

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Metodi analitici di riferimento
per le acque destinate al consumo umano
ai sensi del DL.vo 31/2001.
Metodi chimici**

A cura di
Massimo Ottaviani e Lucia Bonadonna

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN
07/31**

Istituto Superiore di Sanità

Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi chimici.

A cura di Massimo Ottaviani e Lucia Bonadonna

2007, vii, 328 p. Rapporti ISTISAN 07/31

Il volume raccoglie i metodi analitici di riferimento per la determinazione dei parametri chimici nelle acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001 (recepimento della Direttiva Europea 98/83/CE) e successive modifiche e integrazioni e secondo quanto previsto al punto 5.4 della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025. Il rapporto è affiancato da un'analoga pubblicazione relativa ai metodi microbiologici prodotta all'interno della stessa serie (Rapporti ISTISAN 07/5). I metodi sono stati elaborati dalla Sottocommissione del Comitato permanente di Studio sulle Acque del Ministero della Salute (ex art. 9 DM 26 marzo 1991) ed emanati dal Reparto Igiene delle Acque Interne del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'Istituto Superiore di Sanità.

Parole chiave: Acque destinate al consumo umano, Metodi chimici

Istituto Superiore di Sanità

Reference analytical methods for water intended for human consumption according to the Italian Legislative Decree 31/2001. Chemical methods.

Edited by Massimo Ottaviani and Lucia Bonadonna (in Italian)

2007, vii, 328 p. Rapporti ISTISAN 07/31

The volume gathers reference analytical methods for the determination of chemical parameters in water intended for human consumption according to the Legislative Decree 31/2001 (transposition of European Directive 98/83/EC) and its integrations and in accordance with the point 5.4 of the standard UNI CEI EN ISO/IEC 17025. The report is associated with the volume concerning the microbiological methods, printed in the same series (Rapporti ISTISAN 07/5). The methods were developed by the Sub commission of the Permanent Study Committee, established at the Ministry of Health (ex article 9 of the Italian Ministerial Decree of March 26, 1991), and are issued by the Inland Water Hygiene Unit of the Department of Environment and Primary Prevention of the Istituto Superiore di Sanità (the National Institute of Health in Italy).

Key words: Chemical analytical methods, Water intended for human consumption

Per informazioni su questo documento rivolgersi a: massimo.ottaviani@iss.it.

Citare questo documento come segue:

Ottaviani M, Bonadonna L. (Ed.). *Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi chimici.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007. (Rapporti ISTISAN 07/31).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2007

COMITATO PERMANENTE DI STUDIO (ex art. 9, DM 26 marzo 1991)

II SOTTOCOMMISSIONE DI STUDIO “METODI ANALITICI”

Coordinatore generale: M. Ottaviani, Istituto Superiore di Sanità

Sottogruppo di lavoro “Campionamento e gestione dei campioni”

Coordinatore: Achene L. ISS (Roma)
Aimo E. *ARPAV (Venezia)*
Fabris M. *VESTA SpA (Venezia)*
Frugis A. *LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)*
Lucentini L. *ISS (Roma)*
Mantelli F. *ARPAT (Firenze)*
Messori R. *ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)*
Palumbo F. *Iride Acqua Gas SpA. (Genova)*

Sottogruppo di lavoro “Ammonio, carbonio organico totale, colore, conduttività elettrica, odore, ossidabilità, pH, sapore”

Coordinatore: Mantelli F. ARPAT (Firenze)
De Angelis S. *ISS (Roma)*
Messori R. *ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)*
Lo Galbo F. *ARPAT (Firenze)*

Sottogruppo di lavoro “Antiparassitari”

Coordinatore: Franchi A. ARPAT (Firenze)
Lorenzin M. *APPA (Trento)*
Morelli M. *ARPA Emilia Romagna (Rimini)*
Sesia E. *ARPA Piemonte (Asti)*

Sottogruppo di lavoro “Benzene e solventi organici aromatici”

Coordinatore: Fuselli S. ISS (Roma)
Capri S. *CNR-IRSA (Roma)*
Davi M.L. *ARPA Emilia Romagna (Ferrara)*
De Felice M. *ISS (Roma)*
Frugis A. *LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)*
Mantelli F. *ARPAT (Firenze)*
Mascolo G. *CNR-IRSA (Bari)*
Messori R. *ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)*
Morlino R. *ISS (Roma)*
Radeschi M. *ARPA Piemonte (Grugliasco, Torino)*
Signorini R. *ARPAT (Firenze)*
Soriero A. *ISS (Roma)*

Sottogruppo di lavoro “Cromatografia ionica”

Coordinatore: Mantelli F. ARPAT (Firenze)
Fabris M. *VESTA SpA (Venezia)*
Masini M. *ARPAT (Firenze)*
Messori R. *ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)*
Segatori M. *LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)*
Veschetti E. *ISS (Roma)*

Sottogruppo di lavoro “Cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa”

Coordinatore: Lucentini L. ISS (Roma)
Achene L. *ISS (Roma)*
Ferretti E. *ISS (Roma)*
Frugis A. *LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)*
Lavorini P. *ISS (Roma)*

Sottogruppo di lavoro “Cianuri”

Coordinatore: Sarritzu G. ASL (Cagliari)
De Angelis S. *ISS (Roma)*
De Fulvio S. *esperto Ministero della Salute (Roma)*
Rendini A. *ISS (Roma)*

Sottogruppo di lavoro: “Elementi” (alluminio, argento, arsenico, bario, boro, cadmio, cobalto, cromo, ferro, manganese, mercurio, nichel, piombo, rame, selenio, vanadio, zinco)

Coordinatore: Veschetti E.	ISS (Roma)
Capri S.	CNR- IRSA (Roma)
Chirico M.	ISS (Roma)
Di Marino R.	AQP (Bari)
Fabris M.	VESTA SpA (Venezia)
Ferretti E.	ISS (Roma)
Lucentini L.	ISS (Roma)
Mancini G.	ARPA Lazio (Roma)
Mantelli F.	ARPAT (Firenze)
Messori R.	ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)
Segatori M.	LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)
Stefanetti M.V.	ARPA Piemonte (Grignasco, Novara)

Sottogruppo di lavoro “Epicloridrina, cloruro di vinile monomero, acrilammide”

Coordinatore: Milana M.R.	ISS (Roma)
Citti G.	ISS (Roma)
Donati G.	ISS (Roma)
Lucia C.	ISS (Roma)

Sottogruppo di lavoro “Organoalogenati volatili”

Coordinatore: Veschetti E.	ISS (Roma)
Ferretti E.	ISS (Roma)
Frugis A.	LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)
Lucia C.	ISS (Roma)
Mancini G.	ARPA Lazio (Roma)

Sottogruppo di lavoro “Benzo(a)pirene e idrocarburi policiclici aromatici”

Coordinatore: Menichini E.	ISS (Roma)
Celani S.	ARPAM (Ascoli Piceno)
Corradetti E.	ARPAM (Ascoli Piceno)
Cossa G.	ARPA Piemonte (Torino)
Croce G.	ARPAT (Firenze)
Di Rosa S.	ARPAC (Napoli)
Fiorito M.	ARPA Piemonte (Grugliasco, Torino)
Frugis A.	LaboratoRI SpA (Gruppo ACEA)
Pozzi N.	ARPA Piemonte (Novara)

Sottogruppo di lavoro “Validazione”

Coordinatori: Citti G., Menichini E.	ISS (Roma)
Capri S.	CNR- IRSA (Roma)
Franchi A.	ARPAT (Firenze)
Lucentini L.	ISS (Roma)
Milana M.R.	ISS (Roma)
Stefanetti M.V.	ARPA Piemonte (Grignasco, Novara)
Veschetti E.	ISS (Roma)

Sottogruppo di lavoro “Editing”

Achene L.	ISS (Roma)
Chirico M.	ISS (Roma)
Conio O.	Iride Acqua Gas SpA (Genova)
Fabris M.	VESTA SpA (Venezia)
Lucentini L.	ISS (Roma)
Mantelli F.	ARPAT (Firenze)
Messori R.	ARPA Emilia Romagna (Reggio Emilia)
Sarti N.	Ministero della Salute (Roma)*
Veschetti E.	ISS (Roma)

* fino al 31/12/2003, in seguito collabora in qualità di esperto.

INDICE

Acronimi	vii
Criteri di applicazione delle procedure e dei metodi di riferimento per il controllo delle acque destinate al consumo umano	1
Prelievo e conservazione dei campioni	
<i>ISS.PGA.901.rev00</i>	6
Controllo di qualità	
<i>ISS.PGA.903.rev00</i>	16
Boro: metodo spettrofotometrico alla curcumina	
<i>ISS.BHA.005.rev00</i>	23
Boro: metodo spettrofotometrico all'azometina H	
<i>ISS.BHB.005.rev00</i>	27
Cianuri totali: metodo spettrofotometrico con pirazolone-piridina	
<i>ISS.BHC.010.rev00</i>	31
Ammonio: metodo spettrofotometrico al salicilato-ipoclorito (indofenolo)	
<i>ISS.BHE.019.rev00</i>	36
Cloruro: titolazione argentometrica secondo Mohr	
<i>ISS.BEA.020.rev00</i>	41
Cloro libero e cloro totale: metodo colorimetrico alla N,N-dietil-p-fenilendiammina	
<i>ISS.BHD.033.rev00</i>	45
Calcio: metodo titrimetrico all'EDTA	
<i>ISS.BEC.041.rev00</i>	51
Conduttività elettrica	
<i>ISS.BDA.022.rev00</i>	55
Durezza totale: metodo titrimetrico all'EDTA	
<i>ISS.BEC.031.rev00</i>	60
Residuo fisso a 180 °C: metodo gravimetrico	
<i>ISS.BFA.032.rev00</i>	65
pH: metodo potenziometrico	
<i>ISS.BCA.023.rev00</i>	68
Solidi indisciolti: metodo gravimetrico	
<i>ISS.BFA.042.rev00</i>	73
Temperatura	
<i>ISS.BBA.043.rev00</i>	76
Odore	
<i>ISS.BAA.026.rev00</i>	80
Sapore	
<i>ISS.BKA.028.rev00</i>	85
Colore	
<i>ISS.BJA.021.rev00</i>	90
Torbidità: metodo nefelometrico alla formazina	
<i>ISS.BLA.030.rev00</i>	93
Ossidabilità al permanganato: metodo titrimetrico (secondo Kúbel)	
<i>ISS.BEB.027.rev00</i>	97

Microcistine: metodo immunoenzimatico	
<i>ISS.BGA.044.rev00</i>	101
Carbonio organico totale	
<i>ISS.BIA.029.rev00</i>	107
Calcolo della quantità potenzialmente massima di cloruro di vinile in acqua derivante da materiali polimerici	
<i>ISS.XAA.040.rev00</i>	112
Calcolo della quantità potenzialmente massima di acrilammide in acqua derivante da flocculanti poliacrilamidici	
<i>ISS.XAA.001.rev00</i>	113
Calcolo della quantità potenzialmente massima di epicloridrina in acqua derivante da flocculanti poliamminici e da resine epossidiche	
<i>ISS.XAA.011.rev00</i>	114
Bromuro, clorito, cloruro, fluoruro, fosfato, ioduro, nitrato, nitrito, solfato: metodo per cromatografia ionica	
<i>ISS.CBB.037.rev00</i>	115
Calcio, litio, magnesio, potassio, sodio: metodo per cromatografia ionica	
<i>ISS.CBB.038.rev00</i>	121
Bromato: metodo per cromatografia ionica	
<i>ISS.CBB.006.rev.00</i>	126
Benzo(a)pirene e idrocarburi policiclici aromatici: metodo per gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa e per gascromatografia con rivelazione a ionizzazione di fiamma	
<i>ISS.CAB.039.rev00</i>	135
Residui di prodotti fitosanitari (antiparassitari): estrazione in fase solida (SPE) e analisi gascromatografica con rivelatori selettivi	
<i>ISS.CAC.015.rev00</i>	154
Composti organoalogenati volatili: metodo gascromatografico applicato all'estratto pentanico, allo spazio di testa statico o allo spazio di testa dinamico	
<i>ISS.CAA.036.rev00</i>	164
Benzene: metodo gascromatografico applicato allo spazio di testa statico	
<i>ISS.CAA.004.rev00</i>	179
Benzene: metodo gascromatografico applicato allo spazio di testa dinamico	
<i>ISS.CAD.004.rev00</i>	187
Acrilammide: metodo per cromatografia liquida - spettrometria di massa (LC-MS)	
<i>ISS.CBA.001.rev00</i>	195
Microcistine: metodo per cromatografia liquida - spettrometria di massa (LC-MS)	
<i>ISS.CBA.044.rev00</i>	203
Arsenico: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.003.rev00</i>	213
Alluminio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.018.rev00</i>	219
Antimonio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.002.rev00</i>	225

Argento: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.045.rev00</i>	231
Bario: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.046.rev00</i>	237
Cadmio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.007.rev00</i>	243
Cobalto: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.048.rev00</i>	249
Cromo: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.008.rev00</i>	255
Ferro: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.024.rev00</i>	261
Manganese: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.025.rev00</i>	267
Mercurio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico dei vapori freddi	
<i>ISS.DAB.013.rev00</i>	273
Nichel: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.014.rev00</i>	279
Piombo: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.012.rev00</i>	285
Rame: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.009.rev00</i>	291
Selenio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.016.rev00</i>	297
Vanadio: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.017.rev00</i>	303
Zinco: metodo per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica	
<i>ISS.DAA.049.rev00</i>	309
Arsenico, antimonio e selenio: metodo per spettrometria di emissione in sorgente a plasma induttivo mediante sviluppo di idruri	
<i>ISS.DBB.034.rev00</i>	315
Alluminio, boro, cadmio, cromo, ferro, manganese, nichel, piombo, rame, sodio, vanadio: metodo spettroscopico di emissione con sorgente a plasma induttivo	
<i>ISS.DBA.035.rev00</i>	322

ACRONIMI

AA	assorbimento atomico	IARC	<i>International agency for research on cancer</i>
ADDA	acido 3-amino-9-metossi-2,6,8-trimetil-0-fenildeca-4,6-dienico	IC	cromatografia ionica
API	<i>atmospheric pressure ionisation</i>	ICP	induzione con sorgente al plasma
BaA	benz(a)antracene	i.d.	vedi d.i.
BaP	benzo(a)pirene	IP	indeno(1,2,3-cd)pirene
BaP-d ₁₂	benzo(a)pirene deuterato	IPA	idrocarburi policiclici aromatici
BbFA	benzo(b)fluorantene	JTU	unità di torbidità jackson
BFA	benzofluoranteni (isomeri "b", "k", "j")	LC	vedi hplc
BghiP	benzo(ghi)perilene	LLE	estrazione liquido/liquido
BjFA	benzo(j)fluorantene	MCs	microcistine
BkFA	benzo(k)fluorantene	MIM	<i>multiple ion monitoring</i>
CAS	<i>chemical abstract service</i>	MS	spettrometria di massa
CID	<i>collision induced dissociation</i>	NCI	ionizzazione chimica negativa
CuSum	<i>cumulative sum</i>	NDIR	rivelatore infrarosso non dispersivo
CV	coefficiente di variazione	NPD	rivelatore azoto-fosforo
DBahA	dibenz(a,h)antracene	NPOC	<i>not purgeable organic carbon</i>
DCM	diclorometano	NTU	<i>nephelometric turbidity units</i>
d.i.	diametro interno	OMS	Organizzazione mondiale della sanità
DOC	carbonio organico disciolto	OES	<i>optical emission spectroscopy</i>
DP	<i>declustering potential</i>	PID	<i>photo-ionization detector</i>
DPD	n,n-dietil-p-fenilendiammina	POC	carbonio organico particolato
DPI	dispositivi individuali di protezione	PTFE	politetrafluoroetilene
DS	deviazione standard	RF	fattore di risposta
ECD	rivelatore a cattura di elettroni	S.I.	<i>international system of units</i>
ECH	epicloridrina	SdT	spazio di testa
EDTA	acido etilendiamminotetracetico	SIM	<i>single ion monitoring</i>
EI	impatto elettronico	SPE	estrazione in fase solida
EICD	rivelatore a cella elettrolitica	TC	carbonio totale
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>	TDI	<i>tolerable daily intake</i>
EOS	vedi oes	TIC	carbonio inorganico totale
EP	<i>entrance potential</i>	TIS	<i>turbo ion spray</i>
ETA	atomizzazione elettrotermica	TLC	cromatografia su strato sottile
FEP	<i>fluorinated ethylene propylene</i>	TOC	carbonio organico totale
FID	rivelatore a ionizzazione di fiamma	TPX	polimetilpentene
FP	<i>focusing potential</i>	t _R	tempo di ritenzione
FTU	unità di torbidità della formazina	VC	cloruro di vinile
GAC	carbone attivo granulare	VOCs	composti organici volatili
GC	gascromatografia		
GPS	<i>global position system</i>		
HPLC	cromatografia liquida ad alte prestazioni		

CRITERI DI APPLICAZIONE DELLE PROCEDURE E DEI METODI DI RIFERIMENTO PER IL CONTROLLO DELLE ACQUE DESTINATE AL CONSUMO UMANO

La necessità di adeguare al progresso scientifico e tecnologico gli strumenti di controllo del rischio sanitario associato alla qualità delle acque destinate al consumo umano, ha indotto – a livello europeo – una ridefinizione delle norme qualitative che presiedono alla salubrità delle acque e, nel contempo, un aggiornamento delle strategie e dei metodi di sorveglianza.

Sul piano normativo è stata adottata la Direttiva 98/83/CE, recepita in Italia con il DL.vo 2 febbraio 2001 n. 31 e successive modifiche e integrazioni (DL.vo 2 febbraio 2002 n. 27), che stabilisce le caratteristiche di qualità essenziali per tutte le acque, trattate o non trattate, destinate a uso potabile o per la preparazione di cibi in ambito domestico e tutte le acque utilizzate in imprese alimentari per la fabbricazione, il trattamento, la conservazione o l'immissione sul mercato di prodotti o sostanze destinate al consumo umano.

Il decreto ha introdotto alcuni aspetti di sostanziale innovazione nel quadro della protezione della salute umana dagli effetti negativi derivanti dalla contaminazione delle acque fissando, come criterio base per il controllo, l'osservanza di una serie di parametri di rilevanza sanitaria (allegato I parte A e B) e di altri parametri "indicatori" di variazioni anomale della qualità dell'acqua (allegato I parte C).

Tra gli elementi salienti dell'attuale quadro normativo figurano, in primo luogo, l'adozione di un sistema di prevenzione dei rischi basato su procedure standardizzate, l'esecuzione dei controlli analitici anche al punto d'uso (rubinetto di utenza), l'introduzione del giudizio di deroga per i parametri chimici, il riconoscimento del diritto del consumatore ad essere informato in modo adeguato e tempestivo sulla qualità dell'acqua. Nello stesso quadro, al fine di garantire l'idoneità dei dati analitici alle finalità del monitoraggio e alla stima dell'esposizione, e per assicurare l'affidabilità e la comparabilità dei risultati nell'ambito dei controlli interni ed esterni, sono previsti l'utilizzo di metodi analitici di riferimento e l'adozione di procedure di controllo analitico della qualità.

In tale contesto, e in linea di continuità con i lavori intrapresi nell'ambito dell'ex Comitato Permanente di Studio sulle acque presso il Ministero della Salute (ex art 9, DM 26 marzo 1991) e della 2a Sottocommissione di Studio "Metodi analitici", questo Istituto ha predisposto, ai sensi dell'art. 11, comma 1, lettera d) del DL.vo 31 del 2001, i metodi di analisi di riferimento da impiegare per i controlli sulla qualità delle acque destinate al consumo umano ai sensi della vigente normativa.

Nell'ambito di tale mandato sono stati realizzati due volumi che raccolgono le procedure e i metodi microbiologici e chimici di riferimento per l'attuazione delle attività analitiche di controllo della qualità delle acque destinate al consumo umano.

I metodi analitici chimici e le procedure contenute nel volume, riportati in uno schema sinottico nelle tabelle 1 - 4, si riferiscono a tutti i controlli previsti in allegato I parte B e C del decreto, e sono inoltre utilizzabili per il monitoraggio di alcuni parametri addizionali ad oggi non regolamentati che possono rivestire un carattere di particolare interesse sanitario ed emergenza, come nel caso delle microcistine, epatotossine prodotte da numerose specie di cianobatteri in acque superficiali dolci potenzialmente destinate a consumo umano. Per alcuni parametri il campo di applicazione del metodo è esteso alle acque da destinare al consumo umano, acque di piscina, acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi e acque di sorgente.

In considerazione dell'evoluzione tecnologica nel campo della chimica analitica, accanto a metodi basati su tecniche analitiche convenzionali, il volume include metodi che prevedono l'impiego di tecniche strumentali avanzate quali la cromatografia liquida con rivelazione in spettrometria di massa. Ad integrazione dei metodi di controllo per il monitoraggio della qualità delle acque sono riportati i criteri e le procedure di campionamento e alcune procedure per l'assicurazione della qualità del dato.

In analogia con l'approccio adottato in precedenza per le edizioni dei metodi prodotti nel 1997 e nel 2000 (Rapporti ISTISAN 97/8 e 00/14), i lavori della Sottocommissione hanno coinvolto esperti del Ministero della Salute e dell'Istituto Superiore di Sanità ed esperti e tecnici appartenenti a numerose istituzioni, quali Consiglio Nazionale delle Ricerche, Aziende Sanitarie Locali, ARPA e aziende acquedottistiche. Si

è voluto in tal modo garantire la diffusione e la condivisione di metodi ampiamente testati, largamente adottati per i controlli di routine e in molti casi utilizzati da laboratori accreditati in conformità alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005.

Le caratteristiche di prestazione dei metodi riportate nel presente volume rispondono almeno ai requisiti previsti per i diversi parametri, nell'allegato III parte 2 del DL.vo 31/2001.

I metodi analitici di riferimento, alcuni dei quali sono stati in precedenza pubblicati sul sito web dell'Istituto Superiore di Sanità - come è comune prassi a livello internazionale - sono emanati dal Reparto di Igiene delle Acque Interne del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria. La corrente edizione dei metodi amplia, con l'introduzione di nuovi metodi, o sostituisce, nei casi indicati nelle Tabelle 1, 2 e 3, le metodiche pubblicate nei Rapporti ISTISAN 97/8 e 00/14. La presente edizione costituisce, pertanto, a tutti gli effetti, l'ultima versione valida per i controlli interni ed esterni disposti dal DL.vo 31/2001 (art. 11, comma d) e successive modifiche e integrazioni, e secondo quanto previsto al punto 5.4.2 della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005.

L'adozione da parte dei laboratori di tecniche analitiche o metodi diversi dai metodi di riferimento è comunque possibile rispettando quanto previsto in allegato III, punto 2.1 del DL.vo 31/2001. La verifica dei metodi alternativi, effettuata da questo Istituto, è basata, in particolare, sul rispetto delle caratteristiche di prestazione specificate nello stesso allegato, punto 2.1.

Per quanto riguarda infine l'adozione da parte dei laboratori dei metodi presentati, si ritiene utile richiamare la norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025 che, al punto 5.4.1, indica che "non è necessario completare o riscrivere, sottoforma di procedure interne, le norme internazionali, regionali o nazionali o altre specifiche riconosciute che contengono sufficienti e concise informazioni su come eseguire le prove e/o le tarature, se queste norme sono scritte in modo tale da essere utilizzate, così come pubblicate, dal personale operativo nel laboratorio. Tuttavia, può essere necessario fornire una documentazione aggiuntiva per parti facoltative del metodo o dettagli supplementari". Quest'ultima documentazione può essere di particolare utilità nel caso di integrazioni o lievi variazioni rispetto al metodo di riferimento, che generalmente si indirizzano ad un maggior grado di automazione mediante tecnologie consolidate applicate ad operazioni di routine (ad es. utilizzo di autocampionatori o di sistemi da vuoto automatizzati). Tali modifiche, che possono essere effettuate laddove siano verificati la conformità od il miglioramento delle caratteristiche di prestazione del metodo integrato dal laboratorio rispetto a quello di riferimento, saranno quindi riportate su documenti integrativi al metodo di riferimento.

I lavori della Sottocommissione, che ha assunto carattere permanente, proseguono al fine di correggere eventuali imprecisioni presenti nei metodi ad oggi diffusi, adeguare le metodiche ai progressi della tecniche analitiche e armonizzare le procedure sulla base di eventuali indicazioni emerse in sede normativa nazionale ed europea. In tale processo è considerato fondamentale il contributo degli utilizzatori che potranno inviare eventuali osservazioni all'indirizzo e-mail del reparto di Igiene delle Acque Interne: repacqua@iss.it.

Le revisioni dei metodi pubblicati nel rapporto, così come l'emissione di nuove procedure e metodi, saranno preliminarmente presentati nello spazio web dell'Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Ambiente e Prevenzione Primaria nella sezione documenti dell'area "Acque potabili e interne" (<http://www.iss.it/aqua>) e periodicamente emessi anche in forma cartacea.

L'elaborazione e l'aggiornamento dei "Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano" richiede un notevole impegno intellettuale e di tempo. Un ringraziamento sentito va pertanto a tutti gli esperti della Sottocommissione e alle loro strutture di appartenenza per la particolare disponibilità e l'elevata competenza dimostrata nel corso dei lavori, così come agli altri numerosi colleghi che, mediante un assiduo confronto, hanno contribuito al miglioramento dell'elaborato.

Dott. Massimo Ottaviani

*Coordinatore della II Sottocommissione di
studio "Metodi analitici" del
Comitato permanente di studio*

Tabella 1. Metodi per il controllo analitico delle acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001 per i parametri di cui all'allegato I parte B

Parametro	Metodo	Codice	Riferimento precedenti edizioni ¹	Motivo della revisione ²
Acrilammide	Calcolo	ISS XAA 001	rev.00	-
	LC/MS	ISS CBA 001	rev.00	-
Antimonio	AA-fornetto	ISS DAA 002	rev.00	-
	ICP-idruri	ISS DBB 034	rev.00	-
Arsenico	AA-fornetto	ISS DAA 003	rev.00	sostituisce RISS/00 p.63
	ICP-idruri	ISS DBB 034	rev.00	-
Benzene	GC (SdT stat.)	ISS CAA 004	rev.00	-
	GC (SdT dinam.)	ISS CAD 004	rev.00	-
Benzo(a)pirene	GC/MS e GC/FID	ISS CAB 039	rev.00	sostituisce RISS/00 p.201
Boro	Spettrofotom. (Curcumina)	ISS BHA 005	rev.00	sostituisce RISS/00 p.87
	Spettrofotom. (Azometina-H)	ISS BHB 005	rev.00	sostituisce RISS/00 p.93
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Bromato	IC	ISS CBB 006	rev.00	-
Cadmio	AA-fornetto	ISS DAA 007	rev.00	sostituisce RISS/97 p.103 RISS/00 p.99
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Cromo	AA-fornetto	ISS DAA 008	rev.00	sostituisce RISS/97 p.116 RISS/00 p.115
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Rame	AA-fornetto	ISS DAA 009	rev.00	sostituisce RISS/00 p.163
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Cianuro	Spettrofotom.	ISS BHC 010	rev.00	-
1,2 dicloroetano	GC (SdT)	ISS CAA 036	rev.00	sostituisce RISS/00 p.15
Epicloridina	Calcolo	ISS XAA 011	rev.00	-
Fluoruro	IC	ISS CBB 037	rev.00	sostituisce RISS/00 p.35
Piombo	AA-fornetto	ISS DAA 012	rev.00	sostituisce RISS/97 p.129 RISS/00 p.155
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Mercurio	AA vapori freddi	ISS DAB 013	rev.00	sostituisce RISS/00 p.139
Nichel	AA-fornetto	ISS DAA 014	rev.00	sostituisce RISS/00 p.147
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-
Nitrato (come NO ₃)	IC	ISS CBB 037	rev.00	sostituisce RISS/00 p.35
Nitrito (come NO ₂)	IC	ISS CBB 037	rev.00	sostituisce RISS/00 p.35
Antiparassitari	SPE-GC/MS.	ISS CAC 015	rev.00	sostituisce RISS/00 p.3
Idrocarburi policiclici aromatici	GC/MS e GC/FID	ISS CAB 039	rev.00	sostituisce RISS/00 p.201
Selenio	AA-fornetto	ISS DAA 016	rev.00	sostituisce RISS/00 p.171
	ICP-idruri	ISS DBB 034	rev.00	-
Tetracloroetilene	GC (SdT)	ISS CAA 036	rev.00	sostituisce RISS/00 p.15
Tricloroetilene	GC (SdT)	ISS CAA 036	rev.00	sostituisce RISS/00 p.15
Trialometani-Totale	GC (SdT)	ISS CAA 036	rev.00	sostituisce RISS/00 p.15
Cloruro di vinile	Calcolo	ISS XAA 040	rev.00	-
Clorito	IC	ISS CBB 037	rev.00	-
Vanadio	AA-fornetto	ISS DAA 017	rev.00	sostituisce RISS/00 p.179
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-

Note: ¹ RISS/00: Rapporto Istisan 00/14 Pt.1. Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano. Volume 2. Parte 1. Metodi chimici. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna; RISS/97: Rapporto Istisan 97/8. Metodi di analisi per le acque destinate al consumo umano. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna. ² a: modifiche editoriali; b: estensione del campo di applicazione; c: caratteristiche di prestazione; d: modifiche della procedura.

Tabella 2. Metodi per il controllo analitico delle acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001 per i parametri di cui all'allegato I parte C

Parametro	Metodo	Codice	Riferimento precedenti edizioni ¹	Motivo della revisione ²	
Alluminio	AA-fornetto	ISS DAA 018	rev.00	sostituisce RISS/00 p.47	a, b, c
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-	-
Ammonio	Spettrofot. (indofenolo)	ISS BHE 019	rev.00	-	-
Cloruro	Titolaz. argentometrica	ISS BEA 020	rev.00	sostituisce RISS/97 p.40	a, b, c
	IC	ISS CBB 037	rev.00	sostituisce RISS/00 p.35	a, b, c
Colore	Sensoriale	ISS BJA 021	rev.00	sostituisce RISS/97 p.7	a, b, c
Conduttività elettrica	Conduttometrico	ISS BDA 022	rev.00	sostituisce RISS/97 p.35	a, b, c
pH	Potenziometrico	ISS BCA 023	rev.00	sostituisce RISS/97 p.30	a, b, c
Ferro	AA-fornetto	ISS DAA 024	rev.00	sostituisce RISS/97 p.90 RISS/00 p.123	a, b, c
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-	-
Manganese	AA-fornetto	ISS DAA 025	rev.00	sostituisce RISS/00 p.131	a, b, c
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-	-
Odore	Sensoriale	ISS BAA 026	rev.00	sostituisce RISS/97 p.15	a, b, c
Ossidabilità	Titrimetrico permanganato	ISS BEB 027	rev.00	sostituisce RISS/97 p.74	a, b, c
TOC		ISS BIA 029	rev.00	-	-
Disinfettante residuo	Colorimetrico N,N,-dietyl-p-fenilendiammina	ISS BHD 033	rev.00	sostituisce RISS/97 p.81	a, b, c
Durezza	Titrimetrico EDTA	ISS BEC 031	rev.00	sostituisce RISS/97 p.52	a, b, c
Residuo secco 180 °C	Gravimetrico	ISS BFA 032	rev.00	sostituisce RISS/97 p.56	a, b, c
Solfato	IC	ISS CBB 037	rev.00	sostituisce RISS/00 p. 35	a, b, c
Sodio	IC	ISS CBB 038	rev.00	sostituisce RISS/00 p.41	a, b, c
	ICP	ISS DBA 035	rev.00	-	-
Sapore	Sensoriale	ISS BKA 028	rev.00	sostituisce RISS/97 p.21	a, b, c
Torbidità	Nefelometrico (formazina)	ISS BLA 030	rev.00	sostituisce RISS/97 p.11	a, b, c

Note: ¹ RISS/00: Rapporto Istisan 00/14 Pt.1. Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano. Volume 2. Parte 1. Metodi chimici. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna; RISS/97: Rapporto Istisan 97/8 . Metodi di analisi per le acque destinate al consumo umano. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna. ² a: modifiche editoriali; b: estensione del campo di applicazione; c: caratteristiche di prestazione; d: modifiche della procedura.

Tabella 3. Metodi per il controllo analitico delle acque destinate al consumo umano per parametri non espressamente inclusi tra i controlli del DL.vo 31/2001

Parametro	Metodo	Codice	Riferimento precedenti edizioni ¹	Motivo revisione ²	
Calcio	Titrimetrico EDTA	ISS BEC 041	rev.00	-	-
	IC	ISS CBB 038	rev.00	sostituisce RISS/00 p.41	a, b, c
Solidi Indisciolti	Gravimetrico	ISS BFA 042	rev.00	sostituisce RISS/97 p.78	a, b, c
Temperatura	Termometrico	ISS BBA 043	rev.00	sostituisce RISS/97 p.27	a, b, c
Cianotossine (microcistine)	Immunoenzimatico	ISS BGA 044	rev.00	-	-
	LC-MS	ISS CBA 044	rev.00	-	-
Argento	AA-fornetto	ISS DAA 045	rev.00	sostituisce RISS/00 p.55	a, b, c
Bario	AA-fornetto	ISS DAA 046	rev.00	sostituisce RISS/00 p.71	a, b, c
Cobalto	AA-fornetto	ISS DAA 048	rev.00	sostituisce RISS/00 p.107	a, b, c
Zinco	AA-fornetto	ISS DAA 049	rev.00	sostituisce RISS/00 p.187	a, b, c

Note: ¹ RISS/00: Rapporto Istisan 00/14 Pt.1. Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano. Volume 2. Parte 1. Metodi chimici. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna; RISS/97: Rapporto Istisan 97/8 . Metodi di analisi per le acque destinate al consumo umano. A cura di M. Ottaviani, L. Bonadonna. ² a: modifiche editoriali; b: estensione del campo di applicazione; c: caratteristiche di prestazione; d: modifiche della procedura.

Tabella 4. Procedure correlate al controllo analitico delle acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001

Oggetto	Codice
Prelievo e conservazione dei campioni	ISSPGA901rev.00
Controllo di qualità	ISSPGA903rev.00

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

ISS.PGA.901.REV00

0. Introduzione

Il campionamento è la procedura mediante la quale una frazione di una determinata sostanza, materiale o prodotto è prelevata per fornire un campione rappresentativo dell'oggetto del controllo nella sua totalità per l'esecuzione di prove o tarature. In circostanze specifiche, ad esempio in seguito ad indagini per l'individuazione di agenti eziologici presunti responsabili di malattie idrodifuse, il campione può non essere rappresentativo ma determinato dalla sua disponibilità.

La corrente normativa in materia di controlli sulle acque destinate al consumo umano stabilisce i criteri per individuare, nell'ambito dei controlli interni ed esterni relativi ad una determinata zona di approvvigionamento, un piano di campionamento adeguato alle finalità dei controlli; sono indicate, tra l'altro, le frequenze minime di campionamento, le strategie da seguire per l'individuazione dei punti di controllo, le caratteristiche dei punti di prelievo.

Rimandando pertanto alle disposizioni della normativa vigente per gli aspetti inerenti la pianificazione dei campionamenti, è da rilevare che, nell'ambito delle operazioni a monte della procedura analitica, le procedure di prelievo e conservazione dei campioni possono condizionare significativamente la qualità del dato e compromettere, in taluni casi, il giudizio di idoneità sulle acque oggetto dei controlli.

Obiettivo della presente procedura è definire i requisiti generali in merito al prelievo e alla conservazione dei campioni da analizzare al fine di evitarne il deterioramento, l'alterazione e la contaminazione.

In particolare, in funzione delle finalità del controllo, della natura del campione prelevato, degli analiti oggetto di indagine, delle circostanze ambientali e delle risorse disponibili, deve essere assicurato che:

- il campione sia prelevato in maniera tale che mantenga inalterate le proprie caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche fino al momento delle analisi;
- il campione sia conservato in modo tale da evitare modificazioni dei suoi componenti e delle caratteristiche da valutare.

1. Requisiti generali

La presente procedura ha per oggetto le disposizioni generali sul prelievo e la conservazione dei campioni di acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi.

Ad integrazione delle indicazioni contenute nella procedura, devono essere considerate eventuali informazioni di specifico dettaglio contenute all'interno dei singoli metodi analitici.

2. Dispositivi e materiali

2.1. Rubinetti di prelievo sulla rete

Il prelievo di campioni a livello di rete di distribuzione dovrebbe essere realizzato attraverso una linea e rubinetto dedicato. La linea di campionamento dovrebbe avere i seguenti requisiti:

- lunghezza ridotta;

- connessione diretta al flusso principale senza giunzioni che potrebbero causare volumi morti e stagnazioni;
- materiali adeguati al contatto con acque destinate al consumo umano;
- diametro adeguato alle dimensioni dei contenitori utilizzati per il campionamento;
- facilità di accesso e spazi adeguati per consentire le operazioni di prelievo;
- resistenza alle operazioni di pulizia e disinfezione e protezione da atti di vandalismo e contaminazione.

2.2. Contenitori

I contenitori utilizzati per il prelievo e la conservazione dei campioni devono rispondere a requisiti generali di robustezza e idoneità alle condizioni di conservazione e a requisiti specifici che riguardano l'inerzia dei materiali costituenti il contenitore al fine di:

- non cedere od adsorbire sostanze, che alterino la composizione del campione o le proprietà degli analiti;
- essere resistenti ai vari costituenti presenti nel campione;
- garantire la perfetta tenuta dei gas disciolti e dei composti volatili se oggetto di determinazioni.

In funzione della natura dell'analita, della tipologia di analisi e della tecnica analitica adottata si dovrà eseguire il prelievo utilizzando i contenitori di materiale adeguato, che saranno stati precedentemente sottoposti a pulizia ordinaria e/o seguendo, ove indicato, procedure specifiche richieste dal metodo analitico.

In Tabella 1 sono riportati alcuni materiali idonei per la raccolta e conservazione dei campioni in funzione dei parametri oggetto di valutazione.

I materiali più usati per la costruzione dei contenitori utilizzabili per i prelievi di cui alla presente procedura sono il vetro e la plastica.

2.2.1. Contenitori in vetro

Possono essere usati nella maggior parte dei casi, salvo espresso divieto riportato dal metodo analitico allo scopo di evitare falsi positivi. Rappresentano i contenitori di elezione per i campioni da sottoporre ad analisi di parametri organici.

Si differenziano per la composizione e per la resistenza agli agenti fisici e chimici e tra questi i più indicati sono quelli in vetro *Pyrex* (borosilicato) o equivalente e quelli in *Vycor* (ad alto contenuto di silicio) di qualità superiore. Sono di vetro chiaro o di vetro scuro, con tappo di plastica a vite, munito di guarnizione in materiale non interferente nella successiva analisi, o in vetro smerigliato.

2.2.2. Contenitori in plastica

Si possono impiegare quando non sia richiesta una particolare impermeabilità ai gas o nel caso in cui non vi siano interferenze dovute agli additivi impiegati nella produzione.

Presentano il vantaggio di essere leggeri e resistenti all'urto, agli agenti chimici e alle escursioni termiche e, nella maggior parte dei casi, hanno costi competitivi rispetto ai recipienti in vetro.

Si differenziano per i diversi formulati del monomero di partenza e, nell'ordine di maggior utilizzo, comprendono:

- contenitori in polietilene;
- contenitori in policarbonato, particolarmente utilizzati per l'analisi dei metalli pesanti;
- contenitori in polimetilpentene (TPX);
- contenitori in politetrafluoroetilene (PTFE) o Teflon.

I contenitori in polietilene e il TPX vanno impiegati quando è necessario determinare concentrazioni dell'ordine di 10^{-9} parti (m/m o m/v). I contenitori in PTFE sono, tra i contenitori in plastica, i soli utilizzabili per l'analisi di composti organici.

3. Prelievo

3.1. Acque destinate al consumo umano, acque di sorgente e acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi

3.1.1. Punti di prelievo

L'individuazione dei punti di prelievo è da definire nell'ambito dei piani di campionamenti elaborati sulla base della normativa vigente, con particolare riferimento alle Linee guida regionali per l'applicazione del D. L.vo 31/2001.

La selezione tra prelievi al punto di captazione, in uscita agli impianti di trattamento, in fase di distribuzione (inclusi punti di disinfezione secondaria), al punto di consegna, o all'utenza dipende dall'articolazione e complessità dei sistemi idrici e dalla natura dei parametri oggetto di valutazione e, più in generale, da una valutazione del rischio sul modello di *Water Safety Plan*. Il livello di alcuni parametri, tra i quali, ad esempio, arsenico, boro, fluoro, selenio può infatti essere considerato indipendente dalle fasi a valle della captazione mentre altri parametri, tra i quali piombo, rame, nichel, cromo, ferro, possono essere influenzati più o meno significativamente dai materiali costituenti le reti. In tabella 1 sono riportate, a titolo orientativo, indicazioni per la selezione dei punti di prelievo in considerazione della suscettibilità dei diversi parametri a subire cambiamenti nella rete di adduzione principale (dall'uscita dell'impianto di trattamento fino al punto di consegna) o nella rete di distribuzione interna (dal punto di consegna all'utenza).

3.1.1.1. Acque di rete: immissione in rete, punto di consegna e utenza

Nel caso in cui le acque siano fornite mediante una rete di distribuzione, sulla base della struttura del sistema idrico e valutazione del rischio effettuata per l'individuazione dei siti di prelievo (3.1.1) i campioni andranno prelevati:

- a) nel punto di immissione in rete: tenendo conto dell'esistenza di impianti di trattamento e della struttura della rete i punti di prelievo possono essere individuati come segue:
 - per acque immesse direttamente in rete senza trattamenti il punto di prelievo va individuato immediatamente dopo l'opera di presa;
 - per acque trattate il punto di prelievo va individuato all'uscita del potabilizzatore;
 - per acque miscelate può essere previsto il prelievo delle acque prima della miscelazione e deve essere individuato un punto di prelievo in rete a valle della miscelazione;
 - per acque provenienti da serbatoi, invasi o pozzi piezometrici un punto di prelievo deve essere previsto a valle dell'impianto di accumulo (immissione in rete);
- b) al punto di consegna – generalmente il contatore – in cui termina la responsabilità del gestore del servizio idrico e subentra la responsabilità del gestore della rete di distribuzione interna in generale, va previsto un prelievo al contatore (ove possibile mediante rubinetto dedicato) o, quando questo non sia praticabile o possa essere causa di contaminazione, nel punto della rete più prossimo e che sia comunque rappresentativo (ad es. una pubblica fontana);
- c) direttamente presso l'utenza: rubinetto usato con maggior frequenza per impieghi potabili e domestici (preferibilmente della cucina).

3.1.1.2. Acque di sorgente

Il prelievo di campioni di acque di sorgente avviene direttamente nel punto di emergenza naturale o da perforazione.

Dove vi sia miscelazione, occorre prevedere punti di campionamento separati per ognuna delle fonti di approvvigionamento e un punto di prelievo immediatamente dopo la miscelazione.

Il punto di prelievo deve essere tale da garantire in ogni caso la sicurezza degli operatori.

Tabella 1. Parametri di conservazione consigliati¹

Determinazione	Contenitore ²	Conservazione	Tempo massimo di conservazione ³
Acrilammide	PE;V	refrigerare ⁴ al buio	15 giorni
Antimonio	PE;V	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	- ⁵
Arsenico	PE ^a ;V ^a	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Benzene	V	refrigerare	3 giorni
Benzo(a)pirene	V scuro	refrigerare al buio	7 giorni
Boro	PE	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Bromato	PE; V	refrigerare al buio	30 giorni
Cadmio	PE ^a ;V ^{ab}	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Cromo	PE ^a ;V ^a	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Rame	PE ^a ;V ^a	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
1,2 dicloroetano	V	refrigerare	7 giorni
		chiusura a tenuta di gas, buio	
Epicloridina	V	refrigerare al buio	-
Fluoruro	PE	-	-
Piombo	PE ^a ;V ^{ab}	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Mercurio	V ^{ab}	acidificare con HCl al 7% v/v	-
Nichel	PE ^a ;V ^{ab}	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Nitrato (come NO ₃)	PE;V	refrigerare	2 giorni
Nitrito (come NO ₂)	PE;V	refrigerare	2 giorni
Antiparassitari	V scuro	refrigerare	15 giorni
Idrocarburi policiclici aromatici	V scuro	refrigerare al buio	7 giorni
Selenio	PE ^a ;V ^a	acidificare a pH ≤ 2 con HNO ₃	-
Tetracloroetilene	V	chiusura a tenuta di gas, buio	7 giorni
Tricloroetilene	V	chiusura a tenuta di gas, buio	7 giorni
Trialometani-totale	V	chiusura a tenuta di gas, buio	7 giorni
Cloruro di vinile	V	refrigerare	7 giorni
		chiusura a tenuta di gas, buio	
Clorito	PE;V	refrigerare	2 giorni
Vanadio	PE ^a ;V ^{ab}	acidificare con HNO ₃ a pH=2	-
Alluminio	PE ^a ;V ^a	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Ammonio	PE;V	refrigerare	2 giorni
		congelare o acidificare a pH ≤ 2 e refrigerare	7 giorni
Cloruro	PE;V	-	-
Colore	PE;V	refrigerare	24 ore
Conduttività elettrica	PE;V	refrigerare	3 giorni
Concentrazione ioni idrogeno	PE;V	refrigerare	7 giorni ⁶
Ferro	PE ^a ;V ^a	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Manganese	PE ^a ;V ^{ab}	acidificare con HNO ₃ a pH ≤ 2	-
Odore	V	refrigerare	6 ore
Ossidabilità	V	acidificare con H ₂ SO ₄ a pH ≤ 2 e refrigerare	24 ore
Solfato	PE;V	refrigerare	7 giorni
Sodio	PE;V	-	-
Sapore	V	refrigerare	6 ore
Carbonio organico totale (TOC)	PE;V	refrigerare	7 giorni
Torbidità	PE;V	refrigerare	24 ore
Durezza	PE;V	refrigerare	7 giorni
Solidi indisciolti	PE;V	refrigerare	1 mese
Disinfettante residuo	V	-	determinare <i>in situ</i>

Note: ¹ Modalità di conservazione specifiche per i diversi parametri possono essere riportate nei singoli metodi. ²PE = polietilene; V = vetro; PE^a e V^a = polietilene o vetro sciacquato con HNO₃ (1:1); V^b = vetro borosilicato. ³I valori si riferiscono a periodi di conservazioni per i quali è stato verificato che l'analita, nelle modalità di conservazione adottate, si è rilevato sostanzialmente stabile; estensioni dei periodi indicati così come differenti modalità di conservazione possono essere adottate previa adeguata verifica della stabilità del campione e dell'analita. ⁴refrigerare = conservare a temperatura di 1-10 °C. ⁵ - non rilevante/non applicabile; nel caso del periodo di conservazione può assumersi 6 mesi sebbene sia preferibile eseguire le analisi entro un mese dalla ricezione del campione. ⁶Talvolta può essere necessaria la determinazione in fase di prelievo.

3.1.1.3. Acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi

Ai fini del presente documento sono considerate acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi le acque di rete all'ingresso al sistema di trattamento. Il prelievo di campioni di acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi deve essere effettuato al punto di ingresso al sistema di trattamento.

3.1.1.4. Acque fornite da cisterne e contenitori

Nel caso di acque fornite da una cisterna fissa o mobile il campione andrà prelevato direttamente nel punto in cui l'acqua fuoriesce dalla cisterna o contenitore.

3.1.1.5. Acque confezionate

Nel caso di acque confezionate, in bottiglie o contenitori e rese disponibili per il consumo umano, prelevare i campioni preferibilmente nel punto in cui sono imbottigliate o introdotte nei contenitori.

3.1.1.6. Acque utilizzate da imprese alimentari

Nel caso di utilizzo nelle produzioni alimentari il campione andrà prelevato nel punto in cui l'acqua è utilizzata dall'impresa, in entrata nel ciclo produttivo e/o nelle fasi di lavorazione.

3.1.2. Procedura di prelievo

Nelle more di un'armonizzazione delle modalità di prelevamento a livello europeo, la procedura riportata nel presente paragrafo si basa sull'esperienza di ricerca e controllo ad oggi maturata in ambito nazionale.

Le seguenti istruzioni operative sono da integrare con eventuali modalità di prelievo specifiche per i diversi parametri, riportate nei singoli metodi.

3.1.2.1. Fasi preliminari

Nelle fasi antecedenti il prelievo predisporre tutti i materiali e le eventuali apparecchiature indispensabili per le operazioni di prelievo. Utile può essere a tal fine la predisposizione di una *check-list* e la programmazione di eventuali contatti e autorizzazioni di accesso.

3.1.2.2. Prelievo

L'effettuazione del prelievo segue la modalità "*random daytime sample (RDT)*", in qualsiasi giorno della settimana e a qualsiasi ora.

Per il prelievo raccogliere un volume di campione idoneo allo scopo (cfr. par. 4) riempiendo il/i contenitore/i di idoneo volume e materiale (cfr. 1.1. Tabella 1), precedentemente avvinato, avendo cura di evitare il gorgogliamento nella fase di raccolta e, salvo diverse indicazioni, riempiendo per intero il/i contenitore/i. Il prelievo per immersione dei contenitori è da evitare ove possibile e, se effettuato, deve essere comunque garantito un trattamento dei contenitori volto ad assicurare l'assenza di qualsiasi contaminazione delle acque.

Per il prelievo all'utenza finale (cfr. 3.1.1c) l'eventuale scorrimento di acqua prima del prelievo non dovrà in ogni caso superare un minuto.

L'operazione di prelievo è accompagnata dalla redazione del verbale di prelievo (cfr. par 5).

3.1.2.3. Operazioni immediatamente successive

Appena ultimate le operazioni di prelievo (3.1.2.2):

- appare/sigillare il/i contenitore/i e provvedere alla sua identificazione (cfr. par. 5);
- riporre il campione secondo le idonee modalità di conservazione (cfr. 6).

3.1.2.4. Altri prelievi

Operazioni di prelievo multiple per parametri chimici presso lo stesso sito vanno condotte adottando le stesse modalità descritte in precedenza (3.1.2.1 – 3.1.2.3).

Tabella 2. Possibili punti di prelievo per la determinazione di parametri chimici

Parametro	Immissione in rete ¹	Punto di consegna ²	Utenza ³	Note
<i>DL.vo 31/2001 allegato I parte B</i>				
Acrilammide			✓	A
Antimonio			✓	
Arsenico	✓	✓	✓	
Benzene	✓	✓	✓	B
Benzo(a)pirene		✓	✓	
Boro	✓	✓	✓	
Bromato	✓	✓	✓	C
Cadmio			✓	
Cromo			✓	
Rame			✓	
Cianuri	✓	✓	✓	
1,2-dicloroetano	✓	✓	✓	B
Epicloridrina			✓	A
Fluoruro	✓	✓	✓	
Piombo			✓	
Mercurio	✓	✓	✓	
Nichel			✓	
Nitrato	✓		✓	C,D
Nitrito	✓		✓	C,D
Antiparassitari	✓	✓	✓	
Antiparassitari - Totale	✓	✓	✓	
Idrocarburi policiclici aromatici		✓	✓	
Selenio	✓	✓	✓	
Tetracloroetilene Tricloroetilene	✓	✓	✓	B
Triometani, totale		✓	✓	B,C,E
Cloruro di vinile	✓		✓	A,B,F
Clorito			✓	
Vanadio	✓	✓	✓	
<i>DL.vo 31/2001 allegato I parte C</i>				
Alluminio	✓	✓	✓	G
Ammonio	✓	✓	✓	H
Cloruro	✓	✓	✓	
Colore			✓	
Conducibilità			✓	
Concentrazione ioni idrogeno			✓	
Ferro			✓	
Manganese			✓	
Odore			✓	
Ossidabilità			✓	
Solfato	✓	✓	✓	I
Sodio	✓	✓	✓	
Sapore			✓	
Carbonio organico totale			✓	
Torbidità	✓		✓	L
Durezza			✓	
Residuo secco a 180°C			✓	
Disinfettante residuo			✓	

¹ cfr. 3.1.1.1 a); ² cfr. 3.1.1.1 b); ³ cfr. 3.1.1.1 c).

A. Conformità dimostrabile di norma attraverso le specifiche di prodotto; determinazione analitica necessaria sulla base di valutazione del rischio. B. Campionare al punto di utenza nel caso la valutazione del rischio evidenzi possibilità che la rete di distribuzione sia contaminata da benzene, 1,2-dicloroetilene, tetracloroetilene, tricloroetilene, cloroformio e cloruro di vinile. C. Campionare al punto di utenza nel caso in cui è adottata disinfezione secondaria (rilancio) all'interno della rete di distribuzione. D. Campionamenti da prevedere all'immissione in rete e al punto di utenza. E. Può essere selezionato il campionamento all'immissione in rete sulla base della valutazione del rischio e qualora vengano adottati adeguati fattori di sicurezza. F. Campionare all'immissione in rete se è stato evidenziato un rischio dovuto alla presenza di precursori della sostanza. G. Campionare al punto di utenza qualora sostanze a base di alluminio siano impiegate per trattamenti o impianti di distribuzione. H. Campionare al punto di utenza qualora vengano adottati trattamenti come la disinfezione con cloroammine a valle dell'impianto di potabilizzazione. I. Campionare al punto di utenza qualora vengano adottati trattamenti come l'addolcimento a valle dell'impianto di potabilizzazione. L. Campionare all'immissione in rete se è impiegata acqua superficiale da destinare al consumo umano.

L'eventuale prelievo per l'analisi microbiologica può essere condotto, salvo diverse indicazioni, presso un altro sito di prelievo (ad esempio diverso rubinetto della stessa struttura) o, se nello stesso punto di prelievo di quello per l'analisi chimica, successivamente al prelievo dei campioni per l'analisi chimica.

3.2. Acque da destinare al consumo umano

3.2.1. Acqua di pozzo

Prelevare i campioni di acqua solo dopo aver spurgato abbondantemente il pozzo (da 3 fino a 10 volte il volume dello stesso), registrando indicativamente il volume e il flusso dello spurgo, in quanto questi parametri possono influire nel drenaggio di sostanze presenti nel terreno.

3.2.2. Acque superficiali

Molte sono le variabili che influenzano la qualità del prelievo eseguito su corsi d'acqua, laghi o bacini idrici da destinare al consumo umano. L'idrografia (volumi, portate, profondità, velocità di scorrimento) e l'orografia del sistema e, più in generale la conformazione e il contesto territoriale in cui si colloca il sistema idrologico in combinazione con condizioni meteorologiche, di stagionalità, luminosità, temperatura, ora del giorno/notte, determinano una notevole variabilità nelle caratteristiche del corpo idrico e di conseguenza, rendono difficoltosa la definizione puntuale per quanto concerne le modalità di prelievo da adottare. Ad esempio, fiumi o laghi caratterizzati da due fasce distinte di temperatura (epilimnio e ipolimnio) obbligano a scegliere la profondità di prelievo che sia maggiormente rappresentativa del reale flusso di alimentazione di un impianto di trattamento per scopo idropotabile. Nella scelta della profondità cui eseguire il prelievo si dovrà tenere conto anche della caratteristica del fondale in modo da evitare la raccolta di sedimenti ricchi ad esempio di metalli pesanti o di agglomerati biologici.

Come indicazioni generali per il prelievo si raccomanda di

- individuare la profondità di prelievo più corretta anche in funzione delle modalità di captazione;
- eseguire un prelievo anche in superficie avendo l'avvertenza di tenere il contenitore con il collo in controcorrente ed evitando gorgogliamento;
- evitare di prelevare in porzioni di sistema caratterizzate da eccessivo rimescolamento (turbolenza) al fine di evitare la perdita di sostanze volatili disciolte o la possibilità di trovare disciolti vapori stratificati all'interfaccia aria/acqua;
- evitare di prelevare campioni in prossimità di sbarramenti, perché vi si possono riscontrare concentrazioni superiori alla norma di sostanze poco miscibili con densità minore dell'acqua;
- evitare di prelevare campioni in prossimità del fondo;
- utilizzare apposite attrezzature per i prelievi di profondità con apertura del contenitore comandata a distanza manualmente o automaticamente;
- annotare nel verbale di prelievo (5) ogni informazione utile quale condizioni meteorologiche, profondità del prelievo e stato del sistema (es. condizioni di piena).

3.3. Acque di piscina

La regolamentazione specifica per le piscine prevede per l'acqua di approvvigionamento tutti i requisiti di potabilità previsti dalle vigenti normative (fatta eccezione per la temperatura) e stabilisce, inoltre, che i requisiti di qualità dell'acqua in vasca siano raggiunti in qualsiasi punto; i prelievi da effettuare sono i seguenti:

- acqua di approvvigionamento: prelevare un campione da apposito rubinetto posto su tubo di adduzione;
- acqua di immissione in vasca: prelevare un campione da rubinetto posto sulle tubazioni di mandata alle singole vasche a valle degli impianti di trattamento;

- acqua in vasca: un campione prelevato in un qualsiasi punto in vasca assume pieno valore ai fini dei controlli previsti dalla regolamentazione vigente; è tuttavia diffuso e può essere incentivato in questa sede al fine di garantire l'armonizzazione delle procedure, il prelievo di quattro aliquote, ad una profondità di circa 10 cm, in altrettanti punti rappresentativi di una situazione media (equidistanti dai punti di immissione e di uscita) ovvero, laddove impraticabile, la situazione peggiore (in prossimità dell'uscita); attraverso la miscelazione di un uguale volume di ciascuna diversa aliquota può essere ricavato un campione composito. Le procedure di prelievo eseguite devono essere annotate in dettaglio (eventualmente rimandando ad apposita procedura) nel verbale di prelievo o a documentazione ad esso annessa.

4. Volume del campione

4.1. Volume di prelievo

Prelevare volumi di campione adeguati alla tipologia dei parametri da determinare, alle tecniche e alle strumentazioni analitiche utilizzate.

Come indicazioni generali non vincolanti:

- un volume di campione pari a 2,0 L è di norma sufficiente per tutte quelle determinazioni che ricadono nell'ambito delle analisi inorganiche;
- per quanto attiene le analisi organiche e radiologiche si rimanda a quanto previsto dagli specifici metodi analitici di riferimento;
- per le analisi degli elementi da eseguirsi in AA, ICP-EOS e MS può essere sufficiente prelevare un volume di campione pari a 250 mL.

Valutare l'opportunità di prelevare eventuali campioni per la replica delle determinazioni e/o eventuali indagini aggiuntive.

4.2. Ripartizione in aliquote

Nel caso in cui un campione originariamente prelevato (3) sia da suddividere in aliquote per eseguire differenti determinazioni analitiche, effettuare le operazioni di ripartizione prima di qualsiasi trattamento del campione e adottare tutte le misure adeguate a garantire che:

- il volume di ciascuna aliquota sia adeguato all'esecuzione della/e prova/e cui è destinato;
- sia evitata qualsiasi contaminazione del materiale di prova nella fase di ripartizione;
- sia garantita la rintracciabilità di ogni singola aliquota e sia documentata l'operazione di suddivisione in aliquote.

5. Identificazione dei campioni e verbale di prelievo

Ogni campione deve riportare un'etichetta identificativa indelebile che lo renda univocamente identificabile, solidamente fissata al contenitore.

La codifica per ogni campione deve garantire una piena rintracciabilità e consentire agevolmente di risalire al verbale di prelievo associato.

Nel verbale di prelievo devono essere riportate almeno le seguenti informazioni: numero di identificazione, nome dell'esecutore del prelievo, data e ora del prelievo, ubicazione (e nome) del luogo del prelievo, tipologia del prelievo e metodo di prelievo, ove disponibile, tipologia del punto di prelievo (es. rete, pozzo etc.), natura e costituzione del campione, nominativi di eventuali altre parti interessate.

Nel verbale deve essere anche riportata ogni indicazione relativa a campioni contenenti materiali anomali con descrizione dell'anomalia osservata; i campioni anomali devono essere chiaramente

contrassegnati. Alcune indicazioni utili che possono essere riportate in aggiunta nel verbale riguardano le coordinate GPS (*global position system*) del punto di prelievo, eventuali dettagli sul punto del prelievo – compresa un'eventuale fotografia digitale – e sulle operazioni effettuate, in particolare se in deviazione dalle procedure, eventuale conservante o stabilizzante aggiunto. Devono infine essere registrati sul verbale o su documenti ad esso annessi, o comunque facilmente rintracciabili, i risultati delle determinazioni *in situ* effettuate contestualmente al prelievo.

Il verbale deve essere firmato dal responsabile delle operazioni di prelievo ed eventualmente da altre parti interessate presenti al prelievo.

6. Conservazione dei campioni

L'adozione di adeguate tecniche di conservazione consente di ritardare o attenuare significativamente i processi chimici e biologici che inevitabilmente continuano sul campione dopo il prelievo e potrebbero modificare la natura del campione stesso e/o le risultanze analitiche sul parametro oggetto di indagine.

