

# Seminario

Metodi analitici a confronto:  
esperienze nella misura degli Idrocarburi  
Policiclici Aromatici in matrici ambientali

Roma 28 ottobre 2008



ARPA Puglia – Dipartimento Provinciale di Bari



# A.R.P.A. PUGLIA

## Dipartimento di BARI

***La tecnica GPC e sua applicazione per la determinazione degli  
IPA in matrici ambientali ed alimentari***

F. Fiume, F. Ferrieri



ARPA Puglia – Dipartimento Provinciale di Bari

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- La messa a punto di metodiche innovative per la determinazione degli IPA riveste una importanza fondamentale per ragioni legate alla elevata cancerogeneità di questi composti organici.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- La nota n.600.5/78N3/156/1657 del Ministero della Sanità, seguita alle segnalazioni fatte dalle Autorità Sanitarie spagnola, tedesca e norvegese, tramite il sistema rapido di allerta comunitario, invitava gli organi competenti ad effettuare ed intensificare controlli analitici su oli di sansa di origine spagnola, italiana e greca al fine di verificare se quelli in commercio risultassero contaminati da IPA.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- La formazione di elevati livelli di IPA negli oli di sansa sarebbe dovuta ad una non idonea tecnologia di produzione piuttosto che ad una contaminazione accidentale dovuta a fattori esterni.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- In particolare, gli idrocarburi policiclici aromatici si formerebbero durante la fase di essiccazione delle sanse vergini eseguita per esposizione diretta ai fumi di combustione delle sanse esauste.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- L'approccio analitico intrapreso è stato quello di mettere a punto una metodica che fosse di semplice manualità ed atta a dosare, con limiti di rivelabilità appropriati, gli 8 IPA per i quali sono stati fissati i tenori massimi con l'Ordinanza Ministeriale del 18/09/01.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici

Aromatici in matrici ambientali

Roma 28 ottobre 2008

- Dopo aver attentamente considerato i vari metodi analitici proposti dalla bibliografia, risultati particolarmente laboriosi o poco adatti all'analisi in GC-MS, è stata seguita la strada della purificazione in GPC (Gel Permeation Chromatography).



Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali

Roma 28 ottobre 2008

- Tale scelta è stata supportata dal fatto che il tipo di resina comunemente utilizzato per il riempimento della colonna nella tecnica di purificazione in GPC è un polimero a base di stirene e divinil benzene (bio-beads SX 3) e quindi di natura aromatica come quella degli IPA.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici

Aromatici in matrici ambientali

Roma 28 ottobre 2008

- La purificazione degli IPA si ottiene dunque come risultato di due effetti combinati.



## Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici

### Aromatici in matrici ambientali

Roma 28 ottobre 2008

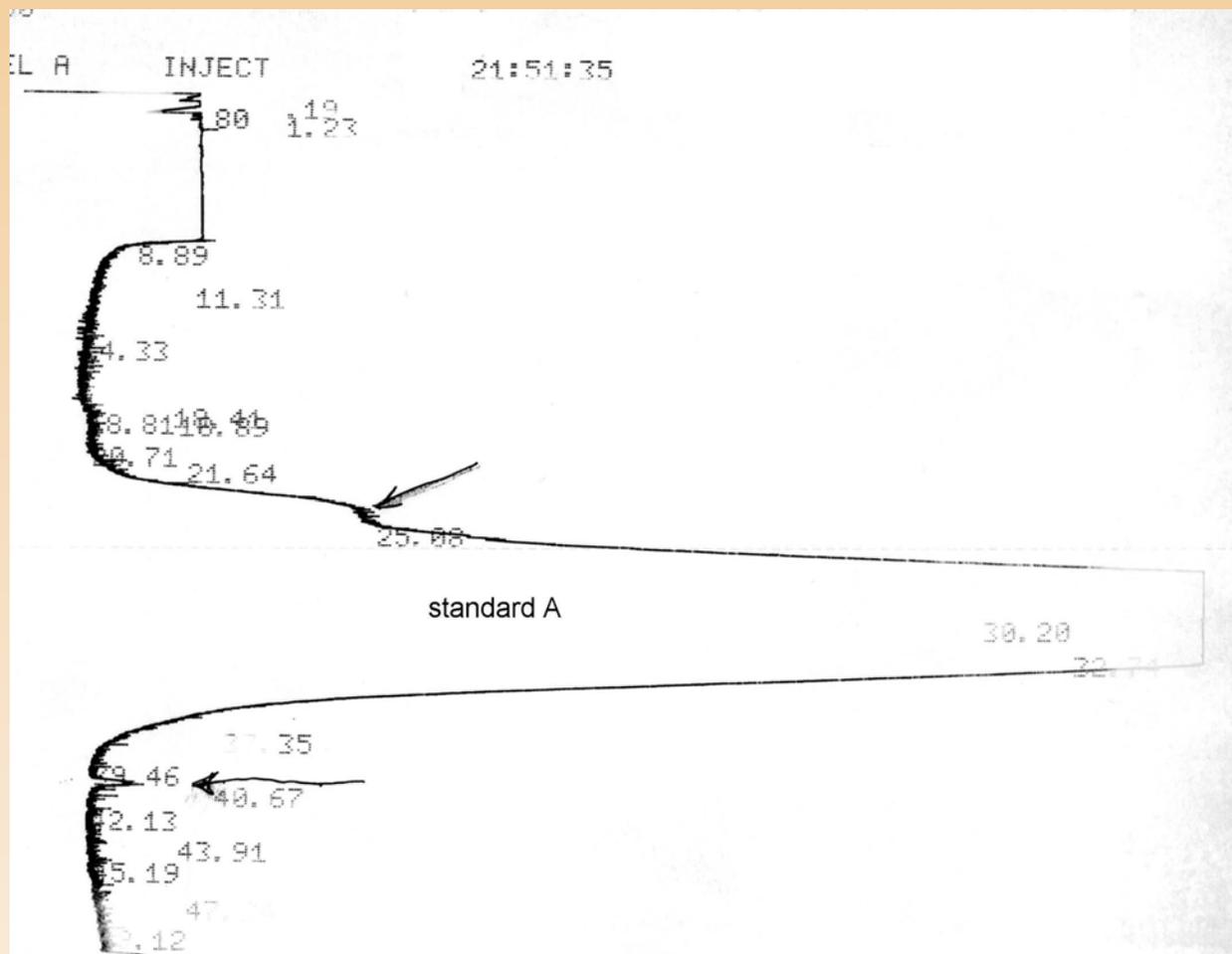
- Il primo effetto è quello tipico della Size Exclusion Chromatography che implica la diffusione selettiva di molecole di soluto attraverso i pori di un sistema a reticolo tridimensionale, costituito dalla resina, per cui il grado di ritenzione dipende dalle dimensioni del soluto rispetto a quelle del poro: molecole piccole vanno permeare i pori più piccoli, quelle di grandezza media vanno a permeare solo una parte dei pori e sono escluse da altri, mentre le molecole di grandi dimensioni (gliceridi, clorofille, carotenoidi) sono completamente escluse e passano più rapidamente attraverso la fase stazionaria eluendo per prime dalla colonna.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

- Il secondo effetto è quello dovuto all'affinità chimica degli IPA per la fase stazionaria per cui, soprattutto quelli più pesanti, vengono eluiti più lentamente permettendo di allungare notevolmente i tempi di scarto e rendendo così più efficace la purificazione.

