno o più standard

interni, riportare in grafico, per ogni VOX ricercato, la sua concentrazione in funzione del rapporto tra l'area o l'altezza del picco associato e l'area o l'altezza dello standard interno caratterizzato da un tempo di ritenzione prossimo a quello dell'analita.

7.3.3. Procedimento basato sul purge and trap. Analizzare ciascuna soluzione di lavoro applicando il procedimento descritto di seguito. Introdurre un volume prescelto della soluzione di lavoro nel recipiente di estrazione; aggiungere un'aliquota nota e costante della soluzione (6.10.2.), nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno.

Attivare il dispositivo di estrazione, intrappolamento, desorbimento e criofocalizzazione dei composti volatili dalla soluzione presente nel recipiente di estrazione. Ripetere, almeno due volte, l'analisi di ogni soluzione di lavoro, annotare le aree o le altezze dei picchi cromatografici e mediare i risultati.

Tracciare i grafici di taratura per tutti i composti in esame riportando in ascisse i valori delle concentrazioni, espresse in $\mu\text{g/L}$, delle sostanze presenti nelle soluzioni acquose di lavoro e in ordinate i valori medi dell'area o dell'altezza dei corrispondenti picchi cromatografici. In alternativa, nel caso in cui siano stati aggiunti uno o più standard interni, riportare in grafico, per ogni VOX ricercato, la sua concentrazione in funzione del rapporto tra l'area o l'altezza del picco associato e l'area o l'altezza dello standard interno caratterizzato da un tempo di ritenzione prossimo a quello dell'analita.

7.4. Dosaggio del campione

7.4.1. Procedimento basato sull'estrazione liquido-liquido. Analizzare gli estratti dei campioni (7.1.1.) nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la fase di calibrazione. Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno aggiungere, all'estratto organico, un'aliquota della soluzione (6.10.2.), in modo tale che la concentrazione finale della o delle sostanze introdotte sia pari a quella aggiunta alle soluzioni acquose di lavoro.

Identificare i picchi delle sostanze in esame ed annotare le loro aree o le loro altezze. Se la risposta cade al di fuori dell'intervallo di calibrazione, diluire opportunamente la soluzione analizzata e ripetere la determinazione.

E' opportuno confermare l'identificazione dei picchi cromatografici utilizzando un rivelatore a selezione di massa o iniettando gli estratti dei campioni e delle soluzioni di lavoro in una colonna contenente una fase stazionaria con polarità differente.

L'esame gascromatografico di ogni estratto deve essere ripetuto almeno due volte in modo da mediare i valori ottenuti dalle repliche.

7.4.2. Procedimento basato sull'estrazione dello spazio di testa. Aprire il vial, contenente il campione conservato alla temperatura di 4°C, e svuotarlo rapidamente fino a lasciare un volume noto di liquido (pari a quello analizzato durante la calibrazione 7.3.2.), che può essere determinato esattamente per pesata al termine dell'analisi. Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno, aggiungere un'aliquota della soluzione (6.10.2.) in modo tale che la concentrazione finale della o delle sostanze introdotte sia pari a quella aggiunta alle soluzioni acquose di lavoro. Tutte queste

operazioni devono essere effettuate, con la massima cautela, in un ambiente controllato al fine di evitare perdite e contaminazioni.

Analizzare il campione nelle stesse condizioni sperimentali applicate nel corso della calibrazione.

Identificare i picchi delle sostanze in esame ed annotare le loro aree o le loro altezze. Se la risposta cade al di fuori dell'intervallo di calibrazione, modificare opportunamente le modalità di campionamento dello spazio di testa, ripetere la calibrazione nelle nuove condizioni sperimentali e procedere con una nuova analisi del campione.

E' opportuno confermare l'identificazione dei picchi cromatografici utilizzando un rivelatore a selezione di massa o riapplicando l'intera procedura dopo aver installato una colonna gascromatografica contenente una fase stazionaria con polarità differente.

L'esame gascromatografico di ogni campione deve essere ripetuto almeno due volte in modo da mediare i valori ottenuti dalle repliche.

7.4.3. Procedimento basato sul purge and trap. Aprire il vial, contenente il campione conservato alla temperatura di 4°C, prelevare un'aliquota nota del campione e trasferirla nel recipiente di estrazione. Queste operazioni devono essere effettuate, con la massima cautela, in un ambiente controllato al fine di evitare perdite e contaminazioni. Possono essere automatizzate impiegando un campionatore di liquidi connesso al recipiente di estrazione. Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno, aggiungere un'aliquota della soluzione (6.10.2.) in modo tale che la concentrazione finale della o delle sostanze, introdotte nel recipiente di estrazione, sia pari a quella aggiunta alle soluzioni acquose di lavoro.

Analizzare il campione nelle stesse condizioni sperimentali applicate nel corso della fase di calibrazione.

Identificare i picchi delle sostanze in esame ed annotare le loro aree o le loro altezze. Se la risposta cade al di fuori dell'intervallo di calibrazione, modificare opportunamente le modalità di estrazione o di arricchimento della fase vapore, ripetere la calibrazione nelle nuove condizioni sperimentali e procedere con una nuova analisi del campione.

E' opportuno confermare l'identificazione dei picchi cromatografici utilizzando un rivelatore a selezione di massa o riapplicando l'intera procedura dopo aver installato una colonna gascromatografica contenente una fase stazionaria con polarità differente.

L'esame gascromatografico di ogni campione deve essere ripetuto almeno due volte in modo da mediare i valori ottenuti dalle repliche.

7.5. Controllo del bianco

Controllare periodicamente la qualità dell'ambiente di lavoro e dei reagenti impiegati sottoponendo un'aliquota di acqua (6.1.2.) all'intero processo analitico nelle stesse condizioni sperimentali adottate durante l'analisi dei campioni e delle soluzioni di lavoro.

Se le concentrazioni dei VOX nel bianco sono inspiegabilmente elevate è necessario individuare ed eliminare la causa di contaminazione prima di riprendere le determinazioni analitiche. E' inoltre necessario ripetere l'analisi del lotto di campioni esaminato tra il penultimo e l'ultimo controllo del bianco.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata senza l'ausilio dello standard interno

Dai valori delle aree o delle altezze calcolare le concentrazioni dei VOX, identificati durante l'analisi del campione, utilizzando le corrispondenti curve di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione dell'estratto organico (7.4.1.) moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

I risultati ottenuti mediante l'estrazione liquido-liquido possono essere considerati attendibili solo se il recupero dello o degli standard di processo non è statisticamente diverso da quello determinato durante la calibrazione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo dello standard interno

La concentrazione incognita di ciascun VOX, identificato nel corso dell'analisi del campione, si ottiene dalla corrispondente curva di calibrazione a partire dal rapporto tra l'area o l'altezza dell'analita e l'area o l'altezza dello standard interno.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione dell'estratto organico (7.4.1.) moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

I risultati ottenuti mediante l'estrazione liquido-liquido possono essere considerati attendibili solo se il recupero dello o degli standard di processo non è statisticamente diverso da quello determinato durante la calibrazione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione di ciascun VOX nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) verranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello

Stato Ed., 1994.

OTTAVIANI, M.; VESCHETTI E. *Determinazione analitica degli alogeno-derivati nelle acque destinate al consumo umano*. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 1991. (Rapporti Istisan; 91/36).

UNICHIM. *Linee guida per l'analisi di idrocarburi alogenati molto volatili mediante gas-cromatografia*. Manuale n° 178. Milano: UNICHIM Ed., 1996.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DI BROMURO, CLORURO, FLUORURO, FOSFATO, NITRATO, NITRITO, SOLFATO. METODO PER CROMATOGRAFIA IONICA

0. Generalità e definizioni

Gli anioni bromuro, cloruro, fluoruro, fosfato, nitrato, nitrito e solfato sono presenti nelle acque in concentrazioni ampiamente variabili a seguito di apporti naturali e/o antropici. La tecnica della cromatografia ionica permette la determinazione degli anioni sopra elencati in modo rapido e sequenziale.

1. Campo di applicazione

La procedura analitica consente la determinazione di bromuro, cloruro, fluoruro, fosfato, nitrato, nitrito e solfato nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano. Il metodo non può essere applicato per la determinazione del fosforo totale.

L'intervallo di applicazione è variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto il tipo e le caratteristiche del rivelatore utilizzato, la capacità di carico della colonna cromatografica, la forza elutropica dell'eluente, le modalità di eluizione (isocratica o a gradiente), la natura chimica dell'anione (conduttività elettrica, presenza di gruppi cromofori) e la quantità di campione iniettata influenzano le sensibilità del metodo ed i limiti di rivelabilità raggiungibili.

Ad esempio, iniettando 100 μL di campione ed utilizzando un rivelatore conduttometrico con un fondo scala di 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ si può raggiungere un limite di rivelabilità prossimo a 0,1 mg/L per ciascun anione considerato. Concentrazioni inferiori di bromuro, nitrito e nitrato sono misurabili impiegando un rivelatore spettrofotometrico UV.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla separazione cromatografica degli anioni sopra elencati mediante colonne a scambio anionico. I singoli analiti vengono eluiti in tempi successivi e determinati da un rivelatore conduttometrico previa soppressione chimica o elettrochimica della conducibilità elettrica dell'eluente. L'inserimento in uscita al rivelatore conduttometrico di un rivelatore spettrofotometrico UV, operante a lunghezze d'onda comprese tra 200 e 210 nm, consente di confermare l'identificazione degli anioni bromuro, nitrito e nitrato e di abbassare sensibilmente il limite della loro rivelabilità.

Dall'integrazione delle aree dei singoli picchi cromatografici si ricavano le concentrazioni degli anioni sopra elencati mediante confronto con curve di calibrazione ottenute iniettando, nelle medesime condizioni sperimentali adottate per i campioni, soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Possono interferire anioni eluiti dalla colonna cromatografica con tempi di ritenzione simili a quelli degli analiti e in grado di produrre una risposta apprezzabile dal rivelatore impiegato.

Elevate concentrazioni di un singolo anione possono alterare la risoluzione, la ritenzione e la forma dei picchi cromatografici degli analiti eluiti successivamente nel corso dell'analisi cromatografica.

La diluizione del campione e/o la modifica delle condizioni cromatografiche consentono normalmente di rimuovere queste cause di errore.

Per quanto riguarda la determinazione del fluoruro, si segnala la possibile interferenza del tempo morto (*water dip*) che, in alcuni casi, può compromettere la corretta integrazione del picco dell'analita. In questi casi è necessario ripetere la determinazione variando la forza elutropica dell'eluente.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di materiale plastico o vetro, avendo cura di eliminare lo spazio di testa al di sopra del campione. Quest'accortezza consente di minimizzare la possibile alterazione di alcuni analiti.

Per la determinazione di nitrito, nitrato e fosfato i campioni devono essere conservati a temperatura di circa 4°C fino al momento dell'analisi. In tal caso la loro determinazione dovrà essere effettuata entro le 48 ore successive al prelievo.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti. Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.).

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo esente da fosfati, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, risciacquato con acqua (6.1.1.) e infine con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato, per l'analisi di questi analiti, deve essere risciacquato con acqua (6.1.1.) e infine con acqua (6.1.2.).

5.2. Cromatografo ionico

Il sistema cromatografico è costituito dai seguenti componenti principali:

5.2.1. *Sistema di pompaggio* provvisto di un dispositivo per lo smorzamento delle pulsazioni (*dumper*) e di un eventuale sistema di degasaggio dell'eluente.

5.2.2. *Sistema di introduzione del campione.*

5.2.3. *Precolonna* riempita con fase stazionaria dello stesso tipo di quello presente nella colonna cromatografica (5.2.4.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica (5.2.4.) da possibili adsorbimenti irreversibili di sostanze contenute nel campione.

5.2.4. *Colonna cromatografica* contenente una resina a scambio anionico. La colonna deve garantire la separazione di tutti gli analiti con una risoluzione R non inferiore a 1,3 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 1 mg/L di ciascun analita:

$$R = \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{(w_2 + w_1)}$$

nella quale:

- t_{r1} = tempo di ritenzione del primo picco (in min);
- t_{r2} = tempo di ritenzione del secondo picco (in min);
- w_1 = larghezza a metà altezza del primo picco (in min);
- w_2 = larghezza a metà altezza del secondo picco (in min).

5.2.5. *Dispositivo per la soppressione della conducibilità elettrica dell'eluente.* Si consiglia l'impiego di un soppressore chimico o elettrolitico in quanto garantisce prestazioni analitiche migliori.

5.2.6. *Rivelatore conduttometrico.*

5.2.7. *Rivelatore spettrofotometrico UV.*

5.2.8. *Sistema di elaborazione dei dati.*

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "puro" per analisi.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento, nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di analiti e interferenti.

6.2. Soluzione eluente

La scelta dell'eluente dipende dalle caratteristiche della colonna cromatografica (5.2.4.), dal numero degli analiti in esame, dalla loro concentrazione relativa, dalla presenza di eventuali interferenti e, in generale, dalle prestazioni cromatografiche desiderate.

A titolo esemplificativo, si consiglia l'impiego di una soluzione eluente costituita da sodio bicarbonato (NaHCO_3) 1,7 mM e da sodio carbonato (Na_2CO_3) 1,8 mM, nel caso in cui venga utilizzata una colonna cromatografica contenente una resina a scambio anionico pellicolare stirene-divinilbenzene a bassa capacità di carico e non siano stati riscontrati i problemi descritti in (3.).

6.3. Soluzione per la rigenerazione del soppressore

Scegliere la soluzione rigenerante più appropriata in funzione delle caratteristiche del soppressore utilizzato.

6.4. Soluzioni primarie di riferimento contenenti ciascuna 1,00 g/L di uno degli anioni in esame

Possono essere:

- prodotti reperibili in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenute pesando i seguenti sali di elevata purezza:
sodio bromuro (NaBr) 0,3219 g, sodio cloruro (NaCl) 0,4121 g, potassio fluoruro (KF) 0,7645 g, potassio fosfato biacido (KH_2PO_4) 0,3583 g, sodio nitrato (NaNO_3) 0,3427 g e potassio solfato (K_2SO_4) 0,4535 g, tutti essiccati in stufa a 105°C per due ore; sodio nitrito (NaNO_2) 0,3750 g essiccato, fino a peso costante, in un essiccatore. Solubilizzare ciascun sale con acqua (6.1.2.) e diluire ogni singola soluzione al volume finale di 250 mL.

Le soluzioni devono essere conservate in recipienti di materiale plastico o vetro. Verificare periodicamente la loro stabilità.

6.5. Soluzioni secondarie di riferimento contenenti ciascuna uno degli anioni in esame

In relazione alle concentrazioni degli anioni in esame nel campione da analizzare può essere necessario preparare soluzioni secondarie diluendo opportunamente con acqua (6.1.2.) una o più soluzioni primarie di riferimento (6.4.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento seguendo anche le indicazioni fornite dai relativi manuali. In particolare impostare le condizioni cromatografiche prescelte, scegliere un fondo scala compatibile con la concentrazione degli anioni da determinare e lasciare che lo strumento raggiunga l'equilibrio. Azzerare le risposte dei rivelatori quando il loro segnale non presenta fluttuazioni significative (assenza di "picchi di deriva).

7.2. Identificazione dei picchi cromatografici

Iniettare soluzioni contenenti i singoli anioni ricercati, preparate diluendo opportunamente le soluzioni primarie di riferimento (6.4.), e registrare i relativi tempi di ritenzione.

7.3. Calibrazione

Preparare le curve di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità delle curve di calibrazione costruite inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro contenenti gli anioni in esame, diluire opportunamente le soluzioni primarie (6.4.) e/o quelle secondarie (6.5.). Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione compresi tra 100 e 1000 μL .

Iniettare le soluzioni di lavoro ed integrare i picchi cromatografici. Per ogni analita, costruire una curva di calibrazione ponendo in ordinata le aree dei picchi ed in ascissa le corrispondenti concentrazioni espresse in mg/L.

7.4. Determinazione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di calibrazione. Qualora si renda necessario, filtrare il campione con membrane da 0,45 μm . Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte. Identificare i picchi cromatografici confrontando i loro tempi di ritenzione con quelli registrati applicando la procedura descritta in (7.2.).

Se una o più risposte del campione cadono al di fuori dell'intervallo individuato dalle curve di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore delle aree dei picchi cromatografici calcolare le concentrazioni delle specie identificate nel campione utilizzando le corrispondenti curve di calibrazione. Mediare i valori delle repliche.

Nel caso in cui il campione sia stato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere le concentrazioni degli analiti nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rilevabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

EPA. *The determination of Inorganic Anions in Water by Ion Chromatography*. Metodo 300.0.

UNICHIM. *Acque destinate al consumo umano*. Determinazione degli anioni fluoruri, bromuri, nitrati, nitriti, solfati ed o-fosfati nelle acque usando la cromatografia ionica. Metodo n° 876. Milano: UNICHIM Ed., 1991.

DETERMINAZIONE DEI CATIONI CALCIO, LITIO, MAGNESIO, POTASSIO, SODIO. METODO PER CROMATOGRAFIA IONICA

0. Generalità e definizioni

I cationi calcio, litio, magnesio, potassio e sodio sono presenti nelle acque in concentrazioni ampiamente variabili a seguito di apporti naturali e/o antropici.

La tecnica della cromatografia ionica permette di determinare i cationi sopra elencati in modo rapido e sequenziale.

1. Campo di applicazione

La procedura analitica consente la determinazione di calcio, litio, magnesio, potassio e sodio nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

L'intervallo di applicazione è variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche del rivelatore utilizzato, la capacità di carico della colonna cromatografica, la forza elutropica dell'eluente, le modalità di eluizione (isocratica o a gradiente), la natura chimica del catione (conduttività elettrica) e la quantità di campione iniettata influenzano le sensibilità del metodo ed i limiti di rivelabilità raggiungibili.

Ad esempio, iniettando 100 μL di campione ed utilizzando un rivelatore conduttometrico con un fondo scala di 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ si può raggiungere un limite di rivelabilità prossimo a 0,1 mg/L per magnesio, potassio e sodio e a 0,5 mg/L per calcio e litio.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla separazione cromatografica dei cationi sopra elencati mediante colonne a scambio cationico. I singoli analiti vengono eluiti in tempi successivi e determinati da un rivelatore conduttometrico previa soppressione chimica o elettrochimica della conducibilità elettrica dell'eluente.

