

# METODO PER LA DETERMINAZIONE DI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA) IN MATERIALI D'ORIGINE ELASTOMERICA IN FORMA DI *PELLET*

Vittorio Abate, Alessandro di Domenico, Silvia De Luca, Igor Fochi, Nicola Iacovella, Anna Laura Iamiceli  
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

## 1. Avvertenze

Il metodo è basato sull'uso della "diluizione isotopica". Esso è stato sottoposto a validazione intra-laboratorio (*in-house*) mediante misura dei parametri discussi nella sezione "Verifica della qualità dei dati". Il metodo è stato sviluppato utilizzando per il rilevamento strumentale la gascromatografia ad alta risoluzione abbinata alla spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS).

Al riguardo, si fa presente quanto segue:

- 1.1. A causa della complessità intrinseca delle analisi di cui trattasi, l'applicazione del metodo si basa sulla disponibilità di infrastrutture e strumentazione specialistiche e personale esperto o adeguatamente addestrato.
- 1.2. A causa della forma in *pellet* della matrice – e non finemente suddivisa – e dell'osservata mancanza di dissoluzione della medesima durante il processo estrattivo, deve assumersi che il metodo proposto tenda a sottostimare le concentrazioni degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) presenti nel *pellet*. Tuttavia, ai fini della valutazione dell'esposizione e del rischio conseguente, si osserva che la parte di matrice non raggiunta efficacemente dal solvente d'estrazione è quella più all'interno del *pellet* e dunque verosimilmente meno soggetta a cedere IPA nelle condizioni di impiego.
- 1.3. A causa della diversa composizione tecnica del materiale, la cui origine è generalmente indicata grossolanamente (es. materiale termoplastico vergine, pneumatici post-uso nobilitati, pneumatici post-uso, triturazioni di varie guarnizioni), il grado di purificazione ottenibile con la procedura prevista dal presente metodo può variare.
- 1.4. I contaminanti in oggetto sono altamente tossici e idonee misure protettive devono essere presenti nel laboratorio per evitare contaminazioni ambientali e rischi occupazionali.

## 2. Abbreviazioni

|       |  |
|-------|--|
| BaP   | benzo[ <i>a</i> ]pirene  |
| BbFA  | benzo[ <i>b</i> ]fluorantene   |
| BghiP | benzo[ <i>ghi</i> ]perilene  |
| BjFA  | benzo[ <i>j</i> ]fluorantene   |
| BkFA  | benzo[ <i>k</i> ]fluorantene   |
| CHR   | crisene  |
| CRM   | <i>certified reference material</i> o materiale di riferimento certificato |

|                 |   |
|-----------------|---|
| D               | deuterio  |
| DBacA           | dibenz[ <i>a,c</i> ]antracene                       |
| DBahA           | dibenz[ <i>a,h</i> ]antracene                       |
| FR              | fattore di risposta                                 |
| FRR             | fattore di risposta relativo                        |
| HRGC            | gascromatografia ad alta risoluzione                |
| HRMS            | spettrometria di massa ad alta risoluzione          |
| IP              | indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pirene                     |
| IPA             | idrocarburi policiclici aromatici                   |
| LOD             | <i>limit of detection</i> o limite di rivelabilità  |
| LRMS            | spettrometria di massa a bassa risoluzione          |
| N               | <i>noise</i> o rumore di fondo                      |
| PTV (iniettore) | <i>programmed temperature vaporizing (injector)</i> |
| PY              | pirene  |
| S               | (intensità del) segnale                             |
| SI              | standard interno, composto marcato con D            |
| SIM             | <i>single (o selected) ion monitoring</i>           |
| TRI             | trifenilene   |

### 3. Definizioni

Ai fini del presente metodo si applicano le seguenti definizioni:

- 3.1. *Batch*: gruppo di campioni costituito da 3–5 unità.
- 3.2. Bianco procedurale: matrice inerte (es. solfato di sodio) esente da IPA sottoposta alla medesima procedura analitica dei campioni allo scopo di verificare l'eventuale contributo al fondo (*background*) procedurale.
- 3.3. Incertezza estesa: grandezza che definisce, intorno al risultato di una misurazione, un intervallo che ci si aspetta comprendere una frazione rilevante della distribuzione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando (1); è calcolata in accordo con le indicazioni fornite da Eurachem/Citac (2) applicando un fattore di copertura  $k = 2$ .
- 3.4. Limite di rivelabilità strumentale (LOD, *limit of detection*:  $S \times N^{-1} \approx 3$ ): stimato sul campione reale, calcolando per ciascun analita la concentrazione che produce una risposta strumentale pari a ca. 3 volte il valore del *noise* (N).
- 3.5. Ripetibilità: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti in condizioni di ripetibilità (stesso operatore, stessa strumentazione, in un breve intervallo di tempo) e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.6. Precisione intermedia con tempi diversi: variabilità osservata all'interno di un laboratorio fra risultati indipendenti ottenuti dallo stesso operatore, con la stessa strumentazione e in un lungo intervallo di tempo, e misurata come scarto tipo relativo.
- 3.7. *Solution keeper*: sostanza utilizzata per mantenere in soluzione gli analiti d'interesse così da evitarne l'evaporazione (nel presente metodo è usato l'*n*-tetradecano).
- 3.8. Standard d'iniezione: sostanza, assente nella matrice da analizzare, aggiunta immediatamente prima dell'analisi strumentale per stimare l'efficienza di recupero degli SI (nello sviluppo del presente metodo è stato usato il BaP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>).