I metodi di conservazione sono infatti generalmente rivolti a:

- evitare contaminazioni del campione;
- rallentare l'azione di agenti biologici;
- rallentare l'idrolisi di composti liberi e complessi;
- ridurre la volatilità di sostanze disciolte;
- ridurre gli effetti di adsorbimento.

Modalità di conservazione specifiche per i diversi parametri possono essere riportate nei singoli metodi.

6.1. Periodo di conservazione e tempi di analisi

Tra il prelievo e l'analisi del campione deve intercorrere il minor tempo possibile.

La Tabella 1 riporta, a titolo indicativo, il periodo di conservazione per il quale è stata verificata una sostanziale stabilità dell'analita, nelle modalità di conservazione adottate; estensioni dei periodi indicati così come differenti modalità di conservazione possono essere adottate previa adeguata verifica della stabilità del campione e dell'analita. Le analisi di alcuni costituenti e dei parametri fisici vanno condotte rapidamente, direttamente in campo.

6.2. Trasporto e conservazione

Il trasporto dei campioni deve avvenire in ambiente buio e refrigerato, generalmente mediante utilizzo di borse termiche o altri contenitori termoisolanti equipaggiati con piastre eutettiche. Deve essere evitato il congelamento del campione. In laboratorio i campioni vanno conservati ad una temperatura di refrigerazione compresa nell'intervallo tra 1 °C e 10 °C, salvo specifiche indicazioni riportate nei singoli metodi.

La Tabella 1 riporta, a titolo indicativo, le modalità di conservazione nelle quali è stata verificata una sostanziale stabilità dell'analita nel periodo di conservazione indicato.

Bibliografia

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 1030: Metodi di campionamento*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

Fuiano G, Alloatti S, Bolasco P, Canavese C, Cappelli G, Pedrini L, Pizzarelli F, Pontoriero G, Santoro A, Anastasio P, Teatini U. Linee Guida su acque e soluzioni per dialisi. *Giornale Italiano di Nefrologia* 2005; 22 (3): 246-273.

ISO 5667-3. *Qualità dell'acqua - Campionamento - Parte 3: Guida per la conservazione e il maneggiamento di campioni d'acqua*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2004.

Italia. Conferenza Stato-Regioni - Accordo 16 gennaio 2003. Accordo tra il Ministro della salute, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano sugli aspetti igienico-sanitari per la costruzione, la manutenzione e la vigilanza delle piscine a uso natatorio. *Gazzetta Ufficiale* n. 51, 3 marzo 2003.

Italia. DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 52, 3 marzo 2001.

Italia. DL.vo 4 agosto 1999, n. 339. Disciplina delle acque di sorgente e modificazioni al DL.vo 25 gennaio 1992, n. 105, concernente le acque minerali naturali, in attuazione della direttiva 96/70/CE. *Gazzetta Ufficiale* n. 339, 1 ottobre 1999.

Regno Unito. The Water Supply (Water Quality) Regulations 2000. Water, England and Wales Statutory Instrument 2000. No. 3184. Disponibile all'indirizzo: <http://www.opsi.gov.uk/SI/si2000/20003184.htm#3>. Ultima consultazione 16/08/07.

UNI CEI EN ISO/IEC 17025. *Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2005.

UNI EN 25667-1. *Qualità dell'acqua – Campionamento – Guida alla definizione di programmi di campionamento*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1996.

UNI EN 25667-2. *Qualità dell'acqua – Campionamento – Guida alle tecniche di campionamento*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1996.

CONTROLLO DI QUALITÀ

ISS.PGA.903.REV00

1. Generalità

La normativa corrente in materia di qualità delle acque destinate al consumo umano impone al gestore del servizio idrico integrato l'obbligo di avvalersi di laboratori di analisi interni o, tramite stipula di apposita convenzione, di laboratori appartenenti ad altri gestori di servizi idrici.

Nell'ambito delle attività di un laboratorio, lo scopo del "controllo di qualità" è, in linea generale, quello di documentare la costanza nel tempo delle prestazioni di un laboratorio nell'applicazione di un determinato metodo. Attuato su scala sistematica all'"interno" del laboratorio, il "controllo di qualità" comprende le procedure adottate al fine di intercettare un qualunque evento che pregiudichi l'accuratezza (esattezza e precisione) del metodo analitico correntemente utilizzato, rispetto a ciascuna analita d'interesse; il controllo di qualità "esterno", d'altra parte, si concretizza principalmente mediante la partecipazione del laboratorio a studi collaborativi in cui si confrontano le prestazioni di laboratori diversi.

L'adozione di procedure di controllo di qualità consente pertanto di monitorare i risultati prodotti nell'attività analitica del laboratorio, garantendo che essi siano sotto controllo statistico e quindi affidabili nel tempo.

La presente procedura fornisce elementi utili per il controllo di qualità che possono essere applicati da parte dei laboratori, ove lo ritengano opportuno, per ampliare gli elementi di controllo qualità contenute nei singoli metodi.

Elementi fondanti del controllo di qualità interno, oggetto del presente documento, sono rappresentati dai "campioni di controllo qualità" e dalle "carte di controllo".

2. Campioni di controllo qualità

Ai fini del controllo di qualità del metodo devono essere inseriti in ogni ciclo analitico "campioni di controllo qualità" omogenei, stabili per un tempo determinato. Sono di seguito riportate alcune tipologie di campioni utili ai fini del controllo di qualità.

2.1. Bianchi reagenti

Si tratta di campioni di acqua "reagente" sottoposti all'intero processo analitico (a partire dall'estrazione) nelle stesse condizioni e con gli stessi materiali impiegati per l'analisi dei campioni reali.

2.2. Bianchi campione

Sono campioni costituiti da una matrice analoga a quella costituente i campioni oggetto di analisi e in cui l'analita è non rivelabile nelle condizioni sperimentali del metodo.

2.3. Campioni di controllo a concentrazione nota di analita

Sono rappresentati da una matrice analoga a quella oggetto di analisi, in cui è contenuto l'analita in concentrazione nota. Possono comprendere, in particolare, i seguenti materiali.

2.3.1. Materiale di riferimento

Rappresentato da una matrice del tutto analoga alla matrice oggetto di analisi, in cui l'analita è presente in concentrazione omogenea, stabile e ben definita; può anche essere definito come "sostanza di riferimento. I materiali di riferimento sono generalmente resi disponibili da parte di enti specializzati. Questi ultimi possono anche provvedere alla diffusione di "materiali di riferimento certificati" per i quali una o più proprietà sono certificate mediante una procedura che ne definisce la riferibilità; il valore certificato è accompagnato da un'incertezza con un determinato livello di fiducia.

2.3.2. Matrice addizionata (o campione addizionato o arricchito o fortificato)

Si tratta di un bianco campione (2.2) al quale viene addizionato all'interno del laboratorio l'analita di interesse in concentrazione nota, generalmente prossima al valore di parametro. Il ricorso alla matrice addizionata si giustifica nel caso di difficoltà di reperimento o di esiguità dei quantitativi del "materiale dei riferimento".

2.3.3. Campioni di laboratorio a concentrazione nota di analita

Si tratta di campioni rappresentativi dei campioni oggetto di analisi, conservati da precedenti analisi contenenti l'analita in concentrazione nota dalle analisi effettuate in laboratorio.

3. Carte di controllo

3.1. Elementi introduttivi

Tra le molteplici tecniche per l'analisi del controllo della qualità, nel contesto del controllo di qualità interno di un laboratorio chimico, trovano più ampia applicazione la *Carta di Shewhart* e la *CuSum Chart*. Entrambe possono essere realizzate simultaneamente in quanto per la loro attuazione vengono utilizzati gli stessi dati.

Una Carta di Shewhart è un grafico bidimensionale in cui sull'asse delle ordinate sono riportate le misure consecutive di concentrazione generate da una procedura analitica applicata ad un campione di controllo a concentrazione nota di analita (2.3); sull'asse delle ascisse vengono riportati in corrispondenza i tempi in cui le misure sono state rilevate oppure il numero ordinale del campione di controllo esaminato.

L'identificazione di valori fuori controllo statistico che possono essere generati con l'applicazione della procedura analitica nel tempo si correla alla definizione, sulla carta, dei valori prefissati di escursione minima e massima. In corrispondenza di tali valori vengono tracciate rette parallele all'asse delle ascisse che definiscono un intervallo di variazione normale o "atteso" per i valori riportati sull'asse delle ordinate e indicano come statisticamente fuori controllo i valori che cadono all'esterno di tale intervallo. L'orientamento fornito dal grafico risulta pertanto uno strumento diagnostico indispensabile per stabilire quando un processo abbia generato per la grandezza di interesse un valore non accettabile. È da rilevare che, sebbene la carta non fornisca direttamente le cause che hanno generato l'elemento fuori controllo, alcune indicazioni utili in tal senso possono comunque derivare dall'interpretazione dell'andamento nel tempo dei valori riportati sulla carta.

Una Carta CuSum (*Cumulative Sum*) è un grafico bidimensionale in cui viene riportato sull'asse delle ordinate l'andamento della somma cumulata della differenza tra il valore di ogni misura e il valore medio delle misure, e in ascisse il tempo o il numero ordinale del campione di controllo (2) esaminato; per l'interpretazione della Carta CuSum e l'identificazione degli *outliers* è necessaria una "maschera a forma di V" (*V mask*) opportunamente costruita (3.3.1).

Il vantaggio nell'uso della Carta CuSum rispetto alla Shewhart è quello di evidenziare precocemente uno scostamento del processo e di individuare il primo campione in cui si manifesta l'anomalia.

Vengono di seguito riportati i dettagli relativi alla costruzione e all'utilizzo delle carte di Shewhart e CuSum.

3.2 Carta di Shewhart

3.2.1 Criteri e costruzione

La costruzione della Carta di Shewhart è vincolata alla conoscenza della esattezza e precisione del metodo, preferibilmente nell'intorno del valore di parametro, caratteristiche generalmente note nel caso di metodi di riferimento.

Nel caso in cui il metodo sia validato all'interno del laboratorio nella fase di costruzione della carta possono essere adottati i valori relativi alla concentrazione media misurata e allo scarto tipo (deviazione standard) prodotti dallo studio di riproducibilità.

Alternativamente, per la costruzione della Carta di Shewhart si può prevedere la determinazione, in triplicato e con periodicità giornaliera, della concentrazione di analita in $n \geq 30$ aliquote di un campione di controllo a concentrazione nota di analita, identico a quello che sarà poi oggetto del controllo in fase di utilizzo della carta.

Nel caso di impiego di un campione di controllo costituito da un "materiale di riferimento" (2.3.1), sull'asse delle ordinate viene riportato il valore di concentrazione noto (μ) del "materiale di riferimento" definito come "valore di riferimento accettato" o "valore vero" assimilabile al suo *valore medio*; in corrispondenza del valore individuato si origina una Linea Centrale (o Linea Media) parallela all'asse delle ascisse. Dalle concentrazioni medie (\bar{X}) giornaliere ottenute dalle misure effettuate negli n giorni di fase costruttiva e riportate sulla carta, si potranno anche ottenere i valori di concentrazione che definiranno tre coppie di linee parallele alle ascisse all'interno delle quali è compresa la linea del valore vero: la prima coppia corrisponde ai valori di " $\mu \pm 1 \cdot S_m$ " dove S_m è lo scarto tipo della media delle misure calcolato con l'espressione

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

in cui S è lo scarto tipo; la seconda coppia corrisponde ai valori di " $\mu \pm 2 \cdot S_m$ " definiti limite di attenzione (o di guardia) superiore e limite di attenzione (o di guardia) inferiore e la terza coppia corrisponde ai valori di " $\mu \pm 3 \cdot S_m$ " definiti limite di controllo (o di intervento) superiore e limite di controllo (o di intervento) inferiore.

Nel caso di impiego di una "matrice addizionata" (2.3.2), la rappresentazione grafica si mantiene inalterata con il valore di μ sostituito dalla media delle medie \bar{X}_m ottenuto sperimentalmente nella fase costruttiva di n giorni.

La carta così costruita definirà 2 aree principali: la regione esterna ai due Limiti di Controllo, che identifica i "valori non attesi" (*outliers*) e quella interna ai due limiti di controllo nella quale si collocano i "valori attesi" con una probabilità del 68.7 % (nell'intervallo $\pm 1 \cdot S_m$), del 95.45 % circa (nell'intervallo $\pm 2 \cdot S_m$) e del 99.73 % circa (nell'intervallo $\pm 3 \cdot S_m$).

3.2.2. Utilizzo e interpretazione

All'interno della serie analitica comprendente determinazioni sui campioni oggetto di indagine si procede con l'analisi di uno o più campioni di controllo qualità (2), allo scopo di evidenziare se, in fase di applicazione del metodo di analisi, i risultati prodotti siano sotto controllo o fuori controllo statistico; in particolare l'interpretazione della carta consente di evidenziare perdite "anomale" in esattezza - rilevabili da uno scostamento persistente dei valori di concentrazione rispetto alla linea media - e/o in precisione - rilevabili da un incremento della dispersione dei valori intorno alla linea media.

In Tabella 1 sono elencati alcuni eventi considerati "critici" nella fase applicativa della Carta di Shewhart, le possibili cause che li hanno generati e le possibili decisioni da adottare.

Tabella 1. Alcune situazioni di “fuori controllo” nell'utilizzo della Carta di Shewhart

Evento	Possibili cause	Decisioni da adottare
1 punto fuori dai Limiti di Controllo	imperizia dell'operatore, tecnica analitica inadeguata, procedura modificata	ripetere l'analisi sul campione di controllo; se il punto rientra all'interno del limite di controllo, proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa
2 punti consecutivi tra i Limiti di Attenzione e i Limiti di Controllo, nella stessa regione rispetto alla Linea Centrale	come sopra	ripetere; se l'evento non si ripete proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa
4 punti su 5 superano il valore " $\mu \pm 1 \cdot S_m$ "	come sopra	ripetere il quinto punto; se il valore risulta inferiore a " $\mu \pm 1 \cdot S_m$ " proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa
7 punti consecutivi superiori o inferiori alla Linea Centrale	errata preparazione di reagenti e di soluzioni standard, errata taratura del sistema di misura, presenza di contaminante	se l'ottavo punto cade dalla parte opposta rispetto alla Linea Media proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa
7 punti consecutivi in ordine crescente (deriva positiva)	obsolescenza dei reagenti, evaporazione progressiva del solvente dalla soluzione standard	se l'ottavo punto cambia l'ordine proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa
7 punti consecutivi in ordine decrescente (deriva negativa)	obsolescenza della soluzione standard o dei reagenti	se l'ottavo punto cambia l'ordine proseguire, altrimenti interrompere, individuare e risolvere la causa

3.2.3. Rappresentazioni grafiche

In Figura 1 è illustrato un esempio di impiego della Carta di Shewhart costruita con un materiale di riferimento (2.3.1) o una matrice addizionata (2.3.2) con andamento di concentrazione “sotto controllo” e in Figura 2 un andamento di concentrazione “fuori controllo”.

3.3. Carta CuSum

3.3.1. Criteri e costruzione

La Carta CuSum (*Cumulative Sum*) è un grafico bidimensionale in cui viene riportato l'andamento della somma cumulata “S” in funzione del tempo o del numero ordinale del campione di controllo. La linea parallela all'asse delle ascisse passa per l'asse delle ordinate nel punto di valore pari a zero. La costruzione può essere simultanea alla Carta di Shewhart in quanto vengono utilizzati gli stessi dati (3.2.1). Il procedimento di costruzione prevede che, tenuto conto del tipo di campione di controllo impiegato, si sottrae al valore della misura effettuata giornalmente il “valore di riferimento accettato” (μ), nel caso di utilizzo di materiale di riferimento (2.3.1) o la media delle medie, nel caso di una matrice addizionata (2.3.2) o di un campione di laboratorio a concentrazione nota di analita (2.3.3), e si cumulano le differenze così ottenute.

In Tabella 2 e corrispondente Figura 3 è riportato un esempio di costruzione di CuSum Chart, utilizzando un “materiale di riferimento” (2.3.1).

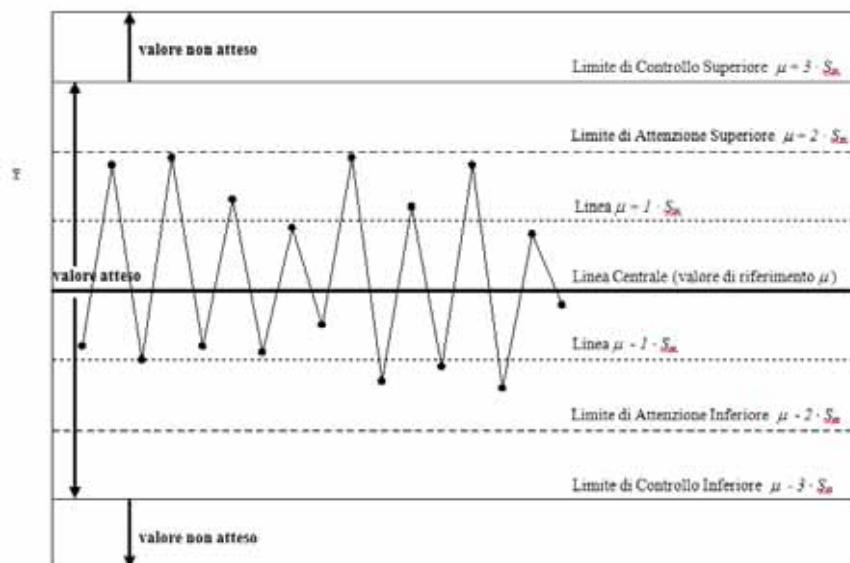


Figura 1. Esempio di successione di punti sotto controllo nella carta Shewart

Per decidere se una misura (o un insieme di misure effettuate all'interno della stessa serie analitica) sia sotto o fuori controllo ci si affida all'impiego di una "maschera a V" in materiale trasparente in modo da potere essere sovrapposta alla carta. La maschera a V delimita i limiti di controllo, rappresentati dalle 2 semirette che definiscono un angolo convesso θ e dalla lunghezza del segmento (β) tracciato sulla bisettrice dell'angolo θ a partire dal vertice (Figura 3). Per ottenere degli intervalli analoghi a quelli della Carta di Shewart, all'angolo convesso θ si attribuisce un valore pari a 60° e la lunghezza di β si considera pari al doppio del segmento d che, misurato sull'asse delle ascisse, unisce due misurazioni consecutive.

Tabella 2. Esempio di costruzione di una Carta CuSum

Misura	Valori medi \bar{x} in successione	Valore di riferimento accettato μ	$\bar{x} - \mu$	Somma Cumulata (S)
1 ^a misura	44	44	0	$44 - 44 = 0 = S_1$
2 ^a misura	43	44	-1	$S_1 + (43 - 44) = -1 = S_2$
3 ^a misura	46	44	+2	$S_2 + (46 - 44) = +1 = S_3$
4 ^a misura	43	44	-1	$S_3 + (43 - 44) = 0 = S_4$
5 ^a misura	45	44	+1	$S_4 + (45 - 44) = +1 = S_5$
6 ^a misura	42	44	-2	$S_5 + (42 - 44) = -1 = S_6$
7 ^a misura	43	44	-1	$S_6 + (43 - 44) = -2 = S_7$
8 ^a misura	46	44	+2	$S_7 + (46 - 44) = 0 = S_8$

La verifica dei dati viene eseguita sovrapponendo la maschera sulla carta in modo che il segmento β sia parallelo all'asse delle ascisse con l'estremità sinistra posizionata in corrispondenza dell'ultima misura da verificare e l'angolo θ orientato in modo che i lati siano rivolti verso le misure precedenti (sinistra). Se tutti i punti sono compresi all'interno dei limiti definiti dalla maschera il processo è sotto controllo.

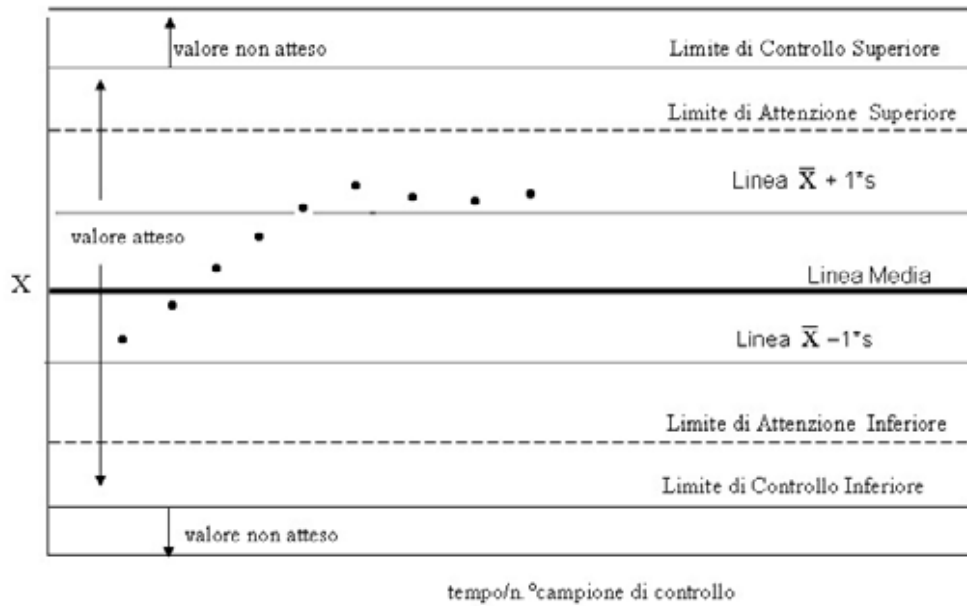


Figura 2. Esempio di successione di punti fuori controllo nella carta Shewart

3.3.2. Rappresentazioni grafiche

La Figura 4 riporta un esempio di Carta CuSum per otto determinazioni, nel quale è evidente un andamento fuori controllo della Somma Cumulata per la settima determinazione.

3.4. Interpretazione dei risultati del controllo

Nei casi in cui dalla verifica sul campione di controllo relativo ad una certa serie analitica siano ottenuti risultati sotto controllo statistico si desume che i controlli analitici eseguiti sui campioni oggetto di determinazione della serie siano anch'essi sotto controllo e quindi affidabili, rientrando nelle prestazioni del metodo analitico.

In presenza di situazioni di "fuori controllo" dovranno essere individuate e rimosse le cause e quindi dovrà essere verificato il ripristino delle adeguate condizioni operative con ottenimento di risultati sotto controllo mediante il riutilizzo della carta.

Fino a che il controllo di qualità non fornisca garanzia del ripristino delle condizioni di controllo statistico della correttezza dei risultati ottenuti sui campioni di controllo qualità, i risultati ottenuti per la serie analitica non possono essere considerati affidabili.

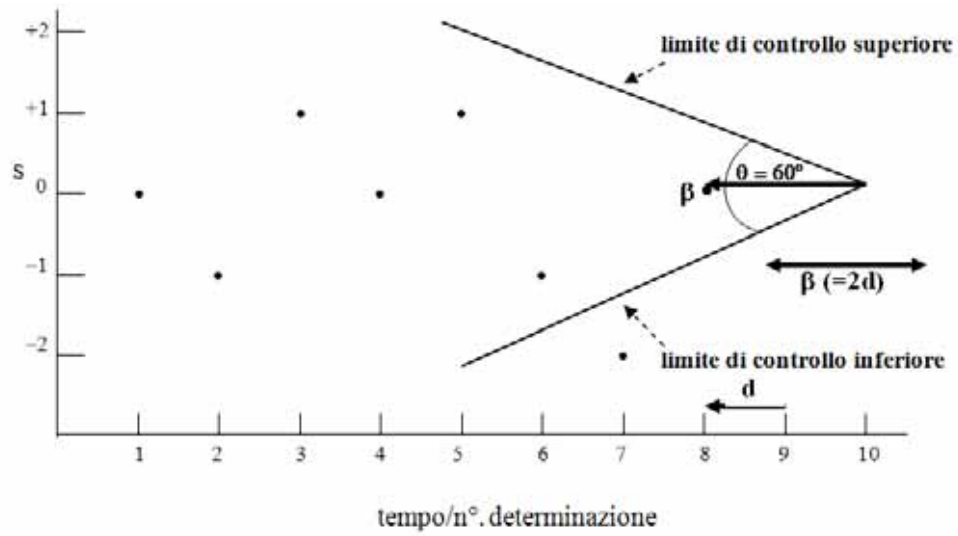


Figura 3. Esempio di carta CuSum per otto determinazioni in caso di “fuori controllo” alla 7^a determinazione

Bibliografia

UNI ISO 8258. *Carte di controllo di Shewhart*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2004.

BORO: METODO SPETTROFOTOMETRICO ALLA CURCUMINA ISS.BHA.005.REV00

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 di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,1 e 1 mg/L.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla determinazione spettrofotometrica del boro che reagisce in ambiente acido con la curcumina con formazione di un composto di colore 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 taratura 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 20 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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Attrezzatura di uso comune in laboratorio, e:

- 5.1.1. Bottiglie di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di boro (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene) da 1 L.
- 5.1.2. Bagno termostatico regolato a 55 ± 5 °C.
- 5.1.3. Capsule in teflon per evaporazione con capacità compresa tra 50 e 100 mL.

5.2. Strumentazione analitica e accessori

Spettrofotometro o colorimetro munito di cuvette con cammino ottico di 1 cm, in grado di operare a 540 nm.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo puro per analisi.

- 6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata.
- 6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di boro.
- 6.1.3. Acido cloridrico concentrato (HCl)
- 6.1.4. Etanolo al 95% (C₂H₆O).
- 6.1.5. Acido borico (H₃BO₃).
- 6.1.6. Curcumina (C₂₁H₂₀O₆).
- 6.1.7. Acido ossalico diidrato (H₂C₂O₄•2H₂O).
- 6.1.8. Resina a scambio cationico forte in forma protonata.

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. 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 H₃BO₃ di elevata purezza (6.1.5.), previamente essiccato in stufa a 120 ± 5 °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) (5.1.1.).

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

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.2.1.). Conservare come descritto in (6.2.1.).

6.2.3. Soluzione di curcumina 0,40 g/L

Sciogliere 80 mg di $C_{21}H_{20}O_6$ (6.1.6.) e 10,0 g di $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ (6.1.7.) in 150 mL di etanolo (6.1.4.); aggiungere 8,4 mL di acido cloridrico (6.1.3.) e diluire a 200 mL con etanolo (6.1.4.). Filtrare la soluzione nel caso in cui sia torbida.

La soluzione è stabile per almeno una settimana se conservata a 5 ± 3 °C.

7. Procedura di misura

7.1. Taratura

- 7.1.1. Preparare una curva di taratura utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate.
 - 7.1.2. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro introdurre volumi di soluzione secondaria di riferimento (6.2.2.), compresi tra 50 e 1000 μ L, nelle capsule (5.1.3.); diluire, se necessario, a 1000 μ L con acqua (6.1.2.).
 - 7.1.3. Aggiungere 4,0 mL della soluzione di curcumina (6.2.3.) ad ogni capsula, agitare dolcemente con moto rotatorio ed evaporare, sotto cappa aspirante, a 55 ± 5 °C in bagno termostatico (5.1.2.) 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 taratura 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.
 - 7.1.4. Lasciar raffreddare le capsule a temperatura ambiente, aggiungere ad ognuna di esse 10 mL di etanolo (6.1.4.) e mescolare dolcemente fino a completa dissoluzione del residuo rosso.
 - 7.1.5. Trasferire quantitativamente il loro contenuto in matracci tarati da 25 mL e diluire al volume finale con etanolo (6.1.4.).
 - 7.1.6. Misurare l'assorbanza delle soluzioni alcoliche a 540 nm utilizzando cuvette con cammino ottico di 1 cm.
 - 7.1.7. Effettuare una prova in bianco dei reagenti operando come sopra descritto senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.
 - 7.1.8. Tracciare una curva di taratura ponendo in ordinata le assorbanze (corrette del bianco dei reattivi) e in ascissa le corrispondenti concentrazioni di boro espresse in mg/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 (6.1.8.) e agitare con ancorotta 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 (5.1.3.) e applicare la procedura indicata in 7.1.3 – 7.1.6.

Nel caso in cui la risposta del campione cada al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di taratura, 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 (7.1.7), risalire alla concentrazione del boro nel campione per interpolazione sulla curva di taratura (7.1).

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 caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Boro	≤ 10	≤ 10	≤ 0,1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3110: Boro (spettrofotometrico con curcumina).* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

BORO: METODO SPETTROFOTOMETRICO ALL'AZOMETINA H ISS.BHB.005.REV00

0. Introduzione

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 di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Può essere applicata in un intervallo di concentrazioni comprese tra 0,1 e 1 mg/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 con formazione di un complesso di colore 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 taratura 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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Non utilizzare vetreria in vetro borosilicato, in quanto può cedere l'analita alle soluzioni trattate. Al suo posto impiegare contenitori e attrezzature in polietilene, polipropilene o altro materiale plastico. Tutta la vetreria utilizzata, appropriatamente lavata dovrà essere risciacquata con acqua deionizzata e/o distillata (6.1.1) e quindi con acqua ultrapura esente da tracce di analita (6.1.2).

5.2. Strumentazione analitica e accessori

5.2.1. Spettrofotometro o colorimetro, munito di cuvette con cammino ottico di 1 cm, in grado di operare a 410-420 nm.

5.2.2. Filtri in estere (nitrato e/o acetato) di cellulosa con micropori da 0,45 μm .

5.2.3. Stufa termostatica programmabile a 20 ± 3 °C

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo puro per analisi.

6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata

6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di boro

6.1.3. Acido solforico (titolo 35%)

6.1.4. Acido ortofosforico concentrato (titolo 85 %)

6.1.5. Acido L(+)-ascorbico

6.1.6. Acetato di ammonio

6.1.7. Acido citrico

6.1.8. Sale disodico dell'acido etilendiamminotetracetico diidrato ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

6.1.9. 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 (6.1.5.) in acqua (6.1.2.) e diluire a 100 mL in un matraccio tarato. La soluzione è stabile per una settimana se conservata, ad una temperatura di 5 ± 3 °C, in una bottiglia di materiale plastico.

6.1.10. Soluzione tampone a pH = 5,9

Solubilizzare 125 g di acetato di ammonio (6.1.6.) in 125 mL di acqua (6.1.2.) e aggiungere, lentamente e sotto agitazione, 40 mL di acido solforico (6.1.3.), 2,5 mL di acido ortofosforico (6.1.4.), 0,50 g di acido citrico (6.1.7.) e 0,50 g di EDTA (6.1.8.). Se necessario scaldare leggermente. Conservare in bottiglia di materiale plastico.

6.1.11. Soluzione reagente

Mescolare uguali volumi dei reagenti (6.1.9.) e (6.1.10.) in una bottiglia di materiale plastico. Questa soluzione deve essere preparata ogni volta che si esegue l'analisi.

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. 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 $120^\circ \pm 5^\circ C$ 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).

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

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2) la soluzione primaria di riferimento (6.2.1). Conservare come descritto in 6.2.1.

7. Procedura di misura

7.1. Taratura

- 7.1.1. Preparare una curva di taratura utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate.
- 7.1.2. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro introdurre volumi di soluzione secondaria di riferimento (6.2.2) compresi tra 50 e 1000 μL in matracci tarati di plastica da 100 mL e aggiungere 10 mL della soluzione reagente (6.1.11).
- 7.1.3. Diluire al volume finale con acqua (6.1.2.), mescolare e attendere 2 ore conservando le soluzioni al buio e alla temperatura di $20 \pm 3^\circ C$.
- 7.1.4. Misurare l'assorbanza ad una lunghezza di 410-420 nm utilizzando cuvette con cammino ottico compreso tra 1 e 5 cm.
- 7.1.5. Effettuare una prova in bianco dei reagenti operando come sopra descritto senza aggiungere la soluzione secondaria di riferimento.
- 7.1.6. Tracciare una curva di taratura ponendo in ordinata le assorbanze (corrette del bianco dei reattivi) e in ascissa le corrispondenti concentrazioni di boro espresse in mg/L.

7.2. Dosaggio del campione

Introdurre 25 mL di campione in un matraccio tarato di plastica da 100 mL, aggiungere 10 mL di soluzione reagente (6.1.11) e applicare la procedura indicata in 7.1.3 – 7.1.4.

Nel caso in cui la risposta del campione cada al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di taratura, 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 per interpolazione sulla curva di taratura.

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 caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Boro	≤ 10	≤ 10	≤ 0,1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

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

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

CIANURI TOTALI: METODO SPETTROFOTOMETRICO CON PIRAZOLONE – PIRIDINA ISS.BHC.010.REV00

0. Generalità e definizioni

I cianuri possono essere presenti nell'acqua destinata al consumo umano di qualunque provenienza sotto forma di cianuro libero o come complessi metallici solubili compresi i composti organici contenenti il gruppo -CN che, nelle condizioni del metodo, liberano acido cianidrico.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il campo di applicazione è compreso nell'intervallo 5 - 1000 µg/L.

2. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla distillazione dell'acido cianidrico che si libera nel campione in seguito al riscaldamento in apposita apparecchiatura (si può usare anche un distillatore in corrente di vapore), reso acido per aggiunta di acido solforico.

L'acido cianidrico, trascinato in corrente di aria, viene intrappolato in una soluzione di idrossido di sodio.

Un'aliquota della soluzione assorbente viene trattata con clorammina T. In queste condizioni l'acido cianidrico si trasforma in cloruro di cianogeno che, fatto reagire con piridina – pirazolone, produce un complesso di colore azzurro.

La determinazione della concentrazione di analita è eseguita per dosaggio spettrofotometrico dell'intensità del colore a 620 nm e calcolo per interpolazione su curva di taratura.

3. Interferenze e cause di errore

L'analisi dei cianuri, nelle condizioni adottate, non risente di interferenze significative da parte dei componenti normalmente presenti in un'acqua destinata al consumo umano.

Le interferenze conosciute sono infatti eliminate o significativamente ridotte attraverso il processo di distillazione.

4. Campionamento e conservazione

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Attrezzatura di uso comune in laboratorio, e:

5.1.1. Bottiglie in vetro o polietilene da 1L

La vetreria, ad esclusione di quella monouso, prima del suo uso, deve essere accuratamente lavata con acqua ottenuta dalla deionizzazione o dalla distillazione di quella potabile (6.1.1) e risciacquata con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.2).

5.2. Strumentazione analitica e accessori

5.2.1. Apparecchio di distillazione

Costituito generalmente da un pallone a tre vie, un imbuto da carico, un refrigerante ad acqua, un termometro e due assorbitori. Può essere utilizzato un distillatore Kjeldahl oppure un distillatore in corrente di vapore.

5.2.2. Spettrofotometro

Idoneo per misure di assorbanza a 620 nm.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Utilizzare reagenti di grado HPLC o superiore.

- 6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata
- 6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di boro
- 6.1.3. Cianuro di potassio (KCN)
- 6.1.4. Idrossido di sodio (NaOH)
- 6.1.5. Acido solforico (H_2SO_4)
- 6.1.6. Acido acetico ($C_2H_4O_2$)
- 6.1.7. Clorammina T ($CH_3C_6H_4SO_2NCINa \cdot 3H_2O$)
- 6.1.8. 3-Metil-1-fenil-2-pirazolin-5-one ($C_{10}H_{10}N_2O$)
- 6.1.9. Piridina (C_5H_5N)
- 6.1.10. Bis-pirazolone ($C_{20}H_{18}N_4O_2$)
- 6.1.11. Nitrato di argento ($AgNO_3$)
- 6.1.12. Diidrogeno fosfato di potassio (KH_2PO_4)
- 6.1.13. Idrogeno fosfato disodico (Na_2HPO_4)
- 6.1.14. Cloruro di stagno cloruro ($SnCl_4$)
- 6.1.15. Idrossido di potassio (KOH)
- 6.1.16. Cloruro di sodio (NaCl)
- 6.1.17. Cromato di potassio (K_2CrO_4)
- 6.1.18. Indicatore p-dimetilamminobenzilidenerodanina
- 6.1.19. Acetone (C_3H_6O)

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. Soluzione di idrossido di sodio 1M

Sciogliere 40g di idrossido di sodio (6.1.3.) in 1000 mL di acqua (6.1.2.)

6.2.2. Soluzione di idrossido di sodio 0,2 M

Aggiungere ad un volume di soluzione (6.2.1.) 4 volumi di acqua (6.1.2.)

6.2.3. Soluzione di acido solforico 1 +1

Aggiungere ad un volume di acido solforico (6.1.5.) 1 volume di acqua (6.1.2.)

6.2.4. Soluzione di acido acetico 1+5

Aggiungere ad un volume di acido acetico (6.1.6.) 5 volumi di acqua (6.1.2.)

6.2.5. Soluzione di Cloramina T

Sciogliere 10 g di cloramina T (6.1.7.) in 1000 mL di acqua (6.1.2.)

Conservare il sale in frigorifero in una busta con gel di silice; la soluzione è stabile per una settimana e va conservata in frigorifero.

6.2.6. Soluzione di 3-Metil- 1 fenil-2-pirazolin-5-one

Preparare una soluzione satura (5 g/L) aggiungendo 0,25 g pirazolone (6.1.8.) a 50 mL di acqua (6.1.2.), riscaldare a 60 °C sotto agitazione fino a completo dissolvimento.

Raffreddare a temperatura ambiente.

6.2.7. Reattivo misto piridina-pirazolone

Miscelare 125 mL di soluzione filtrata 6.2.6. con la soluzione ottenuta sciogliendo 0,025 g di bispirazolone (6.1.10.) in 25 mL di piridina (6.1.9.).

Preparare questo reattivo giornalmente.

6.2.8. Soluzione standard concentrata di cianuro (1 mL = 1 mg)

Sciogliere 2,51 g di KCN (6.1.3.) e 2 g di KOH (6.1.15.) in 900 mL di acqua (6.1.2.).

Controllare il titolo ogni settimana con nitrato d'argento a titolo noto (metodo Liebig modificato-vedi 7.2.). Usare tutte le precauzioni suggerite per la manipolazione di sostanze estremamente tossiche.

6.2.9. Soluzione standard diluita I di cianuro (1 mL = 10 µg)

Diluire 10 mL della soluzione (6.2.8.) a 1000 mL (6.1.2.). La soluzione va preparata giornalmente.

6.2.10. Soluzione standard diluita II di cianuro (1 mL = 1 µg)

Diluire 10 ml della soluzione (6.2.10.) a 100 ml (6.1.2.). La soluzione va preparata giornalmente.

6.2.11. Soluzioni di taratura

Diluire opportunamente in un appropriato volume di soluzione concentrata (6.2.8.) o diluita (6.2.9. o 6.2.10.) in acqua (6.1.2.) fino a raggiungere la concentrazione prefissata; quest'ultima deve essere definita in modo da ottenere almeno 4 soluzioni di taratura di diversa concentrazione (includendo

eventualmente anche le soluzioni di cui a 6.1.9. e/o 6.1.10.) da utilizzare per la costruzione di una curva di taratura ad almeno 4 livelli nel range di interesse.

6.2.12. Soluzione di nitrato di argento 0,01N

Sciogliere 3,2427 g di nitrato d'argento (6.1.11.) seccato a $140^{\circ} \pm 5$ C, in 1000 ml di acqua (6.1.2.). Il titolo di questa soluzione viene determinato con una soluzione standard di cloruro di sodio usando come indicatore cromato di potassio (6.1.17.). Sulla base del titolo così determinato, diluire opportunamente 500 mL di soluzione (6.2.12.) per far sì che 1 mL equivalga a 1 mg di CN.

6.2.13. Tampone fosfato

Sciogliere in acqua 3,390 g di diidrogeno fosfato di potassio (6.1.12.) e 3,530 g di idrogeno fosfato disodico (6.1.13.). Portare a 100 mL con acqua (6.1.2.).

6.2.14. Soluzione di indicatore al p-dimetilaminobenzilidenerodanina (0,2 g/L)

Sciogliere 0,02 g di p-dimetilaminobenzilidenerodanina (6.1.18.) in 100 mL di acetone (6.1.19.).

7. Procedimento

7.1. Distillazione dell'acido cianidrico

- 7.1.1. Introdurre nell'apparato di distillazione (5.2.1.) un campione di 500 mL, o una quantità proporzionalmente inferiore, che si diluirà, in ogni caso, a 500 mL con acqua (6.2.1.).
- 7.1.2. Aggiungere lentamente, dall'apposito imbuto, 50 ml di acido solforico 1:1 (6.2.5.);
- 7.1.3. Riscaldare il pallone e proceder con la distillazione fino a raccogliere un volume di circa 60 ml di distillato in un cilindro da 100 ml.

7.2. Determinazione volumetrica mediante titolazione di Liebig modificata

- 7.2.1. Prelevare un volume B del distillato portato a volume (7.1.3.);
- 7.2.2. Aggiungere 0,5 mL di soluzione di p-dimetilaminobenzilidenerodanina (6.2.14.) e titolare con la soluzione di nitrato di argento (6.2.12.) finché il colore vira dal giallo al rosa.
- 7.2.3. Eseguire anche una prova in bianco su un identico volume B di acqua (6.1.2.) contenente la stessa quantità di idrossido di sodio contenuto nella soluzione sottoposta a titolazione.

7.3. Taratura

- 7.3.1. Trasferire un'aliquota di 10 mL di ciascuna soluzione di taratura (6.2.11.), ciascuna in un diverso cilindro graduato a tappo smerigliato da 100 mL; trasferire in un altro cilindro 10 mL di acqua (6.1.2.) (bianco).
- 7.3.2. Aggiungere 5 mL di idrossido di sodio 0,2 M (6.2.2.).
- 7.3.3. Trattare le soluzioni contenute nei cilindri con 3 mL della soluzione tampone (6.2.13.), e portare a pH 7-7,4 con acido acetico 1+5 (6.2.4.), operando velocemente con lenta agitazione ed evitando di scendere sotto il valore di pH 7.
- 7.3.4. Portare a volume 100 in matraccio tarato.
- 7.3.5. Prelevare 10 mL in matraccio da 25 mL e aggiungere 0,2 mL della soluzione di clorammina T (6.2.5.), tappare i matracci, mescolare per rovesciamento due o tre volte e lasciare riposare per due minuti.

- 7.3.6. Aggiungere 5 mL di reattivo misto piridina-pirazolone (6.2.7.), tappare di nuovo e mescolare per rovesciamento.
- 7.3.7. Lasciare sviluppare il colore per 20 minuti.
- 7.3.8. Diluire a volume di 25 mL con acqua (6.1.2.).
- 7.3.9. Mescolare e determinare l'assorbanza delle soluzioni a 620 nm contro il bianco.
- 7.3.10. Costruire un grafico di taratura assorbanza/milligrammi CN.

7.4. Dosaggio

- 7.4.1. Prelevare il distillato del campione (7.1.3.)
- 7.4.2. Aggiungere 3 mL della soluzione tampone (6.2.13.) e portare a pH 7-7.4 con la soluzione di acido acetico 1+5 (6.2.4.), operando velocemente con lenta agitazione ed evitando di scendere sotto il valore di pH 7.
- 7.4.3. Portare a volume 100 in matraccio tarato.
- 7.4.4. Prelevare 10 mL di soluzione (7.4.3.) in matraccio da 25 mL e aggiungere 0,2 mL della soluzione di cloramina T (6.2.5.), tappare il matraccio, mescolare per rovesciamento due o tre volte e lasciare riposare per 2 minuti.
- 7.4.5. Aggiungere 5 mL di reattivo misto piridina-pirazolone (6.2.7.), tappare di nuovo e mescolare per rovesciamento lasciando quindi sviluppare il colore per 20 minuti
- 7.4.6. Diluire a volume di 25 mL con acqua (6.1.2.).
- 7.4.7. Miscelare e determinare l'assorbanza delle soluzioni a 620 nm contro il bianco (7.3.1.).

8. Espressione dei risultati

La concentrazione in cianuro del campione in esame espressa in mg/L viene calcolata come segue:

$$CN(mg/l) = \frac{A \cdot C \cdot 1000}{B \cdot D}$$

Dove:

A = mg CN letti sulla curva di taratura (7.4.7.);

B = volume (in ml) di distillato utilizzato per il dosaggio colorimetrico (7.4.1.);

C = volume totale (in ml) del distillato, raccolto in matraccio e portato con i lavaggi a volume (7.1.3.);

D = volume (in ml) di campione sottoposto a distillazione (7.1.1.).

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti relativi alla precisione.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Cianuro	≤ 10	≤ 10	≤ 5

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 4070: *Cianuro metodo 4070*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

AMMONIO: METODO SPETTROFOTOMETRICO AL SALICILATO – IPOCLORITO (INDOFENOLO)

ISS.BHE.019.REV00

0. Generalità e definizioni

La presenza dello ione ammonio, generalmente derivata da deaminazione di sostanze organiche azotate o dal dilavamento di fertilizzanti, è abbastanza comune nelle acque superficiali destinate alla produzione di acqua destinata al consumo umano. Nelle acque sotterranee è raramente evidenziata in quanto lo ione ammonio tende ad essere adsorbito dal terreno. Fanno eccezione le acque provenienti da acquiferi torbosi dove la concentrazione di ammonio può raggiungere valori di alcuni milligrammi al litro.

Diversi metodi sono proposti per la determinazione dello ione ammonio nelle acque in funzione della concentrazione e dei possibili interferenti. Il metodo proposto risulta particolarmente appropriato alla determinazione dello ione ammonio nei campioni e alle concentrazioni solitamente ritrovate nelle acque destinate o da destinarsi al consumo umano.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,05 e 1,00 mg/L; il campo può essere esteso a concentrazioni superiori previa diluizione del campione.

2. Principio del metodo

Lo ione ammonio contenuto nel campione viene fatto reagire con salicilato e ipoclorito in presenza di nitroprussiato sodico come catalizzatore; l'intensità del colore blu del complesso che si forma (indofenolo) viene misurata allo spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 640 nm.

Dalla misura spettrofotometrica dell'assorbanza della soluzione si ricava la concentrazione dello ione ammonio presente nel campione in esame per interpolazione su curva di taratura ottenuta con soluzioni a concentrazioni note comprese nel campo di indagine analitica.

3. Interferenze e cause di errore

Il metodo non presenta normalmente interferenze per le acque di cui al campo di applicazione.

Alcune sostanze interferenti potrebbero essere costituite da ammine primarie, cloroammine, sali di rame, zinco e ferro laddove siano presenti in concentrazioni sensibilmente (circa 100 volte) superiori a quella dello ione ammonio.

Sono state inoltre individuate interferenze per campioni molto acidi; si raccomanda pertanto di effettuare una neutralizzazione del campione se questo è stato acidificato ad esempio per la sua conservazione.

Come per tutte le metodiche di analisi spettrofotometriche interferiscono la torbidità e il colore del campione: queste possono essere eliminate o per semplice diluizione o filtrazione oppure mediante distillazione.

Per prevenire la precipitazione dei metalli alcalino-terrosi che nell'intervallo di pH a cui avviene la reazione porterebbero alla formazione di precipitati e quindi a indesiderata torbidità può essere utilmente addizionato al campione sodio citrato.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

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.

I campioni devono essere conservati ad una temperatura di 1-10 °C ed essere analizzati entro le 24 ore dal prelievo. Se si prevede che l'analisi avvenga dopo le 24 ore, il campione può essere congelato a -20 °C ovvero acidificato a $\text{pH} \leq 2$ e conservato a 1-10 °C fino al momento dell'analisi; in questo ultimo caso è importante neutralizzare il campione prima di procedere alla determinazione. Poiché sia l'acido che l'idrossido utilizzati possono contenere ammoniaca come impurezze è opportuno adottare questa procedura di conservazione solo se strettamente necessario per determinazione di ione ammonio in tracce: in questo caso ci si dovrà assicurare del livello di contaminazione dei prodotti utilizzati.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria e 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 già utilizzato, per l'analisi, deve essere risciacquato con acqua deionizzata (6.1.1.) e infine con acqua ultrapura (6.1.2.) e, preferibilmente, dedicato allo stesso riutilizzo. Evitare contaminazioni da parte dell'ambiente.

5.2. Strumentazione analitica e accessori

Spettrofotometro UV-VIS in grado di operare a 640 nm con celle da 1 cm ed, eventualmente, da 5 cm di cammino ottico.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di grado analitico o superiore.

6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata

Da utilizzare tra l'altro in fase di risciacquo della vetreria.

6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di ammonio e interferenti

Da utilizzare per diluizione di soluzioni e reagenti.

6.1.3. Soluzione di salicilato – catalizzatore

Sciogliere in un beaker da 250 mL 44 ± 1 g di salicilato di sodio ($2\text{-HOC}_6\text{H}_4\text{COONa}$) più $0,028 \pm 0,002$ g di nitroprussiato di sodio [$\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$] (utilizzare dispositivi di protezione individuale tenendo conto della tossicità della sostanza) in circa 80 mL di acqua (6.1.2.) (se necessario scaldare a bagnomaria per favorire la dissoluzione). Portare a 100 mL con acqua (6.1.2.). La soluzione scurisce nel tempo, provocando un aumento dell'assorbanza del bianco dei reattivi e dei campioni, ma è stabile per circa 3 mesi se conservata al buio a $+5 \pm 3$ °C.

6.1.4. Soluzione alcalina – citrato

Sciogliere in acqua (6.1.2.) $18,5 \pm 0,1$ g di NaOH più $121,44 \pm 0,01$ g di citrato trisodico 5,5 idrato ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$) (o alternativamente $100 \pm 0,5$ g di citrato trisodico biidrato $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e portare a 1000 mL con acqua (6.1.2.). La soluzione è stabile a temperatura ambiente.

6.1.5. Soluzione di ipoclorito di sodio al 5%

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) una soluzione a titolo noto¹ di ipoclorito di sodio (NaClO). La soluzione si decompone lentamente e va conservata in frigorifero a 5 ± 3 °C in bottiglia scura chiusa ermeticamente; il suo titolo va controllato ogni mese (vedi nota in calce).

6.1.6. Soluzione di ipoclorito di sodio - alcalina

Mescolare 1 volume della soluzione di ipoclorito (6.1.5.) con 9 volumi della soluzione alcalina - citrato (6.1.4.). Questa soluzione va preparata sul momento e va utilizzata entro 1 ora dalla sua preparazione.

6.1.7. Soluzione primaria di riferimento di cloruro d'ammonio (1 mL = 0,5 mg NH_4)

Può essere ottenuta:

- utilizzando prodotti reperibili in commercio da usare tal quali o previa diluizione;
- mediante preparazione in laboratorio pesando il seguente sale di elevata purezza:

pesare con la precisione di 1 mg 1,483 g di cloruro di ammonio anidro (NH_4Cl) essiccato per 2 ore a 100 ± 5 °C; sciogliere in acqua (6.1.2.) e diluire a 1000 mL in matraccio tarato (classe "A").

6.1.8. Soluzione diluita di riferimento di cloruro d'ammonio (1 mL = 0,05 mg NH_4)

Introdurre 10 mL della soluzione primaria di riferimento (6.1.7.) in un matraccio tarato da 100 mL e diluire a volume con acqua (6.1.2.).

6.1.9. Ioduro di potassio (KI)

6.1.10. Soluzione di tiosolfato di sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01 N

Può essere ottenuta:

- utilizzando prodotti reperibili in commercio da usare tal quali o previa diluizione;
- mediante preparazione in laboratorio sciogliendo, in un matraccio tarato da 1 L, 2,5 g di tiosolfato di sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) in circa 800 mL di acqua (6.1.1.). Aggiungere come stabilizzante 1 g di carbonato di sodio (Na_2CO_3) oppure 4 g di tetraborato di sodio

($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Portare a 1 L con acqua (6.1.1.). Il controllo del titolo della soluzione di tiosolfato viene eseguito con soluzioni 0,01 N di KIO_3 o $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ disponibili in commercio o preparate sciogliendo 0,3567 g di KIO_3 o 0,3250 g di $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ in acqua (6.1.1.) e diluendo ad 1 L. In una beuta con tappo a smeriglio sciogliere 1 g di KI (6.1.9.) in circa 100 mL di acqua (6.1.1.). Aggiungere 5 mL di HCl (6.1.11.) e trasferire nella beuta 25-30 mL di soluzione di iodato o di idrogenoiodato di potassio precedentemente preparata. Titolare immediatamente con la soluzione di tiosolfato usando salda d'amido come indicatore, secondo le modalità indicate di seguito. Noti il volume e la normalità della soluzione di riferimento e il volume di tiosolfato consumato nella titolazione ricavare la normalità della soluzione di tiosolfato.

6.1.11. Soluzione di HCl concentrata (d= 1,19 kg/L)

6.1.12. Soluzione di salda d'amido all'1% in acqua

Può essere un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o ottenuto nel seguente modo: porre in un mortaio 5-6 g di amido e alcuni millilitri di acqua fredda. Macinare la pasta risultante, che viene poi versata in 1000 mL di acqua bollente. Far bollire per pochi minuti e lasciar depositare una notte. Utilizzare il liquido sovrastante. La soluzione può essere stabilizzata aggiungendo, per ogni litro, circa 1 g di acido salicilico o qualche goccia di toluene.

7. Procedimento

7.1. Taratura

- 7.1.1. Preparare le soluzioni di lavoro per la curva di taratura, almeno tre oltre al bianco, scegliendole nel campo di indagine analitico, diluendo opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.1.7.) e/o quella diluita (6.1.8.). Si consiglia il prelievo di volumi di soluzione compresi tra 100 e 1000 μL e si raccomanda di evitare il più possibile il contatto con l'atmosfera del laboratorio in cui possono essere presenti tracce di ammoniaca.
- 7.1.2. Trasferire le soluzioni (7.1.1) in cilindri graduati di vetro da 25 mL muniti di tappo avvinando più volte.
- 7.1.3. Aggiungere nell'ordine: 3 mL della soluzione 6.1.3. (tappare e agitare capovolgendo), quindi 5 mL della soluzione 6.1.6. (preparata di fresco); tappare, agitare capovolgendo e porre al buio per 60 minuti.
- 7.1.4. La lettura fotometrica è effettuata sullo spettrofotometro 5.2. a 640 nm con celle da 1 cm.
- 7.1.5. Costruire la curva di taratura riportando in ascissa i mg/L di NH_4^+ , e in ordinata i corrispondenti valori di assorbanza (corretti del bianco dei reattivi).

7.2. Dosaggio del campione

Se il campione risulta torbido, prima di effettuare l'aggiunta dei reattivi, occorre filtrare su membrana da 0,45 μm .

Prelevare quindi 25 mL di campione e procedere come descritto al punto 7.1.

Qualora il valore dell'assorbanza cada al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di taratura, ripetere l'analisi previa opportuna diluizione del campione.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

La concentrazione di analita nel campione viene determinata per interpolazione sulla curva di taratura previa correzione del bianco reattivi. Nel caso in cui il campione sia stato diluito, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Si mette in evidenza che i valori di assorbanza dei bianchi sono relativamente alti e solitamente intorno a qualche decina di milliassorbanze per le celle da 1 cm

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere le concentrazioni dell'ammonio nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Ammonio	≤ 10	≤ 10	≤ 0,05

Note

Nota 1 Controllo della soluzione di ipoclorito di sodio: In una beuta da 200 - 250 mL con tappo a smeriglio, introdurre circa 1 g di potassio ioduro (6.1.9.), 100 mL di acqua (6.1.1.), 5 mL di soluzione di HCl (6.1.11.). Agitare fino a completa dissoluzione dello ioduro di potassio (KI). Parallelamente prelevare con micropipetta 500 µL della soluzione da controllare e portare a 100 mL con acqua (6.1.1.). Prelevare quindi 10,00 mL di quest'ultima soluzione, introdurla nella beuta contenente la soluzione di KI e titolare con una soluzione di tiosolfato di sodio (Na₂S₂O₃) 0,01 N fino a colore giallo paglierino; aggiungere 2 mL di indicatore (saldia d'amido) e continuare a titolare fino a scomparsa del colore azzurro.

Calcoli: la percentuale di cloro attivo si calcola come segue:

$$Cl\% = V \times 0,02 \times 35,46 = V \times 0,7092$$

dove V = volume in millilitri di soluzione di Na₂S₂O₃ 0,01 N

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 4030: *Determinazione dell'azoto ammoniacale*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

Carol E Bowerand, Thomas Holm-Hansen. "A Salicylate - Hypochlorite Method for Determing Ammonia in Seawater." *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37 (1980) pagg. 794-798.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

CLORURO: TITOLAZIONE ARGENTOMETRICA SECONDO MOHR ISS.BEA.020.REV00

0. Generalità e definizioni

I cloruri sono naturalmente presenti nelle diverse tipologie di acqua. La loro presenza, al di sopra di una soglia relativa di concentrazione, può impartire all'acqua caratteristiche organolettiche negative e può essere considerata, in alcuni casi, come un indice di eventuale inquinamento antropico, che va rapportato ad altre indicazioni di tipo analitico e ambientale.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

La concentrazione minima rivelabile è di 5 mg/L.

2. Principio del metodo

La procedura analitica si basa sulla determinazione dello ione cloruro mediante titolazione con una soluzione di nitrato di argento (AgNO_3) 0,1 M in ambiente neutro o leggermente basico utilizzando cromato di potassio (K_2CrO_4) come indicatore.

In tali condizioni lo ione cloruro precipita quantitativamente come cloruro di argento (AgCl) di colore bianco azzurrognolo e, successivamente, dà luogo a formazione di cromato di argento (Ag_2CrO_4) di colore rosso mattone, persistente (indicatore).

3. Interferenze e cause di errore

La determinazione analitica del contenuto di ioni cloruro non è generalmente affetta da errori dovuti ad interferenze dei componenti normalmente presenti in acque destinate al consumo umano.

Tuttavia, la procedura non risulta sufficientemente selettiva in presenza di ioni bromuro, e solfuro che, se presenti in concentrazione maggiore di 3 e 0,8 mg/L rispettivamente, possono portare ad una sovrastima nel dosaggio dell'analita.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

- 5.1.1. Bottiglie in vetro borosilicato o polietilene da 1L
- 5.1.2. Buretta da 25 mL; suddivisione 0,05 mL
- 5.1.3. Agitatore elettromagnetico provvisto di ancoretta agitatrice
- 5.1.4. Stufa

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Utilizzare reagenti di grado HPLC o superiore.

- 6.1.1. acqua ultrapura esente da tracce dell'analita
- 6.1.2. nitrato di argento (AgNO_3)
- 6.1.3. potassio cromato (K_2CrO_4)
- 6.1.4. cloruro di sodio (NaCl)
- 6.1.5. acido nitrico (HNO_3)
- 6.1.6. idrato di sodio (NaOH)
- 6.1.7. fenolfaleina (3,3-bis(4-idrossifenile)-1,(3H)-isobenzofuranone)
- 6.1.8. etanolo al 95%

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. Soluzione di nitrato di argento 0,1 M

La soluzione di titolante può essere preparata utilizzando fiale Normex reperibili in commercio od operando nel modo seguente:

- si pesano 17,000 g di nitrato di argento (6.1.2.), previamente essiccato in stufa a 105 ± 5 °C (5.1.4.) sino a peso costante e si introducono in un matraccio tarato da 1000 mL;
- Dopo solubilizzazione della quantità pesata di nitrato di argento (6.1.2.), si porta a volume con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita, avendo cura di ben omogeneizzare la soluzione. La soluzione preparata va conservata in bottiglia di vetro scuro.

6.2.2. Soluzione di potassio cromato 100 g/L (indicatore)

Pesare 10,000 g di potassio cromato (6.1.3.) in un matraccio tarato da 100 mL, solubilizzare e diluire a volume con acqua (6.1.1.).

6.2.3. Soluzione di riferimento di cloruro di sodio 0,1 M

Pesare 5,844 g di cloruro di sodio (6.1.4.), previamente essiccato in stufa a 105 ± 5 °C (5.1.4.) sino a peso costante, e introdurla in un matraccio tarato da 1000 mL. Solubilizzare e diluire a volume con acqua (6.1.1.), quindi omogeneizzare.

6.2.4. Soluzione di acido nitrico 0,1 M

Prelevare 6,7 mL di acido nitrico (6.1.5.), $d = 1,4 \text{ g/mL}$, trasferirli in un matraccio tarato da 1000 mL. Diluire a volume con acqua (6.1.1.), quindi omogeneizzare.

6.2.5. Soluzione di sodio idrato 0,1 M

Pesare 4,0 g di idrato di sodio (6.1.6.) e introdurla in un matraccio tarato da 1000 mL. Solubilizzare e diluire a volume con acqua (6.1.1.), quindi omogeneizzare.

6.2.6. Fenolftaleina indicatore, soluzione 5 g/L

Pesare $0,50 \pm 0,01 \text{ g}$ di fenolftaleina (6.1.7.) in un matraccio tarato da 100 mL, aggiungere 55 mL di etanolo 95 % (6.1.8.) e solubilizzare. Portare a volume con acqua (6.1.1.).