Dall'integrazione delle aree dei singoli picchi cromatografici si ricavano le concentrazioni dei cationi sopra elencati mediante confronto con curve di calibrazione ottenute iniettando, nelle medesime condizioni sperimentali adottate per i campioni, soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause d'errore

Possono interferire cationi eluiti dalla colonna cromatografica con tempi di ritenzione simili a quelli degli analiti e in grado di produrre una risposta apprezzabile dal rivelatore impiegato.

Elevate concentrazioni di un singolo catione possono alterare la risoluzione, la ritenzione e la forma dei picchi cromatografici degli analiti eluiti successivamente nel corso dell'analisi cromatografica.

La diluizione del campione e/o la modifica delle condizioni cromatografiche consentono normalmente di rimuovere queste cause di errore.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di materiale plastico o vetro, avendo cura di eliminare lo spazio di testa al di sopra del campione. Quest'accortezza consente di minimizzare la possibile alterazione di campioni contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti. Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.).

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo esente da fosfati, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, risciacquato con acqua (6.1.1.) e infine con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato, per l'analisi di questi analiti, deve essere risciacquato con acqua (6.1.1.) e infine con acqua (6.1.2.).

5.2. Cromatografo ionico

Il sistema cromatografico è costituito dai seguenti componenti principali:

5.2.1. Sistema di pompaggio provvisto di un dispositivo per lo smorzamento delle pulsazioni (*dumper*) e di un eventuale sistema di degasaggio dell'eluente.

5.2.2. Sistema di introduzione del campione.

5.2.3. Precolonna riempita con fase stazionaria dello stesso tipo di quello presente nella colonna cromatografica (5.2.4.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica (5.2.4.) da possibili adsorbimenti irreversibili di sostanze contenute nel campione.

5.2.4. *Colonna cromatografica* contenente una resina a scambio cationico. La colonna deve garantire la separazione di tutti gli analiti con una risoluzione R non inferiore a 1,3 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 1 mg/L di ciascun analita:

$$R = \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{(w_2 + w_1)}$$

nella quale:

- t_{r1} = tempo di ritenzione del primo picco (in min);
- t_{r2} = tempo di ritenzione del secondo picco (in min);
- w_1 = larghezza a metà altezza del primo picco (in min);
- w_2 = larghezza a metà altezza del secondo picco (in min).

5.2.5. *Dispositivo per la soppressione della conducibilità elettrica dell'eluente*. Si consiglia l'impiego di un soppressore chimico o elettrolitico in quanto garantisce prestazioni analitiche migliori.

5.2.6. *Rivelatore conduttometrico*.

5.2.7. *Sistema di elaborazione dei dati*.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "puro" per analisi.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento, nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di analiti e di interferenti.

6.2. Soluzione eluente

La scelta dell'eluente dipende dalle caratteristiche della colonna cromatografica (5.2.4.), dal numero degli analiti in esame, dalla loro concentrazione relativa, dalla presenza di eventuali interferenti e, in generale, dalle prestazioni cromatografiche desiderate.

A titolo esemplificativo, si consiglia l'impiego di una soluzione eluente costituita da acido metansolfonico ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) 20 mM nel caso in cui venga utilizzata una colonna cromatografica contenente una resina a scambio cationico pellicolare stirene-divinilbenzene a bassa capacità di carico e non siano stati riscontrati i problemi descritti in (3.).

6.3. Soluzioni rigeneranti

Scegliere la soluzione rigenerante più appropriata in funzione delle caratteristiche del soppressore utilizzato.

6.4. Soluzioni primarie di riferimento contenenti ciascuna 1,00 g/L di uno dei cationi in esame

Possono essere:

- prodotti reperibili in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenute pesando i seguenti prodotti di elevata purezza: litio nitrato (LiNO_3) 2,4838 g, potassio cloruro (KCl) 0,4767 g e sodio cloruro (NaCl) 0,6355 g, essiccati in stufa a 105°C per due ore; calcio carbonato (CaCO_3) 0,6243 g e magnesio ossido (MgO) 0,4145 g, essiccati in muffola a 180°C per due ore.

Solubilizzare i sali di litio, potassio e sodio con acqua (6.1.2.), il sale di calcio e l'ossido di magnesio con la minima quantità di HNO_3 1:1; diluire ogni singola soluzione al volume finale di 250 mL.

Le soluzioni devono essere conservate in recipienti di materiale plastico. Verificare periodicamente la loro stabilità.

6.5. Soluzioni secondarie di riferimento contenenti ciascuna uno dei cationi in esame

In relazione alle concentrazioni dei cationi in esame nel campione da analizzare può essere necessario preparare soluzioni secondarie diluendo opportunamente con acqua (6.1.2.) una o più soluzioni primarie di riferimento (6.4.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento seguendo anche le indicazioni fornite dai relativi manuali. In particolare impostare le condizioni cromatografiche prescelte, scegliere un fondo scala compatibile con la concentrazione dei cationi da determinare e lasciare che lo strumento raggiunga l'equilibrio. Azzerare la risposta del rivelatore quando il suo segnale non presenta fluttuazioni significative (assenza di "picchi fantasma" e di deriva).

7.2. Identificazione dei picchi cromatografici

Iniettare soluzioni contenenti i singoli cationi ricercati, preparate diluendo opportunamente le soluzioni primarie di riferimento (6.4.), e registrare i relativi tempi di ritenzione.

7.3. Calibrazione

Preparare le curve di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità delle curve di calibrazione costruite inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro contenenti i cationi in esame, diluire opportunamente le soluzioni primarie (6.4.) e/o quelle secondarie (6.5.). Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione compresi tra 100 e 1000 μL .

Iniettare le soluzioni di lavoro ed integrare i picchi cromatografici. Per ogni analita, costruire una curva di calibrazione ponendo in ordinata le aree dei picchi ed in ascissa le corrispondenti concentrazioni espresse in mg/L.

7.4. Determinazione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di calibrazione. Qualora si renda necessario, filtrare il campione con membrane da 0,45 μm . Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte. Identificare i picchi cromatografici confrontando i loro tempi di ritenzione con quelli registrati applicando la procedura descritta in (7.2.).

Se una o più risposte del campione cadono al di fuori dell'intervallo individuato dalle curve di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore delle aree dei picchi cromatografici calcolare le concentrazioni delle specie identificate nel campione utilizzando le corrispondenti curve di calibrazione. Mediare i valori delle repliche.

Nel caso in cui il campione sia stato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. *Espressione dei risultati*

Esprimere le concentrazioni degli analiti nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rilevabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

DETERMINAZIONE DELL'ALLUMINO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

L'alluminio è distribuito uniformemente in natura ed è un costituente di tutti i suoli, le piante e i tessuti animali. Gli scarichi industriali, l'erosione e il dilavamento dei suoli, la deposizione del particolato atmosferico e le precipitazioni atmosferiche sono i principali percorsi attraverso i quali l'elemento entra nell'ambiente acquatico.

I livelli di alluminio nelle acque variano considerevolmente e possono superare i 10 µg/L in prossimità di impianti per la sua lavorazione. La concentrazione in acqua è regolata dal pH, dal potenziale redox del mezzo acquoso, dalla natura e dalla concentrazione dei complessanti eventualmente presenti.

Nei processi di trattamento delle acque si ricorre spesso alla coagulazione mediante aggiunta di sali di alluminio al fine di rimuovere i materiali organico e minerale in sospensione. Gran parte dell'elemento introdotto durante la coagulazione viene successivamente rimosso come sale insolubile mediante sedimentazione e filtrazione. Il livello dell'alluminio nelle acque sottoposte a questo trattamento è affetto dalle condizioni operative applicate.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione dell'alluminio disciolto e dell'alluminio cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 5 e 50 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta dell'alluminio mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 309,3 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti $200 \mu\text{L}$ di acido nitrico per

100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico.*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v).*

6.2.3. *Acido cloridrico concentrato (titolo minimo 37%).*

6.3. Soluzione principale di riferimento contenente 1,000 g/L di alluminio

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,250 g di alluminio metallico, previamente immerso in acetone (6.6.) ed essiccato in stufa a 110°C per due ore, con la minima quantità di HNO₃ (6.2.1.) o della miscela 3:1 di HNO₃ (6.2.1.) e HCl (6.2.3.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di alluminio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di magnesio 5,8 g/L

Solubilizzare 1,00 g di nitrato di magnesio esaidrato (Mg(NO₃)₂ · 6H₂O) di elevata purezza ed esente da tracce di cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.6. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	309,3
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Pirolitico
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1500	50	10
Atomizzazione	2400	∞	5
Pulizia	2650	150	1
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione terziaria (6.5.) avendo cura di aggiungere 20 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 10 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate

Tabella 3. *Righe di risonanza dell'alluminio.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
237,3	4
237,8	6
256,8	12
257,5	8
308,2	2
309,3	1
394,4	2
396,2	1

le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale di alluminio presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione di alluminio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità di argento nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione di alluminio nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DELL'ARGENTO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

In natura l'argento è presente sia in forma elementare che come minerale (argentite, cloruro di argento) ed è spesso associato ad altri minerali di oro, piombo, rame, e zinco. E' utilizzato come componente di alcune leghe, in fotografia, negli impianti elettrici, nell'argenteria, in gioielleria, nelle monete, negli studi dentistici e in alcuni fungicidi. A causa delle sue proprietà batteriostatiche, i suoi sali sono stati impiegati nella disinfezione delle acque e nella profilassi.

Nelle acque naturali il livello di argento è notevolmente basso (circa 1 µg/L). I sistemi convenzionali di trattamento delle acque si sono dimostrati efficaci nella rimozione dell'elemento dalle acque in ingresso all'impianto. Nelle acque potabili la concentrazione può aumentare considerevolmente per la presenza di tracce di argento in alcuni metalli (piombo e zinco) usati nei sistemi di distribuzione e per l'utilizzo dell'ossido nella disinfezione di alcuni approvvigionamenti idrici. Il livello medio nell'acqua potabile, di norma, non supera 1 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione dell'argento disciolto e dell'argento cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 25 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta dell'argento mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 328,1 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti $200 \mu\text{L}$ di acido nitrico per

100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acido nitrico

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%)*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v)*

6.3. Soluzione principale di riferimento contenente 1,000 g/L di argento

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,1575 g di nitrato di argento (AgNO_3) di elevata purezza, acidificando la soluzione con 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 100 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale

caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di argento

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di ammonio fosfato monobasico 4,0 g/L

Solubilizzare 0,40 g di ammonio fosfato monobasico (NH₄H₂PO₄) di elevata purezza ed esente da tracce di argento in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.):

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	328,1
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	Normale
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	500	50	10
Atomizzazione	2200	∞	5
Pulizia	2650	200	1
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. *Righe di risonanza dell'argento.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
328,1	1
338,3	2

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.) Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale di argento presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione di argento nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità di argento nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. *Espressione dei risultati*

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione di argento nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DELL'ARSENICO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

L'arsenico è presente naturalmente in tutti i comparti ambientali, generalmente, in associazione con lo zolfo e con numerosi metalli di transizione (Co, Cu, Pb, Zn, ecc.). In alcune aree geografiche localizzate la produzione e l'uso di composti a base di arsenico ne ha incrementato significativamente la concentrazione al di sopra del livello di fondo. Molti composti dell'elemento sono solubili in acqua; entrambe le forme tri- e pentavalenti nonché alcuni composti organici dell'arsenico sono stati rinvenuti nelle acque superficiali e profonde.

Nelle acque sorgive non contaminate la concentrazione dell'elemento è normalmente inferiore a 10 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione dell'arsenico disciolto e dell'arsenico cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 2 e 50 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornello di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta dell'arsenico mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 193,7 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante

impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. Spettrometro per assorbimento atomico munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. Lampada a catodo cavo o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. Atomizzatore elettrotermico.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di arsenico

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,434 g di sodio arsenito (NaAsO_2) di elevata purezza, acidificando la soluzione con 500 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di arsenico

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in 6.3.

6.5. Modificatore di matrice

6.5.1 *Soluzione di nitrato di palladio 1,0 g/L.* Solubilizzare 0,10 g di nitrato di palladio [$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$] di elevata purezza ed esente da tracce di arsenico in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.5.2 *Soluzione di acido citrico 20,0 g/L.* Solubilizzare 2,00 g di acido citrico di elevata purezza ed esente da tracce di arsenico in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	193.7
Fenditura (nm)	0,5
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (μL)	10
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1200	100	6
Atomizzazione	2700	∞	2
Pulizia ²	2700	-	4

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume

Tabella 3. *Righe di risonanza dell'arsenico.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
193,7	1
197,2	2

di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale dell'arsenico presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione dell'arsenico nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità dell'arsenico nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione dell'arsenico nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL BARIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

Il bario è presente nella crosta terrestre principalmente come solfato (barite) e, in misura minore, come carbonato (witherite). Tracce dell'elemento sono state rilevate in numerosi suoli.

I composti del bario sono utilizzati nella perforazione di pozzi petroliferi, nella produzione di vernici e smalti, nel trattamento dei carburanti diesel, nella manifattura della carta, della gomma, del linoleum e di altri prodotti similari, nelle diagnosi mediche.

Numerose acque contengono bario ad una concentrazione inferiore a 0,1 mg/L. Livelli particolarmente elevati dell'elemento (fino a 10 mg/L) sono stati riscontrati in alcune sorgenti sotterranee geotermali.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del bario disciolto e del bario cedibile a pH < 2 presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 10 e 100 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del bario mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al

termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 553,6 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque.

Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice. In questo caso non è possibile impiegare la lampada al deuterio in quanto l’energia della sua radiazione è insufficiente nella zona in cui cade la riga analitica del bario.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate

da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale che viene utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte*. Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %)*.

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v*.

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di bario

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;

- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,379 g di cloruro di bario (BaCl_2) di elevata purezza previamente essiccato in stufa a 250°C per due ore, acidificando la soluzione con 500 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di bario

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in 6.3.

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di calcio 4,1 g/L

Solubilizzare 0,41 g di nitrato di calcio [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$] di elevata purezza ed esente da tracce di bario in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in 6.3.

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	553,6
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	20

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	110	10	10
Incenerimento ¹	1200	50	20
Atomizzazione	2650	∞	5
Pulizia	2700	50	3
Raffreddamento ²	25	500	10
Pulizia	1200	250	5
Pulizia	2650	1000	8
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornetto di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è

richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Portare a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del bario presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

Tabella 3. *Righe di risonanza del bario.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
350,1	12
455,4	5
553,6	1

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del bario nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del bario nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del bario nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) verranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL BERILLIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il berillio è un componente della struttura minerale del feldspato e può esistere come minerale (berillo) in piccoli depositi localizzati. La combustione dei combustibili fossili rappresenta la sorgente primaria dell'elemento per l'ambiente.

A causa del basso peso specifico e dell'elevata resistenza alla trazione meccanica, il berillio metallico è impiegato come costituente di leghe speciali per applicazioni come veicoli spaziali, finestre per raggi X ed alcuni componenti elettrici.

L'immissione di berillio nei corsi d'acqua è dovuta essenzialmente all'erosione delle rocce, alle precipitazioni atmosferiche e agli scarichi municipali ed industriali. Le concentrazioni dell'elemento nelle acque dolci sono, in generale, inferiori a 1 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del berillio disciolto e del berillio cedibile a pH < 2 presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 0,2 µg/L e 5 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del berillio mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 234,9 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti $200 \mu\text{L}$ di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acido nitrico

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%)*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v)*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di berillio

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta a partire da berillio metallico di elevata purezza, sgrassato con acetone (6.7.), riscaldato a 50°C per un'ora in stufa da vuoto e conservato in essiccatore per non meno di 30 min. Pesare 0,1000 g di berillio pretrattato in un beaker di polietilene, aggiungere la minima quantità di HNO₃ (6.2.1.) necessaria a solubilizzarlo, trasferire quantitativamente la soluzione in un matraccio da 100 mL, diluire a volume con acqua (6.1.2.) ed omogeneizzare.

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene) chiuso ermeticamente, al riparo dalla luce e dagli agenti contaminanti esterni.

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 10,0 mg/L di berillio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in 6.3.

6.5. Soluzione terziaria di riferimento contenente 100 µg/L di berillio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione secondaria di riferimento (6.4.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in 6.3.

6.6. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di magnesio 5,8 g/L

Solubilizzare 1,00 g di nitrato di magnesio esaidrato (Mg(NO₃)₂ · 6H₂O) di elevata purezza ed esente da tracce di cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in 6.3.

6.7. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione terziaria (6.5.) avendo cura di aggiungere 20 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 10 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	234,9
Fenditura (nm)	0,7
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Piattaforma di L'vov
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1400	50	10
Atomizzazione	2600	∞	6
Pulizia	2700	100	4
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi

del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione o modificando la programmazione della fase di atomizzazione.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in 7.3. Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del berillio presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in 7.3.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del berillio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del berillio nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la

preparazione delle soluzioni arricchite descritte in 7.4.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione del berillio nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL BORO. METODO SPETTROFOTOMETRICO ALLA CURCUMINA

0. Generalità e definizioni

La presenza del boro nelle acque superficiali e sotterranee è dovuta a fattori antropici e/o naturali. Composti del boro sono utilizzati in alcuni processi industriali e nella maggior parte dei formulati impiegati nella detergenza. Suoli e sottosuoli contenenti minerali del boro possono cedere l'elemento alle acque con cui vengono in contatto. I minerali più diffusi e di maggiore interesse estrattivo sono il borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) e la colemanite ($\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$).

Raramente, a parte il caso di acque minerali e/o termali, si riscontrano concentrazioni di boro superiori a 1 mg/L. Per il suo comportamento anfotero, il boro è presente nelle acque come H_3BO_3 , prevalentemente nella forma indissociata, e come $\text{B}(\text{OH})_4^-$. L'acqua di mare contiene approssimativamente 5 mg/L di boro.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del boro presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 100 e 1000 $\mu\text{g/L}$. Tale intervallo può essere esteso riducendo il volume di campione sottoposto ad analisi.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione spettrofotometrica del boro che reagisce in ambiente acido con la curcumina dando un composto rosso, chiamato rosocianina. Il complesso viene successivamente essiccato a bagnomaria e disciolto in etanolo.

