

METODO PER LA DETERMINAZIONE DI POLICLOROBIFENILI (PCB), POLICLORODIBENZODIOSSINE (PCDD) E POLICLORODIBENZOFURANI (PCDF) 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 proposto, in accordo con il Metodo 1613B della US EPA (1), è stato sviluppato per la determinazione, nei materiali d'origine elastomerica in forma di *pellet*, di policlorobifenili ad azione non diossina-simile (NDL-PCB), policlorodibenzo-*p*-diossine (PCDD), e policlorodibenzofurani (PCDF) mediante gascromatografia ad alta risoluzione abbinata con spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRGC-HRMS) per PCDD e PCDF, e gascromatografia ad alta risoluzione abbinata con spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS) per NDL-PCB. Questo metodo non riguarda la determinazione di policlorobifenili ad azione diossina-simile (DL-PCB), non richiesta esplicitamente dalla normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica, in quanto può introdurre difficoltà analitiche a fronte di un contributo trascurabile alla sommatoria di PCB richiesta dalla normativa stessa.

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 analiti 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 PCB, PCDD e PCDF 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, ecc.), il grado di purificazione ottenibile con la procedura prevista dal presente metodo può variare.
- 1.4. Prodotti consumabili o strumenti identificati commercialmente nel testo, e portati come esempi, possono essere sostituiti con prodotti o strumentazione equivalenti di differente origine.
- 1.5. La tecnica della "diluizione isotopica" utilizzata nel metodo è descritta nel dettaglio nel Metodo 1613B della US EPA (1): a esso si rinvia per adeguata informazione.

- 1.6. 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

ASE	<i>accelerated solvent extractor (o extraction)</i>
DL-PCB	congeneri dei PCB con azione tossica diossina-simile
EI	<i>electron impact</i>
FR	fattore di risposta
FRR	fattore di risposta relativo
GC	gascromatografia, e terminologia derivata
HR	<i>high resolution</i> o alta risoluzione
LR	<i>low resolution</i> o bassa risoluzione
MS	spettrometria di massa, e terminologia derivata
N	<i>noise</i> o rumore di fondo
NDL-PCB	congeneri dei PCB con azione tossica non-diossina-simile
PCB	policlorobifenili
PCDD	policlorodibenzo- <i>p</i> -diossine
PCDF	policlorodibenzofurani
PTV (iniettore)	<i>programmed temperature vaporizing (injector)</i>
S	(intensità del) segnale
SI	standard interno
SIM	<i>single (o selected) ion monitoring</i>
2,3,7,8-T ₄ CDD	il congenere più tossico e più studiato di PCDD, PCDF, e DL-PCB
TEF	<i>toxicity equivalency factor</i> o fattore di tossicità equivalente
TE	equivalenti di tossicità di 2,3,7,8-T ₄ CDD
v/v	volume/volume

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 PCB, PCDD, e PCDF sottoposta alla medesima procedura analitica dei campioni allo scopo di verificare l'eventuale contributo al fondo (*background*) procedurale.
- 3.3. Congenere: ogni singolo componente di PCB, PCDD, e PCDF.
- 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. *Medium bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili (< LOD) sono inseriti come "LOD × 0,5".

- 3.6. 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.
- 3.7. 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.
- 3.8. *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).
- 3.9. 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 stata usata una miscela di ¹³C-1,2,3,7,8,9-H₆CDF e ¹³C-1,2,3,6,7,8-H₆CDD).
- 3.10. *Upper bound*: approccio secondo il quale, nella stima dei valori cumulativi per famiglia chimica, i congeneri non rivelabili (< LOD) sono inseriti come "LOD × 1".

4. Scopo e campo di applicazione

- 4.1. Il metodo è stato sviluppato per la determinazione di NDL-PCB e PCDD+PCDF, in materiali di origine elastomerica in forma di *pellet* lenticolari, mediante gascromatografia ad alta risoluzione in *tandem* con spettrometria di massa a bassa risoluzione (HRGC-LRMS) o spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRGC-HRMS). 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 la determinazione di: a) 30 congeneri di NDL-PCB (cfr. Avvertenze) appartenenti ai gruppi omologhi tri- (T₃), tetra- (T₄), penta- (P₅), esa- (H₆), epta- (H₇), e otta- (O₈) clorosostituiti; b) 17 congeneri tossici di PCDD+PCDF appartenenti ai gruppi omologhi tetra- (T₄), penta- (P₅), esa- (H₆), epta- (H₇), e otta- (O₈) clorosostituiti. L'elenco dei singoli congeneri determinabili con il presente metodo è riportato nelle Tabelle 1 e 2.