7. Procedura di misura**7.1. Standardizzazione della soluzione di nitrato di argento (AgNO_3) 0,1N**

Questa procedura viene utilizzata solo nel caso che l'analista abbia preparato la soluzione di AgNO_3 per via ponderale senza ricorrere all'utilizzo di fiale Normex (6.2.1).

7.1.1. Trasferire mediante buretta (5.1.2.) 10 mL di soluzione di riferimento (6.2.3) in una beuta da 250 mL, aggiungere 90 mL di acqua (6.1.1.), introdurre una barretta agitatrice, porre su agitatore elettromagnetico (5.1.3.) e omogeneizzare.

7.1.2. Aggiungere 1 mL di potassio cromato (6.2.2.), regolare l'agitazione e titolare con la soluzione di argento nitrato 0,1 M (6.2.1.) sino a viraggio persistente.

7.1.3. Effettuare una prova in bianco operando come sopra descritto direttamente su 100 mL di acqua (6.1.1.), senza i 10 mL di soluzione (6.2.3.).

7.1.4. Il titolo effettivo della soluzione di AgNO_3 risulta pertanto valutabile come:

$$M_{eff} = \frac{10 \cdot M}{V - V_1}$$

dove:

M = molarità esatta della soluzione di cloruro di sodio (6.2.3.) calcolata sulla base della pesata esatta di NaCl

10 = millilitri di soluzione di riferimento (6.2.3.) prelevati in 7.1.1.

V = volume in mL della soluzione di AgNO_3 da standardizzare usati in 7.1.2.

V_1 = volume in mL della soluzione di AgNO_3 da standardizzare usati in 7.1.3.

7.2. Determinazione

7.2.1. Prelevare 100 mL di campione, oppure un volume inferiore esattamente misurato (V_0) e trasferirli in una beuta da 250 mL. Diluire eventualmente a 100 mL con acqua (6.1.1.), introdurre una barretta agitatrice e qualche goccia di fenolftaleina (indicatore) (6.2.6.), porre su agitatore elettromagnetico (5.1.3.) e agitare. Portare a giusto viraggio della fenolftaleina mediante aggiunta di sodio idrossido (6.2.4.) e/o acido solforico (H_2SO_4) 0,1 N.

7.2.2. Aggiungere 1 mL di cromato di potassio (6.2.2.) e titolare con soluzione di AgNO_3 0,1 N (6.2.1.) aggiunta goccia a goccia sino a viraggio persistente (colore bruno - rossastro). Annotare il consumo di AgNO_3 0,1 M (V_1).

7.2.3. Effettuare una prova in bianco, operando come descritto in 7.1.3., sostituendo la produzione per analisi con acqua.

8. Espressione dei risultati

Il contenuto di ioni cloruro, espresso come mg/L di Cl^- è dato dalla seguente formula:

$$(mg/L)Cl^- = \frac{(V_1 - V_2) \cdot M_{eff} \cdot 35,453 \cdot 1000}{V_0}$$

dove:

V_0 = volume in mL di campione prelevato per l'analisi (7.2.1.);

V_1 = volume in mL di argento nitrate 0,1 M usati nella titolazione del campione (7.2.2.);

V_2 = volume in mL di argento nitrate 0,1 M usati nella titolazione del campione (7.2.3.);

35,453 = peso atomico dello ione cloruro (Cl^-).

M_{eff} = molarità esatta della soluzione di argento nitrate 0,1 N calcolata come riportato in 7.1.4.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Cloruro	≤ 10	≤ 10	≤ 5

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 4090: Cloruro. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

CORO LIBERO E CORO TOTALE: METODO COLORIMETRICO ALLA N,N-DIETIL-p- FENILENDIAMMINA ISS.BHD.033.REV00

0. Generalità e definizioni

Il cloro, è reperibile in commercio in diverse forme gassose e in soluzione come ipoclorito; a tutt'oggi costituisce l'agente chimico più usato per il trattamento di ossidazione e di disinfezione delle acque destinate al consumo umano. Ciò, grazie soprattutto alla sua elevata azione biocida, che continua ad esplicarsi nel tempo anche durante il trasporto e la distribuzione dell'acqua.

L'additivazione di sostanze chimiche ossidanti a base di cloro comporta la presenza in acqua di diverse specie chimiche in funzione delle concentrazioni di agente impiegato e delle caratteristiche fisico-chimiche dell'acqua trattata, in particolar modo condizioni di temperatura e pH (Tabella 1). In particolare all'aumentare del pH la specie prevalente è il cloro disciolto ($\text{Cl}_2(\text{aq})$). A pH 6 e alla temperatura di 5°C il contenuto di cloro totale corrisponde a quello dell' HClO , mentre a 25°C e a pH 9, a parità di concentrazione di HClO , il contenuto di cloro totale risulta circa 30 volte superiore.

In presenza di ammoniaca e di sostanze organiche azotate si verifica rispettivamente la formazione di cloroammine inorganiche – mono- (NH_2Cl), di- (NHCl_2) e tricoloroammine (NCl_3) – e organiche, che possono presentare una discreta persistenza in soluzione.

Laddove il cloro è presente in acqua in forma disponibile e quindi in grado di agire come ossidante, i termini disponibile, libero, attivo e residuo, variamente usati in letteratura, sono equivalenti.

Tabella 1. Prospetto dei termini e dei sinonimi riguardanti le specie di cloro presenti in soluzione

Termine	Sinonimo	Specie	Formula
Cloro residuo libero	Cloro disponibile Cloro attivo libero Cloro residuo Cloro libero	Cloro Acido ipocloroso Ipoclorito	$\text{Cl}_2(\text{aq})$ HClO ClO^-
Cloro residuo combinato	Cloroammine	inorganiche organiche	NH_2Cl NHCl_2 NCl_3 RNHCl R_2NCl RNC_2
Cloro totale	Cloro residuo totale	Cloro Acido ipocloroso Ipoclorito Cloroammine	$\text{Cl}_2(\text{aq})$ HClO ClO^- (vedi sopra)

1. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile per la determinazione del cloro libero (OCl^- , HOCl e $\text{Cl}_2(\text{aq})$) e del cloro totale nelle acque mediante un procedimento semplice basato su una misura dell'intensità di colore sviluppato dalla reazione tra cloro e N,N-diethyl-p-fenilendiammina (DPD) e misurabile per mezzo di

uno spettrofotometro. Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Impiegando campioni di 100 mL, il metodo è applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,05 e 4 mg/L di cloro libero. Per concentrazioni superiori si procede ad una preventiva diluizione.

2. Principio del metodo

2.1. Determinazione del cloro libero

Viene eseguita mediante la reazione diretta tra cloro e DPD a pH compreso tra 6,2 e 6,5 con conseguente sviluppo di un colore rosso. Segue un dosaggio spettrofotometrico alla lunghezza d'onda di 510 nm dell'intensità del colore.

2.2. Determinazione del cloro totale

Si basa sulla reazione colorimetrica tra la DPD e il campione in presenza di un eccesso di potassio ioduro (6.5); la misura finale viene effettuata con le stesse modalità adottate per la misura del cloro libero (2.1).

3. Interferenze e cause di errore

L'ossidazione dell'*N,N*-dietyl-*p*-fenilendiammina (DPD) ad opera dei composti del cloro non è specifica; anche altre specie ossidanti, quali bromo, iodio, bromoammine, iodioammine, ozono, acqua ossigenata e manganese biossido, possono reagire nello stesso modo. Nella generalità dei casi, tuttavia, queste sostanze interferenti sono presenti nelle acque potabili in concentrazioni trascurabili. L'ossigeno disciolto interferisce quando presente in concentrazioni superiori a 10 mg/L.

Il manganese allo stato ossidato interferisce, ma tale interferenza può essere corretta mediante una determinazione preliminare in presenza di arsenito di sodio come in seguito descritto (7.2.3).

Le interferenze di ferro (III) e rame (II) fino a 10 mg/L possono essere ridotte mediante aggiunta di EDTA alla soluzione tampone o a quella reagente DPD.

La reazione colorimetrica deve avvenire a temperatura ambiente e a pH compreso tra 6,2 e 6,5. Con temperature elevate può, infatti, verificarsi l'idrolisi delle cloroammine che può tradursi in una sovrastima della concentrazione del cloro residuo libero; valori di pH bassi possono, d'altra parte, impedire la differenziazione fra cloro libero e monocloroammina e tra monocloroammina e dicloroammina, mentre valori elevati possono favorire reazioni con l'ossigeno disciolto.

4. Prelievo e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00. Si consiglia il dosaggio *in situ*, evitando l'esposizione al calore, alla luce e una forte agitazione del campione.

Qualora non fosse possibile l'analisi *in situ*, occorre riempire del tutto il recipiente di campionamento evitando di lasciare aria tra liquido e tappo, mantenere il campione al buio e a 4°C fino al momento dell'analisi da effettuarsi entro 24 ore dal prelievo.

5. Materiali e apparecchiature

Tutta la vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi può essere di classe "B", o, preferibilmente, di classe "A".

È consigliabile adibire un lotto di vetreria alla determinazione del cloro libero e un altro alla determinazione del cloro totale in modo da evitare contaminazioni quando si effettua la misura del cloro libero.

5.1 Normale attrezzatura da laboratorio

5.2 Spettrofotometro

Spettrofotometro in grado di operare alla lunghezza d'onda di 510 nm, corredato di celle con cammino ottico di 1 cm. L'uso di celle con cammino ottico superiore (sino a 10 cm) permette di aumentare la sensibilità del metodo. Si consiglia di utilizzare differenti celle dello spettrofotometro per la determinazione del cloro libero e del cloro combinato, per evitare contaminazioni da parte dello ioduro di potassio.

6. Reagenti e materiali di riferimento

Impiegare reagenti puri per analisi e acqua distillata e/o deionizzata, esente da sostanze ossidanti o riducenti per la preparazione delle soluzioni.

L'idoneità dell'acqua per questa determinazione si può accertare mediante l'utilizzo dei seguenti saggi:

- aggiungere a 100 mL di acqua 1 g di ioduro di potassio e, dopo un minuto, 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL di DPD (6.4); la soluzione deve restare incolore;
- aggiungere a 100 mL di acqua 0,1 mL di sodio ipoclorito (6.10) e, dopo due minuti, 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL di DPD (6.4); la soluzione deve assumere una colorazione rosa.

6.1 Sale sodico diidrato dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA)

6.2 Soluzione tampone (pH=6,5)

Introdurre in un matraccio da 1000 mL, contenente circa 800 mL di acqua, 24,0 g di fosfato disodico anidro (Na_2HPO_4) (oppure 60,5 g di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), 46,0 g di fosfato monopotassico anidro (KH_2PO_4) e 0,80 g di acido etilendiamminotetracetico sale disodico diidrato (EDTA, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (6.1). Solubilizzare, diluire a volume con acqua e omogeneizzare. Conservare in frigorifero in bottiglia ben tappata.

6.3 Soluzione di acido solforico (1+3)

Aggiungere lentamente 25 mL di acido solforico (H_2SO_4 , $d=1,84$) a 50 mL di acqua. Dopo raffreddamento, diluire a 100 mL con acqua.

6.4 Soluzione di N,N-dietil-p-fenilendiammina (DPD)

Sciogliere 1,5 g di N,N-dietil-p-fenilendiammina solfato pentaidrato in acqua insieme a 8 mL di acido solforico (1+3) (6.3) e 200 mg di EDTA (6.1). Diluire a 1000 mL con acqua. Dopo dissoluzione diluire con acqua a 1000 mL in un matraccio tarato, omogeneizzare e conservare in bottiglia scura ben tappata e in luogo fresco. Rinnovare la soluzione dopo 1 mese o scartare la soluzione quando il bianco dei reattivi fornisce un'assorbanza superiore a 0,002 utilizzando celle da 1 cm di cammino ottico.

6.5 Ioduro di potassio

KI in cristalli, esente da iodati.

6.6 Ioduro di potassio (5 g/L)

Sciogliere 500 mg di ioduro di potassio in 100 mL di acqua. Conservare la soluzione in bottiglia di vetro scuro preferibilmente in frigorifero; scartare la soluzione qualora si sviluppi un colore giallo.

6.7 Acido acetico glaciale (d=1,05)

6.8 Soluzione di tiosolfato di sodio 0,01 N

6.9 Indicatore salda d'amido

Stemperare in un mortaio 5-6 g di amido con alcuni millilitri di acqua fredda. Versare la pasta risultante in 1000 mL di acqua bollente. Lasciar depositare una notte e utilizzare il liquido sovrastante. La soluzione può essere stabilizzata aggiungendo per ogni litro di soluzione circa 1 g di acido salicilico.

6.10 Soluzione di ipoclorito di sodio (0,1 g/L di cloro)

Diluire opportunamente al momento dell'uso una soluzione commerciale a titolo noto in cloro attivo. Procedere al controllo del titolo nel seguente modo: introdurre 2 mL di acido acetico glaciale in una beuta contenente 25 mL di acqua; aggiungere circa 1 g di ioduro di potassio (6.5) e 50 mL della soluzione (6.10). Miscelare accuratamente e titolare con la soluzione di tiosolfato di sodio (6.8) fino ad ottenere un colore giallo paglierino; aggiungere quindi 2 mL di soluzione di salda d'amido (6.9) e continuare a titolare fino a completa decolorazione della soluzione.

Per risalire alla concentrazione di cloro attivo nella soluzione in esame applicare la seguente formula:

$$\text{Cloro (mg/L)} = (a \cdot N \cdot 35,45 / V) \cdot 1000$$

dove:

a = volume (mL) di soluzione di tiosolfato di sodio impiegato per la titolazione del campione;

N = normalità del tiosolfato di sodio;

V = volume (mL) di campione prelevato;

35,45 = peso equivalente del cloro.

La soluzione va controllata settimanalmente.

6.11 Soluzione di arsenito di sodio (5 g/L)

Sciogliere 500 mg di arsenito di sodio (NaAsO_2) in 100 mL di acqua.

6.12 Soluzione concentrata di permanganato di potassio

Pesare 0,891 g di permanganato di potassio (KMnO_4), trasferirli in un matraccio tarato da 1000 mL, solubilizzare, diluire a volume con acqua e omogeneizzare.

6.13 Soluzione diluita di permanganato di potassio

Trasferire mediante buretta 10,0 mL della soluzione concentrata (6.12) in un matraccio tarato da 100 mL e portare a volume con acqua. Quando 1 mL di questa soluzione viene diluito a 100 mL con acqua viene prodotto un colore uguale a quello di 1 mg/L di cloro che abbia reagito con il reattivo (6.4).

7. Procedura di misura

7.1. Curva di taratura

Effettuare la taratura mediante le soluzioni di ipoclorito o di permanganato di potassio.

7.1.1 Curva di taratura con soluzione di ipoclorito

Allestire in matracci tarati da 100 mL soluzioni di taratura con concentrazioni di cloro comprese tra 0,05 e 4 mg/L diluendo opportunamente la soluzione (6.10) con acqua.

In altrettante beute da 250 mL trasferire 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL della soluzione di DPD (6.4); entro 1 minuto dalla miscelazione di queste due soluzioni trasferire nelle beute il contenuto dei matracci tarati da 100 mL. Agitare e misurare entro due minuti l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Costruire una curva di taratura ponendo in ordinata le assorbanze nette, ottenute sottraendo dall'assorbanza letta quella corrispondente al bianco (zero), e in ascissa le corrispondenti concentrazioni di cloro espresse in mg/L. Controllare giornalmente almeno un punto della curva di taratura che deve essere ripetuta ogni volta che si prepara il reagente DPD (6.4).

7.1.2 Curva di taratura con soluzione di permanganato di potassio

Allestire in matracci tarati da 100 mL soluzioni di taratura aventi concentrazioni di cloro comprese tra 0,05 e 4 mg/L diluendo opportunamente la soluzione (6.13) con acqua. Procedere quindi come descritto al punto 7.1.1 a partire dal secondo capoverso.

7.2 Misura spettrofotometrica

È consigliabile l'utilizzo di vetreria separata (incluse le celle dello spettrofotometro) per la determinazione del cloro libero e del cloro combinato, al fine di evitare contaminazioni da parte dello ioduro di potassio.

7.2.1 Cloro libero

Introdurre 5 mL di soluzione tampone (6.2) e 5 mL di soluzione di DPD (6.4) in una beuta da 250 mL e trasferire entro 1 minuto 100 mL di campione o una sua aliquota diluita a 100 mL con acqua.

Agitare e misurare subito l'assorbanza nelle stesse condizioni utilizzate per la curva di taratura. Il pH della soluzione di misura deve essere compreso tra 6,2 e 6,5; in caso contrario aumentare l'aggiunta di soluzione tampone (6.2). Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C1. Con questo dosaggio viene determinato il cloro dovuto all'acido ipocloroso, allo ione ipoclorito e al cloro molecolare presente.

7.2.2 Cloro totale

Procedere come indicato al primo capoverso del punto 7.2.1. Aggiungere quindi 1 g di ioduro di potassio (6.5), agitare e dopo 2 minuti esatti misurare l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C2.

7.2.3 Correzione dell'interferenza del manganese

Nel caso di presenza di manganese allo stato ossidato si deve prelevare 100 mL di campione o una sua aliquota diluita a 100 mL e trasferirli in una beuta da 250 mL. Aggiungere 1 mL di arsenito di sodio (6.11) e miscelare. Aggiungere quindi 5 mL di soluzione tampone (6.2) e 5 mL di soluzione di DPD (6.4). Agitare e misurare l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C3 dovuta all'interferenza del manganese.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

Il contenuto di cloro libero e di cloro totale, espressi in mg/L di Cl₂ viene calcolato mediante le seguenti formule:

$$\text{Cloro libero (mg/L Cl}_2\text{)} = (C1-C3)$$

$$\text{Cloro totale (mg/L Cl}_2\text{)} = (C2-C3)$$

dove:

C1, C2 e C3, sono le concentrazioni ricavate dalla curva di taratura nel corso delle determinazioni 7.2.1, 7.2.2 e 7.2.3.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione (CV, %) e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio effettuate da 56 laboratori, risultano essere le seguenti:

Analita	Esattezza in % del valore di parametro*	Precisione in % del valore di parametro*	Limite di rivelabilità (mg/L)
Cloro libero e totale	≤ 25	≤ 12	≤ 0,05

* stimata al valore di 0,5 mg/L.

È da segnalare tuttavia che in alcuni casi può essere critico soddisfare le caratteristiche di prestazione del metodo, in particolare i requisiti relativi all'esattezza.

10. Metodo con comparatore ottico

Per la misura del cloro libero e del cloro totale, in alternativa allo spettrofotometro, si può utilizzare un comparatore ottico – generalmente disponibile in kit commerciali – per misure *in situ* con reagenti pronti all'uso.

La determinazione si basa sul confronto visivo tra il colore del campione e quello di dischi colorati in vetro, che generalmente coprono un intervallo di concentrazione compreso tra 0,05 e 5,00 mg/L di cloro.

Bibliografia

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Ed. Washington, DC: APHA Ed., 2005.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed., 2004

APAT IRSA-CNR *Metodi analitici per le acque – Cloro attivo libero, metodo 4080*. Rapporti 29/2003.

UNI EN ISO 7393-1. *Qualità dell'acqua. Determinazione del cloro libero e del cloro totale. Metodo titrimetrico alla N,N-dietil-1,4, fenilendiammina*. Novembre 2002

CALCIO: METODO TITRIMETRICO ALL'EDTA ISS.BEC.041.REV00

0. Generalità e definizioni

Il calcio è uno degli elementi più abbondanti sulla crosta terrestre, presente in molti minerali quali calcari (carbonato di calcio) e dolomie (carbonato doppio di calcio e magnesio). Concentrazioni elevate di calcio si ritrovano in acque provenienti da ambienti geologicamente ricchi di rocce calcaree. Quando il tenore di calcio è superiore a 150 mg/L l'acqua è convenzionalmente definita "calcica". Gli ioni calcio unitamente agli ioni magnesio concorrono alla definizione quantitativa della durezza delle acque.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

2. Principio del metodo

La procedura analitica consiste nella titolazione complessometrica degli ioni calcio mediante una soluzione acquosa del sale disodico dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA) a valori di pH fortemente alcalini (pH 12 - 13).

Il punto equivalente nella titolazione viene rilevato mediante l'utilizzo di HSN, noto come acido carbonalcalconico, che forma, in presenza di ioni calcio, un complesso rosso che vira al blu al punto di equivalenza.

Nelle condizioni di pH adottate per la titolazione dello ione calcio, gli ioni magnesio precipitano sotto forma di idrossido di magnesio che pertanto non interferiscono nella determinazione.

3. Interferenze e cause di errore

Lo stronzio, il bario e un eccesso di alcalinità (>30 mg/L) possono causare interferenze. L'interferenza da ioni magnesio è ridotta o eliminata con l'innalzamento del pH a valori di 12-13 per far precipitare l'idrossido di magnesio.

Le acque da destinare o destinate al consumo umano provengono di norma da sorgive, falde profonde e acque superficiali e non contengono generalmente sostanze colorate in grado di causare interferenza nella valutazione del punto di viraggio.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

- 5.1.1. Bottiglie in vetro o polietilene da 100 mL e da 1000 mL
- 5.1.2. Buretta da 25 mL con suddivisioni di 0,05 mL
- 5.1.3. Matracci in vetro di classe A

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Utilizzare solo reagenti di qualità analitica.

- 6.1.1. Acqua ultrapura esente da tracce dell'analita
- 6.1.2. EDTA sale disodico diidrato ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)
- 6.1.3. Idrossido di potassio (KOH)
- 6.1.4. Carbonato di calcio ($CaCO_3$)
- 6.1.5. Acido cloridrico (HCl)
- 6.1.6. Ammoniaca ($NH_3 \cdot H_2O$ 6,5 M)
- 6.1.7. Acido 4-dimetilamminoazobenzen-2'-carbossilico (rosso metile $C_{15}H_{15}N_3O_2$)
- 6.1.8. HSN acido (acido carbonalconico) [2-idrossi-1-(idrossi-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftoico] ($C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$)
- 6.1.9. Cloruro di sodio (NaCl)

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. Soluzione di EDTA 0,01 M

Essiccare per 2 ore a 80 °C il sale disodico diidrato dell'EDTA (6.1.2.); pesare 3,725 g di sale essiccato, sciogliere in acqua (6.1.1.) e portare al volume di 1000 mL in matraccio tarato. Conservare la soluzione di EDTA in bottiglia di polietilene (5.1.1.) e controllare la concentrazione periodicamente mediante titolazione con la soluzione di calcio (6.1.10.3.).

6.2.2. Soluzione di idrossido di potassio (KOH) 2 M

Sciogliere 112,2 g di KOH (6.1.3.) in acqua (6.1.1.) e portare a volume in matraccio tarato da 1000 mL. Conservare in bottiglia di polietilene (5.1.1.).

6.2.3. Soluzione di calcio ione di riferimento [0,01 M di carbonato di calcio ($CaCO_3$)]

Essiccare circa 2 g di $CaCO_3$ (6.1.4.) puro per 2 ore a 150 ± 5 °C, lasciare raffreddare a temperatura ambiente in essiccatore.

Pesare 1,000 g di $CaCO_3$ essiccato in una beuta da 500 mL, inumidire con acqua, aggiungere goccia a goccia una soluzione di acido cloridrico (HCl) 4 mL/L finché il carbonato sia disciolto. Evitare un eccesso di acido. Aggiungere 200 mL di acqua e far bollire per alcuni minuti per liberare la CO_2 dalla soluzione.

Raffreddare a temperatura ambiente, aggiungere alcune gocce di indicatore rosso metile, aggiungere ammoniaca 3 M finché la soluzione ritorna di colore arancio.

Trasferire quantitativamente la soluzione in un matraccio tarato da 1000 mL, portare a volume con acqua e omogeneizzare.

6.2.4. Soluzione di ammoniaca 3 M

Prelevare 462 mL di ammoniaca concentrata (6.1.6.) e diluire con acqua (6.1.1.) in matraccio tarato fino a 1000 mL.

6.2.5. Indicatore HSN

Miscelare accuratamente 0,200 g di HSN acido (6.1.8.) e 100,000 g di NaCl. (6.1.9.)

7. Procedure di misura

7.1. Standardizzazione della soluzione di EDTA

Standardizzare la soluzione (6.2.1.) con la soluzione di riferimento di ioni calcio (6.2.3.) tramite la procedura descritta al punto (7.2.), usando 20 mL della soluzione di riferimento dello ione calcio (6.2.3.) diluiti a 50 mL con acqua (6.1.1.).

La concentrazione C_1 della soluzione di EDTA, espressa in moli/L, è data da:

$$C_1 = \frac{C_2 \cdot V_1}{V_2}$$

dove:

C_2 = concentrazione, espressa in moli/L, della soluzione di riferimento di ioni calcio;

V_1 = volume, espresso in mL, della soluzione di riferimento di ioni calcio (nel nostro caso 20 mL);

V_2 = volume, espresso in mL, di soluzione di EDTA usato per la standardizzazione.

7.2. Determinazione

Trasferire 100,0 mL della soluzione da analizzare in una beuta da 250 mL, aggiungere 2 mL di soluzione di idrato di potassio (KOH) (6.1.10.2.) e circa 0,2 g di indicatore HSN (6.2.5.).

Agitare e titolare immediatamente con la soluzione di EDTA (6.2.1.) tramite buretta (5.1.2.) sotto continua agitazione.

Titolare piuttosto rapidamente all'inizio e più lentamente verso la fine; il punto finale si raggiunge quando il colore vira al blu netto.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

Il contenuto di ioni calcio, espresso in milligrammi per litro, è dato da:

$$Ca^{2+} (mg / L) = \frac{C_1 \cdot V_3 \cdot A}{V_0}$$

dove:

C_1 = concentrazione della soluzione di EDTA, espressa in millimoli per litro;

V_0 = volume, espresso in mL, del campione d'acqua da analizzare, utilizzato nella determinazione;

V_3 = volume, espresso in mL, della soluzione di EDTA usata nella titolazione;

A = peso atomico del calcio (40,08)

La ripetibilità della misura della concentrazione in ioni calcio espressa in mg/L, nel campo di misura di un'acqua potabile, è data dalla seguente formula:

$$\pm r = 0,0095 \cdot C + 0,32$$

dove:

r = variazione rispetto al valore riscontrato;

C = concentrazione di ioni calcio in mg/L.

La riproducibilità della misura della concentrazione in ioni calcio, espressa in mg/L, nel campo di misura di un'acqua potabile è data dalla seguente formula:

$$\pm R = 0,037 \cdot C + 0,37$$

dove:

R = variazione rispetto al valore riscontrato;

C = concentrazione in ioni calcio in mg/L.

Se il campione da analizzare contiene più di 100 mg/L di ioni calcio (Ca²⁺) si rende necessaria un'opportuna diluizione del campione stesso prima di procedere alla determinazione analitica.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti:

Analita	Esattezza in % del valore di parametro*	Precisione in % del valore di parametro*	Limite di rivelabilità (mg/L)
Calcio	≤ 10	≤ 10	≤ 1

* stimato su una concentrazione di 40 mg/L

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

UNI 10504. *Acque destinate al consumo umano. Determinazione del calcio. Metodo titrimetrico all'EDTA*. Milano: Ente Italiano di Unificazione; 1996..

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

CONDUTTIVITÀ ELETTRICA

ISS.BDA.022.REV00

0. Generalità e definizioni

La conducibilità elettrica è un indice della capacità di una soluzione acquosa a trasportare corrente elettrica; questa capacità è legata alla presenza di ioni e dipende dalla loro concentrazione e mobilità oltre che dalla temperatura.

L'acqua ad elevata purezza ha una conducibilità elettrica estremamente bassa. La misura della conducibilità elettrica di un'acqua, pertanto, permette di ottenere un'informazione indiretta circa il suo grado di mineralizzazione.

Per conducibilità elettrica di un mezzo omogeneo si intende il reciproco della sua resistenza elettrica.

Per conducibilità elettrica specifica (o conduttività elettrica) di una soluzione si intende il reciproco della resistenza elettrica specifica, cioè della resistenza offerta da un volume unitario di liquido al passaggio di corrente ad una data temperatura: la conducibilità elettrica infatti, risulta direttamente proporzionale alla sezione degli elettrodi e inversamente proporzionale alla loro distanza, e la conduttività elettrica è quella misurata tra due elettrodi inerti con superficie di 1 cm² posti alla distanza di 1 cm.

L'unità di misura della "conducibilità elettrica specifica" o conduttività elettrica è il Siemens per centimetro (S·cm⁻¹) secondo l'*International System of Units* (S.I.).

Nel caso specifico viene utilizzato un sottomultiplo: il microsiemens per cm (μS·cm⁻¹).

Le corrispondenze risultano pertanto:

$$\begin{aligned} 1 \text{ S}\cdot\text{cm}^{-1} &= 1 \text{ ohm}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1} = 1 \text{ mho}\cdot\text{cm}^{-1} \\ 1 \text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1} &= 1 \text{ Mohm}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1} = 1 \text{ }\mu\text{mho}\cdot\text{cm}^{-1} \end{aligned}$$

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Per il campo di misura attenersi a quanto indicato nelle specifiche strumentali.

2. Principio del metodo

La determinazione della conduttività elettrica viene eseguita misurando la resistenza elettrica specifica di un campione acquoso mediante un ponte di Kohlrausch.

È necessario verificare periodicamente la costante della cella di misura, utilizzando soluzioni di riferimento di KCl, i cui valori di conduttività elettrica sono noti. Il valore della misura viene sempre riferito alla temperatura di 20 °C.

Le misure dovrebbero essere eseguite a 20 °C o comunque a temperature vicine in modo da minimizzare gli errori connessi con il sistema di correzione per la temperatura.

3. Interferenze e cause di errore

Prodotti organici come grassi, oli e particolari sostanze contenute nella soluzione possono depositarsi sugli elettrodi, falsando o rendendo instabile la misura o, in situazioni limite, avvelenare gli elettrodi stessi.

4. Prelievo e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Le misure possono essere eseguite *in-situ* utilizzando strumentazioni portatili, in molti casi inserite in sonde multiparametriche.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

Vetreria e attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

5.1.1. Bottiglie in polietilene o vetro da 1 L

5.1.2. Termometro con risoluzione 0,1 °C (oppure sensore per la misura della temperatura inglobato nello strumento di misura)

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso, prima del loro uso, devono essere accuratamente lavati con detergenti per vetreria e risciacquati in successione con acqua di rubinetto e acqua (6.1.1.).

5.2. Strumentazione analitica e accessori

5.2.1. Conduttimetro

Lo strumento deve essere in grado di misurare valori di conduttività con una precisione minore o uguale all'1%, con cella conduttimetrica a costante di cella nota. Sono reperibili attualmente sul mercato celle conduttimetriche di vario tipo (ad immersione, a pipetta, a flusso continuo, ecc.) e con costanti di cella diverse. La scelta del tipo di cella più opportuno dipende essenzialmente dalla conduttività elettrica prevista per il campione in esame: è consigliabile usare celle con costante di circa 0,1 cm⁻¹ per soluzioni a bassa conduttività elettrica (100 µS/cm o meno) e con costante di circa 10 cm⁻¹ per soluzioni saline di elevata concentrazione.

I conduttimetri attualmente in commercio sono dotati di sonda di misura della temperatura (solitamente con risoluzione di 0,1 °C).

5.2.2. Termostato

Termostato capace di mantenere costante la temperatura prefissata almeno entro l'ambito di $\pm 0,5$ °C. Nel caso in cui venga impiegato uno strumento di misura dotato di compensatore di temperatura, non è necessario termostatare il campione.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

6.1.1. Acqua distillata o deionizzata, comunque con una conduttività elettrica ininfluyente ai fini delle misure.

6.1.2. Cloruro di potassio (KCl).

6.2. Materiali di riferimento

6.2.1. Soluzione di riferimento di potassio cloruro 0,01 M

Sciogliere 0,7456 g di cloruro di potassio (6.1.2.), previamente essiccato in stufa a 105 °C per 2 ore, con acqua (6.1.1.) in un matraccio tarato da 1000 mL e portare a volume alla temperatura di 20 °C

6.2.2. Soluzione di riferimento di potassio cloruro 0,001 M

Diluire in modo idoneo la soluzione di cloruro di potassio 0,01 M (6.2.1.).

Le soluzioni di riferimento devono essere conservate in bottiglie di polietilene e rinnovate ogni 2 mesi.

La conduttività elettrica specifica delle soluzioni di riferimento è riportata in Tabella 1.

Tabella 1. Conduttività elettrica delle soluzioni di riferimento di cloruro di potassio

Soluzione di riferimento	Molarità KCl	Temperatura °C	Conduttività elettrica $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$
A	0,01	20	1264
		25	1412
B	0,001	20	137
		25	147

7. Procedimento

7.1. Taratura del sistema di misura

A causa delle differenze costruttive esistenti nei vari strumenti in commercio, è praticamente impossibile fornire istruzioni generalizzate per l'uso di tali apparecchiature. In tutti i casi valgono le istruzioni specifiche d'uso fornite dal costruttore.

Tarare il sistema di misura facendo riferimento al manuale d'uso.

Le apparecchiature attualmente in commercio montano celle a costante nota e adattabili al conduttimetro in uso. Occorre controllare il valore della costante di cella nel tempo in quanto può subire variazioni in seguito ad alterazioni dello stato fisico degli elettrodi; a tal fine seguire le specifiche d'uso fornite dal costruttore. A titolo di esempio si può applicare il seguente procedimento per la verifica della costante di cella: portare la temperatura della soluzione di taratura di KCl vicino a

quella scelta come temperatura di riferimento (20 °C), lavare a lungo e accuratamente la cella conduttometrica (5.2.1.) con la soluzione di taratura di cloruro di potassio scelta (6.2.1.- 6.2.2.); misurare il valore della conduttività elettrica della soluzione di riferimento, K_r in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e il valore della temperatura a cui si è eseguita la misura.

Il valore del fattore di correzione (F) è dato da:

$$F = \frac{K_{st}}{K'_r}$$

dove:

K_{st} è la conduttività elettrica in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a 20 °C della soluzione di riferimento come da Tabella 1.

K_r è la conduttività elettrica in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ della soluzione di riferimento misurata sperimentalmente alla temperatura a cui è stata eseguita la misura.

K'_r è la conduttività elettrica in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ della soluzione di riferimento misurata sperimentalmente e riportata alla temperatura di 20 °C.

Di conseguenza il nuovo valore della costante di cella C'' sarà:

$$C'' = C' \cdot F$$

dove:

C' è il valore di costante di cella fornito dalla casa.

F è il fattore di correzione.

7.2. Determinazione della conduttività elettrica

Lavare accuratamente la cella conduttometrica con acqua (6.1.1.), avvinare con il campione ed effettuare poi la misura sul campione in esame posto in un bicchiere di vetro o in materiale plastico pulito e asciutto.

Come già accennato, anche con l'utilizzo di strumenti dotati di compensatore di temperatura è opportuno eseguire la misura ad una temperatura vicina a quella specificata perché le varie tecniche di correzione costituiscono comunque fonte di errori, tanto più grandi quanto più si è distanti dalla temperatura di riferimento. Per quanto possibile, si eviterà di effettuare misure in campo su campioni che presentano un'elevata differenza di temperatura con quella di riferimento.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

La conduttività a 20 °C, espressa in $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, è pari al prodotto tra il valore letto direttamente dello strumento ad una certa temperatura e il fattore di correzione $f(t)$, calcolato in base alla seguente equazione o utilizzando la Tabella 2:

$$f(t) = -1,86 \cdot 10^{-5} \cdot t^3 + 1,56 \cdot 10^{-3} \cdot t^2 - 6,21 \cdot 10^{-2} \cdot t + 1,765$$

Alternativamente, con l'impiego di strumenti dotati di compensatore della temperatura è possibile ottenere direttamente una misura espressa a 20 °C.

Esprimere il risultato in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Grandezza	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità $\mu\text{S/cm}$ a 20 °C
Conduttività elettrica	≤ 5	≤ 5	≤ 5

Tabella 2. Fattori di correzione f(t) per riportare a 20 °C la conduttività determinata ad una temperatura diversa (compresa tra 5 e 25,9 °C)

° C	Decimi di grado centigrado									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	1,490	1,488	1,483	1,479	1,477	1,468	1,464	1,459	1,455	1,449
6	1,445	1,440	1,436	1,432	1,428	1,424	1,418	1,414	1,410	1,404
7	1,400	1,396	1,392	1,388	1,385	1,379	1,375	1,371	1,368	1,362
8	1,358	1,353	1,349	1,347	1,342	1,340	1,335	1,331	1,328	1,324
9	1,319	1,316	1,312	1,308	1,305	1,300	1,297	1,293	1,288	1,285
10	1,282	1,279	1,277	1,273	1,269	1,265	1,261	1,257	1,254	1,250
11	1,246	1,244	1,242	1,239	1,234	1,231	1,227	1,224	1,219	1,216
12	1,213	1,210	1,207	1,204	1,202	1,199	1,194	1,191	1,189	1,184
13	1,182	1,180	1,176	1,173	1,169	1,166	1,164	1,160	1,157	1,154
14	1,152	1,149	1,146	1,144	1,141	1,138	1,135	1,132	1,129	1,127
15	1,123	1,121	1,118	1,116	1,112	1,109	1,107	1,103	1,101	1,099
16	1,096	1,094	1,091	1,088	1,086	1,084	1,081	1,078	1,075	1,073
17	1,070	1,069	1,067	1,064	1,061	1,059	1,056	1,053	1,050	1,048
18	1,046	1,044	1,043	1,039	1,037	1,035	1,033	1,029	1,027	1,025
19	1,023	1,022	1,019	1,016	1,014	1,012	1,010	1,008	1,004	1,002
20	1,000	0,999	0,996	0,994	0,992	0,990	0,998	0,985	0,983	0,981
21	0,979	0,977	0,975	0,973	0,970	0,969	0,967	0,965	0,962	0,960
22	0,958	0,956	0,954	0,952	0,950	0,947	0,946	0,943	0,941	0,940
23	0,938	0,937	0,934	0,933	0,931	0,929	0,926	0,926	0,923	0,921
24	0,919	0,918	0,916	0,915	0,912	0,910	0,908	0,907	0,905	0,902
25	0,902	0,899	0,897	0,896	0,893	0,891	0,889	0,888	0,885	0,885

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2030: Conducibilità*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

DUREZZA TOTALE: METODO TITRIMETRICO ALL'EDTA ISS.BEC.031.REV00

0. Generalità e definizioni

La durezza di un'acqua è principalmente ricondotta al contenuto di sali di calcio e magnesio, presenti in forma di carbonati, bicarbonati, solfati, cloruri e nitrati, e dipende dall'origine superficiale o profonda delle acque e dalla geologia dell'area di captazione. In funzione dei diversi gradi di durezza, espressa comunemente in equivalenti di carbonato di calcio (mg/L CaCO₃), si riconoscono diversi tipi di acque (Tabella1).

Tabella 1. Classificazione delle acque in funzione della durezza

Classificazione	mg/L (CaCO ₃)
Acqua dolce	<100
Acqua moderatamente dura	100-200
Acqua dura	>200

In funzione dei Sali di Ca e Mg presenti e della loro persistenza in soluzione quando l'acqua è sottoposta ad ebollizione si definiscono differenti tipologie di durezza.

0.1. Durezza temporanea

Rappresenta il contenuto salino attribuibile ai sali di calcio e magnesio sotto forma di bicarbonati. Questi quando sottoposti a riscaldamento, all'ebollizione precipitano come carbonati a seguito della perdita dell'anidride carbonica (CO₂) presente nel campione, da qui la denominazione di "Durezza temporanea".

0.2. Durezza permanente

È il contenuto salino di un'acqua in ioni calcio e magnesio che non hanno subito trasformazioni a seguito del processo di ebollizione in quanto derivanti dalla ionizzazione o dalla dissociazione dei corrispondenti cloruri, nitrati, solfati, ecc.

0.3. Durezza totale

È il contenuto in ioni calcio e magnesio espresso come carbonato di calcio (CaCO₃), che corrisponde alla somma della durezza permanente e della durezza temporanea. Questa viene determinata sull'acqua prima di essere sottoposta a trattamento termico. La durezza temporanea viene pertanto valutata come differenza tra la durezza totale e la durezza permanente.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

2. Principio del metodo

La procedura analitica si basa sulla titolazione complessometrica degli ioni calcio e magnesio, disciolti nel campione tamponato a $\text{pH } 10 \pm 0,1$, con una soluzione di sale disodico dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA) in presenza di nero eriocromo T come indicatore. In tali condizioni il campione da titolare assume un colore rosso-violetto che al raggiungimento del punto equivalente (quando tutti gli ioni calcio e magnesio sono stati complessati dell'EDTA) vira al blu.

3. Interferenze e cause di errore

In acque con elevato contenuto di altri ioni alcalino-terrosi e di ioni metallici appartenenti al terzo gruppo, la determinazione della durezza totale può essere affetta da errori in eccesso rispetto al valore calcolato a partire dal contenuto reale in ioni calcio e magnesio. Ciò è dovuto al consumo di EDTA da parte dei suddetti ioni polivalenti interferenti. Tali interferenze possono essere eliminate aggiungendo ai campioni una soluzione di cianuro di sodio (da maneggiare con cura in quanto estremamente tossica). La maggior parte delle acque, comunque, non hanno bisogno di tale trattamento.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

Vetreteria normale da laboratorio e:

- 5.1. Bottiglie in vetro o polietilene da 1 L
- 5.2. buretta da 25 ml con divisioni ogni 0,05 ml.
- 5.3. Stufa settata a 150 °C
- 5.4. Essiccatore

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Utilizzare solo reagenti di riconosciuta qualità analitica.

- 6.1.1. Acqua ultrapura esente da tracce dell'analita
- 6.1.2. Acido cloridrico (HCl)
- 6.1.3. Cloruro di ammonio (NH_4Cl)
- 6.1.4. Idrossido di ammonio (NH_4OH)
- 6.1.5. Etanolo
- 6.1.6. Sale disodico diidrato dell'EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 6.1.7. Sale di magnesio dell'EDTA
- 6.1.8. Carbonato di calcio (CaCO_3)

6.1.9. Sale sodico dell'acido (1-idrossi-2-naftilazo)-2-naftol-6-nitro-4-solfonico (C₂₀H₁₂N₃O₇SNa)

6.1.10. Trietanolammina [(CH₂OHCH₂)₃N]

6.1.11. Rosso metile (C₆H₁₅NO₃)

6.2. Soluzione acquose

6.2.1. Soluzione di EDTA 0,01 M

Essiccare per 2 ore a 80 ± 3 °C il sale disodico diidrato dell'EDTA (6.1.6.); pesare 3,725 g di sale essiccato, scioglierlo in acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.) e portare al volume di 1000 mL in un matraccio tarato. Conservare la soluzione di EDTA in bottiglia di polietilene (5.1.) e controllare la sua concentrazione periodicamente, mediante titolazione, con la soluzione di ione calcio di riferimento (6.3.1.)

6.2.2. Soluzione tampone di cloruro di ammonio e del sale di sodio e magnesio dell'EDTA

Sciogliere 67,5 g di cloruro di ammonio (6.1.3.) in 570 mL di soluzione di idrossido di ammonio al 25% m/m, (6.2.6.) aggiungere 5,0 g del sale di sodio (6.1.6.) e magnesio dell'EDTA (6.1.7.) e portare a 1000 mL con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.).

6.2.3. Indicatore nero eriocromo T (MB 11) [sale sodico dell'acido (1-idrossi-2-naftilazo)-2-naftol-6 nitro-4-solfonico]

Miscelare accuratamente 0,2 g di MB 11 (C₂₀H₁₂N₃O₇SNa) (6.9.) in 75 mL di trietanolammina (6.1.10.) e 25 mL di etanolo (6.1.5.). In alternativa al "mordent black" si può usare come indicatore l'eriocromo T (nero).

6.2.4. Soluzione acquosa di rosso metile

Sciogliere 0,10 g di rosso metile (6.1.11.) in acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.) in un matraccio da 100 mL e portare a volume.

6.2.5. Soluzione di idrossido di ammonio 3 M

Diluire 210 mL di idrossido di ammonio concentrato (6.1.4.) ad 1 L con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.)

6.2.6. Soluzione di idrossido di ammonio al 25%

Diluire 25 mL di idrossido di ammonio concentrato (6.1.4.) in 100 mL di acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.)

6.3. Materiali di riferimento

6.3.1. Soluzione di ione calcio di riferimento 0,01 M

6.3.1.1. Essiccare circa 2,0 g di CaCO₃ puro (6.1.8.) per 2 ore in stufa a 150 ± 5 °C (5.3.), lasciare raffreddare a temperatura ambiente in essiccatore (5.4.).

6.3.1.2. Pesare 1,000 g di CaCO₃ essiccato, porre in una beuta da 500 mL, inumidire con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.)

6.3.1.3. Aggiungere goccia a goccia HCl (1+1) finché il carbonato sia disciolto. Evitare un eccesso di acido

- 6.3.1.4. Aggiungere 200 mL di acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.) e bollire per alcuni minuti per liberare la CO₂ dalla soluzione.
- 6.3.1.5. Raffreddare a temperatura ambiente e aggiungere alcune gocce di indicatore rosso metile (6.2.4.)
- 6.3.1.6. Aggiungere ammoniaca 3 M (6.2.5.) finché la soluzione ritorna di colore arancio.
- 6.3.1.7. Trasferire quantitativamente la soluzione in un matraccio tarato da 1000 mL
- 6.3.1.8. Portare a volume con acqua e omogeneizzare.

7. Procedimento

7.1. Standardizzazione della soluzione di EDTA

Standardizzare la soluzione (6.2.1.) con la soluzione di riferimento di ioni calcio (6.3.1.) tramite la procedura descritta al punto (7.2.), usando 20 mL della soluzione di riferimento di ioni calcio (6.3.1.) diluiti a 50 mL con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (6.1.1.). La concentrazione C₁ della soluzione di EDTA, espressa in moli/L, è data dalla seguente formula:

$$C_1 = \frac{C_2 \cdot V_1}{V_2}$$

dove:

C₂ = concentrazione, espressa in moli/L, della soluzione di riferimento di ioni calcio (6.3.1.);
 V₁ = volume, espresso in mL, della soluzione di riferimento di ioni calcio (nel nostro caso 20 mL);
 V₂ = volume, espresso in mL, di soluzione di EDTA usato per la standardizzazione.

7.2. Determinazione

Per mezzo di una pipetta tarata, trasferire 50,0 mL del campione da analizzare in una beuta da 250 mL, aggiungere 4 mL di tampone (6.2.2.) e circa 0,2 g di indicatore MB 11 (6.2.3.). Agitare e titolare immediatamente con la soluzione di EDTA (6.2.1.) tramite buretta (5.2.) e sotto continua agitazione. Titolare piuttosto rapidamente all'inizio e più lentamente verso la fine; il punto finale si raggiunge quando il colore cambia al blu netto. Il colore non dovrebbe cambiare aggiungendo un'ulteriore goccia di soluzione di EDTA.

8. Espressione dei risultati

La durezza totale può essere espressa secondo scale di riferimento di tipo francese (F), tedesco (T) e inglese (I).

In Tabella 2 sono riportati i fattori di conversione tra le diverse scale di riferimento e la conversione al contenuto in mg/L di CaCO₃ e in mg/L di CaO.

La durezza, espressa in gradi francesi °F, è data da:

$$Durezza(^{\circ}F) = \frac{V_3 \cdot M \cdot 10}{V_4}$$

dove:

V₃ = volume, in mL, consumato per la titolazione del campione (7.2.);
 M = molarità esatta della soluzione di EDTA (6.1.);
 V₄ = volume, in mL, del campione esaminato.

Tabella 2. Durezza delle acque: confronto e corrispondenza tra le varie unità di misura (a)

Unità di misura	° F	° T	° I	CaCO ₃ (mg/L)	CaO (mg/L)
1° F	1	0,56	0,7	10	5,6
1° T	1,79	1	1,25	17,9	10
1° I	1,43	0,8	1	14,3	8
CaCO ₃ (mg/L)	0,1	0,056	0,069	1	0,56
CaO (mg/L)	0,179	0,1	0,125	1,79	1

(a): ° F = gradi francesi, ° T = gradi tedeschi, ° I = gradi inglesi.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti:

Parametro	Esattezza in % *	Precisione in %*	Limite di rivelabilità (°F)
Durezza	≤ 10	≤ 15	≤ 0,5

* stimata su una concentrazione di 10 °F

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2040: (complessometrico con EDTA).* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI 10505. *Acque destinate al consumo umano. Determinazione della durezza totale.* Milano: Ente Nazionale di unificazione; 1996.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

RESIDUO FISSO A 180 °C: METODO GRAVIMETRICO ISS.BFA.032.REV00

0. Generalità e definizioni

Nelle analisi delle acque destinate al consumo umano la determinazione del contenuto di solidi totali disciolti assume un valore fondamentale per la loro classificazione. Infatti un contenuto elevato di solidi disciolti può rendere un'acqua potabile di scarsa palatabilità o inadatta per molte applicazioni industriali.

Si definisce "residuo fisso a 180 °C" il contenuto di solidi ottenuto dopo evaporazione di un campione di acqua, previamente filtrato a 180 ± 5 °C.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

2. Principio del metodo

Il campione di acqua da analizzare viene filtrato attraverso un filtro da 0,45 µm e il filtrato sottoposto a riscaldamento fino alla rimozione dei componenti volatili e al raggiungimento della temperatura di 180 ± 5 °C, valore a cui si effettua un condizionamento del residuo fisso fino a peso costante. In tali condizioni si ottengono valori comparabili con quelli risultanti dalla somma delle concentrazioni di anioni, cationi e silice determinati singolarmente.

3. Interferenze e cause di errore

La condizione determinante al fine di ottenere una corretta valutazione del residuo fisso è strettamente legata ad una corretta procedura nella fase di eliminazione dei componenti volatili, in maniera da evitare una evaporazione tumultuosa del campione e contaminazioni accidentali sia del contenitore che del residuo fisso. Campioni di acqua altamente mineralizzata con elevato contenuto di ioni calcio, cloro, magnesio e/o solfato possono essere igroscopici e richiedere elevati tempi di essiccamento e rapida pesata. I campioni con elevato contenuto di bicarbonato richiedono un attento e prolungato tempo di essiccamento a 180 ± 5 °C al fine di assicurare la completa conversione del bicarbonato a carbonato. Per evitare una eccessiva produzione di residuo sui filtri, analizzare un quantità di campione che non dia luogo a più di 200 mg di residuo.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Materiali e apparecchiature

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

- 5.1. Bottiglie in vetro resistente o polietilene da 1L
- 5.2. Capsule di platino di capacità di 150-200 mL. Il platino è il materiale più adatto perché inerte nelle condizioni d'uso e facilmente condizionabile fino al raggiungimento della costanza di peso. In alternativa si possono usare capsule di nichel, porcellana o silice. Sia la porcellana che la silice non sono adatte per acque alcaline ($\text{pH} > 9$).
- 5.3. Sistema di riscaldamento costituito da lampada a quarzo o bagno a sabbia.
- 5.4. Stufa munita di termostato capace di mantenere costante la temperatura prefissata entro l'ambito di ± 10 °C.
- 5.5. Bilancia analitica con portata massima di 200 g e precisione 0,1 mg.
- 5.6. Apparecchio per filtrazione sotto vuoto, adeguato al tipo di filtro prescelto.
- 5.7. Membrane filtranti con pori di diametro medio di 0,45 μm

6. Procedura di misura

6.1. Essiccamento della capsula

Si essicca la capsula (5.2.) preliminarmente in stufa (5.4.) per circa 1 ora, alla temperatura di 180 ± 5 °C, fino a peso costante.

6.2. Filtrazione del campione

Filtrare il campione su di un filtro a 0,45 μm (5.6. – 5.7.)

6.3. Volume da analizzare

Si preleva un'aliquota del campione di acqua filtrata (6.2.) che possa presumibilmente fornire un residuo compreso tra 25 e 200 mg e preferibilmente tra 100 e 200 mg. Un calcolo preliminare fatto in base al valore della conduttività elettrica specifica è normalmente sufficiente per determinare il volume da evaporare.

6.4. Essiccamento del campione

Porre l'aliquota misurata del campione d'acqua (6.3.) nella capsula tarata ed evaporare sino a piccolo volume con lampada a quarzo o bagno a sabbia (5.3.), evitando l'ebollizione. Completare l'evaporazione dell'acqua trasferendo la capsula in stufa (5.4.) e innalzando progressivamente la temperatura fino a 180 ± 5 °C. Essiccare fino a peso costante (si considera peso costante quello ottenuto quando la variazione di peso riscontrata in due cicli successivi di riscaldamento, raffreddamento e pesata non superi 0,5 mg).

6.5. Pesata

Pesare la capsula subito dopo averla fatta raffreddare in essiccatore (5.5.).

7. Calcolo ed espressione dei risultati

Il residuo fisso del campione si calcola mediante la formula:

$$\text{residuo fisso (mg/L)} = \frac{P \cdot 1000}{V_c}$$

dove:

P = massa del residuo fisso determinato (mg)

V_c = volume del campione prelevato (mL).

8. Prestazioni del metodo

La precisione del metodo risulta generalmente inferiore al 5%.

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2090: Solidi*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI 10506. Acque destinate al consumo umano. *Determinazione del residuo fisso a 180 °C*. Metodo gravimetrico. Milano: Ente Nazionale di Unificazione; 1996

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

pH: METODO POTENZIOMETRICO

ISS.BCA.023.REV00

0. Generalità e definizioni

La misura del pH è uno dei test più frequentemente usati nella chimica delle acque in quanto tale parametro, sebbene non abbia diretto impatto sui consumatori, riveste un ruolo essenziale nel controllo di molti aspetti correlati alle caratteristiche dell'acqua (per esempio proprietà corrosive e incrostanti) e ai trattamenti di potabilizzazione quali, tra l'altro, disinfezione e chiariflocculazione.

Il pH è il logaritmo della concentrazione degli ioni idrossonio (H_3O^+) espressa in Molarità (M).

Il suo valore è funzione di numerose variabili come la composizione ionica dell'acqua, il tipo di equilibri acido - base che si instaurano in soluzione, la temperatura, ecc. L'Allegato I parte C del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31 stabilisce per il parametro indicatore pH un valore compreso nell'intervallo tra 6,5 e 9,5 unità di pH; il valore minimo può essere inferiore per acque confezionate e naturalmente ricche o arricchite di anidride carbonica.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

2. Principio del metodo

La determinazione è basata sulla misura della differenza di potenziale agli estremi di una pila elettrochimica costituita da un elettrodo sensibile all'attività degli ioni idrossonio e da un elettrodo di misura.

In pratica, non essendo possibile misurare l'attività degli ioni H_3O^+ , il pH è stato convenzionalmente definito nel modo seguente:

$$pH = pH_s + \frac{(E - E_s) \cdot F}{2,303 \cdot R \cdot T}$$

dove:

pH_s è il pH di una soluzione tampone;

E_s è il potenziale dell'elettrodo di misura quando è immerso nella soluzione tampone;

E è il potenziale dell'elettrodo di misura quando è immerso nella soluzione di cui si vuole misurare il pH;

F è la costante di Faraday (96.487 Coulomb* mol^{-1});

R è la costante universale dei gas ideali (8,314 J* mol^{-1} * $^{\circ}K^{-1}$);

T è la temperatura assoluta in K.

3. Interferenze e cause di errore

Colore, torbidità, sostanze colloidali, sostanze ossidanti e riducenti o alte salinità non interferiscono nella misura.

Per la corretta misura del pH in soluzioni a basso contenuto salino (acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi) è necessario incrementare la forza ionica della soluzione mediante aggiunta di KCl.

Oli, sostanze grasse e solidi sospesi a bassa granulometria possono influenzare la risposta strumentale, poiché tendono a depositarsi sulla superficie dell'elettrodo a vetro impiegato nella misura. Pertanto è necessario pulire periodicamente l'elettrodo con opportuni detergenti per rimuovere le sostanze grasse.

I solidi depositati si rimuovono invece con HCl diluito 1:10 usando un bagno ad ultrasuoni

L'effetto della diversa temperatura tra le operazioni di taratura e quelle di misura può essere contenuto utilizzando il sistema di termocompensazione normalmente presente nei moderni pHmetri.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

I campioni possono essere prelevati in bottiglie di vetro o materiale plastico, opportunamente lavate e risciacquate con acqua ultrapura, avendo cura di non lasciare uno spazio di testa. I recipienti utilizzati devono essere dotati di tappi a chiusura ermetica allo scopo di evitare perdite di gas disciolti con caratteristiche acide o basiche (NH₃, H₂S, CO₂, ecc.). L'analisi va eseguita prima possibile. Essendo il pH funzione degli equilibri esistenti tra le varie specie ioniche, in particolare CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻, è consigliabile eseguire la misura direttamente all'atto del prelievo, avendo cura di non far gorgogliare il campione durante la manipolazione. Ciò si realizza, ad esempio, riempiendo una bottiglia a collo largo mediante un tubo di gomma che pesca sul fondo del sistema e misurando il pH durante lo scorrimento dell'acqua (è opportuno avvinare la bottiglia con alcuni litri di acqua prima di fare la misura).

Le misure possono essere eseguite *in-situ* utilizzando strumentazioni portatili, in molti casi inserite in sonde multiparametriche.

Per l'analisi da effettuare in laboratorio, conservare i campioni a 1-10 °C e riportarli a temperatura ambiente prima della misura.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzature di base

La vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione certificata almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

5.1.1. Bottiglie di polietilene e di vetro da 1 L

5.1.2. pH-metro

5.1.3. Agitatore magnetico e ancorette magnetiche rivestite di politetrafluoroetilene (PTFE)

5.1.4. Stufa impostata a 130 °C

6. Reagenti e materiali di riferimento

Per le determinazioni del pH, utilizzare solo reagenti di qualità analitica accertata.

6.1. Reagenti

6.1.1. Acqua bollita di recente

L'acqua impiegata per la preparazione delle soluzioni tampone deve essere bollita di recente e successivamente lasciata raffreddare in condizioni tali da impedirne il contatto con la CO₂ dell'aria (recipienti chiusi da trappole a calce sodata).

A tale acqua aggiungere una goccia di soluzione satura di KCl ogni 50 mL.

Se il suo pH risulta compreso tra 6,0 e 7,0 può essere usata per preparare le soluzioni tampone.

6.1.2. Acqua ultrapura conservata fuori dal contatto della CO₂ dell'aria

6.1.3. Tetraborato di sodio decaidrato (borace Na₂B₄O₇•10H₂O)

6.1.4. Fosfato monopotassico (KH₂PO₄)

6.1.5. Fosfato disodico (Na₂HPO₄)

6.1.6. Ftalato acido di potassio (KHC₈H₄O₄)

6.1.7. Tartrato acido di potassio (KHC₄H₄O₆)

6.1.8. Tetraossalato di potassio biidrato (tridrogeno diossalato di potassio biidrato KH₃(C₂O₄)₂•2H₂O)

6.2. Materiali di riferimento

Per la taratura, si fa uso di soluzioni tampone reperibili in commercio. L'utilizzo di tali soluzioni è subordinato alla verifica della loro validità e al controllo dei valori presenti sul certificato di analisi che consenta la riferibilità della misura a campioni primari.

In alternativa le soluzioni possono essere preparate come di seguito descritto.

6.2.1. Soluzione tampone di borace (pH = 9,18 a 25 °C)

Introdurre 3,800 g di tetraborato di sodio decaidrato (6.1.3.) in un matraccio tarato da 1000 mL, sciogliere con acqua (6.1.1.) e portare a volume alla temperatura di 25 °C. Conservare la soluzione in bottiglia di polietilene (5.1.1.) chiusa da trappola a calce sodata (miscela costituita prevalentemente da idrossido di calcio e piccole quantità di idrossido di sodio e idrossido di potassio).

La soluzione è stabile per un mese.

6.2.2. Soluzione tampone di fosfati (pH = 7,41 a 25 °C)

Pesare 1,179 g di fosfato monopotassico (6.1.4.) e 4,303 g di fosfato disodico (6.1.5.), introdurre i sali in un matraccio tarato da 1 L, sciogliere con acqua (6.1.1.) e portare a volume alla temperatura di 25 °C. Impiegare sali essiccati in stufa a 130 °C (5.1.4.) per due ore. Conservare la soluzione in frigorifero.

La soluzione è stabile per un mese.

6.2.3. Soluzione tampone di fosfati (pH = 6,86 a 25 °C)

Pesare 3,388 g di fosfato monopotassico (6.1.4.) e 3,553 g di fosfato disodico (6.1.5.), introdurre i sali in un matraccio tarato da 1 L, sciogliere con acqua (6.1.1.) e portare a volume alla temperatura di 25 °C. Conservare la soluzione in frigorifero alla temperatura di 5 ± 3 °C

La soluzione è stabile per un mese.