Dalla misura spettrofotometrica dell'assorbanza della soluzione a 540 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Il nitrato interferisce se presente in concentrazioni superiori a 70 mg/L.

La durezza totale interferisce a concentrazioni superiori a 10°F, in quanto provoca l'intorbidamento della soluzione alcolica finale. Quest'ultima interferenza può essere eliminata trattando il campione con una resina cationica forte.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di boro (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campione si mantiene stabile per almeno un mese.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Non utilizzare vetreria in borosilicato, in quanto può cedere l'analita alle soluzioni trattate. Al suo posto impiegare contenitori ed attrezzature in polietilene, polipropilene o altro materiale plastico.

5.2. Spettrofotometro o colorimetro

Lo strumento, munito di cuvette con cammino ottico di 1 cm, deve essere in grado di operare a 540 nm.

5.3. Bagno termostatico

5.3. Capsule

Utilizzare possibilmente capsule di teflon con capacità compresa tra 50 e 100 mL.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo puro per analisi.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento, nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di boro.

6.2. Acido cloridrico concentrato (titolo 37%)

6.3. Etanolo al 95%

6.4. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di boro

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,5716 g di acido borico (H_3BO_3) di elevata purezza, previamente essiccato in stufa a 120°C per due ore, in 100 mL di acqua (6.1.2.).

La soluzione deve essere conservata in recipiente ben chiuso di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di boro (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.5. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di boro

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.4.). Conservare come descritto in (6.4.).

6.6. Soluzione di curcumina 0,40 g/L

Sciogliere 80 mg di curcumina ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$) e 10,0 g di acido ossalico diidrato ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) in 150 mL di etanolo (6.3.); aggiungere 8,4 mL di acido cloridrico (6.2.) e diluire a 200 mL con etanolo (6.3.). Filtrare la soluzione nel caso in cui sia torbida. La soluzione è stabile per almeno una settimana se conservata a circa 4°C .

6.7. Resina a scambio cationico forte

7. Procedura di misura

7.1. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro introdurre volumi di soluzione secondaria di riferimento (6.5.), compresi tra 50 e 1000 μL , nelle capsule (5.4.); diluire, se necessario, a 1000 μL con acqua (6.1.2.). Aggiungere 4,0 mL della soluzione di curcumina (6.6) ad ogni capsula, agitare dolcemente con moto rotatorio ed evaporare, sotto cappa aspirante, a $55 \pm 2^\circ\text{C}$ in bagno termostatico (5.3) per due ore. Poiché un aumento del tempo di evaporazione, durante il quale si ha anche l'allontanamento dell'acido cloridrico, porta ad un incremento del colore della soluzione finale, è importante che la durata del trattamento risulti costante sia per le soluzioni di calibrazione che per i campioni. Inoltre è indispensabile utilizzare capsule tra loro simili per tipo, diametro e materiale in modo da uniformare i tempi di evaporazione.

Lasciar raffreddare le capsule a temperatura ambiente, aggiungere ad ognuna di esse 10 mL di etanolo (6.3) e mescolare dolcemente fino a completa dissoluzione del residuo rosso. Trasferire quantitativamente il loro contenuto in matracci tarati da 25 mL e diluire al volume finale con etanolo (6.3).

Misurare l'assorbanza delle soluzioni alcoliche a 540 nm utilizzando cuvette con cammino ottico di 1 cm.

Effettuare una prova in bianco dei reagenti operando come sopra descritto senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.

Tracciare una curva di calibrazione ponendo in ordinata le assorbanze ed in ascissa le corrispondenti concentrazioni di boro espresse in $\mu\text{g/L}$.

Le letture devono essere effettuate entro un'ora dalla fine del trattamento di evaporazione.

7.2. Rimozione dell'interferenza dovuta alla durezza

Ad un'aliquota di campione (compresa tra 10 e 25 mL) aggiungere circa 0,5 g di resina a scambio cationico forte (6.7.) ed agitare con ancoretta magnetica per almeno 5 minuti. Lasciare decantare e, se necessario, filtrare per eliminare la resina.

7.3. Dosaggio del campione

Introdurre 1 mL di campione, eventualmente trattato come descritto in (7.2.), in una capsula (5.4.) ed applicare la procedura indicata in (7.1.) senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.

Nel caso in cui la risposta del campione cada al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del boro nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui il campione sia stato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del boro nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione, e limite di rilevabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL BORO. METODO SPETTROFOTOMETRICO ALL'AZOMETINA H

0. Generalità e definizioni

La presenza del boro nelle acque superficiali e sotterranee è dovuta a fattori antropici e/o naturali. Composti del boro sono utilizzati in alcuni processi industriali e nella maggior parte dei formulati impiegati nella detergenza.

Suoli e sottosuoli contenenti minerali del boro possono cedere l'elemento alle acque con cui vengono in contatto. I minerali più diffusi e di maggiore interesse estrattivo sono il borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) e la colemanite ($\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Raramente, a parte il caso di acque minerali e/o termali, si riscontrano concentrazioni di boro superiori ad 1 mg/L. Per il suo comportamento anfotero, il boro è presente nelle acque come H_3BO_3 , prevalentemente nella forma indissociata, e come $\text{B}(\text{OH})_4^-$. L'acqua di mare contiene approssimativamente 5 mg/L di boro.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del boro presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 50 e 1000 $\mu\text{g/L}$. Tale intervallo può essere esteso variando il volume di campione sottoposto ad analisi.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione spettrofotometrica del boro che reagisce, a pH 6, con azometina -H dando un complesso giallo.

Dalla misura spettrofotometrica dell'assorbanza del complesso colorato, effettuata in un intervallo compreso tra 410 e 420 nm, si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica

3. Interferenze e cause di errori

Le specie comunemente presenti in un'acqua destinata al consumo umano non interferiscono significativamente con la misura. Se il campione è colorato, torbido e/o contiene acidi umici, deve essere pretrattato, ad esempio, mediante filtrazione attraverso una membrana con micropori da 0,45 μm o mediante percolazione lungo una colonna di carbone attivo.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di boro (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campione si mantiene stabile per almeno un mese.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Non utilizzare vetreria in borosilicato, in quanto può cedere l'analita alle soluzioni trattate. Al suo posto impiegare contenitori ed attrezzature in polietilene, polipropilene o altro materiale plastico.

5.2. Spettrofotometro o colorimetro

Lo strumento, munito di cuvette con cammino ottico di 1 cm, deve essere in grado di operare a 540 nm.

5.3. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri in estere (nitrato e/o acetato) di cellulosa con micropori da 0,45 μm .

5.4. Stufa termostatica programmabile a 20 ± 3 °C

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo puro per analisi.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento, nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di boro.

6.2. Acido solforico concentrato (titolo 30 %)**6.3. Acido ortofosforico concentrato (titolo 85 %)****6.4. Acido L(+)-ascorbico****6.5. Ammonio acetato****6.6. Acido citrico****6.7. Sale disodico dell'acido etilendiamminotetracetico diidrato (EDTA)****6.8. Soluzione di Azometina H**

Solubilizzare 1,00 g di azometina H (sale sodico dell'acido 8-N-(2-idrossibenzilidene)-ammino-1-naftolo-3,6-disolfonico) e 3,00 g di acido L(+)-ascorbico in acqua e diluire a 100 mL in un matraccio tarato. La soluzione è stabile per una settimana se conservata, ad una temperatura di circa 4 °C, in una bottiglia di materiale plastico.

6.9. Soluzione tampone a pH = 5,9

Solubilizzare 125 g di ammonio acetato in 125 mL di acqua e aggiungere, lentamente e sotto agitazione, 40 mL di acido solforico (6.2.), 2,5 mL di acido ortofosforico (6.3.), 0,50 g di acido citrico (6.6.) e 0,50 g di EDTA (6.7.). Se necessario scaldare leggermente. Conservare in bottiglia di materiale plastico.

6.10. Soluzione reagente

Mescolare uguali volumi dei reagenti (6.8.) e (6.9.) in una bottiglia di materiale plastico. Questa soluzione deve essere preparata ogni volta che si esegue l'analisi.

6.11. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di boro

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,5716 g di acido borico (H_3BO_3) di elevata purezza, previamente essiccato in stufa a 120°C per due ore, in 100 mL di acqua (6.1.2.).

La soluzione deve essere conservata in recipiente ben chiuso di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di boro (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.12. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di boro

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.11.). Conservare come descritto in 6.11.

7. Procedura di misura

7.1. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro introdurre volumi di soluzione secondaria di riferimento (6.12.) compresi tra 50 e 1000 μL in matracci tarati di plastica da 100 mL ed aggiungere 10 mL della soluzione reagente (6.10). Diluire al volume finale con acqua (6.1.2.), mescolare ed attendere 2 ore conservando le soluzioni al buio ed alla temperatura di 20 ± 3 °C. Misurare l'assorbanza ad una lunghezza di 410-420 nm utilizzando cuvette con cammino ottico compreso tra 1 e 5 cm.

Effettuare una prova in bianco dei reagenti operando come sopra descritto senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.

Tracciare una curva di calibrazione ponendo in ordinata le assorbanze ed in ascissa le corrispondenti concentrazioni di boro espresse in $\mu\text{g/L}$.

7.2. Dosaggio del campione

Introdurre 25 mL di campione in un matraccio tarato di plastica da 100 mL ed applicare la procedura indicata in (7.1.) senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.

Nel caso in cui la risposta del campione cada al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del boro nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui il campione sia stato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del boro nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione, e limite di rilevabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

W. Fresenius K.E. Quentin W. Schneider (Eds) *Water Analysis*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1988.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

UNICHIM. *Acque destinate al consumo umano. Metodi chimici e fisici*. Manuale n° 169, parte II. Milano: UNICHIM Ed., 1995.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL CADMIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il cadmio è distribuito uniformemente lungo la crosta terrestre a livelli di tracce. Rari sono i giacimenti di minerale nei quali può essere rinvenuto come componente principale (ad esempio la greenockite o CdS). E' presente in piccole quantità in quasi tutti i minerali di zinco, dai quali viene normalmente estratto come sottoprodotto.

Nelle acque superficiali non inquinate la concentrazione di cadmio difficilmente supera 1 µg/L. Valori più elevati sono attribuibili alla presenza di scarichi industriali o al percolato da terreni additivati con fanghi prodotti dai depuratori.

Il livello di cadmio nelle acque destinate al consumo umano è normalmente molto basso, grazie anche all'efficienza dei trattamenti effettuati negli impianti di potabilizzazione. Concentrazioni più elevate sono state riscontrate nelle acque prelevate all'utenza per effetto del contatto con materiali contenenti tale elemento (guarnizioni idrauliche, saldature a base di argento, tubature in ferro galvanizzato).

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del cadmio disciolto e del cadmio cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 0,5 e 2,0 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del cadmio mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e

sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 228,8 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

– *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico.*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. *Acqua*

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento, nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. *Acidi minerali*

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. *Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di cadmio*

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,250 g di cadmio metallico, previamente immerso in acetone (6.6.) ed essiccato in stufa a 110°C per due ore, con 500 µL di HNO₃ (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione deve essere conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di cadmio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di ammonio fosfato monobasico 4,0 g/L

Solubilizzare 0,40 g di ammonio fosfato monobasico (NH₄H₂PO₄) di elevata purezza ed esente da tracce di cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.6. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	228,8
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico con piattaforma
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	700	100	10
Atomizzazione	1600	∞	4
Pulizia	2650	250	2
Raffreddamento	40	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase

Tabella 3. *Righe di risonanza del cadmio.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
228,8	1
326,1	500

di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del cadmio presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del cadmio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del cadmio nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del cadmio nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL COBALTO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il cobalto è uno dei costituenti minori delle rocce ignee della crosta terrestre e si trova in piccole quantità nei minerali contenenti rame, nichel, ferro o argento.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del cobalto disciolto e del cobalto cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 5 e 100 $\mu\text{g/L}$.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornello di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del cobalto mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 240,7 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali "effetti matrice" vanno rimossi mediante l'impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L'attivazione del

correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell'analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell'analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l'impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori ti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,4 costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. Spettrometro per assorbimento atomico munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. Lampada a catodo cavo o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. Atomizzatore elettrotermico

5.3.4. Fornetto (tubo) di grafite. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornetto di grafite. Per l'introduzione del campione nel fornetto è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. Gas inerte. Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “ultrapuro” per analisi in tracce.

6.1. *Acqua*

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. *Acidi minerali*

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%)*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v)*

6.2.3. *Acido cloridrico concentrato (titolo minimo 37%)*

6.3. *Soluzione principale di riferimento contenente 1,000 g/L di cobalto*

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,4307 g di $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ di elevata purezza, acidificando la soluzione con 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 100 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. *Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di cobalto*

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. *Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di magnesio 5,8 g/L*

Solubilizzare 1,00 g di nitrato di magnesio esaidrato ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) di elevata purezza ed esente da tracce di cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	240,7
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1400	50	10
Atomizzazione	2500	∞	5
Pulizia	2650	150	1
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 μL .

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. Righe di risonanza del cobalto.

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
240,7	1
241,2	2
242,5	1
243,6	6
252,1	6
304,4	8
341,3	40
352,7	40

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale di cobalto presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione di alluminio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità di argento nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione di cobalto nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

DETERMINAZIONE DEL CROMO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il cromo è presente in piccole quantità sia in numerose rocce che in molti terreni. Il minerale più diffuso è la cromite o FeCr_2O_4 nella quale il metallo esiste allo stato trivalente.

In generale il livello di cromo rilevato nelle acque superficiali non supera 10 $\mu\text{g/L}$ (raramente raggiunge 25 $\mu\text{g/L}$) soprattutto a causa della bassa solubilità delle forme trivalenti. Sono stati, comunque, segnalati casi di contaminazione determinati principalmente dallo sversamento di effluenti industriali nel letto dei fiumi.

Nelle acque naturali il cromo può esistere allo stato libero, complessato o adsorbito su materiale particellare in sospensione. La valenza della forma chimica (III o VI) è influenzata dal pH dell'acqua. Il cromo trivalente, più stabile del corrispondente stato ossidato, viene convertito nell'idrossido insolubile a pH neutro. La concentrazione nell'acqua potabile, di solito, non supera quella riscontrata nelle sorgenti naturali.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del cromo disciolto e del cromo cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 10 $\mu\text{g/L}$.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornello di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del cromo mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con

micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 357,9 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico.*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di cromo

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,707 g di potassio dicromato ($K_2Cr_2O_7$) di elevata purezza, previamente essiccato in stufa a 110°C per almeno due ore, acidificando la soluzione con 500 μ L di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di cromo

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di magnesio 6,0 g/L

Solubilizzare 0,60 g di nitrato di magnesio [Mg(NO₃)₂] di elevata purezza ed esente da tracce di cromo in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'ecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	357,9
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	110	10	10
Incenerimento ¹	1300	60	10
Atomizzazione	2550	∞	3
Pulizia	2650	100	4
Raffreddamento ²	40	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di

lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del cromo presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

Tabella 3. *Righe di risonanza del cromo.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
357,9	1
359,4	2
360,3	3
425,4	4
429,0	6

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del cromo nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del cromo nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del cromo nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL FERRO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

Il ferro si colloca al quarto posto nella scala degli elementi ponderalmente più abbondanti che compongono la crosta terrestre.

Nelle acque superficiali è presente generalmente allo stato ferrico poco solubile e quindi in concentrazione raramente elevata. In condizioni riducenti, come quelle riscontrate nel fondo dei laghi o nelle acque sotterranee profonde, e in assenza di ioni solfuro e carbonato, sono state osservate concentrazioni elevate dello ione ferroso in quanto più solubile del corrispondente stato trivalente. Le acque contenenti ferro bivalente diventano chimicamente instabili in seguito al contatto prolungato con l'ossigeno atmosferico. Si verifica, infatti, l'ossidazione dello ione ferroso e la successiva precipitazione dell'idrossido ferrico che determina la conseguente comparsa di una sospensione più o meno colloidale.

La presenza del ferro nelle acque naturali è stata attribuita a numerose fonti di origine naturale ed antropica (dissoluzione di rocce e minerali, drenaggio delle miniere, percolato da terrapieni, acque di scarico, industrie dedite alla lavorazione del ferro). Negli impianti di potabilizzazione vengono spesso impiegati sali di ferro come agenti coagulanti. La rete idrica si compone, in gran parte, di tubature di acciaio che vengono lentamente corrose al passaggio di acque aggressive.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del ferro disciolto e del ferro cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 20 $\mu\text{g/L}$.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del ferro mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 248,3 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente

incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

– *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte*. Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %)*.

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v*.

6.2.3. *Acido cloridrico concentrato (titolo minimo 36 %)*.

6.2.4 *Acido cloridrico 1:1*.

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di ferro

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;

- ottenuta solubilizzando 0,250 g di ferro di elevata purezza, previamente immerso in acetone (6.5.) ed essiccato in stufa a 120°C per due ore, con 5 mL di HCl (6.2.4.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di ferro

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	248,3
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	800	60	3
Atomizzazione	2300	∞	2
Pulizia	2600	150	2
Raffreddamento ²	40	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume

Tabella 3. *Righe di risonanza del ferro.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
248,3	1
248,8	2
252,3	2
271,9	3
296,7	11
302,1	4
305,9	20
372,0	10
373,7	12

di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del ferro presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del ferro nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del ferro nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del ferro nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL MANGANESE. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

Il manganese occupa il dodicesimo posto, per abbondanza relativa, fra gli elementi presenti sulla crosta terrestre. E' largamente diffuso in natura ed è uno degli elementi essenziali, in tracce, alla vita di animali e piante. I minerali più comuni sono la pirolusite e lo psilomelano.

Nelle acque superficiali il manganese è presente sia in forma solubile che in sospensione con concentrazioni comprese tra 1 µg/L ed alcuni mg/L. Acque sotterranee in condizioni anaerobiche contengono spesso elevati livelli di manganese disciolto.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del manganese disciolto e del manganese cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 30 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del manganese mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 279,5 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità dell'operatore.