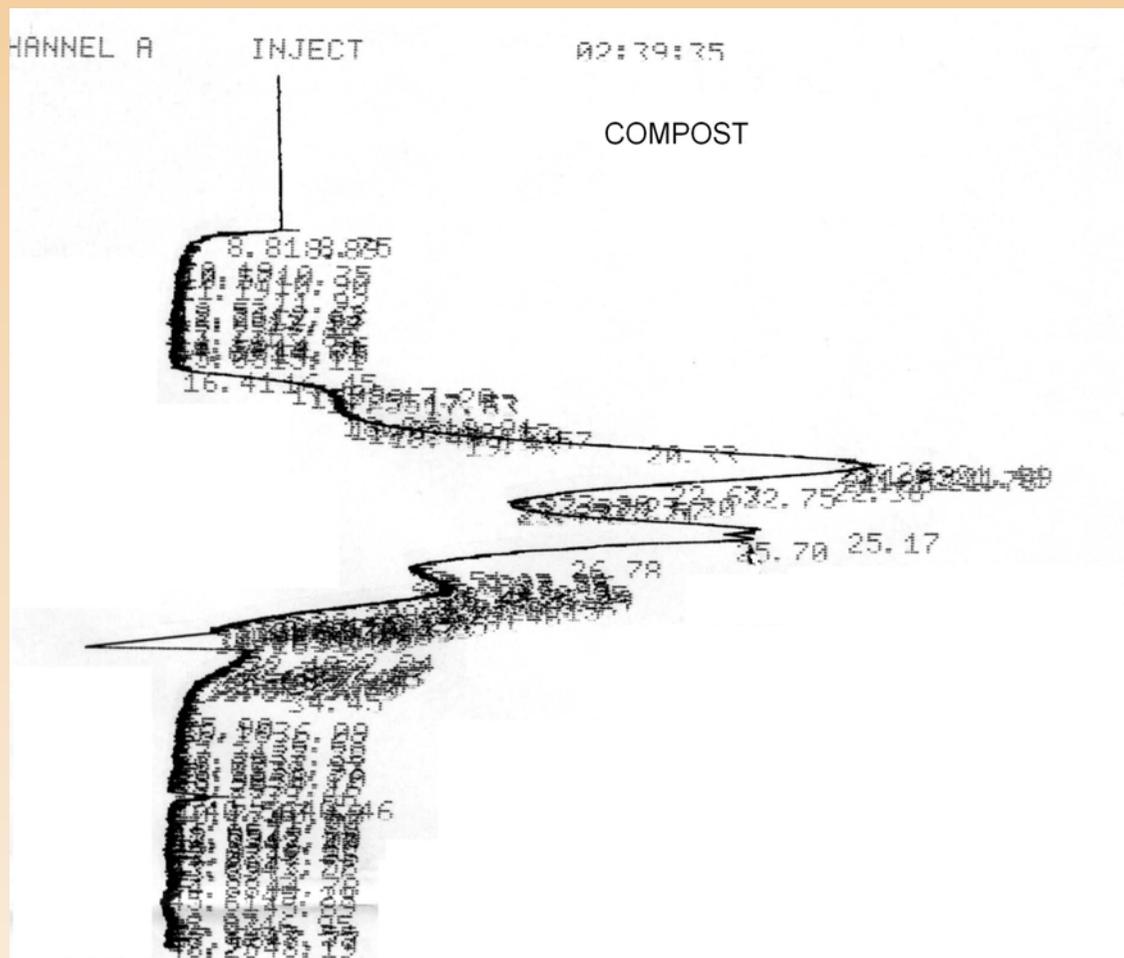


Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008





Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008



## Preparazione del campione all'analisi

- Si pesano 2 gr di olio e si addizionano con 5µg/kg di I.S. (100 µl della soluzione a 100 µg/lit di crisene D<sub>12</sub> in cicloesano) e 5 ml di eluente miscelando accuratamente.

## Purificazione GPC

- 1 ml di soluzione viene iniettata nel sistema GPC previa filtrazione attraverso un filtro per siringa.
- Si scarta per 24 minuti la prima frazione e si raccoglie, per 28 minuti in una provetta a fondo conico, la seconda frazione contenente gli IPA purificati.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

## Analisi in GC-MS

- Si evapora cautamente in un bagnomaria a 50 °C in corrente di azoto fin quasi a secchezza.
- Si riprende con 50 µl di isottano e si iniettano 2 µl nel sistema GC-MS dotato di iniettore on-column, monitorando le m/z 228-240-252-276-278.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

## Circuiti di interconfronto

Con le attività relative alla linea progettuale 4a della Legge 93/01 abbiamo partecipato con la nostra metodica a due circuiti di interconfronto, uno su un campione di compost e l'altro su un campione di sedimento lacustre ottenendo dei risultati assolutamente sovrapponibili a quelli ottenuti con il metodo standard. In questi casi la purificazione con GPC è stata preceduta da una estrazione con ASE.