6.2.4. Soluzione tampone di ftalato (pH = 4,01 a 25 °C)

Pesare 10,120 g di ftalato acido di potassio (6.1.6.), introdurre in un matraccio tarato da 1 L, sciogliere con acqua (6.1.1.) e portare a volume alla temperatura di 25 °C.

La soluzione è stabile per un mese.

6.2.5. Soluzione tampone di tartrato (pH = 3,56 a 25 °C)

Agitare vigorosamente un eccesso di tartrato acido di potassio (6.1.7.) in 100 - 300 mL di acqua (6.1.1.), in una bottiglia di vetro tappata. Se necessario filtrare per eliminare il sale in sospensione. La soluzione è stabile per un mese.

6.2.6. Soluzione tampone di tetraossalato di potassio (pH = 1,68 a 25 °C)

Pesare 12,610 g di tetraossalato di potassio biidrato (6.1.8.), introdurre in un matraccio tarato da 1 L, sciogliere con acqua (6.1.1.) e portare a volume alla temperatura di 25 °C. La soluzione è stabile per un mese.

6.2.7. Valori di pH delle soluzioni tampone a diverse temperature

In Tabella 1 sono riportati i valori di pH delle soluzioni tampone 6.2.1. - 6.2.6. a diverse temperature.

Tabella 1. Valori di pH a diverse temperature

STANDARD	A	B	C	D	E	F
Temperatura (C°)	tetraossalato di potassio	tartrato acido di potassio	ftalato acido di potassio	fosfato	fosfato	borace
0			4,010	6,984	7,534	9,464
5	1,668		4,004	6,951	7,500	9,395
10	1,670		4,000	6,923	7,472	9,332
15	1,672		3,999	6,900	7,448	9,276
20	1,675		4,001	6,881	7,429	9,225
25	1,679	3,557	4,006	6,865	7,413	9,180
30	1,683	3,552	4,012	6,853	7,400	9,139
35	1,688	3,549	4,021	6,844	7,389	9,102
38	1,691	3,548	4,027	6,840	7,384	9,081
40	1,694	3,547	4,031	6,838	7,380	9,068
45	1,700	3,547	4,043	6,834	7,373	9,038
50	1,707	3,549	4,057	6,833	7,367	9,011

La soluzione tampone A (tetraossalato di potassio) è satura a 4,8 °C e perciò non è utilizzabile al di sotto dei 5 °C.

7. Procedura

7.1. Taratura del pH-metro

A causa delle differenze costruttive riscontrabili nei vari strumenti in commercio è praticamente impossibile fornire istruzioni generalizzate per l'uso di tali apparecchiature. In tutti i casi valgono comunque le istruzioni specifiche d'uso fornite dal costruttore.

7.1.1. Tarare il sistema di misura facendo riferimento al manuale d'uso.

7.1.2. La taratura viene effettuata sotto blanda agitazione per evitare perdite di gas disciolti.

7.2. Misura

A causa delle possibili variazioni di pH a seguito di fenomeni fisici, chimici e biochimici, si consiglia di eseguire la misura in campo o nel minor tempo possibile dall'arrivo del campione in laboratorio.

7.2.1. Dopo aver regolato l'apparecchiatura come descritto in 7.1., lavare accuratamente con acqua ultrapura (6.1.2) il sistema elettrodico e asciugarlo.

- 7.2.2. Effettuare la misura del campione in esame, posto in un bicchiere pulito e asciutto, immergendo la coppia di elettrodi (o l'elettrodo combinato) in un volume adeguato di campione in modo da assicurare la copertura dei sensori.
- 7.2.3. La misura viene effettuata sotto blanda agitazione per evitare perdite di gas disciolti.

8. Espressione dei risultati

Effettuata la taratura del sistema elettrodico, il valore del pH alla temperatura di lettura è fornito direttamente dallo strumento di misura senza bisogno di ulteriori calcoli.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.2 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Grandezza	Esattezza	Precisione	Limite di rivelabilità
pH	≤ 0,2	≤ 0,05	-

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2060: pH.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI 10506 e 10501. *Acque destinate al consumo umano. Misurazione del pH. Metodo potenziometrico.* Milano: Ente Nazionale di Unificazione; 1996

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

SOLIDI INDISCIOLTI: METODO GRAVIMETRICO

ISS.BFA.042.REV00

0. Generalità e definizioni

I solidi indisciolti eventualmente presenti in sospensione nell'acqua, definiti anche come "solidi totali sospesi" o "materiale totale in sospensione", sono in generale costituiti da sabbia, argilla, ossidi di ferro, plancton, e altri materiali indisciolti. Sebbene tale parametro sia correlabile alla torbidità non è possibile definire una relazione univoca tra le due grandezze perché la torbidità è funzione, oltre che del contenuto, anche delle dimensioni del materiale in sospensione.

Una elevata presenza di solidi sospesi, oltre a peggiorare le caratteristiche organolettiche, può interferire negativamente in alcuni trattamenti di potabilizzazione.

Analogamente alla torbidità, la misura dei solidi in sospensione prima e dopo il trattamento di potabilizzazione fornisce una valutazione dell'efficienza dello stesso.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il metodo è applicabile per qualsiasi quantità di solidi sospesi totali.

2. Principio del metodo

I solidi indisciolti contenuti nell'acqua in esame vengono raccolti per filtrazione su un filtro e determinati gravimetricamente dopo essiccamento a $105 \pm 2^\circ \text{C}$ sino a peso costante.

Tale misura è influenzata dal tipo di filtro utilizzato. Convenzionalmente si stabilisce di adottare come mezzo filtrante membrane polimeriche o filtri in fibra di vetro con porosità nominale di $0,45 \mu\text{m}$.

3. Interferenze e cause di errore

Acque altamente mineralizzate con una concentrazione significativa di calcio, magnesio, cloruri e/o solfati possono essere igroscopiche e richiedere alti tempi di essiccamento, tecniche appropriate e rapida pesata. Si consiglia di eliminare le particelle molto grandi o galleggianti o agglomerati di materiale disomogeneo. A causa dell'eccessiva quantità di residuo che si potrebbe formare sul filtro impedendone un corretto funzionamento, si consiglia di utilizzare una quantità di campione che residui non più di 200 mg. Il metodo non presenta interferenze.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Il volume, per campioni a bassa torbidità ($< 10 \text{ NTU}$), deve essere almeno di 1 L.

5. Materiali e apparecchiature

Attrezzature di uso comune in laboratorio e:

- 5.1. Bottiglie in vetro o in plastica da 1 L
- 5.2. Apparecchio per filtrazione sottovuoto adeguato al tipo di filtro prescelto.
- 5.3. Membrane filtranti o filtri in fibra di vetro di diametro di 47 mm, con porosità nominale di 0,45 μm .
- 5.4. Centrifuga da laboratorio.
- 5.5. Bilancia analitica con sensibilità di 0,01 mg
- 5.6. Stufa impostata a 105 ± 2 °C
- 5.7. Essiccatore provvisto di un indicatore colorato per segnalare il grado di esaurimento dell'agente essiccante.

6. Procedura

6.1. Preparazione del campione

6.1.1. Campioni di acqua facilmente filtrabili

- 6.1.1.1. Porre un filtro a membrana (5.3.) per 1 h in stufa a 105 ± 2 °C (5.6.); lasciarlo raffreddare in essiccatore (5.7.) per 30 min e pesarlo.
- 6.1.1.2. Ripetere l'operazione di essiccamento, raffreddamento e pesata fino ad ottenere un peso costante (differenza tra due pesate successive $< 0,05$ mg).
- 6.1.1.3. Collocare il filtro a peso noto nell'apparecchio di filtrazione (5.2.) ed effettuare la filtrazione aspirando tutto il campione prelevato.
- 6.1.1.4. Lavare accuratamente il contenitore (5.1.), con cui si è prelevato il campione, con la stessa acqua filtrata in modo da trasferire nel filtro tutto il solido che si trovava in sospensione nel campione. Il volume di campione trattato può essere valutato dalla differenza tra i pesi del contenitore prima e dopo il prelievo.
- 6.1.1.5. Ultimata la filtrazione, trasferire il filtro con il suo contenuto in una stufa alla temperatura di 105 ± 2 °C (5.6.) dove deve essere mantenuto per 1 h.
- 6.1.1.6. Raffreddare il filtro in essiccatore (5.7.) per 30 minuti e pesare.
- 6.1.1.7. Ripetere più volte l'operazione fino ad ottenere una variazione di peso di $\pm 0,05$ mg.

6.1.2. Campioni di acqua con un elevato contenuto di solidi indisciolti

- 6.1.2.1. Sottoporre a centrifugazione (5.4.) una opportuna aliquota dell'acqua in esame, avendo cura di omogeneizzare accuratamente il campione. Tale operazione può essere effettuata in più riprese.
- 6.1.2.2. Versare il liquido chiarificato sul filtro (5.3.), filtrarlo, quindi trasferire quantitativamente sul filtro il solido addensato sul fondo dei tubi da centrifuga, lavando con una parte del filtrato.
- 6.1.2.3. Dopo filtrazione effettuare la determinazione gravimetrica e trasferire il filtro con il suo contenuto in una stufa alla temperatura di 105 ± 2 °C dove deve essere mantenuto per un 1 h.
- 6.1.2.4. Raffreddare il filtro in essiccatore (5.7.) per 30 minuti e pesare.
- 6.1.2.5. Ripetere più volte l'operazione fino ad ottenere una variazione di peso di $\pm 0,1$ mg.

7. Calcolo ed espressione dei risultati

Il contenuto di solidi indisciolti è dato dalla seguente formula:

$$\text{solidi indisciolti (mg/L)} = \frac{(W_1 - W_0) \cdot 1000}{V}$$

dove:

W_1 = peso in milligrammi del filtro e del residuo dopo essiccamento;

W_0 = peso in milligrammi del filtro;

V = volume in mL del campione sottoposto a filtrazione.

8. Prestazioni del metodo

La precisione del metodo (espressa come deviazione standard relativa in condizioni di riproducibilità) risulta generalmente inferiore al 5%.

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 2090: *Solidi*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI EN 872. *Acque destinate al consumo umano. Determinazione dei solidi indisciolti. Metodo gravimetrico*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1998.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

TEMPERATURA

ISS.BBA.043.REV00

0. Generalità e definizioni

La temperatura dell'acqua ha un effetto rilevante su molti parametri biologici e chimici delle acque determinando, in particolare, le condizioni di sopravvivenza e crescita dei microrganismi presenti nel mezzo acquatico e intervenendo sull'andamento di molte reazioni chimiche; ad esempio, la formazione di composti organo-alogenati nell'acqua disinfettata con cloro e suoi derivati viene favorita a temperature più elevate -, nonché molti trattamenti di potabilizzazione, quali ad esempio la chiari flocculazione sono influenzati dalla temperatura.

Effetti correlabili alla temperatura riguardano anche le proprietà organolettiche e fisiche dell'acqua; in generale una bassa temperatura, oltre a rendere più gradevole l'acqua, rende meno evidenti sapori e odori.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

2. Principio del metodo

La temperatura dell'acqua si può misurare, generalmente *in situ*, con un termometro a mercurio o elettrico, immergendo l'elemento sensibile dello strumento e attendendo il raggiungimento dell'equilibrio termico prima di effettuare la lettura.

3. Interferenze e cause di errore

Il metodo è esente da interferenze.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

La misura della temperatura deve essere effettuata all'atto del prelievo dei campioni.

Nel caso di acque facilmente accessibili, può essere effettuata indifferentemente con termometri o con sonde elettriche, mentre per il controllo di acque difficilmente raggiungibili, quali quelle contenute in serbatoi o in pozzi senza dotazioni di pompa, è opportuno impiegare una sonda elettrica dotata di un cavo di lunghezza adeguata o, in alternativa, un termometro a rovesciamento o a pozzetto.

La determinazione della temperatura dell'acqua situata negli strati profondi di un lago richiede l'uso di una sonda elettrica o di un termometro a rovesciamento.

5. Apparecchiature

Materiale di uso comune in laboratorio e una delle seguenti apparecchiature tarate nella scala Celsius e con sensibilità non inferiore a 0,1 °C:

- 5.1. Termometro a mercurio
- 5.2. Termometro a pozzetto
- 5.3. Termometro a rovesciamento
- 5.4. Sonda a termoresistenza o a termistori.

La taratura di tali apparecchiature deve essere verificata periodicamente.

6. Procedura

6.1. Misura con termometri a mercurio

La misura della temperatura viene effettuata immergendo il bulbo del termometro nell'acqua in esame fino a raggiungimento dell'equilibrio termico; a questo punto si registra l'altezza della colonna di mercurio.

La determinazione viene eseguita all'atto del prelievo introducendo il termometro direttamente nell'acqua da campionare oppure in un volume di acqua sufficientemente abbondante da non subire significative variazioni di temperatura in seguito ad eventuali scambi termici con l'ambiente.

È opportuno controllare l'accuratezza del termometro all'inizio dell'uso e poi periodicamente, eseguendo una misura di temperatura in parallelo con un termometro di precisione munito di certificazione SIT (Servizio di taratura in Italia).

La diffusione dei termometri a mercurio è attualmente oggetto di restrizione sulla base di recenti norme di protezione ambientale.

In particolare si riporta una comunicazione della *Commissione delle Comunità Europee* al Parlamento Europeo "in applicazione dell'articolo 251, paragrafo 2, secondo comma del trattato CE relativa alla posizione comune del Consiglio sull'adozione di una proposta di direttiva del Parlamento europeo e del Consiglio recante modifica della direttiva 76/769/CEE del Consiglio per quanto riguarda le restrizioni in materia commercializzazione di taluni strumenti di misurazione contenenti mercurio." - COM(2007) 205 definitivo.

6.2. Misura con termometro a pozzetto

Viene utilizzato per le acque in cui si può accedere con difficoltà ed è costituito da un termometro fissato ad un supporto corredato di un piccolo bicchiere metallico (pozzetto) in cui pesca il bulbo. Dopo avere immerso il termometro in acqua, legato ad un cavo, il bicchiere si riempie di acqua permettendo quindi la determinazione della temperatura, senza che la stessa subisca variazioni nell'intervallo di tempo che intercorre tra il recupero dello strumento e la lettura della temperatura.

Per la taratura vale quanto specificato per il termometro a mercurio (6.1).

Per le restrizioni d'uso sui termometri a mercurio vale quanto riportato al punto 6.1.

6.3. Misura con termometro a rovesciamento

Questo termometro è costituito, superiormente, da una colonna di mercurio graduata in comunicazione con un bulbo di dimensioni ridotte collegato, mediante un sottile capillare, ad un serbatoio di mercurio sottostante relativamente grande. Il capillare, nel tratto che va dal serbatoio al bulbo, presenta in successione una strozzatura e una piccola ramificazione, si avvita quindi a spirale per poi procedere in linea retta fino al bulbo superiore.

Quando il termometro è immerso verticalmente per effettuare la misura, il volume di mercurio al di sopra della strozzatura è funzione della temperatura; dopo avere rovesciato il termometro, il mercurio va ad occupare il bulbo e parte della colonna di mercurio graduata.

L'altezza della colonna di mercurio indica la temperatura T' dell'acqua al momento del rovesciamento.

A fianco del termometro a rovesciamento è montato un termometro ausiliario che serve a misurare la temperatura dell'ambiente, una volta riportato il termometro in superficie, e ad apportare le opportune correzioni al valore letto sul termometro a rovesciamento per mezzo dell'espressione:

$$\Delta T = \frac{(T' - t) \cdot (T' + V_0)}{K} \cdot \frac{1 + (T' - t) \cdot (T' + V_0)}{K} + L$$

dove:

ΔT = correzione da sommare algebricamente alla lettura effettuata (T')

T' = temperatura misurata con il termometro a rovesciamento

t = temperatura dell'aria misurata con il termometro ausiliario nel momento in cui viene effettuata la lettura di T'

V_0 = volume del piccolo bulbo, all'estremità del capillare, fino alla gradazione di 0 °C (vedi istruzioni della casa fornitrice dello strumento)

K = costante dipendente dal coefficiente di espansione termica del mercurio e del vetro. Il valore, comunemente adottato, è 6100

L = valore della correzione, dipendente da T' , da apportare alla taratura del termometro (vedi istruzioni della casa fornitrice dello strumento).

Nel caso si renda necessario effettuare una serie di misure, si consiglia di riportate in grafico ΔT in funzione di T' , a diversi valori del parametro t .

Per la taratura vale quanto specificato per il termometro a mercurio (6.1).

Per le restrizioni d'uso sui termometri a mercurio vale quanto riportato al punto 6.1.

6.4. Sonda a termoresistenza o a termistori

Si basa sulla variazione della resistenza elettrica di un conduttore o di un semiconduttore (termistore) prodotta dalla variazione di temperatura.

È opportuno eseguire periodicamente una taratura del termistore ponendo il dispositivo in un termostato ad acqua, a temperatura regolabile, e immergendo nello stesso termostato un termometro tarato al decimo di grado; si esegue la lettura della resistenza a varie temperature.

Per eseguire la misura della temperatura in un corpo idrico a varie profondità, il termistore viene calato mediante un cavo su cui si segnano le distanze in metri; ad equilibrio termico raggiunto, si registrano i valori misurati alle varie profondità.

7. Espressione del risultato

Tutti i risultati ottenuti per lettura diretta di un termometro a mercurio o interpolati dal grafico di taratura di una sonda elettrica, vengono espressi in gradi e decimi di grado della scala Celsius.

8. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo dipendono direttamente dalla sensibilità, esattezza e precisione dello strumento di misura impiegato.

Sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio si riportano, a titolo indicativo, i seguenti dati.

Grandezza	Esattezza	Precisione	Limite di rivelabilità
Temperatura	$\leq 1 \text{ }^\circ\text{C}$	$\leq 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$	-

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2100: Temperatura.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI 10500. *Acque destinate al consumo umano. Misurazione della temperatura.* Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1996.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ODORE

ISS.BAA.026.REV00

0. Generalità e definizioni

Il senso dell'olfatto è caratterizzato da una notevole complessità come si può intuire studiando la capacità umana nel percepire distintamente numerosissimi odori tra loro differenti.

In molti casi la sensazione dell'odore non è facilmente ben differenziabile da quella del sapore essendo entrambi complementari. Il "gusto" di un'acqua è determinato dall'associazione dell'odore e del sapore.

Alterazioni dell'odore di un'acqua possono avere origine naturale o antropica.

Nel primo caso sono dovute alla presenza nelle acque di microrganismi (principalmente alghe e attinomiceti) o di prodotti della loro decomposizione, all'attività biologica stimolata o prodotta da alcune sostanze o organismi (ferro e solfobatteri), alla solubilizzazione di composti organici e di altre sostanze chimiche presenti nel terreno.

Nel secondo caso l'odore dell'acqua può subire variazioni in seguito alla contaminazione prodotta da effluenti urbani o industriali, da composti secondari generati durante alcuni processi di trattamento (coagulazione, ossidazione, disinfezione), da sostanze rilasciate da tubazioni e serbatoi o dal materiale di rivestimento delle canalizzazioni, da condizioni particolari (ristagni, sifonamenti) che si possono verificare nei sistemi di distribuzione.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il metodo può essere applicato, in relazione alla soglia di percezione dell'operatore, ad un intervallo di intensità dell'odore molto esteso (da 0 ad n diluizioni del campione).

2. Principio del metodo

Il metodo descritto si propone, come duplice obiettivo, l'identificazione e la classificazione dell'odore, nonché la misura della sua intensità.

La procedura analitica si basa sulla preparazione di diverse diluizioni del campione in esame con acqua inodore. I campioni diluiti vengono quindi odorati al fine di valutare la diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito l'odore. Tale diluizione rappresenta la soglia di percezione dell'odore ed è un'espressione indiretta della sua "concentrazione" nel campione.

La determinazione deve essere effettuata da un minimo di due persone: una per preparare le diluizioni del campione, l'altra per odorare le soluzioni diluite.

Una valutazione più rigorosa, basata su una maggiore rappresentatività, richiede l'impiego di non meno di 6 osservatori.

3. Interferenze e cause di errori

Deve essere utilizzata vetreria perfettamente pulita. Non debbono essere usati tappi di gomma, sughero o plastica.

La prova è influenzata da numerosi fattori quali: temperatura dell'aria e dell'acqua; stato fisico degli operatori; presenza di odore di fondo; preparazione e presentazione del campione; fenomeni di antagonismo e sinergismo riscontrabili in presenza di più sostanze odorose.

Non possono eseguire il saggio persone scarsamente sensibili (7.4) o in condizioni fisiche che possano influenzare la risposta alla prova (es. raffreddori o allergie). Gli osservatori prescelti non devono essere fumatori o consumatori di alcolici e sono comunque obbligati ad astenersi dall'uso di saponi profumati, lozioni da barba, ecc.

Chi esegue il saggio non deve preparare i campioni e non deve conoscere le diluizioni eseguite sul campione in esame. Se il campione presenta colore o torbidità è necessario usare recipienti scuri affinché i risultati non siano pregiudicati da apprezzamenti visivi.

La prova non può durare più di un'ora, in quanto la fatica sensoriale e l'abbassamento dell'attenzione dell'operatore possono provocare risposte errate.

L'ambiente dove si svolge la prova e tutte le attrezzature utilizzate debbono essere privi di odore. La stanza deve essere ben pulita e possedere, preferibilmente, prese d'aria filtrata attraverso carbone attivo.

In presenza di cloro libero è in molti casi necessario determinare l'odore sul campione tal quale e su un'aliquota trattata con la quantità stechiometrica di tiosolfato sodico necessaria per la riduzione del cloro. In tal caso deve essere sottoposto al controllo olfattivo anche un bianco ottenuto aggiungendo la medesima quantità di tiosolfato.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Prelevare i campioni riempiendo completamente bottiglie di vetro previamente refrigerate e provviste di tappo smerigliato o in teflon.

Al momento del prelievo annotare la temperatura dell'acqua per esaminare eventualmente la correlazione tra i valori dell'intensità dell'odore e le condizioni termiche del campione.

Conservare le bottiglie contenenti il campione in borse termiche refrigerate. Eseguire la determinazione in campo o nel più breve tempo possibile dal prelievo per impedire che la volatilizzazione di alcune sostanze, le reazioni chimiche o l'attività biologica possano alterare l'odore o la sua intensità.

Se il campione viene conservato in frigorifero, assicurarsi che odori estranei non possano penetrare nel campione stesso.

Registrare il tempo intercorso tra il prelievo e l'analisi del campione.

5. Apparecchiature

Tutta la vetreria, che è opportuno utilizzare per la sola determinazione dell'odore, deve essere lavata con soluzione detergente e soluzione acida (1 volume di acido cloridrico concentrato con 9 volumi di acqua) e sciacquata più volte con acqua inodore.

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

- 5.1. Beute di vetro da 500 mL a collo stretto con tappo a smeriglio.
- 5.2. Termometro con scala compresa tra 0 e 100 °C (risoluzione: 1 °C).
- 5.3. Bagni termostatici regolati alla temperatura di 12 ± 2 °C e 25 ± 2 °C.

6. Reagenti

- 6.1. Acqua inodore preparata facendo fluire acqua potabile attraverso una colonna impaccata con 20 g di carbone attivo in grani alla velocità massima di 20 L/ora.
L'acqua filtrata deve essere esente da cloro residuo, non deve possedere una concentrazione salina inusuale, né pH troppo elevati o troppo bassi.
Può anche essere usata acqua minerale non gassata in bottiglia di vetro.

7. Procedura di misura

7.1. Determinazione qualitativa dell'intensità dell'odore

Se l'analisi viene effettuata su campo, riempire la bottiglia di prelievo per circa due terzi; dopo aver agitato il campione, annusare e caratterizzare il più correttamente possibile l'intensità dell'odore riferendosi alla scala di intensità di seguito riportata (8.1.).

Se l'analisi viene condotta in laboratorio, usare la stessa procedura dopo aver riempito per due terzi le beute da 500 mL con il campione. L'esame viene condotto a temperatura ambiente (20-25 °C) previa agitazione del liquido.

7.2. Determinazione quantitativa della soglia di odore

7.2.1. Test preliminare di orientamento. Porre 200, 50, 12 e 2,8 mL di campione in beute da 500 mL con tappo a smeriglio e diluire con acqua inodore (6.1) al volume di 200 mL (Tabella 1).

Preparare un campione di riferimento (bianco) con acqua inodore (6.1.).

Termostatare le soluzioni diluite e il bianco alle temperature di 12 ± 2 °C e 25 ± 2 °C; sottoporle al giudizio del valutatore dopo averle raggruppate in coppie costituite sempre dal campione di riferimento e, di volta in volta, da una delle soluzioni diluite, partendo da quella avente la concentrazione più bassa.

7.2.2. Agitare ogni soluzione con movimento rotatorio, togliere il tappo del recipiente e annusare. Se non si rileva alcun odore ripetere le operazioni descritte con la soluzione a concentrazione immediatamente superiore e così via sino alla prima percezione di odore.

7.2.3. Dosaggio quantitativo. Basandosi sui risultati ottenuti dal test preliminare di orientamento, preparare una serie di diluizioni intermedie seguendo le indicazioni contenute nello schema di Tabella 2.

Tabella 1. Risultato del test preliminare (diluizione, in mL/200 mL, più spinta alla quale può essere ancora percepito l'odore)

A	B	C	D
200	50	12	2,8

Tabella 2. Nuova serie di diluizioni (esprese in mL di campione da diluire a 200 mL). In ogni colonna è elencata la serie corrispondente al risultato del test preliminare

A	B	C	D
200	50	12	2,8
140	35	8,3	2
100	25	5,7	1,4
70	17	4	1
50	12	2,8	-

7.2.4. Si esegue il saggio come riportato in 7.2.1., inserendo tra gli elementi della nuova serie di diluizioni due o più bianchi (acqua inodore). Si annotano le osservazioni dei valutatori (o del valutatore), indicando la presenza o l'assenza di odore in ciascuna beuta (vedi esempio in Tabella 3).

Tabella 3. Esempio

mL di campione in 200 mL	12	0	17	25	0	35	50
risposta	-	-	-	+	-	+	+

7.3. Classificazione degli odori

Facendo riferimento alla Tabella 4 si possono classificare e codificare i vari odori:

Tabella 4. Classificazione degli odori

Codice	Natura dell'odore	Possibile origine dell'odore
A	aromatico	canfora, lavanda, limone, spezie
B	balsamico	fiori diversi
C	chimico	-
Cc	cloro	cloro libero
Ch	idrocarburico	petrolio e derivati
Cm	medicinale o farmaceutico	fenolo, iodoformio
Cs	solfureo	idrogeno solforato
D	sgradevole	-
E	terroso	terra umida, sostanze umiche
F	fecale	pozzo nero
G	erboso	erba pestata, sostanze vegetali
M	muffa	cantina umida, muffe
V	vegetale	radici, vegetali

7.4. Sensibilità dell'operatore

La sensibilità dell'operatore può essere controllata determinando il valore della soglia di percezione per l'alcool butilico: essa corrisponde generalmente a un tenore in alcool butilico di 1-8 mg/L.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Metodo qualitativo

L'odore viene espresso secondo la scala di intensità riportata in Tabella 5. Qualora l'intensità dell'odore risulti ≤ 2 è necessario operare secondo il metodo quantitativo (8.2.).

Tabella 5. Scala di intensità degli odori

Intensità	Definizione	Descrizione
0	nessun odore rivelabile	
1	molto debole	l'odore sfugge ad un normale consumatore, ma può essere rivelato da un esperto in laboratorio
2	debole	l'odore può essere percepito anche da un consumatore normale ma solo dopo aver richiamato la sua attenzione
3	distinguibile	l'odore è facilmente percepibile e può portare ad un giudizio sfavorevole sull'acqua
4	forte	l'odore si impone all'attenzione dell'osservatore e rende l'acqua sgradevole all'assunzione
5	fortissimo	l'odore è di tale intensità che l'acqua non è idonea al consumo umano

8.2. Metodo quantitativo

Il valore della soglia di percezione dell'odore è espresso da un numero che rappresenta il rapporto di diluizione più elevato al quale l'odore è percepito e viene calcolato in base alla seguente formula:

$$\text{odore (tasso di diluizione)} = \frac{A+B}{A} - 1$$

dove:

A = mL di campione prelevati

B = mL di acqua inodore usati per la diluizione.

Secondo l'esempio riportato in 7.2.2., la prima percezione dell'odore si ha quando 25 mL del campione sono diluiti a 200 mL; il valore di soglia è in tal caso:

$$\text{odore} = \frac{25+175}{25} - 1 = 7$$

In alcuni casi può essere data una risposta anomala: una bassa concentrazione può essere valutata positiva, mentre una concentrazione più alta negativa; in tal caso il valore di soglia è rappresentato dal punto di percezione oltre il quale non si verificano ulteriori anomalie.

Bibliografia

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2050: Odore*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

SAPORE

ISS.BKA.028.REV00

0. Generalità e definizioni

Esistono quattro sensazioni fondamentali di sapore: salato, dolce, amaro, acido. Altri sapori apparenti derivano dalla combinazione di due o più sensazioni base e dalla contemporanea percezione dell'odore di tutto ciò che viene assaporato. I sapori fondamentali sono normalmente mascherati dalle sensazioni olfattive e in molti casi risulta difficile differenziare le due sensazioni: il "gusto" di un'acqua è quindi normalmente determinato dalla associazione dell'odore e del sapore.

Nelle acque potabili il sapore è per la maggior parte dei casi associato ai composti inorganici (sali minerali e inorganici dei metalli) presenti generalmente in concentrazione notevolmente più rilevante rispetto al tenore in sostanze organiche.

Per un'acqua di sapore neutro il contenuto di sali è approssimativamente pari a quello della saliva, alla quale i recettori del gusto si sono adattati.

Sono rivelabili al sapore soluzioni di sali inorganici (Fe, Mn, Cu, Zn, Na) in concentrazioni variabili da pochi mg/L a centinaia di mg/L. Tracce di sostanze organiche possono impartire all'acqua un sapore associato ad un odore.

Nella Tabella 1 si riportano i limiti di percezione (in mg/L) dei sapori per alcune specie inorganiche.

Tabella 1. Limiti di percezione (mg/L) dei sapori per alcune specie inorganiche

Sostanza	Nettamente riconoscibile	Debolmente percettibile	Non rivelabile
CaCl ₂ , NaCl	600	300	150
MgCl ₂	100	60	-
FeSO ₄	7	3,5	1,75
CuSO ₄	7	3,5	1,75
FeCl ₃	30	15	7,50
H ₂ S	1,15	0,55	0,30
Ca(OCl) ₂	0,5	0,2	0,05
Cl ₂	0,1	0,05	0,01

Alterazioni del sapore di un'acqua possono avere origine naturale o antropica.

Nel primo caso sono dovute alla presenza di microrganismi, principalmente alghe e attinomiceti, o alla solubilizzazione di sali minerali contenuti nel terreno.

Nel secondo caso il sapore può subire modificazioni in seguito alla contaminazione derivante da effluenti urbani o industriali, da composti secondari generati durante alcuni processi di trattamento (coagulazione, ossidazione, disinfezione), da sostanze rilasciate da tubazioni e serbatoi o dal materiale di rivestimento delle canalizzazioni, da condizioni particolari (ristagni, sifonamenti) che si possono verificare nei sistemi di distribuzione.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il metodo può essere applicato solo a campioni non contaminati da batteri, virus, parassiti e sostanze chimiche pericolose per la salute umana. In casi dubbi è necessario filtrare l'acqua in esame utilizzando un filtro da 0,2 µm per eliminare i microrganismi; per ulteriore sicurezza si consiglia di irradiare il campione con luce ultravioletta, al fine di eliminare i virus.

2. Principio del metodo

Il metodo descritto si propone, come duplice obiettivo, l'identificazione e la classificazione del sapore, nonché la misura della sua intensità.

La procedura analitica si basa sulla preparazione di diverse diluizioni del campione con acqua insapore. I campioni diluiti vengono degustati al fine di valutare la diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito il sapore. Tale diluizione rappresenta la soglia di percezione del sapore ed è un'espressione indiretta della sua "concentrazione" nel campione.

La determinazione deve essere eseguita da un minimo di due persone: una per preparare le diluizioni del campione, l'altra per degustare le soluzioni diluite.

Una valutazione rigorosa, basata su una maggiore rappresentatività, richiede l'impiego di non meno di 6 osservatori.

3. Interferenze e cause d'errore

Deve essere utilizzata vetreria perfettamente pulita. Non debbono essere usati tappi di gomma, sughero o plastica.

La prova è influenzata da numerosi fattori quali: temperatura dell'acqua; stato fisico degli operatori; presenza di odore di fondo; preparazione e presentazione del campione.

Non possono eseguire il saggio persone scarsamente sensibili (7.3) o in condizioni fisiche che possano influenzare la risposta alla prova (es. raffreddori o allergie). Gli osservatori prescelti non devono essere fumatori o consumatori di alcolici e sono comunque obbligati ad astenersi dall'uso di saponi profumati, lozioni da barba, ecc.

Chi esegue il saggio non deve preparare i campioni e non deve conoscere le diluizioni eseguite sul campione in esame.

L'ambiente dove si svolge la prova e tutte le attrezzature utilizzate debbono essere privi di odore. La stanza deve essere ben pulita e possedere, preferibilmente, prese d'aria filtrata attraverso carbone attivo.

In presenza di cloro libero è in molti casi necessario determinare il sapore sul campione tal quale e su un'aliquota trattata con la quantità stechiometrica di tiosolfato sodico necessaria per la riduzione del cloro. In tal caso deve essere sottoposto al controllo degustativo anche un bianco ottenuto aggiungendo la medesima quantità di tiosolfato.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Prelevare i campioni riempiendo completamente bottiglie di vetro del volume minimo di 2 L, previamente refrigerate e provviste di tappo smerigliato o in teflon. Non impiegare recipienti di plastica.

Al momento del prelievo annotare la temperatura dell'acqua per esaminare eventualmente la correlazione tra i valori dell'intensità del sapore e le condizioni termiche del campione.

Conservare le bottiglie contenenti il campione in borse refrigerate. Eseguire la determinazione nel più breve tempo possibile (max 24 ore) per impedire che le reazioni chimiche o l'attività biologica possano alterare il sapore o la sua intensità.

Registrare il tempo intercorso tra il prelievo e l'analisi del campione.

5. Materiali e apparecchiature

La vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione certificata almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

Tutta la vetreria, che è opportuno utilizzare per la sola determinazione del sapore, deve essere lavata con soluzione detergente e soluzione acida (1 volume di acido cloridrico concentrato con 9 volumi di acqua) e sciacquata più volte con acqua insapore; assicurarsi della sua sicurezza igienica.

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

5.1. Termometro con scala compresa almeno tra 0 e 50 °C (risoluzione di almeno 1 °C).

5.2. Bagni termostatici regolati alla temperatura di 12 ± 2 °C e 25 ± 2 °C.

6. Reagenti

6.1. Acqua insapore (bianco): deve essere impiegata acqua potabile di sorgente o di pozzo priva di odore e sapore o acqua minerale non gassata non acidula.

7. Procedura di misura

7.1. Determinazione della soglia di sapore

7.1.1. Test preliminare. Si prelevano 200, 50, 12 e 2,8 mL di campione e si diluiscono, con acqua insapore (6.1), ad un volume di 200 mL in beute da 500 mL con tappo a smeriglio (Tabella 2).

Si prepara un campione di riferimento (bianco) con acqua insapore (6.1).

Le soluzioni diluite e il campione di riferimento (beuta contenente acqua insapore) vengono termostatate alle temperature di 12 ± 2 °C e 25 ± 2 °C.

7.1.2. Si introduce in bocca un qualsiasi volume del campione di riferimento trattenendolo per alcuni secondi ed eliminandolo senza inghiottire. Si ripete quindi la stessa operazione con i campioni diluiti, iniziando da quello a concentrazione più bassa, fino alla prima percezione del sapore che può comparire immediatamente o dopo qualche tempo. Assaporare il bianco tra due diluizioni del campione in esame.

Tabella 2. Risultato del test preliminare (diluizione, in mL/200 mL, più spinta alla quale può essere ancora percepito il sapore)

A	B	C	D
200	50	12	2,8

7.1.3. Dosaggio quantitativo. Basandosi sui risultati ottenuti nel test preliminare (7.1.1), preparare una serie di diluizioni intermedie seguendo le indicazioni riportate in Tabella 3.

Tabella 3. Nuova serie di diluizioni (espresse in mL di campione da diluire a 200 mL). In ogni colonna è elencata la serie corrispondente al risultato del test preliminare

A	B	C	D
200	50	12	2,8
140	35	8,3	2
100	25	5,7	1,4
70	17	4	1
50	12	2,8	-

7.1.4. Si esegue il saggio come riportato in 7.1.2, inserendo nella nuova serie di diluizioni due o più bianchi (acqua insapore).

Si annotano le osservazioni degli assaggiatori indicando la presenza o l'assenza di sapore in ciascuna beuta. In Tabella 4 è riportato un esempio di saggio.

Tabella 4. Esempio

mL di campione in 200 mL	12	0	17	25	0	35	50
risposta	-	-	-	+	-	+	+

7.2. Classificazione dei sapori

Facendo riferimento alla Tabella 5 si possono classificare e codificare i principali sapori.

Tabella 5. Classificazione dei principali sapori

codice	natura del sapore	descrizione del sapore
M	Origine minerale	
Mb	sapore di bicarbonato sodico	acqua gassata
Mg	sapore magnesiacco	salato e amaro
Mn	sapore metallico	tracce di Fe o di Cu
Ms	sapore salato	0,5 g/L di NaCl al minimo
O	Origine organica	
Oh	sapore di idrocarburi	petrolio e derivati
Om	sapore di medicinale	prodotti fenolici
Ot	sapore di terra	
Ov	sapore di sostanze vegetali	acque stagnanti

7.3. Sensibilità dell'operatore

La sensibilità dell'operatore può essere controllata determinando il valore della soglia di percezione per una soluzione contenente 0,01 mg/L di fenolo alla quale sono stati aggiunti 0,1 mg/L di cloro libero.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

Il valore di soglia del sapore è espresso da un numero che rappresenta il rapporto di diluizione più elevato in corrispondenza del quale è stato percepito il sapore. Si calcola applicando la seguente formula:

$$\text{sapore (tasso di diluizione)} = \frac{A+B}{A} - 1$$

dove:

A = mL di campione prelevati;

B = mL di acqua insapore usati per la diluizione.

Secondo l'esempio riportato in 7.1.3, la prima percezione di sapore si ha quando 25 mL del campione sono diluiti a 200 mL; il valore di soglia è in tal caso :

$$\text{sapore} = \frac{25+175}{25} - 1 = 7$$

In alcuni casi può essere data una risposta anomala: una bassa concentrazione può essere valutata positiva mentre una concentrazione più elevata negativa; in tal caso il valore di soglia è rappresentato dal punto di percezione oltre il quale non si verificano ulteriori anomalie.

Bibliografia

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2080: Sapore*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

COLORE

ISS.BJA.021.REV00

0. Generalità e definizioni

Il colore di un'acqua viene generalmente impartito da sostanze organiche, quali acidi umici e fulvici (ai quali può essere attribuita una colorazione giallo-bruna) o dai sali di alcuni metalli come ferro, manganese e rame.

Osservando la luce trasmessa attraverso uno spessore di alcuni metri, il colore dell'acqua risulta naturalmente variabile nella tonalità del blu. La presenza di sostanze estranee colorate determina una variazione del colore tra infinite tonalità.

Deve essere distinto il colore apparente, dovuto alle sostanze disciolte e in sospensione nell'acqua, da quello vero, dovuto solo alle sostanze disciolte.

Viene definita come unità Pt/Co o unità Hazen il colore prodotto da una soluzione contenente 1 mg/L di platino (esacloroplatinato) in presenza di 2 mg/L di cobalto cloruro esaidrato.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il metodo può essere applicato a campioni nei quali il colore di base sia simile a quello della soluzione di riferimento al platino-cobalto (giallo-bruno).

2. Principio del metodo

La procedura analitica si basa sul confronto visivo tra il campione in esame e una o più soluzioni di riferimento preparate in condizioni univocamente definite.

Possono essere utilizzati due metodi:

metodo a: determinazione semiquantitativa, da utilizzare per il controllo sommario del colore, mediante comparazione dell'intensità di colore del campione con quella di una soluzione di riferimento.

metodo b: determinazione quantitativa mediante comparazione dell'intensità di colore del campione con quella di soluzioni di riferimento a varie concentrazioni. Tale metodo consente di misurare un'intensità di colore pari a 1 mg/L di Pt/Co.

3. Interferenze e cause di errore

Errori nella misura del colore sono causati dalla presenza nel campione di torbidità, sostanze in sospensione e sedimenti; prima di procedere alla comparazione visiva del colore è necessario, quindi, rimuovere tali interferenti mediante filtrazione dell'acqua su membrana o centrifugazione.

Il colore dell'acqua viene influenzato dal pH.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Serie di cilindri di Nessler con vetro ottico incolore, tacca di riferimento a 100 mL di capacità e fondo riportato di vetro ottico incolore a facce piane e parallele. I cilindri devono avere le seguenti dimensioni (indicative): diametro interno 26 mm, altezza totale 220 mm.

La vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

5.2. Centrifuga da laboratorio.

5.3. Superficie bianca opaca (lastra di vetro opaca).

5.4. Apparecchiatura di microfiltrazione con membrane a porosità 0,45 µm.

6. Reagenti

Nel corso dell'analisi, se non è altrimenti indicato, utilizzare solo reagenti di riconosciuta qualità analitica e acqua ultrapura esente da tracce dell'analita o acqua di purezza equivalente.

6.1. Cloroplatinato di potassio (K_2PtCl_6)

6.2. Cloruro di cobalto esaidrato ($CoCl_2 \cdot 6 H_2O$)

6.3. Acido cloridrico concentrato ($d = 1,18 \text{ g/mL}$)

6.4. Soluzione di riferimento al platino-cobalto

Sciogliere 1,245 g di cloroplatinato di potassio (6.1.) (pari a 0,500 g di platino metallico) e 1,000 g di cloruro di cobalto (6.2.) in circa 500 mL di acqua. Aggiungere 100 mL di acido cloridrico concentrato (6.3.) e portare al volume di 1000 mL con acqua in un matraccio tarato.

Il colore convenzionale della soluzione è pari a 500 unità Pt-Co (Hazen).

La soluzione è stabile per 6 mesi se conservata in bottiglia di vetro, al buio e a temperatura inferiore a 30 °C.

6.5. Soluzioni di riferimento

Porre in una serie di matracci tarati da 250 mL 0,5 - 2,5 - 5,0 - 7,5 - 10,0 - 12,5 - 15,0 - 17,5 - 20,0 - 25,0 - 30,0 - 35,0 mL esattamente misurati della soluzione di riferimento (6.4.). Portare a volume con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita.

Le soluzioni contengono rispettivamente 1 - 5 - 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 - 50 - 60 e 70 mg/L di Pt che corrispondono agli stessi valori della scala di colore Pt-Co (Hazen). Le soluzioni sono stabili per un mese se conservate in bottiglie di vetro, al buio e a temperatura ambiente.

7. Procedura di misura

7.1. Pretrattamento del campione

Se il campione di acqua contiene sostanze in sospensione o sedimento, è necessario sottoporlo al procedimento di centrifugazione o microfiltrazione. Operare sul supernatante o su un filtrato perfettamente limpido.

La filtrazione su carta non può essere eseguita in quanto può determinare la decolorazione del campione.

7.2. Metodo a: valutazione semiquantitativa del colore

Riempire un cilindro di Nessler fino al tratto di taratura con un'aliquota del campione eventualmente centrifugata o filtrata. Confrontare l'intensità di colore del campione con quella di una soluzione di riferimento corrispondente a 10 mg/L di Pt (6.5.).

La determinazione deve essere eseguita in presenza di luce naturale non diretta, guardando parallelamente all'asse dei cilindri di Nessler appoggiati su una superficie bianca opaca.

7.3. Metodo b: valutazione quantitativa del colore

Procedere come al punto 7.2., ma effettuare il confronto dell'intensità del colore del campione con quelle di una serie di soluzioni di riferimento (6.5.).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1 Se è stato seguito il metodo a (7.2.), il risultato della determinazione viene espresso semplicemente nei tre modi seguenti:

colore < 10 Hazen

colore = 10 Hazen

colore > 10 Hazen

Nel caso in cui il colore risulti > 10 Hazen è consigliabile ripetere la determinazione usando il metodo b (7.3.).

8.2 Se è stato seguito il metodo b (7.3.), il risultato della determinazione del colore viene espresso in numeri interi.

Quando il colore del campione è compreso tra due soluzioni di misura, usare l'espressione:
colore < soluzione di riferimento con intensità maggiore

9. Prestazioni del metodo

Sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, il metodo presenta i seguenti valori di esattezza e di precisione:

Grandezza	Esattezza (%)	Precisione (%)	Limite di rivelabilità
Colore	≤ 20	≤ 10	-

Bibliografia

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2020: Colore.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI EN ISO 7393-1. . *Qualità dell'acqua. Esame e determinazione del colore.* Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1997.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

TORBIDITÀ: METODO NEFELOMETRICO ALLA FORMAZINA

ISS.BLA.030.REV00

0. Generalità e definizioni

La torbidità è la riduzione della trasparenza di un liquido per la presenza di sostanze insolubili in sospensione.

Nell'acqua è causata dalla presenza di materiali indisciolti quali plancton, composti organici, sostanze minerali e altro. È però difficile correlare la torbidità al contenuto di solidi in sospensione nell'acqua, perché la prima è anche funzione della dimensione delle particelle e del loro indice di rifrazione.

Oltre ad avere rilevanza ai fini delle caratteristiche organolettiche, la torbidità può alterare la qualità batteriologica di un'acqua sia direttamente, in seguito all'adsorbimento dei microrganismi sulla superficie dei solidi in sospensione, sia indirettamente influenzando i processi di disinfezione (aumento della richiesta di disinfettante, diminuzione dell'effetto dei raggi UV, ecc.)

È comunque dimostrato che sino a 5 NTU (nephelometric turbidity units) non si ha un peggioramento della disinfezione, se tale operazione è condotta correttamente (concentrazione di disinfettante e tempo di contatto sufficienti).

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il metodo è applicabile nell'intervallo compreso tra 0,05 e 40 NTU.

Se la torbidità è superiore a 40 NTU è possibile effettuare la determinazione applicando il presente metodo dopo aver diluito il campione con acqua ultrapura. Ciò è necessario perché al di sopra di 40 NTU non vi è più linearità tra le misure della luce diffratta e la torbidità stessa.

2. Principio del metodo

Nel caso di sostanze finemente disperse la torbidità può essere determinata misurando l'intensità della luce diffusa.

In pratica si compara l'intensità della luce diffusa dal campione in esame con quella diffusa da una sospensione standard in condizioni fisiche e strumentali univocamente definite.

Lo standard utilizzato nel presente metodo è la formazina.

Ad una sospensione di tale sostanza (in concentrazione definita) è assegnato convenzionalmente il valore di 40 Unità di Torbidità Nefelometriche (NTU), a volte indicate anche come "Unità di Torbidità della Formazina" (FTU).

La torbidità della sospensione a 40 NTU è approssimativamente eguale a 40 unità di torbidità Jackson (JTU), vecchia unità utilizzata nelle misure effettuate con il torbidimetro a candela. La corrispondenza tra la scala Jackson e quella alla formazina è limitata però allo standard di 40 NTU; per altri valori non esiste una relazione precisa.

3. Interferenze e cause di errore

Le bollicine d'aria trattenute nell'acqua in esame possono dar luogo a letture instabili ed errate. Altre fonti di errore derivano dalla presenza di sostanze colorate solubili. Nel caso delle acque destinate al consumo umano la maggiore interferenza è causata dalle bollicine dei gas disciolti.

4. Prelievo e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

Tutta la vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione certificata almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

Attrezzatura di uso comune in laboratorio e:

5.1. Nefelometro

La misura della torbidità è fortemente influenzata dal tipo di apparecchio usato; per minimizzare questa differenza è necessario che gli strumenti utilizzati siano in possesso delle seguenti caratteristiche:

- 5.1.1. Sorgente luminosa: lampada a filamenti di tungsteno con una temperatura di colore compresa tra 2200 e 3000K.
- 5.1.2. Cammino ottico totale nel campione (raggio incidente più raggio diffuso) non superiore a 10 cm.
- 5.1.3. Detector dotato di sensibilità massima nel range di 400 ÷ 600 nm.

6. Reagenti

Nel corso dell'analisi, se non è altrimenti indicato, utilizzare solo reagenti di riconosciuta qualità analitica

6.1. Acqua

Filtrare l'acqua attraverso una membrana filtrante di porosità 0,2 µm. I primi 250 mL di acqua filtrata non devono essere utilizzati.

6.2. Formazina

La soluzione di formazina non è generalmente reperibile in commercio, va perciò preparata nel modo seguente:

- 6.2.1. Soluzione A. Sciogliere 10,000 g di esametilentetrammina ($C_6H_{12}N_4$) in acqua (6.1.) e diluire a 100 mL.
- 6.2.2. Soluzione B. Sciogliere 1,000 g di solfato di idrazina $[(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4]$ in acqua (6.1.) e diluire a 100 mL.
- 6.2.3. Sospensione madre di formazina a 400 NTU. Miscelare 5 mL di soluzione A (6.2.1) con 5 mL di soluzione B (6.2.2.); tenere per 24 ore a 25 ± 3 °C e diluire a 100 mL con acqua (6.1.)

La torbidità della sospensione così preparata è di 400 FTU (Formazin Turbidity Units). La sospensione è stabile per 1 mese se conservata a temperatura di 25 ± 3 °C al buio.

- 6.2.4. Sospensione intermedia di formazina a 40 NTU. Prelevare con pipetta tarata 100 mL della sospensione madre di formazina (6.2.3.) e trasferirli in un matraccio tarato da 1000 mL; portare a volume con acqua (6.1.). La sospensione conservata al buio a 25 ± 3 °C è stabile per una settimana.

6.3. Sospensioni diluite di formazina per la taratura del nefelometro

Introdurre, in altrettanti matracci tarati da 100 mL, rispettivamente 0 - 5 - 10 - 20 - 30 - 50 - 70 - 100 mL di sospensione intermedia (6.2.4.) misurandoli con una buretta. Diluire a volume con acqua (6.1.) e omogeneizzare. Queste sospensioni, corrispondenti rispettivamente a 0 - 2 - 4 - 8 - 12 - 20 - 28 - 40 NTU, sono stabili per una settimana.

7. Procedura di misura

7.1. Taratura dello strumento

Tarare lo strumento seguendo le istruzioni fornite dalla casa fornitrice con le sospensioni di formazina (6.3.). È possibile usare anche standard secondari forniti dal fabbricante; è però necessario procedere a periodiche tarature secondo le indicazioni della casa produttrice impiegando le sospensioni di formazina (6.3.).

7.2. Misura della torbidità dei campioni

- 7.2.1. Campioni con torbidità inferiore a 40 FTU. Agitare vigorosamente i campioni e attendere che siano scomparse le bolle d'aria. Per facilitare l'operazione è possibile usare un bagno ad ultrasuoni; in tal caso è sufficiente immergervi la cella di misura per alcuni secondi. Leggere direttamente la misura sullo strumento previamente calibrato.
- 7.2.2. Campioni con torbidità superiore a 40 FTU Diluire opportunamente il campione con acqua (6.) e procedere come descritto al punto 7.2.1., tenendo presente la diluizione effettuata nell'espressione del risultato.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

Moltiplicare il dato della torbidità letta sullo strumento per il fattore di diluizione impiegato. Approssimare i risultati come mostrato in Tabella 1.

Tabella 1. Criteri di approssimazione da adottare

Torbidità compresa nell'intervallo (NTU)		Approssimazione (NTU)
0 -	1	0,05
1 -	10	0,1
10 -	40	1
40 -	100	5
100 -	400	10
400 -	1000	50
> 1000		100

9. Prestazioni del metodo

Sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio si riportano, a titolo indicativo, i seguenti dati.

Grandezza	Esattezza in %*	Precisione in %*	Limite di rivelabilità (NTU)
Torbidità	≤ 10	≤ 5	≤ 0,5

* al valore 0,5 NTU

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 2110: Torbidità.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI EN ISO 7027. *Qualità dell'acqua. Determinazione della torbidità.* Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

OSSIDABILITÀ AL PERMANGANATO: METODO TITRIMETRICO (SECONDO KÜBEL) ISS.BEB.027.REV00

0. Generalità e definizioni

L'ossidabilità al permanganato è una misura convenzionale della contaminazione dovuta a materiale organico e a sostanze inorganiche ossidabili presenti nel campione di acqua. L'ossidabilità del permanganato non può pertanto essere utilizzata come una misura rigorosa del tenore in sostanze organiche presenti nell'acqua ma rappresenta un indice convenzionale che misura le proprietà riducenti dell'acqua. Tale indice è comunque ben utilizzabile per valutare la qualità dell'acqua: nella generalità dei casi la qualità dell'acqua migliora all'abbassarsi di tale indice.

L'ossidabilità al permanganato è definita come la quantità di ossigeno, espressa in mg/L, equivalente alla quantità di permanganato consumato quando un campione di acqua è trattato con una soluzione di potassio permanganato in ambiente acido e in condizioni ben definite.

1. Campo di applicazione

Il parametro della ossidabilità con il permanganato in ambiente acido è una valutazione globale aspecifica di tutte le sostanze ossidabili dal potassio permanganato (sostanze organiche, solfuri, nitriti, sali ferrosi, ecc.).

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Nel caso di acque mediamente e fortemente inquinate è preferibile valutare l'ossidabilità mediante l'uso di bicromato di potassio.

2. Principio del metodo

Il campione è trattato per 10 minuti a temperatura di ebollizione in presenza di una quantità nota di potassio permanganato e di acido solforico.

In tali condizioni ha luogo la riduzione di una parte del potassio permanganato ad opera delle sostanze ossidabili presenti nel campione. Si determina quindi il potassio permanganato consumato, mediante addizione di un eccesso di sodio ossalato in soluzione equivalente alla quantità iniziale di potassio permanganato aggiunto, e successiva titolazione a circa 70° C con potassio permanganato.

3. Interferenze e cause di errore

Nelle condizioni operative del metodo i cloruri, se presenti in concentrazioni superiori a 300 mg/L, interferiscono significativamente sulla misura essendo ossidati a Cl₂.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Al momento del prelievo acidificare il campione con 5 mL di acido solforico diluito (6.1.) per ogni litro di campione. Se si prevede di effettuare l'analisi dopo 6 ore dal prelievo (comunque entro le 24 ore) è bene conservare il campione in bottiglia scura ad una temperatura inferiore a 5 °C.

La conservazione del campione deve essere limitata il più possibile e comunque non superiore alle 24 ore.

Il volume minimo consigliato di campione da prelevare per questa determinazione è di 250 mL.

5. Materiali e apparecchiature

Tutta la vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione certificata almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

Tutta la vetreria da utilizzare per questa analisi deve essere preventivamente lavata con soluzione acida di permanganato caldo (90 - 95 °C) e risciacquata con acqua.

5.1. Piastra riscaldante tradizionale (con l'uso di palline di vetro o pietra pomice in granuli) o, in caso di disponibilità, munita di agitatore elettromagnetico.

6. Reagenti

Nel corso dell'analisi, se non è altrimenti indicato, utilizzare solo reagenti di riconosciuta qualità analitica e acqua purificata secondo quanto descritto in seguito. Non utilizzare assolutamente acqua deionizzata proveniente da trattamento con resine a scambio ionico.

6.1. Acqua a basso consumo di permanganato di potassio

6.1.1. Aggiungere 5 mL di acido solforico diluito (6.2.) e una quantità in leggero eccesso di permanganato di potassio, soluzione madre (6.5.) ad un litro di acqua.

6.1.2. Distillare in un'apparecchiatura in vetro scartando i primi 100 mL.

6.1.3. Conservare in bottiglia di vetro munita di tappo in vetro.

In alternativa può essere utilizzata acqua purificata ottenuta per osmosi inversa.

6.2. Acido solforico diluito

6.2.1. In un beaker da 400 mL, contenente 150 mL di acqua, versare lentamente, sotto continua agitazione e raffreddando esternamente 50,0 mL di acido solforico concentrato ($d = 1,84 \text{ g/mL}$) misurati con un cilindro.

6.2.2. Aggiungere goccia a goccia la soluzione di permanganato di potassio (6.5.) sino ad ottenere una colorazione rosa persistente.

6.2.3. Raffreddare e conservare in bottiglia tappata.

6.3. Ossalato di sodio, soluzione madre 62,5 mM

6.3.1. Essiccare in stufa a $120 \pm 5 \text{ °C}$, per almeno 2 ore, circa 10 g di ossalato di sodio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) e successivamente lasciare raffreddare in essiccatore.

6.3.2. Pesare 8,375 g di sodio ossalato fresco e trasferirli in un matraccio tarato da 1000 mL; solubilizzare e diluire a volume con acqua. Omogeneizzare. Questa soluzione è stabile per circa 6 mesi se conservata in bottiglia scura ben tappata.

6.4. Ossalato di sodio, soluzione titolante 6,25 mM

6.4.1. In un matraccio tarato da 500 mL introdurre, mediante pipetta tarata, 50,0 mL di soluzione madre di sodio ossalato (6.3.).

6.4.2. Diluire a volume con acqua e omogeneizzare.

6.5. Permanganato di potassio, soluzione madre circa 25 mM

6.5.1. Solubilizzare 4,00 g di permanganato di potassio (KMnO_4) in 1000 mL di acqua.

6.5.2. Riscaldare a circa 90 – 95 °C per 2 ore, quindi lasciare raffreddare a temperatura ambiente e trasferire in una bottiglia scura.

6.5.3. Lasciare a riposo questa soluzione per 2 giorni, filtrare su filtro in fibra di vetro e conservare in bottiglia scura.

6.6. Permanganato di Potassio, soluzione titolante 2,5 mM

1 mL di questa soluzione corrisponde a 0,1 mg di ossigeno.

6.6.1. In un matraccio tarato da 500 mL introdurre, mediante pipetta tarata, 50,0 mL di soluzione madre di permanganato di potassio (6.5.).

6.6.2. Diluire a volume con acqua e miscelare accuratamente.

Il titolo esatto di questa soluzione deve essere determinato per confronto con la soluzione di ossalato di sodio (6.4.) operando come riportato in 7.2.4. Questa soluzione è relativamente stabile per diversi mesi se conservata in bottiglia scura e al riparo dalla luce.

7. Procedura di misura

7.1. Prova in bianco

Eeguire una prova in bianco dei reagenti seguendo le stesse modalità riportate in 7.2., ma sostituendo il campione con un uguale volume di acqua.

Qualora il consumo di permanganato di potassio superi i 0,2 mL accertarsi sulla procedura seguita e/o utilizzare acqua a più basso contenuto di sostanze riducenti.

7.2. Determinazione

7.2.1. Introdurre, in una beuta da 300 mL, un'aliquota di campione esattamente misurata mediante pipetta (V_0) ed eventualmente diluire con acqua sino ad un volume globale di 100 mL. Aggiungere mediante pipetta 5 mL di acido solforico diluito (6.2.) e mediante buretta 10,0 mL di potassio permanganato (6.6.).

7.2.2. Porre la soluzione (7.2.1.) su una piastra riscaldante e portare all'ebollizione mantenendola per 10 minuti. Se durante questa operazione si ha decolorazione, aggiungere altro permanganato di potassio (6.6.) misurandolo sempre con buretta, e annotare il volume globale di permanganato di potassio (6.6.) aggiunto per mantenere la soluzione sempre colorata in rosso.

7.2.3. Dopo 10 minuti di ebollizione aggiungere una quantità di ossalato di sodio (6.4.), esattamente misurata con buretta, equivalente alla quantità di permanganato di potassio (6.6.) globalmente aggiunta.

7.2.4. Titolare, mentre la soluzione è calda, l'eccesso di ossalato di sodio utilizzando la soluzione di permanganato di potassio (6.6.) sino ad ottenere una colorazione rosa persistente. Annotare il consumo di permanganato di potassio soluzione 2,5 mM (V_1).

8. Calcolo ed espressione dei risultati

L'ossidabilità al permanganato del campione in esame, espressa come mg di ossigeno equivalente consumati per litro di campione, è data da:

$$\text{O}_2 \text{ consumato (mg/L)} = \frac{V_1 \cdot F \cdot 1000}{V_0}$$

dove:

V_0 è il volume in mL di campione sottoposto all'analisi (7.2.1.);

V_1 è il volume in mL di permanganato di potassio, soluzione 2,5 mM (6.5.), usati per la titolazione (7.2.4.);

F è il fattore di correzione della soluzione di permanganato di potassio 2,5 mM (6.5.);

100 è il fattore di trasformazione per riportare il dato in mg/L (1 mL di KMnO_4 2,5 mM = 0,1 mg di ossigeno).