Tabella 1. Congeneri di NDL-PCB da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

Congenero	N. CAS
2,2',5-T ₃ CB [18]	37680-65-2
2,4,4'-T ₃ CB [28]	7012-37-5
2,4',5-T ₃ CB [31]	16606-02-3
2,3',4'-T ₃ CB [33]	38444-86-9
2,2',4,5'-T ₄ CB [49]	41464-40-8
2,2',5,5'-T ₄ CB [52]	35693-99-3
2,3',4,4'-T ₄ CB [66]	32598-10-0
2,3',4',5-T ₄ CB [70]	32598-11-1
2,4,4',5-T ₄ CB [74]	32690-93-0
2,2',3,4',6-P ₅ CB [91]	68194-05-8
2,2',3,5',6-P ₅ CB [95]	38379-99-6
2,2',4,4',5-P ₅ CB [99]	38380-01-7
2,2',4,5,5'-P ₅ CB [101]	37680-73-2
2,3,3',4',6-P ₅ CB [110]	38380-03-9
2,2',3,3',4,4'-H ₆ CB [128]	38380-07-3
2,2',3,4,4',5'-H ₆ CB [138]	35065-28-2
2,2',3,4,5,5'-H ₆ CB [141]	52712-04-6
2,2',3,4',5,5'-H ₆ CB [146]	51908-16-8
2,2',3,4',5',6-H ₆ CB [149]	38380-04-0
2,2',3,5,5',6-H ₆ CB [151]	52663-63-5
2,2',4,4',5,5'-H ₆ CB [153]	35065-27-1
2,2',3,3',4,4',5-H ₇ CB [170]	35065-30-6
2,2',3,3',4,5,6'-H ₇ CB [174]	38411-25-5
2,2',3,3',4,5',6'-H ₇ CB [177]	52663-70-4
2,2',3,4,4',5,5'-H ₇ CB [180]	35065-29-3
2,2',3,4,4',5',6-H ₇ CB [183]	52663-69-1
2,2',3,4',5,5',6-H ₇ CB [187]	52663-68-0
2,2',3,3',4,4',5,5'-O ₈ CB [194]	35694-08-7
2,2',3,3',4,4',5,6'-O ₈ CB [196]	42740-50-1
2,2',3,4,4',5,5',6-O ₈ CB [203]	52663-76-0

Tabella 2. Congeneri di PCDD+PCDF da determinare negli accertamenti sui campi da gioco in erba sintetica

Congenero	N. CAS	Congenero	N. CAS
2,3,7,8-T ₄ CDD	1746-01-6	2,3,7,8-T ₄ CDF	51207-31-9
1,2,3,7,8-P ₅ CDD	40321-76-4	1,2,3,7,8-P ₅ CDF	57117-41-6
		2,3,4,7,8-P ₅ CDF	57117-31-4
1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD	39227-28-6	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF	70648-26-9
1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD	57653-85-7	1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF	57117-44-9
1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	19408-74-3	1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF	72918-21-9
		2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF	60851-34-5
1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	35822-46-9	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF	67562-39-4
		1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF	55673-89-7
1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDD	3268-87-9	1,2,3,4,6,7,8,9-O ₈ CDF	39001-02-0

4.3. I livelli di concentrazione rivelabili con il presente metodo dipendono dal grado di purificazione ottenibile. Per la maggior parte degli analiti di interesse il metodo consente di rivelare concentrazioni di singolo congenero comprese approssimativamente tra 0,3 e 1,3 ng/kg per PCDD e PCDF e intorno a 10-20 ng/kg per NDL-PCB, risultando idoneo a verificare la conformità ai valori limite indicati

nella normativa in preparazione concernente le disposizioni sui campi da gioco in erba sintetica. La determinazione dei suddetti congeneri di PCDD+PCDF e dei PCB è anche richiesta dal Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152 (2).

- 4.4. L'incertezza estesa del metodo (fattore di copertura $k = 2$), stimata nell'ambito dello sviluppo del metodo in accordo con le indicazioni fornite da Eurachem/Citac (3), è risultata $\leq 25\%$ per il singolo congenere, e $\leq 20\%$ per la sommatoria dei congeneri di cui al punto 4.2.