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “ultrapuro” per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.2.3. *Acido cloridrico concentrato (titolo minimo 36 %).*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di manganese

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,250 g di manganese metallico, previamente immerso in acetone (6.6.) ed essiccato in stufa a 120°C per due ore, con la minima quantità di una miscela tra HNO₃ (6.2.1.) e HCl (6.2.3) in rapporto 10:1 e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di manganese

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di palladio 1,0 g/L

Solubilizzare 0,10 g di nitrato di palladio [Pd(NO₃)₂] di elevata purezza ed esente da tracce di nichel in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.6. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	279.5
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (µL)	10
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	800	70	5
Atomizzazione	2400	∞	3
Pulizia	2500	100	2
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornetto di grafite.

utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. *Righe di risonanza del manganese.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
279,5	1
279,8	1
280,1	2
321,7	2000
403,0	10

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del manganese presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del manganese nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del manganese nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del manganese nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL MERCURIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO DEI VAPORI FREDDI

0. Generalità e definizioni

Il naturale degassamento della crosta terrestre costituisce la maggior fonte di mercurio nell'ambiente. Altri significativi apporti derivano da numerose attività industriali non direttamente legate alla produzione o all'impiego dell'elemento, quali la combustione di combustibili fossili, l'estrazione di molti metalli, la manifattura del cemento e il trattamento dei rifiuti. Il mercurio è utilizzato negli impianti clorosoda per la produzione di cloro, idrossido di sodio e ipoclorito, nelle vernici, in alcuni dispositivi elettrici, nelle batterie, nei sistemi di controllo e misura (termometri, apparecchiature sanitarie) negli studi dentistici e in agricoltura.

Nell'ambiente lo si può ritrovare allo stato metallico, sottoforma di sale mono o bivalente e come composto organomercuriale (ad es. il dimetilmercurio).

Il cloruro e l'idrossido mercurico rappresentano le specie predominanti in numerose acque superficiali. La loro concentrazione totale non supera, di norma, 1 µg/L. In assenza di sorgenti di contaminazione il livello di mercurio nelle acque dolci è spesso inferiore a 0,2 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del mercurio disciolto e del mercurio cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 50 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato del sistema di vaporizzazione del mercurio, l'utilizzo di una trappola di oro o platino per la preconcentrazione dei vapori di mercurio ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del mercurio mediante spettrometria di assorbimento atomico dei vapori freddi (CV - AAS).

Il metodo si avvale di una ossidazione chimica in cui avviene la decomposizione della sostanza organica e dei composti organomercurici e la trasformazione di tutto il mercurio presente a mercurio (II). Successivamente il mercurio (II), ridotto dal sodio boro idruro a mercurio elementare, viene vaporizzato e quindi trasferito mediante un gas inerte nella cella di misura. E' possibile preconcentrare il mercurio presente nel

campione intrappolando l'elemento, liberato da aliquote successive di campione, sulla superficie di un supporto in oro o platino mantenuto a temperatura ambiente. In una fase successiva il mercurio ritenuto nell'amalgama viene distillato e convogliato alla cella di misura dal gas inerte.

Dalla lettura del segnale di assorbanza a 253,7 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

La presenza del cloro libero e di sostanze organiche volatili è causa di interferenza positiva poiché assorbono alla stessa lunghezza d'onda dei vapori del mercurio. Tali specie possono essere eliminate nella fase di *stripping* che precede la riduzione.

Gli eventuali "effetti matrice" vanno rimossi utilizzando il metodo delle aggiunte note. L'attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell'analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell'analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare contenitori di vetro o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, polietilene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti $200 \mu\text{L}$ di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per una settimana a circa 4°C .

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3 *Cella di misura* in vetro o quarzo con finestre di quarzo o altro materiale trasparente a 253,7 nm. La cella di misura è fissata alla camera del bruciatore e mantenuta a temperatura ambiente; negli strumenti moderni può essere riscaldata a una temperatura di 200 °C tramite un apposito fornello elettrico al fine di prevenire eventuali condense dei vapori di mercurio durante la fase di lettura.

5.3.4. *Reattore per la riduzione del mercurio* completo di "vessel" di reazione.

5.3.5. *Trappola di oro o platino* per l'arricchimento del mercurio (opzionale).

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

5.4. Mineralizzatore a microonde

Il mineralizzatore deve essere capace di generare una potenza di almeno 600 W e possibilmente in grado di monitorare sia la pressione che la temperatura all'interno dei recipienti utilizzati per la digestione.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “ultrapuro” per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acido nitrico

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v).*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di mercurio

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando, in circa 70 mL di acqua (6.1.2.), 0,1354 g di cloruro mercurico (HgCl_2) di elevata purezza, acidificando la soluzione con 1 mL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 100 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 mg/L di mercurio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Soluzione di sodio boro idruro 30 g/L in sodio idrossido 10 g/L

Sciogliere 10,00 g di NaOH esente da tracce di mercurio in matraccio di polietilene da 1000 mL contenente circa 500 mL di acqua (6.1.2.). Aggiungere gradualmente, sotto agitazione, 30,00 g di sodio boro idruro (NaBH_4) e portare a volume con acqua (6.1.2.). La soluzione così preparata è stabile per circa una settimana se conservata a circa 4°C.

Il sodio boroidruro libera idrogeno a contatto con acido! Pertanto dovrà essere maneggiato con cura e conservato secondo le indicazioni del fornitore.

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	253,7
Fenditura (nm)	0,7
Correzione del fondo	Consigliata
Volume del campione (mL)	20

Tabella 2. *Esemplificazione delle condizioni operative per la riduzione e la vaporizzazione del mercurio*

"Purge" iniziale	5 s
Aggiunta del reagente e lettura	15 s
"Purge" finale	40 s
Temperatura della cella	200°C

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale.

7.3. Digestione del campione

La procedura di digestione proposta in questo metodo è basata sull'esposizione controllata alle microonde di campioni in presenza di acido nitrico. E' possibile far ricorso ad altre procedure che prevedono l'impiego congiunto di potassio permanganato e di potassio persolfato seguendo le indicazioni riportate in letteratura. In tal caso è necessario verificare attentamente che la quantità di mercurio introdotta con i reagenti sia inferiore al limite di rivelabilità del metodo.

Le soluzioni (campioni e bianchi) acidificate con HNO_3 (concentrazione finale 1 M) vengono introdotte in contenitori di teflon chiusi ermeticamente e sottoposte a digestione per almeno 10 min erogando una potenza variabile tra 250 e 600 W.

Il volume di campione da sottoporre a digestione, la durata della stessa e la potenza erogata devono essere ottimizzati in funzione dell'apparecchiatura disponibile e della particolare matrice analizzata. Nelle Tabelle 3 e 4 vengono riportati due esempi di programmi di digestione assistita dalle microonde, dei quali uno basato sul controllo della temperatura applicata e l'altro sulla variazione delle potenze erogate.

7.4. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale.

Tabella 3. *Esemplificazione di un programma di digestione assistita dalle microonde basato sul controllo della temperatura.*

Stadio	Potenza (W)	Tempo (min)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
1	250	2	80
2	400	3	130
3	600	5	170

Tabella 4. *Esemplificazione di un programma di digestione assistita dalle microonde basato sul controllo della potenza erogata.*

Stadio	Potenza (W)	Tempo (min)
1	250	2
2	400	3
3	600	3
4	0	1
5	600	2

7.5. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.4.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione proveniente dal trattamento di digestione in altrettanti *vessel* di reazione. Aggiungere a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del mercurio presente in ogni *vessel* non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.4.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del mercurio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del mercurio nel campione. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei *vessel* durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.5.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione del mercurio nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL NICHEL. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

Il nichel è un elemento ubiquitario, presente in un gran numero di minerali (principalmente arsenuri e solfuri). E' comunemente utilizzato in alcune leghe, nel trattamento superficiale di altri metalli, nella catalisi di reazioni chimiche, nelle batterie e in alcuni fungicidi. La solubilità in acqua di numerosi sali dell'elemento e l'intensa attività di lavorazione dei suoi minerali hanno contribuito al progressivo incremento dei livelli di contaminazione ambientale.

Il nichel viene in parte rimosso dai sistemi convenzionali impiegati nel trattamento delle acque, cosicché la sua concentrazione in uscita agli impianti (di norma compresa tra 2 e 5 µg/L) è generalmente inferiore a quella riscontrata nelle acque grezze.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del nichel disciolto e del nichel cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 2 e 100 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del nichel mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 232,0 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo addizionando HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante

impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. Spettrometro per assorbimento atomico munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. Lampada a catodo cavo o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. Atomizzatore elettrotermico.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di nichel

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 1,120 g di nichel solfato esaidrato ($\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) di elevata purezza, acidificando la soluzione con 1 mL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di nichel

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di nitrato di palladio 1,0 g/L

Solubilizzare 0, 10 g di nitrato di palladio [Pd(NO₃)₂] di elevata purezza ed esente da tracce di nichel in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	232.0
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (µL)	10
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	850	70	10
Atomizzazione	2400	∞	3
Pulizia	2500	100	2
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornetto di grafite.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. *Righe di risonanza del nichel.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
231,1	2
232,0	1
233,8	25
234,6	4
303,8	12
305,1	4
341,5	2
346,2	8
351,5	12

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del nichel presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del nichel nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del nichel nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del nichel nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL PIOMBO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il piombo è un costituente naturale della crosta terrestre, presente in un gran numero di minerali (il più diffuso è la galena o PbS).

Nell'ambiente esiste quasi interamente in forma inorganica soprattutto in prossimità di miniere e di industrie metallurgiche. Piccole quantità di piombo organico derivano dall'uso di benzine additivate di antidetonanti a base di piombo e dai processi di alchilazione naturale responsabili della formazione di composti metilati.

Nelle acque superficiali (fiumi e laghi) non contaminate la sua concentrazione media oscilla nell'intervallo compreso tra 1 e 10µg/L. I trattamenti di potabilizzazione normalmente riducono il tenore riscontrato nell'acqua all'ingresso dell'impianto. Livelli dell'elemento particolarmente elevati sono stati segnalati in acque di rubinetto condottate mediante tubazioni in piombo o stoccate in serbatoi rivestiti con lo stesso materiale. In questi casi la concentrazione istantanea dipende, tra l'altro, dall'aggressività dell'acqua e dal tempo di contatto con la fonte di contaminazione.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del piombo disciolto e del piombo cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 2 e 20 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del piombo mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con

micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 283,3 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrilevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico.*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di piombo

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,400 g di nitrato di piombo $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ di elevata purezza, acidificando la soluzione con 500 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di piombo

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di ammonio fosfato monobasico 4,0 g/L

Solubilizzare 0,40 g di ammonio fosfato monobasico (NH₄H₂PO₄) di elevata purezza ed esente da tracce di piombo in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	283,3
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico con piattaforma
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	600	60	15
Atomizzazione	1800	∞	4
Pulizia	2650	300	2
Raffreddamento ²	40	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere

ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del piombo presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

Tabella 3. *Righe di risonanza del piombo.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
217,0	1
261,4	40
368,4	100
283,3	3

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del piombo nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del piombo nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del piombo nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL RAME. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il rame è un elemento ubiquitario che si ritrova frequentemente nelle acque superficiali. I processi di trattamento delle acque consentono la rimozione di tracce dell'elemento dal mezzo acquoso. La sua concentrazione all'utenza può essere superiore a quella riscontrata prima dell'immissione dell'acqua nella rete di distribuzione, a causa di fenomeni di cessione che si possono instaurare lungo alcuni tratti della condotta idrica. Il livello del rame nelle acque destinate al consumo umano è normalmente compreso tra 10 e 500 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del rame disciolto e del rame cedibile a pH < 2 presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 20 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del rame mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 324,8 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “ultrapuro” per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di rame

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando 0,250 g di rame elettrolitico, previamente immerso in acetone (6.5.) ed essiccato in stufa a 120°C per due ore, con 1 mL di HNO₃ (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di rame

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Acetone

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 μL .

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	324,8
Fenditura (nm)	0,5
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (μL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	800	40	6
Atomizzazione	2300	∞	2
Pulizia	2400	100	2
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione orare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornetto di grafite.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

7.4. *Metodo delle aggiunte note*

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come

Tabella 3. Righe di risonanza del rame.

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
216,5	6
217,9	4
222,6	20
244,2	300
249,2	100
324,8	1
327,4	2

descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del rame presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del rame nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del rame nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del rame nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL SELENIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Il selenio è presente nella crosta terrestre in piccole quantità sotto forma di selenuri e seleniti, spesso insieme ai solfuri dei metalli pesanti.

Negli oceani la sua concentrazione è di circa 4 µg/L, mentre nelle acque dolci non supera, di norma, i 10 µg/L. Nelle acque il selenio può esistere sia come selenito che come seleniato; la valenza della specie prevalente è influenzata dal pH e dalla presenza di alcuni metalli come il ferro.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del selenio disciolto e del selenio cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 2 e 30 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornello di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del selenio mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 196,0 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore dall’acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*.

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema

automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. *Acqua*

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. *Acidi minerali*

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. *Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di selenio*

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 0,548 g di sodio selenito (NaSeO_2) di elevata purezza, acidificando la soluzione con 500 μL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. *Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di selenio*

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice

6.5.1. *Soluzione di nitrato di palladio 1,0 g/L.* Solubilizzare 0,10 g di nitrato di palladio [Pd(NO₃)₂] di elevata purezza ed esente da tracce di selenio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.5.2. *Soluzione di acido citrico 20,0 g/L.* Solubilizzare 2,00 g di acido citrico di elevata purezza ed esente da tracce di selenio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	196,0
Fenditura (nm)	0,5
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	non pirolitico
Volume del campione (µL)	30
Volume di ciascun modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	900	100	6
Atomizzazione	2200	∞	2
Pulizia	2600	400	4
Raffreddamento	40	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. Righe di risonanza del selenio.

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
196,0	1
204,0	3
206,3	12
207,5	50

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del selenio presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del selenio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del selenio nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del selenio nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEL VANADIO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

0. Generalità e definizioni

Pur essendo uno degli elementi più abbondanti della crosta terrestre, il vanadio non esiste in natura allo stato libero. Viene comunemente estratto assieme all'uranio, al titanio, all'alluminio o al piombo.

La concentrazione nell'acqua di mare non supera i 0,3 µg/L, ma alcuni organismi marini (Ascidiridi) ne contengono quantità rilevanti. Da tali organismi il vanadio passa nei residui di bitume o asfalto e infine negli olii di petrolio.

Il livello di vanadio nelle acque superficiali varia da non rivelabile a 220 µg/L. Nelle acque potabili la sua concentrazione è tipicamente compresa tra 1 e 30 µg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del vanadio disciolto e del vanadio cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 2 e 100 µg/L.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del vanadio mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 318,5 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali «effetti matrice» vanno rimossi mediante l'impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L'attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell'analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell'analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione entro 12 ore dal prelievo.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l'impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrilevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- acque destinate al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$;
- acque da destinare al consumo umano: il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio nel più breve tempo possibile dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$. Trascorse almeno 24 ore dall'acidificazione, si procederà alla filtrazione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da $0,45 \mu\text{m}$, costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro le 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti $200 \mu\text{L}$ di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrilevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite*. Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattafornate (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite*. Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte*. Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “ultrapuro” per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acido nitrico

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65%).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % (v/v).*

6.2.3. *Acido nitrico 1:1.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di vanadio

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta a partire da vanadio metallico di elevata purezza, sgrassato con acetone (6.5.), riscaldato a 50°C per un'ora in stufa da vuoto e conservato in essiccatore per non meno di 30 min. Pesare 0,1000 g di vanadio pretrattato in un beaker di polietilene, aggiungere la minima quantità di HNO₃ (6.2.1.) necessaria a solubilizzarlo, trasferire quantitativamente la soluzione in un matraccio da 100 mL, diluire a volume con acqua (6.1.2.) ed omogeneizzare.

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrilevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene) chiuso ermeticamente, al riparo dalla luce e dagli agenti contaminanti esterni.

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 mg/L di vanadio

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Acetone

Tabella 1. *Esemplificazione delle condizioni operative strumentali*

Lunghezza d'onda (nm)	318,5
Fenditura (nm)	0,7
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Pirolitico o piattaforma di L'vov
Volume del campione (μL)	20

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1100	50	10
Atomizzazione	2650	∞	6
Pulizia	2700	50	3
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 μL .

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornetto, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. Righe di risonanza del vanadio

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
305,6	3
306,1	3
306,6	3
318,5	1
320,2	6
385,6	7
390,2	7
437,9	5

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO_3 (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Diluire a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del vanadio presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del vanadio nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del vanadio nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere in $\mu\text{g/L}$ la concentrazione del vanadio nel campione.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) saranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

DETERMINAZIONE DELLO ZINCO. METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

0. Generalità e definizioni

Lo zinco è un elemento presente in abbondanza nella crosta terrestre. Il minerale più comune è la sfalerite (ZnS), nel quale si trova associato con i solfuri di altri elementi metallici come, ad esempio, piombo, rame, cadmio e ferro.

Il carbonato, l'ossido e il solfuro di zinco sono scarsamente solubili in acqua, mentre il cloruro e il solfato tendono ad idrolizzarsi precipitando come idrossido e carbonato. La concentrazione dell'elemento nelle acque naturali è pertanto esigua. L'adsorbimento sulla superficie dei sedimenti riduce ulteriormente la sua presenza in soluzione.

Nelle acque destinate al consumo umano il livello di zinco è in alcuni casi più elevato di quello riscontrato nelle acque superficiali per effetto del contatto con materiali contenenti tale elemento (tubature in ferro galvanizzato, connessioni in leghe contenenti zinco). In generale la concentrazione misurabile all'utenza varia tra 0,01 e 1 mg/L.

1. Campo d'applicazione

La procedura analitica consente la determinazione del zinco disciolto e del zinco cedibile a $\text{pH} < 2$ presente nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 0,2 e 4,0 $\mu\text{g/L}$.

Tale intervallo è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, la qualità e lo stato di usura del fornetto di grafite ed infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo ed il limite di rivelabilità raggiungibile.

Concentrazioni più elevate dell'analita possono essere determinate:

- diluendo opportunamente il campione;
- iniettando volumi inferiori di campione;
- selezionando una lunghezza d'onda alternativa;
- utilizzando altre possibilità eventualmente offerte dalla strumentazione in dotazione.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione diretta del zinco mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA - AAS).