- 3.9. *Medium bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili ( $< \text{LOD}$ ) sono inseriti come “ $\text{LOD} \times 0,5$ ”.
- 3.10. *Upper bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili ( $< \text{LOD}$ ) sono inseriti come “ $\text{LOD} \times 1$ ”.

## 4. Scopo e campo di applicazione

- 4.1. Il metodo è stato sviluppato per la determinazione di IPA con 4–6 anelli, mediante gascromatografia ad alta risoluzione abbinata a spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS), in materiali d’origine elastomerica presenti in forma di *pellet* lenticolari. I *pellet* hanno in genere colore variabile, sono gommosi al tatto, e presentano grandezza variabile. La composizione tecnica di tale materiale, indicata grossolanamente all’origine, è riconducibile a prodotti termoplastici vergini o a materiali riciclati.
- 4.2. Il metodo consente, in particolare, la determinazione dei nove IPA richiesti dalla normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica (Figura 1). La determinazione di questi nove IPA è anche richiesta dal Decreto Legislativo 3 aprile 2006 n. 152 per il suolo destinato a uso verde pubblico, privato e residenziale, insieme a quattro dibenzopireni: dibenzo[*a,e*]pirene, dibenzo[*a,h*]pirene, dibenzo[*a,i*]pirene, dibenzo[*a,l*]pirene (3). La procedura analitica descritta nel presente metodo non è applicabile alla determinazione dei dibenzopireni. Infatti, la loro risposta strumentale è fortemente soppressa in quanto interferita da un elevato *bleeding* di matrice.

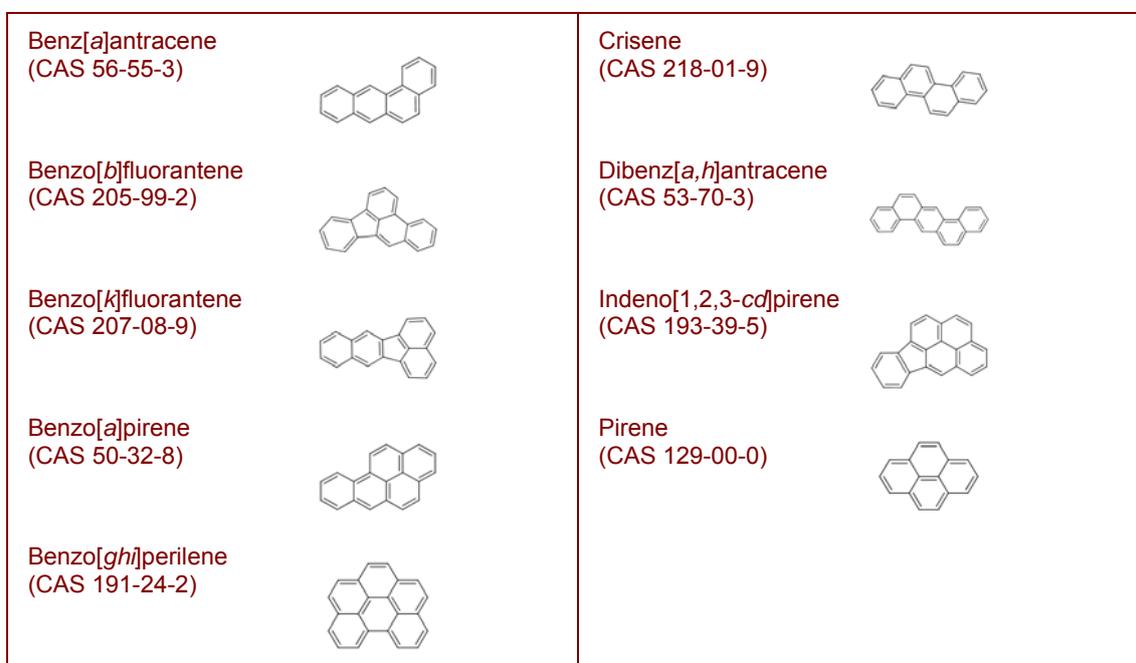


Figura 1. IPA da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

- 4.3.** I livelli di concentrazione rivelabili con il presente metodo dipendono dal grado di purificazione ottenibile. Il metodo consente di rivelare concentrazioni di singolo IPA approssimativamente intorno a 0,005-0,01 mg/kg (tranne per il DBahA: circa 0,03 mg/kg) (v. 12).

## 5. Principio del metodo

La determinazione degli analiti di interesse è basata sull'impiego estensivo di standard interni (SI), o traccianti, completamente deuterati. Gli SI vengono aggiunti al campione prima dell'estrazione. Gli analiti di interesse sono estratti con diclorometano e successivamente con *n*-esano in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è purificato mediante cromatografia su gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Dopo purificazione, gli analiti sono quantificati mediante HRGC-LRMS(SIM). A ciascun *batch* di campioni è abbinata l'analisi di un bianco procedurale.

## 6. Materiali e apparecchiature

### 6.1. Strumentazione per l'estrazione del campione

- 6.1.1. Bagno ad ultrasuoni.

### 6.2. Strumentazione per la concentrazione del campione

- 6.2.1. Evaporatore rotante.  
6.2.2. Apparato per la concentrazione sotto corrente di azoto.

