

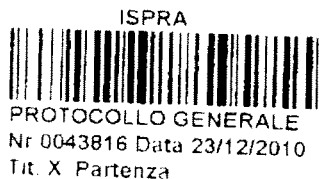
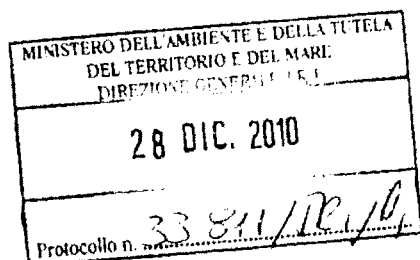
Allegato C



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Polsoni - Tassoni
Giampresso



Divisione I "Tutela delle Acque"
Direzione Generale per la Tutela del
Territorio e delle Risorse Idriche
Ministero dell'Ambiente e della tutela
del territorio e del mare
Via C.Colombo, n.44
00147 Roma

Att.ne Dott.Marco Lupo

Rif.: Richiesta di parere istruttorio - Prot. 30911/TRI/DI del 29 novembre 2010 e
prot.ISPRA n.41388 del 2/12/2010
Oggetto: Sito di bonifica di Interesse Nazionale "Aree Industriali di Porto Torres" -
Richiesta di parere istruttorio su metodiche analitiche per gli idrocarburi C
minore e uguale a 12 e C > 12

In merito alla richiesta riportata in riferimento si fa presente quanto segue:

Il parametro "idrocarburi totali" senza ulteriori specificazioni può in teoria comprendere al suo interno tutti gli idrocarburi esistenti in natura, indipendentemente dal numero di atomi di carbonio, dalla tossicità e pericolosità degli stessi. Nel contesto internazionale la definizione di idrocarburi totali in tutte le matrici ambientali è riferita al metodo analitico utilizzato per la misurazione con un grado di accuratezza e precisione adeguati. Di conseguenza, il gruppo di lavoro ISPRA/ISS/CNR-IRSA/ARPA/APPA (d'ora in poi GdL) ha definito nel documento allegato alla presente (All.1), il parametro idrocarburi totali ed il metodo di riferimento per la sua determinazione.

Metodo per la determinazione degli idrocarburi C > 12

Gli idrocarburi totali sono stati definiti in modo operativo come "l'insieme degli idrocarburi che, dopo i processi di estrazione e purificazione riportati nel metodo, possono essere rilevati al cromatogramma, su colonna capillare non polare con tempi di ritenzione compresi tra quelli del n-decano ($C_{10}H_{22}$) e del n-tetracontano ($C_{40}H_{82}$)". Questa definizione si estende al parametro "idrocarburi pesanti C>12" presente nella tab.1, All.5, TitoloV, Parte Quarta del D.Lgs.152/2006 partendo dal composto n-dodecano ($C_{12}H_{26}$).

Per i suoli la procedura raccomandata dal GdL sopra citato deriva dalla ISO 16703:2004 con determinazione al GC/FID ed ISPRA considera quest'ultima come la procedura di riferimento per la determinazione degli idrocarburi C>12.

[Handwritten signatures and marks]

**ISPRA**Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Pag. n 2

La procedura analitica (All.2), definita e concordata dal GdL, è stata convalidata mediante un circuito che ha utilizzato materiali di riferimento prodotti da ISPRA (ISPRA-RM022 e ISPRA RM023).

Il metodo raccomandato dal GdL consente la misura accurata degli idrocarburi compresi nell'intervallo C₁₂-C₄₀ per frazioni di massa comprese tra 100 e 10000 mg/kg. Dopo estrazione degli idrocarburi dal campione e purificazione si procede alla quantificazione mediante gascromatografia con rivelatore FID (ionizzazione di fiamma). Viene misurata l'area totale dei picchi nell'intervallo delimitato da due soluzioni di riferimento di n-dodecano e n-tetracontano. La quantità degli idrocarburi è determinata mediante confronto con una soluzione di riferimento esterno costituito da quantità uguali di due differenti tipi di oli minerali.

Nella procedura la quantità di suolo che può essere analizzata varia in un intervallo tra 5 e 30 g. Il campo di applicazione del metodo può quindi essere esteso a suoli con concentrazioni di idrocarburi inferiori a 100 mg/kg. aumentando la quantità iniziale di suolo da analizzare. Inoltre il limite inferiore del campo di applicazione può essere ulteriormente ridotto concentrando per esempio l'estratto prima dell'analisi in modo da garantire un Limite di Quantificazione (LOQ) inferiore al 50% del limite di legge.

Metodo per la determinazione degli idrocarburi C < o uguali a 12

I metodi per la determinazione sia degli idrocarburi volatili di origine petrolifera aventi un numero di atomi di C<12 (VPH) che dei composti organici volatili (VOC) presenti in letteratura sono riassunti in tabella 1.

Tabella 1 – Metodi per la determinazione degli idrocarburi con C < e = 12

Trattamento	Estrazione	EPA 5021A, EPA 5030C, EPA5035, EPA 5032, MADEP (VPH), CCME
Determinazione strumentale		EPA 8260C, EPA 8015D, MADEP (VPH), CCME

In particolare, i metodi MADEP-VPH e CCME sono stati sviluppati rispettivamente dagli enti di protezione ambientale del Massachusetts e del Canada. Il primo consente la determinazione della frazione alifatica C₅-C₁₂, della frazione aromatica C₈-C₁₀, dei BTEX e del MTBE in matrici ambientali sia solide che liquide mediante analisi gascromatografica di un estratto metanolico del campione. Il gascromatografo è collegato ad un "Purge and Trap" e ha per rivelatori un PID (rivelatore a fotoionizzazione) ed un FID (ionizzazione di fiamma) posti in serie. Con il PID viene quantificata la frazione aromatica che viene sottratta al contenuto di idrocarburi alifatici determinato con il FID.

Con il metodo CCME vengono determinati nei suoli gli idrocarburi alifatici con atomi di carbonio compresi tra C₆ e C₅₀. La frazione compresa tra C₆-C₁₀ è quantificata, analogamente al metodo MADEP, iniettando un'aliquota di un estratto metanolico del campione in un GC-FID mediante sistema "Purge and Trap". La frazione in massa degli idrocarburi è data al netto di quella dei BTEX e degli IPA. Il CCME non è idoneo per la



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Pag. n. 3

quantificazione né dei BTEX né degli IPA. Il dosaggio di tali composti, infatti, viene normalmente effettuato mediante GC/MS.

Anche l'EPA ha pubblicato metodi di analisi degli idrocarburi per matrici solide all'interno di intervalli definiti di precisi composti idrocarburici sia con tecniche GC-FID (EPA 8015 D) che in spazio di testa (EPA 5021 A).