Il campione di acqua preventivamente acidificato viene iniettato, manualmente con micropipetta o automaticamente da un autocampionatore, nel fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccamento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza a 213,9 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errori

Non vengono segnalate particolari interferenze dovute alle specie più comunemente presenti nelle acque. Gli eventuali “effetti matrice” vanno rimossi mediante l’impiego di idoneo modificatore o utilizzando il metodo delle aggiunte note. L’attivazione del correttore di fondo durante la misura strumentale consente normalmente di sopprimere tutti gli assorbimenti aspecifici prodotti dalla matrice.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell’analisi deve essere accuratamente lavato con HNO_3 e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

Allo scopo di minimizzare i fenomeni di adsorbimento dell’analita sulle pareti del contenitore o per evitare eventuali precipitazioni di sali insolubili, è necessario acidificare il campione.

Sigilli metallici, spesso applicati sulle pareti esterne dei contenitori al termine del prelievo, possono contaminare i campioni durante le successive manipolazioni. Si consiglia l’impiego di materiali alternativi.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Per il prelievo dei campioni utilizzare bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un’irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

Il campionamento deve essere eseguito rispettando le seguenti indicazioni:

- *acque destinate al consumo umano.*

Il campione, prelevato in idoneo contenitore, dovrà essere trasportato in laboratorio dove sarà acidificato a $\text{pH} < 2$.

Il trattamento di acidificazione deve essere condotto entro 12 ore dal prelievo aggiungendo HNO_3 (6.2.1.). Normalmente sono sufficienti 200 μL di acido nitrico per 100 mL di campione; nel caso di acque caratterizzate da un elevato potere tampone la quantità di acido da aggiungere dovrà essere opportunamente incrementata in modo da ottenere comunque un pH finale < 2 .

Si raccomanda di acidificare immediatamente dopo il prelievo campioni di acque contenenti specie instabili o reattive (ad esempio Fe^{2+} , H_2S e HS^-) o caratterizzate da elevato potere incrostante.

- *acque da destinare al consumo umano.*

Si procede come descritto al punto precedente. Trascorse almeno 24 ore

dall'acidificazione, filtrare il campione. Tale operazione verrà condotta mediante impiego di filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame.

Il campione acidificato si mantiene stabile per almeno una settimana.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di metalli, dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce dell'analita e dei possibili interferenti.

Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.). Pertanto si raccomanda l'uso di attrezzatura dedicata all'analisi di metalli in tracce.

Il materiale che viene utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO_3 (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di metalli in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) ed infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori da 0,45 μm , costituiti da fibre di vetro o da altro materiale compatibile con il pH della soluzione in esame. Prima dell'uso si raccomanda di effettuare un trattamento di decontaminazione facendo fluire attraverso la loro superficie circa 20 mL di HNO_3 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica ed accessori

5.3.1. *Spettrometro per assorbimento atomico* munito di sistema di correzione automatica degli assorbimenti aspecifici.

5.3.2. *Lampada a catodo cavo* o altra sorgente luminosa dello spettro a righe dell'elemento in esame.

5.3.3. *Atomizzatore elettrotermico.*

5.3.4. *Fornetto (tubo) di grafite.* Effettuare la scelta del rivestimento interno (pirolitico o non) e di eventuali piattaforme (ad esempio L'vov) in base alle caratteristiche chimiche del campione in modo da ottimizzare il segnale ottenuto durante l'atomizzazione.

5.3.5. *Dispositivo per l'introduzione di soluzioni nel fornello di grafite.* Per l'introduzione del campione nel fornello è possibile ricorrere sia ad un sistema automatico (autocampionatore) che a quello manuale (micropipette tarate); in quest'ultimo caso la riproducibilità dei risultati è notevolmente influenzata dall'abilità

5.3.6. *Gas inerte.* Utilizzare argon esente da tracce di metalli.

6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo "ultrapuro" per analisi in tracce.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo preliminare della vetreria potrà essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento nonché per il risciacquo finale della vetreria dovrà essere usata acqua ultrapura esente da tracce di metalli.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido nitrico concentrato (titolo minimo 65 %).*

6.2.2. *Acido nitrico 0,2 % v/v.*

6.3. Soluzione primaria di riferimento contenente 1,000 g/L di zinco

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) 1,138 g di nitrato di zinco esaidrato $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ di elevata purezza, acidificando la soluzione con 5 mL di HNO_3 (6.2.1.) e diluendo a 250 mL con acqua (6.1.2.).

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di metalli (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,00 o 10,0 mg/L di zinco

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

6.5. Modificatore di matrice. Soluzione di magnesio nitrato (1,0 g/L)

Solubilizzare 0,17 g di magnesio nitrato esaidrato di elevata purezza ed esente da tracce di zinco in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo quanto previsto dal relativo manuale che indica, di norma, anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione dell'analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame. Con questa avvertenza vengono perciò indicate nelle Tabelle 1 e 2 le condizioni operative di base utili per procedere all'ottimizzazione del metodo analitico.

7.2. Calibrazione

Preparare una curva di calibrazione all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità della curva di calibrazione tracciata inizialmente.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Lunghezza d'onda (nm)	213,9
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (µL)	20
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. *Esemplificazione del programma termico*

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	120	10	10
Incenerimento ¹	1000	100	10
Atomizzazione	2500	∞	4
Pulizia	2600	100	2
Raffreddamento ²	25	500	10

¹ L'introduzione di una fase di raffreddamento tra l'incenerimento e l'atomizzazione può migliorare la forma del segnale di atomizzazione incrementando la riproducibilità e la sensibilità della misura.

² Questa fase è indispensabile nel caso in cui si utilizzi la piattaforma interna, al fine di garantire il ripristino dell'equilibrio termico con il fornello di grafite.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione secondaria compresi tra 100 e 1000 µL.

7.3. *Dosaggio diretto del campione*

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di calibrazione. Ripetere l'esame di ogni soluzione a concentrazione incognita almeno due volte e mediare i valori delle repliche.

Se la risposta del campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di calibrazione, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. Quando è richiesta una diluizione del campione talmente elevata da esaltare gli errori commessi durante la preparazione, è opportuno ripetere sia la calibrazione che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro. Il campo di applicazione (o intervallo dinamico) dello strumento può essere ampliato verso concentrazioni più elevate dell'elemento, ad esempio, riducendo il volume di liquido iniettato nel fornello, incrementando il flusso del gas di pulizia in fase di atomizzazione, impostando una lunghezza d'onda alternativa a quella primaria o modificando la programmazione della fase di atomizzazione. In Tabella 3 sono elencate le righe di risonanza dell'elemento in esame insieme alle loro sensibilità relative alla riga primaria.

Tabella 3. *Righe di risonanza del zinco.*

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
213,9	1
307,6	4000

7.4. Metodo delle aggiunte note

I sistemi di correzione del fondo attualmente in uso non sono in grado di rimuovere o minimizzare l'effetto prodotto da alcune specie presenti nella matrice; in questi casi la risposta dell'analita non è più correlabile alla curva di calibrazione ottenuta come descritto in (7.3.). Qualora l'operatore ritenga che il campione in esame contenga tali interferenti deve applicare il metodo delle aggiunte note.

Introdurre 3 aliquote del campione in altrettanti matracci tarati da 10 mL. Aggiungere HNO₃ (6.2.1.) in quantità sufficiente a ripristinare le condizioni iniziali di acidità del campione. Portare a volume con acqua (6.1.2.) dopo aver aggiunto a 2 di essi volumi decrescenti della soluzione secondaria di riferimento (6.4.). Al termine della preparazione si ottengono 3 soluzioni diluite del campione in esame arricchite con quantità note e scalari dell'analita. Scegliere i volumi della soluzione (6.4.) in modo tale da arricchire le prime 2 soluzioni con quantitativi dello stesso ordine di grandezza di quello stimato per il campione. La concentrazione totale del zinco presente in ogni matraccio non deve comunque oltrepassare il limite superiore del campo di applicazione del metodo. L'ultima soluzione è priva di arricchimenti (aggiunta zero).

Analizzare tutte le soluzioni e un bianco reattivi secondo le modalità descritte in (7.3.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione determinata mediante il dosaggio diretto

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla concentrazione del zinco nel campione utilizzando la curva di calibrazione.

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Calcolo della concentrazione determinata mediante il metodo delle aggiunte note

Costruire un grafico riportando in ascisse le quantità dell'elemento aggiunto e in ordinate i corrispondenti valori medi della risposta strumentale (area o altezza) corretti del valore medio ottenuto dal bianco. La retta passante per i punti così individuati interseca l'asse delle ascisse in un punto corrispondente (a meno del segno negativo) alla quantità del zinco nel campione diluito. Ricavare la concentrazione incognita dividendo il valore così estrapolato per il volume di campione introdotto nei matracci durante la preparazione delle soluzioni arricchite descritte in (7.4.).

Nel caso in cui sia stata eseguita una diluizione del campione prima di applicare il metodo delle aggiunte note, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.3. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione del zinco nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) verranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO Ed., 1984.

DETERMINAZIONE DEI TENSIOATTIVI ANIONICI. METODO SPETTROFOTOMETRICO AL BLU DI METILENE

0. Generalità e definizioni

I tensioattivi anionici sono componenti fondamentali dei prodotti impiegati nella detergenza domestica e industriale. La loro presenza in acque superficiali e sotterranee è sempre indice di inquinamento antropico.

Con il termine “tensioattivi anionici” si intende l’insieme di molecole organiche caratterizzate dalla presenza di una componente idrofobica (catena idrocarburica lineare o ramificata) e di una idrofila carica negativamente (anione solfonato o solfato).

1. Campo di applicazione

Il metodo consente la determinazione aspecifica dei tensioattivi anionici solfonati e solfati presenti nelle acque sorgive, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano.

Può essere applicato in un intervallo di concentrazioni comprese tra 5 µg/L e 50 mg/L di tensioattivi espressi come sostanze attive al blu di metilene (*Methylene Blue Active Substances*, MBAS). Tale intervallo è funzione delle condizioni sperimentali, in quanto dipende dal volume di campione sottoposto ad analisi e dal cammino ottico delle cuvette.

2. Principio del metodo

I tensioattivi anionici formano con il blu di metilene (colorante cationico) una coppia ionica di colore blu estratta quantitativamente dal cloroformio.

Dalla misura spettrofotometrica dell’assorbanza dell’estratto a 650 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di calibrazione ottenuta con soluzioni a concentrazioni note, comprese nel campo di indagine analitica, di un tensioattivo anionico di riferimento.

3. Interferenze e cause di errori

Numerose sostanze organiche e inorganiche interferiscono nella determinazione dei tensioattivi anionici. Sostanze che danno luogo a coppie ioniche con il blu di metilene, estraibili in cloroformio, sono causa di interferenze positive; interferenze negative sono dovute invece a specie che, reagendo con i tensioattivi anionici, impediscono la formazione di coppie ioniche con il blu di metilene.

La doppia estrazione, effettuata prima con una soluzione alcalina del blu di metilene e poi con una soluzione acida dello stesso reagente, riduce notevolmente le cause di interferenza.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Il campione, prelevato in bottiglia di vetro, si mantiene stabile per almeno 48 ore se conservato ad una temperatura di circa 4 °C fino al momento dell'analisi.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria ed i contenitori dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce di tensioattivi e dei possibili interferenti. Al fine di evitare operazioni di pulizia che possono risultare non completamente efficienti, si sconsiglia l'uso di attrezzatura precedentemente impiegata per il trattamento e la conservazione di matrici particolarmente complesse (acque reflue, fanghi, suoli, alimenti, ecc.).

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con detergente non contenente tensioattivo anionico, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con una soluzione di acido cloridrico in metanolo (6.2.3.) e infine risciacquato con acqua (6.1.1.).

Il materiale già utilizzato per l'analisi dei tensioattivi deve essere lavato con acqua di rubinetto, con una soluzione di acido cloridrico in metanolo (6.2.3.) e infine risciacquato con acqua (6.1.1.).

5.2. Strumentazione analitica ed accessori

5.2.1. Spettrofotometro o colorimetro in grado di operare a 650 nm

5.2.2. Cuvette in vetro o quarzo con cammino ottico compreso tra 1 e 5 cm, dotate di tappo in teflon.

6. Reagenti

Tutti i reagenti devono essere di tipo puro per analisi.

6.1. Acqua

6.1.1. Per il risciacquo della vetreria può essere usata acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile.

6.1.2. Per la preparazione dei reagenti e delle soluzioni di riferimento deve essere usata acqua ultrapura esente da tracce di tensioattivi.

6.2. Acidi minerali

6.2.1. *Acido solforico concentrato (titolo 96 – 98%).*

6.2.2. *Acido cloridrico concentrato (titolo 37%).*

6.2.3. *Acido cloridrico 3M in metanolo.* Diluire 250 mL di acido cloridrico (6.2.2.) in 750 mL di metanolo (6.9.).

6.3. Cloroformio

6.4. Soluzione tampone a pH 10,0

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando, in matraccio tarato da 500 mL, 12,0 g di idrogeno carbonato di sodio (NaHCO_3) e 13,5 g di carbonato di sodio (Na_2CO_3). Diluire a 500 mL con acqua (6.1.2.).

6.5. Soluzione primaria di riferimento contenente sodio lauril solfato 1,000 g/L

Sciogliere 100 mg di sodio lauril solfato in 100 mL di acqua (6.1.2.).

E' possibile utilizzare altri tensioattivi come sostanze di riferimento. In Tabella 1 sono riportati i fattori di conversione che consentono di trasformare le concentrazioni del tensioattivo di riferimento in concentrazioni di sodio lauril solfato.

6.6. Soluzione secondaria di riferimento contenente sodio lauril solfato 50,0 mg/L

Diluire opportunamente la soluzione primaria di riferimento (6.5.) con acqua (6.1.2.).

Tabella 1. *Fattori di conversione da tensioattivo a sodio lauril solfato.*

Tensioattivo	Fattore di conversione
Lauril solfato sodico	1,0000
Dodecilbenzene solfonato sodico	0,8276
Lauril solfonato sodico	1,0589
Diottilsolfosuccinato sodico	0,6486

6.7. Soluzione di blu di metilene 0,35 g/L

Sciogliere 0,175 g di blu di metilene in 500 mL di acqua (6.1.2.). Purificare il reagente estraendolo con 10 mL di cloroformio (6.3.).

6.8. Sodio solfato anidro

6.9. Metanolo

7. Procedura di misura

7.1. Calibrazione

Tracciare una curva di calibrazione utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate. Verificare la validità della curva ogni qualvolta si preparano i reagenti.

Per la preparazione di ciascuna soluzione di lavoro, introdurre un'aliquota della soluzione secondaria di riferimento (6.6.) compresa tra 100 e 1000 μL in un imbuto separatore da 250 mL contenente 100 mL di acqua (6.1.2.). Aggiungere 10 mL della soluzione tampone (6.4.) e 5 mL della soluzione di blu di metilene (6.7.). In un secondo imbuto separatore da 250 mL introdurre 100 mL di acqua (6.1.2.), 200 μL di acido solforico (6.2.1.) e 5 mL della soluzione di blu di metilene (6.7.).

Aggiungere 15 mL di cloroformio (6.3.) nel primo imbuto separatore, agitare energicamente per almeno 1 minuto, attendere la separazione delle due fasi e trasferire lo strato inferiore cloroformico nel secondo imbuto separatore. Agitare energicamente quest'ultimo per almeno 1 minuto e lasciare stratificare le due fasi. Trasferire lo strato inferiore cloroformico in un matraccio tarato da 50 mL, facendolo fluire attraverso un imbuto contenente uno strato filtrante (costituito da sodio solfato (6.8.) supportato da cotone idrofilo) preventivamente lavato con cloroformio (6.3.).

Ripetere l'intera procedura di estrazione almeno una volta, raccogliendo l'estratto cloroformico nel medesimo matraccio da 50 mL e diluire al volume finale con cloroformio (6.3.).

Misurare l'assorbanza dell'estratto cloroformico a 650 nm utilizzando cuvette con cammino ottico compreso tra 1 e 5 cm.

Effettuare una prova in bianco dei reagenti operando come sopra descritto senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.

Costruire una curva di calibrazione ponendo in ordinata le assorbanze ed in ascissa le corrispondenti quantità di sodio lauril solfato espresse in μg .

7.2. Dosaggio del campione

Introdurre in un imbuto separatore di capacità idonea un'aliquota di campione scelta in base alla concentrazione presunta dell'analita ed eventualmente aggiungere acqua (6.1.2.), secondo le indicazioni riportate in Tabella 2. Aggiungere 10 mL della soluzione tampone (6.4.) e 5 mL della soluzione di blu di metilene (6.7.). In un secondo imbuto separatore da 250 mL introdurre 100 mL di acqua (6.1.2.), 200 μ L di acido solforico (6.2.1.) e 5 mL della soluzione di blu di metilene (6.7.).

Aggiungere 15 mL di cloroformio (6.3.) nel primo imbuto separatore, agitare energicamente per almeno 1 minuto, attendere la separazione delle due fasi, rompere le eventuali emulsioni e trasferire lo strato inferiore cloroformico nel secondo imbuto separatore. Agitare energicamente quest'ultimo per almeno 1 minuto e lasciare stratificare le due fasi. Trasferire lo strato inferiore cloroformico in un matraccio tarato da 50 mL, facendolo fluire attraverso un imbuto contenente uno strato filtrante (costituito da sodio solfato (6.8.) supportato da cotone idrofilo) preventivamente lavato con cloroformio (6.3.).

Ripetere l'intera procedura di estrazione almeno una volta, raccogliendo il cloroformico nel medesimo matraccio da 50 mL e diluire al volume finale con cloroformio (6.3.).

Misurare l'assorbanza dell'estratto cloroformico a 650 nm utilizzando le stesse cuvette impiegate durante la calibrazione.

Tabella 2. Condizioni sperimentali per l'analisi del campione in funzione della concentrazione presunta di tensioattivi anionici.

Concentrazione presunta di MBAS (mg/L)	Volume di campione da prelevare (mL)	Volume acqua (6.1.2.) (mL)	Capacità dell'imbuto separatore (mL)
0,025 ÷ 0,075	400	0	1000
0,075 ÷ 0,50	250	0	500
0,50 ÷ 1,50	100	0	250
1,50 ÷ 7,50	20	80	250
7,50 ÷ 50,0	2	98	250

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore dell'assorbanza, corretto del valore del bianco, risalire alla quantità (in μg di sodio lauril solfato) di tensioattivi anionici (MBAS) nel campione utilizzando la curva di calibrazione. La concentrazione dei tensioattivi anionici (in mg/L) è pari al rapporto tra la quantità così determinata e il volume (in mL) del campione sottoposto ad analisi.