### 6.3. Materiale per la purificazione del campione

- 6.3.1. Colonna in vetro con rubinetto (d.i. 1 cm, lunghezza minima 18 cm) munita di setto in vetro sinterizzato.  
6.3.2. Palloni di vetro da 50, 100, e 250 mL.  
6.3.3. *Vial* a fondo piatto da 70 mL.  
6.3.4. *Vial* a fondo conico da 9 mL con tappo a vite.  
**Nota.** Questo elenco è fornito a titolo di esempio.

### 6.4. Materiale cromatografico

- 6.4.1. Azoto per gascromatografia, ultrapuro.  
6.4.2. Elio per gascromatografia, ultrapuro.  
6.4.3. Gel di silice per cromatografia su colonna, 70-230 *mesh*; diametro medio dei pori 60 Å.

### 6.5. Strumentazione per l'analisi del campione

- 6.5.1. HRGC-LRMS.

## 7. Solventi e standard

### 7.1. Solventi

- 7.1.1. Acetone per HPLC, purezza  $\geq 98,0\%$ , acqua  $\leq 0,1\%$ .
- 7.1.2. Acetone, grado tecnico.
- 7.1.3. Diclorometano per HPLC, purezza  $\geq 99,8\%$ .
- 7.1.4. *n*-Esano, grado tecnico.
- 7.1.5. *n*-Esano per HPLC, purezza  $\geq 98,0\%$ .
- 7.1.6. *n*-Nonano per HPLC, purezza  $\geq 99,7\%$ .
- 7.1.7. *iso*-Ottano per analisi strumentale (UV, IR, o HPLC), purezza  $\geq 99,5\%$ .

### 7.2. Standard

- 7.2.1. Benzo[*a*]pirene  $^{13}\text{C}$ -marcato, impiegato come standard d'iniezione (purezza  $\geq 99\%$ ) o, in alternativa, un qualsiasi altro IPA marcato purché non usato come standard interno.
- 7.2.2. IPA, purezza  $\geq 99\%$ .
- 7.2.3. IPA deuterati, purezza  $\geq 99\%$ .
- 7.2.4. *n*-Tetradecano, standard per GC, purezza  $\geq 99,5\%$ .

## 8. Interferenze e cause d'errore

- 8.1. A causa delle minute quantità di analiti che devono essere identificate e quantificate, solo un laboratorio adeguatamente costruito ed equipaggiato può ritenersi idoneo all'esecuzione delle analisi d'interesse. All'interno del medesimo, dovrà essere mantenuta la massima pulizia, per evitare apporti di contaminazione atmosferica dall'esterno.
- 8.2. Poiché la vetreria, i solventi, i reagenti, e ogni tipo di strumentazione utilizzata durante l'analisi possono introdurre sostanze interferenti, è necessario dimostrare che in tutti i materiali impiegati esse siano non rivelabili o presenti in quantità non pregiudiziali per il risultato dell'analisi.
- 8.3. La vetreria, tutta di Pyrex, viene preventivamente lavata con detersivo e acqua, risciacquata accuratamente con acqua distillata, e poi tenuta in stufa a  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$  per 12–24 h (la vetreria tarata, di Classe A ove opportuno, non viene sottoposta al trattamento termico). Prima dell'uso, la vetreria è ulteriormente e ripetutamente risciacquata con acetone tecnico seguito da *n*-esano per HPLC, e fatta asciugare in zona protetta. L'ultimo risciacquo della vetreria con *n*-esano viene raccolto quantitativamente e concentrato a piccolo volume – da 1/100 a 1/500 del volume di partenza – per verificarvi mediante rilevamento HRGC-LRMS(SIM) l'eventuale presenza d'interferenze pregiudiziali sui segnali degli analiti d'interesse. Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre sottoporre la vetreria di cui trattasi a nuovo lavaggio oppure sostituirla. Dopo l'uso, se opportuno, la vetreria impiegata viene recuperata dopo decontaminazione con lavaggi ripetuti con miscela equivolometrica di acetone e *n*-esano (eventualmente entrambi di grado tecnico), seguita dalla procedura di lavaggio precedentemente descritta. In

una valutazione costo-beneficio, parte della vetreria usata può essere eliminata secondo le prassi di scarico dei rifiuti in atto nel laboratorio.

- 8.4. Tutti i solventi utilizzati in quantità relativamente rilevanti, che subiscono sensibili processi di concentrazione durante il percorso dell'analisi, devono essere sottoposti a un controllo di congruità analitica preventiva per verificarne l'eventuale contributo al *background* procedurale. Per tale accertamento, volumi congrui dei solventi d'interesse, presi singolarmente, vengono concentrati a piccolo volume secondo quanto si verifica nell'applicazione del metodo e sottoposti ad analisi HRGC-LRMS(SIM). Qualora questo *background* procedurale sia troppo elevato, occorre purificare il o i solventi inadeguati, o effettuarne la sostituzione.
- 8.5. Tutti gli standard acquisiti da ditte specializzate devono essere certificati all'origine in merito alle identità degli IPA forniti e al loro titolo effettivo. In genere, è opportuno verificare tali parametri direttamente mediante analisi HRGC-LRMS(SIM): qualora si rilevi un'incongruenza sensibile tra il dichiarato e il risultato dell'analisi, il prodotto dovrà essere sostituito. Le soluzioni di riferimento derivate dagli standard commerciali utilizzano solventi relativamente poco volatili (*n*-nonano, *iso*-ottano, o toluene) per le diluizioni: di esse se ne accerta la stabilità nel tempo.

## 9. Conservazione del campione

Il campione è conservato al buio a temperatura ambiente.