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Ossidabilità	≤ 25	≤ 25	≤ 0,5

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

UNI EN ISO 7393-1. 8467. *Qualità dell'acqua. Determinazione dell'indice di permanganato*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1997.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

MICROCISTINE: METODO IMMUNOENZIMATICO

ISS.BGA.044.REV00

0. Generalità e definizioni

L'utilizzo di acque superficiali da destinare al consumo umano può comportare alcune problematiche di carattere sanitario legate alla presenza di cianobatteri. Questi ultimi, noti anche come alghe verde-azzurre, sono batteri fotosintetici Gram-negativi, caratterizzati da un'elevata variabilità morfologica (forma unicellulare, coloniale, filamentosa) e dimensionale (da organismi unicellulari con diametro < 1 µm a forme filamentose di lunghezza fino a qualche mm).

La presenza e proliferazione di cianobatteri è frequente in bacini lacustri, bacini di stoccaggio artificiale e serbatoi naturali che presentino condizioni caratterizzate da un'elevata irradiazione e temperatura, bassa turbolenza, alta concentrazione di nutrienti.

La rilevanza igienico-sanitaria dei fenomeni di diffusione di cianobatteri in acque da destinare a consumo umano è connessa alla capacità, da parte di alcune specie, di produrre metaboliti tossici (cianotossine) potenzialmente trasferibili all'uomo anche attraverso il consumo di acqua contaminata. Sono riconosciute tossiche più di cinquanta specie di cianobatteri; tra i generi maggiormente coinvolti nella produzione di cianotossine figurano *Microcystis*, *Nodularia*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Cylindrospermopsis*.

Le cianotossine ad oggi identificate, si differenziano in base al loro meccanismo d'azione in:

- epatotossine (microcistine e nodularine), hanno la capacità di inibire le fosfatasi PP1 e 2A, con conseguente iperfosforilazione proteica a livello del citoscheletro degli epatociti; l'ingestione sistematica di tali tossine è correlata a fenomeni di infiammazione e degenerazione degli epatociti;
- neurotossine (anatotossine e saxitossine), agiscono sul sistema neuromuscolare, bloccando la trasmissione nervosa attraverso differenti meccanismi;
- citotossine (cilindrospermopsina), agiscono a livello di diversi organi bersaglio come inibitori della sintesi proteica;
- dermatotossine (lyngbyatossina A, aplysiatossina e lipopolisaccaridi), causano irritazione della pelle e delle mucose inibendo la sintesi proteica.

Le cianotossine presenti in un corpo idrico sono principalmente contenute all'interno delle cellule produttrici (tossine intracellulari); tuttavia elevate concentrazioni di tossine possono essere rilasciate in acqua soprattutto a seguito di senescenza e lisi cellulare (tossine extracellulari o libere).

Il rischio associato alla presenza di cianotossine nelle acque destinate al consumo umano può essere notevolmente ridotto mediante rimozione o filtrazione delle biomasse algali presenti nelle acque, mentre l'utilizzo di trattamenti con agenti ossidanti (es. cloro od ozono) responsabili di lisi cellulare potrebbe aumentare il rilascio degli agenti tossici in forma libera all'interno del corpo idrico e di conseguenza il rischio di contaminazione per l'uomo. Tuttavia gli stessi trattamenti di potabilizzazione che vengono effettuati prima della distribuzione sono generalmente efficaci per una sostanziale rimozione sia delle cellule che delle cianotossine presenti.

Tra le cianotossine, le microcistine (MCs) rappresentano le tossine più ampiamente distribuite e maggiormente implicate negli episodi di carattere sanitario riscontrati finora.

Le MCs sono eptapeptidi monociclici a basso peso molecolare caratterizzati dalla presenza di un aminoacido idrofobico, l'ADDA (acido 3-ammino, 9-metossi, 2,6,8-trimetil, 10-fenildeca, 4,6-dienico). I numerosi congeneri di MCs, caratterizzati da proprietà tossicologiche notevolmente diverse, si differenziano fondamentalmente a livello di due aminoacidi sui quali è anche basata la nomenclatura delle MCs.

Sebbene ad oggi siano stati identificati più di 80 congeneri di MCs, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha stabilito una concentrazione limite provvisoria per le acque destinate al consumo umano solo per la MC-LR, il composto ritenuto più diffuso e tossico, i cui aminoacidi sostituenti

sono rispettivamente leucina e arginina. Sulla base dei dati tossicologici disponibili (*Tolerable Daily Intake*, TDI di 0,04 µg/kg pc/giorno) l'OMS ha fissato per la MC-LR un valore guida di 1,0 µg/L. In considerazione della scarsa attendibilità di un approccio indiretto per la sorveglianza delle cianotossine nel corpo idrico basato sul controllo di parametri quali nutrienti e/o densità di cianobatteri, numerosi Paesi anche all'interno dell'UE, prevedono il monitoraggio delle microcistine nelle acque, con un valore di parametro per la MC-LR basato sulle indicazioni dell'OMS.

Per la determinazione delle MCs nelle acque sono attualmente disponibili metodi immunologici, principalmente utilizzati per fini di screening e metodi di conferma basati sull'accoppiamento cromatografia liquida-spettrometria di massa (cfr. metodo ISS.CBA.044.revXX).

1. Campo di applicazione

Il metodo immuno-enzimatico ELISA, utilizzabile principalmente per analisi di screening, consente la determinazione delle MCs nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, le acque di piscina e quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti. Il metodo, impiegando anticorpi specifici capaci di riconoscere e legarsi all'ADDA, non è in grado di discriminare tra i diversi congeneri. I risultati sono espressi come equivalenti di MC-LR e la quantità totale di MCs presente nel campione è determinata per interpolazione su curva di taratura.

Il range di determinazione del metodo può variare a seconda del tipo di test o kit commerciale utilizzato; in generale sono disponibili kit in grado di determinare concentrazioni comprese tra 0,1 – 2,5 µg/L di MC-LR, concentrazioni superiori di analita possono essere dosate previa diluizione del campione.

2. Principio del metodo

Il metodo utilizza anticorpi policlonali immobilizzati sulle pareti di un sistema test (es. micropiastre da 96 pozzetti) che possono legare sia le MCs, con maggiore affinità, sia un coniugato enzima-microcistina. Il saggio viene definito "competitivo" in quanto il numero di siti anticorpali è limitato e gli analiti dovranno competere con il coniugato enzima-microcistina per legarsi all'anticorpo.

Poiché in ogni pozzetto è presente una quantità nota di anticorpi immobilizzati, e ciascun pozzetto riceve lo stesso numero di molecole di coniugato enzima-microcistina, un campione che contiene una bassa concentrazione di MCs permette all'anticorpo di legare un alto numero di molecole di coniugato; viceversa, alte concentrazioni di MCs presenti nel campione consentono ad un basso numero di molecole di coniugato di legarsi agli anticorpi. La rivelazione dei complessi è realizzata per via colorimetrica, con una relazione inversa che lega intensità di colore e concentrazione di MCs legate; i due casi del precedente esempio saranno caratterizzati da soluzioni di colore diverso (ad es. celeste scuro per basse concentrazioni di MCs e celeste chiaro per alte concentrazioni). Il dosaggio quantitativo si basa sulla lettura dell'assorbanza (di solito ad una lunghezza d'onda di 450 nm) con un lettore specifico per micropiastre.

Sono disponibili in commercio diversi kit contenenti materiali e istruzioni operative per lo svolgimento del test ELISA.

3. Materiali e apparecchiature

3.1. Materiali e apparecchiature

3.1.1. Attrezzatura di laboratorio di uso comune

- 3.1.1.1. Bottiglie di polietilene o vetro scure (1 L)
- 3.1.1.2. Stufa
- 3.1.1.3. Bagno a ultrasuoni
- 3.1.1.4. Siringhe (5-20 ml)
- 3.1.1.5. Filtri da 0.45 μm (es. Millex-HV)
- 3.1.1.6. pipette tipo Gilson da 20, 200, 1000 μl e puntali
- 3.1.1.7. Pipetta multicanale (opzionale) consigliata se si esegue l'analisi di un numero elevato di campioni
- 3.1.1.8. Pellicola del tipo Parafilm®
- 3.1.1.9. Timer
- 3.1.1.10. Agitatore orbitale (opzionale)
- 3.1.1.11. Sistema di lavaggio per micropiastre (Washer) (opzionale)

3.1.2. Materiali per il test ELISA

- 3.1.2.1. Micropiastra da 96 pozzetti (12 strisce da 8 pozzetti ciascuna o 8 strisce da 12 pozzetti) con anticorpo legato
- 3.1.2.2. Diluente
- 3.1.2.3. Controllo negativo
- 3.1.2.4. Materiali di riferimento per la taratura di microcistina-LR (es. nel range da 0.1 a 2.5 $\mu\text{g/l}$)
- 3.1.2.5. Coniugato enzima-microcistina
- 3.1.2.6. Substrato
- 3.1.2.7. Stop Solution (es. HCl 1N)
- 3.1.2.8. Sali per la preparazione della soluzione di lavaggio: nei kit commerciali sono generalmente pre-dosati in bustine da disciogliere in un volume indicato d'acqua ultrapura (4.1.1.)

3.3. Strumentazione analitica e accessori

- 3.3.1. Lettore di micropiastre in grado di effettuare letture di assorbanza alle lunghezze d'onda di 405, 450, 490, 630 nm
- 3.3.2. Software di gestione dati interfacciato con il lettore (opzionale)

4. Reagenti e materiali di riferimento

4.1. Reagenti

- 4.1.1. Acqua ultrapura esente da tracce dell'analita per la preparazione della soluzione di lavaggio
- 4.1.2. Soluzione di lavaggio: disciogliere un'adeguata quantità di sali (3.1.2.8.) (es. il contenuto di sali di una bustina nel kit commerciale) in un appropriato volume di acqua ultrapura (4.1.1.) (es. 1 L).

5. Procedimento

5.1. Prelievo e conservazione

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5.1.1. Prelievo

Come contenitori per il prelievo sono indicate bottiglie di polietilene o vetro scuro da 1 L (3.1.1.1.) lavate con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (4.1.1.).

Nel caso di prelievi da cisterne, pozzi o invasi, il campionamento deve essere eseguito prelevando un volume pari a 1 L ad una profondità compresa tra 0 e 1 m.

Campionamenti di acqua possono essere effettuati anche all'interno dei sistemi di distribuzione o da rubinetti di utenza; in questi casi è necessario tenere presente che il trattamento delle acque, quali sedimentazioni, filtrazioni, flocculazioni e/o disinfezioni - in particolare la presenza di cloro libero residuo nelle acque distribuite - determina una sensibile riduzione del contenuto di tossine.

5.1.2. Conservazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in bottiglie di polietilene o vetro (3.1.1.1.) al buio e a temperatura di 1-10 °C per prevenire la degradazione degli analiti dovuta all'azione di luce e agenti microbiologici. In queste condizioni la conservazione è limitata ad un tempo massimo di 24 h; per periodi di conservazione più lunghi sarà necessario il congelamento dei campioni. Da tenere presente che tale procedura comporta il rilascio delle tossine dalle cellule (tossine intracellulari).

5.2. Preparazione del campione

Dal contenitore utilizzato per il prelievo, una aliquota di campione da 100 ml viene trasferita in provette e sottoposta ad un ciclo di congelamento/scongelo, quindi viene trattata con ultrasuoni (3.1.1.3.) per 15 minuti a temperatura ambiente per consentire la lisi delle cellule algali e il susseguente rilascio delle tossine.

È opportuno filtrare il campione d'acqua per rimuovere il particolato. È sufficiente l'impiego di una siringa (3.1.1.4.) e di un filtro da 0.45 µm (3.1.1.5.).

5.3. Allestimento del test ELISA

Di seguito viene riportata una procedura generalmente adottata da numerosi kit ELISA commerciali.

Il numero di strisce da utilizzare nel test dipenderà dal numero di campioni da analizzare (2 pozzetti per ciascun campione - S1, S2, S3...) e dall'impiego dei seguenti pozzetti per la costruzione della curva di taratura:

- 2 pozzetti per il controllo negativo (NC) (3.1.1.14.)
- 2 pozzetti per ognuno dei materiali di riferimento (C1, C2, C3, ...) (3.1.1.15.)

È opportuno collocare le strisce non utilizzate a 4-8 °C per evitarne l'alterazione.

Inoltre si consiglia l'impiego di una pipetta multicanale (3.1.1.7.) nel caso di un numero elevato di campioni da analizzare.

In Figura 1 è riportato un esempio di allestimento del test (nel caso di una micropiastra costituita da 12 strisce da 8 pozzetti ciascuna).

Generalmente i passaggi da effettuare per lo svolgimento del test sono i seguenti:

- 5.3.1. Aggiungere un'aliquota di controllo negativo (3.1.1.14.), di ciascun materiale di riferimento (C1, C2, C3, ...) (3.1.1.15.) e di ciascun campione (S1, S2, S3, ...), possibilmente in doppio.
- 5.3.2. Aggiungere un'aliquota di diluente (3.1.1.13.) in ciascun pozzetto.
- 5.3.3. Coprire le strisce con parafilm (3.1.1.8.) per prevenire l'evaporazione.

- 5.3.4. Incubare a temperatura ambiente per 30 min su agitatore orbitale (3.1.1.10.) (100-200 rpm), o eventualmente agitare manualmente per circa 30 s.
- 5.3.5. Rimuovere il parafilm e aggiungere un'aliquota del coniugato enzima-microcistina (3.1.1.16.) in ciascun pozzetto.
- 5.3.6. Ripetere i passaggi 5.3.3. e 5.3.4.
- 5.3.7. Rimuovere il parafilm e svuotare il contenuto dei pozzetti in un lavandino.
- 5.3.8. Effettuare almeno 3 cicli di lavaggio con la soluzione di lavaggio (3.1.1.19.) manualmente o con un sistema di lavaggio per micropiastre (3.1.1.11.).
- 5.3.9. Asciugare la piastra mediante il sistema di lavaggio o manualmente. In quest'ultimo caso scuotere più volte la piastra rovesciata su un foglio di carta assorbente, assicurandosi che i pozzetti siano perfettamente asciutti e che non siano presenti bolle d'aria; tale operazione deve essere eseguita con particolare accuratezza in quanto risulta critica ai fini dell'affidabilità dei risultati del test.
- 5.3.10. Aggiungere un'aliquota di substrato (3.1.1.17.) in ciascun pozzetto;
- 5.3.11. Ripetere i punti 5.3.3. e 5.3.4.
- 5.3.12. Rimuovere il parafilm e aggiungere un'aliquota di stop solution (3.1.1.18.) in ciascun pozzetto.
- 5.3.13. Entro 30 min, misurare l'assorbanza di ciascun pozzetto mediante lettore per micropiastre (3.3.1.) a lunghezza d'onda di 450 nm.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC	S1	S5									
B	NC	S1	S5									
C	C1	S2	...									
D	C1	S2	...									
E	C2	S3	...									
F	C2	S3	...									
G	C3	S4	...									
H	C3	S4									

Figura 1. Esempio di allestimento del test

6. Calcolo dei risultati

Per ogni serie analitica viene eseguita in doppio una taratura su almeno 3 livelli. Manualmente o tramite il software di gestione dello strumento (3.3.2.) si calcola la curva di regressione. In ordinata sulla curva di taratura viene riportato il valore %B₀; quest'ultimo viene utilizzato al fine di normalizzare le condizioni del test; un valore di B₀ pari a 100% corrisponde ad un campione privo di analita, per il quale si verifica il 100% di legame del coniugato enzima-microcistina e pertanto è il valore assunto dal campione di controllo negativo.

La curva di taratura si costruisce riportando in grafico sull'asse delle y il %B₀ per ciascun livello di taratura considerato, calcolato secondo la seguente formula:

$$\%B_0 = \frac{\text{media delle risposte (5.3.13) ottenute per il materiale di riferimento (3.1.1.15)}}{\text{media delle risposte (5.3.13) ottenute per il controllo negativo (3.1.1.14)}} \times 100$$

Sull'asse delle x (in scala semilogaritmica) vengono riportate le corrispondenti concentrazioni.

La media delle risposte (5.3.13.) sia per il materiale di riferimento (3.1.1.15.) che per il controllo negativo (3.1.1.14.) è eseguita considerando i valori ottenuti per almeno 2 repliche e previa verifica che il CV (%) (RSD) sia < 15%.

Il contenuto di MCs in ciascun campione viene quindi determinato per interpolazione sulla curva di regressione previa stima del %B₀ secondo la formula:

$$\%B_0 = \frac{\text{media delle risposte (5.3.13) ottenute per le letture replicate sul campione}}{\text{media delle risposte (5.3.13) ottenute per il controllo negativo (3.1.1.14)}} \times 100$$

La media delle risposte sia per il campione che per il controllo negativo (3.1.1.14.) è eseguita considerando i valori ottenuti per almeno 2 repliche e previa verifica che il CV (%) (RSD) per i sia < 15%.

È da tenere presente che la concentrazione di MCs nel campione potrà essere ricavata dal grafico solamente se la %B₀ del campione si trova entro il range della %B₀ della curva di taratura. Nel caso in cui la %B₀ di un campione risulti più bassa di quella del materiale di riferimento a concentrazione più alta, sarà necessario ripetere l'analisi diluendo il campione.

7. Prestazioni del metodo

I coefficienti di correlazione ottenuti per le curve di taratura sono generalmente: (R²) > 0,950.

Le caratteristiche di prestazione del metodo sono generalmente specifiche per i differenti test e disponibili per i diversi kit commerciali.

Mediante prove intralaboratorio eseguite su n. 6 replicati di acque contaminate con MC-LR ad una concentrazione di 1,0 µg/L è stato stimato un valore di recupero pari a 110% e un CV inferiore al 4%.

Bibliografia

Fun.S.Chu. Freshwater Hepatotoxins: Chemistry and Detection. In: (Luis M. Botana ed.) *Seafood and Freshwater Toxins Pharmacology: Physiology and Detection*. Publ. Routledge, USA. 2000.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

CARBONIO ORGANICO TOTALE

ISS.BIA.029.REV00

0. Generalità e definizioni

Il carbonio può essere presente nelle acque sotto forma di specie inorganiche (carbonati, bicarbonati e anidride carbonica) e di composti organici che si distribuiscono tra fase disciolta e sospesa.

Il tenore di carbonio organico nelle acque da destinare o destinate al consumo umano è determinante per l'efficienza dei procedimenti di disinfezione e per la produzione dei sottoprodotti di disinfezione. Nelle acque da destinare al consumo umano le sostanze organiche sono prevalentemente costituite da acidi fulvici e umici. La formazione di trihalometani in seguito ai trattamenti di disinfezione con composti a base di cloro è funzione, oltre che di altri parametri, della concentrazione del carbonio organico presente nelle acque. Il carbonio totale (TC) presente nelle acque risulta dalla somma del carbonio inorganico totale (TIC) e di quello organico (TOC) presente nelle due fasi.

Il carbonio organico disciolto (DOC) rappresenta la frazione organica di carbonio che passa attraverso una membrana filtrante da 0,45 µm, mentre il carbonio organico sospeso o particolato (POC) rappresenta la frazione trattenuta dalla membrana. La somma di queste due frazioni dà il carbonio organico totale (TOC). Sono anche determinati cianati, carbonio elementare e tiocianati. Infine il carbonio organico volatile (VOC) costituisce quella frazione di carbonio che può essere rimosso dall'acqua mediante stripping con gas in determinate condizioni. Con la sigla NPOC (not purgeable organic carbon), si intende la frazione non volatile di carbonio organico.

Una sintesi delle definizioni è riportata nella Tabella 1

Tabella 1. Definizioni utilizzate per indicare le diverse specie di carbonio presenti nelle acque

Specie di carbonio	Acronimi
Carbonio totale	TC = TIC + TOC
Carbonio inorganico totale	TIC
Carbonio organico disciolto	DOC
Carbonio organico particolato	POC
Carbonio organico totale	TOC = DOC + POC
Carbonio organico volatile	VOC
Carbonio organico – frazione non volatile	NPOC

La determinazione del carbonio come indice di sostanza organica è, tra l'altro, indipendente dallo stato di ossidazione di quest'ultima e inoltre non comprende specie inorganiche che invece possono contribuire alla richiesta di ossigeno espressa dal BOD e dal COD. Il valore riscontrato è una misura aspecifica, dato che non identifica la natura chimica delle sostanze presenti.

Un aspetto importante da affrontare per una corretta determinazione del carbonio organico è quello del bianco. In analisi strumentali di questo tipo, il bianco risulta da due diversi contributi, quello dell'acqua ultrapura utilizzata per la taratura dello strumento e quello strumentale connesso con il tipo di apparecchiatura e, in particolare, del catalizzatore impiegato. Solo il secondo contributo è effettivamente da sottrarre alle misure sperimentali, ma in pratica è molto difficile distinguere i due contributi, per cui si finisce con il sottrarre il bianco complessivo.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile in intervallo di concentrazioni, espresse come carbonio organico, variabile in funzione delle condizioni sperimentali (tipo di apparecchiatura impiegata, aliquota di campione introdotta), generalmente compreso tra 0,1 e 100 mg/L.

2. Principio del metodo

Un'aliquota del campione in esame, opportunamente trattata in funzione del tipo di carbonio da analizzare, viene introdotta nell'apparecchiatura dove il carbonio presente viene ossidato a CO₂.

Il trattamento può avvenire mediante ossidazione ad umido con persolfato e radiazioni ultraviolette oppure mediante ossidazione catalitica ad alta temperatura.

Il campione di acqua, diluito e ben omogeneizzato se necessario, viene iniettato, di solito mediante autocampionatore, nell'apposita apparecchiatura. La CO₂ formatasi per ossidazione del carbonio, viene trascinata per mezzo di un opportuno gas di trasporto, ad un apposito rivelatore dove viene determinata. Di solito è impiegato un rivelatore infrarosso non dispersivo (NDIR) che rivela la CO₂. Il rivelatore invia un segnale analogico che genera un picco la cui area è determinata da un integratore.

Il metodo consente di impiegare un microcampione di acqua e di eseguire il dosaggio con rapidità e possibilità di automazione.

Attraverso un sistema di misura del segnale prodotto dal campione in esame, corretto del contributo del bianco, si ricava la concentrazione del carbonio organico o totale mediante confronto con una curva di taratura ottenuta con soluzioni acquose di riferimento a concentrazione nota di carbonio organico.

3. Interferenze e cause di errori

Le maggiori interferenze possono essere rappresentate dalla presenza in alcune acque di anidride carbonica in concentrazione elevata e bicarbonati, sostanze che devono essere totalmente eliminate prima di procedere alla determinazione del carbonio organico. Nelle acque naturali, infatti, il carbonio inorganico è superiore di un fattore 20 circa rispetto all'organico, per cui anche piccole tracce residuali di inorganico dell'ordine dell'1% possono comportare un errore significativo nella determinazione del carbonio organico.

Le operazioni di omogeneizzazione del campione, soprattutto in presenza di un innalzamento della temperatura, possono determinare una perdita di sostanze organiche volatili. L'eliminazione del carbonio inorganico mediante acidificazione e allontanamento della CO₂ con un gas inerte può provocare un'ulteriore perdita di sostanze organiche volatili. In questo caso la misura del carbonio organico si riferisce alla sola frazione non volatile (not purgeable organic carbon, NPOC). Si può comunque notare che in molte acque superficiali e sotterranee la frazione volatile fornisce un contributo trascurabile al carbonio organico totale.

La filtrazione del campione, operazione necessaria per eliminare il materiale sospeso, può comportare un aumento o una diminuzione del DOC, in funzione delle proprietà fisiche dei composti del carbonio e dell'eventuale adsorbimento o desorbimento di materiale carbonioso. È opportuno valutare il contributo al DOC dovuto al filtro analizzando un bianco di filtrazione.

Fonti di contaminazione possono derivare dai reagenti, dalla vetreria, dai materiali plastici utilizzati che debbono essere pertanto opportunamente trattati prima dell'utilizzo.

Quando si effettua il trattamento mediante ossidazione ad umido con persolfato e radiazioni ultraviolette, gli ioni cloruro nella misura dello 0,1 % interferiscono nella misura per inibizione dell'ossidazione delle sostanze organiche in quanto vengono ossidati a cloro.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Per la determinazione del carbonio organico disciolto (DOC), i campioni di acqua vengono filtrati immediatamente dopo il prelievo su filtri in fibra di vetro e, solitamente, vengono scartati i primi 20-30 mL di campione per condizionare il sistema.

Per la determinazione del carbonio organico totale (TOC), il campione deve essere analizzato tal quale, senza procedere a filtrazione. Se esso non è omogeneo, occorre omogeneizzarlo mediante agitazione o con l'uso di ultrasuoni.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

La vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi deve avere una precisione almeno equivalente alla classe "B", preferibilmente alla classe "A".

5.2. Miscelatore

Può essere utilizzato un miscelatore a sbattimento o un omogeneizzatore

5.3. Agitatore magnetico

Dotato di ancorette in teflon

5.4. Microsiringhe

Devono essere utilizzate microsiringhe per iniettare volumi fino a 1000 µL.

5.5. 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. Vengono scartati i primi 20-30 mL di campione per condizionare il sistema.

5.6. Analizzatore di carbonio organico totale

Gli apparecchi più utilizzati impiegano la tecnica della combustione con sistema di rivelazione all'infrarosso non dispersivo. In alternativa, oltre alla digestione ad umido con persolfato, esistono in commercio strumenti dotati di rivelatori a ionizzazione di fiamma in grado di determinare il metano prodotto dalla reazione di conversione della CO₂.

6. Reagenti

Tutti i reattivi devono essere di grado ultrapuro per analisi in tracce.

6.1. Acqua ultrapura

Utilizzare l'acqua, esente da CO₂ per la preparazione dei bianchi, delle soluzioni di riferimento e di lavoro e per il risciacquo finale della vetreria, avendo cura di evitare al massimo il contatto con l'aria.

6.2. Acido cloridrico

Deve essere utilizzato acido cloridrico concentrato (d=1,19)

6.3. Soluzione concentrata di riferimento contenente 1000 mg/L di carbonio organico

Sciogliere 0,2125 g di ftalato acido di potassio (C₈H₅KO₄) in acqua (6.1.), acidificare con HCl (6.2.) fino a pH=2 e portare a volume in matraccio tarato da 100 mL. Conservare in recipiente ben chiuso, al buio e a 5 ± 3 °C. La soluzione è stabile per circa due mesi.

Alternativamente si può impiegare un prodotto reperibile in commercio.

6.4. Soluzione diluita di riferimento contenente 10 mg/L di carbonio organico

Trasferire 10 mL di soluzione di riferimento concentrata (6.3.) in un matraccio tarato da 1000 mL, diluire a volume con acqua e omogeneizzare. Conservare in recipiente ben chiuso, al buio e a 5 ± 3 °C. Questa soluzione è stabile per almeno 15 giorni.

6.5. Persolfato di sodio soluzione

Come previsto dal manuale operativo dello strumento

6.6. Aria purissima, esente da CO₂ e idrocarburi

Aria purissima, esente da CO₂ e idrocarburi – Caratteristiche a seconda delle necessità dell'apparecchiatura utilizzata per l'analisi.

7. Procedura di misura

7.0. Operazioni preliminari

Le differenze tra le varie apparecchiature disponibili non consentono una codificazione dettagliata di istruzioni adatte ad ogni tipo di strumento. Quindi, per l'attivazione e la predisposizione dell'apparecchio al funzionamento attenersi alle indicazioni riportate nel manuale dello strumento che indica, di norma, anche le condizioni più appropriate per l'esecuzione delle analisi.

Il volume di campione da iniettare nel tubo di combustione è variabile a seconda della capacità del tubo stesso e della quantità di carbonio da dosare.

7.1. Taratura

Preparare la curva di taratura utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente a garantire una corretta interpolazione delle concentrazioni misurate e controllarla con una soluzione di riferimento all'inizio di ogni ciclo analitico. Le concentrazioni delle soluzioni di lavoro saranno scelte all'interno del campo di linearità dello strumento, nell'intervallo di valori atteso per i campioni. Ad esempio, lavorando in un campo di misura tra 0,1 e 5 mg/L C, preparare le seguenti soluzioni: 0,1 – 0,5 – 1,0 – 2,5 – e 5,0 mg/L C diluendo opportunamente aliquote della soluzione diluita di riferimento 6.4.

Verificare ad intervalli regolari la validità della curva di taratura inserendo, in una serie di campioni, l'analisi di un bianco e di una soluzione di lavoro.

Costruire la curva di taratura riportando in ascissa le concentrazioni di carbonio organico in mg/L e in ordinata le aree dei picchi corrette del valore ottenuto da un bianco di acqua (6.1) sottoposta alla stessa procedura delle soluzioni di lavoro. La curva di taratura può essere ottenuta direttamente se si dispone di un sistema di elaborazione dati collegato all'apparecchio analizzatore. Effettuare almeno tre repliche per ogni soluzione da analizzare.

7.2. Dosaggio del campione

Iniettare il campione nel tubo di combustione adottando le stesse condizioni operative utilizzate per la curva di taratura.

Per quanto riguarda l'eliminazione del carbonio inorganico prima dell'analisi, gli strumenti consentono di aggiungere automaticamente acido cloridrico concentrato (6.2.) per avere un pH < 2. In queste condizioni i carbonati e i bicarbonati vengono trasformati in CO₂ che viene allontanata dalla soluzione facendo gorgogliare un gas, aria purissima (6.7.) o altro gas esente da CO₂ e idrocarburi, per il tempo necessario. Altri strumenti determinano la concentrazione del TOC sottraendo la concentrazione del carbonio inorganico (TIC) dalla concentrazione del carbonio totale (TC).

8. Calcoli ed espressione dei risultati

Il valore medio dell'area del picco, corretto del valore del solo bianco strumentale o del bianco complessivo (bianco dell'acqua + bianco strumentale) qualora non sia possibile distinguere tra i due contributi, consente di ricavare dalla curva di taratura (7.1.) i mg/L di carbonio organico totale (TOC) nel campione in esame.

9. Prestazioni del metodo

Sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio il limite di quantificazione del metodo è $\leq 0,1$ mg/L

Bibliografia

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 5040: Carbonio organico disciolto*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

UNI EN 1484. *Linee guida per la determinazione del carbonio organico totale (TOC) e del carbonio organico disciolto (DOC)*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 1999.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

CALCOLO DELLA QUANTITÀ POTENZIALMENTE MASSIMA DI CLORURO DI VINILE IN ACQUA DERIVANTE DA MATERIALI POLIMERICI

ISS.XAA.040.REV00

1. Introduzione

Il DL.vo 31 del 2/2/2001, con le successive modifiche e integrazioni (DL.vo 27 del 2/2/2002), ha introdotto tra i parametri di controllo delle acque destinate al consumo umano il parametro chimico Cloruro di Vinile (VC) fissandone nell'Allegato 1 parte B il valore di parametro pari a 0,5 µg/L. Accanto a tale valore, è riportato il richiamo alla Nota 1 che recita: "Il valore di parametro si riferisce alla concentrazione monomerica residua nell'acqua calcolata secondo le specifiche di rilascio massimo del polimero corrispondente a contatto con l'acqua".

La presenza del VC residuo in acqua si deve ricondurre all'impiego del VC come monomero per la sintesi del polimero Cloruro di Polivinile (PVC) da destinare alla produzione di materiali a contatto con l'acqua destinata al consumo umano.

Per la determinazione del VC, la citata Nota 1 non impone l'adozione di un metodo analitico bensì il calcolo della quantità potenzialmente massima di VC ottenibile in acqua per migrazione totale del VC presente nel materiale polimerico in quantità dichiarata dal produttore.

2. Calcolo

Le prove di determinazione della migrazione globale vanno eseguite in conformità alle indicazioni stabilite in allegato IIIc del D. L.vo n. 174 del 6 aprile 2004, Regolamento concernente i materiali e gli oggetti che possono essere utilizzati negli impianti fissi di captazione, trattamento, adduzione e distribuzione delle acque destinate al consumo umano.

Per l'identificazione e la quantificazione del VC migrato dal materiale a contatto, si procede con il metodo HS-GC statico.

Il risultato deve essere espresso con lo stesso numero di decimali riportato per il valore di parametro.

CALCOLO DELLA QUANTITÀ POTENZIALMENTE MASSIMA DI ACRILAMMIDE IN ACQUA DERIVANTE DA FLOCCULANTI POLIACRILAMMIDICI

ISS.XAA.001.REV00

1. Introduzione

Il DL.vo 31 del 2/2/2001, con le successive modifiche e integrazioni (DL.vo 27 del 2/2/2002), ha introdotto tra i parametri di controllo delle acque destinate al consumo umano il parametro chimico acrilammide fissandone nell'Allegato 1 parte B il valore di parametro pari a 0,10 µg/L. Accanto a tale valore, è riportato il richiamo alla Nota 1 che recita: "Il valore di parametro si riferisce alla concentrazione monomerica residua nell'acqua calcolata secondo le specifiche di rilascio massimo del polimero corrispondente a contatto con l'acqua".

L'impiego della acrilammide nella produzione di polimeri e copolimeri idrosolubili utilizzati come flocculanti poliacrilamidici è da considerare come la principale origine della presenza di acrilammide nell'acqua destinata al consumo umano.

2. Calcolo

Per la determinazione della acrilammide, la citata nota 1 non impone l'adozione di una procedura analitica bensì il calcolo della quantità potenzialmente massima di acrilammide ottenibile in acqua per migrazione totale della acrilammide presente nel materiale polimerico in quantità specificata dal produttore.

La quantità massima migrabile di acrilammide in acqua, espressa in microgrammi per litro di acqua con lo stesso numero di decimali riportato per il valore di parametro, si calcola con l'espressione

$$\text{acrilammide } (\mu\text{g/L}) = \frac{a \times b}{1000}$$

dove:

a = concentrazione della acrilammide nel flocculante poliacrilamidico espressa in mg/kg;

b = dose di impiego di flocculante poliacrilamidico in acqua espressa in mg/L.

3. Metodo di riferimento

Per l'identificazione e la quantificazione della acrilammide in matrice acquosa, si segnala il metodo in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa *ISS.CBA.001.rev00*.

CALCOLO DELLA QUANTITÀ POTENZIALMENTE MASSIMA DI EPICLORIDRINA IN ACQUA DERIVANTE DA FLOCCULANTI POLIAMMINICI E DA RESINE EPOSSIDICHE

ISS.XAA.011.REV00

1. Introduzione

Il DL.vo n. 31 del 2/2/2001, con le successive modifiche e integrazioni (DL.vo n. 27 del 2/2/2002), ha introdotto tra i parametri di controllo delle acque destinate al consumo umano il parametro chimico “epicloridrina” (ECH), fissandone nell’Allegato 1 parte B il valore di parametro pari a 0,10 µg/L. Accanto a tale valore è riportato il richiamo alla Nota 1 che recita: “Il valore di parametro si riferisce alla concentrazione monomerica residua nell’acqua calcolata secondo le specifiche di rilascio massimo del polimero corrispondente a contatto con l’acqua”.

L’ECH può essere potenzialmente presente nell’acqua in quanto derivante sia dall’uso di flocculanti poliamminici che dall’uso di resine epossidiche utilizzate come rivestimento di materiali a contatto con l’acqua destinata al consumo umano.

2. Calcolo

Per la determinazione dell’ECH derivante dall’impiego di flocculanti poliamminici, la citata Nota 1 non impone l’adozione di un metodo analitico bensì il calcolo della quantità potenzialmente massima di ECH ottenibile in acqua per migrazione totale della ECH presente in quantità dichiarata nel flocculante poliamminico.

2.1. Calcolo della quantità massima migrabile di ECH in acqua derivante dall’impiego di flocculanti poliamminici

La quantità massima migrabile di ECH in acqua, espressa in microgrammi per litro di acqua con lo stesso numero di decimali riportato per il valore di parametro, si calcola con l’espressione

$$\text{ECH } (\mu\text{g/L}) = \frac{a \times b}{1000}$$

dove

a = concentrazione dell’ECH nel flocculante poliamminico espressa in mg/kg;

b = dose di impiego di flocculante poliamminico in acqua espressa in mg/L.

2.2. Calcolo della quantità di ECH derivante dall’impiego di rivestimenti epossidici

Per la determinazione dell’ECH derivante dall’impiego di rivestimenti epossidici a contatto con l’acqua, sempre in virtù della predetta Nota I, è necessario determinare il monomero di ECH residuo non ancora reticolato. Le prove di determinazione della migrazione globale vanno eseguite in conformità alle indicazioni stabilite in allegato IIIc del D. L.vo n. 174 del 6 aprile 2004, Regolamento concernente i materiali e gli oggetti che possono essere utilizzati negli impianti fissi di captazione, trattamento, adduzione e distribuzione delle acque destinate al consumo umano.

BROMURO, CLORITO, CLORURO, FLUORURO, FOSFATO, IODURO, NITRATO, NITRITO, SOLFATO: METODO PER CROMATOGRAFIA IONICA ISS.CBB.037.REV00

0. Generalità e definizioni

Gli anioni bromuro, clorito, cloruro, fluoruro, fosfato, ioduro, nitrato, nitrito e solfato sono presenti nelle acque in concentrazioni ampiamente variabili a seguito di apporti naturali e/o antropici; la presenza del clorito è imputabile esclusivamente ai trattamenti di potabilizzazione.

La tecnica della cromatografia ionica permette la determinazione degli anioni sopra elencati in modo rapido e sequenziale.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

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

Ad esempio, iniettando 25 µL di campione e utilizzando un rivelatore conduttimetrico, il campo di applicazione è indicativamente compreso tra 0,5 e 100 mg/L per cloruro, nitrato e solfato; tra 0,2 e 2 mg/L per clorito; tra 0,5 e 10 mg/L per bromuro; tra 0,01 e 1 mg/L per nitrito; tra 0,1 e 2,0 mg/L per fluoruro; tra 1 e 20 mg/L per fosfato e tra 1 e 10 mg/L per ioduro.

Campioni che presentano concentrazioni più elevate possono essere analizzati dopo opportuna diluizione; campioni aventi concentrazioni più basse del limite inferiore di applicabilità, possono essere analizzati aumentando il volume di iniezione. 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 conduttimetrico previa soppressione chimica o elettrochimica della conducibilità elettrica dell'eluente. L'inserimento in uscita al rivelatore conduttimetrico 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.

Il riconoscimento degli analiti avviene per confronto dei tempi di ritenzione dei picchi del campione con quelli di una soluzione di riferimento e dall'integrazione delle aree (o altezze) dei singoli picchi cromatografici si ricavano le concentrazioni degli anioni sopra elencati mediante confronto con curve di taratura 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 errore

Per evitare danni alle colonne e ai sistemi idraulici di flusso, per campioni contenenti particolato, prefiltrare su filtri di 0,45 µm o eventualmente da 0,20 µm. Per i campioni in cui si presume alta attività batterica filtrare a 0,20 µm.

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. Nel caso in cui il tempo di ritenzione del picco cromatografico non consenta di identificare l'analita con un sufficiente grado di certezza si può ricorrere alla co-cromatografia. 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 - picco negativo presente all'inizio del cromatogramma e dovuto alla più bassa conducibilità elettrica dell'acqua contenuta nel campione rispetto a quella dell'eluente) 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 o aggiungendo al campione, e quindi a tutte le soluzioni di riferimento, una piccola aliquota di eluente concentrato.

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 1-10 °C fino al momento dell'analisi. La loro determinazione dovrà essere effettuata entro le 48 ore successive al prelievo.

Ai fini dell'analisi del clorito, il campione deve essere trattato con azoto (stripping), immediatamente dopo il prelievo; dopo il trattamento il campione è stabile almeno 48 ore.

5. Apparecchiature

5.1. Attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria e 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. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo ionico costituito da:

- 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 adeguata al tipo di colonna cromatografica in uso (5.2.4.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica 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 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 1 mg/L di ciascun analita:

$$2 (tr_2 - tr_1) / (w_{b2} + w_{b1})$$

nella quale:

- tr_1 = tempo di ritenzione del primo picco (in secondi);
- tr_2 = tempo di ritenzione del secondo picco (in secondi);
- w_{b1} = ampiezza alla base del primo picco (in secondi);
- w_{b2} = ampiezza alla base del secondo picco (in secondi).

- 5.2.5. Dispositivo per la soppressione della conduttività elettrica dell'eluente. Si consiglia l'impiego di un soppressore chimico o elettrochimico.
- 5.2.6. Rivelatore conduttometrico.
- 5.2.7. Rivelatore spettrofotometrico UV.
- 5.2.8. Sistema di elaborazione dei dati.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di grado analitico o superiore.

- 6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata
- 6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di analiti e interferenti.
- 6.1.3. Bicarbonato di sodio (NaHCO₃)
- 6.1.4. Carbonato di sodio (Na₂CO₃)
- 6.1.5. Bromuro di sodio (NaBr)
- 6.1.6. Clorito di sodio (NaClO₂)
- 6.1.7. Cloruro di sodio (NaCl)
- 6.1.8. Fluoruro di potassio (KF)
- 6.1.9. Ioduro di potassio (KI)
- 6.1.10. Fosfato biacido di potassio (KH₂PO₄)
- 6.1.11. Nitrato di sodio (NaNO₃)
- 6.1.12. Solfato di potassio (K₂SO₄)
- 6.1.13. Nitrito di sodio (NaNO₂)
- 6.1.14. Acido solforico (H₂SO₄)

6.2. Soluzioni

6.2.1. Soluzione eluente

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

A titolo esemplificativo, è possibile l'impiego di una soluzione eluente costituita da bicarbonato di sodio (1,7 mM) e carbonato di sodio (1,8 mM) ottenuta sciogliendo 0,2856 g di NaHCO₃ (6.1.3.) e

0,3816 g di Na_2CO_3 (6.1.4.) in acqua (6.1.2.) e portando a 2L (tale soluzione è idonea nel caso in cui venga utilizzata una colonna cromatografica contenente una resina a scambio anionico pellicolare stirene-divinilbenzene a bassa capacità di carico)

6.2.2. Soluzione per la rigenerazione del soppressore

Nel caso di soppressore a micro membrana non autorigenerante utilizzare:

Acido solforico 0,025 N; diluire 2,8 ml di H_2SO_4 (6.1.12.) a 4 L con acqua (6.1.2.).

In ogni caso scegliere la soluzione rigenerante più appropriata in funzione delle caratteristiche del soppressore utilizzato.

6.2.3. Soluzioni primarie di riferimento contenenti ciascuna 1000 mg/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:

bromuro di sodio (6.1.5.) 0,3219 g, cloruro di sodio (6.1.6.) 0,4121 g, fluoruro di potassio (6.1.7.) 0,7645 g, fosfato biacido di potassio (6.1.8.) 0,3583 g, nitrato di sodio (6.1.9.) 0,3427 g e solfato di potassio (6.1.10.) 0,4535 g, tutti essiccati in stufa a 105 ± 3 °C per due ore; nitrito di sodio (6.1.11.) 0,3750 g, clorito di sodio (6.1.15.) 0,3352 g e ioduro di potassio (6.1.16) 0,3270 g, essiccati 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, da preferire al vetro. Orientativamente le soluzioni di bromuro, clorito, cloruro, fluoruro, fosfato, nitrato e solfato se conservate al buio a 5 ± 3 °C sono stabili almeno 1 anno, mentre le soluzioni di nitrito e ioduro sono stabili 1 mese nelle stesse condizioni.

Per le soluzioni reperibili in commercio fare riferimento alla data di scadenza riportata sulla confezione o sul certificato allegato.

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

In relazione alle concentrazioni degli anioni prescelte per costruire la curva di taratura, può essere necessario preparare soluzioni secondarie diluendo opportunamente con acqua (6.1.2.) le soluzioni primarie di riferimento (6.2.3).

7. Procedimento

7.1. Operazioni preliminari

Portare a temperatura ambiente le soluzioni di riferimento e i campioni prima di procedere alle analisi e alle operazioni di taratura.

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 fantasma" e di deriva).

7.2. Identificazione dei picchi cromatografici

Iniettare soluzioni contenenti gli anioni ricercati, preparate diluendo opportunamente le soluzioni primarie di riferimento (6.2.3.), e registrare i relativi tempi di ritenzione.

7.3. Taratura

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro contenenti gli anioni in esame, diluire opportunamente le soluzioni primarie (6.2.3.) e/o quelle secondarie (6.2.4.) in modo da ottenere soluzioni multicomponente a diverse concentrazioni degli anioni, tante quanti sono i punti della curva che si deve costruire.

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

La scelta delle modalità di taratura (numero dei punti, integrazione di tipo lineare o quadratica e altro) dipende dall'intervallo di concentrazioni che si vuole analizzare. In alcuni casi può essere necessario coprire l'intervallo di misura con due o più curve di taratura.

Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità delle curve di taratura costruite inizialmente.

7.4. Determinazione

Dopo l'avvio, lasciare stabilizzare lo strumento per un tempo sufficiente e tenere sotto controllo il valore del flusso dell'eluente, della conduttività elettrica totale e della pressione.

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di taratura. Qualora si renda necessario, filtrare il campione con membrane da 0,45 µm. Quando si usa un sistema di iniezione con "loop", esso deve essere condizionato con almeno 3 volumi di campione prima dell'iniezione. L'iniezione può essere effettuata con una siringa o un autocampionatore.

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 taratura, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale. È consigliato verificare la risposta strumentale con l'utilizzo di carte di controllo. Qualora si evidenzino scostamenti rilevanti può essere necessario ripetere la taratura e riprocessare i campioni.

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 taratura.

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 e numero di cifre decimali in accordo con la normativa di riferimento.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità
Bromuro	-	-	≤ 0,5 mg/L
Clorito	-	-	≤ 0,2 mg/L
Cloruro	≤ 10	≤ 10	≤ 0,5 mg/L
Fluoruro	≤ 10	≤ 10	≤ 0,1 mg/L
Ioduro	-	-	≤ 1.0 mg/L
Nitrato (come NO ₃)	≤ 10	≤ 10	≤ 0,5 mg/L
Fosfato (come PO ₄)	-	-	≤ 1.0 mg/L
Nitrito (come NO ₂)	≤ 10	≤ 10	≤ 0,01 mg/L
Solfato	≤ 10	≤ 10	≤ 0,5 mg/L

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

U.S. Environmental Protection Agency. *Method 300.0, The determination of inorganic anions in water by ion chromatography*, Washington DC: 1993.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 4020: Determinazione di anioni mediante cromatografia ionica*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

CALCIO, LITIO, MAGNESIO, POTASSIO, SODIO: METODO PER CROMATOGRAFIA IONICA ISS.CBB.038.REV00

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 di sorgente, sotterranee e superficiali, destinate o da destinare al consumo umano, alle acque di piscina, e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi.

L'intervallo di applicazione è variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto 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, il tipo e le caratteristiche del rivelatore utilizzato e la quantità di campione iniettata influenzano le sensibilità del metodo e i limiti di rivelabilità raggiungibili. Ad esempio, iniettando 25 µL di campione e utilizzando un rivelatore conduttometrico, il campo di applicazione è indicativamente compreso tra 1 e 100 mg/L per calcio, tra 0,5 e 10 mg/L per litio, tra 1 e 50 mg/L per magnesio; tra 0,5 e 20 mg/L per potassio e tra 0,5 e 100 mg/L per sodio. Campioni che presentano concentrazioni più elevate possono essere analizzati dopo opportuna diluizione; campioni aventi concentrazioni più basse del limite inferiore di applicabilità, possono essere analizzati aumentando il volume di iniezione.

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 in base alla loro affinità per la fase stazionaria e determinati da un rivelatore conduttometrico previa soppressione chimica o elettrochimica della conducibilità elettrica dell'eluente.

Il riconoscimento degli analiti avviene per confronto dei tempi di ritenzione dei picchi del campione con quelli di una soluzione di riferimento e dall'integrazione delle aree (o altezze) dei singoli picchi cromatografici si ricavano le concentrazioni dei cationi sopra elencati mediante confronto con curve di taratura 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

Per evitare danni alle colonne e ai sistemi idraulici di flusso, per campioni contenenti particolato, prefiltrare su filtri di 0,45 µm o eventualmente da 0,20 µm. Per i campioni in cui si presume alta attività batterica filtrare a 0,20 µm.

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. Nel caso in cui il tempo di ritenzione del picco cromatografico non consenta di identificare l'analita con un sufficiente grado di certezza si può ricorrere alla co-cromatografia.

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.

Per la determinazione del calcio e magnesio è opportuno procedere all'acidificazione con acido nitrico (6.1.9) del campione intorno a pH 3 per evitare la loro precipitazione come carbonati. Sodio e potassio sono stabili in soluzione. I campioni devono essere conservati a temperatura di 1-10 °C fino al momento dell'analisi; la loro determinazione dovrà essere effettuata entro le 48 ore successive al prelievo.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria e 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. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo ionico costituito da:

- 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 adeguata al tipo di colonna cromatografica in uso (5.2.4.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica 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 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 1 mg/L di ciascun analita

$$2 (tr_2 - tr_1) / (w_{b2} + w_{b1})$$

nella quale:

- tr_1 = tempo di ritenzione del primo picco (in secondi);
- tr_2 = tempo di ritenzione del secondo picco (in secondi);
- wb_1 = ampiezza alla base del primo picco (in secondi);
- wb_2 = ampiezza alla base del secondo picco (in secondi).

- 5.2.5. Dispositivo per la soppressione della conduttività elettrica dell'eluente. Si consiglia l'impiego di un soppressore chimico o elettrolitico.
- 5.2.6. Rivelatore conduttometrico.
- 5.2.7. Sistema di elaborazione dei dati.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di grado analitico o superiore.

- 6.1.1. Acqua deionizzata e/o distillata
- 6.1.2. Acqua ultrapura esente da tracce di analiti e interferenti
- 6.1.3. Acido metansolfonico (CH₃SO₃H)
- 6.1.4. Nitrato di litio (LiNO₃)
- 6.1.5. Cloruro di potassio (KCl)
- 6.1.6. Cloruro di sodio (NaCl)
- 6.1.7. Carbonato di calcio (CaCO₃)
- 6.1.8. Ossido di magnesio (MgO)
- 6.1.9. Acido nitrico (HNO₃)

6.2. Soluzioni

6.2.1. Soluzione eluente

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

A titolo esemplificativo, è possibile l'impiego di una soluzione eluente costituita da acido metansolfonico (6.1.3.) 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.).

6.2.2. Soluzione per la rigenerazione del soppressore

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

6.2.3. Soluzioni primarie di riferimento contenenti ciascuna 1000 mg/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: nitrato di litio (6.1.4.) 2,4838 g, cloruro di potassio (6.1.5.) 0,4767 g e cloruro di sodio (6.1.6.) 0,6355 g, essiccati in stufa a 105 ± 3 °C per due ore; carbonato di calcio (6.1.7.) 0,6243 g e ossido di magnesio (6.1.8.) 0,4145 g, essiccati in stufa a 180 ± 5 °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 (6.1.9.) 1:1; diluire ogni singola soluzione al volume finale di 250 mL.

Le soluzioni devono essere conservate in recipienti di materiale plastico o vetro. Queste soluzioni, a $\text{pH} \approx 3$, conservate alla temperatura di 5 ± 3 °C sono stabili almeno 1 anno.

Per le soluzioni reperibili in commercio fare riferimento alla data di scadenza riportata sulla confezione o sul certificato allegato.

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

In relazione alle concentrazioni degli anioni prescelte per costruire la curva di taratura, può essere necessario preparare soluzioni secondarie diluendo opportunamente con acqua (6.1.2.) le soluzioni primarie di riferimento (6.2.3.).

7. Procedimento

7.1. Operazioni preliminari

Portare a temperatura ambiente le soluzioni di riferimento e i campioni prima di procedere alle analisi e alle operazioni di taratura.

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. Taratura

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro contenenti i cationi in esame, diluire opportunamente le soluzioni primarie (6.2.3.) e/o quelle secondarie (6.2.4.) in modo da ottenere soluzioni multielemento a diverse concentrazioni dei cationi, tante quanti sono i punti della curva che si deve costruire.

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

La scelta delle modalità di taratura (numero dei punti, integrazione di tipo lineare o quadratica e altro) dipende dall'intervallo di concentrazioni che si vuole analizzare. In alcuni casi può essere necessario coprire l'intervallo di misura con due o più curve di taratura.

Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata si rende necessario verificare, ad intervalli regolari, la validità delle curve di taratura costruite inizialmente.

7.4. Determinazione

Dopo l'avvio, lasciare stabilizzare lo strumento per un tempo sufficiente e tenere sotto controllo il valore del flusso dell'eluente, della conducibilità elettrica totale e della pressione.

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di taratura. Qualora si renda necessario, filtrare il campione con membrane da 0,45 μm . Quando

si usa un sistema di iniezione con “loop”, esso deve essere condizionato con almeno 3 volumi di campione prima dell’iniezione. L’iniezione può essere effettuata con una siringa o un autocampionatore.

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 taratura, diluire la soluzione in esame prima dell’analisi strumentale. È consigliato verificare la risposta strumentale con l’utilizzo di carte di controllo. Qualora si evidenzino scostamenti rilevanti può essere necessario ripetere la taratura e riprocessare i campioni.

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 taratura. 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 coerenti con le normative di riferimento.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità
Calcio	-	-	≤ 1 mg/L
Litio	-	-	≤ 0,5 mg/L
Magnesio	-	-	≤ 1 mg/L
Potassio	-	-	≤ 0,5 mg/L
Sodio	≤ 10	≤ 10	≤ 0,5 mg/L

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3030: Determinazione di cationi mediante cromatografia ionica.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

BROMATO: METODO PER CROMATOGRAFIA IONICA ISS.CBB.006.REV.00

0. Generalità e definizioni

La presenza del bromato nell'ambiente idrico è stata attribuita, quasi esclusivamente, ai processi di neoformazione innescati dai trattamenti di disinfezione con ozono di acque contenenti lo ione bromuro.

Il bromato ha recentemente acquisito una notevole importanza, dal punto di vista igienico sanitario, a causa della sua potenziale cancerogenicità – mutagenicità.

METODO A

A.1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il presente metodo è applicabile almeno nell'intervallo di concentrazione compreso tra 1 e 50 µg/L.

A.2. Principio del metodo

Il metodo è basato sulla preconcentrazione, la separazione, l'identificazione e la determinazione quantitativa del bromato.

Il campione da analizzare, opportunamente prelevato, conservato e pretrattato (A.4.), viene iniettato in un *loop* di un volume adeguato al tipo di colonna e di apparecchio in uso; successivamente viene fatto fluire con l'eluente attraverso la colonna di separazione permettendo l'eluizione del bromato e di altri anioni. Dopo il passaggio attraverso il dispositivo di soppressione (B5.2.5), il bromato viene rivelato mediante un rivelatore conduttometrico.

La concentrazione del bromato viene determinata per confronto con la curva di taratura ottenuta nelle stesse condizioni sperimentali adottate per l'analisi dei campioni.

A.3. Interferenze e cause di errori

Gli anioni fluoruro, cloruro, bicarbonato e gli acidi organici possono avere tempi di ritenzione simili a quello del bromato e possono dare interferenze.

Le notevoli differenze di concentrazione tra il bromato e questi anioni potenzialmente interferenti possono dar luogo ad una scarsa risoluzione e di conseguenza rendere inaffidabile il dato quantitativo.

La modifica delle condizioni cromatografiche permette di risolvere queste cause di interferenza.

A.4. Campionamento e conservazione dei campioni

I campioni devono essere raccolti in recipienti di vetro o plastica e trattati con 0,5 mL della soluzione etilendiammina (A.6.6.) per litro di campione.

I campioni, dopo il prelievo, devono essere conservati alla temperatura di 1-10 °C e analizzati entro 30 giorni.

A.5. Apparecchiature

A.5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria e 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 che viene utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, risciacquato con acqua (A.6.1.1.) e infine con acqua (A.6.1.2.).

A.5.2. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo ionico costituito da:

A.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.

A.5.2.2. Sistema di introduzione del campione. *Loop* di un volume adeguato al tipo di colonna e di apparecchio in uso.

A.5.2.3. Sistema di preconcentrazione del campione costituito da una colonna di preconcentrazione ausiliaria, da una pompa e da una valvola di commutazione. La colonna di preconcentrazione è costituita da una resina a scambio anionico, preferibilmente con una capacità di carico maggiore.

A.5.2.4. Precolonna riempita con fase stazionaria dello stesso tipo di quello presente nella colonna cromatografica (A.5.2.5.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica (A.5.2.5.) da possibili adsorbimenti irreversibili di sostanze contenute nel campione.

A.5.2.5. 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 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 10 µg/L di bromato e 5 – 50 mg/L dei principali interferenti (in relazione alla tipologia più frequente dei campioni):

$$2 (tr_2 - tr_1) / (w_{b2} + w_{b1})$$

nella quale:

tr_1 = tempo di ritenzione del primo picco (in secondi);

tr_2 = tempo di ritenzione del secondo picco (in secondi);

w_{b1} = ampiezza alla base del primo picco (in secondi);

w_{b2} = ampiezza alla base del secondo picco (in secondi).

A.5.2.6. Dispositivo per la soppressione della conduttività elettrica dell'eluente. Si consiglia l'impiego di un soppressore di tipo chimico o elettrochimico.

A.5.2.7. Rivelatore conduttometrico.

A.5.2.8. Sistema di elaborazione dati.

A.6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “puro” per analisi.

A.6.1. Acqua

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

A.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.

A.6.2. Soluzione eluente

La scelta della soluzione eluente dipende dalle caratteristiche della colonna cromatografica (A.5.2.5.), dalla concentrazione dell'analita, dalla presenza di eventuali interferenti e, in generale, dalle prestazioni cromatografiche desiderate. A titolo esemplificativo, si può impiegare una soluzione eluente costituita da sodio carbonato (Na_2CO_3) 9 mM.

A.6.3. Soluzione per la rigenerazione del soppressore

Scegliere, nel caso di soppressore a micromembrana non autorigenerante, la soluzione rigenerante più appropriata in funzione delle caratteristiche del soppressore chimico in uso.

A.6.4. Soluzione primaria di riferimento di bromato di sodio 1,00 g/L

Può essere utilizzata :

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- soluzione ottenuta pesando 0,2949 g di bromato di sodio precedentemente essiccato per 30 minuti in stufa a 105 °C fino a peso costante. Solubilizzare il sale con acqua (A.6.1.2.) al volume finale di 250 mL. La soluzione primaria di riferimento deve essere conservata in recipienti di materiale plastico o vetro.

Verificare periodicamente la sua stabilità.

AVVERTENZA: il bromato di sodio è un potenziale cancerogeno, osservare particolare cura durante il suo utilizzo. Evitare il contatto con pelle e occhi e l'inalazione dei vapori. Si raccomanda all'operatore di osservare le indicazioni riportate sulla procedura di utilizzo delle sostanze cancerogene.

A.6.5. Soluzione secondaria di riferimento

In relazione alla concentrazione prevista nel campione da analizzare, diluire opportunamente con acqua (A.6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (A.6.4.).

A.6.6. Soluzione di etilendiammina 100 g/L

Diluire 2,8 mL di etilendiammina (99%) con acqua (A.6.1.2.) in matraccio da 25 mL. Questa soluzione è stabile 1 mese.

AVVERTENZA: l'etilendiammina è una sostanza corrosiva, osservare particolare cura durante il suo utilizzo. Evitare il contatto con pelle e occhi e l'inalazione dei vapori.

A.7. Procedura

A.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 del bromato e lasciare che lo strumento raggiunga l'equilibrio. Azzerare la risposta del rivelatore quando il segnale non presenta fluttuazioni significative (assenza di "picchi fantasma" e di deriva).

A.7.2. Pretrattamento del campione

I campioni da analizzare vengono trattati preliminarmente al fine di ridurre la concentrazione degli anioni più comuni (solfati, cloruri e carbonati), consentendo l'introduzione, attraverso il *loop* di iniezione, di un notevole volume di campione (ad esempio, 4 mL) senza alterare le prestazioni cromatografiche. Il trattamento viene condotto utilizzando delle resine a scambio cationico ad alta capacità in forma H^+ , Ag^+ e Ba^{++} che consentono la rimozione, nell'ordine, dei carbonati, cloruri e solfati. In commercio sono reperibili delle cartucce pronte all'uso, si raccomanda di seguire le istruzioni del produttore per le modalità di attivazione delle stesse, la preparazione e il trattamento del campione.

A.7.3. Identificazione del picco cromatografico

Preparare una soluzione di bromato diluendo opportunamente la soluzione primaria di riferimento (A.6.4.), iniettare la soluzione e registrare il tempo di ritenzione.