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione dei tensioattivi anionici nel campione utilizzando unità di misura in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le prestazioni del metodo proposto (accuratezza, precisione e limite di rivelabilità) verranno stabilite al termine di prove di intercalibrazione.

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Ed. Washington, D.C.: APHA Ed., 1996.

GAZZETTA UFFICIALE DELLE COMUNITÀ EUROPEE. Direttiva 82/243/CEE del Consiglio del 31 marzo 1982. *Determinazione dei tensioattivi anionici nelle prove di biodegradabilità*. *GU delle Comunità Europee* L.109, 1992.

IRSA (CNR). *Metodi analitici per le acque*. Quaderno n. 100. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato Ed., 1994.

ISO. *Determination of anionic surfactants*. 1st Ed. (ISO 7875/1), 1984.

LONGWELL, J.; MANIECE, W.P. Determination of anionic detergent in sewage effluent and river water. *Analyst* 1955, 80: 167-171.

UNICHIM. *Acque destinate al consumo umano. Metodi chimici e fisici*. Manuale n° 169, parte II. Milano: UNICHIM Ed., 1995.

DETERMINAZIONE DEGLI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA). METODO PER GASCROMATOGRAFIA CON RIVELAZIONE A IONIZZAZIONE DI FIAMMA E GASCROMATOGRAFIA ACCOPPIATA ALLA SPETTROMETRIA DI MASSA

0. Generalità e definizioni

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) costituiscono un'ampia classe di composti organici, contenenti due o più anelli aromatici fusi, che si formano durante la combustione incompleta e la pirolisi di materiali organici. La fonte principale di un'eventuale contaminazione da IPA delle acque da bere è costituita dai rivestimenti a base di catrame delle tubazioni per la distribuzione dell'acqua.

La normativa nazionale sulla qualità delle acque destinate al consumo umano prevede attualmente la determinazione dei seguenti sei IPA (le abbreviazioni degli IPA sono riportate in Tabella 1): fluorantene, BbFA, BkFA, BaP, IP, BghiP (Gazzetta Ufficiale, 1988). Essa sarà tuttavia aggiornata sulla base della recente direttiva europea (Gazzetta ufficiale delle Comunità europee, 1998), la quale non richie

fluorantene, mentre per i rimanenti cinque IPA fissa i seguenti valori limite ("valori di parametro"): 10 ng/L per il BaP; 100 ng/L per la somma di BbFA, BkFA, IP e BghiP. La direttiva richiede inoltre che il limite di rivelabilità del metodo d'analisi impiegato sia pari al 25% del valore limite. A tale normativa europea, di prossima adozione a livello nazionale, ci si riferisce nel testo quando viene citata la "normativa".

I campioni possono essere analizzati in GC/FID o GC/MS.

L'analisi in GC/FID, al livello del valore limite e del limite di rivelabilità richiesti dalla normativa per il BaP (10 e 2,5 ng/L, rispettivamente), è fattibile solo se: l'intera procedura di trattamento del campione viene condotta in condizioni di massima pulizia, la purificazione è tale da eliminare le interferenze e l'efficienza del sistema analitico è ottimale.

L'analisi deve essere condotta in GC/MS se:

- il limite di rivelabilità del BaP in GC/FID è $> 2,5$ ng/L;
- le concentrazioni di IPA trovate mediante GC/FID risultano uguali o superiori ad uno dei valori limite della normativa, ovvero se - pur essendo inferiori - comportano, in un eventuale calcolo della media relativa a più campioni, il raggiungimento o il superamento di tale valore limite. In questo caso, può essere sufficiente - a giudizio dell'analista - confermare in GC/MS l'identificazione e, in caso positivo, utilizzare per il dosaggio i risultati della GC/FID.

Vari IPA sono stati classificati dalla IARC (1987) come "probabilmente" o "possibilmente" cancerogeni per l'uomo. Tra quelli comunemente presenti nelle matrici ambientali, vi sono, oltre a quattro IPA la cui determinazione è richiesta dalla normativa (BaP, BbFA, BkFA e IP), anche il BaA, il B_jFA ed il DBahA (Tabella 1).

Tabella 1. IPA selezionati (0.) a cui è applicabile il metodo.

Parte I

Nome comune ^a	Abbrev.	Nome CAS	Altro sinonimo
Benz[a]antracene	BaA	Benz[a]anthracene	1,2-Benzanthracene
Benzo[b]fluorantene	BbFA	Benz[e]acephenanthrylene	3,4-Benzofluoranthene
Benzo[j]fluorantene	BjFA	Benzo[j]fluoranthene	10,11-Benzofluoranthene
Benzo[k]fluorantene	BkFA	Benzo[k]fluoranthene	11,12-Benzofluoranthene
Benzo[a]pirene	BaP	Benzo[a]pyrene	3,4-Benzopyrene
Indeno[1,2,3-cd]pirene	IP	Indeno[1,2,3-cd]pyrene	2,3-o-Phenylenpyrene
Dibenz[a,h]antracene	DBahA	Dibenz[a,h]anthracene	1,2:5,6-Dibenzanthracene
Benzo[ghi]perilene	BghiP	Benzo[ghi]perylene	1,12-Benzoperylene

Parte II

IPA	Formula molec.	Peso molec.	Numero CAS	P.f. °C	P.eb. °C	Solubilità in acqua µg/L (T)	Classif. IARC ^b	UE ^c
BaA	C ₁₈ H ₁₂	228,3	56-55-3	161	400	14 (25°C)	2A	
BbFA	C ₂₀ H ₁₂	252,3	205-99-2	168	481	1,2 (n.d.)	2B	X
BjFA	C ₂₀ H ₁₂	252,3	205-82-3	165	480	2,5 (n.d.)	2B	
BkFA	C ₂₀ H ₁₂	252,3	207-08-9	216	480	0,8 (25°C)	2B	X
BaP	C ₂₀ H ₁₂	252,3	50-32-8	178	496	3,8 (25°C)	2A	X
IP	C ₂₂ H ₁₂	276,3	193-39-5	164	536	62 (n.d.)	2B	X
DBahA	C ₂₂ H ₁₄	278,4	53-70-3	267	524	0,5 (27°C)	2A	
BghiP	C ₂₂ H ₁₂	276,3	191-24-2	278	545 ^d	0,3 (25°C)	3	X

(modificata da Menichini, 1994).

n.d.: temperatura non data.

^a In ordine di eluizione gascromatografica.

^b Cancerogenicità per l'uomo secondo IARC (1987). 2A: probabilmente cancerogeno, 2B: possibilmente cancerogeno, 3: non classificabile.

^c IPA la cui determinazione è richiesta dalla normativa europea (Gazzetta ufficiale delle Comunità europee, 1988).

^d Calcolato.

0.1. Definizioni

Si riportano di seguito alcune definizioni impiegate nel presente metodo, in ordine di citazione nel testo:

0.1.1. Standard surrogato. Una sostanza (IPA o altro composto poliaromatico) che si aggiunge ad ogni campione prima dell'estrazione, con funzione di "tracciante": conoscendone il recupero nelle condizioni del metodo (determinato in prove replicate sul bianco-reagenti (7.1.) o in occasione della prova "Recupero" (7.2)), esso consente di tenere sotto controllo l'applicazione sostanzialmente corretta del metodo al singolo campione in esame e di verificare quindi l'assenza di errori grossolani nel trattamento del campione; non viene invece usato - come avverrebbe per uno standard interno - a fini di dosaggio.

Per l'analisi GC/FID, 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.

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.

Per l'analisi GC/MS, può essere impiegato un IPA deuterato (diverso dal PE-d₁₂, usato come standard interno (6.6.1.)) che risponda al requisito di cui al suddetto punto *c*.

0.1.2. Campioni reali. Campioni prelevati sul campo nel corso dell'indagine.

0.1.3. Insieme omogeneo di campioni. Un insieme di campioni aventi la stessa origine e ritenuti contaminati per la stessa causa ed a livelli dello stesso ordine di grandezza. Si considera che, in queste condizioni, il profilo gascromatografico degli IPA (*nota 6*) nei campioni sia sostanzialmente costante, così come alcune prestazioni relative all'applicazione del metodo (ripetibilità, recupero, interferenze provenienti dalla matrice).

0.2. Abbreviazioni e acronimi

BFA	benzofluoranteni (isomeri "b", "k", "j")
CAS	Chemical Abstract Service
CV	coefficiente di variazione
DCM	diclorometano
d.i.	diametro interno

GC	gascromatografia
GC/FID	gascromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma
GC/MS	gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa
HPLC	cromatografia liquida ad alta prestazione
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IPA	idrocarburi policiclici aromatici
PE-d ₁₂	perilene deuterato
RF	fattore di risposta
SIM	<i>single ion monitoring</i>
TLC	cromatografia su strato sottile
t _R	tempo di ritenzione

0.3. Misure di sicurezza

In considerazione dell'attività cancerogena associata a vari IPA (Tabella 1) nonché al DCM impiegato come solvente d'estrazione, occorre prestare la massima attenzione affinché la custodia, l'uso e lo smaltimento degli IPA, delle loro soluzioni e dei campioni estratti, oltrechè del DCM, avvengano sempre con le dovute cautele e nel rispetto della normativa, per non causare danni agli operatori e all'ambiente.

1. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile alla determinazione degli IPA nelle acque destinate al consumo umano. In particolare, il metodo è applicabile agli IPA richiesti dalla direttiva europea ed agli altri IPA cancerogeni già citati (0.). Esso consente di rivelare concentrazioni di singoli IPA comprese almeno nell'intervallo tra 2,5 ng/L (limite di rivelabilità del BaP richiesto dalla normativa) e 50 ng/L.

2. Principio del metodo

Il campione d'acqua, dopo aggiunta di tiosolfato di sodio nel caso l'acqua sia stata clorata, viene sottoposto ad estrazione in imbuto separatore con DCM. Quindi si adotta una delle seguenti procedure:

- L'estratto viene purificato per TLC su gel di silice ed analizzato mediante GC/FID con colonna capillare. In caso di risultati uguali o superiori ai valori limite, questi devono essere confermati mediante GC/MS.
- In alternativa o, comunque, se il limite di rivelabilità del BaP in GC/FID risulta > 2,5 ng/L, l'estratto - dopo eventuale purificazione per TLC - viene analizzato mediante GC/MS.

3. Interferenze e cause di errore

Nell'analisi GC/FID, 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 e di solventi ad elevata purezza aiuta a minimizzare i problemi dovuti alle interferenze; materiali a base di gomma e di plastiche devono essere evitati. E' particolarmente importante che tutta la vetreria, ed in particolare quella contenente soluzioni concentrate, venga lavata - subito dopo l'uso - con l'ultimo solvente che vi è stato usato 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.

L'analisi del bianco-reagenti (7.1.) consente comunque di tenere sotto controllo eventuali interferenze provenienti dai materiali e dai reagenti.

Nelle condizioni del presente metodo, non è possibile identificare separatamente i tre benzofluoranteni isomeri, in quanto coeluenti come un unico picco in GC. Pertanto, nel dosaggio cumulativo di BbFA + BkFA, entrambi richiesti dalla normativa, è incluso anche il BjFA. Tutti e tre gli isomeri sono comunemente presenti nelle matrici ambientali. Gli spettri di massa di alcuni IPA riportati in Tabella 1 sono difficilmente distinguibili (o anche praticamente indistinguibili) da quelli di altri IPA che eluiscono con t_R simile o che non sono completamente risolti rispetto ad essi: in particolare, il BaA è confondibile con il crisene ed il trifenilene (coeluenti, gli ultimi due); l'IP con il BghiP e con l'antantrene; il BaP con i tre BFA (tra di loro praticamente indistinguibili); il BaP è inoltre confondibile, ma tuttavia riconoscibile con qualche difficoltà, con il benzo[e]pirene ed il PE. Gli IPA interferenti qui menzionati sono comunemente presenti nelle matrici ambientali.

3.1. Illuminazione del laboratorio

Deve essere evitata l'esposizione a luce solare diretta dei campioni d'acqua prelevati, dei campioni a qualunque stadio della procedura, delle soluzioni di IPA. In laboratorio, deve essere usata illuminazione al tungsteno o lampade fluorescenti fornite di schermo per le radiazioni UV.

3.2. Conservazione dei materiali di riferimento

I materiali di riferimento puri e in soluzione, così come le miscele di riferimento sia concentrate che diluite, devono essere conservati in frigorifero.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Prelevare il campione in bottiglia di vetro. Nel caso l'acqua sia stata clorata, aggiungere 100 mg di tiosolfato di sodio e mescolare bene. Conservare la bottiglia al buio in

ghiaccio o in frigorifero, fino all'estrazione che deve comunque avvenire entro 7 giorni dal prelievo. Ai fini della successiva determinazione del volume del campione (che può essere effettuata mediante analisi volumetrica o gravimetrica), marcare con un segno il menisco oppure pesare la bottiglia piena.

5. Apparecchiatura

5.1. Attrezzatura comune di laboratorio

5.2. Bottiglia in vetro scuro o coperta con foglio d'alluminio

Utilizzare una bottiglia con tappo a vite munito di guarnizione rivestita in teflon (o in foglio d'alluminio, se il campione non è corrosivo) da 1 L.

5.3. Imbuto separatore in vetro chiaro da 1 o 2 L con rubinetto in teflon

5.4. Pallone per evaporatore rotante da 500 mL in vetro scuro

5.5. Colonna cromatografica

Utilizzare una colonna in vetro (per l'essiccamento dell'estratto), senza rubinetto, d.i. circa 2 cm, lunghezza circa 30 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). In alternativa (8.1.): imbuto di vetro di diametro di almeno 10 cm, con un batuffolo di ovatta (sgrassata e lavata come sopra) inserito nel gambo.

5.6. Microsiringhe in vetro da 50, 100, 250, 500 μ L

Per la misura di volumi, deve essere impiegata la microsiringa di capacità immediatamente superiore al volume da misurare.

5.7. Vial (flaconcini) in vetro, con tappo a vite munito di guarnizione teflonata

A titolo indicativo, si suggeriscono i seguenti *vial* (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).

5.8. Attrezzatura per TLC preparativa

La seguente attrezzatura è suggerita a titolo indicativo:

5.8.1. *Lastre al gel di silice* 70-230 mesh con indicatore di fluorescenza, spessore 0,25 mm (*nota 1*), su vetro 20 x 20 cm.

5.8.2. *Vasche in vetro* con coperchio, per il lavaggio e lo sviluppo delle lastre.

5.8.3. *Micropipette* monouso in vetro da 50 μ L per la deposizione del campione.

5.8.4. *Lampada UV* a 366 nm e occhiali per protezione UV.

5.8.5. *Spatola in acciaio* inossidabile con bordo tagliato dritto e affilato.

5.8.6. *Colonna cromatografica* in vetro, senza rubinetto, d.i. circa 1 cm, con setto in vetro sinterizzato.

5.9. Attrezzatura per GC

5.9.1. *Gascromatografo con rivelatore a ionizzazione di fiamma*; sistema per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati (computer con idoneo programma o integratore).

5.9.2. *Gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa*; è raccomandabile che la colonna GC sia interfacciata direttamente alla sorgente ionica dello spettrometro di massa; computer con idoneo programma per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati.

5.9.3. *Gas di trasporto UPP (>99,9995%)*: per GC/FID, elio ulteriormente purificato mediante setacci molecolari o con altro sistema equivalente, oppure - preferibilmente - idrogeno fornito da un generatore; per GC/MS, elio ulteriormente purificato come sopra.

Per entrambi i gascromatografi:

5.9.4. *Iniettore on-column o split-splitless*. Con l'iniettore *split-splitless*, si raccomanda di usare *ferrule* in Vespel[®] o Vespel[®] grafitato o equivalenti, e non in grafite, per evitare possibili adsorbimenti di IPA sulla grafite stessa.

5.9.5. *Colonna capillare in silice fusa*, con fase stazionaria "5% fenil, 1% vinilmetilpolisilossano" oppure "5% fenilmetilpolisilossano", "chimicam (per la GC/MS) a basso spurgo, lunghezza 25-30 m, d.i. 0,20-0,32 mm, spessore 0,25 μ m (*nota 2*).

5.9.6. *Siringa per l'introduzione del campione*, da 5 μ L o, se non disponibile (in base all' iniettore montato ed a quanto riportato nella *nota 2*), da 10 μ L.

5.10. Azoto ultrapuro

Purificare ulteriormente attraverso gel di silice e setacci molecolari.

6. Reagenti

La purezza deve essere comunque tale che l'analisi del bianco-reagenti soddisfi i criteri riportati in 7.1.

Tutti gli IPA forniti commercialmente come materiali di riferimento, puri o in soluzione o in miscela, devono avere una purezza o una concentrazione documentata dal fornitore.

6.1. Acqua "reagente"

Acqua di purezza tale che non contenga interferenze a livello del limite di rivelabilità degli IPA di interesse. Può essere acqua prodotta con sistemi di purificazione di laboratorio che incorporano carbone attivo o acqua distillata prodotta con un distillatore di elevata qualità. Deve essere conservata in bottiglia di vetro con tappo a vite munito di guarnizione teflonata.

6.2. Solfato di sodio (Na_2SO_4) anidro per analisi

Utilizzare preferibilmente un prodotto granulare (*nota 14*), purificato a 400°C per 4 h in un vassoio basso di vetro, e raffreddato prima dell'uso. Dopo purificazione, deve essere conservato in barattolo in vetro con tappo a vite munito di guarnizione teflonata.

6.3. Tiosolfato di sodio pentaidrato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$) per analisi

6.4. DCM, n-esano, metanolo e toluene

Utilizzare solventi a purezza "per HPLC" o equivalente, oppure ridistillati prima dell'uso.

6.5. IPA

6.5.1. *BbFA, BkFA, BaP, IP, BghiP* (oltre ad eventuali altri IPA da determinare): ognuno come materiale di riferimento puro o in soluzione, a titolo noto.

In alternativa, può essere impiegata una miscela commerciale contenente i suddetti IPA (oltre ad eventuali altri), in soluzione a titolo noto. Se la miscela contiene altri IPA e l'analisi è in GC/MS, si veda la *nota 7* relativamente alla presenza di IPA interferenti tra loro.

6.5.2. *Standard surrogato (0.1.1.)*, puro o in soluzione, a titolo noto.