Si ritiene quindi che i due metodi EPA 8015 D 2003 e EPA 5021 A 2003 per la determinazione degli idrocarburi $C < o$ uguali a 12 richiamati dal Laboratorio BIOCHIMIE lab nell'Allegato 1 alla richiesta di parere del 29/11/2010 di Codesta Direzione possano essere adottati, in quanto di facile applicazione e ampiamente noti ai laboratori delle ARPA/APPA. Va comunque sottolineato che nell'applicazione del metodo EPA 8015 D l'integrazione dell'area deve comprendere il n-dodecano.

SERVIZIO METEOROLOGICO
R. M. P. S. S. S. S.
Dott. Maria Belli

DOCUMENTO SINTETICO SUL PARAMETRO IDROCARBURI IN ALCUNE MATRICI AMBIENTALI

1. GLI IDROCARBURI

Il parametro "idrocarburi totali" è assolutamente generico, potendo in teoria comprendere al suo interno tutti gli idrocarburi esistenti in natura, indipendentemente dal numero di atomi di carbonio, dalla tossicità e pericolosità degli stessi. Gli idrocarburi (lineari, ramificati, ciclici e aromatici) possono essere di origine petrolifera oppure biogenica, animale e vegetale, con pesi molecolari, caratteristiche chimiche e chimico-fisiche differenti. Nelle matrici ambientali essi si trovano in genere in rapporti differenti tra loro a secondo dell'origine del campione.

Nella stesura della normativa ambientale la scelta del metodo di analisi viene spesso considerata una procedura separata dal processo di definizione dei limiti di legge. Nel caso degli idrocarburi è particolarmente necessario non separare il metodo analitico scelto dal processo di definizione del parametro nella specifica matrice e dalla conseguente definizione dei limiti di legge. Infatti, nel caso degli idrocarburi, metodi che utilizzano procedure operative diverse possono fornire risultati non confrontabili con inevitabili riflessi a livello di contenziosi legali.

La determinazione analitica di tutti gli idrocarburi in teoria presenti in un campione ambientale è, di fatto, impossibile.

1.1 Pericolosità degli idrocarburi

La contaminazione da miscele di idrocarburi, in termini di rischio per la salute umana, rappresenta un caso da considerare separatamente rispetto alle contaminazioni da composti puri. Il destino ambientale di una miscela idrocarburica è difficile da valutare su base analitica, in quanto la sua composizione e la sua distribuzione nell'ambiente varia notevolmente con il passare del tempo (fenomeno che in terminologia anglosassone è chiamato "weathering"). Ogni singolo composto della miscela si ripartisce in maniera diversa nelle varie matrici ambientali e subisce specifici processi di degradazione, come la fotolisi o l'attacco microbiologico. Inoltre, data la sua eterogeneità e complessità, non è possibile attribuire un unico valore di tossicità all'intera miscela idrocarburica. Per tali ragioni, il criterio generale di valutazione del rischio per la salute umana, in seguito a rilascio nell'ambiente di miscele idrocarburiche, si basa sulla speciazione degli idrocarburi in varie classi; ogni classe comprende sostanze aventi caratteristiche chimico-fisiche e comportamento ambientale (mobilità, volatilità) simili.

2. DEFINIZIONE DEI PARAMETRI RELATIVI AL CONTENUTO DI IDROCARBURI

Nel 2007 è stato istituito dall'APAT un Gruppo di Lavoro APAT-ARPA/APPA, ISS, CNR-IRSA, ICRAM e CRA (Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura), finalizzato all'armonizzazione dei metodi analitici utilizzati per la determinazione degli idrocarburi su matrici ambientali

2.1 Rifiuti, suoli e sedimenti

Nell'ambito del Gruppo di Lavoro si è giunti alla definizione operativa di idrocarburi totali come "l'insieme dei composti che, dopo i processi di estrazione e purificazione riportati nel metodo, possono essere rivelati mediante gascromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC/FID), su colonna capillare non polare con tempi di ritenzione compresi tra quelli del n-decano ($C_{10}H_{22}$) e del n-tetracontano ($C_{40}H_{82}$)". Questa definizione si estende anche al parametro "idrocarburi pesanti $C>12$ " presente nella tab.1, All.5, TitoloV, Parte Quarta del D.Lgs.152/2006 partendo però dal composto n-dodecano ($C_{12}H_{26}$).

Tale definizione si correla strettamente ai metodi di misura elaborati in ambito ISO/CEN rispettivamente per:

- **Rifiuti** "Determinazione del contenuto di idrocarburi nell'intervallo compreso tra C_{10} e C_{40} mediante gascromatografia" UNI EN 14039 (Gennaio 2005);
- **Suolo e sedimenti** "Soil quality-Determination of content of hydrocarbon in the range C_{10} to C_{40} by gaschromatography" ISO 16703 (Novembre 2004). Tale definizione attiene anche al metodo, ISO TR 11046 (1994, poi ritirato), che prevedeva l'analisi, oltre che con tecniche gascromatografiche anche mediante spettrometria all'infrarosso (IR).

Entrambi i metodi, UNI EN 14039 e ISO 16703, oltre quello ISO TR 11046 – parte B, prevedono che l'estratto purificato sia analizzato mediante gascromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID), per determinare il contenuto di idrocarburi nell'intervallo compreso tra C_{10} e C_{40} .

2.2 Acque superficiali e sotterranee

Il parametro idrocarburi totali per le acque è da intendersi come **somma delle due seguenti classi:**

- a) **i composti che, dopo i processi di estrazione e purificazione riportati nel metodo UNI EN ISO 9377-2:2002, sono rivelati mediante GC-FID, su colonna capillare non polare con tempi di ritenzione compresi tra quelli del n-decano ($C_{10}H_{22}$) e del n-tetracontano ($C_{40}H_{82}$) (frazione estraibile)**
- b) **i singoli idrocarburi, determinati mediante spazio di testa (EPA 5021 A) o Purge & Trap (EPA 5030C) e analisi in gascromatografia con rivelatore a spettrometria di massa (GC-MS), compresi tra il n-pentano (C_5H_{12}) e il n-decano ($C_{10}H_{22}$) inclusi (frazione volatile).**

2.3 Acque reflue

L'attuale definizione del parametro di legge oli e grassi animali/vegetali prevede che questi siano determinati per differenza tra quanto estratto con freon 113 e gli idrocarburi totali non adsorbiti su gel di silice/florisil (metodo APAT-IRSA 5160 B v. sez. 3). Si rimanda al paragrafo 4 per quanto riguarda la proposta di revisione dei parametri normativi per il controllo della qualità degli scarichi.