## 10. Procedura analitica

### 10.1 Pretrattamento del campione

Circa 2 g di campione sono posti in un becher da 100 mL e addizionati con una quantità nota di una miscela di standard interni costituita dagli IPA marcati riportati in Tabella 1.

**Tabella 1. Ioni caratteristici degli IPA e degli IPA isotopicamente marcati (LRMS)**

| IPA                             | <i>m/z</i> | IPA isotopicamente marcati                                   | <i>m/z</i> |
|---------------------------------|------------|--|------------|
| Benz[ <i>a</i> ]antracene       | 228        | Benz[ <i>a</i> ]antracene-D <sub>12</sub>                    | 240        |
| Benzo[ <i>b</i> ]fluorantene    | 252        | Benzo[ <i>b</i> ]fluorantene-D <sub>12</sub> <sup>a</sup>    | 264        |
| Benzo[ <i>k</i> ]fluorantene    | 252        |  |            |
| Benzo[ <i>a</i> ]pirene         | 252        | Benzo[ <i>a</i> ]pirene-D <sub>12</sub>                      | 264        |
| Benzo[ <i>ghi</i> ]perilene     | 276        |  |            |
| Crisene                         | 228        | Crisene-D <sub>12</sub>                                      | 240        |
| Dibenz[ <i>a,h</i> ]antracene   | 278        | Dibenz[ <i>a,h</i> ]antracene-D <sub>14</sub>                | 292        |
| Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pirene | 276        | Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pirene-D <sub>12</sub> <sup>b</sup> | 288        |
| Pirene                          | 202        | Pirene-D <sub>10</sub>                                       | 212        |

<sup>a</sup> Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BkFA

<sup>b</sup> Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BghiP

## 10.2. Estrazione

- 10.2.1. Il campione viene sottoposto a quattro estrazioni sequenziali in bagno ad ultrasuoni, della durata di 30 min ciascuna. Le prime tre estrazioni vengono effettuate con diclorometano, l'ultima con *n*-esano. Sono utilizzati 20 mL di solvente per ciascuna estrazione.
- 10.2.2. Gli estratti vengono separati dalla matrice solida mediante pipetta Pasteur e riuniti in pallone da 250 mL dove vengono concentrati a pressione ridotta alla temperatura massima di 40 °C.
- 10.2.3. L'estratto totale viene trasferito in *vial* a fondo piatto da 70 mL e poi diluito con diclorometano fino ad un volume di circa 40 mL.

## 10.3. Purificazione

- 10.3.1. Di seguito è riportata la procedura di purificazione impiegata nell'ambito della validazione del presente metodo. Possono essere utilizzate condizioni sperimentali differenti purché non pregiudichino una sufficiente pulizia del tracciato cromatografico e l'efficienza di recupero degli analiti.
- 10.3.2. Un'aliquota pari a circa il 10% in peso dell'estratto viene trasferita in un *vial* da 9 mL e lasciata adsorbire su circa 0,5 mL di gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Un esempio di procedura di preparazione è riportato nell'Allegato I.
- 10.3.3. Il solvente viene evaporato sotto un leggero flusso di azoto finché l'estratto non si presenti sotto forma di polvere asciutta.
- 10.3.4. L'estratto sotto forma di polvere viene caricato su colonna di gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua. Dopo eluizione del volume morto (14 mL), vengono raccolte due frazioni: Frazione I (14 mL di *n*-esano, contenente idrocarburi alifatici leggeri); Frazione II (70 mL di *n*-esano, contenente idrocarburi alifatici pesanti e IPA).
- 10.3.5. La Frazione II viene concentrata a pressione ridotta alla temperatura massima di 40 °C fino al volume di 1-2 mL e trasferita in *vial* a fondo conico da 9 mL.
- 10.3.6. Dopo l'aggiunta di 1 µL di *n*-tetradecano (*solution keeper*), il campione è concentrato fin quasi a secchezza con leggero flusso di azoto, ripreso con 500 µL di una soluzione di BaP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> (standard di iniezione, es. 200 pg/µL) in *iso*-ottano, e diluito a 1,5 mL con *iso*-ottano prima della determinazione strumentale.

## 10.4. Determinazione strumentale

- 10.4.1. Gli IPA sono determinati tramite HRGC-LRMS in modalità SIM utilizzando, es. le condizioni operative descritte nell'Allegato II.
- 10.4.2. Si segnala che, con la colonna GC riportata nell'Allegato II, si riscontrano difficoltà nella risoluzione:
  - 10.4.2.1. del CHR, che co-eluisce con il TRI (la concentrazione del CHR viene espressa come somma dei due isomeri);
  - 10.4.2.2. del BkFA e del BbFA, che co-eluiscono con il BjFA, costituendo un unico picco (la concentrazione del BkFA e del BbFA viene espressa come somma dei tre isomeri);