5. Principio del metodo

In accordo con il Metodo 1613B della US EPA (1), il rilevamento degli analiti di interesse è basato sull'impiego estensivo di standard interni (SI), o traccianti, completamente marcati con ^{13}C . Gli SI vengono aggiunti al campione prima dell'estrazione, ed eventualmente di passaggi analitici intermedi ritenuti critici. Gli analiti di interesse sono estratti con diclorometano e successivamente con *n*-esano in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è soggetto a una procedura di purificazione comprendente un trattamento con acido solforico concentrato per distruggere il carico organico chimicamente labile co-estratto con gli analiti, seguito da passaggi su colonne cromatografiche in sequenza che permettono di concentrare gli analiti in forma purificata. Dopo purificazione, il campione è quantificato contro standard esterni (SE, tanti quanti sono gli analiti da dosare) mediante HRGC-LRMS per la determinazione dei NDL-PCB e mediante HRGC-HRMS per la determinazione dei PCDD+PCDF. 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 (d.i. 2,5 cm) per Extrelut[®].
6.3.2. Sistema di purificazione automatizzato che utilizza un kit commerciale di tre colonne sequenziali impaccate, nell'ordine, con gel di silice, allumina, e carbone.
6.3.3. Palloni di vetro da 50, 100, e 250 mL.
6.3.4. *Vial* a fondo piatto da 70 mL.

6.4. Reagenti e materiale cromatografico

- 6.4.1. Acido solforico per analisi, concentrato (96%).
- 6.4.2. Azoto per gascromatografia, ultrapuro.
- 6.4.3. Elio per gascromatografia, ultrapuro.
- 6.4.4. Extrelut®.
- 6.4.5. Gel di silice per cromatografia su colonna, 70–230 *mesh*; diametro medio dei pori 60 Å (*).
- 6.4.6. *Kit* di tre colonne commerciali preimpaccate (gel di silice, allumina e carbone).
- 6.4.7. Sodio solfato anidro per analisi, purezza $\geq 99,0\%$ (*).

(*) Queste sostanze vengono scaldate a 110 °C per 12–24 h prima dell'uso.

6.5. Strumentazione per l'analisi del campione

- 6.5.1. HRGC-HRMS (Tabella 3).
- 6.5.2. HRGC-LRMS (Tabella 3).

Tabella 3. Esempi di condizioni operative per la determinazione strumentale degli analiti d'interesse

Strumentazione	Condizioni operative
HRGC-LRMS (EI, 35 eV) colonna GC gas di trasporto Iniettore programmata GC	8% fenil polisilossano-carborano (25 m × 0,22 mm × 0,1 µm) He PTV oppure <i>on-column</i> 120 °C per 1 min, 20 °C/min fino a 180 °C, 5 °C/min fino a 310 °C, 120 °C/min fino a 340 °C per 5 min
HRGC-HRMS (EI, 35 eV) colonna GC gas di trasporto Iniettore programmata GC	polisilossano modificata con silfenilene (BPX-DXN o equivalente; 60 m × 0,25 mm × 0,25 µm) He iniettore PTV oppure <i>on-column</i> 80 °C per 1 min, 40 °C/min fino a 227 °C, 2 °C/min fino a 305 °C, 30 °C/min fino a 340 °C, 340 °C per 5 min

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 LC, purezza $\geq 98,0\%$.
- 7.1.6. Etile acetato per HPLC, purezza $\geq 99,8\%$.
- 7.1.7. *iso*-Ottano per analisi strumentale (UV, IR, o HPLC), purezza $\geq 99,5\%$.
- 7.1.8. Metanolo per HPLC, purezza $\geq 99,9\%$.
- 7.1.9. *n*-Nonano per HPLC, purezza $\geq 99,7\%$.

- 7.1.10. *n*-Pentano per analisi, purezza $\geq 99,0\%$.
- 7.1.11. Toluene per HPLC, purezza $\geq 99,5\%$.
- 7.1.12. Tetracloruro di carbonio, purezza $\geq 99,5\%$.