2.3.1 Definizione del parametro oli minerali persistenti e idrocarburi di origine petrolifera persistenti

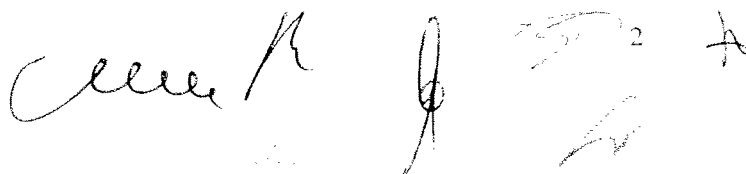
In assenza di una precisa definizione del parametro oli minerali persistenti e idrocarburi di origine petrolifera persistenti il Gruppo di lavoro propone la seguente definizione: **P'insieme dei composti che, dopo i processi di estrazione e purificazione riportati nel metodo UNI EN ISO 9377-2:2002, possono essere rivelati mediante GC-FID, su colonna capillare non polare con tempi di ritenzione compresi tra quelli del n-eicosano ($C_{20}H_{42}$) e del n-tetracontano ($C_{40}H_{82}$)"**

3. METODI DI ANALISI E STRUMENTAZIONE PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEGLI IDROCARBURI TOTALI

I metodi di misura degli idrocarburi adottati dai laboratori delle ARPA/APPA variano in funzione della matrice indagata.

Con riferimento alle **matrici solide:**

- i metodi UNI EN 14039:2005 e ISO 16703:2004 consentono la misura degli idrocarburi compresi nell'intervallo C_{10} - C_{40} per frazioni di massa comprese tra 100 e 10000 mg/kg ss. Il limite inferiore di questo campo di applicazione può essere ulteriormente ridotto per esempio concentrando l'estratto prima dell'analisi; i



laboratori devono garantire che il Limite di Quantificazione (LOQ) sia almeno il 50% del limite di legge. I metodi si applicano rispettivamente su campioni di **rifiuti solidi** e di **suolo**.

- il metodo ISO TR 11046:1994, oggi ritirato, viene tuttavia ancora usato per la determinazione degli idrocarburi per frazioni di massa superiori a 20 mg/kg mediante spettrometria all'infrarosso (IR).

Con riferimento alle **matrici acquose**:

- il metodo UNI EN ISO 9377-2: 2002, consente la misura di un **indice di idrocarburi** con concentrazione al di sopra di 0,1 mg/L.
- il metodo APAT-IRSA 5160 B consente la determinazione degli **idrocarburi totali** previa estrazione con freon 113 e purificazione su gel di silice/florisil e analisi all'IR (o FTIR) per concentrazioni di massa superiore a 0.5 mg/L
- il metodo mediante spazio di testa (EPA 5021 A)/Purge & Trap (EPA 5030C)
- il metodo mediante gascromatografia con rivelatore a spettrometria di massa (GC-MS)

Esistono anche altri metodi per la preparazione del campione e la determinazione strumentale degli idrocarburi quali, ad esempio, quelli pubblicati dall'EPA per la preparazione del campione (EPA 3510 C per le acque ed EPA 3540 C – 3545 A per le matrici solide), metodi di analisi con tecniche GC-FID (EPA 8015 D), metodi di analisi all'infrarosso (EPA 8440), gascromatografia con rivelatore a spettrometria di massa (EPA 8270D), i metodi del MADEP (Massachusetts Department of Environmental Protection), il metodo canadese CCME (Canadian Council of Minister of the Environment) e il metodo OSPAR (Operational Strategic Planning and Research) della "Commission for the Protection of Marine Environment of the North East Atlantic".

Nel confronto tra i metodi con analisi mediante spettrometria IR, sia convenzionale che in trasformata di Fourier, e quelli mediante GC, i primi presentano l'importante vantaggio della rapidità. Essi sono inoltre più sensibili ma scarsamente specifici; in particolare, possono interferire composti con comportamento simile agli idrocarburi (quali ad esempio composti polari se in concentrazioni particolarmente elevate). I metodi mediante GC, con rivelatore FID o MS, consentono di circoscrivere l'intervallo degli idrocarburi che si intende determinare e dunque di quantificare con maggiore accuratezza il contenuto di idrocarburi; inoltre, l'analisi del profilo gascromatografico fornisce generalmente informazioni utili sulla natura del prodotto contaminante. All'occorrenza, i metodi per GC possono anche consentire di quantificare individualmente una parte più o meno ampia delle sostanze presenti, mediante l'aggiunta di opportune soluzioni di riferimento.

In virtù di tale principio, il suddetto gruppo di lavoro APAT/ARPA, ISS, CNR-IRSA, ICRAM si è orientato verso **un processo di analisi** per la determinazione nelle matrici solide del parametro **idrocarburi totali** o **idrocarburi pesanti con C>12** su più fasi. L'effettuazione di una o più fasi è caso-specifica e la scelta di come procedere è lasciata alla decisione del Laboratorio. Le diverse fasi del processo sono:

1^a fase:

Screening: per identificare la presenza degli idrocarburi. In tale fase è idoneo usare il metodo per spettrometria IR (ISO TR 11046:1994, includendo tutti gli stretching C-H dalla lunghezza d'onda di 2850 a 3300 cm⁻¹). A valle della fase di screening, se il risultato della misura è inferiore al limite di quantificazione dei metodi di gascromatografia FID è possibile non procedere ad ulteriori misure di approfondimento sul campione analizzato.

In caso contrario, qualora non si voglia procedere allo screening o non si disponga di una apparecchiatura IR, passare direttamente alla 2^a fase.

2^a fase: **Quantificazione (del contenuto di idrocarburi):** utilizzando GC-FID con standard interni C₁₀ e C₄₀ o, per i suoli contaminati, C₁₂ e C₄₀.

3^a fase: **Ulteriori approfondimenti:** identificazione con GC-FID o GC-MS di costituenti specifici idrocarburi. Tale fase si applica in tutti quei casi in cui si intenda rivelare e quantificare il contenuto di specifiche sostanze idrocarburi rispetto al contenuto degli idrocarburi totali, valutati in accordo alla II fase.

Nel caso in cui rispetto al fondo vengano riscontrate concentrazioni inspiegabilmente elevate di idrocarburi totali in terreni agricoli, in terreni ripetutamente ammendati e, più in generale, in suoli per i quali non risulta chiara la relazione tra livello di idrocarburi rivelati all'analisi e la relativa fonte di inquinamento, sarà opportuno eseguire l'identificazione per GC-MS delle sostanze assimilate agli idrocarburi, al fine di evitare erronee interpretazioni dei dati.

Tale approccio è necessario anche nei casi di attività industriali a mare (es. estrazione e coltivazione di idrocarburi offshore), specie in relazione alla matrice sedimento. Infatti il contributo biogenico al contenuto di idrocarburi totali nei sedimenti marini può essere rilevante così come, in misura minore, quello proveniente da scambi gassosi con la troposfera. Oltre alla speciazione degli idrocarburi, in tali casi, si raccomanda una valutazione quali-quantitativa dei dati ottenuti, confrontandoli con quelli di campioni prelevati in opportune aree di bianco.

Qualora si debba effettuare la determinazione degli idrocarburi ai fini dell'applicazione dell'analisi di rischio sito-specifica, il campione dovrà essere sottoposto a frazionamento per determinare le diverse frazioni delle classi previste dalle Linee Guida MADEP modificate APAT (vedi manuale "Criteri metodologici per l'applicazione dell'analisi assoluta di rischio ai siti contaminati", disponibile sul sito web dell'APAT, www.apat.it).