- 10.4.2.3. del DBahA, che co-eluisce con il DBacA (la concentrazione del DBahA viene espressa come somma dei due isomeri).
- 10.4.3. Qualora una concentrazione somma risultasse superiore al valore limite indicato nella normativa per la sostanza in questione (CHR, BkFA, BbFA o DBahA), al fine di determinare la concentrazione di tale sostanza si possono utilizzare, caso per caso, colonne con le seguenti fasi stazionarie:
- (50% fenil)-metilpolisilossano (60 m) per la separazione parziale del CHR dal TRI (quest'ultimo co-eluyente con il ciclopenta[*cd*]pirene); oppure (5% fenil)-policarborano-silossano (HT5 o equivalente, 30 m) per la separazione parziale del TRI dal CHR (quest'ultimo co-eluyente con il ciclopenta[*cd*]pirene): la concentrazione del TRI così calcolata viene poi sottratta dalla somma CHR+TRI ottenuta con la colonna di cui all'Allegato II (v. 10.4.2.1);
  - (50% fenil)-metilpolisilossano (30 m) per la separazione dei tre isomeri BkFA, BbFA e BjFA;
  - (5% fenil)-policarborano-silossano (HT5 o equivalente, 30 m) per la separazione parziale del DBahA dal DBacA, oppure (50% fenil)-metilpolisilossano (60 m) per la separazione del DBacA da un picco costituito da DBahA+IP; la concentrazione del DBacA viene poi sottratta dalla somma DBahA+DBacA ottenuta con la colonna di cui all'Allegato II (v. 10.4.2.3).
- 10.4.4. Gli analiti e gli IPA isotopicamente marcati sono quantificati utilizzando le masse più intense dello spettro di massa (Tabella 1). Le Figure 2 e 3 riportano i cromatogrammi, rispettivamente, di una miscela di standard e di un campione di materiale elastomerico analizzati secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II.
- 10.4.5. Il rilevamento quantitativo viene eseguito impiegando una miscela di standard esterni (SE) costituita dagli analiti d'interesse, ottenuti da standard commerciali certificati.

C:\XCALIBUR\...108-05-20\stdipaFioroniB2

20/05/2008 10.49.47

std ipa

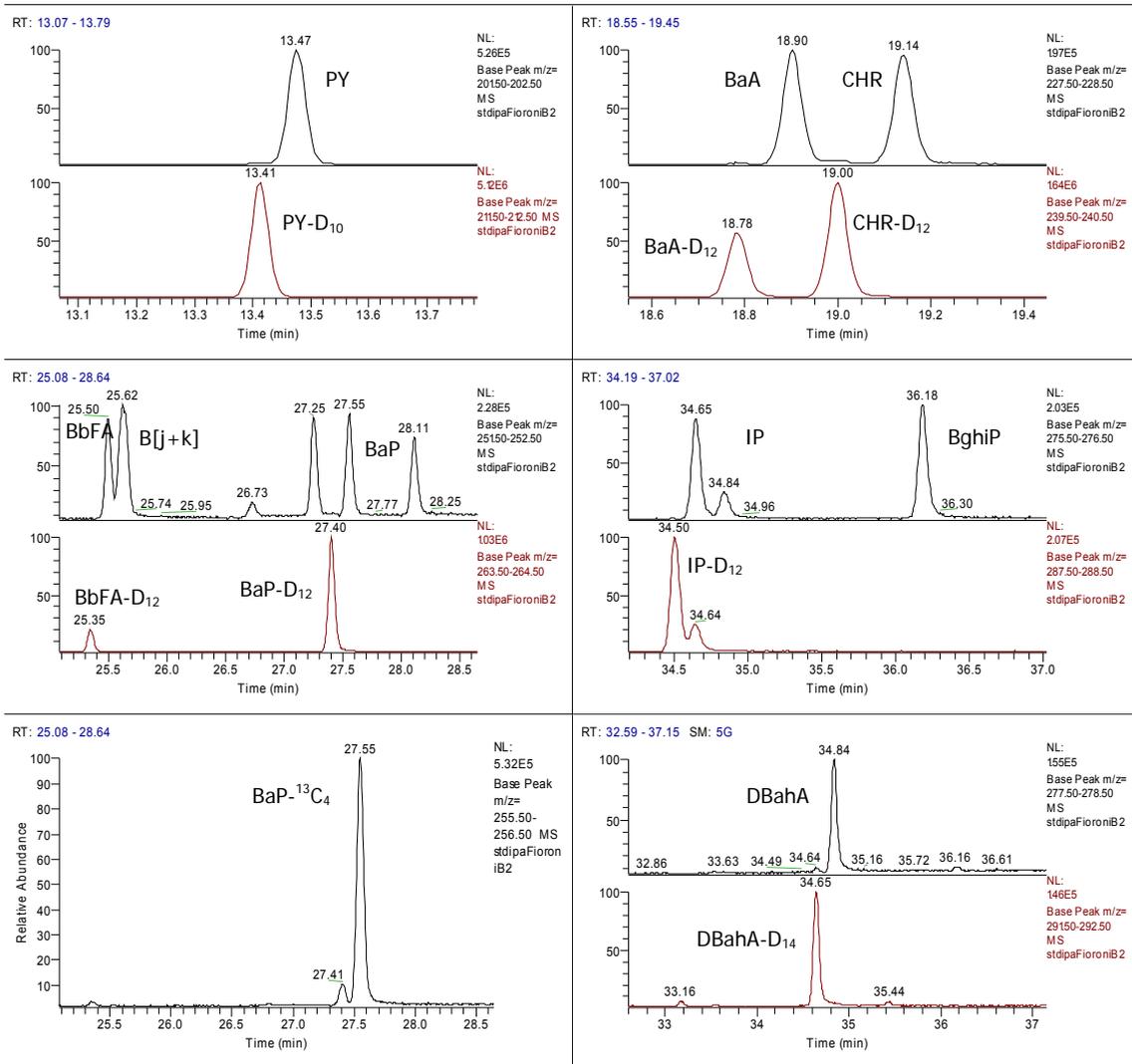


Figura 2. Cromatogramma di IPA naturali e isotopicamente marcati analizzati secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II