A.7.4. Taratura

Preparare la curva di taratura all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente e con idonea concentrazione necessarie 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 taratura costruita inizialmente. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione primaria (A.6.4.) e/o quella secondaria (A.6.5.). Iniettare le soluzioni di lavoro e integrare i picchi cromatografici. Costruire la curva di taratura ponendo in ordinata l'area del picco e in ascissa la corrispondente concentrazione espressa in $\mu g/L$.

A.7.5. Determinazione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di taratura. Il procedimento analitico che si instaura automaticamente per mezzo del software di gestione della strumentazione è schematizzabile in tre fasi:

1a fase): mentre il campione viene iniettato nel *loop*, la pompa (A.5.2.1.) spinge l'eluente attraverso la colonna cromatografica (A.5.2.5.)

2a fase): la pompa ausiliaria (A.5.2.3.), per mezzo di acqua (A.6.2.), trasferisce il campione dal *loop* di iniezione alla colonna di preconcentrazione (A.5.2.3.)

3a fase): la commutazione automatica della valvola ausiliaria (A.5.2.3.) devia il flusso dell'eluente attraverso la colonna di preconcentrazione, avviando così il processo di separazione cromatografica.

Identificare il picco cromatografico del bromato per confronto con il tempo di ritenzione registrato applicando la procedura descritta in (A.7.3.).

Se la risposta ottenuta per il campione cade al di fuori dell'intervallo individuato dalla curva di taratura, diluire la soluzione in esame e ripetere l'analisi strumentale.

A.8. Calcolo ed espressione dei risultati

A.8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore dell'area del picco cromatografico calcolare la concentrazione del bromato nel campione, utilizzando la corrispondente curva di taratura.

A.8.2. Espressione dei risultati

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

A.9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano, al minimo, i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Bromato	≤ 25	≤ 25	≤ 1

METODO B

B.1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il presente metodo è applicabile almeno nell'intervallo di concentrazione compreso tra 1 e 50 µg/L.

Il metodo proposto utilizza la cromatografia ionica e non prevede la preconcentrazione del campione in quanto la strumentazione evoluta (ad esempio moderni soppressori a micromembrana a bassissimo volume morto che consentono la riduzione del rumore strumentale, moderne colonne a scambio anionico ad alta capacità) consente una sufficiente separazione e quantificazione del bromato.

B.2. Principio del metodo

Il metodo è basato sulla separazione, l'identificazione e la determinazione quantitativa del bromato.

Il campione da analizzare, opportunamente prelevato, conservato e pretrattato, viene iniettato in un *loop* di un volume adeguato al tipo di colonna e di apparecchio in uso. Viene fatto fluire l'eluente attraverso la colonna di separazione permettendo l'eluizione del bromato e di altri anioni. Dopo il

passaggio attraverso il dispositivo di soppressione (B.5.2.5), il bromato viene rivelato mediante un rivelatore conduttometrico.

Può essere necessario, in relazione alla tipologia della colonna impiegata, procedere alla rimozione dei cloruri mediante adeguata cartuccia e allo spostamento dell'interferente carbonato mediante modifica del pH dell'eluente. Si utilizzano moderne colonne a scambio anionico ad alta capacità.

È inoltre possibile l'utilizzo di colonne eluibili con idrossido (KOH o NaOH) la cui soppressione porta ad una conduttività elettrica di fondo molto bassa (tra 1 e 3 μS) con un rumore di fondo estremamente ridotto (valori uguali o inferiori ad 1 μS). Questo consente la determinazione diretta di basse concentrazioni di bromato in matrici reali. Per minimizzare gli errori dovuti alla preparazione della fase eluente sono disponibili in commercio generatori elettrochimici di idrossido esente da carbonato.

La concentrazione del bromato viene determinata per confronto con la curva di taratura ottenuta nelle stesse condizioni sperimentali adottate per l'analisi dei campioni.

B.3. Interferenze e cause di errori

Gli anioni fluoruro, cloruro, bicarbonato e alcuni acidi organici hanno tempi di ritenzione simili a quello del bromato e possono dare interferenze.

Le notevoli differenze di concentrazione tra il bromato e questi anioni potenzialmente interferenti possono dar luogo ad una scarsa risoluzione e di conseguenza rendere inaffidabile il dato quantitativo. La modifica delle condizioni cromatografiche permette di risolvere queste cause di interferenza.

B.4. Campionamento e conservazione dei campioni

I campioni devono essere raccolti in recipienti di vetro o plastica e trattati con 0,5 mL della soluzione etilendiammina (B.6.6.) per litro di campione.

I campioni, dopo il prelievo, devono essere conservati alla temperatura di 5 ± 3 °C e analizzati entro 30 giorni.

B.5. Apparecchiature

B.5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Tutta la vetreria e 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 che viene utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, risciacquato con acqua (B.6.1.1.) e infine con acqua (B.6.1.2.).

B.5.2. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo ionico costituito da:

B.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.

- B.5.2.2. Sistema di introduzione del campione. *Loop* da 250 µL o di un volume adeguato al tipo di colonna e di apparecchio in uso
- B.5.2.3. Precolumna riempita con fase stazionaria dello stesso tipo di quello presente nella colonna cromatografica (B.5.2.5.). Il suo impiego consente di salvaguardare la colonna cromatografica (B.5.2.5.) da possibili adsorbimenti irreversibili di sostanze contenute nel campione.
- B.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 calcolata applicando la seguente formula ai dati ottenuti iniettando una miscela contenente 10 µg/L di bromato e 5 – 50 mg/L dei principali interferenti (in relazione alla tipologia più frequente dei campioni):
- $$2 (tr_2 - tr_1) / (wb_2 + wb_1)$$
- nella quale:
- t_{r1} = tempo di ritenzione del primo picco (in secondi);
- t_{r2} = tempo di ritenzione del secondo picco (in secondi);
- w_{b1} = ampiezza alla base del primo picco (in secondi);
- w_{b2} = ampiezza alla base del secondo picco (in secondi).
- B5.2.5. Dispositivo per la soppressione della conduttività elettrica dell'eluente. Si consiglia l'impiego di un soppressore di tipo chimico o elettrochimico.
- B5.2.6. Rivelatore conduttometrico.
- B5.2.7. Sistema di elaborazione dati.

B.6. Reagenti

Tutti i reagenti dovranno essere di tipo “puro” per analisi.

B.6.1. Acqua

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

B.6.2. Soluzione eluente

La scelta della soluzione eluente dipende dalle caratteristiche della colonna cromatografica (B.5.2.4.), dalla concentrazione dell'analita, dalla presenza di eventuali interferenti e, in generale, dalle prestazioni cromatografiche desiderate. A titolo esemplificativo, si può impiegare una soluzione eluente costituita da carbonato di sodio (Na₂CO₃) 9 mM.

B.6.3. Soluzione per la rigenerazione del soppressore

Scegliere, nel caso di soppressore a micromembrana non autorigenerante, la soluzione rigenerante più appropriata in funzione delle caratteristiche del soppressore chimico in uso.

B.6.4. Soluzione primaria di riferimento di bromato di sodio 1,00 g/L

Può essere utilizzata :

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

- una soluzione ottenuta pesando 0,2949 g di bromato di sodio precedentemente essiccato per 30 minuti in stufa a 105 °C fino a peso costante. Solubilizzare il sale con acqua (B.6.1.2.) al volume finale di 250 mL. La soluzione primaria di riferimento deve essere conservata in recipienti di materiale plastico o vetro.

Verificare periodicamente la sua stabilità.

AVVERTENZA: il bromato di sodio è un potenziale cancerogeno, osservare particolare cura durante il suo utilizzo. Evitare il contatto con pelle e occhi e l'inalazione dei vapori. Si raccomanda all'operatore di osservare le indicazioni riportate sulla procedura di utilizzo delle sostanze cancerogene.

B.6.5. Soluzione secondaria di riferimento

In relazione alla concentrazione prevista nel campione da analizzare, diluire opportunamente con acqua (B.6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (B.6.4.).

B.6.6. Soluzione di etilendiammina 100 g/L

Diluire 2,8 mL di etilendiammina (99%) con acqua (B.6.1.2.) in matraccio da 25 mL. Questa soluzione è stabile 1 mese.

AVVERTENZA: l'etilendiammina è una sostanza corrosiva, osservare particolare cura durante il suo utilizzo. Evitare il contatto con pelle e occhi e l'inalazione dei vapori.

B.7. Procedura

B.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 del bromato e lasciare che lo strumento raggiunga l'equilibrio. Azzerare la risposta del rivelatore quando il segnale non presenta fluttuazioni significative (assenza di "picchi fantasma" e di deriva).

B.7.2. Pretrattamento del campione

I campioni da analizzare vengono, eventualmente, trattati preliminarmente al fine di ridurre la concentrazione dei cloruri mediante cartuccia ad argento nitrato reperibili in commercio pronte all'uso. Per l'uso delle cartucce si raccomanda di seguire le istruzioni del produttore.

Questa operazione può non essere indispensabile in funzione della tipologia di colonna di separazione impiegata.

B.7.3. Identificazione del picco cromatografico

Preparare una soluzione di bromato diluendo opportunamente la soluzione primaria di riferimento (B.6.4.), iniettare la soluzione e registrare il tempo di ritenzione.

B.7.4. Taratura

Preparare la curva di taratura all'inizio di ogni ciclo analitico utilizzando soluzioni di lavoro in numero sufficiente e con idonea concentrazione necessarie 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 taratura costruita inizialmente. Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione primaria (B.6.4.) e/o quella secondaria (B.6.5.). Iniettare le soluzioni di lavoro e integrare i picchi cromatografici. Costruire la curva di taratura ponendo in ordinata l'area del picco e in ascissa la corrispondente concentrazione espressa in $\mu\text{g/L}$.

B.7.5. Determinazione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali utilizzate durante la preparazione della curva di taratura.

Identificare il picco cromatografico del bromato per confronto con il tempo di ritenzione registrato applicando la procedura descritta in (B.7.3.).

Se la risposta ottenuta per il campione cade al di fuori dell' intervallo individuato dalla curva di taratura, diluire la soluzione in esame e ripetere l'analisi strumentale.

B.8. Calcolo ed espressione dei risultati

B.8.1. Calcolo della concentrazione

Dal valore dell'area del picco cromatografico calcolare la concentrazione del bromato nel campione, utilizzando la corrispondente curva di taratura.

B.8.2. Espressione dei risultati

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

B.9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano, al minimo, i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Bromato	≤ 25	≤ 25	≤ 1

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

U.S. Environmental Protection Agency. *Method 300., The determination of Inorganic Anions in Water by Ion Chromatography*. Washington DC: 1997.

Dionex. *Application Note 167. Determination of Trace Concentrations of Oxalates and Bromide in Municipal and Bottled Waters Using a Hydroxide – Selective Column with a Reagent – Free™ Ion Chromatography System*. Sunnyvale, CA: Dionex; 2006.

BENZO(a)PIRENE E IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI: METODO PER GASCROMATOGRAFIA ACCOPPIATA ALLA SPETTROMETRIA DI MASSA E PER GASCROMATOGRAFIA CON RIVELAZIONE A IONIZZAZIONE DI FIAMMA

ISS.CAB.039.REV00

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 (DL.vo 31/2001; DL.vo. 27/2002) prevede la determinazione di cinque IPA per i quali fissa i seguenti "valori di parametro": 0,010 µg/L per il BaP e 0,10 µg/L per la somma di BbFA, BkFA, BghiP e IP (le abbreviazioni sono riportate in Tabella 1). La normativa richiede inoltre che il limite di rivelabilità del metodo d'analisi impiegato sia, al minimo, pari a 0,0025 µg/L per il BaP e 0,00625 µg/L per ognuno degli altri quattro IPA (v. 10).

L'analisi dei campioni viene effettuata in GC/MS.

In alternativa, può essere utilizzata la GC/FID limitatamente alla funzione di escludere la non conformità dei campioni ai valori di parametro. La determinazione del BaP in GC/FID, rispettando il limite di rivelabilità richiesto per questo composto è fattibile solo se: (a) l'intera procedura di trattamento del campione viene condotta in condizioni di massima pulizia, (b) la purificazione è tale da eliminare le interferenze e (c) l'efficienza del sistema analitico è ottimale.

L'analisi deve dunque necessariamente essere condotta in GC/MS se:

- il limite di rivelabilità del BaP in GC/FID nelle condizioni sperimentali del Laboratorio è > 0,0025 µg/L;
- le concentrazioni di IPA trovate mediante GC/FID risultano uguali o superiori ad uno dei valori limite di parametro, ovvero se - pur essendo inferiori - comportano, in un eventuale calcolo della media relativa a più campioni, il raggiungimento o il superamento del valore di parametro.

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 e il DBaA (Tabella 1).

0.1. Definizioni

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.

0.1.1.1. Per l'analisi in GC/MS, viene impiegato un IPA deuterato (diverso dal PE-d₁₂, usato come standard interno (6.6.1.)) con t_R gascromatografico compreso nell'intervallo dei t_R degli IPA da determinare; si raccomanda il BaP-d₁₂.

0.1.1.2. Per l'analisi in GC/FID, lo standard surrogato deve avere le seguenti caratteristiche:

Tabella 1. Alcuni IPA 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- <i>o</i> -Phenylene pyrene
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 molecolare	Peso molecolare	Numero CAS	P.f. °C	P.eb. °C	solubilità in acqua µg/L (T)	Classif. IARC ^b
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
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
BaP	C ₂₀ H ₁₂	252,3	50-32-8	178	496	3,8 (25 °C)	2A
IP	C ₂₂ H ₁₂	276,3	193-39-5	164	536	62 (n.d.)	2B
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 ^c	0,3 (25 °C)	3

(modificata da Menichini, 1994)

La tabella include gli IPA richiesti dalla normativa e quelli di rilevanza per l'attività cancerogena (0.).

n.d.: temperatura non disponibile. ^a In ordine di eluizione gascromatografica. ^b Cancerogenicità per l'uomo secondo IARC (1987). 2A: probabilmente cancerogeno, 2B: possibilmente cancerogeno, 3: non classificabile. ^c Calcolato.

0.1.1.1. Per l'analisi in GC/MS, viene impiegato un IPA deuterato (diverso dal PE-d₁₂, usato come standard interno (6.6.1.)) con t_R gascromatografico compreso nell'intervallo dei t_R degli IPA da determinare; si raccomanda il BaP-d₁₂.

0.1.1.2. Per l'analisi in GC/FID, lo standard surrogato deve avere le seguenti caratteristiche:

- recupero simile a quello degli IPA da determinare;
- presenza in quantità non rivelabili o trascurabili nella matrice in esame e nel bianco-reagenti;
- t_R gascromatografico compreso nell'intervallo dei t_R degli IPA da determinare;
- 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.

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 e 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 le prestazioni del metodo.

0.2. Abbreviazioni e acronimi

BaP-d ₁₂	benzo(a)pirene deuterato
BFA	benzofluoranteni (isomeri "b", "k", "j")

CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
CV	coefficiente di variazione
DCM	diclorometano
DS	deviazione standard
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
RF	fattore di risposta
SIM	<i>single ion monitoring</i>
SPE	estrazione in fase solida (<i>Solid Phase Extraction</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, oltre che 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 si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

In particolare, il metodo è applicabile agli IPA richiesti dalla normativa vigente e agli altri IPA cancerogeni già citati (0.). Esso consente di rivelare concentrazioni di singoli IPA comprese almeno nell'intervallo tra 0,0025 µg/L (limite di rivelabilità del BaP richiesto dalla normativa) e 0,050 µg/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 con DCM, in imbuto separatore o mediante SPE. L'estratto viene analizzato mediante GC/MS a bassa risoluzione. In alternativa, l'analisi può essere condotta in GC/FID, previa purificazione dell'estratto mediante TLC su gel di silice, a condizione che le concentrazioni risultanti non siano superiori ai valori di parametro.

3. Interferenze e cause di errore

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 e 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; v. però 5.9.5.); il BaP è inoltre confondibile, ma tuttavia riconoscibile con qualche difficoltà, con il benzo(e)pirene e il perilene. Gli IPA interferenti qui menzionati sono comunemente presenti nelle matrici ambientali.

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 e 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. È particolarmente importante che tutta la vetreria, e 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.

Con l'analisi gascromatografica, in funzione della colonna usata (5.9.5.), può risultare impossibile identificare separatamente i tre benzofluoranteni isomeri, in quanto coeluenti come un unico picco. In questo caso, nel dosaggio cumulativo di BbFA + BkFA, entrambi richiesti dalla normativa, va considerato incluso anche il BjFA. Tutti e tre gli isomeri 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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

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 alla temperatura di 1-10 °C, 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. Apparecchiature

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. Attrezzatura per l'estrazione del campione

- 5.3.1. Imbuto separatore in vetro chiaro da 1 o 2 L con rubinetto in teflon
- 5.3.2. Dispositivo (cartuccia o disco) per SPE in fase inversa, pre-impaccato con un letto adsorbente idoneo per gli IPA (ad es., di tipo C18 o C8), ed equipaggiato con la vetreria necessaria per il suo uso.
- 5.3.3. Apparecchiatura per l'estrazione SPE automatica di più campioni (facoltativa).
- 5.3.4. Vasca ad ultrasuoni (per l'estrazione 8.1.3.).

5.4. Pallone per evaporatore rotante da 500 mL in vetro scuro

5.5. Colonna cromatografica (per l'estrazione 8.1.1.)

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 µL

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 µL 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 accoppiato ad uno spettrometro di massa a bassa risoluzione.
- 5.9.2. Gascromatografo con rivelatore a ionizzazione di fiamma; sistema per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati (computer con idoneo programma o integratore).
- 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 gli apparecchi 5.9.1. e 5.9.2.:

- 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", "chimicamente legata" e (per la GC/MS) a basso spurgo, lunghezza 25-30 m, d.i. 0,20-0,32 mm, spessore 0,25 µm (nota 2). Si segnala anche la fase "50% fenilmetilpolisilossano" che, pur non commercializzata specificamente per gli IPA, consente di separare i tre benzofluoranteni isomeri (3.).
- 5.9.6. Siringa per l'introduzione del campione, da 5 µL o, se non disponibile (in base all' iniettore montato e a quanto riportato nella nota 2), da 10 µL.

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 certificate.

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 (Na₂SO₄) 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 (Na₂S₂O₃ • 5H₂O) 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 vari IPA in soluzione a titolo noto. Se 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 e certificati.

- 6.6.1. Standard interno. Per la determinazione dei 5 IPA richiesti dalla normativa, uno standard interno idoneo è il PE-d₁₂.
- 6.6.2. Eventuali standard interni “di processo” (9.2.1.): una miscela costituita da BaP-d₁₂ e IP-d₁₂, più altri eventuali IPA deuterati se vengono determinati altri IPA, con diverso peso molecolare, oltre quelli richiesti dalla normativa (ad es. il BaA-d₁₂ se si determina il BaA).

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 g/L). 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 di parametro (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'aliquote 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.) e 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.) o le soluzioni commerciali dei singoli materiali di riferimento. Le concentrazioni devono essere tali per cui, nel campione per la prova "Recupero", le concentrazioni dei cinque IPA richiesti dalla normativa siano conformi ai valori di parametro: 0,010 µg/L per il BaP e 0,025 µg/L per ognuno dei rimanenti quattro IPA (BbFA, BkFA, IP, BghiP; nota 5). Per lo standard surrogato e gli eventuali altri IPA, le concentrazioni sono comprese approssimativamente tra 0,010 e 0,025 µg/L. Poiché la prova "Recupero" prevede l'aggiunta di 1 mL della soluzione-recupero a 1 L d'acqua, le concentrazioni di questa soluzione saranno pari a 10-25 ng/mL.

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 miscele equivalenti.

7. Controllo di qualità

L'applicazione del metodo nelle condizioni sperimentali del Laboratorio deve soddisfare i requisiti minimi richiesti dalla normativa per l'esattezza e la precisione (per il limite di rivelabilità, v. sez. 0.). In particolare, le procedure per l'estrazione alternative alla liquido-liquido (8.1.2. e 8.1.3.) o quelle per la purificazione alternative alla TLC (8.3.2.), devono essere definite e standardizzate nelle condizioni sperimentali del Laboratorio: occorre quindi verificare che l'efficienza di recupero degli IPA (7.2.) sia tale che vengano rispettati i suddetti requisiti minimi.

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.

I controlli del bianco-reagenti possono essere omessi se le concentrazioni nei campioni reali risultano inferiori ai limiti di rivelabilità previsti dalla normativa (0.1.).

7.2. Recupero

La prova viene effettuata almeno in triplicato su campioni d'acqua "reagente" (6.1.).

Si aggiunge ad 1 L d'acqua "reagente", direttamente nell'imbuto separatore o nel contenitore di carico del dispositivo per SPE (5.3.2.), 1 mL di soluzione-recupero (6.11.), si agita moderatamente e si attendono circa 30 min prima di iniziare l'estrazione (durante l'attesa, curare la protezione dalla luce: si veda 3.1.). Si eseguono tutte le fasi della determinazione nelle stesse condizioni, con le stesse apparecchiature e con gli stessi materiali impiegati per i campioni reali. La prova deve essere effettuata da parte di ogni operatore che effettua l'analisi dei campioni reali (nota 13).

Il recupero percentuale (valore medio delle $n \geq 3$ determinazioni) viene determinato:

- in GC/MS, con lo standard interno marcato, analizzando i campioni secondo la procedura (8.5.) impiegata per i campioni reali;
- 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.

Ogni analisi (sia dei campioni che dell'eventuale miscela di riferimento) deve essere effettuata almeno in duplicato e il valore medio costituisce il risultato della determinazione. Il recupero deve risultare $\geq 75\%$, con una DS relativa alle n determinazioni $\leq 0,0025 \mu\text{g/L}$ per il BaP e per il surrogato, e $\leq 0,00625 \mu\text{g/L}$ per ognuno di BbFA, BkFA, IP, BghiP. In particolari condizioni, il superamento di questi livelli può essere considerato accettabile (nota 12).

8. Procedura di misura

8.1. Estrazione

Le operazioni con DCM devono essere effettuate sotto cappa aspirante.

8.1.1. Estrazione liquido-liquido

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 Na₂SO₄, 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, l'estrazione e l'essiccamento. 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)

8.1.2. Estrazione in fase solida

Al fine di evitare l'impiego di volumi elevati di DCM, particolarmente quando è prevista l'analisi di molti campioni, l'estrazione liquido-liquido può essere sostituita da una preconcentrazione-estrazione con dispositivo per SPE (5.3.2.). La procedura, in genere fornita con il dispositivo stesso, varia con il tipo di dispositivo. In linea di principio, essa deve seguire il seguente schema: (a) condizionamento del dispositivo con diversi solventi, iniziando con DCM e terminando con acqua o altro solvente con essa miscibile; (b) filtrazione del campione d'acqua (1-2 L) attraverso il dispositivo; (c) asciugatura completa del letto adsorbente; (d) eluizione degli IPA con piccolo volume (alcuni millilitri) di DCM. L'aggiunta della soluzione di lavoro dello standard surrogato (6.9.) viene effettuata direttamente nel contenitore di carico del dispositivo per SPE, analogamente a quanto riportato in 8.1.1. Per l'asciugatura del letto, si raccomanda di impiegare azoto in leggera pressione per un tempo sufficientemente lungo per eliminare per quanto possibile ogni traccia d'acqua e ottimizzare quindi l'efficienza d'estrazione degli IPA.

8.1.3. Estrazione da acqua contenente materiale particellare in sospensione

Se si ha motivo di ritenere che l'acqua da analizzare contenga concentrazioni significative di IPA presenti all'interno del materiale particellare in sospensione (ad es., particelle bituminose), l'estrazione liquido-liquido o la SPE possono comportare risultati sottostimati. Si deve adottare dunque una procedura idonea all'estrazione dal materiale particellare, consistente schematicamente in: (a) filtrazione del campione d'acqua su disco per SPE; (b) asciugatura del disco in essiccatore per almeno 3 h o sotto leggera pressione d'azoto; (c) estrazione degli IPA dal disco, sia solubilizzati che in fase particellare, con DCM in vasca a ultrasuoni (tre estrazioni da 15 min l'una con 20 + 15 + 15 mL).

8.1.4. Determinazione del 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 40 ± 2 °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 piccolo volume: 1 mL se l'estratto viene conservato per l'analisi; circa 50 µL se viene sottoposto a purificazione per TLC (aumentabile con l'uso di lastre TLC di spessore superiore a 0,25 mm).

8.3. Purificazione

Gli estratti di campioni d'acqua destinati al consumo umano non necessitano di purificazione se l'analisi viene effettuata in GC/MS.

La purificazione è invece necessaria per l'analisi in GC/FID. In questo caso, dato che il valore di parametro del BaP è relativamente vicino al limite di rivelabilità, è necessaria una separazione quanto più completa possibile della classe degli IPA dagli altri composti organici presenti nell'estratto. Tale purificazione spinta è ottenibile mediante TLC. Ove si volesse purificare l'estratto su colonna cromatografica di gel di silice, si può fare riferimento, a titolo esemplificativo, alle procedure riportate nel metodo EPA 610 (US EPA, 1984) o nella norma europea UNI EN ISO 17993 (UNI, 2005).

8.3.1. Purificazione mediante TLC

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

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, adottate con una colonna 5% fenilmetilpolisilossano (5.9.5.), vengono date a scopo indicativo:

- 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 µL; splitless: 1-2 µL.

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 dello standard esterno, 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: se non sono risolti tra loro, il risultato viene riportato cumulativamente; dunque, in questo caso, è più accurata una loro misura mediante l'area 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 °C/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;
- 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

Si raccomanda di effettuare preliminarmente:

- Un'analisi della miscela (6.12.) per verificare l'efficienza della colonna e del sistema GC/MS.
- Un'analisi di un campione per valutare le concentrazioni approssimate degli IPA e il recupero dello standard surrogato (8.4.3.).

8.5.1. Conferma dell'identificazione effettuata in GC/FID

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 ripetuta, in particolare quando si è a conoscenza di (o si suppongono) variazioni nella fonte della contaminazione; L'identificazione viene 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.

8.5.2. Identificazione e 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.

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
BaP-d ₁₂	264	265, 260, 263
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 e surrogato, 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 analizzano le soluzioni di lavoro (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/ μ L)

C_{si} = concentrazione dello standard interno deuterato (pg/ μ L)

Se, per il singolo IPA, la variabilità dell'RF nell'intervallo di lavoro è contenuta entro CV <20%, l'RF medio viene usato nei successivi calcoli. Altrimenti, i risultati vengono usati per costruire una curva di taratura 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 \geq 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 taratura (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 taratura.

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 26).

L'analisi di un campione con basse concentrazioni di IPA, dopo un campione o una miscela di riferimento con concentrazioni superiori, 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. GC/FID

$$C = \frac{R_{camp} \cdot C_{st} \cdot V_{camp}}{R_{st} \cdot V_{acqua} \cdot Rec \cdot 10^4}$$

dove:

C	concentrazione espressa in µg/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/µL)
V _{camp}	volume del campione prima dell'analisi (µL)
V _{acqua}	volume del campione d'acqua estratto (L)
Rec	recupero dell'IPA (%; nota 27)

9.2. GC/MS

$$C = \frac{R_{IPA} \cdot M_{si} \cdot V_{camp}}{R_{si} \cdot RF \cdot V_{in} \cdot V_{acqua} \cdot Rec \cdot 10^4}$$

dove:

C	concentrazione espressa in µg/L
R _{IPA}	risposta dell'IPA misurata nel campione (ione caratteristico)
R _{si}	risposta dello standard interno misurata nel campione (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 (µL)
V _{in}	volume di campione iniettato (µL)
V _{acqua}	volume del campione d'acqua estratto (L)
Rec	recupero dell'IPA (%; nota 27)

9.2.1. Correzione per l'efficienza di recupero

Il valore dell'efficienza di recupero dei singoli IPA, da inserire nella formula sovrastante (9.2.), viene determinato mediante la prova "Recupero" (7.2.).

In alternativa a questa procedura di correzione del risultato, è possibile aggiungere al campione, prima dell'estrazione, gli standard interni "di processo" marcati (6.6.2.): conoscendo l'RF degli analiti rispetto ad essi, le risposte analitiche sono già corrette per l'efficienza di recupero direttamente determinata nel campione analizzato. A questo scopo, gli IPA marcati vengono così utilizzati: il BaP-d₁₂ per stimare il recupero di BaP, BbFA e BkFA; l'IP-d₁₂ per l'IP e il BghiP.

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.

10. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano, in

generale, i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti relativi alla precisione e all'esattezza.

Analita	Esattezza µg/L	Precisione µg/L	Limite di rivelabilità µg/L
BaP	≤ 0,0025	≤ 0,0025	≤ 0,0025
BbFA *	≤ 0,0063	≤ 0,0063	≤ 0,0063
BkFA *	≤ 0,0063	≤ 0,0063	≤ 0,0063
IP *	≤ 0,0063	≤ 0,0063	≤ 0,0063
BghiP *	≤ 0,0063	≤ 0,0063	≤ 0,0063

* V. nota 7 dell'all. III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Bibliografia

International Agency for Research on Cancer. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. IARC, Lyon: 1987: *Mon. Eval. Carcin. Risk Hum.*, Suppl. 7.

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. p. 43344-43352.

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

UNI. *Qualità dell'acqua. Determinazione di 15 idrocarburi aromatici policiclici (IPA) in acqua mediante cromatografia ad alta risoluzione (HPLC) con rivelazione a fluorescenza, dopo estrazione liquido/liquido*. Norma europea UNI EN ISO 17993, versione ufficiale in lingua inglese. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2005.

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 (8.3.1.).

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 di riferimento nell'acqua quelle corrispondenti ai valori di parametro (per BbFA, BkFA, IP e BghiP: si assume ¼ del loro valore di parametro cumulativo). In questo caso, per campioni concentrati (pronti per l'analisi) a circa

100 µL, la miscela di riferimento avrà dunque concentrazioni 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.

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 di parametro. Poiché concentrazioni inferiori a tale intervallo sono comunemente attese nei campioni reali, se si intendono dosare livelli di IPA $\leq 0,001$ µg/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 (dispositivi per SPE, 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 e i valori di parametro. In particolare, a giudizio del responsabile dell’analisi, una ripetibilità relativamente scarsa può essere accettata se la conseguente imprecisione non inficia la conformità o meno del risultato al valore di parametro. Scarse prestazioni, nel recupero e nella ripetibilità, sono possibili a concentrazioni intorno o poco superiori al limite di rivelabilità. Qualora non siano soddisfatti i requisiti 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, dalla manualità insita nella procedura.

Nota 14. Avendo disponibile, invece del solfato granulare, quello in polvere (che comporta un eccessivo impaccamento della colonna), si può effettuare l’essiccamento facendo percolare l’estratto su Na₂SO₄ (circa 30 g) contenuto in un imbuto di vetro (5.5.) oppure aggiungendo Na₂SO₄ 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 e 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. È 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.

È 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 e 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 0,0025-0,010 $\mu\text{g/L}$. 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, e 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 e 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. 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 27. Ad es., "73" nel caso di un recupero del 73%.

RESIDUI DI PRODOTTI FITOSANITARI (ANTIPARASSITARI): ESTRAZIONE IN FASE SOLIDA (SPE) E ANALISI GASCROMATOGRAFICA CON RIVELATORI SELETTIVI ISS.CAC.015.REV00

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 e i loro eventuali prodotti di degradazione) possono inquinare le acque superficiali e sotterranee in relazione alla loro solubilità, mobilità nel terreno e persistenza.

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 da destinare e destinate al consumo umano secondo la normativa vigente, e acque utilizzate per la produzione di acque per dialisi.

Il metodo è applicabile ad un elevato numero di sostanze attive e in un ampio intervallo di concentrazione (0,01-1 µg/L)

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, gli ioni più significativi per l'analisi in 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 con tecnica di estrazione in fase solida (SPE) con cartucce o dischi costituiti da silice legata a catene a 8 o 18 atomi di carbonio (tipo C-8 e tipo C-18), resine stirene divinilbenzene, con cartucce di carbone grafitato.

3. Interferenze e cause di errori

Le maggiori fonti di contaminazione e interferenze 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.

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 e altri additivi delle plastiche, come ad esempio ftalati, adipati, zolfo, solfonammidi,

alchil- e aril-fostati, cloro-alchil-fostati, 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 e il prelievo deve essere meticolosamente lavata con detergenti per vetreria, risciacquata in successione con acqua, acqua ultrapura esente da tracce dell'analita e 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 essere di grado di purezza per l'analisi dei residui.

Analisi di bianchi consentono 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 interferenze

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

I campioni vengono prelevati in recipienti di vetro scuro e sono conservati 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 l'estrazione delle sostanze attive non oltre i quindici giorni.

5. Apparecchiature

- 5.1. Normale attrezzatura e vetreria di laboratorio.
- 5.2. Dispositivo per l'aspirazione sottovuoto di cartucce o dischi.
- 5.3. Dispositivo per l'evaporazione in corrente di azoto.
- 5.4. Pompa a vuoto.
- 5.5. Evaporatore rotante.
- 5.6. Bilancia analitica.
- 5.7. Strumenti analitici e accessori.
 - 5.7.1. Sistema gas-cromatografico con rivelatori selettivi di tipo azoto –fosforo (GC-NPD) e a cattura di elettroni (GC-ECD).
 - 5.7.2. Gascromatografo con rivelatore a selezione di massa (GC-MS).
 - 5.7.3. 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.
- 5.8. Kit in vetro per filtrazione sotto vuoto per membrane da 47 mm.
- 5.9. Filtri.
 - 5.9.1. Filtri fibra di vetro diametro 47 mm.
 - 5.9.2. Filtri in esteri di cellulosa, pori di 0,45 μm , diametro 47 mm.

- 5.10. Cartucce per estrazione in fase solida, ad esempio tipo C-18, da 500 mg o dischi per estrazione in fase solida, ad esempio tipo C-18 da $47 \times 0,5$ mm.
- 5.11. Micropipette.

6. Reagenti

- 6.1. Acqua pura esente da ftalati.
- 6.2. Etilo acetato per analisi di residui.
- 6.3. Metanolo per 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 delle sostanze attive nel loro stato fisico originale o, se questi 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 sciogliendo il composto 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, etanolo, tenendo conto della solubilità degli analiti.

Le soluzioni primarie concentrate (circa 1000 $\mu\text{g/mL}$) delle sostanze attive sono stabili in linea generale per molti mesi (12-24) se tenute al riparo della luce, a bassa temperatura e in contenitori di vetro ben chiusi per evitare perdite per evaporazione.

Le soluzioni secondarie diluite (circa 10 $\mu\text{g/mL}$) 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 $\mu\text{g/mL}$), 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 detector utilizzati, avere un tempo di ritenzione intermedio ai composti da determinare ed essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze attive da determinare.

L'aggiunta di standard interno alla soluzione, prima dell'iniezione nel sistema cromatografico, rende indipendenti dal 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 che può essere 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 detector 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 della performance strumentale

Allo scopo di verificare la performance strumentale, 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 questa soluzione consente di verificare il buon funzionamento e il grado di prestazione analitica dell'apparecchiatura sotto l'aspetto ad esempio della sensibilità, della ripetibilità, della risoluzione, della linearità, della reattività nei confronti di particolari analiti.

Questa operazione deve essere condotta preliminarmente alle analisi sui 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

Nel caso di estrazione su cartuccia o disco tipo C-18 la procedura è la seguente.

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 passata attraverso

- una cartuccia C-18 da 500 mg lavata e condizionata per passaggio in successione di 5 mL di etile acetato, 5 mL di metanolo, 10 mL di acqua pura lasciando infine un battente di alcuni mm, ad una velocità di circa 500 mL/ora;

in alternativa:

- un disco C-18 47 × 0,5 mm lavato e condizionato per passaggio con 5 mL di etile acetato, 5 mL di metanolo, 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 passaggio 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 ≤ 40 °C.

Il residuo, indicativamente, si riprende con 0,5 –1,0 mL di soluzione contenente lo standard interno.

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 condizioni gascromatografiche devono essere adeguate ai composti che si vogliono determinare. In Tabella 1, per ogni sostanza, sono riportate le sensibilità nei confronti dei rivelatori selettivi e indicati gli ioni più significativi per l'analisi mediante spettrometria di massa.

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 select 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, periodica pulizia dei rivelatori e delle sorgenti, filtrazione dei gas di trasporto ecc.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Analisi quantitativa

È 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 taratura a concentrazione nota da utilizzare nel calcolo.

La taratura sarà effettuata su un unico livello, ad una concentrazione molto vicina a quella degli analiti da quantificare oppure costruendo una curva di taratura 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 $< 0,10 \mu\text{g/L}$.

8.3. Criteri di confronto con valori di riferimento

Se il valore riscontrato di una sostanza attiva è in prossimità di un valore di riferimento, ad esempio il valore parametrico previsto per le acque destinate al consumo umano, deve essere considerata l'incertezza stimata e dichiarata dal laboratorio nell'analisi di quella sostanza attiva.

L'intervallo di confidenza associato al risultato, e calcolato dal valore dell'incertezza dichiarata dal laboratorio, deve essere collocato interamente al di sopra o al di sotto del valore di riferimento per esprimere una valutazione rispettivamente di "non conformità" o di "conformità".

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 di cui ai paragrafi successivi. (9.1. ÷ 9.4.)

9.1. Precisione

La precisione del metodo di prova 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.

I valori di precisione espressa come scarto tipo relativo percentuale, nel campo di misura compreso fra $0,01 \mu\text{g/L}$ e $1,0 \mu\text{g/L}$, ottenibili con il presente metodo sono inferiori al 25%.

9.2. Esattezza

È la differenza fra il valore medio di un certo numero di misure e il valore "vero" o "accettato come tale". La sua misura è considerata come errore sistematico.

L'estrazione incompleta degli analiti rappresenta la causa più ricorrente di errore sistematico, che il laboratorio dovrà verificare.

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.

I valori di recupero medi ottenibili con il presente metodo sono uguali o superiori al 75%.

9.3. Limite di determinazione

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

Il metodo consente limiti di determinazione mediamente compresi fra 0,02 e 0,05 µg/L. Il limite di determinazione deve essere riportato nel rapporto di prova per ogni sostanza attiva.

9.4. Intervallo di linearità

Per ogni sostanza attiva si dovrà accertare l'intervallo di linearità della risposta strumentale. Per fare questo, si costruiscono curve di taratura dopo aver iniettato soluzioni diluite degli analiti, anche in miscela fra loro, a varie concentrazioni. Le modalità di preparazione delle soluzioni sono riportate ai punti 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 proprie 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

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 precisione.

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

Nel caso che 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 una analisi del bianco, 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

È 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.

Tabella 1. Elenco di alcune sostanze attive 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
Alfamecina	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

segue

continua

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni MS
Dimetaclor	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
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
Fenclofos	299-84-3	C ₈ H ₈ Cl ₃ O ₃ PS	320	X	X	285 287 125 109
Fenitroton	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	254642	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 CINO ₄ PS ₂	367	X	X	182 184 121 97
Fosfamidone	13171-21-6	C ₁₀ H ₁₉ CINO 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 ₄ 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
Metabenztiuron	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 CINO ₂	283	X	X	162 238 240 146
Metoprotina	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
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
Procloraz	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

segue

continua

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni MS			
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 ₂ 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

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

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 5090: Pesticidi clorurati. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 5100: Pesticidi fosforati. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

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*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 1997. (Rapporti ISTISAN 97/24).

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 in prodotti vegetali*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 1997. (Rapporti ISTISAN 97/23).

U.S. Environmental Protection Agency. *Method 525.2 Determination of organic compounds in drinking water by liquid- solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry*. Environmental Protection Agency, US Federal Register – 500, supplement III, Revision 1.1. Washington DC: 1995.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

COMPOSTI ORGANOALOGENATI VOLATILI: METODO GASCROMATOGRAFICO APPLICATO ALL'ESTRATTO PENTANICO, ALLO SPAZIO DI TESTA STATICO O ALLO SPAZIO DI TESTA DINAMICO

ISS.CAA.036.REV00

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-cloroetilvinilene, clorobenzene, diclorobenzene), ma con proprietà chimico-fisiche sostanzialmente riconducibili a quelle dei VOX alifatici.

Alcuni di questi composti (in particolare i triometani, 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

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

In particolare consente il dosaggio dei triometani (cloroformio, bromodichlorometano, dibromochlorometano, bromoformio) derivanti dai trattamenti di disinfezione e dei principali composti organoalogenati di sintesi (1,2-dicloroetano, 1,1,1-tricloroetano, tetracloruro di carbonio, tricloroetilene, tetracloroetilene) ampiamente utilizzati nell'industria come solventi.

Il campo di applicazione e 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 di 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 più 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 termostata 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 e 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 e 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:

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

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);

$\gamma_{i,aria}/\gamma_{i,acqua}$ 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:

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

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 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.

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 su *purge and trap*

Consiste nell'analisi gascromatografica delle sostanze estratte da un gas inerte, preconcentrate in una trappola adsorbente ed eventualmente 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 pre-colonna 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).

È opportuno effettuare un rigoroso controllo dell'ambiente di lavoro prima dell'indagine analitica, al fine di eliminare la presenza di 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 (ad esempio temperatura e/o lunghezza della colonna, fase stazionaria, ecc.). 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 e 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.

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

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 solfato di sodio (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 tiosolfato di sodio (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 1-10 °C in luoghi sufficientemente lontani dai solventi organici. Effettuare l'analisi non oltre 7 giorni dal prelievo.

5. Materiali e apparecchiature

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 risciacquarla 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, ghiera metalliche, pinza piegatrice

Per il prelievo del campione e l'analisi dello spazio di testa utilizzare *vial* provvisti di ghiera 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 e 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 μ L. 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 μ L 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 desorbitore 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 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 (ELCD). Se disponibile può essere vantaggiosamente impiegato un rivelatore a selezione di massa (MS) 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 μ m, spessore di fase non inferiore a 1 μ m 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. Tiosolfato di sodio (Na₂S₂O₃ • 5H₂O)

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. Carbonato di sodio

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. Solfato di sodio

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, dibromochlorometano, 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). È 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 e della risposta del rivelatore.

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

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

A causa di tali limitazioni, non è possibile individuare un'unica sostanza come standard interno. È 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, bromotrichlorometano, 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). È una sostanza aggiunta al campione prima di qualsiasi pretrattamento e 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 taratura.

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 5 ± 3 °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 μ L. 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 5 ± 3 °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. Può essere sostituita da soluzioni commerciali a titolo noto (6.8.1.) di ciascun composto.

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, e introdurla 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 5 ± 3 °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. Può essere sostituita da soluzioni commerciali a titolo noto (6.8.1.) di ciascun composto.

Prelevare volumi noti delle soluzioni primarie di riferimento (6.9.2.), contenenti le sostanze prescelte come standard interni, e introdurla 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 5 ± 3 °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.), tiosolfato di sodio (6.5.) e carbonato di sodio (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, 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 5 ± 3 °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 5 ± 3 °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.

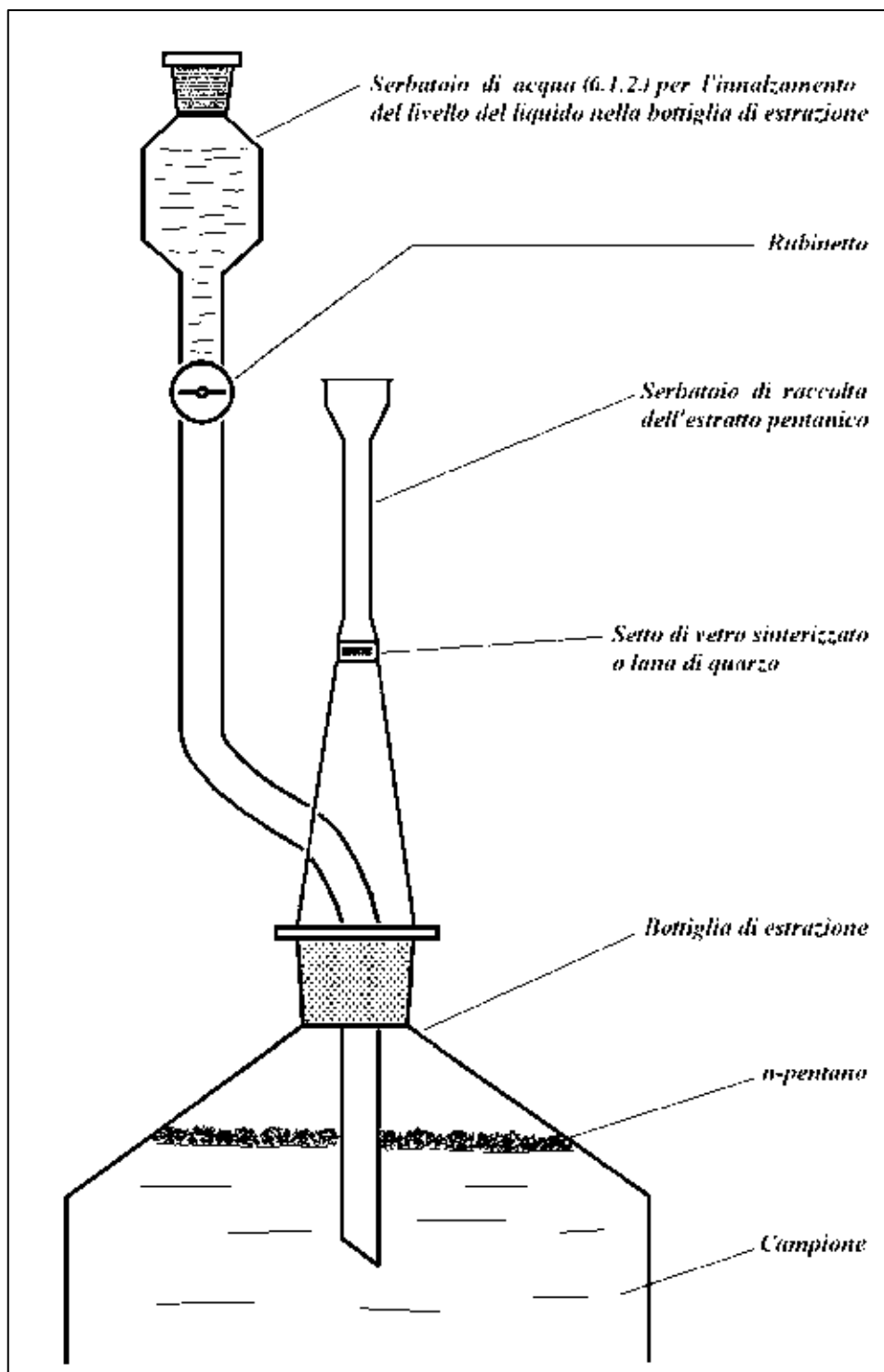


Figura 1. Prolunga asimmetrica a forma di "Y" per facilitare il recupero dell'estratto organico

7.3. Taratura

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 taratura.

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 e 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* e 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 e 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 crio-focalizzazione 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 taratura. 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 e annotare le loro aree o le loro altezze. Se la risposta cade al di fuori dell'intervallo di taratura, aggiungere uno o due punti di taratura nei dintorni $\pm 20\%$ del dato stimato. È 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.

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 taratura 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 taratura.

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

È 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.

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 taratura.

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

È 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.

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. È 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 taratura.

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 taratura.

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 taratura 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 taratura.

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 caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza ($\mu\text{g/L}$)	Precisione ($\mu\text{g/L}$)	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
1,2-dicloroetano	$\leq 0,7$	$\leq 0,7$	$\leq 0,3^*$
tetracloroetilene	$\leq 1,2$	$\leq 1,2$	$\leq 0,1$
tricloroetilene	$\leq 1,2$	$\leq 1,2$	$\leq 0,1$
cloroformio	$\leq 1,8$	$\leq 1,8$	$\leq 0,1$
clorodibromometano	$\leq 1,8$	$\leq 1,8$	$\leq 0,1$
diclorobromometano	$\leq 1,8$	$\leq 1,8$	$\leq 0,1$
bromoformio	$\leq 1,8$	$\leq 1,8$	$\leq 0,5$

*Il limite di rivelabilità può risultare superiore utilizzando lo spazio di testa statico

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

U.S. Environmental Protection Agency. *Method 502.2. Revision 2.1 Methods For The Determination Of Organic Compounds In Drinking Water-Supplement Iii (EPA/600/R-95-131)*. Environmental Protection Agency. Washington DC: 1995.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

BENZENE: METODO GASCROMATOGRAFICO APPLICATO ALLO SPAZIO DI TESTA STATICO ISS.CAA.004.REV00

0. Generalità e definizioni

Il benzene fa parte dei composti organici volatili (VOC), un'ampia classe di composti caratterizzati da un'elevata tensione di vapore a temperatura ambiente

Il benzene ha una particolare rilevanza dal punto di vista igienico-sanitario in quanto è un riconosciuto cancerogeno per la salute umana.

Il benzene è utilizzato in campo industriale e nei prodotti petroliferi, in particolare, nelle benzine. La presenza del benzene nell'ecosistema acquatico è legata a perdite che si possono verificare durante le fasi di trasporto e stoccaggio dei prodotti derivati dal petrolio, oppure a scarichi industriali.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque destinate e da destinare al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il campo di misura del metodo dipende da molte variabili strumentali e dai volumi impiegati: il metodo consente comunque di rivelare concentrazioni almeno fino a 0,1 µg/L.

2. Principio del metodo

Il metodo permette la determinazione del benzene e di altri VOC mediante estrazione con tecnica dello spazio di testa statico, separazione gas-cromatografica e rivelazione tramite spettrometria di massa. Un volume noto del liquido in esame è introdotto in una fiala di vetro (*vial*) con chiusura ermetica: il benzene e gli altri VOC sono poco solubili in acqua, pertanto, tendono ad occupare lo spazio di testa delle *vial*. Queste vengono termostate ad una temperatura prescelta per un tempo sufficientemente lungo al raggiungimento dell'equilibrio di ripartizione. Un'aliquota della fase gassosa (spazio di testa) viene prelevata forando il setto con una siringa da gas e iniettata nel gascromatografo.

La sensibilità può essere migliorata utilizzando il sistema di crioconcentrazione degli analiti in testa alla colonna tramite il raffreddamento subambiente della parte iniziale della colonna o del forno del gascromatografo; l'aggiunta di cloruro di sodio (indicativamente 30% p/v) consente di ottenere un miglioramento nella sensibilità analitica, favorendo l'equilibrio del benzene verso la fase dello spazio di testa.

L'identificazione avviene per confronto, con soluzioni di taratura, dei tempi di ritenzione e degli ioni caratteristici del benzene, mentre la quantificazione si esegue per confronto tra le aree dei picchi ottenuti iniettando il campione e le aree dei picchi ottenuti dalle soluzioni di taratura.

3. Interferenze e cause di errore

La determinazione del benzene e altri composti organici 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).

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

Errori in eccesso possono essere indotti anche da effetti memoria dell'autocampionatore o del dispositivo di estrazione della fase gas. 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.

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 volatili diversi dagli analiti in esame possono avere tempi di ritenzione identici e sono quindi da considerarsi interferenti. L'utilizzo di un rivelatore selettivo come lo spettrometro di massa consenta di ridurre l'interferenza esaminando gli ioni caratteristici del composto; nel caso di interferenze è necessario ripetere la determinazione analitica dopo aver modificato le condizioni cromatografiche (temperatura, lunghezza della colonna, fase stazionaria, etc.) al fine di ottenere la separazione dell'analita dalle sostanze interferenti.

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 di analiti volatili o la contaminazione del campione.

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Il benzene e gli altri composti organici volatili si ripartiscono tra fase liquida e quella gassosa: risulta quindi fondamentale ridurre al minimo le perdite del composto sia durante le operazioni di campionamento che di preparazione del campione. Per questo motivo si consiglia di effettuare il prelievo direttamente nelle *vial* (5.3.) utilizzate per l'analisi strumentale. Effettuare il dosaggio del volume desiderato di campione evitando l'utilizzo di pipette (nell'aspirazione vi è presenza di spazio di testa) preferendo siringhe e prelevando il campione senza formazione di bolle o spazio di testa all'interno della siringa stessa: è possibile aggiungere nei *vial* cloruro di sodio (indicativamente 30% p/v) prima del dosaggio del campione al fine di facilitare il passaggio del benzene nello spazio di testa.

È accettabile, in alternativa, utilizzare bottiglie di vetro chiuse con tappo a vite inerte. Prima del riempimento è necessario avvinare bene le bottiglie con l'acqua da campionare. Non filtrare l'acqua ed evitare ogni operazione che faciliti il degasaggio dei composti organici volatili disciolti. Riempire il recipiente fino all'orlo e tappare subito evitando di lasciare spazi gassosi nei quali possano passare i composti più volatili che andrebbero perduti all'apertura del recipiente, con conseguente stima per difetto del reale contenuto degli analiti ricercati.

I campioni durante il trasporto dal luogo di prelievo al laboratorio devono essere conservati in condizioni refrigerate. Le analisi devono essere effettuate al più presto, in ogni caso entro 72 ore dal prelievo, conservando nel frattempo il campione tra 1 e 10 °C.

5. Materiali e apparecchiature

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 volatili.

Lavare tutta la vetreria con un detergente e risciacuarla abbondantemente con acqua (6.1.1.) e successivamente con acqua ultrapura (6.1.2.). Asciugare i contenitori riscaldandoli in stufa ad una temperatura compresa tra 150 °C e 200 °C per almeno 2-3 ore. Conservare i contenitori in luogo esente da contaminazioni di VOC.

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.).

5.2. Bottiglie in vetro con tappo a vite di capacità almeno pari a 100 mL

5.3. *Vial* (flaconcini) in vetro, setti in gomma, ghiere metalliche, pinza tappatrice

Per il prelievo del campione e l'analisi utilizzare *vial* per spazio di testa a tenuta di gas, (consigliati da 20 mL) con chiusura tramite setti monouso in gomma siliconica teflonata e chiusura ermetica tramite ghiere metalliche e pinza stringi-ghiera. Per la conservazione delle soluzioni di riferimento o di lavoro utilizzare *vial* con tappi a vite e setti in gomma siliconica teflonata.

Trattare i contenitori come descritto in (5.1).

5.4. Microsiringhe

Per il prelievo quantitativo di piccoli volumi durante la preparazione delle soluzioni di riferimento è consigliabile l'impiego di microsiringhe tarate, lavate accuratamente con metanolo (6.2). 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 prelevate con tali dispositivi.

Per l'iniezione manuale di aliquote di gas nel gascromatografo utilizzare microsiringhe tarate e a tenuta di gas. Dopo ogni iniezione flussare la siringa con azoto al fine di rimuovere l'eventuale effetto memoria della siringa stessa.

5.5. Bilancia tecnica - precisione 0,1 g

5.6. Bilancia analitica - precisione 0,1 mg

5.7. Stufa

Stufa munita di termostato capace di mantenere costante la temperatura prefissata entro l'ambito di ± 20 °C, utilizzata per il trattamento della vetreria.

Nel caso di iniezioni manuali: stufa munita di termostato capace di mantenere costante la temperatura prefissata entro l'ambito di ± 1 °C, utilizzata per la termostatazione dei *vial* campione.

5.8. Strumentazione analitica e accessori

5.8.1 Sistema autocampionatore per spazio di testa, del tipo *gas-tight syringe, balanced-pressure* oppure *pressure-loop system*, in grado di effettuare il condizionamento dei *vial*, prelevare una

aliquota dello spazio di testa e trasferirla direttamente al sistema gascromatografico. In alternativa è possibile iniettare manualmente tramite siringa a tenuta di gas dopo aver termostato i campioni in stufa.

5.8.2. Gascromatografo con rivelatore a spettrometria di massa.

5.8.3. Colonna cromatografica capillare in silice fusa indicata per l'analisi dei VOC.

5.8.4. Sistema di acquisizione ed elaborazione dati.

5.8.5. Gas di trasporto (elio o idrogeno), gas di estrazione dello spazio di testa (elio). Utilizzare gas di elevata purezza filtrati attraverso una trappola a carbone attivo e, eventualmente, una a setacci molecolari; può rendersi necessaria anche l'eliminazione di tracce di ossigeno mediante opportuna trappola

5 Reagenti e materiali di riferimento

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 benzene e VOC. 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 ora) in corrente di azoto (150-200 mL/min) filtrato su GAC.

6.2. Metanolo

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

6.3. Benzene (e altri VOC)

Utilizzare un prodotto di elevata purezza, certificata, per la preparazione delle soluzioni di taratura. 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.

6.4. Standard interno

L'utilizzo di uno standard interno consente di eliminare gli errori dovuti alle fluttuazioni della quantità iniettata. Affinché un determinato composto possa essere utilizzato come standard interno deve: avere un comportamento chimico-fisico simile alla sostanza in esame, non essere presente nei campioni reali, essere stabile e inerte nei confronti dei composti da determinare, dare una risposta al rivelatore impiegato, avere un tempo di ritenzione compreso nell'intervallo dei tempi di ritenzione dei composti da determinare, 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, è necessario scegliere caso per caso il composto più idoneo a tale utilizzo. Per la determinazione del benzene si segnalano i seguenti standard interni: il trifluorobenzene (C₆H₆F₃), il fluorobenzene (C₆H₅F) o il benzene-d₆ (C₆D₆).

Utilizzare prodotti di elevata purezza, certificata, per la preparazione delle soluzioni di riferimento interno.

6.5. Sodio cloruro

Trattare in stufa a 200 °C per 8 ore al fine di eliminare eventuali VOC presenti, conservare in un recipiente a chiusura ermetica.

6.6. Soluzioni di riferimento

6.6.1. Soluzione primaria di riferimento di benzene (2000 mg/L)

La soluzione viene preparata in laboratorio a partire dal composto puro. In un matraccio tarato da 100 mL, riempito con circa 50 mL di metanolo (6.2.), pesare 200 mg del composto puro (6.3.). Portare a volume con metanolo, omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C.

La soluzione primaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto, certificata, del composto in esame. Le soluzioni di benzene conservate come sopra in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo, sono stabili per 12 mesi.

6.6.2. Soluzione primaria di riferimento dello standard interno (2000 mg/L)

La soluzione viene preparata in laboratorio a partire dal composto puro (6.4.). In un matraccio tarato da 100 mL, riempito con circa 50 mL di metanolo (6.2.), pesare 200 mg del composto scelto come standard interno. Portare a volume con metanolo, omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. La soluzione primaria di riferimento dello standard interno può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto, certificata.

Le soluzioni del riferimento interno, conservate come sopra in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo, sono stabili per 12 mesi.

6.6.3. Soluzione secondaria di riferimento del benzene (20 mg/L)

In un matraccio tarato da 10 mL, riempito con circa 5 mL di metanolo (6.2.), introdurre, con una microsiringa 100 µL della soluzione (6.6.1.). Portare a volume con metanolo, omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. Questa soluzione può essere preparata con un solo composto di riferimento, il benzene, oppure con la stessa modalità, anche con altri VOC che si vogliono dosare ottenendo una soluzione secondaria di riferimento mista, contenente più componenti di riferimento. Le soluzioni in metanolo con concentrazione di 20 mg/L, conservate in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo alla temperatura di 5 ± 3 °C, sono stabili per 1 mese.

La soluzione secondaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto certificata del composto o dei composti in esame.

6.6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente lo standard interno

In un matraccio tarato da 10 mL, riempito con circa 5 mL di metanolo (6.2.) introdurre con una microsiringa un volume noto della soluzione (6.6.2.). Portare a volume con metanolo (6.2.), omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. La soluzione secondaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale, a titolo noto certificata. Le soluzioni, conservate in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo alla temperatura di 5 ± 3 °C sono stabili per 1 mese.

6.6.5. Soluzione di benzene in metanolo 500 µg/L (o diversa concentrazione)

La soluzione da preparare deve essere scelta dall'operatore in funzione delle diverse condizioni operative. In un matraccio tarato da 20 mL, introdurre circa 15 mL di metanolo (6.2.) e aggiungere con una microsiringa 0,5 mL della soluzione (6.6.3). Portare a volume e omogeneizzare. Questa soluzione deve essere preparata al momento dell'uso.

6.6.6. Soluzioni di lavoro per la taratura strumentale

Preparare almeno tre diverse soluzioni di riferimento aggiungendo tramite microsiringhe volumi diversi della soluzione (6.6.5.) in un volume noto di acqua (6.1.2.). Le soluzioni di lavoro, da cui ricavare le curve di taratura per il benzene, vanno preparate in modo che le quantità di analita eventualmente presenti nei campioni reali cadano nell'intervallo di concentrazione prescelto, adottando come concentrazione inferiore il limite di quantificazione. Le soluzioni di lavoro devono essere preparate immediatamente prima dell'impiego. Si consiglia la preparazione direttamente nei *vial* utilizzati per l'analisi al fine di evitare eventuali perdite di analita nello spazio di testa durante il travaso delle soluzioni.

Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno è necessario aggiungere un'aliquota, nota e costante, della soluzione (6.6.4.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Predisporre il sistema (eventuale autocampionatore, gascromatografo con rivelatore a spettrometria di massa, sistema di acquisizione ed elaborazione dati) al funzionamento seguendo le indicazioni descritte nei manuali forniti dalle case costruttrici, settando i parametri di funzionamento in modo da ottimizzare le condizioni operative in funzione del dispositivo utilizzato.

7.2. Preparazione dei campioni

Nel caso il prelievo sia stato effettuato nelle bottiglie da 100 mL (5.2.) occorre trasferire il campione negli appositi *vial* per spazio di testa. Estrarre le bottiglie dal frigorifero, attendere il raggiungimento della temperatura ambiente, trasferire seguendo gli accorgimenti descritti in (4.) l'aliquota di campione nel *vial* (previa aggiunta opzionale di sodio cloruro), tappare immediatamente.

Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno è necessario aggiungere un'aliquota della soluzione (6.6.4.): il dosaggio del volume di standard interno deve essere estremamente riproducibile al fine di ottenere la medesima concentrazione in tutte le soluzioni analizzate (bianchi, standard di riferimento per taratura e controllo, campioni).

7.3. Taratura

Analizzare ciascuna soluzione di lavoro (6.6.6.) applicando il procedimento di seguito descritto.

Dopo aver predisposto la strumentazione secondo le modalità operative prescelte, introdurre i *vial* contenenti le soluzioni di taratura nell'autocampionatore del sistema spazio di testa, seguendo l'ordine di analisi di concentrazioni crescente, ponendo un bianco di controllo subito dopo la soluzione più concentrata al fine di valutare la possibilità di effetto memoria del sistema. Le condizioni di lavoro per l'analisi mediante spazio di testa possono essere ottimizzate in funzione della strumentazione disponibile e della matrice analizzata intervenendo su alcune variabili strumentali: in Tabella 1 sono indicate, a titolo esemplificativo, le condizioni di lavoro tipiche.

Utilizzando software strumentali in dotazione è possibile effettuare la registrazione, il trattamento dei dati analitici, la costruzione delle curve di taratura, l'elaborazione dei dati dei campioni incogniti e l'emissione dei risultati in modo automatizzato.

Nel caso si utilizzi il sistema di elaborazione dati manuale occorre annotare le aree dell'analita (per il benzene relative al frammento con m/z 78) di standard, campioni e dell'eventuale standard interno e procedere all'elaborazione dei dati: Costruire la curva di taratura riportando in ascissa le concentrazioni delle soluzioni di lavoro (6.6.6.) espresse in $\mu\text{g/L}$ e in ordinata le corrispondenti aree

dei picchi dell'analita in esame; se si è utilizzato lo standard interno in ordinata vanno riportati i rapporti area picco analita/area picco standard interno.

La curva di taratura è accettabile quando fornisce un $R^2 > 0,99$.

Date le caratteristiche dinamiche della tecnica strumentale utilizzata è difficile che la risposta strumentale si mantenga costante nel tempo, si rende necessario verificare ad intervalli regolari, la validità della curva di taratura per mezzo di una o più soluzioni di controllo scelte all'interno del campo di misura, inserite all'inizio e/o alla fine di ogni sequenza di campioni in analisi. Il controllo risulta accettabile se la concentrazione degli analiti non si scosta più del 25% dal valore nominale; in caso contrario procedere alla costruzione di una nuova curva di taratura valutando le possibili cause dello scostamento rilevato.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative per l'analisi mediante spazio di testa dinamico

Gas di trasporto	He
Colonna, flusso in colonna	DB 624: 20 m – 0,18 mm – 1 μ m ; 30 cm/sec, 0.46 mL/min
Volume campione nel <i>vial</i>	15 mL in <i>vial</i> da 20 mL
Programma T	35 °C 0,5 min– 10 °C/min fino a 135 °C – 20 °C/min fino a 215 °C – 2.5 min
T iniettore, transferline, sorgente	90 °C, 200 °C, 200 °C (ionizzazione a impatto elettronico)
Mass Range	Benzene: ioni acquisiti m/z 78, 77 e 51.
Liner	Liner in vetro a tubo dritto, diametro interno 0,75 mm
Split ratio	1
Rivelatore	MSD (quadrupolo) in modalità SIM
Tuning	Effettuato prima di ogni ciclo di analisi, calibrato su masse basse
Termostatazione	Termostatazione dei <i>vial</i> a 80 °C per 15 minuti, agitazione orbitale 250 giri/min
Iniezione	Siringa a tenuta di gas da 2,5 mL, riscaldata a 90 °C. Iniezione di 1 mL di spazio di testa a 0,2 mL/sec.
Pulizia	Pulizia siringa tramite flussaggio con azoto per 30 sec a 50 mL/min circa.

7.4. Controllo del bianco

Ad ogni sessione di analisi è necessario controllare 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 del benzene o di altri composti volatili nel bianco sono superiori al livello minimo di quantificazione, è necessario individuare ed eliminare la causa di contaminazione prima di riprendere le determinazioni analitiche. Generalmente la verifica del bianco viene effettuata ad ogni inizio di sequenza delle analisi e immediatamente dopo l'analisi delle soluzioni di taratura e/o controllo.

7.5. Dosaggio del campione

Eeguire l'analisi dei campioni seguendo la procedura (7.2.) e applicando le stesse condizioni operative utilizzate per la costruzione delle curve di taratura.

Identificare il benzene e gli eventuali altri VOC eventualmente presenti nel campione sia tramite confronto dei tempi di ritenzione dei picchi cromatografici del campione con le soluzioni di taratura, sia, per il benzene, tramite rapporto percentuale degli ioni acquisiti caratteristici: m/z 78 principale, utilizzato per la quantificazione, m/z 77 in rapporto del 28% rispetto al m/z 78, m/z 51 in rapporto del 22% rispetto al m/z 78, con tolleranza del 20% sui rapporti.

Misurare le aree dei picchi degli analiti e dello standard interno. Per l'analisi quantitativa è opportuno lavorare in modalità SIM.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dai valori delle aree dei picchi cromatografici calcolare la concentrazione dei composti identificati utilizzando le curve di taratura (7.3).

Accertarsi che la concentrazione del campione cada all'interno dell'intervallo di taratura. Qualora le concentrazioni degli analiti risultino superiori a tale intervallo, conviene adattare fin quanto possibile la curva di taratura utilizzando soluzioni di lavoro (6.6.6.) al cui interno possa essere compreso il risultato ottenuto, ricorrendo alla diluizione del campione solo nei casi di necessità.

In caso di diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Espressione dei risultati

La concentrazione del benzene o di altri VOC nel campione va espressa in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Benzene	≤25	≤25	≤ 0,25

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 5140: Solventi organici aromatici (spazio di testa statico +GC-FID; spazio di testa dinamico+GC-FID). Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

Static Headspace Gas-Chromatography, Theory and Practice, Second Edition, B.Kolbe, L.S.Ettre, Wiley VCH.

BENZENE: METODO GASCROMATOGRAFICO APPLICATO ALLO SPAZIO DI TESTA DINAMICO ISS.CAD.004.REV00

0. Generalità e definizioni

Il benzene fa parte dei composti organici volatili (VOC), un'ampia classe di composti caratterizzati da un'elevata tensione di vapore.

Il benzene ha una particolare rilevanza dal punto di vista igienico-sanitario in quanto è un riconosciuto cancerogeno per la salute umana.

Il benzene è utilizzato in campo industriale e nei prodotti petroliferi, in particolare, nelle benzine. La presenza del benzene nell'ecosistema acquatico è legata a perdite che si possono verificare durante le fasi di trasporto e stoccaggio dei prodotti derivati dal petrolio, oppure a scarichi industriali.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il campo di misura del metodo dipende da molte variabili strumentali e dai volumi impiegati: il metodo consente comunque di rivelare concentrazioni almeno fino a 0,1 µg/L.

2. Principio del metodo

Il metodo permette la determinazione del benzene e di altri VOC mediante analisi gascromatografica accoppiata alla tecnica dello spazio di testa dinamico ("Purge and trap") utilizzando come rivelatore uno spettrometro di massa (o anche altri, quali PID o FID, verificando che siano garantite le prestazioni indicate al punto 9).

Il benzene e gli altri VOC, poco solubili in acqua, possono essere estratti dalla matrice acquosa attraverso il gorgogliamento di un gas inerte in un determinato volume di campione (purging). I composti così estratti vengono intrappolati in un apposito materiale adsorbente (trapping). Terminata l'estrazione, la trappola viene riscaldata e gli analiti sono trascinati da un flusso di gas inerte in testa alla colonna cromatografica, separati e quindi rivelati. L'identificazione avviene per confronto, con soluzioni di taratura, dei tempi di ritenzione e, nel caso di utilizzo di un rivelatore di massa, degli ioni caratteristici dei singoli componenti mentre la quantificazione si esegue per confronto tra le aree dei picchi ottenuti iniettando il campione e le aree dei picchi ottenuti dalle soluzioni di taratura.

3. Interferenze e cause di errore

Composti organici volatili diversi dagli analiti in esame possono avere tempi di ritenzione e ioni casualmente coincidenti e sono quindi da considerare interferenti. L'utilizzo di un rivelatore selettivo come lo spettrometro di massa consente di evitare o ridurre l'interferenza; altrimenti si può ripetere la determinazione analitica dopo aver modificato le condizioni cromatografiche (temperatura, lunghezza della colonna, fase stazionaria, etc.). Le colonne capillari consentono di ottenere, generalmente, una

buona sensibilità e affidabilità nella determinazione dell'analita in oggetto. L'uso di tali colonne permette una buona separazione dei picchi delle sostanze da analizzare da quelli delle sostanze interferenti. Occorre individuare il miglior compromesso tra risoluzione, durata dell'analisi e sensibilità.

Solventi, reagenti, vetreria e contaminazione dell'ambiente di lavoro possono essere causa di falsi positivi e risulta necessario l'utilizzo di prove in bianco per garantire l'assenza di tali interferenze.

4. Campionamento e conservazione del campione

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.

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Per il prelievo dell'acqua utilizzare bottiglie di vetro, chiuse con tappo a vite inerte, accuratamente pulite per evitare contaminazioni del campione. Prima del riempimento è necessario avvinare bene le bottiglie con l'acqua da campionare. Non filtrare l'acqua ed evitare ogni operazione che faciliti il degasaggio dei composti organici volatili disciolti. Riempire il recipiente fino all'orlo e tappare subito evitando di lasciare spazi gassosi nei quali possano passare i composti più volatili che andrebbero perduti all'apertura del recipiente, con conseguente stima per difetto del reale contenuto degli analiti studiati. I campioni durante il trasporto dal luogo di prelievo al laboratorio devono essere conservati in condizioni refrigerate.

In alternativa, il campionamento può essere effettuato direttamente nelle *vial* (5.3.) idonee per l'autocampionatore (5.8.4.) eventualmente utilizzato.

Le analisi devono essere effettuate al più presto, in ogni caso entro 72 ore dal prelievo, conservando nel frattempo il campione tra 1 e 10 °C.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

Lavare tutta la vetreria con un detergente e risciacquarla abbondantemente con acqua (6.1.1.) e successivamente con acqua (6.1.2.). Asciugare riscaldando in stufa (5.7.) ad una temperatura compresa tra 150 °C e 200 °C per almeno 2-3 ore. 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.).

5.2. Bottiglie di vetro con tappo a vite di capacità almeno pari a 100 mL

5.3. *Vial* (flaconcini) in vetro di idonea capacità, con chiusura ermetica a vite e guarnizione in teflon (per l'eventuale autocampionatore)

5.4. Microsiringhe

Per il prelievo quantitativo di piccoli volumi durante la preparazione delle soluzioni di riferimento è consigliabile l'impiego di microsiringhe tarate, lavate accuratamente con metanolo (6.2). 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 (6.1.1.) prelevate con tali dispositivi.
Per l'iniezione manuale di aliquote di gas nel gascromatografo utilizzare microsiringhe tarate e a tenuta di gas.

5.5. Bilancia tecnica - precisione 0,1 g

5.6. Bilancia analitica - precisione 0,1 mg

5.7. Stufa

Stufa munita di termostato capace di mantenere costante la temperatura prefissata entro l'ambito di $\pm 20^{\circ}\text{C}$.

5.8. Strumentazione analitica e accessori

Gascromatografo accoppiato allo spettrometro di massa (o anche altro rivelatore, quali PID o FID, purché garantite le prestazioni indicate al punto 9).

- 5.8.1. Colonna cromatografica capillare in silice fusa con fase stazionaria apolare o mediamente polare, di opportuna lunghezza e diametro interno, e spessore di fase non inferiore ad $1\ \mu\text{m}$.
- 5.8.2. Sistema di acquisizione dei dati.
- 5.8.3. Sistema "Purge and trap" costituito da una unità che consenta l'estrazione dalla fase acquosa dei composti organici volatili per gorgogliamento di un gas inerte all'interno del campione (purging device), da una trappola adsorbente, da una linea di trasferimento termostata (transfer line) per l'invio degli analiti desorbiti in testa alla colonna gascromatografica.
- 5.8.4. Autocampionatore (eventuale) per l'introduzione in automatico delle soluzioni di taratura e dei campioni nel dispositivo "Purge and trap" (5.8.4.).
- 5.8.5. Gas di trasporto (elio o idrogeno), gas di estrazione dello spazio di testa (elio). Utilizzare gas di elevata purezza filtrati attraverso una trappola a carbone attivo e, eventualmente, una a setacci molecolari; può rendersi necessaria anche l'eliminazione di tracce di ossigeno mediante opportuna trappola.

6. Reagenti e materiali di riferimento

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 benzene e VOC. 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 ($60-70^{\circ}\text{C}$ per almeno 1 h) in corrente di azoto ($150-200\ \text{mL/min}$) filtrato su GAC.

6.2. 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

6.3. Benzene (e altri VOC)

Utilizzare un prodotto di elevata purezza, certificata, per la preparazione delle soluzioni di taratura.

6.4. Standard interno

L'utilizzo di uno standard interno consente di eliminare gli errori dovuti alle fluttuazioni della quantità iniettata e della risposta strumentale. Affinché un determinato composto possa essere utilizzato come standard interno deve:

- avere un comportamento chimico-fisico simile alla sostanza in esame
- non essere presente nei campioni reali
- essere stabile e inerte nei confronti dei composti da determinare
- dare una risposta al rivelatore impiegato
- avere un tempo di ritenzione compreso nell'intervallo dei tempi di ritenzione dei composti da determinare
- essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze da determinare.

A causa di tali limitazioni, non è possibile individuare un'unica sostanza come standard interno. E' necessario scegliere caso per caso il composto più idoneo a tale utilizzo. Per la determinazione del benzene si segnalano i seguenti standard interni: il trifluorobenzene (C₆H₆F₃), il fluorobenzene (C₆H₅F) o il benzene-d₆ (C₆D₆).

Utilizzare prodotti di elevata purezza, certificata, per la preparazione delle soluzioni di riferimento interno.

6.5. Soluzioni di riferimento

6.5.1. Soluzione primaria di riferimento di benzene (2000 mg/L).

La soluzione viene preparata in laboratorio a partire dal composto puro. In un matraccio tarato da 100 mL, riempito con circa 50 mL di metanolo (6.2.), pesare 200 mg del composto puro (6.3.). Portare a volume con metanolo, omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C.

La soluzione primaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto, certificata, del composto in esame.

Come per il benzene, per ogni altro VOC che si vuole dosare si può procedere allo stesso modo per preparare la soluzione primaria di riferimento.

Le soluzioni del benzene e degli altri VOC, conservate come sopra in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo, sono stabili per 12 mesi.

6.5.2. Soluzione primaria di riferimento dello standard interno (2000 mg/L).

La soluzione viene preparata in laboratorio a partire dal composto puro (6.4.). In un matraccio tarato da 100 mL, riempito con circa 50 mL di metanolo (6.2.), pesare 200 mg del composto scelto come standard interno. Portare a volume con metanolo, omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. La soluzione primaria di riferimento dello standard interno può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto, certificato.

Le soluzioni del riferimento interno, conservate come sopra in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo, sono stabili per 12 mesi.

6.5.3. Soluzione secondaria di riferimento del benzene (20 mg/L).

In un matraccio tarato da 10 mL, riempito con circa 5 mL di metanolo (6.2.), introdurre, con una microsiringa 100 µL della soluzione (6.5.1.). Portare a volume con metanolo,

omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. Questa soluzione può essere preparata con un solo composto di riferimento, il benzene, oppure con la stessa modalità, anche con altri VOC che si vogliono dosare ottenendo una soluzione secondaria di riferimento mista, contenente più componenti di riferimento. Le soluzioni in metanolo con concentrazione di 20 mg/L, conservate in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo alla temperatura di 5 ± 3 °C, sono stabili per 1 mese.

La soluzione secondaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale a titolo noto certificato del composto o dei composti in esame.

6.5.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente lo standard interno.

In un matraccio tarato da 10 mL, riempito con circa 5 mL di metanolo (6.2.) introdurre con una microsiringa un volume noto della soluzione (6.5.2.). Portare a volume con metanolo (6.2.), omogeneizzare e conservare la soluzione al riparo dalla luce e alla temperatura di 5 ± 3 °C. La soluzione secondaria di riferimento può essere sostituita da una soluzione commerciale, a titolo noto certificato. Le soluzioni, conservate in opportuni *vial* riempiti fino all'orlo alla temperatura di 5 ± 3 °C sono stabili per 1 mese.

6.5.5. Soluzione di benzene in metanolo 500 µg/L (o diversa concentrazione).

La soluzione da preparare deve essere scelta dall'operatore in funzione delle diverse condizioni operative. In un matraccio tarato da 20 mL, introdurre circa 15 mL di metanolo (6.2.) e aggiungere con una microsiringa 0,5 mL della soluzione (6.5.3). Portare a volume e omogeneizzare.

Questa soluzione deve essere preparata al momento dell'uso.

6.5.6. Soluzioni di lavoro per la taratura.

Preparare almeno tre diverse soluzioni di riferimento in acqua aggiungendo volumi diversi della soluzione (6.5.5.) in un volume noto di acqua (6.1.2.). Le soluzioni di lavoro, da cui ricavare le curve di taratura per i singoli composti da dosare, vanno preparate in modo che le quantità degli analiti eventualmente presenti nei campioni reali cadano nell'intervallo di concentrazione prescelto. Le soluzioni di lavoro devono essere preparate immediatamente prima dell'impiego.

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari

Predisporre il sistema (eventuale autocampionatore, Purge & Trap, GC-MS) al funzionamento seguendo le indicazioni descritte nei manuali forniti dalle case costruttrici. Ottimizzare le condizioni operative in funzione del dispositivo utilizzato e dei composti da esaminare.

7.2. Taratura

Analizzare ciascuna soluzione di lavoro (6.5.6.) applicando il procedimento di seguito descritto. Introdurre il volume prescelto della soluzione acquosa di lavoro da analizzare manualmente, o mediante autocampionatore, nel dispositivo "Purge and trap" (5.8.4.). Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno aggiungere un'aliquota, nota e costante, della soluzione (6.5.4.). Attivare il dispositivo che consente l'estrazione, l'intrappolamento, il desorbimento e la eventuale crio-focalizzazione dei composti volatili in testa alla colonna cromatografica e predisporre il GC-MS secondo le modalità operative prescelte. Le condizioni di lavoro per l'analisi mediante spazio di testa dinamico possono essere ottimizzate dagli operatori in funzione della strumentazione disponibile e della matrice analizzata intervenendo su molteplici variabili strumentali: in Tabella 1 sono indicate, a titolo esemplificativo, condizioni di lavoro tipiche.

Per la rivelazione del benzene e di altri VOC contenuti nelle soluzioni di taratura possono essere impiegati uno spettrometro di massa o anche altri rivelatori verificando che siano garantite le prestazioni indicate al punto 9. Costruire la curva di taratura riportando in ascissa le concentrazioni

delle soluzioni di lavoro (6.5.6.) espresse in $\mu\text{g/L}$ e in ordinata le corrispondenti aree dei picchi dell'analita in esame; se si è utilizzato lo standard interno in ordinata vanno riportati i rapporti area picco analita/area picco standard interno

La curva di taratura è accettabile quando fornisce un $R^2 > 0,99$. La sua stabilità è verificata per mezzo di soluzioni di controllo scelte all'interno del campo di misura, inserite ad esempio ogni 10 campioni e comunque all'inizio e/o alla fine della sequenza di analisi. Il controllo risulta accettabile se la concentrazione degli analiti non si scosta più del 25 % dal valore nominale; in caso contrario procedere alla costruzione di una nuova curva di taratura e comunque valutare le possibili cause dello scostamento rilevato.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative per l'analisi mediante spazio di testa dinamico

Gas di trasporto	He
Colonna, flusso in colonna	DB 624: 60 m – 0,25 mm – 1,4 μm ; 1,2 mL/min
Volume campione in Purge	5 mL
Programma T	35 °C 5 min–8 °C/min fino a 90 °C–6 °C/min fino a 200 °C –200 °C 5 min
T iniettore, transferline, sorgente	250 °C, 110 °C, 230 °C (ionizzazione a impatto elettronico, EI)
Scan. Mass Range	40-265 amu
Split ratio	10
Rivelatore, T,	MSD (quadrupolo), 150 °C
Tuning	Effettuato prima di ogni ciclo di analisi, calibrato su masse basse
Temperatura iniziale trappola	25 °C - Una temperatura bassa garantisce una migliore possibilità di intrappolamento per gli analiti, soprattutto quelli più volatili
Purge	In questa fase il gas passa attraverso il campione, contenuto in apposita ampolla e gorgoglia alcuni minuti trasferendo gli analiti alla trappola; tempo di gorgogliamento consigliato: 12 minuti; flusso 40 mL/min
Dry Purge	Serve a rimuovere l'acqua o l'eventuale umidità dalla trappola. Durata: 2-4 minuti
Desorb preheat	È usato per riscaldare la trappola ad alta temperatura in modo che gli analiti vengano rilasciati dall'adsorbente: in questa fase non vi è flusso di gas; temperatura consigliata 225 °C
Desorbimento	Gli analiti vengono desorbiti dalla trappola da parte del "carrier gas" e trasferiti al gascromatografo; in questa fase, della durata di circa 4 minuti, la temperatura consigliata è di 235 °C
Pulizia	In questa fase, in cui il gas passa attraverso il sistema per rimuovere eventuali residui di analiti e tracce di umidità rimaste nel sistema, la trappola è portata ad alta temperatura (250 °C) per un tempo di almeno 10 minuti. Dopo questa fase si ritorna alle condizioni di "stand by"
Trappola	Tenax oppure carbone o altri materiali adsorbenti o loro miscele

7.3. Controllo del bianco

Ad ogni sessione di analisi è necessario controllare 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 del benzene o di altri composti volatili nel bianco sono superiori al livello minimo di quantificazione, è necessario individuare ed eliminare la causa di contaminazione prima di riprendere le determinazioni analitiche. Generalmente la verifica del bianco viene effettuata ad ogni inizio di sequenza delle analisi e immediatamente dopo l'analisi delle soluzioni di taratura e/o controllo.

7.4. Dosaggio del campione

All'inizio e/o alla fine di ogni sessione di analisi verificare il processo utilizzando almeno una delle soluzioni acquose di lavoro (6.5.6.) ad una concentrazione compresa nel campo di misura (controllo di batch).

Eseguire l'analisi dei campioni di acqua seguendo la procedura (7.2.) applicando le stesse condizioni operative utilizzate per la costruzione delle curve di taratura. Nel caso in cui si applichi il metodo dello standard interno aggiungere un'aliquota della soluzione (6.5.4.): il dosaggio del volume di standard interno deve essere estremamente riproducibile al fine di ottenere la medesima concentrazione in tutte le soluzioni analizzate (bianchi, soluzioni di riferimento per taratura e controllo, campioni). Identificare i diversi composti presenti nel campione confrontando i tempi di ritenzione dei picchi cromatografici del campione e delle soluzioni di taratura ma anche gli ioni caratteristici degli analiti e misurare le aree di ciascun picco.

Per l'identificazione degli analiti contenuti nei campioni reali è da preferire l'acquisizione in modalità SCAN (in modalità SIM si rende necessaria l'acquisizione di più ioni caratteristici per ogni analita in modo da poter accertare il riconoscimento dal rapporto percentuale di questi). Per la quantificazione invece conviene operare in modalità SIM utilizzando gli ioni più abbondanti: nel caso del benzene lo ione target è quello con m/z 78.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

Dai valori delle aree dei picchi cromatografici calcolare la concentrazione dei composti identificati utilizzando le curve di taratura (7.2).

Accertarsi che la concentrazione del campione cada all'interno dell'intervallo di taratura. Qualora le concentrazioni degli analiti risultino superiori a tale intervallo, conviene adattare fin quanto possibile la curva di taratura utilizzando soluzioni di lavoro (6.5.6.) al cui interno possa essere compreso il risultato ottenuto, ricorrendo alla diluizione del campione solo nei casi di necessità.

In caso di diluizione, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

8.2. Espressione dei risultati

La concentrazione del benzene o di altri VOC nel campione va espressa in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Benzene	≤ 25	≤ 25	$\leq 0,25$

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 5140: Solventi organici aromatici (spazio di testa statico +GC-FID; spazio di testa dinamico+GC-FID). Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

U.S Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Lab. Method 502.2: *Volatile organic compounds in water by purge and trap capillary column gas chromatography with photo ionization and electronic conductivity detectors in series.* In: Methods for the determination of organic compounds in finishing drinking water and raw source water. Cincinnati, Ohio: 1991.

U.S Environmental Protection Agency. National Exposure Research Laboratory Office of Research and development. Method 524.2: *Measurement of purgeable organic compounds in water by capillary column chromatography/mass spectrometry.* Cincinnati, Ohio: 1995.

ACRILAMMIDE: METODO PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA - SPETTROMETRIA DI MASSA (LC-MS)

ISS.CBA.001.REV00

0. Generalità e definizioni

L'acrilammide (2,3-propenamamide) è una amide insatura impiegata come monomero nella produzione di polimeri e copolimeri idrosolubili tra i quali flocculanti poliacrilamidici che trovano un limitato impiego nel trattamento chimico-fisico di potabilizzazione delle acque destinate al consumo umano. La presenza dell'acrilammide in acqua può essere ricondotta a fenomeni di cessione del monomero residuo della lavorazione industriale da parte del materiale polimerico a contatto.

L'acrilammide è stata inclusa dallo IARC nel Gruppo 2A in quanto considerata "probabile cancerogeno" per l'uomo. La normativa nazionale vigente in attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano stabilisce per l'acrilammide un valore di parametro pari a 0,10 µg/L.

Una stima della quantità potenzialmente massima di acrilammide riscontrabile in acqua per migrazione totale della sostanza presente nel materiale polimerico può essere effettuata utilizzando il metodo ISS.XAA.001.revXX

Il presente metodo consente la determinazione dell'acrilammide per LC-MS, previa estrazione dell'analita dal campione mediante SPE (solid phase extraction) su cartucce di carbone attivo.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,02 e 2,0 µg/L. Concentrazioni superiori possono essere determinate previa diluizione del campione.

2. Principio del metodo

Con il metodo descritto il campione di prova, del volume non inferiore a 500 mL, viene inizialmente sottoposto ad estrazione in fase solida utilizzando, come materiale adsorbente, carbone attivo in particelle sferiche per la preconcentrazione della acrilammide. L'analita viene successivamente separato, rivelato e quantificato mediante LC-MS impiegando come sistema di rivelazione uno spettrometro di massa a singolo quadrupolo, equipaggiato con una interfaccia a pressione atmosferica. La misura si basa sull'intensità della risposta dello ione molecolare protonato $[M+H]^+$ dell'analita monitorando il segnale a m/z 72.

La conferma può essere effettuata, sottoponendo lo ione molecolare protonato a dissociazione indotta da collisione (CID, Collision Induced Dissociation) nella sorgente dello spettrometro nel caso di strumenti a singolo quadrupolo, o in cella di collisione, in apparecchi a triplo quadrupolo, e rilevando l'intensità dello ione frammento monitorando il segnale a m/z 55.

Come standard di processo viene utilizzata la $[^2H^3]$ acrilammide (acrilammide trideuterata), monitorando il segnale m/z 75 (ione molecolare protonato) e, per conferma, il segnale dello ione frammento a m/z 58.

3. Interferenze e cause di errore

Non sono state evidenziate sostanze interferenti nelle matrici oggetto di indagine.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

4.1. Bianco campione

Come bianco campione si intende un campione di natura identica a quella del campione correntemente oggetto di analisi – nella fattispecie acqua destinata a consumo umano – ma virtualmente privo dell'analita. Bianchi campione da utilizzare nella preparazione di campioni fortificati possono essere ottenuti utilizzando acqua di rubinetto in cui sia comunque verificata l'assenza di tracce di analita.

I bianchi campione possono essere utilizzati per:

- verificare la specificità del metodo;
- controlli di qualità;
- preparazione di campioni fortificati.

4.2. Raccolta dei campioni di prova

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Il prelievo per l'analisi dell'acrilammide deve essere eseguito utilizzando contenitori in vetro, prelevando una quantità minima di 500 mL di acqua, generalmente 1 L.

4.3. Conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

I campioni devono essere conservati ad una temperatura di 1-10 °C e risultano stabili per almeno 15 giorni.

5. Materiali e apparecchiature

5.1. Vetreria, materiali e attrezzatura di base

Attrezzatura di uso comune in laboratorio, e:

- 5.1.1. Bottiglie in vetro da 1 L
- 5.1.2. Imbuti separatori in FEP (fluorinated ethylene propylene) con chiusura in ETFE (ethylenetetrafluoro ethylene copolymer)
- 5.1.3. Microsiringhe in vetro da 100 µL, 500 µL e 1000 µL
- 5.1.4. Cartucce per SPE riempite con 500 mg di carbone attivo in particelle sferiche, superficie specifica 1300 m²/g, densità 0,40 g/mL.
- 5.1.5. Sistema di evaporazione sotto flusso di azoto
- 5.1.6. Sistema di produzione acqua ultrapura, qualora non venga utilizzata acqua uso HPLC in confezioni pronte all'uso
- 5.1.7. *Vial* in FEP da 20 mL

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso, prima del loro uso, devono essere accuratamente lavati con detergenti per vetreria e risciacquati in successione con acqua di rubinetto e acqua (6.1.1).

A.5.2. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo liquido accoppiato allo spettrometro di massa a singolo quadrupolo costituito in sequenza da:

- 5.2.1. pompa HPLC per eluizione isocratica ternaria equipaggiata di sistema di iniezione a valvola, utilizzando microsiringhe (5.1.3.) con *loop* interno da 20 μ L;
- 5.2.2. colonna a esclusione ionica (250 x 9 mm I.D. 7,5 μ m);
- 5.2.3. analizzatore di massa a singolo quadrupolo equipaggiato con sorgente a pressione atmosferica del tipo TIS (turboionspray); l'utilizzo di sorgenti di differenti tipologie può comportare un processo di ottimizzazione dei parametri fisici e strumentali;
- 5.2.4. sistema di acquisizione ed elaborazioni dati.

6. Reagenti e materiali di riferimento

6.1. Reagenti

Utilizzare reagenti di grado HPLC o superiore

- 6.1.1. Acqua ultrapura esente da tracce di analita
- 6.1.2. Acetonitrile
- 6.1.3. Acido formico (d = 1,22 g/mL)
- 6.1.4. Metanolo
- 6.1.5. Isopropanolo
- 6.1.6. Soluzione di acrilammide stabilizzata in idrochinone (1g/L) o acrilammide in polvere ($\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$) (purezza > 99%)
- 6.1.7. Soluzione di [2H3] acrilammide in metanolo, stabilizzata in idrochinone (1g/L) o [2H3] acrilammide in polvere (purezza > 99%)
- 6.1.8. Azoto o argon

6.2. Fase mobile

6.2.1. Soluzione di acido formico 0,1 M

Prelevare un volume di acido formico (6.1.3) di 3,77 mL pari a 0,10 moli, trasferire quantitativamente in pallone tarato da 1,000 L e portare a volume con acqua ultrapura (6.1.1).

6.2.2. Fase mobile

Viene preparata miscelando acetonitrile (6.1.2), acqua (6.1.1) e acido formico 0,1 M (6.2.1) in rapporto: 43:52:5 (v/v/v).

6.3. Materiali di riferimento

6.3.1. Soluzioni primarie

6.3.1.1. Soluzione primaria di acrilammide

Si consiglia di utilizzare come soluzione primaria una soluzione di riferimento a titolo noto reperibile in commercio. In particolare è disponibile una soluzione di acrilammide (6.1.6) in metanolo, stabilizzata in idrochinone (1 g/L).

In alternativa sciogliere 1 g di acrilammide (6.1.6) in un matraccio da 1 L e portare a volume con metanolo (6.1.4).

Dopo la preparazione le soluzioni sono conservate a 5 ± 3 °C in bottiglie di vetro chiuse e sono stabili per almeno 2 mesi.

6.3.1.2. Soluzione primaria di [$^2\text{H}_3$]acrilammide

Si consiglia di utilizzare come soluzione primaria una soluzione di riferimento a titolo noto reperibile in commercio. In particolare è disponibile una soluzione di [$^2\text{H}_3$]acrilammide (6.1.7) in metanolo, stabilizzata in idrochinone (1 g/L).

In alternativa sciogliere 1 g di [$^2\text{H}_3$]acrilammide (6.1.7.) in un matraccio da 1L e portare a volume con metanolo (6.1.4.).

Dopo la preparazione le soluzioni sono conservate a 5 ± 3 °C in bottiglie di vetro chiuse e sono stabili per almeno 2 mesi.

6.3.2. Soluzioni di lavoro di acrilammide e di [$^2\text{H}_3$]acrilammide

6.3.2.1. Soluzioni di lavoro di acrilammide

Possono essere utilizzate:

- per la preparazione delle curve di taratura;
- per essere addizionate al bianco campione per la verifica di specificità, recupero e precisione del metodo;
- per essere addizionate ad estratti per co-cromatografia.
- Sono preparate in metanolo (6.1.4) prelevando opportuni volumi di soluzione primaria (6.3.1.1) e diluendo in volumi appropriati con metanolo (6.1.4) - eventualmente con più diluizioni successive - al fine di ottenere la concentrazione di interesse.

6.3.2.2. Soluzione di lavoro di [$^2\text{H}_3$]acrilammide (200 $\mu\text{g/L}$)

Trasferire 200 μL della soluzione (6.3.2.) in un pallone tarato da 1 L e portare a volume con metanolo (6.1.4).

7.0. Preparazione dei campioni di prova, bianchi campione, campioni per la curva di taratura

7.1. Preparazione del campione di prova

7.1.1. Trasferire 500 mL di campione (4.3) in un imbuto separatore (5.1.2).

7.1.2. Aggiungere 0,5 mL di soluzione di lavoro di [$^2\text{H}_3$]acrilammide (200 $\mu\text{g/L}$) (6.3.2.2) pari a 100 ng di [$^2\text{H}_3$]acrilammide (6.1.7) miscelando accuratamente.

7.1.3. Condizionare una cartuccia (5.1.4) con 8 mL di metanolo (6.1.4) e 8 mL di acqua (6.1.1).

7.1.4. Far passare il campione (7.1.2) attraverso la cartuccia ad un flusso di 5 mL/min, scartando il percolato.

7.1.5. Lavare la cartuccia con 1 mL di acqua (6.1.1) mantenendo un flusso di 5 mL/min, scartando il percolato.

7.1.6. Eluire gli analiti trattenuti dalla fase stazionaria (7.1.5) mediante 5 aliquote successive di metanolo da 2 mL ciascuna, ad un flusso di 5 mL/min, recuperando gli eluati e riunendoli in un *vial* (5.1.7).

7.1.7. Concentrare l'eluato (7.1.6) con flusso di gas inerte azoto/argon (6.1.8.) fino al volume finale di 1 mL.

7.1.8. Prelevare un aliquota dell'estratto (7.1.7) con microsiringa da 100 μL (5.1.3) e iniettare in LC-MS (5.2).

7.2. Preparazione del bianco campione

7.2.1. Prelevare una aliquota di bianco campione (4.1) di 500 mL.

7.2.2. Procedere secondo quanto descritto ai punti 7.1.2–7.1.8

7.3. Preparazione dei campioni per la curva di taratura

7.3.1. Predisporre un numero di imbuti separatori pari ai livelli di taratura considerati e, in ciascun imbuto, trasferire 500 mL di bianco campione (4.1).

7.3.2. Aggiungere a ciascun bianco campione (7.3.1) un volume di soluzione di lavoro di acrilammide (6.3.2.1), tale da ottenere il livello di concentrazione prefissato per ogni livello di taratura; ad esempio per una taratura a 5 livelli possono essere prestabiliti campioni per la taratura aventi concentrazioni teoriche pari a 0,05 µg/L, 0,1 µg/L, 0,25 µg/L, 0,5 µg/L, 1,0 µg/L.

7.3.3. Procedere secondo quanto descritto ai punti 7.1.2–7.1.7

7.3.4. Prelevare una aliquota di estratto per ciascun campione di taratura (7.3.3) con microsiringa da 100 µL (5.1.3) e iniettare in LC-MS (5.2)

8. Analisi LC-MS

8.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo le procedure operative specifiche o le indicazioni fornite dai manuali d'uso. In particolare:

8.1.1. ottimizzare i parametri funzionali dello spettrometro di massa e assicurare la corretta taratura delle masse;

8.1.2. assicurarsi che lo strumento raggiunga l'equilibrio e scegliere un fondo scala compatibile con la concentrazione degli ioni da determinare.

8.2. Condizioni operative strumentali

Per le determinazioni in LC-MS predisporre la valvola di iniezione in modo da iniettare nel sistema un volume fisso pari a 20 µL dell'estratto concentrato (7.1, 7.2 o 7.3) e impostare le condizioni strumentali idonee allo scopo riportate, a titolo di esempio, in Tabella 1.

Tabella 1. Esempio di condizioni strumentali

Analita	Condizioni MS					Condizioni LC
	MIM ¹ (m/z)	PD ²	FP ³	EP ⁴	TIS ⁵	
AA	72 ⁶	12,0	150,0	9,0	voltage: +5000V Curtain gas flow: 8 u.a. ⁸ Nebulizer gas flow: 8 u. a. ⁸	Colonna: Dionex IonPack ICE-AS1 (250 x 9mm I.D. 7.5 µm) a esclusione ionica o analoga Fase mobile: acido formico 5.0 mM in acetonitrile-acqua (43:57, v/v); Flusso 0,80 mL/min; split 1/10
	55 ⁷	55,0	100,0	4,5		
[² H ₃]AA	75 ⁶	12,0	150,0	9,0	Turbo-gas flow: 30 u.a. ⁸	
	58 ⁷	55,0	100,0	4,5		

¹MIM: Multiple Ion Monitoring; ²DP: declustering potential; ³FP: focusing potential; ⁴EP: entrance potential; ⁵TIS: Turbo ionspray; ⁶ione precursore, [M+H]⁺; ⁷ione frammento diagnostico; ⁸u. a: unità arbitrarie

8.3. Costruzione della curva di taratura

- 8.3.1. Analizzare i diversi campioni di taratura (7.3), iniettando una aliquota da 20 µL di ciascuna soluzione (7.3.4) per ciascun livello di taratura prefissato.
- 8.3.2. Analizzare mediante LC-MS, e tabulare il valore del rapporto tra l'area prodotta dallo ione selezionato per l'acrilammide e l'area prodotta dallo ione selezionato per lo standard di processo ($A_{\text{acrilammide}} / A_{\text{standard di processo}}$) in corrispondenza di ogni livello di concentrazione di acrilammide.
- 8.3.3. Con l'ausilio di un programma dedicato (o di idonee espressioni matematiche) determinare con il metodo dei minimi quadrati, per l'intervallo lineare della curva individuato per es. con il metodo dei residui, l'equazione della retta di taratura

$$Y = a \cdot X + b$$

dove $Y = A_{\text{acrilammide}} / A_{\text{standard di processo}}$, $X =$ concentrazione di acrilammide espressa in µg/L, $a =$ coefficiente angolare a valore noto, $b =$ intercetta sull'asse delle Y , a valore noto.

Data la variabilità conseguente alla dipendenza dalle condizioni cromatografiche, verificare periodicamente la validità dell'equazione corrispondente alla retta di taratura, ricavata con il metodo dei minimi quadrati, processando e analizzando due suoi punti.

- 8.3.4. Il coefficiente di correlazione "r", nell'intervallo lineare della curva di taratura, deve essere $\geq 0,98$.
- 8.3.5. Memorizzare i dati di taratura nel metodo cromatografico residente sul sistema di gestione (5.2.4).

8.4. Controllo del bianco

Secondo quanto predisposto nell'ambito delle procedure di controllo qualità (ISS.PGA.903.revXX) controllare una aliquota di bianco campione (7.2) sottoponendola alla stessa procedura analitica prevista per il campione, allo scopo di individuare gli eventuali interferenti presenti nel tracciato cromatografico nell'intorno del tempo di ritenzione degli analiti da ricercare.

8.5. Determinazione LC-MS su campioni di prova

8.5.1. Identificazione dell'analita

L'identificazione dell'analita deve basarsi sul tempo di ritenzione e sulla sua massa molecolare. I dati sull'identificazione dell'analita devono essere ottenuti per confronto - in identiche condizioni sperimentali - tra il tempo di ritenzione cromatografico relativo per lo/gli ione/i diagnostico/i riferiti al campione in esame e il tempo di ritenzione cromatografico relativo per lo/gli ione/i diagnostico/i riferiti all'ultima soluzione di riferimento.

Per acquisizioni in SIM, dovranno essere anche osservati i rapporti tra gli ioni diagnostici.

In Figura 1 è riportato un cromatogramma rappresentativo ottenuto dall'analisi LC-MS di un campione addizionato con acrilammide.

8.5.2. Analisi quantitativa in LC-MS

- 8.5.2.1. Analizzare ciascuna aliquota di estratto oggetto di indagine (7.1.8).
- 8.5.2.2. Dedurre il valore incognito della concentrazione X della acrilammide nel campione di prova mediante un programma dedicato oppure sostituendo nella equazione della retta di taratura (8.3.3) il valore della Y ottenuto sperimentalmente per il campione processato.
- 8.5.2.3. Il valore della Y nel campione di prova deve sempre cadere all'interno dell'intervallo di linearità o riportato in esso per opportuna diluizione del campione.
- 8.5.2.4. Espressione dei risultati: i risultati, espressi in microgrammi per litro (µg/L), vengono riportati con una cifra significativa per concentrazioni $\geq 1,0$ µg/L e con due cifre significative per concentrazioni $< 1,0$ µg/L.

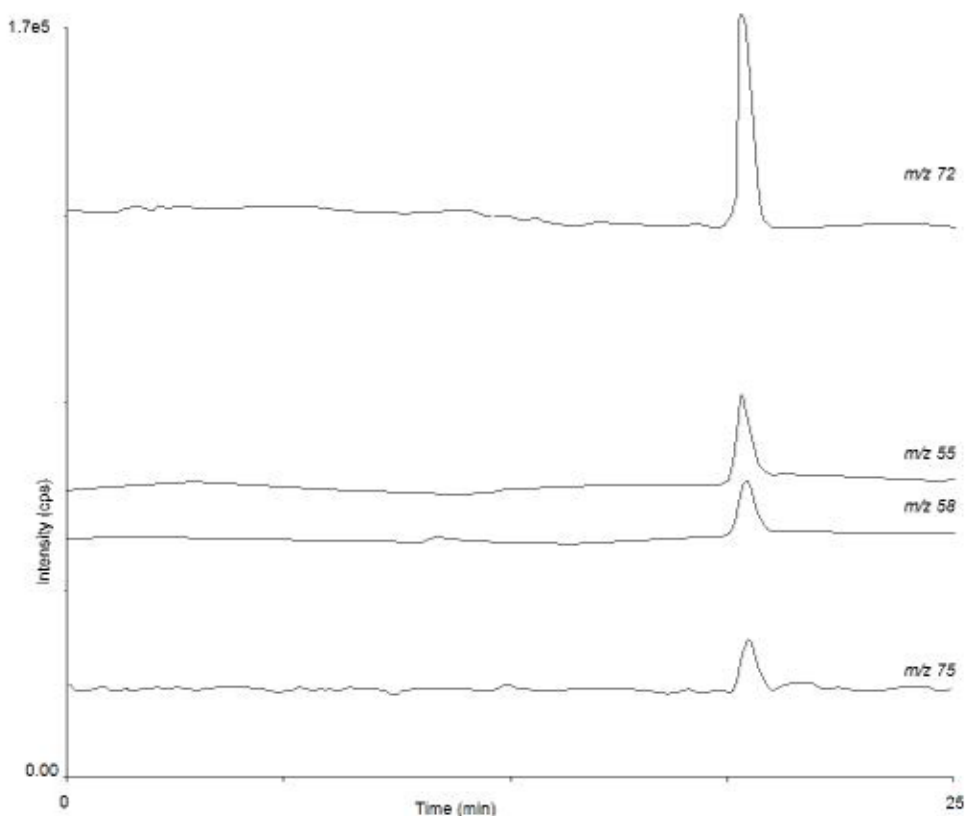


Figura 1. Cromatogramma rappresentativo di un campione addizionato di standard di acrilammide e di $[^2\text{H}_3]$ acrilammide (standard di processo)

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base di prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

In particolare i valori di recupero ottenuto sono generalmente superiori al 90% e la precisione (espressa come deviazione standard relativa in condizioni di riproducibilità) risulta inferiore al 15%.

Il metodo presenta un limite di rivelabilità di 0.02 $\mu\text{g/L}$.

10. Misure di sicurezza

Adottare le idonee misure di protezione individuale tenendo conto delle seguenti indicazioni.

- La sostanza può essere assorbita dall'organismo per inalazione, attraverso la cute e per ingestione.
- L'evaporazione a 20 °C è trascurabile; una concentrazione dannosa di particelle aerodisperse può tuttavia essere raggiunta rapidamente.
- La sostanza è irritante per gli occhi, la cute e il tratto respiratorio.
- La sostanza può avere effetto sul sistema nervoso, causando danni ai nervi periferici.

– La sostanza è probabilmente cancerogena per l'uomo.

La possibilità di formare una miscela esplosiva con l'aria, da parte delle particelle di acrilammide finemente disperse, ne impone la conservazione in un locale isolato, fresco e bene aerato e la custodia lontano da sostanze ossidanti.

Bibliografia

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006

MICROCISTINE: METODO PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA - SPETTROMETRIA DI MASSA (LC-MS)

ISS.CBA.044.REV00

0. Generalità e definizioni

L'utilizzo di acque superficiali da destinare al consumo umano può comportare alcune problematiche di carattere sanitario legate alla presenza di cianobatteri. Questi ultimi, noti anche come alghe verde-azzurre, sono batteri fotosintetici Gram-negativi, caratterizzati da un'elevata variabilità morfologica (forma unicellulare, coloniale, filamentosa) e dimensionale (da organismi unicellulari con diametro < 1 µm a forme filamentose di lunghezza fino a qualche mm).

La presenza e proliferazione di cianobatteri è frequente in bacini lacustri, bacini di stoccaggio artificiale e serbatoi naturali che presentino condizioni caratterizzate da un'elevata irradiazione e temperatura, bassa turbolenza, alta concentrazione di nutrienti.

La rilevanza igienico-sanitaria dei fenomeni di diffusione di cianobatteri in acque da destinare a consumo umano è connessa alla capacità, da parte di alcune specie, di produrre metaboliti tossici (cianotossine) potenzialmente trasferibili all'uomo anche attraverso il consumo di acqua contaminata. Sono riconosciute tossiche più di cinquanta specie di cianobatteri; tra i generi maggiormente coinvolti nella produzione di cianotossine figurano *Microcystis*, *Nodularia*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Cylindrospermopsis*.

Le cianotossine ad oggi identificate, si differenziano in base al loro meccanismo d'azione in:

- epatotossine (microcistine e nodularine), hanno la capacità di inibire le fosfatasi PP1 e 2A, con conseguente iperfosforilazione proteica a livello del citoscheletro degli epatociti; l'ingestione sistematica di tali tossine è correlata a fenomeni di infiammazione e degenerazione degli epatociti;
- neurotossine (anatotossine e saxitossine), agiscono sul sistema neuromuscolare, bloccando la trasmissione nervosa attraverso differenti meccanismi;
- citotossine (cilindrospermopsina), agiscono a livello di diversi organi bersaglio come inibitori della sintesi proteica;
- dermatotossine (lyngbyatossina A, aplysiatossina e lipopolisaccaridi), causano irritazione della pelle e delle mucose inibendo la sintesi proteica.

Le cianotossine presenti in un corpo idrico sono principalmente contenute all'interno delle cellule produttrici (tossine intracellulari); tuttavia elevate concentrazioni di tossine possono essere rilasciate in acqua soprattutto a seguito di senescenza e lisi cellulare (tossine extracellulari o libere).

Il rischio associato alla presenza di cianotossine nelle acque destinate al consumo umano può essere notevolmente ridotto mediante rimozione o filtrazione delle biomasse algali presenti nelle acque, mentre l'utilizzo di trattamenti con agenti ossidanti (es. cloro od ozono) responsabili di lisi cellulare potrebbe aumentare il rilascio degli agenti tossici in forma libera all'interno del corpo idrico e di conseguenza il rischio di contaminazione per l'uomo. Tuttavia gli stessi trattamenti di potabilizzazione che vengono effettuati prima della distribuzione sono generalmente efficaci per una sostanziale rimozione sia delle cellule che delle cianotossine presenti.

Tra le cianotossine, le microcistine (MCs) rappresentano le tossine più ampiamente distribuite e maggiormente implicate negli episodi di carattere sanitario riscontrati finora.

Le MCs sono eptapeptidi monociclici a basso peso molecolare caratterizzati dalla presenza di un aminoacido idrofobico, l'ADDA (acido 3-ammino, 9-metossi, 2,6,8-trimetil, 10-fenildeca, 4,6-dienico). I numerosi congeneri di MCs, caratterizzati da proprietà tossicologiche notevolmente diverse, si differenziano fondamentalmente a livello di due aminoacidi sui quali è anche basata la nomenclatura delle MCs.

Sebbene ad oggi siano stati identificati più di 80 congeneri di MCs, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha stabilito una concentrazione limite provvisoria per le acque destinate al consumo umano solo per la MC-LR, il composto ritenuto più diffuso e tossico, i cui aminoacidi sostituenti

sono rispettivamente leucina e arginina. Sulla base dei dati tossicologici disponibili (*Tolerable Daily Intake*, TDI di 0,04 µg/kg pc/giorno) l'OMS ha fissato per la MC-LR un valore guida di 1,0 µg/L. In considerazione della scarsa attendibilità di un approccio indiretto per la sorveglianza delle cianotossine nel corpo idrico basato sul controllo di parametri quali nutrienti e/o densità di cianobatteri, numerosi Paesi anche all'interno dell'UE, prevedono il monitoraggio delle microcistine nelle acque, con un valore di parametro per la MC-LR basato sulle indicazioni dell'OMS.

Per la determinazione delle MCs nelle acque sono attualmente disponibili metodi immunologici (cfr. metodo ISS.BGA.044.revXX), principalmente utilizzati per fini di screening e metodi di conferma basati sull'accoppiamento cromatografia liquida-spettrometria di massa.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, le acque di piscina e quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Il limite di rivelabilità è compreso nell'intervallo 0,01-0,04 µg/L.

2. Principio del metodo

La determinazione di microcistine nei campioni d'acqua prevede l'impiego di procedure di estrazione differenti a seconda degli analiti da rilevare, in particolare:

- estrazione delle tossine intracellulari o legate. Questo tipo di estrazione prevede lisi cellulare mediante l'impiego di ultrasuoni in presenza di solvente organico (procedura estrattiva A) per liberare le tossine intracellulari e rimuovere le cellule lisate;
- estrazione delle tossine extracellulari o libere e isolamento degli analiti mediante SPE (solid phase extraction) (procedura estrattiva B).
- abbinando le procedure estrattive A e B, si può ottenere la liberazione del contenuto di tossine intracellulari e la successiva estrazione degli analiti dalla matrice acquosa, determinando così il contenuto di tossine totale del campione.

L'identificazione e la quantificazione delle tossine è quindi ottenuta mediante separazione cromatografica in fase inversa e rivelazione in spettrometria di massa mediante ionizzazione a temperatura ambiente e pressione atmosferica (API) con interfaccia Turbo Ionspray (TIS) o sistema equivalente.

3. Prelievo e conservazione dei campioni

3.1. Bianco campione

Per "bianco campione" si intende un campione costituito dalla stessa matrice avente caratteristiche analoghe al campione oggetto di indagine – in questo caso si tratterà di una aliquota di acqua da destinare o destinata al consumo umano – ma privo dell'analita.

I bianchi campione possono essere ottenuti utilizzando acqua di rubinetto previa rimozione dei residui di agenti disinfettanti, in particolare il cloro, che agiscono come ossidanti nei confronti delle MCs abbattendone i contenuti; la rimozione del cloro residuo può essere ottenuta per trattamento con una soluzione di sodio tiosolfato (preparata disciogliendo 1 g di sodio tiosolfato in 100 mL di acqua deionizzata), aggiungendo 100 µL di tale soluzione di sodio tiosolfato per ogni litro di acqua da trattare.

I bianchi campione possono essere utilizzati:

- per verificare la specificità del metodo;
- per controlli di qualità;
- per la preparazione di campioni fortificati.

3.2. Raccolta dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Come contenitori per il prelievo sono indicate bottiglie di polietilene o vetro scuro (4.1.1) lavate con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1).

Nel caso di prelievi da cisterne, pozzi o invasi, il campionamento deve essere eseguito prelevando un volume pari a 1 L ad una profondità compresa tra 0 e 1 m.

Campionamenti di acqua possono essere effettuati anche all'interno dei sistemi di distribuzione o da rubinetti di utenza; in questi casi è necessario tenere presente che il trattamento delle acque, quali sedimentazioni, filtrazioni, flocculazioni e/o disinfezioni – in particolare la presenza di cloro libero residuo nelle acque distribuite –, determina una sensibile riduzione del contenuto di tossine.

3.3. Conservazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in bottiglie di polietilene o vetro (4.1.1) al buio e alla temperatura di 1-10 °C per prevenire la degradazione degli analiti dovuta all'azione di luce e agenti microbiologici. In queste condizioni la conservazione è limitata ad un tempo massimo di 24 h; per periodi di conservazione più lunghi sarà necessario il congelamento dei campioni.

Da tenere presente che tale procedura comporta il rilascio delle tossine dalle cellule (tossine intracellulari).

4. Materiali e apparecchiature

4.1. Attrezzature di uso comune di laboratorio

- 4.1.1. Bottiglie in polietilene o vetro da 1 L resistenti al congelamento
- 4.1.2. Filtri di carta
- 4.1.3. Filtri di fibra di vetro del tipo Whatman GFA (diametro 47 mm, diametro pori 1,6 µm) o analoghi
- 4.1.4. Matracci tarati in vetro di classe A
- 4.1.5. Microsiringhe in vetro da 100 µL e 200 µL
- 4.1.6. Pipette in vetro di classe A
- 4.1.7. *Vial* in vetro con tappo a vite da 1, 2 e 10 mL
- 4.1.8. Bagno ad ultrasuoni
- 4.1.9. Sistema di filtrazione in vetro o materiale plastico autoclavabile o monouso completo di pompa da vuoto
- 4.1.10. Centrifuga
- 4.1.11. Sistema di evaporazione sotto flusso di azoto
- 4.1.12. Sonicatore a sonda (per procedura estrattiva A)
- 4.1.13. cartucce C₁₈ contenenti 1 g di fase stazionaria (per procedura estrattiva B).

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso, prima del loro impiego devono essere accuratamente lavati con detergenti per vetreria e risciacquati con acqua di rubinetto e con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1).

4.2. Strumentazione analitica e accessori

Cromatografo liquido accoppiato allo spettrometro di massa a singolo o triplo quadrupolo costituito in sequenza, da:

- 4.2.1. Sistema di eluizione HPLC a gradiente ternario.
- 4.2.2. Sistema di iniezione a valvola, utilizzando microsiringhe (4.1.5) con *loop* interno da 20 μL
- 4.2.3. Colonna C_{18} del tipo SGE GmbH Germany (250 • 4,6 mm) o SS Wakosil II C_{18}RS 5 μm *i.d.* o analoghe.
- 4.2.4. Analizzatore di massa a singolo quadrupolo del tipo API 150EX (PE-Sciex, Thornhill, Ontario, Canada) equipaggiato con sorgente di ioni a pressione atmosferica (API, Atmospheric Pressure Ionisation) e interfaccia *Turbo Ionspray* (TIS) o sistema analogo; per la conferma degli analiti, mediante dissociazione indotta da collisione (CID, Collision Induced Dissociation) con produzione di ioni frammento, possono anche essere utilizzati sistemi a triplo quadrupolo.
- 4.2.5. Sistema di acquisizione ed elaborazione dati

5. Reagenti e materiali di riferimento

5.1. Reagenti

Tutti i reagenti sono di grado ultrapuro.

- 5.1.1. acqua ultrapura (resistenza $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, TOC $\geq 2 \text{ ng/L}$);
- 5.1.2. acetonitrile;
- 5.1.3. acido formico;
- 5.1.4. metanolo;
- 5.1.5. acido trifluoroacetico (TFA);

5.1.1. Reagenti in soluzione acquosa

5.1.1.1. Acido formico in soluzione acquosa al 1% (v/v)

Prelevare 1 mL di acido formico e portare a volume ad 1 L in un matraccio tarato da 1 L (4.1.4) con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1). La soluzione deve essere preparata giornalmente.

5.1.1.2. Metanolo, soluzione acquosa

- al 5% (v/v): prelevare 5 mL di metanolo e portare a volume in un matraccio tarato da 100 mL (4.1.4) con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1). La soluzione deve essere preparata giornalmente. (procedura estrattiva di tipo B)
- al 15% (v/v): prelevare 15 mL di metanolo e portare a volume in un matraccio tarato da 100 mL (4.1.4) con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1). La soluzione deve essere preparata giornalmente (procedura estrattiva di tipo B)
- al 25% (v/v): prelevare 25 mL di metanolo e portare a volume in un matraccio tarato da 100 mL (4.1.4) con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1). La soluzione deve essere preparata giornalmente (procedura estrattiva di tipo B)
- al 50% (v/v): prelevare 50 mL di metanolo e portare a volume in un matraccio tarato da 100 mL (4.1.4) con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita (5.1.1). La soluzione deve essere preparata giornalmente

5.1.1.3. Metanolo allo 0,1 % (v/v) di acido trifluoroacetico

prelevare 100 μL di acido trifluoroacetico (5.1.5) e portare a volume con metanolo in un matraccio tarato da 100 mL.

5.2. Fase mobile

Le separazioni LC-MS sono realizzate in gradiente ternario utilizzando una fase mobile costituita dai seguenti eluenti:

5.2.1. Solvente A: soluzione acquosa allo 1% acido formico (v/v) (5.1.6.1)

5.2.2. Solvente B: acetonitrile (5.1.2)

5.2.3. Solvente C: acqua ultrapura (4.1.11)

5.3. Materiali di riferimento

5.3.1. Soluzioni primarie di riferimento

Per la preparazione devono essere utilizzati materiali standard di cianotossine al più elevato grado di purezza disponibile in commercio.

Il reperimento di standard di microcistine è sottoposto a regolamentazione internazionale sulla commercializzazione di agenti biologici che costituiscono un rischio per l'operatore; tale regolamentazione prevede l'assunzione di responsabilità nell'acquisto e utilizzo e una dichiarazione di destinazione d'uso, e comporta generalmente tempi di approvvigionamento dell'ordine di alcuni mesi. Per ogni principio attivo (anatosina-a, nodularina, microcistina-LR, microcistina-RR, microcistina-LF) disponibile sul mercato in forma solida o in soluzione, deve essere preparata, mediante opportuna solubilizzazione o diluizione con metanolo, una soluzione primaria di riferimento in concentrazione idonea, per es. pari a 10 µg/mL.

Dopo la preparazione le soluzioni primarie di riferimento sono conservate tra +1 e +10 °C in bottiglie di vetro chiuse e sono stabili per almeno 2 mesi.

Prelevando un'idonea aliquota da ogni soluzione primaria, riunendo le aliquote e diluendo in opportuno volume, si ottengono le soluzioni secondarie di riferimento composite (5.3.2).

5.3.2. Soluzioni secondarie di riferimento composite

Le soluzioni secondarie di riferimento composite contenenti una miscela di anatosina-a, nodularina, microcistina-LR, microcistina-RR, microcistina-LF in concentrazione nota vengono utilizzate per la preparazione delle curve di taratura.

La preparazione delle soluzioni secondarie di riferimento composite viene eseguita sulla base dello schema riportato in Tabella 1 operando come segue:

5.3.2.1. per ciascun livello di taratura (colonna A) da ciascuna soluzione primaria individuale di tossina viene prelevato un volume di soluzione primaria di riferimento (5.3.1), pari a quanto indicato in colonna B.