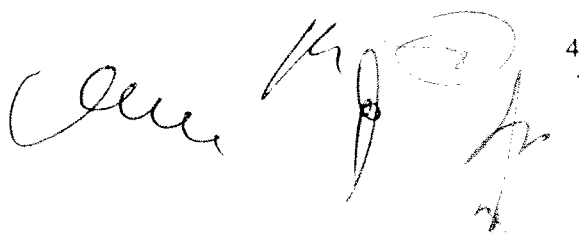
In questa fase di ulteriore approfondimento i metodi di misura dovranno essere selezionati in funzione della sostanza/e ricercata/e.

Il Gruppo di Lavoro sopra citato redigerà un volume, pubblicato da APAT, contenente l'analisi della normativa esistente riguardo agli idrocarburi e delle relative problematiche applicative, la rassegna dei metodi analitici esistenti ed un dettagliato protocollo per ognuno dei metodi utilizzati per la determinazione degli idrocarburi, comprendente tutte le fasi analitiche. Sarà quindi definito il metodo di estrazione, quello di purificazione, la determinazione strumentale dettagliata in relazione alle diverse matrici. Verrà anche effettuata la convalida dei vari metodi mediante studi collaborativi condotti dai laboratori partecipanti al Gruppo di Lavoro o ad esso correlati per la determinazione della ripetibilità e della riproducibilità dei metodi in esame.

4. RACCOMANDAZIONI E PROPOSTE DI MODIFICHE AI PARAMETRI VIGENTI

Nel presente documento sono state proposte le definizioni operative più appropriate rispetto ai metodi analitici in vigore per la determinazione dei parametri normativi idrocarburi totali, idrocarburi pesanti C>12 e oli minerali persistenti e idrocarburi di origine petrolifera persistenti nelle diverse matrici ambientali.

Nell'ottica del recepimento di direttive europee e della revisione in corso del D.Lgs. 152/2006 e al fine di armonizzare l'attuale normativa rispetto alle esigenze di applicazione dell'analisi di rischio ai siti contaminati, si rileva l'opportunità di considerare una revisione della normativa che identifichi

 4

precise classi idrocarburiche (secondo l'approccio MADEP) e specifici composti di rilevante tossicità o ecotossicità.

Per quanto riguarda, in particolare, le acque sotterranee, la determinazione dei singoli composti consentirebbe di superare le limitazioni dovute alla limitata rispondenza tra il generico parametro idrocarburi totali richiesto dalle norme vigenti e la relativa procedura analitica.

Si propone, inoltre, di sostituire al parametro per le acque reflue oli e grassi animali/vegetali (parte III All.V tab.3 riga 36 del D.Lgs.152/2006) il parametro **TOC** (UNI EN 1484:1999) che è un parametro ugualmente significativo ed indicativo della presenza di oli e grassi animali/vegetali e conseguentemente andrebbe definito il limite di legge corrispondente.

Tale proposta consentirebbe:

- l'eliminazione definitiva del Freon 113, dannoso per lo strato di ozono, o del tetracloruro di carbonio (CCl₄), cancerogeno di categoria 3 ed ecotossico, utilizzati come solventi di estrazione degli idrocarburi nel metodo per spettrometria IR (APAT-IRSA 5160 B)
- la maggiore esattezza del dato finale in quanto ottenuto tramite un'analisi strumentale diretta e non per sottrazione dei risultati derivanti da due misure
- la minimizzazione dei problemi dovuti ad eventuali interferenze (ad esempio: tensioattivi e altri composti polari) derivanti da una fase preparativa non efficiente
- l'unificazione dei metodi per la determinazione degli idrocarburi totali nelle acque reflue, utilizzando gli stessi metodi proposti per le acque superficiali e sotterranee come definiti nel paragrafo n. 2.2.

Elenco partecipanti al Gruppo di Lavoro Idrocarburi

Ente	Cognome	Nome
APAT	Balzamo	Stefania
APAT	Belli	Maria
APAT	Calabretta	Elisa
APAT	D'Aprile	Laura
APAT	de Zorzi	Paolo
APAT	Lanz	Andrea
APAT	Potalivo	Monica
ARPA Piemonte	Cossa	Gianpaolo
ARPAL	Dell'Amico	Nicola
ARPA-Lombardia	Fratini	Valeria
ARPAT	Altamura	Paolo
ARPAT	Bolletti	Patrizia
ARPAT	Garro	Sandro
ARPAT	Pistolozzi	Veronica
ARPAT	Sprugnoli	Elisa
ARPAV Veneto	Dapra	Francesca
ARPAV Veneto	Montagner	Antonio
ICRAM	Amici	Maria
ICRAM	Mannozi	Michela
ICRAM	Mecozzi	Mauro
ICRAM	Romanelli	Giulia
IRSA-CNR	Capri	Silvio
CRA-CRRPS	Sequi	Paolo
CRA-CRRPS	Trinchera	Alessandra
ISS	Di Prospero	Paola
ISS	Izzo	Paolo
ISS	Menichini	Edoardo
ISS	Musmeci	Loredana
ISS	Veschetti	Enrico
ISS	Ziemacki	Giovanni

PROPOSTA DI PROCEDURA PER L'ANALISI DEGLI IDROCARBURI $>C_{12}$ IN SUOLI CONTAMINATI

1 Scopo

Metodo per la determinazione quantitativa del contenuto degli idrocarburi con $C>12$ in campioni di suolo mediante gas-cromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma.

2 Campo di applicazione

Questo metodo è applicabile alla determinazione di tutti gli idrocarburi aventi temperatura di ebollizione compresa approssimativamente tra 216 °C e 575 °C, per esempio n-alcani dal $C_{12}H_{22}$ al $C_{40}H_{82}$, isoalcani, cicloalcani, alchilbenzeni, alchilnaftaleni e idrocarburi policiclici aromatici, ammesso che non siano adsorbiti sulla specifica colonna utilizzata per la procedura di purificazione.

Questa procedura non è applicabile alla determinazione quantitativa degli idrocarburi $C\leq 12$, per esempio quelli originati dalle benzine.

3 Termini e definizioni

Idrocarburi $C>12$

L'insieme dei composti che, dopo i processi di estrazione e purificazione riportati nel metodo, possono essere rivelati mediante gas-cromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC/FID), su colonna capillare non polare con tempi di ritenzione compresi tra quelli del n-dodecano ($C_{12}H_{22}$) e del n-tetracontano ($C_{40}H_{82}$).

Taratura iniziale

Determinazione preliminare dell'intervallo di lavoro e della linearità dello strumento

Taratura ordinaria

Analisi di almeno cinque diluizioni della soluzione di riferimento di idrocarburi per la taratura (6.7), dopo aver stabilito l'intervallo di lavoro definitivo.