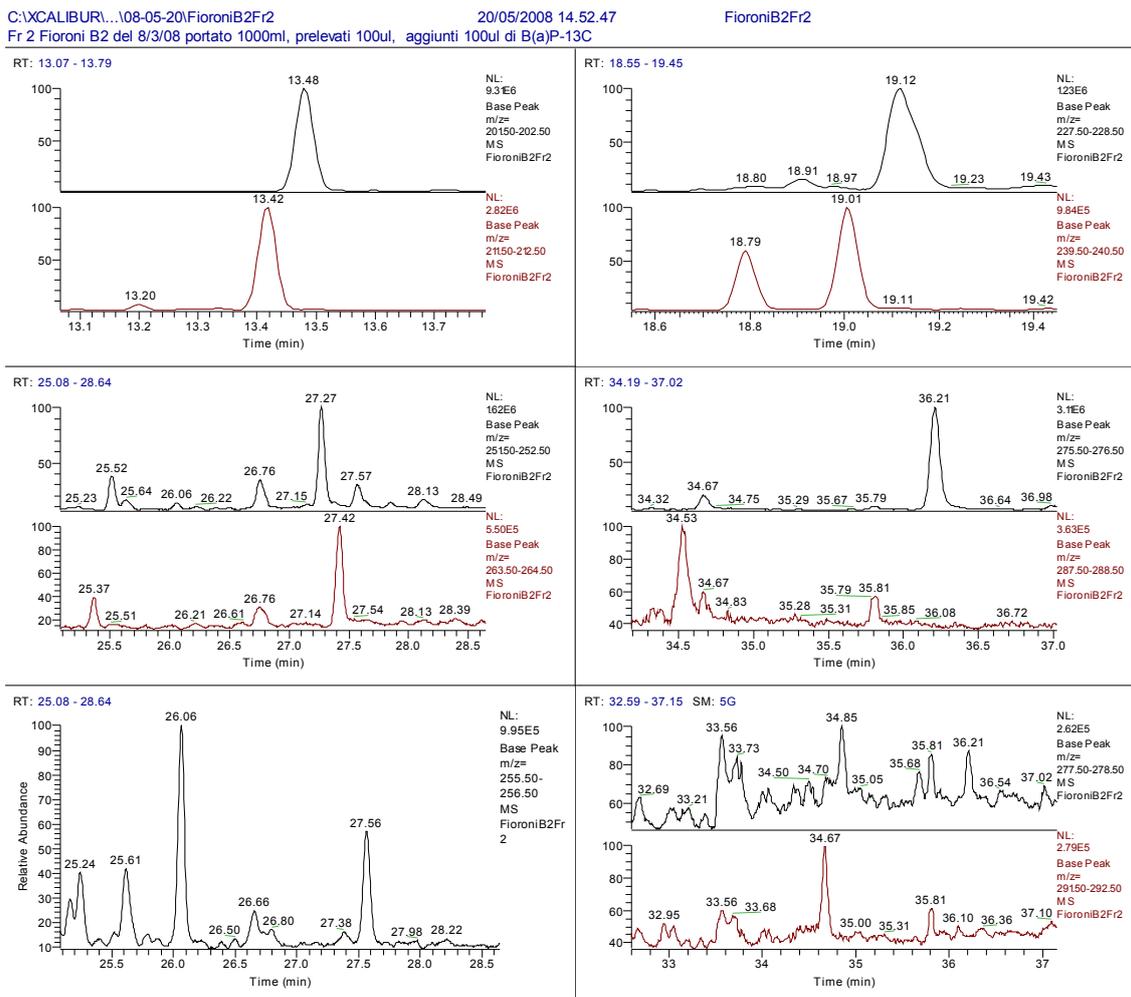


Figura 3. Cromatogramma di un campione di materiale elastomerico analizzato secondo le condizioni operative riportate nell'Allegato II

## 10.5. Calcoli ed espressione dei risultati

10.5.1. La quantificazione degli analiti di interesse viene eseguita applicando l'Equazione [1], avendo determinato i fattori di risposta (FR) e i fattori di risposta relativi (FRR), stimati dalle aree dei segnali relativi alla massa più abbondante di ciascun analita.

$$X_{AN} = (A_{AN} / FRR_{AN}) \times (Q_{SI} / A_{SI}) \quad [1]$$

dove:

$X_{AN}$  è la quantità assoluta dell'analita nel campione;

$A_{AN}$  è l'area del segnale analitico nel campione;

$Q_{SI}$  è la quantità assoluta dello SI marcato;

$A_{SI}$  è l'area corrispondente al segnale dello SI marcato;  
 $FRR_{AN}$  è il fattore di risposta relativo calcolato mediante l'Equazione [2]:

$$FRR_{AN} = FR_{AN} / FR_{SI} \quad [2]$$

dove:

$FR_{AN}$  e  $FR_{SI}$  sono rispettivamente i fattori di risposta determinati per l'analita e per lo standard interno nello standard di calibrazione, utilizzando l'Equazione [3]:

$$FR_i = A_i / Q_i \quad [3]$$

dove:

$FR_i$  è il fattore di risposta dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione;

$A_i$  è l'area del segnale analitico dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione;

$Q_i$  è la quantità assoluta dell'analita o dello SI marcato nello standard di calibrazione.