6.6. IPA isotopicamente marcati

Utilizzare prodotti puri o in soluzione, a titolo noto.

6.6.1. *Standard interno*. Per la determinazione dei 5 IPA richiesti dalla normativa, lo standard idoneo è il PE-d₁₂.

6.6.2. *Eventuali standard interni “di processo” (nota 26)*: almeno un IPA marcato per ogni classe di analiti con un determinato numero di anelli (cioè, uno con 4 anelli, uno con 5, ecc.).

6.7. Miscela di riferimento degli IPA per l'analisi GC/FID

Contiene tutti gli IPA da determinare e lo standard surrogato.

6.7.1. *Preparazione dai singoli materiali puri*. Si pesano accuratamente circa 5,0 mg di sostanza dentro un *vial* di vetro chiaro da 20 mL e si aggiungono alcuni millilitri di toluene (*nota 3*).

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 e costituisce la soluzione primaria di riferimento (concentrazione risultante: circa 0,2 mg/mL). Si analizzano in GC circa 0,5 µL di tale soluzione, al fine di verificare l'effettiva purezza della sostanza disciolta. Si trasferisce poi la soluzione in *vial* da 40 mL di vetro scuro, per la conservazione (*nota 4*).

Si prelevano volumi noti di ogni soluzione primaria di riferimento e si trasferiscono in pallone tarato. Si porta a volume con toluene e si trasferisce in *vial* di vetro scuro. Per diluizione di tale miscela con toluene, si prepara la miscela di riferimento a concentrazioni dell'ordine di grandezza di quelle attese nei campioni in esame concentrati, pronti per l'analisi (*nota 5*).

Si analizza in GC 1 µL della miscela di riferimento e si verifica l'assenza di picchi interferenti. Si trasferisce infine in *vial* di vetro scuro (*note 4 e 6*).

6.7.2. *Preparazione dalle soluzioni commerciali dei singoli IPA*. Le soluzioni commerciali vengono analizzate in GC per verificare la purezza della sostanza disciolta. Opportune aliquote di tali soluzioni vengono unite e, se necessario, la miscela risultante viene diluita con toluene in modo da ottenere la miscela di riferimento, come riportato in (6.7.1.).

6.7.3. *Preparazione dalla miscela commerciale di IPA*. La miscela, se necessario, viene opportunamente diluita con toluene in modo da ottenere la miscela di riferimento, come riportato in (6.7.1.).

6.8. Soluzioni di lavoro per l'analisi GC/MS

Servono per il calcolo degli RF relativi allo standard interno deuterato.

Si prepara dapprima una miscela concentrata di riferimento degli IPA da determinare, con una delle procedure riportate in (6.7.). I rapporti quantitativi tra i 5 IPA richiesti

dalla normativa devono risultare sull'ordine di grandezza dei corrispondenti rapporti relativi ai valori limite (si consideri al riguardo l'assunzione riportata nella *nota 5*) (*nota 7*).

Le soluzioni di lavoro vengono quindi preparate per opportune diluizioni della miscela concentrata di riferimento, in modo da ottenere, dopo aggiunta dello standard interno deuterato (si veda oltre), almeno quattro livelli di concentrazione di singoli IPA, in un intervallo corrispondente approssimativamente a concentrazioni nel campione originale d'acqua pari a 2,5-50 ng/L (*nota 8*).

L'intervallo delle concentrazioni delle soluzioni di lavoro definisce l'*intervallo di lavoro*. Ad ogni soluzioni di lavoro si aggiunge un'aliquota della soluzione di lavoro dello standard interno deuterato (6.10.) in modo tale da ottenere una concentrazione finale di quest'ultimo intermedia rispetto al suddetto intervallo di lavoro (*nota 9*).

6.9. Soluzione di lavoro dello standard surrogato

La soluzione primaria di riferimento, preparata con la procedura riportata in (6.7.1.), ovvero l'eventuale soluzione commerciale del materiale di riferimento, viene diluita con metanolo in modo tale che l'aliquota da aggiungere al campione da estrarre (8.1.) contenga una quantità di surrogato sull'ordine di grandezza atteso degli IPA da determinare (*nota 5*).

6.10. Soluzione di lavoro dello standard interno deuterato PE-d₁₂

La soluzione primaria di riferimento, preparata con la procedura riportata in (6.7.1.), ovvero l'eventuale soluzione commerciale, viene opportunamente diluita ai fini della successiva aggiunta alle soluzioni di lavoro (6.8.) ed ai campioni estratti (8.5.4.).

6.11. Soluzione-recupero

Serve per la prova "Recupero" (7.2.) e contiene tutti gli IPA da determinare e lo standard surrogato (0.1.1.). Si prepara per diluizione con metanolo delle soluzioni concentrate disponibili: le soluzioni primarie di riferimento (6.7.1.), ovvero le soluzioni commerciali dei singoli materiali di riferimento o una miscela commerciale dei vari IPA (6.5.1.). Le concentrazioni devono essere tali per cui in 1 mL le quantità degli IPA siano sull'ordine di grandezza di quelle attese in 1 L dei campioni reali (*nota 5*).

6.12. Miscela per controllare le prestazioni della colonna e dei sistemi GC/FID e GC/MS

Deve includere coppie di IPA la cui risoluzione dipende dalle condizioni operative. Può essere costituita dalla miscela commerciale dei 16 IPA "prioritari" per l'US EPA (1984) (*nota 10*) opportunamente diluita o da altre miscele equivalenti.

7. Controllo di qualità

I controlli che seguono devono essere effettuati:

- inizialmente, prima di effettuare il prelievo dei campioni reali (0.1.2.);
- come controllo regolare, in linea di massima ogni 20 determinazioni od ogni tre mesi;
- ogniqualvolta si modifichi la procedura di trattamento dei campioni;
- limitatamente al controllo del bianco-reagenti (7.1.), ogniqualvolta si cambi marca, tipo o lotto di un qualunque materiale (nota 11).

I controlli del bianco-reagenti e della ripetibilità, ma non del recupero, possono essere omessi se le concentrazioni nei campioni reali risultano inferiori al limite di rivelabilità previsto dalla normativa (0.1.).

7.1. Bianco-reagenti

Si sottopone un campione d'acqua "reagente" (6.1.) all'intero processo analitico, a partire dal prelievo nella bottiglia seguito dall'estrazione e dall'eventuale purificazione, nelle stesse condizioni e con gli stessi materiali impiegati per l'analisi dei campioni reali. Nell'analisi 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 aritmetica - in linea di massima - di tre analisi replicate del bianco-reagenti. Ciò è necessario a causa della variabilità, generalmente elevata, del segnale delle interferenze provenienti dal bianco.

7.2. Recupero

La prova viene effettuata in triplicato su campioni d'acqua "reagente" (6.1.).

Si aggiunge ad 1 L d'acqua "reagente", direttamente nell'imbutto separatore, 1 mL di soluzione-recupero (6.11.), si agita moderatamente e si attendono circa 30 min prima di versare il solvente d'estrazione (durante l'attesa, curare la protezione dalla luce: si veda 3.1.). Si eseguono tutte le fasi della determinazione nelle stesse condizioni e con gli stessi materiali impiegati per i campioni reali.

Il recupero percentuale (valore medio delle tre determinazioni) viene determinato: in GC/FID, rapportando la risposta del campione a quella ottenuta, nello stesso giorno, con la miscela di riferimento (6.7.) usata per il dosaggio dei campioni reali; in GC/MS, con lo standard interno deuterato, analizzando i campioni secondo la procedura (8.5.) impiegata per i campioni reali. Ogni analisi (sia dei campioni che dell'eventuale miscela di riferimento) deve essere effettuata almeno in duplicato. Il recupero dovrebbe risultare >

70%, con un CV relativo alle tre determinazioni $\leq 15\%$, per ogni IPA da determinare e per il surrogato. In particolari condizioni, il superamento di questi livelli può essere considerato accettabile (*nota 12*).

7.3. Ripetibilità

Deve essere valutata la ripetibilità ottenibile nell'applicazione del metodo da parte di un determinato operatore con una determinata apparecchiatura.

- Per ogni insieme omogeneo di campioni (0.1.3.), la prova viene effettuata su almeno tre aliquote di uno dei campioni dell'insieme.
- Nel caso di campioni singoli, si valuta la ripetibilità campione per campione, analizzando n (≥ 3) aliquote del campione. In questo caso, il risultato per ogni campione è dato dalla media aritmetica delle n analisi.

In entrambi i casi suddetti, il CV relativo al campione sottoposto alla prova dovrebbe risultare $\leq 15\%$ 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 13*).

8. Procedura di misura

8.1. Estrazione

Si raccomanda di effettuare le operazioni con DCM sotto cappa aspirante.

Versare il campione in imbuto separatore. Aggiungere la soluzione di lavoro dello standard surrogato (6.9.), in volume di almeno 500 μl , al campione d'acqua, direttamente dentro l'imbuto separatore; agitare moderatamente e attendere circa 30 min (durante l'attesa, curare la protezione dalla luce: si veda 3.1.).

Aggiungere 50 mL di acetone nella bottiglia, lavare accuratamente la superficie interna e trasferire nell'imbuto separatore. Ripetere questa operazione con 60 mL di DCM. Estrarre il campione agitando per 2 min, e sfiatando di tanto in tanto. Lasciar separare gli strati per almeno 10 min. Un'eventuale emulsione può essere risolta (o ridotta) con una centrifugazione manuale dell'imbuto; un'eventuale emulsione residua viene per il momento lasciata nell'imbuto. Raccogliere l'estratto diclorometanico in una beuta ed essiccarlo attraverso una colonna (5.5.) contenente circa 30 g di Na_2SO_4 , prelavata con DCM (o versare direttamente l'estratto dall'imbuto separatore nella colonna); raccogliere l'estratto essiccato in un pallone per evaporatore rotante da 500 mL. Ripetere altre due volte l'aggiunta del DCM nella bottiglia, 1

Depositare in colonna anche l'eventuale emulsione rimasta nell'imbuto separatore dopo la terza estrazione. Lavare infine la beuta e la colonna con 20-30 mL di DCM, raccogliendo il lavaggio nel pallone. (*Nota 14*)

Determinare il volume originale del campione (4.):

- riempire la bottiglia con acqua fino al segno e trasferire l'acqua in un cilindro graduato da 1000 mL, approssimando il volume ai 5 mL (se il volume supera i 1000 mL, utilizzare un secondo cilindro di capacità minore);

oppure,

- ripesare la bottiglia vuota, approssimando il peso del campione d'acqua al grammo.

8.2. Concentrazione dell'estratto

L'estratto viene concentrato in evaporatore rotante a circa 2 mL, sotto vuoto (mediante pompa ad acqua o sistema equivalente) e ad una temperatura del bagno inferiore a circa 35°C. 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 sotto leggero flusso d'azoto a circa 50 μ L (questo volume può essere aumentato con l'uso di lastre TLC di spessore superiore a 0,25 mm).

8.3. Purificazione

La purificazione è necessaria per l'analisi GC/FID. Essa è opportuna anche per la GC/MS, per evitare il deterioramento dell'efficienza del sistema cromatografico.

Prima dell'uso, la lastra viene demarcata (*nota 15*).

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 (evitare la stufa di laboratorio) 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 circa 3-4 cm (*nota 1*). Come riferimento, viene depositata nel corridoio centrale un'opportuna aliquota di miscela di riferimento (6.7.), tale che sia rivelabile sotto la lampada UV (*nota 18*). 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!*). Nel caso la macchia non sia rivelabile (*nota 19*), si delimita un riquadro, della larghezza del corridoio di deposizione, sulla base della posizione della macchia corrispondente al riferimento. Dopo evaporazione del solvente, viene inciso con la spatola il primo riquadro: questo viene grattato, raccolto, frantumato e versato in colonna; successivamente, l'operazione viene ripetuta sull'eventuale secondo riquadro (*effettuare queste operazioni sotto cappa aspirante!*) (*nota 20*).

Gli IPA vengono eluiti con tre porzioni successive di toluene da circa 1,5 mL (corrispondenti approssimativamente ad una pipetta pasteur). Al termine, il gel di silice viene posto sotto pressione con azoto per raccogliere la maggior quantità possibile di solvente.

L'eluato viene raccolto in un *vial* di vetro chiaro, graduato e a fondo conico da 5 mL e concentrato a circa 1 mL sotto flusso d'azoto.

Se l'analisi non viene effettuata immediatamente, il campione viene conservato in frigorifero.

8.4. Analisi GC/FID (0.1.)

Subito prima dell'analisi, il campione viene ulteriormente concentrato sotto flusso d'azoto a poco meno di 100 μ L e se ne misura accuratamente il volume mediante microsiringa da 100 μ L (*nota 21*). In alternativa, il campione può essere cautamente portato a secco e subito dopo ripreso con 100 μ L di toluene.

8.4.1. 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 (6.12.). Le seguenti condizioni, con la colonna (5.9.5.), vengono indicate a scopo orientativo:

- 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 22*).
- Volume da iniettare: *on-column*, 1,0 μ L; *splitless*: 1-2 μ L.

Dopo l'analisi, il campione - diluito a circa 1 mL con toluene - viene conservato in frigorifero.

8.4.2. Identificazione. L'individuazione dei picchi di interesse viene provvisoriamente effettuata mediante confronto dei tempi di ritenzione con quelli della miscela di riferimento (6.7.). Poi, viene confermata con il "metodo delle aggiunte", cioè analizzando il campione arricchito con la miscela di riferimento (*nota 23*). Per un insieme omogeneo di campioni (0.1.3.), l'arricchimento può essere effettuato *una tantum*.

Per un'eventuale conferma definitiva, ad es. per escludere possibili falsi positivi, si effettua l'analisi GC/MS.

8.4.3. *Dosaggio.* L'analisi quantitativa viene effettuata con il metodo della calibrazione esterna, impiegando la miscela di riferimento (6.7.).

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 di riferimento.

Le analisi del campione e della miscela di riferimento devono essere effettuate nello stesso giorno e nelle stesse condizioni operative, iniettando lo stesso volume di campione e di miscela di riferimento.

Al fine di poter valutare l'affidabilità della misura fornita dal sistema di acquisizione ed elaborazione dei dati, questo deve mostrare la linea di base costruita sotto il picco e (in caso di misura dell'area) deve consentire di individuare l'inizio e la fine di ogni integrazione. Occorre quindi controllare che la linea di base costruita (automaticamente o, con l'uso di un computer, manualmente) sia effettivamente la più idonea. L'integrazione manuale del picco (costruendo, cioè, manualmente la linea di base in corrispondenza del picco), può essere conveniente, ai fini dell'accuratezza del dosaggio, particolarmente nel caso di picchi poco intensi e/o non risolti alla linea di base da interferenze.

Con l'uso degli integratori, se non è possibile attuare questo tipo di controllo, è preferibile dosare la sostanza misurando manualmente le altezze dei picchi. Inoltre, affinché siano evidenti eventuali picchi parzialmente sovrapposti, è opportuno che i picchi di interesse nel cromatogramma risultino 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 benzofluoranteni. Questi rappresentano infatti un caso particolare: non essendo risolti tra loro, il risultato viene riportato cumulativamente; dunque, è più accurata una loro misura medi del picco risultante (la somma delle aree, nel caso siano integrati separatamente).

Il risultato di ogni determinazione (sia del campione che della miscela di riferimento) è dato dalla media di 2 (o più) analisi replicate. La ripetibilità dell'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*). Si deve verificare che il recupero del surrogato sia simile a quello ottenuto nelle prove preliminari (7.2.) su campioni d'acqua "reagente".

8.4.4. *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 (o si sospetta che siano coperti da questi), si può, in funzione dell'obiettivo dell'analisi:

- tentare di separare le interferenze modificando l'incremento di temperatura nella seconda rampa (si veda 8.4.1. Può essere sufficiente anche una variazione di $1^\circ\text{C}/\text{min}$; occorre ovviamente analizzare nelle condizioni modificate anche la miscela di riferimento);

- ricorrere all'analisi GC/MS, per confermare o escludere la presenza di un determinato IPA (ma non - in linea di principio - per determinare le quantità relative in GC/FID dei picchi dell'IPA e dell'interferenza: la loro sovrapposibilità varia al variare delle condizioni sperimentali e, in particolare, della colonna);
- stimare, se fattibile, la concentrazione e riportare il risultato come "approssimato" o, se del caso, come "< ..." o "> ...".

La possibilità di picchi interferenti, il cui segnale è di poche volte superiore a quello del rumore di fondo, è particolarmente elevata ai bassi livelli previsti per gli IPA in questa matrice. La presenza di un'interferenza viene generalmente evidenziata dalla forma del picco gascromatografico, a meno che non sia esattamente coeluyente con l'IPA (*nota 24*).

8.5. *Analisi GC/MS (0.)*

Si raccomanda di effettuare preliminarmente:

- Un controllo esplorativo del campione in GC/FID per:
 - a) evitare di contaminare il sistema GC/MS con campioni inaspettatamente "sporchi";
 - b) valutare, in caso di successivo dosaggio (8.5.2.), le concentrazioni approssimate degli IPA;
 - c) valutare il recupero dello standard surrogato (8.4.3.).
- Un'analisi della miscela (6.12.) per verificare l'efficienza della colonna e del sistema GC/MS.

8.5.1. *Impiego per la conferma dell'identificazione.* La conferma dell'identificazione ottenuta mediante GC/FID può essere effettuata, a giudizio dell'analista, *una tantum* per ogni insieme omogeneo di campioni (0.1.3.). Essa va quindi ripetuta, in particolare:

- quando si è a conoscenza di (o si suppongono) variazioni nella fonte della contaminazione;
- ogniqualevolta si abbia motivo di ritenere che il profilo gascromatografico possa essere cambiato.

Se le concentrazioni e la sensibilità strumentale lo consentono, l'identificazione può essere effettuata in "acquisizione", mediante esame dello spettro di massa e confronto con lo spettro del materiale di riferimento puro (*nota 25*). Tale spettro dovrebbe essere ottenuto nel proprio laboratorio, con lo strumento in uso, piuttosto che far ricorso alle librerie disponibili in commercio.

In caso contrario, occorre operare con la tecnica SIM.

8.5.2. *Impiego per l'identificazione e il dosaggio.* L'analisi viene condotta con tecnica SIM. Il dosaggio è basato sull'abbondanza dello ione caratteristico primario (Tabella 2) e viene effettuato con il metodo dello standard interno, aggiunto al campione prima dell'analisi (*nota 26*).