4 Interferenze

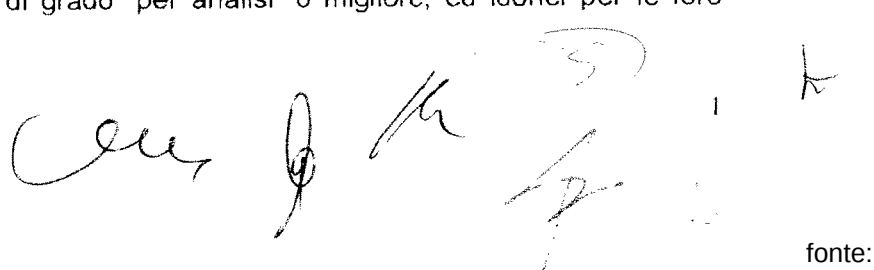
Composti non polari o debolmente polari (es. idrocarburi alogenati) ed alti livelli di composti polari possono interferire con la determinazione

5 Principio

Una quantità nota di campione omogeneizzato di suolo è estratto mediante sonicatori, o bagno ultrasuoni, o agitazione meccanica o ASE. I composti polari sono adsorbiti su colonna di Florisil. Una aliquota dell'estratto purificato è analizzato in GC/FID. Viene misurata l'area totale dei picchi nell'intervallo delimitato da due soluzioni di riferimento di n-dodecano e n-tetracontano. La quantità degli idrocarburi è determinata mediante confronto con una soluzione di riferimento esterno costituito da quantità uguali di due differenti tipi di oli minerali.

6 Reagenti

Devono essere utilizzati reagenti di grado "per analisi" o migliore, ed idonei per le loro finalità specifiche.



6.1 Acetone, $(CH_3)_2CO$

6.2 n-Eptano, C_7H_{14}

NOTA Le miscele o i solventi diversi dal n-eptano (richiesto nella norma ISO 16703) possono essere utilizzati dopo averne verificato l'equivalenza dei recuperi rispetto al n-eptano, mediante determinazioni in parallelo.

6.3 Florisil per la preparazione delle colonne di purificazione, granulometria 150-250 μm (60-100 mesh), attivato in stufa per almeno 16 h a $T=140\text{ }^{\circ}C$ e conservato in un essiccatore in presenza di un setaccio molecolare o gel di silice.
In alternativa possono essere utilizzate le colonne preimpaccate di Florisil.

6.4 Sodio solfato anidro (Na_2SO_4), riscaldato per 2h a $T=550\text{ }^{\circ}C$ e conservato in un essiccatore in presenza di un setaccio molecolare o gel di silice.

6.5 Soluzione test di stearil stearato ($C_{36}H_{72}O_2$)

Sciogliere circa 100 mg dell'estere di ottadecile dell'acido n-ottadecanoico in 100 mL di n-eptano.

6.6 Soluzione di riferimento per la finestra dei tempi di ritenzione (RTW) in n-eptano, contenente n-tetracontano e n-dodecano

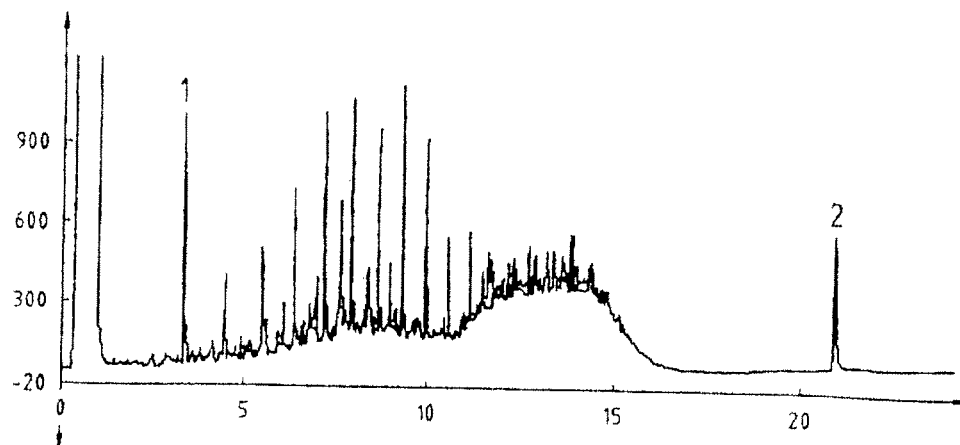
Pesare (30 ± 1) mg di n-tetracontano in un pallone tarato da 1L, sciogliere completamente in un volume appropriato di n-eptano, aggiungere 30 μL di n-dodecano (circa 21 mg), miscelare bene, portare a volume con n-eptano ed omogeneizzare. Questa soluzione sarà utilizzata per tutte le fasi di diluizioni della soluzione di riferimento degli idrocarburi (6.7).

6.7 Soluzione di riferimento di idrocarburi per la taratura

Miscelare masse approssimativamente uguali di due differenti tipi di oli minerali. Pesare questa miscela e discioglierla nella soluzione di riferimento RTW (6.6) in modo da ottenere una concentrazione in massa di idrocarburi circa pari a 8 g/L.

Il primo tipo di olio (per esempio un gasolio senza additivi) dovrebbe presentare picchi distinti nella parte sinistra del gascromatogramma (Fig. A1).

Il secondo tipo di olio dovrebbe avere un intervallo di temperatura di ebollizione più alto rispetto a quello del primo tipo di olio e dovrebbe presentare una gobba nella parte destra del gas-cromatogramma (Fig.A1). Un olio appropriato è per esempio un olio lubrificante senza additivi.



Key

- 1 *n*-decane
- 2 *n*-tetracontane

Figure A.1 — Gas chromatogram of the calibration mixture consisting of equal parts of diesel fuel and lubricating oil

Le soluzioni di taratura possono essere preparate per diluizione di una aliquota della soluzione di riferimento (6.7) con diversi volumi della soluzione di riferimento RTW (6.6a) Possono essere utilizzati soluzioni di riferimento commercialmente disponibili come ad esempio la BAM-K010 "Calibration Standard", che può essere usata come soluzione di riferimento di idrocarburi per la taratura.

6.8 Soluzione di controllo

Preparare una soluzione di controllo indipendente secondo 6.7 utilizzando una concentrazione di idrocarburi approssimativamente a metà dell'intervallo di lavoro della soluzione di riferimento di prestazione del sistema (6.9).

6.9 Soluzione di riferimento di prestazione del sistema

Preparare una miscela di parti uguali, in massa, di *n*-alcani aventi un numero di atomi di carbonio pari dal C₁₂ al C₄₀ disciolti in *n*-eptano (6.2) in modo da ottenere una concentrazione in massa pari circa a 50 mg/L per ciascun *n*-alcano. Conservare a temperatura ambiente.

Possono essere utilizzati soluzioni di riferimento commercialmente disponibili come ad esempio la TRPH Standard (Florida) C₈-C₄₀, 500 µg/mL in esano, che può essere usata come soluzione di riferimento di prestazione del sistema.

Nota 1 Questa soluzione è utilizzata per verificare l'adeguatezza del sistema gascromatografico per la risoluzione dei *n*-alcani come anche la risposta del rivelatore.