10.5.2. Il calcolo del recupero (%) degli IPA marcati viene effettuata mediante l'Equazione [4]:

$$\text{Recupero (\%)} = (X_{SI} / Q_{SI}) \times 100 \quad [4]$$

dove:

$Q_{SI}$  è la quantità assoluta di SI aggiunta al campione;

$X_{SI}$  è la quantità assoluta di SI determinata nel campione utilizzando l'Equazione [5]:

$$X_{SI} = A_{SI} / FRR_{SI} \times Q_{ING} / A_{ING} \quad [5]$$

dove:

$A_{SI}$  è l'area del segnale relativo allo SI nel campione;

$FRR_{SI}$  è il fattore di risposta relativo dello SI rispetto allo standard di iniezione determinato nello standard di calibrazione;

$Q_{ING}$  è la quantità assoluta di standard di iniezione nel campione;

$A_{ING}$  è l'area del segnale relativo allo standard di iniezione nel campione.

10.5.3. Ai fini della conformità ai valori limite indicati nella normativa, i risultati con valore di ufficialità devono essere riportati nelle stesse unità di misura e con lo stesso numero di cifre decimali riportati nell'atto normativo.

10.5.4. In accordo con GEMS/Food (4) e con il protocollo raccomandato nel Rapporto ISTISAN 04/15 (5), nel calcolo della sommatoria degli IPA si effettua una stima cumulativa *medium bound*, ponendo i dati non rivelabili ( $< LOD$ ) pari a  $LOD \times 0,5$ . In caso di verifica di conformità, la stima *upper bound* ( $LOD \times 1$ ) non deve superare il 50% del valore limite indicato nella normativa.

## 11. Verifica della qualità dei dati

I parametri elencati in questa sezione devono essere verificati dal laboratorio che usa il presente metodo. Valori diversi da quelli riportati comportano una specifica valutazione di congruenza ed eventuali azioni correttive (es. la ripetizione della determinazione nel caso di resa di recupero non accettabile) se influiscono significativamente sul risultato, in particolare sulla valutazione di conformità.

- 11.1. LOD del BaP (il LOD strumentale deve essere tale per cui il LOD del metodo, espresso in mg/kg *pellet*, nelle condizioni analitiche adottate per i campioni reali, sia  $\leq 10\%$  del valore limite indicato nella normativa).
- 11.2. Ripetibilità (scarto tipo relativo accettabile sui singoli IPA:  $\leq 30\%$ ).
- 11.3. Precisione intermedia con tempi diversi (scarto tipo relativo accettabile sui singoli IPA:  $\leq 60\%$ ).
- 11.4. Efficienza di recupero di standard interni marcati (rese di recupero accettabili sui singoli IPA: nell'intervallo 40-120%).
- 11.5. Risoluzione gascromatografia (sovrapposizione di uno o più componenti adiacenti:  $\leq 40\%$ ).
- 11.6. Ripetibilità dei fattori di risposta relativi (RRF) (scarto tipo relativo accettabile:  $\leq 15\%$ ).

## 12. Risultati della validazione intra-laboratorio (*in-house*) del metodo

Le prestazioni ottenute nell'ambito della validazione sono riportate in Tabella 2.

**Tabella 2. Prestazioni del metodo così come determinate in fase di validazione intra-laboratorio (*in-house*)**

| IPA                               | LOD del metodo (mg/kg) <sup>a</sup> | Ripetibilità <sup>b</sup> | Precisione intermedia con tempi diversi <sup>c</sup> | Scostamento dai metodi di riferimento <sup>d</sup> | Incertezza estesa <sup>e</sup> |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|--|--|--------------------------------|
| Benz[a]antracene                  | 0,01                                | 6%                        | 23%  | -13%   | 47%                            |
| Benzo[b]fluorantene               | 0,005                               | 4%                        | 29%  | -19%   | 59%                            |
| Benzo[k+]fluorantene <sup>f</sup> | 0,005                               | 5%                        | 25%  | +30%   | 50%                            |
| Benzo[a]pirene                    | 0,01                                | 7%                        | 15%  | +5%  | 31%                            |
| Benzo[ghi]perilene                | 0,005                               | 7%                        | 14%  | -18%   | 29%                            |
| Crisene                           | 0,01                                | 5%                        | 11%  | -5%  | 22%                            |
| Dibenz[a,h]antracene              | 0,03                                | 13%                       | 11%  | +10%   | 29%                            |
| Indeno[1,2,3-cd]pirene            | 0,005                               | 5%                        | 10%  | -10%   | 20%                            |
| Pirene                            | 0,005                               | 5%                        | — <sup>g</sup>                                       | -16%   | 14%                            |

<sup>a</sup> Stima approssimata basata sul LOD strumentale (v. 3.4)

<sup>b</sup> Scarto tipo ottenuto da cinque analisi replicate eseguite su uno stesso campione

<sup>c</sup> Scarto tipo ottenuto da 10 analisi replicate eseguite su uno stesso campione

<sup>d</sup> Misurato in termini di differenza percentuale fra la media (n = 5) dei risultati ottenuti con il metodo LRGC-HRMS in esame rispetto alla media (n = 5) dei risultati ottenuti con l'HRGC-HRMS, assunto quale metodo di riferimento (condizioni operative riportate nell'Allegato III)

<sup>e</sup> Incertezza estesa stimata secondo le indicazioni Eurachem/Citac (2) applicando un fattore di copertura k = 2

<sup>f</sup> BkFA determinato cumulativamente con il BjFA in quanto i due isomeri non sono risolti cromatograficamente

<sup>g</sup> Non determinata

- 12.1. Lo scostamento dal metodo di riferimento, misurato in termini di differenza percentuale della media dei risultati ottenuti con il metodo HRGC-LRMS in esame rispetto alla media dei risultati ottenuti con l'HRGC-HRMS, assunto quale metodo di riferimento, è risultato  $< \pm 20\%$  per ogni IPA (tranne che per il BkFA, determinato con il BjFA: +30%) (Tabella 2).
- 12.2. L'incertezza estesa stimata per la sommatoria dei nove IPA è  $\leq 30\%$ ; per i singoli IPA l'incertezza estesa è riportata in Tabella 2.