Tabella 2. Ioni caratteristici tipici di alcuni IPA di interesse normativo, analitico o tossicologico^a.
Strumentazione usata: spettrometri di massa quadrupolari (70 eV).

IPA	Ione primario	Ioni secondari
BaA	228	229, 226, 114
BbFA, BkFA, BjFA, BeP, BaP	252	253, 250, 125, 126
PE-d ₁₂	264	260, 265, 132
IP, BghiP	276	277, 274, 138
DBahA	278	279, 276, 139

^a Oltre agli IPA richiesti dalla normativa e allo standard interno, sono inclusi altri IPA in quanto (possibili) interferenti (BjFA, BeP, DBahA) o in quanto utili a fini di stima del rischio cancerogeno (BaA, BjFA, DBahA; si veda 0.1.).

L'integrazione manuale del picco (costruendo, cioè, manualmente la linea di base in corrispondenza del picco) può essere conveniente, ai fini dell'accuratezza del dosaggio, particolarmente nel caso di picchi poco intensi e/o non risolti alla linea di base da interferenze. Occorre comunque controllare che la linea di base costruita (automaticamente o manualmente) sia effettivamente la più idonea.

8.5.3. *Calcolo degli RF.* Si analizza in GC/MS/SIM ogni standard di calibrazione (6.8.) e si tabulano le aree dello ione primario caratteristico contro le concentrazioni, per ogni IPA e lo standard interno. Si calcolano gli RF di ogni analita con la seguente equazione:

$$RF = \frac{A_{IPA} \cdot C_{si}}{A_{si} \cdot C_{IPA}}$$

dove:

A_{IPA} = area dello ione caratteristico per l'IPA da determinare

A_{si} = area dello ione caratteristico per lo standard interno deuterato

C_{IPA} = concentrazione dell'IPA da determinare (pg/μL)

C_{si} = concentrazione dello standard interno deuterato (pg/μL)

Se, per il singolo IPA, l'RF nell'intervallo di lavoro è costante (CV <20%), l'RF medio viene usato nei successivi calcoli. Altrimenti, i risultati vengono usati per costruire una *curva di calibrazione* dei rapporti tra le risposte (A_{IPA}/A_{si}) contro l'RF. Per la scelta degli ioni caratteristici, si veda (8.5.4.).

8.5.4. *Condizioni operative.* Valgono le indicazioni già riportate per l'analisi GC/FID (8.4.1.). Inoltre:

- Temperatura della sorgente: secondo le indicazioni del costruttore.

- Condizioni di impatto elettronico: 70 eV.
- Intervallo di massa in “acquisizione”: da 35 a ≥ 350 amu.

Si raccomanda di effettuare l’operazione di *tuning* all’inizio di ogni giornata di lavoro, secondo le istruzioni dello strumento.

Si aggiusta il volume del campione estratto in modo tale che, dopo aver aggiunto un’aliquota accuratamente nota della soluzione di lavoro dello standard interno PE-d₁₂ (6.10.), le concentrazioni degli IPA siano all’interno dell’intervallo di lavoro e la concentrazione di PE-d₁₂ sia quella presente nelle soluzioni di lavoro (6.8.; note 8 e 9).

Si verifica, all’inizio di ogni giornata di lavoro, l’RF o la curva di calibrazione (8.5.3.), analizzando almeno uno delle soluzioni di lavoro (a concentrazione intermedia). Per ogni IPA, la risposta deve variare da quella attesa (sulla base degli RF originariamente calcolati) di meno del $\pm 20\%$. In caso contrario, occorre rieffettuare la curva di calibrazione.

Per il dosaggio, si utilizza lo ione molecolare (ione primario). Se si notano interferenze, vengono utilizzati, come ioni secondari, i due successivi ioni più intensi. In Tabella 2 sono riportati ioni caratteristici tipici di IPA selezionati, da spettri ottenuti con spettrometri quadrupolari (70 eV); l’intensità relativa degli ioni va comunque verificata con la propria strumentazione e sotto specifiche condizioni operative. I picchi corrispondenti agli IPA da determinare vengono individuati mediante confronto dei t_R con la soluzione di lavoro (nota 27).

L’analisi di un campione con basse concentrazioni di IPA, dopo un campione o una miscela di riferimento con alte concentrazioni, può risentire di un effetto “memoria”; pertanto, in questi casi, è raccomandabile un’iniezione intermedia di solvente per verificare l’assenza di tale effetto.

Per valutare la ripetibilità analitica nelle proprie condizioni strumentali (e dunque l’opportunità di più analisi replicate per determinare il risultato), si confrontano i rapporti tra le risposte dell’analita e dello standard interno, piuttosto che le risposte assolute dell’analita.

9. Calcolo ed espressione dei risultati

Per calcolare la concentrazione C del singolo IPA nel campione d’acqua, si applicano le seguenti formule:

9.1. Procedura con analisi GC/FID

$$C = \frac{R_{camp} \cdot C_{st} \cdot V_{camp}}{R_{st} \cdot V_{acqua} \cdot Rec \cdot 10}$$

dove:

C	= concentrazione espressa in ng/L
R_{camp}	= risposta dell'IPA misurata nel campione (area o altezza)
R_{st}	= risposta dell'IPA misurata nella miscela di riferimento (volume iniettato pari a quello del campione)
C_{st}	= concentrazione dell'IPA nella miscela di riferimento (pg/ μ L)
V_{camp}	= volume del campione prima dell'analisi (μ L)
V_{acqua}	= volume del campione d'acqua estratto (L)
Rec	= recupero dell'IPA (%; <i>nota 28</i>)

9.2. Procedura con analisi GC/MS

$$C = \frac{R_{IPA} \cdot M_{si} \cdot V_{camp}}{R_{si} \cdot RF \cdot V_{in} \cdot V_{acqua} \cdot Rec \cdot 10}$$

dove:

C	= concentrazione espressa in ng/L
R_{IPA}	= risposta dell'IPA misurata nel campione (abbondanza dello ione caratteristico)
R_{si}	= risposta dello standard interno misurata nel campione (abbondanza dello ione caratteristico)
M_{si}	= massa di standard interno iniettata (pg)
RF	= fattore di risposta per l'IPA
V_{camp}	= volume del campione prima dell'analisi (μ L)
V_{in}	= volume di campione iniettato (μ L)
V_{acqua}	= volume del campione d'acqua estratto (L)
Rec	= recupero dell'IPA (%; <i>nota 28</i>)

9.3. Limite di rivelabilità

Nel resoconto della determinazione, i risultati “non rivelabile” devono essere accompagnati dall'indicazione del limite di rivelabilità del metodo nelle condizioni usate. Tale limite deve essere stimato sul campione reale e non sulla miscela di riferimento (*nota 29*).

10. Precisione del metodo

Nel corso di prove effettuate presso alcuni laboratori, è stata riscontrata una ripetibilità (precisione intralaboratorio, espressa come CV %) contenuta entro il 10%. Tale precisione è stata ottenuta con entrambi i metodi (GC/FID e GC/MS) e su campioni d'acqua di rubinetto arricchiti a livelli di concentrazione (10 ng/L per il BaP; 25 ng/L per BbFA, BkFA, IP e BghiP) corrispondenti ai valori limite normativi.

BIBLIOGRAFIA

GAZZETTA UFFICIALE. DPR 24/5/1988, n. 236. Attuazione della direttiva CEE n. 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, ai sensi dell'art. 15 della legge 16 aprile 1987, n. 183. *Suppl. ord. Gazz. Uff.* n. 152 del 30/6/1988.

GAZZETTA UFFICIALE DELLE COMUNITÀ EUROPEE. Direttiva 98/83/CE del Consiglio del 3 novembre 1998 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano. *GU L 330/32* del 5/12/1998.

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

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

US EPA. 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.

NOTE

Nota 1. Nel caso di campioni particolarmente carichi, può risultare opportuno l'uso di lastre con spessore 0,5 mm; alternativamente, è possibile depositare il campione sulla lastra lungo una striscia più lunga (8.3.).

Nota 2. Qualora non sia disponibile una siringa con ago di diametro esterno compatibile con la colonna in uso, si può utilizzare una pre-colonna disattivata da 0,32 mm, lunga almeno 1 m, con connettore in vetro o in acciaio. In questo caso, si raccomanda di verificare accuratamente la tenuta del connettore e, se in vetro, di scaldarlo quando viene montato.

Nota 3. A fini di sicurezza, per ridurre la manipolazione degli IPA puri e dunque il rischio di contaminazione, si raccomanda di prelevare la sostanza possibilmente 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 ai 25 mL indicati) e si aggiunge toluene fresco nel *vial*.

Nota 4. Al fine di poter verificare nel tempo che non ci sia stata evaporazione significativa di solvente, si marca il livello della soluzione in occasione della preparazione e poi ad ogni prelievo; in alternativa, si può registrare il peso del *vial* misurato prima e dopo ogni prelievo. Si suggerisce di preparare nuovamente le soluzioni primarie di riferimento dopo circa un anno.

Nota 5. In alternativa, in funzione dell'obiettivo dell'analisi (e particolarmente in assenza di indicazioni sulle concentrazioni attese nell'acqua prelevata o in caso di concentrazioni variabili in un ampio intervallo), può essere conveniente considerare come concentrazioni corrispondenti ai valori limite della normativa (per BbFA, BkFA, IP e BghiP: si assume circa ¼ del loro valore limite cumulativo). In questo caso, per campioni concentrati (pronti per l'analisi) a circa 100 µL, la miscela di riferimento avrà dunque concentrazioni approssimativamente pari a 100 e 250 pg/µL, rispettivamente, per il BaP e gli altri IPA.

Nota 6. Controllare con regolarità che non ci sia stata degradazione a carico di uno o più IPA, verificando la costanza del "profilo" GC della miscela (cioè, l'insieme dei rapporti quantitativi tra i vari

IPA). 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 di riferimento appena si constata o si sospetta una modifica nel titolo.

Nota 7. Se, oltre ai 5 IPA richiesti dalla normativa, vengono determinati altri IPA, occorre verificare preliminarmente che, nelle condizioni analitiche impiegate, non ci siano picchi interferenti tra di loro e con i 5 richiesti dalla normativa. In questo caso, è opportuno preparare due miscele concentrate di riferimento, ognuna delle quali contenga IPA non interferenti tra di loro. (Si ricorda che i due BFA sono solo parzialmente risolti tra loro e, nelle matrici ambientali, danno luogo ad un unico picco per la presenza del terzo isomero B_jFA coelute; si veda (3.))

Nota 8. A titolo d'esempio, per un estratto concentrato a 200 µL prima dell'analisi, proveniente da un campione d'acqua di 1 L e assumendo un recupero quantitativo, le concentrazioni delle soluzioni di lavoro dovrebbero essere approssimativamente nell'intervallo 12,5-250 pg/µL. Tale intervallo è selezionato per un'analisi il cui obiettivo è il controllo della conformità ai valori limite normativi. Poiché concentrazioni inferiori a tale intervallo sono comunemente attese nei campioni reali, se si intendono dosare livelli di IPA ≤1 ng/L si può estendere l'intervallo a livelli <12,5 pg/µL oppure concentrare maggiormente il campione finale.

Nota 9. A titolo d'esempio, nel caso riportato nella *nota 8*, la concentrazione dello standard interno deuterato dovrebbe essere intorno a 100 pg/µL.

Nota 10. Tale miscela è costituita da: naftalene, acenaftilene, acenaftene, fluorene, fenantrene, antracene, fluorantene, pirene, BaA, crisene, BbFA, BkFA, BaP, IP, DBahA, BghiP.

Nota 11. Si raccomanda di programmare l'approvvigionamento di ogni materiale di consumo (filtri, reagenti, materiali di riferimento, lastre TLC, ecc.) in modo da effettuare un insieme quanto più numeroso possibile di determinazioni senza modificare marca, tipo e lotto di alcun materiale.

Nota 12. L'accettabilità dei risultati ottenuti nei controlli del recupero e della ripetibilità è legata alla valutazione di fattori quali l'obiettivo dell'indagine o il rapporto tra le concentrazioni misurate ed i valori di riferimento. In particolare, a giudizio del responsabile dell'analisi, u può essere accettata se la conseguente imprecisione non inficia la conformità o meno del risultato al valore limite. Scarse prestazioni, nel recupero e 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".

Nota 13. L'esigenza che non cambi l'operatore deriva, in particolare, dall'elevata manualità insita nella procedura di purificazione per TLC.

Nota 14. Avendo disponibile, invece del solfato granulare, quello in polvere (che comporta un eccessivo impaccamento della colonna), si può effettuare l'essiccamento facendo Na_2SO_4 (circa 30 g) contenuto in un imbuto di vetro (5.5.) oppure aggiungendo Na_2SO_4 agli estratti combinati in una beuta e lasciando a riposare per almeno 30 min (avvolgere la beuta con foglio d'alluminio). Al termine, lavare comunque il solfato di sodio con DCM.

Nota 15. A titolo indicativo, si riporta la seguente procedura operativa per il trattamento contemporaneo di due campioni. Con una matita a mina dura (*nota 16*), 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: 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).

Nota 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. E' stato segnalato un caso di contaminazione da paraffine.

Nota 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.

Nota 18. Si tenga presente che, su una lastra da 0,25 mm di spessore e sotto la luce a 366 nm, è visibile una macchia fluorescente conseguente al deposito di una soluzione contenente 2,5 ng di BaP e 10 ng di BbFA, BkFA, IP e BghiP (corrispondenti ai limiti di rivelabilità richiesti dalla normativa, per 1 L d'acqua). La macchia è ancora visibile (pur se non nettamente) se le quantità sono pari a 2,5 ng per tutti e cinque gli IPA.

E' preferibile che il riferimento sia depositato prima del campione, per minimizzare il tempo di esposizione all'aria (e dunque di possibile degradazione) del campione.

Nota 19. Sulla base di quanto riportato nella *nota 18*, e dopo verifica della rivelabilità - sotto la luce UV - della miscela dei cinque IPA nelle proprie condizioni sperimentali, l'assenza di macchia fluorescente costituisce un'utile indicazione sui bassi livelli di concentrazione degli IPA e, dunque, sull'opportunità di proseguire o meno la determinazione, in funzione dell'obiettivo dell'analisi.

Nota 20. 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.

Curare che la superficie interna della colonna sia asciutta prima di sversarvi il gel di silice.

Nota 21. Il volume finale di circa 100 µL è indicativo ai fini di un dosaggio del BaP a livelli intorno a 2,5-10 ng/L. Se necessario, il campione può essere ulteriormente concentrato fino a circa 50 µL. Tuttavia, se compatibile con i livelli di IPA nel campione e con gli obiettivi dell'analisi, un volume finale maggiore è preferibile in quanto consente una maggiore accuratezza nella misura del volume stesso e minimizza il rischio di effetti indesiderati sul campione (precipitati, corpo di fondo, doppia fase, ecc.), cui comunque occorre fare attenzione nell'analisi di campioni molto concentrati.

Nota 22. Il programma termico deve essere comunque tale da consentire:

- la migliore separazione degli IPA da eventuali interferenze;
- tempi di analisi relativamente brevi per evitare eccessivi allargamenti dei picchi degli IPA a maggior peso molecolare.

Nota 23. 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 ottenuto prelevando con la siringa, in sequenza, circa 0,2 µL della miscela di riferimento, aria ed infine (dopo aver immerso la punta dell'ago in toluene di lavaggio) 1,0 µL di campione. L'arricchimento deve essere tale da provocare 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.

Nota 24. Nel caso di identificazione positiva di IPA in un campione, un utile criterio per valutare la plausibilità dei risultati consiste nel confrontare il profilo gascromatografico degli IPA con quello di altri campioni appartenenti allo stesso insieme omogeneo (0.1.3.) e/o con quelli comunemente riportati in

letteratura per matrici possibilmente equivalenti o, in mancanza, per altre matrici ambientali. Marcate difformità nei profili dovrebbero essere fonte di sospetto e comportare opportune verifiche; ciò vale soprattutto nel caso vengano identificati apparentemente solo uno o pochi IPA, in particolare tra quelli riportati in Tabella 1, e risultino assenti gli altri.

Nota 25. Si tenga presente, tuttavia, che la spettrometria di massa non consente la differenziazione di alcuni IPA isomeri, la quale 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. Si consideri inoltre che, nell'elenco - fornito automaticamente dalle librerie (incluse quelle ottenute con il proprio strumento) - delle sostanze assegnabili allo spettro in esame, quella effettivamente presente non compare sovente come la più probabile (secondo il parametro *match* o equivalente).

Nota 26. La procedura di aggiungere lo standard interno ("di processo") al campione d'acqua prima dell'estrazione (ottenendo così delle risposte analitiche già corrette per l'efficienza di recupero) non è raccomandabile in quanto il recupero percentuale di IPA differenti non è, in linea di massima, lo stesso. Essa può essere tuttavia adottata, in alternativa a quella qui descritta, impiegando - quali standard interni - vari IPA isotopicamente marcati, con diversi numeri di anelli (6.6.2.).

Nota 27. Particolare cura va posta in questa operazione, per la presenza di possibili IPA interferenti, con gli stessi ioni caratteristici e t_R vicini (si veda anche (3.)). In particolare: il crisene e il trifenilene (coeluenti) eluiscono subito dopo il BaA; il benzo[e]pirene subito prima del BaP. Inoltre, si tenga presente che una variazione tra i t_R di un IPA nel campione e nella soluzione di lavoro può essere dovuta ai differenti tempi trascorsi, nelle due analisi, tra l'iniezione e l'attivazione dell'acquisizione dei dati (*start*): in questo caso, occorre verificare che tale variazione sia la stessa per tutti gli IPA. In caso di dubbio sull'assegnazione del picco, si può ricorrere all'impiego del "metodo delle aggiunte" (8.4.2.).

Nota 28. Ad es., "73" nel caso di un recupero del 73%.

Nota 29. Il limite di rivelabilità può essere stimato, per un insieme omogeneo di campioni (0.1.3.):

- dall'analisi di un campione nel quale gli IPA siano presenti poco sopra il limite di rivelabilità;
- aggiungendo opportune quantità crescenti di una miscela di riferimento di IPA ad un campione ove non siano rivelabili, fino ad ottenimento di un picco rivelabile.

*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, giugno 2000 (n. 2) 2° Suppl.

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