Nota 2 Questa soluzione è usata per avere informazioni sui tempi di ritenzione dei *n*-alcani, allo scopo di identificare gli idrocarburi nei campioni.

P

3

f

7 Attrezzature

7.1 Vetreteria da laboratorio, che sarà trattata ad alte temperature o lavata con acetone (6.1) e asciugata prima dell'uso

7.2 ASE

7.3 Sonicatore

7.4 Bagno ad ultrasuoni

7.5 Agitatore meccanico

7.6 Centrifuga da laboratorio, accelerazione almeno pari a 1500 g

7.7 Gas cromatografo equipaggiato con un sistema di iniezione non discriminante [preferibilmente *on-column* o PTV (iniettore con vaporizzazione a temperatura programmata)], una colonna capillare ed un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID). Esempi:

7.8 Colonna capillare, in silice fusa con le seguenti proprietà:

- *fase stazionaria non polare* : es 100% dimetilpolisilossano, o 95%-dimetil-5%-difenilpolisilossano, oppure altri polimeri di silossano modificati
- *lunghezza*: 10-30 m
- *diametro interno*: 100-320 μm
- *spessore del film*: 0,1-1,0 μm

La colonna dovrebbe fornire una separazione sulla linea di base dei n-alcani presenti nella soluzione di riferimento di prestazione del sistema

Si preferiscono le colonne a spurgo ridotto termicamente stabili

Si raccomanda l'utilizzo di una pre-colonna, (per esempio una *wide-bore* di diametro interno pari a 0,53 mm) in silice fusa disattivata di almeno 2 m di lunghezza che possa essere collegata alla colonna analitica mediante un connettore a volume zero.

Esempio:

- colonna: DB5ms (l=15 m, d.i.=320 μm , spessore film=1.00 μm)
- Pre-colonna: si, l=2 m, d.i.=530 μm

7.9 Contenitori per estrazione (in vetro o materiale idoneo), volume minimo 100 mL, con tappo di vetro smeriglio o tappo a vite con rivestimento interno in PTFE

7.10 Beuta di vetro da 25 mL, con tappo di vetro smeriglio o tappo a vite con rivestimento interno in PTFE

7.11 Imbuto separatore di capacità minima pari a 500 mL con tappo di vetro smeriglio

7.12 Colonna cromatografica per la purificazione. Devono essere utilizzate colonne di vetro con diametro interno di circa 10 mm. La parte superiore della colonna dovrebbe essere più larga per utilizzarla come serbatoio di solvente, mentre la parte inferiore

ristretta in modo da formare una punta. In alternativa possono essere utilizzate le colonne pre-impaccate di Florisil e solfato di sodio.

8 Conservazione del campione

Mantenere i campioni sigillati al buio e ad una temperatura di circa 4 °C, ed estrarli entro una settimana.

Se questo non fosse possibile, conservare i campioni a -18 °C o a temperatura minore. Omogeneizzare i campioni prima di effettuare le analisi.

9 Procedura

9.1 Bianco

Effettuare prove di bianco per ogni serie di analisi. I bianchi vengono preparati in accordo al paragrafo 9.2 ed 9.3, adoperando gli stessi reagenti e vetreria che vengono utilizzati per il trattamento dei campioni.

9.2 Procedura di essiccazione e di pretrattamento

Essiccare all'aria i campioni ed effettuare la verifica dell'umidità mediante Metodo Ufficiale n. II.1., Suppl. Ord. G.U.n.248 del 21/10/99 al punto II.1.4.1.

9.3 Procedura di estrazione

9.3.1 Estrazione mediante sonicatore

Pesare una quantità di campione, derivante dal pretrattamento (9.2), variabile da 5-30g $\pm$ 0.01 g, all'interno di un contenitore di vetro per estrazione (7.9). Se si pesa una quantità di campione pari a 20g, aggiungere (40 $\pm$ 1) mL di acetone (6.1) (rapporto campione/acetone pari a 2). Dopo breve agitazione manuale, aggiungere (20,0 $\pm$ 0,1) mL della soluzione di riferimento RTW (6.6)(rapporto campione/soluzione RTW pari a 1). Chiudere il contenitore ed estrarre il campione per 20' mediante sonicatore (7.3). Una volta sedimentato il materiale solido (per facilitare la sedimentazione è possibile utilizzare la centrifuga), trasferire la maggior quantità possibile di surnatante all'interno di un imbuto separatore (7.11). Per allontanare l'acetone, lavare la fase organica per due volte agitando l'imbuto per 5 minuti dopo aver aggiunto 100 mL di acqua. Raccogliere la fase organica all'interno di una beuta di vetro (7.10). Aggiungere una quantità sufficiente di sodio solfato anidro in modo tale da evitare la formazione di grumi.

Esempio 1: Estrazione mediante sonicatore

- Contenitori: vials in teflon, beute in vetro pyrex (*)
- Miscela o solvente di estrazione:
- Potenza: 300 W
- Cicli di estrazione: 1
- Tempo del ciclo di estrazione: 20 min
- Modalità di concentrazione: eventualmente in flusso di azoto o rotavapor a 35 °C con pompa ad acqua (o pompa da vuoto con vuoto equivalente)

(*) scelta del laboratorio

9.3.2 Estrazione mediante bagno ad ultrasuoni

Seguire la procedura di estrazione descritta in 9.3.1. In questo caso però il campione viene estratto per 30' mediante bagno ultrasuoni (7.4).



9.3.3 Estrazione mediante agitatore meccanico

Seguire la procedura di estrazione descritta in 9.3.1. In questo caso però il campione viene estratto per un'ora mediante agitatore meccanico (7.5).

9.3.4 Estrazione mediante ASE

Pesare una quantità di campione, derivante dal pretrattamento (9.2), variabile da 5-30 g $\pm$ 0.01 g, all'interno di una cella di estrazione.

Esempio 1: Estrazione mediante ASE

- modello: Dionex ASE 200
- metodo di riferimento: EPA 3545
- celle utilizzati: celle in acciaio da 22 mL o da 33 mL
- miscela estraente: n-esano/diclorometano (1:1)
- tempo di preriscaldamento: 0
- tempo per raggiungere la temperatura di estrazione impostata: 5 min
- temperatura di estrazione: 100 °C
- pressione: 1500 psi
- numero dei cicli di statica: 2
- tempo di ogni ciclo di statica: 5 min
- volume di "flush" della cella (%): 50 %
- tempo di "purge" della cella: 90 s
- modalità di concentrazione: eventualmente sotto flusso di azoto o rotavapor a 35 °C con pompa ad acqua (o pompa da vuoto con vuoto equivalente)

9.3.4.1 Riduzione a volume noto e cambio solvente

Portare quasi a secco sotto flusso d'azoto o altro e riprendere fino a raggiungere un volume finale di 10 mL con soluzione di riferimento per la finestra dei tempi di ritenzione (RTW) in n-eptano, (6.6)

9.4 Procedura di purificazione

Trasferire 10 mL di estratto all'interno di una colonna di purificazione riempita, nell'ordine, con un batuffolo di lana di vetro prelavata o un frit in PTFE, 2 g di Florisil (6.3) e 2 g di sodio solfato anidro (6.4). Non pre-lavare la colonna con solventi organici. Raccogliere l'intero eluato. Trasferire un'aliquota dell'estratto purificato in una vial per GC e procedere nell'analisi gascromatografica.