## Bibliografia

1. UNI CEI ENV 13005. *Guida all'espressione dell'incertezza di misura*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2000.
2. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A. (Ed.). *Eurachem/Citac Guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement (QUAM)*. Teddington (UK): Eurachem-LGC; 2000. Traduzione italiana: Patriarca M, Chiodo F, Corsetti F, Rossi B, Menditto A, Segà M, Plassa M. *Quantificazione dell'incertezza nelle misure analitiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/30).
3. Italia. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 88, 14 aprile 2006.
4. Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food). *Instructions for electronic submission of data on chemical contaminants in food and the diet - Appendix 4, Evaluation of low level contamination of foods*. Ginevra: WHO, Food Safety Department; 2003. Disponibile all'indirizzo: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/gemsmanual.pdf>; ultima consultazione 22/4/2010.
5. Menichini E, Viviano G e il Gruppo di lavoro Istituto Superiore di Sanità "Metodiche per il rilevamento delle emissioni in atmosfera da impianti industriali". *Trattamento dei dati inferiori al limite di rivelabilità nel calcolo dei risultati analitici*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2004. (Rapporti ISTISAN 04/15).

## ALLEGATO I

### **Esempio di preparazione del gel di silice contenente il 10% (peso/peso) di acqua**

- scaldare il gel di silice in stufa per 12 ore a 170 °C;
- lasciare raffreddare la fase in essiccatore per circa 30 min;
- trasferire la fase in pallone, pesarla, e aggiungere il 10% in peso d'acqua distillata;
- dibattere vigorosamente il pallone affinché l'acqua si distribuisca per quanto possibile uniformemente nel gel di silice;
- lasciare la fase in essiccatore per 12 ore;
- aggiungere *n*-esano fino a ricoprire il gel di silice;
- degassare sotto vuoto a temperatura ambiente.

## ALLEGATO II

### Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-LRMS

- l'analisi è eseguita con iniettore PTV e selettore di massa a bassa risoluzione quadrupolare;
- colonna gascromatografica: (5% fenil)-metilpolisilossano (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm);
- gas di trasporto: He, 1,5 mL/min;
- programmata PTV (modalità *splitless*): temperatura iniziale 50 °C, tempo di *splitless* 1,5 min, tempo d'iniezione 0,2 min, velocità di riscaldamento 14,5 °C/s, temperatura finale 280 °C, tempo di trasferimento 1,5 min;
- programmata GC: 80 °C per 1 min, 30 °C/min fino a 230 °C, 2,5 °C/min fino 310 °C, 330 °C per 5 min;
- temperatura della *transfer line*, 290 °C;
- temperatura della sorgente ionica, 250 °C;
- altre condizioni MS, standard.

## ALLEGATO III

### Esempio di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti di interesse mediante HRGC-HRMS

- l'analisi è eseguita con iniettore *on-column* e selettore di massa magnetico con risoluzione di massa pari a circa 3000 o superiore (10% di valle);
- colonna capillare (5% fenil)-metilpolisilossano (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm);
- iniettore in modalità *oven-track* (+3 °C rispetto al forno);
- gas di trasporto He, 1,5 mL/min;
- programmata del forno GC: a 60 °C per 1 min, da 60 a 110 °C a 40 °C/min, da 110 a 230 °C a 3 °C/min, da 230 a 320 °C a 6 °C/min, a 320 °C per 4 min;
- temperatura della *transfer line*, 280 °C;
- temperatura della sorgente ionica, 260 °C;
- altre condizioni MS, standard.

**Tabella A1. Masse degli IPA e degli IPA isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti di interesse**

| IPA                             | <i>m/z</i> | IPA isotopicamente marcati                                   | <i>m/z</i> |
|---------------------------------|------------|--|------------|
| Benz[ <i>a</i> ]antracene       | 228,0939   | Benz[ <i>a</i> ]antracene-D <sub>12</sub>                    | 240,1692   |
| Benzo[ <i>b</i> ]fluorantene    | 252,0939   | Benzo[ <i>b</i> ]fluorantene-D <sub>12</sub> <sup>a</sup>    | 264,1692   |
| Benzo[ <i>k</i> ]fluorantene    | 252,0939   |  |            |
| Benzo[ <i>a</i> ]pirene         | 252,0939   | Benzo[ <i>a</i> ]pirene-D <sub>12</sub>                      | 264,1692   |
| Benzo[ <i>gh</i> ]perilene      | 276,0939   |  |            |
| Crisene                         | 228,0939   | Crisene-D <sub>12</sub>                                      | 240,1692   |
| Dibenz[ <i>a,h</i> ]antracene   | 278,1096   | Dibenz[ <i>a,h</i> ]antracene-D <sub>14</sub>                | 292,1974   |
| Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pirene | 276,0939   | Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pirene-D <sub>12</sub> <sup>b</sup> | 288,1692   |
| Pirene                          | 202,0783   | Pirene-D <sub>10</sub>                                       | 214,1410   |

<sup>a</sup> Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BkFA

<sup>b</sup> Utilizzato come SI anche per la quantificazione del BghiP