7.2. Standard

- 7.2.1. Clordano ^{13}C -marcato impiegato come standard d'iniezione nella determinazione dei NDL-PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.2. Congeneri PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.3. Congeneri PCB, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.4. Congeneri PCDD+PCDF, purezza $\geq 99\%$.
- 7.2.5. Congeneri PCDD+PCDF ^{13}C -marcati, purezza $\geq 99\%$. Questo gruppo di composti include tutti gli SI propriamente utilizzati come tali più due congeneri impiegati come standard d'iniezione (^{13}C -1,2,3,7,8,9- H_6CDF e ^{13}C -1,2,3,6,7,8- H_6CDD).
- 7.2.6. *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, eventualmente in pressione positiva per evitare apporti di contaminazione atmosferica dall'esterno. Gli operatori, tutti esperti, dovranno attenersi rigorosamente ai protocolli di "buone pratiche" in vigore nel laboratorio.
- 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 seguito da *n*-esano, 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) e HRGC-HRMS(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 equivolumetrica 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 a rilevamento HRGC-LRMS(SIM) e HRGC-HRMS(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 dei congeneri forniti, e al loro titolo effettivo. In genere, è opportuno verificare tali parametri direttamente mediante analisi HRGC-LRMS(SIM) e HRGC-HRMS(SIM): qualora si rilevi un'incongruenza sensibile tra il dichiarato e il risultato del rilevamento, 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. Estrazione

- 10.1.1. Dopo l'aggiunta di una quantità nota di standard interni (SI) a ca. 5 g di matrice, questa viene sottoposta 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.
- 10.1.2. 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.
- 10.1.3. 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.

10.2. Purificazione

- 10.2.1. Di seguito è riportata la procedura di purificazione impiegata nello sviluppo 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.
- 10.2.2. Un'aliquota pari a circa il 10% in peso dell'estratto viene trasferita in un *vial* da 70 mL, diluita con 50 mL di *n*-esano, e fatta percolare su una colonna di vetro (d.i., 4 cm) riempita con ca. 20 g di Extrelut[®] impregnato con 20 mL di acido solforico

concentrato. Dopo eluizione con 250 mL di *n*-esano, l'eluato è concentrato a pressione ridotta fino al volume di 15 mL.

- 10.2.3. L'eluato dell'Extrelut® è sottoposto a purificazione e frazionamento. Per lo scopo si utilizza un sistema automatizzato, capace di prestazioni elevate, e munito di un *kit* commerciale di tre colonne in serie impaccate, nell'ordine, con gel di silice, allumina, e carbone. Il campione è eluito sequenzialmente con *n*-esano (Frazione 0), con una miscela 50:1 (v/v) di *n*-esano-diclorometano (Frazione I, contenente i NDL-PCB), con una miscela 1:1 (v/v) di *n*-esano-diclorometano (per consentire il trasferimento di PCDD e PCDF alla colonna di carbone), e in ultimo con toluene a flusso invertito (Frazione II, contenente PCDD e PCDF).
- 10.2.4. Le frazioni d'interesse sono concentrate a pressione ridotta e poi trasferite in *vial* a fondo conico. Aggiunto 1 µL di *n*-tetradecano (*solution keeper*), le frazioni sono ulteriormente concentrate sotto leggera corrente di azoto fin quasi a secchezza e poi riprese con 50–100 µL di *iso*-ottano contenente gli standard d'iniezione (es. ¹³C-clordano per la Frazione I, e ¹³C-1,2,3,6,7,8-H₆CDD e ¹³C-1,2,3,7,8,9-H₆CDF per la Frazione II).

10.3. Determinazione strumentale

- 10.3.1. I NDL-PCB sono determinati tramite HRGC-LRMS (EI, 35 eV) in modalità SIM utilizzando le condizioni operative riportate in Tabella 3.
- 10.3.2. I 17 congeneri di PCDD+PCDF sono determinati mediante HRGC-HRMS (EI, 35 eV), operante alla risoluzione di 10000 in modalità SIM (le condizioni operative sono riportate in Tabella 3).
- 10.3.3. La quantificazione congenere-specifica è eseguita impiegando una miscela dei congeneri naturali d'interesse (standard di calibrazione) e di quelli isotopicamente marcati a concentrazione nota.

10.4. Calcoli ed espressione dei risultati

- 10.4.1. La quantificazione dei congeneri di interesse è eseguita applicando l'Equazione [1], dopo aver determinato nello standard di calibrazione i fattori di risposta (FR) e i fattori di risposta relativi (FRR). Questi sono stimati dalle aree dei segnali più intensi presenti nei multipletti corrispondenti agli ioni molecolari dei vari omologhi (Tabelle 4 e 5).