Purificazione su colonna cromatografica:

- Materiale adsorbente: Florisil
- Quantità Florisil: 2 g
- Utilizzo di solfato di sodio: sì, 2 g
- modalità di concentrazione: es., in corrente di azoto

Nota 1: E' possibile utilizzare per la purificazione anche cartucce commerciali preimpaccate, ad es. con 2 g di Florisil e 2 g di solfato di sodio, purché i risultati relativi all'efficienza di recupero siano equivalenti alla colonna di Florisil. Seguire, a tal proposito, le indicazioni del fornitore sia per il condizionamento che per l'eluizione delle cartucce.

9.5 Idoneità del Florisil

Occorre verificare l'idoneità del Florisil ad intervalli regolari ed ogni volta che viene utilizzato del Florisil appartenente ad un altro lotto.

A tal proposito, usare la soluzione test di stearil stearato (6.5) e la soluzione di prestazione del sistema (6.9).

Eseguire la procedura di purificazione (9.4) con 10 mL della soluzione di stearil stearato e raccogliere l'intero eluato. Analizzare un'aliquota della soluzione risultante al gascromatografo. Analizzare una diluizione 1+19 di soluzione test di stearil stearato (6.5) non trattato come riferimento. Calcolare il rapporto tra le aree dei picchi corrispondenti al stearil stearato purificato con quelle dello stearil stearato non trattato (vedere equazione sotto riportata).

$$R_{90} = \frac{A_{f90}}{A_{u90}} \times 5$$

dove

R_{90} = è il recupero della soluzione di stearil stearato

A_{f90} = è l'area del picco dello stearil stearato dopo purificazione espressa nelle unità arbitrarie strumentali.

A_{u90} = è l'area del picco della diluizione (1+19) della soluzione non trattata dello stearil stearato nelle stesse unità arbitrarie strumentali.

Il recupero non deve superare il 5%. In caso contrario occorre attivare il Florisil (6.3) e ripetere il test.

Eseguire la procedura di purificazione (9.4) con 10 mL della soluzione di riferimento di prestazione del sistema (6.9) e raccogliere l'intero eluato. Determinare il recupero degli idrocarburi sulla base delle aree dei picchi dovuti rispettivamente alle soluzioni di riferimento purificate e non trattate (vedere equazione sotto riportata).

$$R_{HC} = \frac{A_{fHC}}{A_{uHC}} \times 100$$

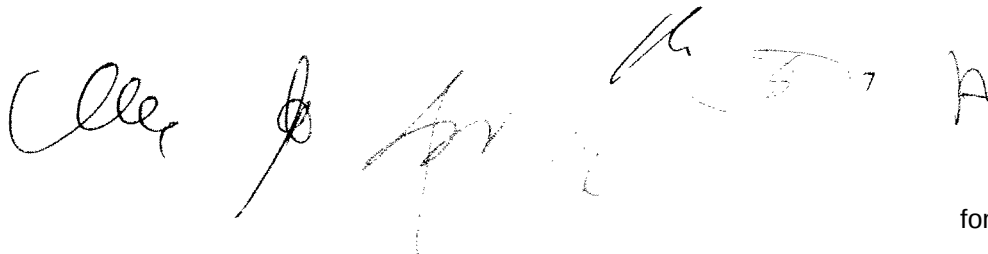
dove

R_{HC} = è il recupero della soluzione di riferimento di idrocarburi.

A_{fHC} = è l'area del picco della soluzione di riferimento di idrocarburi dopo purificazione espressa nelle unità arbitrarie dello strumento.

A_{uHC} = è l'area del picco della soluzione di riferimento di idrocarburi non sottoposta a purificazione, espressa nelle unità arbitrarie dello strumento.

Il recupero deve essere superiore all'80%, in caso contrario è necessario attivare nuovamente il Florisil (6.3) e ripetere il test.



9.6 Determinazione gas-cromatografica

9.6.1 Test di prestazione del sistema gas-cromatografico

Usare una colonna capillare con una delle fasi stazionarie già indicate (7.8) per analisi gas-cromatografiche.

Impostare i parametri del gas-cromatografo in modo tale da ottimizzare la separazione. I n-alcani della soluzione di riferimento di prestazione del sistema (6.9) devono essere separati alla linea di base. La risposta relativa del n-tetracontano (C_{40}) rispetto al n-eiocosano (C_{20}) non deve essere inferiore a 0,8.

Come tecniche di iniezione alla colonna si riportano i seguenti esempi:

1) Tecnica di iniezione: PTV

- Colonna: DB5ms (l=15 m, d.i.=320 μ m, spessore film=1.00 μ m)
- Precolonna: sì, l=2 m, d.i.=0.53 mm
- Temperatura Iniettore: 270 °C
- Modalità iniezione: Splitless
- Pressione: 131 kPa
- Flusso totale: 59.1 mL/min
- Gas di trasporto: elio
- Volume iniettato: 1 μ L
- Modalità di lavoro del gas di trasporto: pressione costante
- Rampa di Temperatura: 80 °C per 1 min, 20 °C/min fino a 320 °C per 30 min
- Temperatura del rivelatore: 350 °C
- Flussi dei gas di lavoro del rivelatore: idrogeno 30.0 mL/min, aria 400 mL/min, make-up 60 mL/min

2) Tecnica di iniezione: on-column

- Colonna: BPX-5 (l=12 m, d.i.=320 μ m, spessore film=1.00 μ m)
- Temperatura Iniettore: 270 °C
- Pressione: 100 kPa
- Flusso totale: 59.1 mL/min
- Gas di trasporto: elio
- Volume iniettato: 1-3 μ L
- Modalità di lavoro del gas di trasporto: pressione costante
- Rampa di Temperatura: 80 °C per 1min, 20 °C/min fino a 320 °C, 320 °C per 30 min
- Temperatura del rivelatore: 350 °C
- Flussi dei gas di lavoro del rivelatore: idrogeno 30.0 mL/min, aria 400 mL/min, make-up 60 mL/min

9.6.2 Taratura

9.6.2.2 TARATURA ORDINARIA

Dopo aver eseguito la verifica di corretto funzionamento dello strumento mediante una taratura iniziale in accordo con la ISO 8466-1 analizzare almeno 5 diluizioni della soluzione di riferimento di idrocarburi per la taratura (6.7). Calcolare la funzione di taratura dalla regressione lineare utilizzando come dati le aree dei picchi corretti. Stimare la sensibilità del metodo dalla funzione di regressione calcolata.