5.3.2.2. le diverse aliquote di soluzione primaria (5.3.2.1) sono riunite in una *vial* da 1 mL (4.1.6); si diluisce, ove necessario, la miscela così ottenuta con metanolo al volume finale indicato in colonna D ottenendo una soluzione composita di tossine, di concentrazione pari a quanto riportato in colonna E, per ciascun livello di taratura (colonna A).

Tabella 1. Esempio di uno schema di preparazione delle soluzioni secondarie di riferimento

A	B	C	D	E	F	G
Livello	Prelievo da soluzione primaria di riferimento (5.3.1)		Volume finale	Concentrazione soluzione iniettata	Quantità iniettata	Concentrazione corrispondente nel campione*
	(mL)	(ng)	(mL)	(µg/mL)	(ng)	(µg/mL)
1	0,02	0,2	1,0	0,2	4	0,08
2	0,05	0,5	0,5	1,0	20	0,40
3	0,08	0,8	0,5	1,6	32	0,64
4	0,10	1,0	0,5	2,0	40	0,80

* valore teorico ottenuto per calcolo sulla base della procedura estrattiva adottata nel metodo

6. Procedura

6.1. Preparazione del campione

6.1.1. Procedura estrattiva A (estrazione delle tossine intracellulari o legate)

- 6.1.1.1. Prelevare una aliquota di 500 mL di campione (3.2)
- 6.1.1.2. Trasferire il campione nel sistema di filtrazione sotto vuoto (4.1.9.)
- 6.1.1.3. Filtrare il campione utilizzando filtro in fibra di vetro (4.1.3) (depressione ca. 40 KPa, 350 mm Hg) e sottoporlo ad 1 ciclo di congelamento e scongelamento al fine di favorire la lisi cellulare.
- 6.1.1.4. Procedere alla estrazione delle cianotossine dalle cellule algali, ponendo il filtro in un beaker da 10 mL in presenza di 2 mL di una miscela acqua-metanolo (50:50, v/v) (5.1.1.2), mediante sonicazione per 3 min in bagno ultrasonico (4.1.8).
- 6.1.1.5. Sonicare per altri 3 min con un sistema di sonicazione a sonda (4.1.12).
- 6.1.1.6. Centrifugare l'estratto a 10'000 g x 5 min (4.1.10).
- 6.1.1.7. Portare a secco sotto flusso di azoto (4.1.11).
- 6.1.1.8. Ricostituire il residuo con 200 µL di miscela acqua-metanolo (50:50, v/v) (5.1.1.2).
- 6.1.1.9. Prelevare una aliquota dell'estratto ricostituito (6.1.1.8) con microsiringa (4.1.5), e sottoporre ad esame mediante LC-MS.

6.1.2. Procedura estrattiva B (estrazione delle tossine extracellulari o libere)

- 6.1.2.1. Prelevare una aliquota di 500 mL di campione (3.2) eventualmente filtrando su carta (4.1.2) nel caso di campioni particolarmente torbidi, al fine di favorire la successiva estrazione in fase solida (SPE).
- 6.1.2.2. Attivare la cartuccia SPE (4.1.13) con 6 mL di acqua (5.1.1) e 6 mL di metanolo (5.1.4)
- 6.1.2.4. Passare il campione (6.1.2.1) su cartuccia SPE (4.1.13) eliminando l'eluato
- 6.1.2.5. Lavare la cartuccia con 3 successivi passaggi da 10 mL di soluzioni acquose di metanolo al 5%, 15% e 25% (v/v) (5.1.1.2)
- 6.1.2.6. Eluire in *vial* da 10 mL (4.1.7) con 6 mL di metanolo al 0,1% (v/v) TFA (5.1.1.3)
- 6.1.2.7. Portare a secco sotto flusso di azoto (4.1.11)
- 6.1.2.8. Riprendere il residuo con 200 µL di miscela acqua-metanolo (50:50, v/v) (5.1.1.2).
- 6.1.2.9. Prelevare una aliquota dell'estratto (6.1.2.8.) con microsiringa (4.1.5.), e sottoporre ad esame mediante LC-MS.

6.1.3. Procedura estrattiva per la determinazione del contenuto totale di tossina (intracellulare + extracellulare)

- 6.1.3.1. Eseguire le operazioni descritte dal punto 6.1.1.1 al punto 6.1.1.5 al fine di ottenere il rilascio delle tossine intracellulari nella matrice acquosa
- 6.1.3.2. Eseguire le operazioni sull'estratto descritte dal punto 6.1.2.2 al punto 6.1.2.8 al fine di estrarre e preconcentrare le tossine presenti in soluzione nella matrice acquosa
- 6.1.3.3. Prelevare una aliquota dell'estratto (6.1.3.2) con microsiringa (4.1.5.), e sottoporre ad esame mediante LC-MS.

6.2. Analisi LC-MS

6.2.1. Operazioni preliminari

Attivare l'apparecchiatura e predisporla al funzionamento secondo le procedure operative specifiche o le indicazioni fornite dai manuali d'uso. In particolare:

- 6.2.1.1. ottimizzare i parametri funzionali dello spettrometro di massa e assicurare la corretta taratura delle masse;
- 6.2.1.2. assicurarsi che lo strumento raggiunga l'equilibrio e scegliere un fondo scala compatibile con la concentrazione degli ioni da determinare.

6.2.2. Verifiche dei parametri della MS mediante prove in flow injection analysis (FIA)

Tali prove devono essere condotte in fase di prima adozione del metodo e quando il metodo non è adottato su base di routine.

- 6.2.2.1. impostare le condizioni operative per la MS riportate in tabella 2 operando in flow injection analysis (FIA) e adottando la fase mobile: solvente A (5.2.1) : solvente B (5.2.2) : solvente C (5.2.3), 10:80:10 (v/v/v), ad un flusso di 0,8 mL/min
- 6.2.2.2. procedere ad analisi in FIA-MS adottando le condizioni sopra riportate (6.2.1), settando i parametri MS secondo quanto indicato in tabella 2 e iniettando (4.2.2) una aliquota di 20 µL di metanolo (5.1.4) alternata all'iniezione di una aliquota di 20 µL di soluzione primaria di riferimento (5.3.1) per ciascuna tossina.
- 6.2.2.3 operare acquisizioni in scansione totale (full-scan) nei seguenti intervalli di massa: anatossina- a m/z 156÷176; microcistina-RR, m/z 510÷530; nodularina, m/z 815÷835; microcistina-LF, m/z 976÷986; microcistina-LR, m/z 985÷1005 e monitorare i seguenti ioni diagnostici protonati per ciascuna tossina:

anatossina-a:	166,0 [M+H] ⁺
microcistina-RR:	520,0 [M+2H] ²⁺
nodularina:	825,5 [M+H] ⁺
microcistina-LF:	986,5 [M+H] ⁺
microcistina-LR:	995,5 [M+H] ⁺

6.2.3. Costruzione della curva di taratura

- 6.2.3.1. Iniettare 20 µL di ciascuna soluzione di taratura (5.3.2), per ciascun diverso livello di taratura.
- 6.2.3.2. Analizzare mediante LC-MS, e tabulare il valore dell'area prodotta dallo ione selezionato (6.2.2.3) per la singola microcistina in corrispondenza di ogni livello di concentrazione.
- 6.2.3.3. Con l'ausilio di un programma dedicato (o di idonee espressioni matematiche) determinare con il metodo dei minimi quadrati, per l'intervallo lineare della curva individuato per es. con il metodo dei residui, l'equazione della retta di taratura

$$Y = a \cdot X + b$$

dove Y = area ione selezionato, X = concentrazione di microcistina, a = coefficiente angolare a valore noto, b = intercetta sull'asse delle Y, a valore noto.

Data la variabilità conseguente alla dipendenza dalle condizioni cromatografiche, verificare periodicamente la validità dell'equazione corrispondente alla retta di taratura, ricavata con il metodo dei minimi quadrati, processando e analizzando due suoi punti.

- 6.2.3.4. Il coefficiente di correlazione "r", nell'intervallo lineare della curva di taratura, deve essere ≥ 0,98).
- 6.2.3.5. Memorizzare i dati di taratura nel sistema di gestione (4.2.5).

6.2.4. Controllo del bianco

Secondo quanto predisposto nell'ambito delle procedure di controllo qualità (ISS.PGA.903.revXX) controllare un'aliquota di bianco campione (3.1) sottoponendola alla stessa procedura analitica prevista per il campione, allo scopo di individuare gli eventuali interferenti presenti nel tracciato cromatografico nell'intorno del tempo di ritenzione degli analiti da ricercare.

6.2.5. Analisi LC-MS

6.2.5.1. Identificazione dell'analita

L'identificazione dell'analita deve basarsi sul tempo di ritenzione e sulla sua massa molecolare. I dati sull'identificazione dell'analita devono essere ottenuti per confronto, in identiche condizioni sperimentali, tra il tempo di ritenzione cromatografico per lo/gli ione/i diagnostico/i riferiti al campione in esame e il tempo di ritenzione cromatografico per lo/gli ione/i diagnostico/i riferiti all'ultima soluzione di riferimento (5.3.2).

Per acquisizioni in SIM, dovranno essere anche osservati i rapporti tra gli ioni diagnostici.

In figura 1 è riportato un cromatogramma rappresentativo ottenuto dall'analisi LC-MS di un campione bianco e dello stesso campione addizionato di una miscela di anatossina-a, nodularina, microcistina-LR, microcistina-RR e microcistina-LF.

6.2.5.2. Quantificazione dell'analita

6.2.5.2.1. Analizzare gli estratti (6.1.1.9, 6.1.2.9 o 6.1.3.3).

6.2.5.2.2. Dedurre il valore incognito della concentrazione X di microcistina nel campione di prova mediante un programma dedicato oppure sostituendo nella equazione della retta di taratura (6.2.3.3.) il valore della Y ottenuto sperimentalmente per il campione processato.

6.2.5.2.3. Il valore della Y nel campione di prova deve sempre cadere all'interno dell'intervallo di linearità o riportato in esso per opportuna diluizione del campione (6.1.1.9, 6.1.2.9 o 6.1.3.3).

6.2.5.2.4. Espressione dei risultati

I risultati, espressi in microgrammi per litro ($\mu\text{g/L}$), vengono riportati con una cifra significativa per concentrazioni $\geq 1,0 \mu\text{g/L}$ e con due cifre significative per concentrazioni $< 1,0 \mu\text{g/L}$.

Tabella 2. Esempio di condizioni strumentali

Analita	Condizioni MS					Condizioni LC
	MIM ¹ (m/z)	DP ²	FP ³	EP ⁴	TIS ⁵	
Anatossina-a	166,0 ⁶	36	210	-7,0	TIS voltaggio: + 5000 V <i>Curtain gas</i> flusso: 8 u.a. ⁸ <i>Nebulizer gas</i> flusso: 8 u. a. ⁸ Turbo-gas flusso: 30 u.a. ⁸	Colonna tipo SGE o SS Wakosil II C ₁₈ RS SGE GmbH (250 × 4,6 mm) Fase mobile: 1% ac. formico (solvente A), acetonitrile (solvente B), acqua (solvente C). Eluizione a gradiente lineare: 0 min: 10%A, 20%B, 70%C; 10÷15 min: 10% A, 80% B, 10% C; 20 min: 10% A, 20% B, 70% C. Flusso: 0,8 mL/min
Microcistina-RR	520,0 ⁷	36	200	-10,5		
Nodularina	825,5 ⁶	41	240	-10,5		
Microcistina-LF	986,5 ⁶	41	220	-10,0		
Microcistina-LR	995,5 ⁶	146	370	-7,0		

¹MIM: *Multiple Ion Monitoring*; ²DP: *declustering potential*; ³FP: *focusing potential*; ⁴EP: *entrance potential*; ⁵TIS: *Turbo ionspray*; ⁶[M+H]⁺; ⁷[M+2H]²⁺; ⁸u.a: unità arbitrarie

7. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo ottenute mediante prove intralaboratorio indicano valori di recupero superiori allo 85% e una precisione inferiore al 10% per tutti gli analiti oggetto di indagine. Il limite di rivelabilità è compreso nell'intervallo 0,01-0,04 $\mu\text{g/L}$.

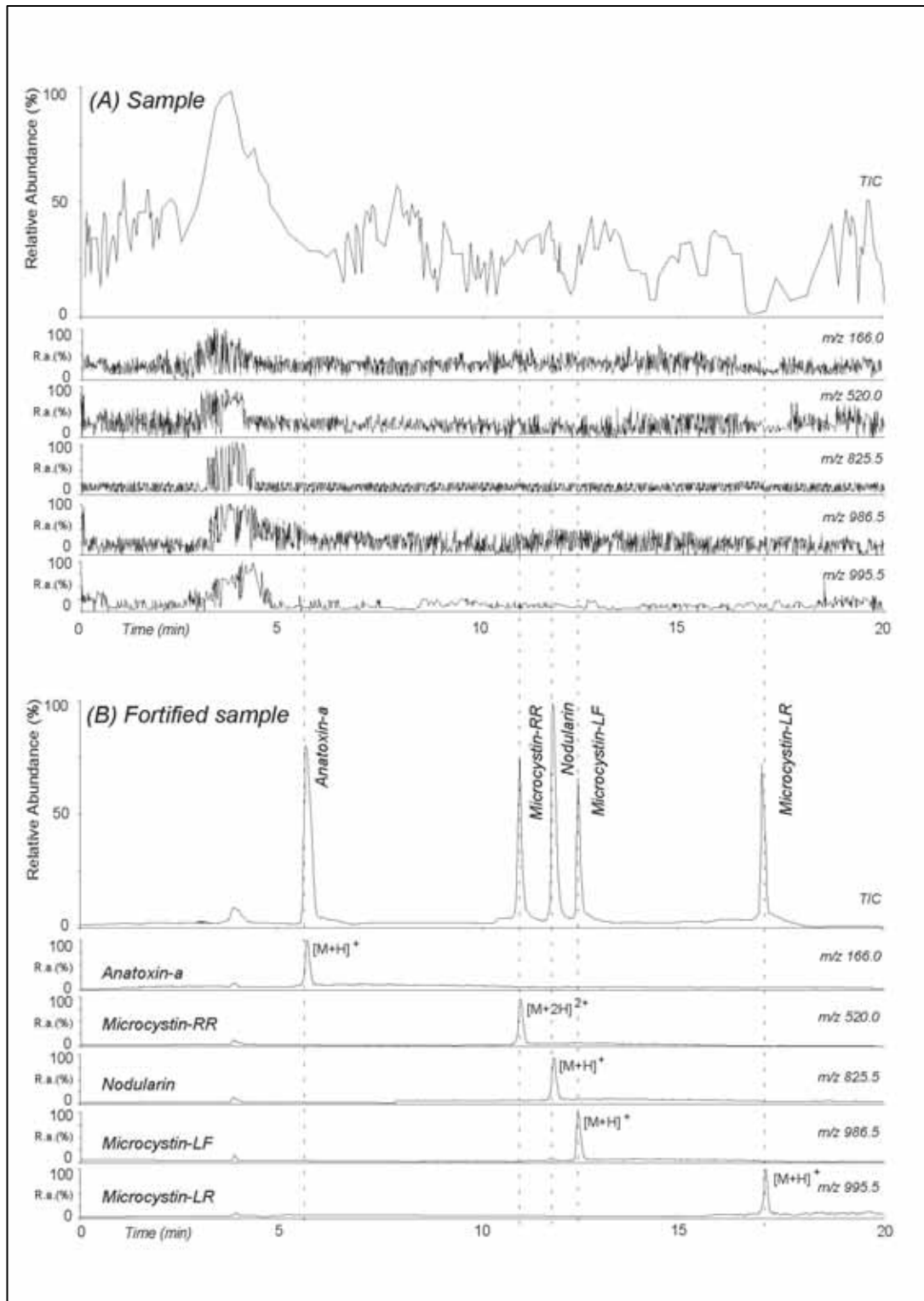


Figura 1. Cromatogramma rappresentativo di un campione bianco (A) e dello stesso campione addizionato di una miscela standard di microcistine (B)

Bibliografia

WHO. *Guidelines for drinking-water quality*. Geneva: WHO Ed., 2004.

Achene L., Ferretti E, Frugis A, Lucentini L and Ottaviani M. Simultaneous determination of several cyanotoxins in water destined to human consumption by using liquid chromatography – mass spectrometry. *Atti del 34th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry*. Amburgo (Germania), 4-08 giugno 2006.

Ferretti E, Lucentini L, Veschetti E, Bonadonna L, Stammati A, Turco L, Ottaviani M. Screening and identification of unknown contaminants in water destined to human consumption: a case study. *Microchemical Journal*, 2007; 85: 57-64.

ARSENICO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.003.REV00

0. Introduzione 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 sopra al 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 in acque superficiali e profonde.

Nelle acque sorgive non contaminate la concentrazione dell'elemento è normalmente inferiore a 1 µg/L.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di arsenico disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 10 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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: essiccaimento, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 HNO₃ 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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.) 0,4335 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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 palladio nitrato 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. In alternativa utilizzare un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione.
- 6.5.2. Soluzione di nichel nitrato 1,0 g/L. Solubilizzare 0,10 g di nitrato di nichel [$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$] di elevata purezza ed esente da tracce di arsenico in 100 mL di acqua (6.1.2). Conservare come descritto in 6.3. In alternativa utilizzare un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione.

6.5.3. Soluzione di acido citrico 20 g/L. Solubilizzare 2 g di acido citrico di elevata purezza ed esente da tracce del 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	193,7
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Non pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1200	25-50	10-40
Atomizzazione	2600	∞	3-6
Pulizia	2650-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 dell'arsenico

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
193,7	1
197,2	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 taratura 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 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'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31, in particolare:

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Arsenico	≤10	≤10	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3080: Arsenico. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

Tenaglia H, Venturini E, Raffaelli R. *Linee guida per la validazione dei metodi analitici e per il calcolo dell'incertezza di misura Collana: I manuali di Arpa*. Bologna: Agenzia regionale per la prevenzione e l'ambiente Emilia-Romagna, 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ALLUMINIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.018.REV00

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 organici e minerali 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di alluminio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 primaria 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 elementi (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 5,0 g/L

Solubilizzare 0,50 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 alluminio 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

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isotherma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1500	25-50	10-40
Atomizzazione	2300	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 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

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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Alluminio	≤ 10	≤ 10	≤ 5

È da segnalare tuttavia che in taluni casi le caratteristiche di prestazioni del metodo, in particolare per la precisione, possono non soddisfare quanto sopra riportato.

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3050: Alluminio. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ANTIMONIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.002.REV00

0. Generalità e definizioni

L'antimonio è presente naturalmente nelle acque in due forme di ossidazione: antimonio (III) e antimonio (V). Le forme solubili sono abbastanza mobili nelle acque, mentre le specie meno solubili sono assorbite su argille o particelle di suolo. In alcune aree geografiche localizzate la produzione e l'uso di composti a base di antimonio ne hanno incrementato significativamente la concentrazione sopra al livello di fondo. Nelle acque sorgive non contaminate la concentrazione dell'elemento è normalmente inferiore a 1 µg/L.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di antimonio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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'antimonio 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale usato 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 usato nell'analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.), acidificato con alcune gocce di HNO_3 (6.2.1.) e 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 (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 antimonio

Può essere:

- un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione;
- ottenuta solubilizzando in acqua (6.1.2.) g 0,6673 di tartrato di potassio antimonio $K(SbO)C_4H_4O_6$ 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

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

In funzione della tipologia di acqua oggetto di analisi può essere utilizzato uno dei seguenti modificatori di matrice:

- 6.5.1. Soluzione di nitrato di palladio 1,0 g/L. Solubilizzare 0,10 g di nitrato di palladio $[Pd(NO_3)_2]$ di elevata purezza ed esente da tracce di antimonio in 100 mL di acqua (6.1.2). Conservare come descritto in 6.3.

- 6.5.2. Soluzione di nitrato di nichel 1,0 g/L. Solubilizzare 0,10 g di nitrato di nichel [Ni(NO₃)₂] di elevata purezza ed esente da tracce di antimonio in 100 mL di acqua (6.1.2). Conservare come descritto in 6.3.
- 6.5.2 Soluzione di acido citrico 20 g/L. Solubilizzare 2 g di acido citrico di elevata purezza ed esente da tracce di antimonio 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	217,6
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Non pirolitico
Volume del campione (µL)	30
Volume del modificatore di matrice (µL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	800	25-50	10-40
Atomizzazione	2200	∞	3-6
Pulizia ²	2500-3000	50	2-5

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 dell'antimonio

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
217,6	1
231,2	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 taratura 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'antimonio 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'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31, in particolare:

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Antimonio	≤ 25	≤ 25	≤ 1

È da segnalare tuttavia che in taluni casi le caratteristiche di prestazioni del metodo, in particolare per la precisione, possono non soddisfare quanto sopra riportato.

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3060: *Antimonio*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ARGENTO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.045.REV00

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.

È 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 elementi (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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di argento disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,5 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornetto di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 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 elementi (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 HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.3.).

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

Solubilizzare 0,40 g di fosfato di ammonio monobasico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 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.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	328,1
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	450	25-50	10-40
Atomizzazione	1100	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 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 taratura 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Argento	-	-	≤ 0.5

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3070: Argento. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

BARIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.046.REV00

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 simili, 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di bario disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 25 $\mu\text{g/L}$. 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornetto.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5 Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell’analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 HNO₃ 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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 4,0 g/L

Solubilizzare 0,40 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1600	25-50	10-40
Atomizzazione	2750	∞	3-6
Pulizia	2800-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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

taratura 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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Bario	≤10	≤10	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3090: Bario. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

CADMIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.007.REV00

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). È 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di cadmio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,5 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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 HNO₃ 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 ± 5 °C per due ore, con 500 μ L 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μ L di HNO₃ (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 fosfato di ammonio monobasico 4,0 g/L. Solubilizzare 0,40 g di fosfato di ammonio monobasico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) di elevata purezza ed esente da tracce di cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).
- 6.5.2. 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 cadmio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.). In alternativa, utilizzare un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione.
- 6.5.3. Soluzione di nitrato di magnesio 5,0 g/L. Solubilizzare 0,50 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.). In alternativa, utilizzare un prodotto reperibile in commercio da usare tal quale o previa diluizione.

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

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	228,8
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	Non pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	800	25-50	10-40
Atomizzazione	1000	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-5

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 cadmio

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità spetto alla riga primaria
228,8	1
326,1	500

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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Cadmio	≤ 10	≤ 10	≤ 0.5

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3120: Cadmio.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

COBALTO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.048.REV00

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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di cobalto disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 2 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 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 elementi (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 5,0 g/L

Solubilizzare 0,50 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 cobalto 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1100	25-50	10-40
Atomizzazione	2100	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione e limite di rivelabilità), sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Cobalto	-	-	≤2

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3140: Cobalto. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

CROMO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.008.REV00

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 elemento 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 della forma trivalente. Sono stati, comunque, segnalati casi di contaminazione determinati principalmente dallo sversamento di effluenti industriali in acque superficiali.

Nelle acque naturali il cromo può esistere allo stato libero, complessato o adsorbito su materiale particellare in sospensione. In relazione alle caratteristiche delle rocce che costituiscono gli acquiferi (ad esempio, ofioliti) il cromo può raggiungere anche concentrazioni di alcune decine di $\mu\text{g/L}$. 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.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di cromo disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 2 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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 dicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) di elevata purezza, previamente essiccato in stufa a 110 ± 5 °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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μ L 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 5,0 g/L

Solubilizzare 0,50 g di nitrato di magnesio [$Mg(NO_3)_2$] 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'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

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isotherma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1200	25-50	10-40
Atomizzazione	2500	∞	3-6
Pulizia	2600-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 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

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 taratura 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 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.).

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'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Cromo	≤10	≤10	≤ 2

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3150: Cromo.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

FERRO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.024.REV00

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 e 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di ferro disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 2 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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 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 (6.6.) ed essiccato in stufa a 120 °C per due ore, con 2,5 mL di 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

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 5,0 g/L

Solubilizzare 0,50 g di nitrato di magnesio $[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2]$ di elevata purezza ed esente da tracce di ferro 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

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	248,3
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1100	25-50	10-40
Atomizzazione	2100	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 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

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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
ferro	≤ 10	≤ 10	≤ 2

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3160: Ferro. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

MANGANESE: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.025.REV00

0. Generalità e definizioni

Il manganese occupa il dodicesimo posto, per abbondanza relativa, tra gli elementi presenti sulla crosta terrestre. È 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 e alcuni mg/L. Acque sotterranee in condizioni anaerobiche contengono spesso elevati livelli di manganese disciolto.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di manganese disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell'analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 HNO₃ 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 ± 5 °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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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

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 manganese in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.5.2. Soluzione di nitrato di magnesio 5,0 g/L Solubilizzare 0,50 g di nitrato di magnesio esaidrato ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) di elevata purezza ed esente da tracce di manganese 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

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	279.5
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (μ L)	10
Volume del modificatore di matrice (μ L)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Rampa ($^{\circ}$ C / s)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	900	25-50	10-40
Atomizzazione	1800	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (6.4.) avendo cura di aggiungere 200 μ L di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi compresi tra 100 e 1000 μ L.

7.3. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 taratura 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità ($\mu\text{g/L}$)
Manganese	≤ 10	≤ 10	≤ 2

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3190: Manganese. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

MERCURIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO DEI VAPORI FREDDI ISS.DAB.013.REV00

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 elementi, 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di mercurio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,2 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 del sistema di vaporizzazione del mercurio, l'utilizzo di una trappola di oro o platino per la preconcentrazione dei vapori di mercurio e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità del metodo e 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. È 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00..

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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. 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 e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 elementi.

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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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 idrossido di sodio 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 boroidruro di sodio 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	253,7
Fenditura (nm)	0,7
Correzione del fondo	Consigliata
Volume del campione (mL)	20

Tabella 2. Esempificazione delle condizioni operative per la riduzione e la vaporizzazione del mercurio

Parametro	Condizione operativa
"Purge" iniziale	5 s
Aggiunta del reagente e lettura	15 s
"Purge" finale	40 s
Temperatura della cella	200 °C

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 compresi tra 100 e 1000 µL.

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. È 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 circa 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.

Tabella 3. Esempificazione di un programma di digestione assistita dalle microonde basato sul controllo della temperatura

Stadio	Potenza (W)	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	250	2	80
2	400	3	130
3	600	5	170

Tabella 4. Esempificazione 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

7.4. Dosaggio diretto del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di taratura. 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 taratura, diluire la soluzione in esame prima dell'analisi strumentale.

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 taratura 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 recipienti 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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 (7.5.).

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 la concentrazione dell'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti relativi alla precisione.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Mercurio	≤10	≤10	≤ 0.2

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

NICHEL: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.014.REV00

0. Generalità e definizioni

Il nichel è un elemento ubiquitario, presente in un gran numero di minerali (principalmente arsenuri e solfuri). È comunemente utilizzato in alcune leghe, nel trattamento superficiale di altri elementi, 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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di nichel disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 solfato di nichel 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

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 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 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.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	232.0
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (μL)	10
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1000	25-50	10-40
Atomizzazione	2500	∞	3-6
Pulizia	2600-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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

taratura 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 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 taratura 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti relativi alla precisione.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Nichel	≤10	≤10	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3220: *Nichel*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

PIOMBO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

ISS.DAA.012.REV00

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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di piombo disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 $[Pb(NO_3)_2]$ di elevata purezza, 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) la soluzione primaria di riferimento (6.3.) dopo aver aggiunto 200 μ L 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 fosfato di ammonio monobasico 4,0 g/L. Solubilizzare 0,40 g di fosfato di ammonio monobasico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) di elevata purezza ed esente da tracce di piombo in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).
- 6.5.2. Soluzione di nitrato di magnesio 5,0 g/L. Solubilizzare 0,50 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 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. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	283,3
Fenditura (nm)	0,2
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	Non pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	800	25-50	10-40
Atomizzazione	1200	∞	4
Pulizia	2400-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 piombo

Lunghezza d'onda (nm)	Riduzione della sensibilità rispetto alla riga primaria
217,0	1
261,4	40
368,4	100
283,3	3

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 taratura 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.).

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'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti relativi alla precisione.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Piombo	≤10	≤10	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3230: Piombo.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

RAME: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTHERMICA

ISS.DAA.009.REV00

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.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di rame disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 (6.6.) 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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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. Modificatore di matrice: soluzione di nitrato di ammonio 5 g/L

Solubilizzare 0,50 g di nitrato di ammonio (NH₄NO₃) di elevata purezza ed esente da tracce di rame 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

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	324,8
Fenditura (nm)	0,5
Correzione del fondo	consigliata
Fornetto	pirolitico
Volume del campione (μL)	10
Volume del modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isotherma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento 1	850	25-50	10-40
Atomizzazione	2100	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 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

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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analista	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (mg/L)
Rame	≤10	≤10	≤ 0,001

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3250: Rame.* Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

SELENIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.016.REV00

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 elementi come il ferro.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di selenio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'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 fornello di grafite e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.2.), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2.).

Il materiale già utilizzato nell’analisi di elementi in tracce deve essere lavato con acqua di rubinetto, decontaminato con acqua (6.1.1.) acidificata con alcune gocce di HNO₃ (6.2.1.) e 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 HNO₃ 0,2 % v/v (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 selenito di sodio (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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

6.4. Soluzione secondaria di riferimento contenente 1,000 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 [$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$] 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 nitrato di nichel 1,0 g/L. Solubilizzare 0,10 g di nitrato di nichel [$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$] di elevata purezza ed esente da tracce di selenio in 100 mL di acqua (6.1.2.). Conservare come descritto in (6.3.).

6.5.3. 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.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1100	25-50	10-40
Atomizzazione	2200	∞	3-6
Pulizia	2500-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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 taratura 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 taratura 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31. È da segnalare tuttavia che può risultare critico soddisfare i requisiti per tutte le caratteristiche.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Selenio	≤10	≤10	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

VANADIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.017.REV00

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 oli di petrolio, pertanto la combustione di idrocarburi costituisce una fonte importante di immissione di vanadio nell'ambiente. Infine, il vanadio, presente come minerale accessorio in molte rocce effusive, costituisce uno degli elementi in traccia che può contaminare le acque sotterranee con concentrazioni fino a 200 µg/L.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di vanadio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 5 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 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 (6.6.), riscaldato a 50 ± 3 °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.) e omogeneizzare.

La soluzione va conservata in recipiente di polietilene, polipropilene o di altro materiale caratterizzato da un'irrelevante cessione di elementi (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. Modificatore di matrice: soluzione di nitrato di magnesio (1,0 g/L)

Solubilizzare 0,10 g di nitrato di magnesio esaidrato di elevata purezza ed esente da tracce di vanadio 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

Parametro	Condizione operativa
Lunghezza d'onda (nm)	318,5
Fenditura (nm)	0,7
Correzione del fondo	Consigliata
Fornetto	Pirolitico
Volume del campione (μL)	20
Volume di ciascun modificatore di matrice (μL)	10

Tabella 2. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	1200	25-50	10-40
Atomizzazione	2750	∞	3-6
Pulizia	2800-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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

taratura 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 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 taratura 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 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Vanadio	≤20	≤20	≤5

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque*. 29/2003, 3310: Vanadio. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ZINCO: METODO PER SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO CON ATOMIZZAZIONE ELETTROTERMICA

ISS.DAA.049.REV00

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 di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di zinco disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 1 e 25 $\mu\text{g/L}$. 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 e infine la qualità e la quantità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e 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 dello 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 fornello di grafite e sottoposto al seguente ciclo termico: essiccazione, incenerimento e atomizzazione. Al termine del ciclo si effettua una pulizia finale del fornello.

Dalla misura del segnale di assorbanza alla riga di risonanza si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura 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 elementi.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un’irrelevante cessione di elementi, 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 elementi 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 elementi 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.) e 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 e accessori

- 5.3.1. Spettrometro di 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 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 ripetibilità 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 elementi.

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 elementi (ad esempio quarzo, teflon, policarbonato, polimetilpentene).

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

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 (1,0 g/L)

Solubilizzare 0,10 g di nitrato di magnesio 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.

Tabella 1. Esempificazione delle condizioni operative strumentali

Parametro	Condizione operativa
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. Esempificazione del programma termico

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C} / \text{s}$)	Isoterma (s)
Essiccamento	130	10-25	10-30
Incenerimento ¹	700	25-50	10-40
Atomizzazione	1100	∞	3-6
Pulizia	2400-3000	50	2-5
Raffreddamento controllato ²	30-40	50-100	2-3

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

² Questa fase è importante per incrementare la vita del fornello.

7.2. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente la soluzione secondaria di riferimento (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 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 taratura. 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 taratura, 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

taratura 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 dello 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 taratura 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 dello 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 dell'analita nel campione utilizzando la curva di taratura.

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'elemento 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'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, risultano essere le seguenti.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Zinco	-	-	≤1

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.* Washington, DC: APHA; 2005.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality.* Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ARSENICO, ANTIMONIO E SELENIO: METODO PER SPETTROMETRIA DI EMISSIONE IN SORGENTE A PLASMA INDUTTIVO MEDIANTE SVILUPPO DI IDRURI ISS.DBB.034.REV00

0. Generalità e definizioni

Si rimanda a quanto specificato nel paragrafo 0. di ciascun metodo di analisi mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di arsenico, antimonio e selenio disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

È applicabile a concentrazioni non inferiori a quelle elencate in 9. Tale campo di applicazione è tuttavia variabile in funzione delle condizioni sperimentali, in quanto le caratteristiche dello strumento utilizzato, le condizioni della torcia e infine la qualità di campione analizzato influenzano la sensibilità strumentale e il limite di rivelabilità raggiungibile.

2. Principio del metodo

Il metodo, applicabile alla determinazione di As, Sb e Se inorganici totali, consiste nel sottoporre il campione ad opportuna preriduzione e successiva miscelazione in continuo con sodio boroidruro. I prodotti di reazione sono quindi flussati con argon in un separatore gas-liquido al fine di estrarre gli idruri volatili formati. Quest'ultimi sono trasportati selettivamente in torcia dove, in seguito a fenomeni di eccitazione, si genera uno spettro di emissione composto dalle righe caratteristiche degli elementi in esame (tabella 1). Tali righe, dopo essere state separate mediante un sistema di dispersione, vengono rivelate simultaneamente o sequenzialmente da un fotomoltiplicatore o da un rivelatore a stato solido che produce un segnale elettrico di intensità proporzionale all'intensità delle righe di emissione. La concentrazione di analita presente nel campione viene determinata per confronto con una soluzione di riferimento a concentrazione nota.

Arsenico inorganico totale: a temperatura ambiente e a $\text{pH} \leq 1$, l'As (V) è ridotto abbastanza velocemente ad As (III) dal sodio boroidruro; l'As (III) presente e quello di neoformazione sono istantaneamente convertiti ad arsina (AsH_3). Per rendere quantitativa la determinazione dell'arsenico inorganico totale è comunque necessario procedere ad un trattamento di preriduzione.

Antimonio inorganico totale: il pH controlla la trasformazione di Sb (V) e Sb (III) a stibina (SbH_3). Sb (III) è facilmente riducibile a stibina con sodio boroidruro, mentre la riduzione da Sb (V) è incompleta e non avviene a pH prossimo alla neutralità. Per effettuare la determinazione quantitativa di Sb inorganico totale è necessario procedere con una preriduzione di Sb (V) a Sb (III).

Selenio inorganico totale: solo la forma tetraivalente è in grado di formare l'idruro per reazione con il reagente. Per determinare il selenio inorganico totale è quindi necessario effettuare una preriduzione di Se(VI) a Se (IV) mediante digestione acida con acido cloridrico. L'efficienza della preriduzione dipende dalla temperatura, dal tempo e dalla concentrazione dell'acido cloridrico.

Tabella 1. Righe analitiche raccomandate

Elemento	Riga (nm)
As	193,696 197,197 189,042*
Sb	206,833 217,581
Se	196,090 203,985

* Collocare il sistema ottico dello strumento sotto vuoto o sotto flusso di gas inerte.

3. Interferenze e cause di errori

Difficoltà nella determinazione di As, Sb e Se mediante la tecnica descritta possono derivare da:

- il rendimento nella generazione della forma ridotta in funzione della composizione della matrice (eventuale presenza di elementi che possono interferire nel processo di riduzione dell'analita);
- il pH del campione e la concentrazione delle soluzioni riducenti;
- il comportamento spettrochimico in funzione dello stato di ossidazione dell'analita di interesse;
- la modifica della cinetica di reazione di formazione degli idruri da parte di altre reazioni.

3.1. Interferenze spettrali

Convogliando direttamente in torcia i vapori generati nella reazione di riduzione, le interferenze spettrali si possono ritenere eliminate.

3.2. Interferenze di tipo chimico

È possibile rendersi conto di eventuali interferenze utilizzando i seguenti procedimenti.

- Analizzando, dopo trattamento di preriduzione, il campione tal quale e quello opportunamente diluito. Se il risultato del primo differisce statisticamente dal risultato del secondo corretto per il fattore di diluizione, sono presenti interferenze di natura chimica e/o fisica. Il confronto tra i due valori deve essere effettuato applicando il test di Student.
- Analizzando il campione previa aggiunta dell'analita in concentrazioni comprese tra 10 e 100 volte il limite di rivelabilità, effettuata immediatamente prima del trattamento di preriduzione. Se la differenza tra i valori di concentrazione, rivelati dopo e prima dell'aggiunta, differisce statisticamente dal valore atteso in base alla quantità introdotta, sono presenti interferenze di natura chimica e/o fisica. Il confronto tra i due valori deve essere effettuato applicando il test di Student.

Le interferenze che producono un effetto di tipo moltiplicativo sulla sensibilità analitica possono essere corrette soddisfacentemente adottando opportune procedure di taratura quali il metodo delle aggiunte standard e il metodo della soluzione standard simulata.

Tutto il materiale impiegato nel corso dell'analisi deve essere accuratamente lavato con HNO₃ e risciacquato con acqua ultrapura esente da tracce di elementi.

3.2.1. Cloro libero presente nell'acido cloridrico

La quantità di cloro libero nell'acido cloridrico varia a seconda della casa produttrice e del lotto di produzione. La determinazione del selenio risente di tale interferenza in quanto ossida l'idruro

impedendone il suo recupero quantitativo. In tal caso è necessario eliminare il cloro libero dall'acido cloridrico prima dell'utilizzo del reagente mediante flussaggio con elio a circa 100 mL/min per 3 ore.

3.2.2. Nitriti

I nitriti naturalmente presenti nel campione o i nitrati ridotti a nitriti durante il trattamento di preriduzione di Se (VI) a Se (IV) mediante digestione acida con HCl, anche a basse concentrazioni (10 µg/L), possono influire negativamente sulla formazione di SeH₄. Se tale interferenza è presente, è necessario, dopo acidificazione dell'aliquota destinata alla determinazione del selenio, aggiungere 0,1 ml di solfanilamide (6.5) ogni 10 ml di campione e attendere il completamento della reazione (circa 2 min).

3.2.3. Elementi

Possono interferire elementi nobili in concentrazioni superiori a 100 µg/L nonché rame, piombo e nichel in concentrazioni non inferiori a 1 mg/L.

3.2.4. Titolo dei reagenti

La concentrazione di sodio boroidruro prevista dal metodo garantisce la formazione degli idruri di As, Sb e Se dopo trattamento di preriduzione; concentrazioni superiori possono causare instabilità del plasma con conseguente peggioramento della precisione (formazione di H₂ in eccesso).

L'acidità delle soluzioni di riferimento, del bianco e dei campioni prevista dal metodo garantisce condizioni ottimali e riproducibili nella preriduzione e nella successiva reazione con sodio boroidruro.

4. Campionamento e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi, 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 elementi in tracce.

Il materiale utilizzato per la prima volta deve essere preventivamente sgrassato con tensioattivo, abbondantemente risciacquato con acqua di rubinetto, decontaminato con HNO₃ (6.2.4), risciacquato ripetutamente con acqua (6.1.1.) e, quindi, con acqua (6.1.2).

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori compresi tra 0,2 e 0,8 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 HNO₃ (6.2.4.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

- 5.3.1. Spettrometro ICP-OES in configurazione assiale o combinata (assiale e radiale).
- 5.3.2. Camera di reazione e separatore gas-liquido.
- 5.3.3. Dispositivo per l'introduzione di soluzioni. Per l'introduzione del campione è possibile ricorrere sia all'aspirazione diretta che ad un sistema automatico (autocampionatore).
- 5.3.4. Dispositivo per l'erogazione di un gas inerte. Utilizzare argon di purezza non inferiore a 99,99 %.

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 elementi.

6.2. Acidi minerali

- 6.2.1. Acido cloridrico concentrato ($d = 1,19 \text{ g/mL}$) di grado ultrapuro per analisi in tracce eventualmente purificato dal cloro libero mediante flussaggio con elio come descritto in 3.2.1.
- 6.2.2. Soluzione di acido cloridrico al 10 % v/v.
- 6.2.3. Acido nitrico concentrato ($d = 1,40 \text{ g/mL}$) di grado ultrapuro per analisi in tracce.
- 6.2.4. Acido nitrico 0,2 % v/v.

6.3. Soluzione di NaBH_4 0,2 % (p/v) in NaOH 0,05 % (p/v)

Sciogliere 0,5 g di NaOH di grado ultrapuro in matraccio di polietilene da 1 L contenente circa 500 mL di acqua 6.1.2. e aggiungere gradualmente e sotto agitazione 2 g di NaBH_4 , quindi portare a volume con acqua 6.1.2. La soluzione così preparata è stabile per circa una settimana se conservata a temperatura di $5 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$.

Il sodio boridruro libera idrogeno a contatto con acido; dovrà pertanto essere maneggiato con cura e conservato secondo le indicazioni del fornitore.

6.4. Soluzione riducente per la determinazione dell'arsenico e dell'antimonio

Sciogliere 5 g di KI e 5 g di acido ascorbico in matraccio da 100 mL contenente circa 50 mL di acqua 6.1.2., quindi portare a volume con acqua 6.1.2. Preparare al momento dell'uso.

6.5. Soluzione di solfanilamide

Preparare, al momento dell'uso, una soluzione al 2,5 % (p/v) aggiungendo alcune gocce di HCl per facilitare la dissoluzione del sale.

6.6. Soluzioni primarie di riferimento

Le soluzioni concentrate di riferimento sono disponibili in commercio sia come soluzioni mono che multielemento a titolo noto (ad es. 1000 mg/L): in quest'ultimo caso verificare che la miscelazione degli elementi considerati non dia luogo a interferenze di tipo chimico (ad es. coprecipitazione).

Le suddette soluzioni possono anche essere preparate a partire da sali o ossidi ad elevata purezza dopo disidratazione per circa 1 h a 105 ± 3 °C. Se vengono utilizzati sali o ossidi di antimonio (ad es. Sb_2O_5 e/o Sb_2O_3) è necessario procedere alla loro solubilizzazione mediante acido cloridrico a caldo. Anche le soluzioni di lavoro devono essere mantenute ad una acidità tale da garantirne la stabilità (circa 7 %).

6.7. Soluzioni secondarie di riferimento contenenti 1,000 mg/L di analita

Diluire opportunamente con acqua (6.1.2.) le soluzioni primarie di riferimento (6.6.) dopo aver aggiunto 200 μL di HNO_3 (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Conservare come descritto in (6.6.).

7. Procedura di misura

7.1. Operazioni preliminari e ottimizzazione dello spettrometro ICP-OES per la determinazione degli idruri

Attivare l'apparecchiatura e collegare il kit per la generazione degli idruri 5.3.2. come indicato dal relativo manuale che, di norma, prevede anche le condizioni operative più appropriate per l'esecuzione delle analisi. I parametri dello strumento sui quali è possibile intervenire sono quelli relativi alla sorgente, alla posizione della torcia, all'unità per l'introduzione del campione, all'interfaccia torcia-spettrometro e allo spettrometro.

Avviare lo strumento e attendere un tempo di riscaldamento e di stabilizzazione della apparecchiatura secondo quanto stabilito dal manuale d'uso dello strumento prima di iniziare le operazioni di taratura.

7.2. Trattamento preliminare di riduzione

Le soluzioni di lavoro, il bianco e i campioni devono essere sottoposti a trattamento di preriduzione prima di procedere all'analisi.

7.2.1. Determinazione di arsenico e/o antimonio

A 5 mL di campione, bianco o soluzione di lavoro si aggiungono 5 mL di acido cloridrico 6.2.1. e 5 mL di soluzione riducente 6.4. Attendere almeno 1 ora a temperatura ambiente.

7.2.2. Determinazione del selenio

In un beaker da circa 100 mL introdurre 25 mL di campione, bianco o soluzione di lavoro e 25 mL di acido cloridrico 6.2.1. Riscaldare la soluzione su piastra riscaldante, sotto cappa, sino ad ebollizione; raffreddare e travasare quantitativamente in un matraccio da 50 mL. Portare a volume con acqua 6.1.2.

7.3. Taratura

Preparare una curva di taratura 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente le soluzioni secondarie di riferimento (6.7.) avendo cura di aggiungere 200 µL di HNO₃ (6.2.1.) per 100 mL di soluzione finale. Si consiglia il prelievo di volumi compresi tra 100 e 1000 µL.

Introdurre nel plasma le soluzioni ad una portata costante per almeno 30 s e attendere il raggiungimento delle condizioni di equilibrio prima di iniziare l'integrazione del segnale. Tra una determinazione e l'altra effettuare lavaggi prolungati utilizzando la soluzione di acido cloridrico 6.2.2.

7.4. Dosaggio del campione

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di taratura. 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 taratura, diluire la soluzione in esame e ripetere il trattamento di preriduzione 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 taratura che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro.

Periodicamente verificare l'efficienza dei trattamenti di preriduzione sottoponendo ad analisi soluzioni standard di As (V) o Sb (V) o Se (VI). Mediante test statistici di significatività verificare la comparabilità dei risultati.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

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

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

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione dell'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza e precisione, stimate al valore di parametro, e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, soddisfano i requisiti riportati nel punto 2.1 allegato III del DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31.

Analita	Esattezza in % del valore di parametro	Precisione in % del valore di parametro	Limite di rivelabilità (µg/L)
Arsenico	≤10	≤10	≤ 1
Antimonio	≤25	≤25	≤ 1,25
Selenio	≤10	≤10	≤ 1

Bibliografia

American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3060: Antimonio. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

Davidowski L. *A Simple Continuous Flow Hydride Generator for ICP-OES, ICP, Application Study No. 67*. The Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA: 1993.

de Moraes Flores, E. M. Paula, F. R. da Silva, F. E. B. de Moraes, D. P. Paniz, J. N. G. dos Santos, E. P. Dressler, V. L.; Bittencourt, C. F. Selective Determination of Sb(III) in Drugs by Flow Injection Hydride Generation AAS. *Atomic Spectroscopy -Norwalk Connecticut*. 2003; 24: 15-21.

Minoia C, Bettinelli M, Sabbioni E (Ed). *Applicazioni dell'ICP-AES nel laboratorio chimico e tossicologico* Vol. I e II. Milano: Morgan, 1993.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

ALLUMINIO, BORO, CADMIO, CROMO, FERRO, MANGANESE, NICHEL, PIOMBO, RAME, SODIO, VANADIO: METODO SPETTROSCOPICO DI EMISSIONE CON SORGENTE A PLASMA INDUTTIVO ISS.DBA.035.REV00

0. Generalità e definizioni

Si rimanda a quanto specificato nel paragrafo 0. di ciascun metodo di analisi mediante spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica.

1. Campo di applicazione

Il metodo si applica alla frazione di elementi disciolta e a quella cedibile a $\text{pH} < 2$ presenti nelle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, nelle acque di piscina e in quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

La Tabella 1 riporta l'elenco degli elementi per i quali il metodo è applicabile, le principali lunghezze d'onda analitiche e i limiti di rivelabilità "tipici" ottenibili per ciascun elemento nelle diverse condizioni di nebulizzazione. Tali indicazioni sono riportate a scopo puramente orientativo, in quanto dipendono strettamente dalle caratteristiche tecniche dell'apparecchiatura utilizzata.

Il metodo è applicabile a concentrazioni superiori ai limiti di rivelabilità elencati in Tabella 1. Per molti elementi sono stati osservati intervalli dinamici lineari di almeno 3-4 ordini di grandezza. Ciò consente il dosaggio di concentrazioni elevate senza dover diluire il campione in esame.

2. Principio del metodo

Il campione e le soluzioni di taratura vengono opportunamente nebulizzate e l'aerosol viene trasportato nel plasma, dove, in seguito a fenomeni di eccitazione, si genera uno spettro di emissione composto dalle righe caratteristiche degli elementi presenti. Tali righe, dopo essere state separate mediante un sistema di dispersione, vengono rivelate simultaneamente o sequenzialmente da un fotomoltiplicatore o da un rivelatore a stato solido che produce un segnale elettrico di intensità proporzionale all'intensità delle righe di emissione. La concentrazione di analita presente nel campione viene determinata per confronto con una soluzione di riferimento a concentrazione nota.

3. Interferenze e cause di errori

Le interferenze da fondo possono essere sia negative che positive e sono causate da uno o più componenti della matrice che, direttamente o indirettamente, provocano uno dei seguenti fenomeni: variazione di temperatura della sorgente (con conseguente variazione del "continuo" emesso dalla sorgente), bande di emissione molecolari, "luce diffusa", ricombinazioni ioni-elettroni.

L'entità di queste interferenze varia con le condizioni operative adottate e solo nel caso della "luce diffusa", alcune soluzioni strumentali (reticolo olografico, doppio monocromatore, ecc.) possono ridurre sensibilmente il problema. La misura del segnale di emissione e del fondo, necessaria per la correzione dell'interferenza, viene comunemente eseguita ai lati della riga analitica. È possibile effettuare una correzione del fondo da uno o da entrambi i lati della riga analitica.

Conoscendo il tipo di sostanza interferente, la sua concentrazione e ammettendo che sia costante nei diversi campioni è possibile effettuare la correzione di questa interferenza anche ricorrendo al metodo della matrice simulata.

Le interferenze di riga si verificano per sovrapposizione (parziale o totale) tra la riga analitica e la riga di un altro elemento. La correzione di queste interferenze non è sempre possibile e comporta comunque un peggioramento della precisione analitica. Per tali motivi è consigliabile impiegare un'altra riga analitica, se disponibile, esente da interferenze. È opportuno effettuare uno studio sperimentale ogni qualvolta si analizza una nuova tipologia di matrice (o comunque con differenti rapporti interelementari), per evidenziare l'eventuale presenza di interferenze spettrali. A tale scopo verificare che, per l'elemento in esame, le concentrazioni determinate alle diverse righe spettrali presentino uno scarto relativo non superiore al 10%. In caso contrario scartare i dati anomali sulla base delle informazioni contenute nella Tabella 1 o nella letteratura scientifica.

Interferenze di tipo chimico e/o fisico sono dovute alla matrice a seguito di fenomeni come alterazioni nei processi di trasporto alla torcia, desolvatazione, atomizzazione, eccitazione. È possibile rendersi conto di eventuali interferenze utilizzando i seguenti procedimenti.

1. Analizzando il campione tal quale e dopo opportuna diluizione. Se il risultato del primo differisce statisticamente dal risultato del secondo corretto per il fattore di diluizione sono presenti interferenze di natura chimica e/o fisica. Il confronto tra i due valori deve essere effettuato applicando il test di student.

2. Mediante l'aggiunta di analita in concentrazioni, comprese tra 10 e 100 volte il limite di rivelabilità. Se la differenza tra la concentrazione rivelata dopo l'aggiunta e la concentrazione inizialmente presente nel campione differisce statisticamente dal valore atteso in base alla quantità aggiunta sono presenti interferenze di natura chimica e/o fisica. Il confronto tra i due valori deve essere effettuato applicando il test di student.

Le interferenze che producono un effetto di tipo moltiplicativo sulla sensibilità analitica possono essere corrette soddisfacentemente adottando opportune procedure di taratura quali il metodo delle aggiunte standard, il metodo della soluzione standard simulata e il metodo dello standard interno di riferimento.

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

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00.

Tabella 1. Righe analitiche raccomandate, relativi limiti di rivelabilità e interferenze spettrali (*1)

Elemento	Riga(nm)	LOD (µg/L) nebulizzatore ad ultrasuoni	LOD (µg/L) nebulizzatore pneumatico	Interferenze spettrali
Al	308,215	0,5	40	Mn, V, Fe, Mo, Co Mo, Cu
	396,152	0,2	30	
	237,312	0,8	30	
B	208,959	*2	1	Al, Mo Fe, Cr Fe
	249,678		6	
	249,773		5	
Cd	214,438	0,1	4	Fe Fe As, Co
	226,502	0,005	2	
	228,802	0,05	3	
Cr	205,552	0,2	10	Fe, Mo
	206,150	0,2	7	
	267,716	0,1	10	Mn, V Fe, Mo Fe
	283,563	0,2	10	
	284,325	0,1	10	
Cu	324,754	0,03	5	Ti
	327,396	0,2	10	
	219,958	0,3	10	
Fe	259,940	0,01	7	
	238,204	0,1	5	
	239,562	0,3	5	
Mn	257,610	0,01	2	Fe, Mo, Cr Al, Fe
	293,306	0,1	10	
	294,920	0,03	8	
Na	589,592	*3	100	
	588,995		30	
Ni	221,647	0,2	10	
	231,604	0,4	15	
	232,003	0,3	20	
Pb	220,353	0,2	30	Al, Co, Ti
	216,999	0,5	100	
V	290,882	0,1	10	Fe, Mo Fe, Mo, Cr
	292,402	0,04	10	
	310,230	0,5	10	

*1 valori ottenibili operando in modalità assiale;

*2 il nebulizzatore ad ultrasuoni non consente la determinazione quantitativa del boro;

*3 questa tecnica di nebulizzazione non è idonea al dosaggio di tenori elevati di Na normalmente presenti nelle acque.

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura da laboratorio

Tutta la vetreria e i contenitori, ad esclusione di quelli monouso caratterizzati da un'irrelevante cessione di elementi (ovvero inferiore al limite di rivelabilità del metodo), dovranno essere preventivamente trattati allo scopo di rimuovere eventuali tracce degli analiti 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 elementi 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 elementi 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) e infine risciacquato con acqua (6.1.2.).

In tutti i casi si raccomanda di non utilizzare la miscela cromica.

5.2. Filtri

Per l'eventuale filtrazione dei campioni utilizzare filtri con micropori compresi tra 0,2 e 0,8 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 (6.2.2.).

5.3. Strumentazione analitica e accessori

5.3.1. Spettrometro ICP-OES in configurazione assiale o combinata (assiale e radiale)

5.3.2. Camera e dispositivo di nebulizzazione. Il tipo di nebulizzatore e di camera spray usati possono dipendere dal campione da analizzare, dal limite di rivelabilità da raggiungere, nonché dal produttore del sistema. In generale, si usano nebulizzatori pneumatici di disegno concentrico, "cross-flow" o ad ultrasuoni e camere di nebulizzazione tipo ciclonica o Schott.

La configurazione "spettrometro operante in modalità assiale con nebulizzatore ad ultrasuoni" è quella che generalmente consente di ottenere il più basso limite di rivelabilità..

5.3.3. Dispositivo per l'introduzione di soluzioni. Per l'introduzione del campione è possibile ricorrere sia all'aspirazione diretta che ad un sistema automatico (autocampionatore).

5.3.4. Dispositivo per l'erogazione di un gas inerte. Utilizzare argon di purezza non inferiore a quella indicata nel manuale operativo dello spettrometro. Altri gas (ad esempio aria o azoto) potrebbero risultare necessari a seconda della strumentazione utilizzata.

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 elementi.

6.2. Acidi minerali

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

6.2.2. HNO₃ 0,2 %

6.3. Soluzioni primarie di riferimento

Utilizzare soluzioni di riferimento a titolo noto (ad es. 1000 mg/L). Esistono in commercio soluzioni di riferimento mono e multielemento che possono essere convenientemente utilizzate per l'analisi di più analiti. In caso di utilizzo di soluzioni multielemento verificare che la miscelazione degli elementi considerati non dia luogo a interferenze di tipo spettrale o chimico (es. coprecipitazione). Alcuni esempi di possibili soluzioni di riferimento multielemento che tengono conto delle compatibilità interelemento sono riportate nella Tabella 2.

6.4. Soluzioni di taratura

Preparare per diluizione dalle soluzioni primarie 6.3 le soluzioni di riferimento alla concentrazione desiderata, avendo cura di aggiungere 0,2 mL di HNO₃ (6.2.1) prima di portare a volume con acqua (6.1.2.) in matracci tarati da 100 mL. Per la conservazione delle soluzioni di riferimento attenersi alle indicazioni riguardanti le modalità di conservazione del campione riportate al paragrafo 4. Come bianco per la taratura analitica si utilizza una soluzione di HNO₃ (6.2.2.).

6.5. Soluzione di controllo

Utilizzare una soluzione di controllo contenente gli analiti di interesse in concentrazione prossima ai valori limiti riportati dalle normative vigenti, e/o ai valori normalmente riscontrati nei campioni, e preparata a partire da soluzioni primarie di riferimento mono o multielemento da usare tal quale o previa diluizione. Tali soluzioni devono essere di provenienza diversa (produttore e/o lotto differenti) rispetto a quelle impiegate nella preparazione delle soluzioni di taratura.

Tabella 2. Preparazione delle soluzioni di taratura multielemento

Soluzione	Elemento
Mista 1	Cu, Fe, V
Mista 2	Cd, Mn, Pb
Mista 3	Al, Cr, Na, Ni

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 delle analisi. Occorre precisare che tali condizioni dovranno essere verificate e se necessario modificate in relazione alla particolare natura del campione in esame.

I parametri dello strumento sui quali è possibile intervenire sono, ad esempio, quelli relativi alla sorgente, all'unità per l'introduzione del campione, all'interfaccia torcia-spettrometro e allo

spettrometro. I citati parametri vengono ottimizzati uno alla volta allo scopo di ottenere il miglior rapporto segnale analitico/segnale di fondo.

Avviare lo strumento e attendere un tempo di riscaldamento e di stabilizzazione della apparecchiatura secondo quanto stabilito dal manuale d'uso dello strumento prima di iniziare qualsiasi operazione di taratura.

7.2. Taratura del metodo

Preparare una curva di taratura per ciascun analita 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 taratura tracciata inizialmente.

Per la preparazione delle soluzioni di lavoro, diluire opportunamente le soluzioni secondarie di riferimento (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 compresi tra 100 e 1000 μL .

7.3. Controllo iniziale

Effettuata la taratura, sottoporre ad analisi la soluzione di controllo 6.5.

Le differenze tra i valori di concentrazione ottenuti e quelli attesi non devono essere superiori ai valori di esattezza previsti dalle normative vigenti. Se tali differenze soddisfano il suddetto criterio di accettabilità, analizzare i campioni; viceversa adottare adeguate azioni correttive (ad es. ripreparare la soluzione di controllo, ripetere la taratura, ripreparare le soluzioni di taratura, verificare il corretto funzionamento dell'apparecchiatura e dei suoi accessori).

7.4. Dosaggio del campione e controlli successivi

Analizzare tutti i campioni nelle stesse condizioni sperimentali programmate durante la preparazione della curva di taratura. 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 taratura, 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 taratura che la successiva analisi del campione (tal quale o diluito opportunamente) dopo aver modificato le condizioni di lavoro.

Analizzare periodicamente la soluzione di controllo 6.5. Verificare che i valori misurati soddisfino il criterio di accettabilità indicato al punto 7.3. Qualora tale criterio non risulti soddisfatto intraprendere adeguate azioni correttive (ad es. ripetere la taratura, verificare il corretto funzionamento dell'apparecchiatura e dei suoi accessori). Dopo aver verificato l'efficacia dell'azione correttiva adottata, ripetere l'analisi dei campioni esaminati tra l'ultimo controllo conforme e il controllo non conforme.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

8.1. Calcolo della concentrazione

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

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

8.2. Espressione dei risultati

Esprimere la concentrazione dell'analita nel campione utilizzando unità di misura e numero di cifre decimali in accordo con la normativa vigente.

9. Prestazioni del metodo

Sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio, sia l'esattezza che la precisione del metodo risultano $\leq 10\%$ del valore di parametro per tutti gli analiti specificati in tabella 1, nella quale sono indicati i corrispondenti limiti di rivelabilità.

Bibliografia

American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed. Washington, DC: APHA; 2005.

APAT/IRSA-CNR. *Metodi Analitici per le Acque. 29/2003, 3020: Determinazione di elementi chimici mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES)*. Roma: APAT/IRSA-CNR; 2003.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed.; 2006.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Litografia Chicca di Fausto Chicca
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, settembre 2007 (n. 3) 16° Suppl.