Tabella 4. Masse in bassa risoluzione dei congeneri di PCB e di PCB isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti d'interesse

Congenere	M	M+2	M+4	Congenere ¹³ C-sostituito	M	M+2	M+4
T ₃ CB	256	258		¹³ C-T ₃ CB	268	270	
T ₄ CB	290	292		¹³ C-T ₄ CB	302	304	
P ₅ CB	324	326		¹³ C-P ₅ CB		336	338
H ₆ CB		360	362	¹³ C-H ₆ CB		372	374
H ₇ CB		394	396	¹³ C-H ₇ CB		406	408
O ₈ CB		428	430	¹³ C-O ₈ CB		440	442

Tabella 5. Masse esatte in alta risoluzione dei congeneri di PCDD+PCDF e di PCDD+PCDF isotopicamente marcati utilizzate per la quantificazione degli analiti d'interesse

Congenero	M	M+2	M+4	Congenero ¹³ C-sostituito	M	M+2	M+4
T ₄ CDD	319,8965	321,8936		¹³ C-T ₄ CDD	331,9368	333,9339	
P ₅ CDD		355,8546	357,8516	¹³ C-P ₅ CDD		367,8949	369,8919
H ₆ CDD		389,8157	391,8127	¹³ C-H ₆ CDD		401,8559	403,8529
H ₇ CDD		423,7766	425,7737	¹³ C-H ₇ CDD		435,8169	437,8140
O ₈ CDD		457,7377	459,7348	¹³ C-O ₈ CDD		469,7779	471,7750
T ₄ CDF	303,9016	305,8987		¹³ C-T ₄ CDF	315,9419	317,9389	
P ₅ CDF		339,8597	341,8567	¹³ C-P ₅ CDF		351,9000	353,8970
H ₆ CDF		373,8208	375,8178	¹³ C-H ₆ CDF	383,8639	385,8610	
H ₇ CDF		407,7818	409,7789	¹³ C-H ₇ CDF	417,8253	419,8220	
O ₈ CDF		441,7428	447,7399				

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

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 ¹³C-marcato;

A_{SI} è l'area corrispondente al segnale dello SI ¹³C-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 dallo 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 ¹³C-marcato nello standard di calibrazione;

A_i è l'area del segnale analitico dell'analita o dello SI ¹³C-marcato nello standard di calibrazione;

Q_i è la quantità assoluta dell'analita o dello SI ¹³C-marcato nello standard di calibrazione.

10.4.2. Il calcolo del recupero (%) dei congeneri marcati è effettuata mediante l'Equazione [4]:

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

dove:

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

X_{SI} è la quantità assoluta di standard interno 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 standard interno nel campione;

FRR_{SI} è il fattore di risposta relativo dello standard interno rispetto allo standard di iniezione determinato 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.

- 10.4.3. 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.
- 10.4.4. In accordo con GEMS/Food (4) e con il protocollo raccomandato nel Rapporto ISTISAN 04/15 (5), la sommatoria degli analiti viene data come stima cumulativa *medium bound*, dunque 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 di seguito devono essere verificati dal laboratorio che usa il presente metodo. Valori diversi da quelli qui 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. Ripetibilità (scarto tipo relativo accettabile sui singoli congeneri o sui valori cumulativi, analitici o in unità TE: $\leq 20\%$).
- 11.2. Precisione intermedia con tempi diversi (scarto tipo relativo accettabile sui singoli congeneri o sui valori cumulativi, analitici o in unità TE: $\leq 30\%$).
- 11.3. Efficienza di recupero di standard interni marcati (efficienza di recupero accettabili sui singoli congeneri nell'intervallo: 40–120%).
- 11.4. Ripetibilità dei tempi di ritenzione relativi (scarti accettabili: $\leq 0,2\%$).
- 11.5. Ripetibilità dei fattori di risposta relativi (RRF) (scarti accettabili: $\leq 15\%$).
- 11.6. Correttezza del rapporto delle masse isotopiche critiche (le masse ioniche, es. M e M+2, campionate con tecnica SIM per identificazione/quantificazione dovrebbero fornire il rapporto teorico dato dallo standard o un rapporto simile; scarti accettabili dal rapporto teorico: $\leq 20\%$).
- 11.7. Quantificazioni parallele basate su due masse isotopiche, es. M e M+2 (scarti accettabili: $\leq 20\%$).

Bibliografia

1. US EPA. Method 1613B. *Tetra- through octachlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC-HRMS*. Washington: Environmental Protection Agency; 1994.
2. Italia. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 88, 14 aprile 2006.
3. 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, Segal M, Plassa M (2003). *Quantificazione dell'incertezza nelle misure analitiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/30).
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).