NOTA. Questo tipo di taratura viene effettuata nel caso in cui la strumentazione viene messa in funzione per la prima volta o dopo manutenzione straordinaria

9.6.2.3 VERIFICA DELLA VALIDITA' DELLA FUNZIONE DI TARATURA

Verificare la validità della funzione di taratura per ogni serie di campioni analizzando una soluzione di controllo indipendente (6.8). In questo modo vengono individuati eventuali problemi nella taratura prima di processare i campioni. Affinché venga verificata la validità della funzione di taratura i risultati ottenuti dalle analisi effettuate sulla soluzione di controllo devono avere uno scostamento non superiore al 10 % dal valore di riferimento. In caso contrario è necessario ripetere la taratura (9.6.2.2).

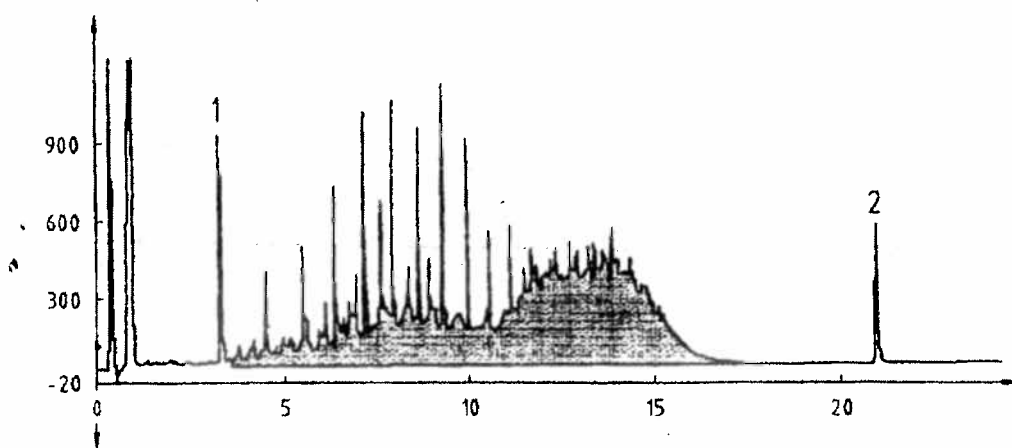
9.6.3 Misura

Analizzare il bianco procedurale, gli estratti dei campioni, le soluzioni di riferimento per la taratura e le soluzioni di controllo sotto le stesse condizioni gas-cromatografiche.

Analizzare il n-eptano per ogni serie di campioni. Il suo gas-cromatogramma è usato per correggere i cromatogrammi dei bianchi procedurali, degli estratti dei campioni e delle soluzioni di controllo prima di effettuare l'integrazione.

9.6.4 Integrazione

Integrare il gas-cromatogramma tra il n-dodecano ed il n-tetracontano. Iniziare l'integrazione subito dopo la fine del picco del n-dodecano al livello del segnale del fronte del picco del solvente. Terminare l'integrazione subito prima l'inizio del picco del n-tetracontano allo stesso livello del segnale (Fig. A3). Integrare, inoltre, il n-tetracontano come picco separato per il controllo del recupero.



Key

- 1 n-decane
- 2 n-tetracontane

Figure A.3 — Integrated gas chromatogram of the calibration mixture of mineral oil corrected for the "column bleed"

Handwritten signatures and initials are present at the bottom of the page, including a large signature that appears to be "F. Lee" and several other initials.

La presenza dei picchi sulla coda del picco del solvente con tempi di ritenzione inferiori a quelli del n-dodecano indica che il campione contiene idrocarburi volatili basso bollenti. Riportare quanto osservato nel rapporto di prova.

Una linea di base non orizzontale al termine del cromatogramma (tempi di ritenzione maggiori del n-tetracontano) con un livello di segnale maggiore dello spurgo della colonna, indica la presenza nel campione di idrocarburi alto-bollenti con un numero di carboni maggiore di 40. Riportare quanto osservato nel rapporto di prova. Occorre inoltre accertarsi che questi composti eluiscano completamente dalla colonna, perché in caso contrario potrebbero interferire nelle analisi dei campioni successivi.

Controllare l'integrazione di tutti i cromatogrammi: l'inizio e la fine dell'integrazione deve essere visibile nel cromatogramma.

Nota: La forma del picco e l'intensità del segnale del n-tetracontano sono sensibili alle modifiche nelle proprietà della superficie dell'iniettore e/o della precolonna a causa della contaminazione a carico dei costituenti del campione. Pertanto, possono essere utilizzate come una buona indicazione per la sostituzione della precolonna e/o del rivestimento.

9.7 Calcoli

Determinare il contenuto di idrocarburi del campione utilizzando la seguente equazione:

$$W_h = \rho \frac{V_h}{m} \cdot f \cdot \frac{100}{W_s}$$

dove

$$\rho = \frac{A_s - b}{a}$$

e dove:

W_h = è la frazione in massa di idrocarburi del campione di suolo, espressa in mg/kg s.s.;

ρ = è la concentrazione di idrocarburi dell'estratto calcolati mediante funzione di taratura, espressa in mg/L;

V_h = è il volume di n-Eptano estratto espresso in mL;

f = fattore di diluizione (se applicato)

m = è la massa di campione prelevata per le analisi espressa in g

W_s = è il contenuto di sostanza secca del campione di suolo, espresso come percentuale (frazione di massa), determinato in accordo alla ISO 11465

A_s = è l'area integrata del picco dell'estratto del campione, espresso nelle unità arbitrarie dello strumento.

b = è l'intercetta sull'asse delle Y, espressa nelle unità arbitrarie dello strumento

a = è la pendenza della retta di taratura, espressa in L/mg

9.8 Espressione dei risultati

Esprimere i risultati con le stesse cifre decimali rispetto ai limiti di legge.

9.9 Calcolo del LOQ

Per ogni misura indipendente di campione calcolare il LOQ (ovvero il limite di quantificazione). A tal fine determinare il rumore corrispondente al massimo della gobba presente nella parte destra del gascromatogramma ed inserire tale valore nella seguente relazione:

$$LOQ = \frac{3N - b}{a} \cdot \frac{V_h}{m} \cdot f \cdot \frac{100}{W_s}$$

dove:

LOQ = è il limite di quantificazione relativo allo specifico campione processato espresso in mg/kg s.s.;

V_h = è il volume di n-eptano estratto espresso in mL;

f = fattore di diluizione (se applicato)

m = è la massa di campione prelevata per le analisi espressa in g

W_s = è il contenuto di sostanza secca del campione di suolo, espresso come percentuale (frazione di massa), determinato in accordo alla ISO 11465

N = è il rumore determinato sul massimo della gobba, espresso in unità arbitrarie dello strumento. I metodi per il calcolo del rumore (noise) possono essere differenti (vedi All.1).

b = è l'intercetta sull'asse delle Y, espressa nelle unità arbitrarie dello strumento

a = è la pendenza della retta di taratura, espressa in L/mg

E' possibile calcolare il LOQ anche mediante curva di taratura (punto più basso della curva). Si sottolinea comunque che con questo metodo non viene considerato l'effetto matrice.