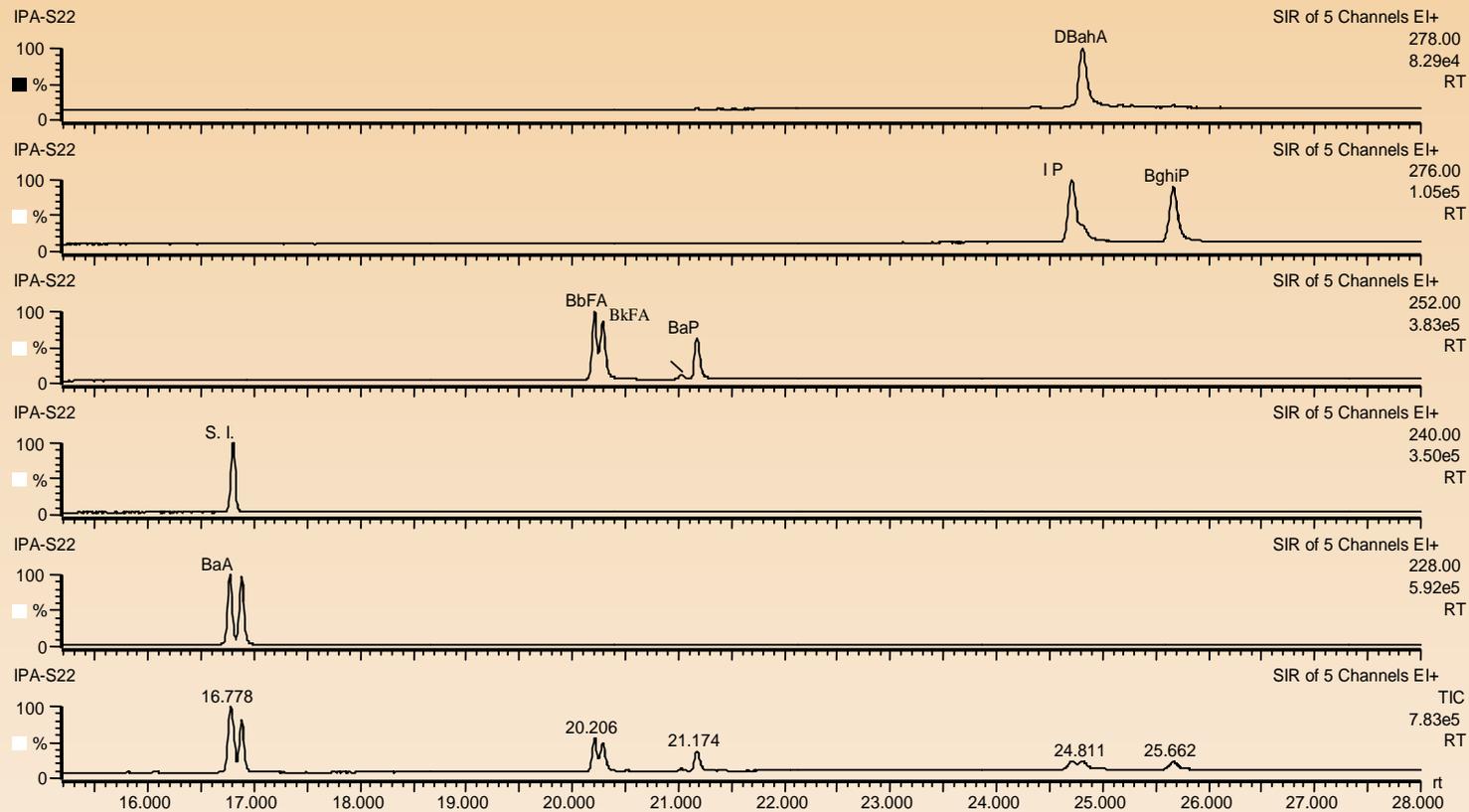


Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

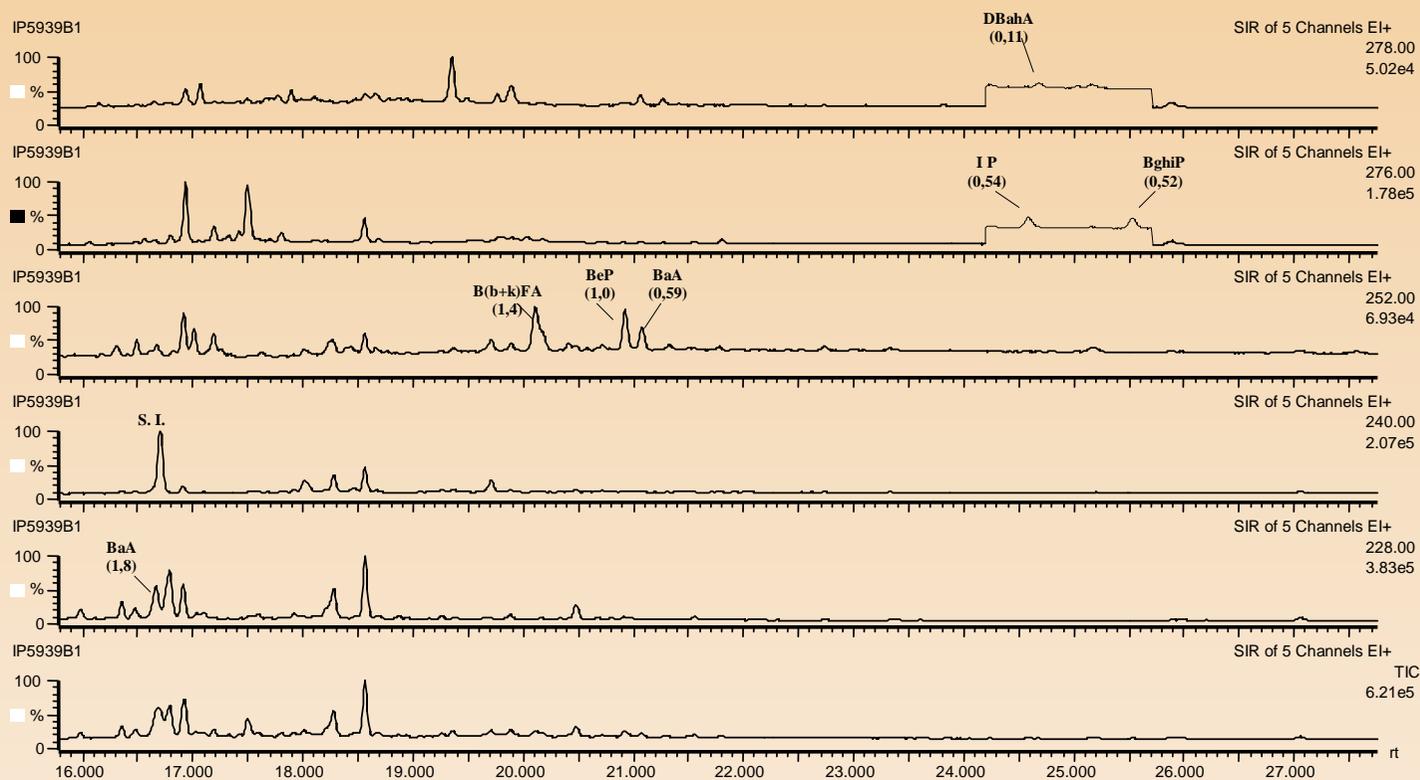
## Estrazione con ASE (Accelerated Solvent Extractor)

- 5 gr di campione vengono miscelati con 10 gr di Hydromatrix ed addizionati con 10 µg/kg di standard di processo.
- Condizioni operative:  
Solvente: acetato di etile  
Temperatura: 50°C  
Pressione: 1500 psi  
Numero di cicli: 3

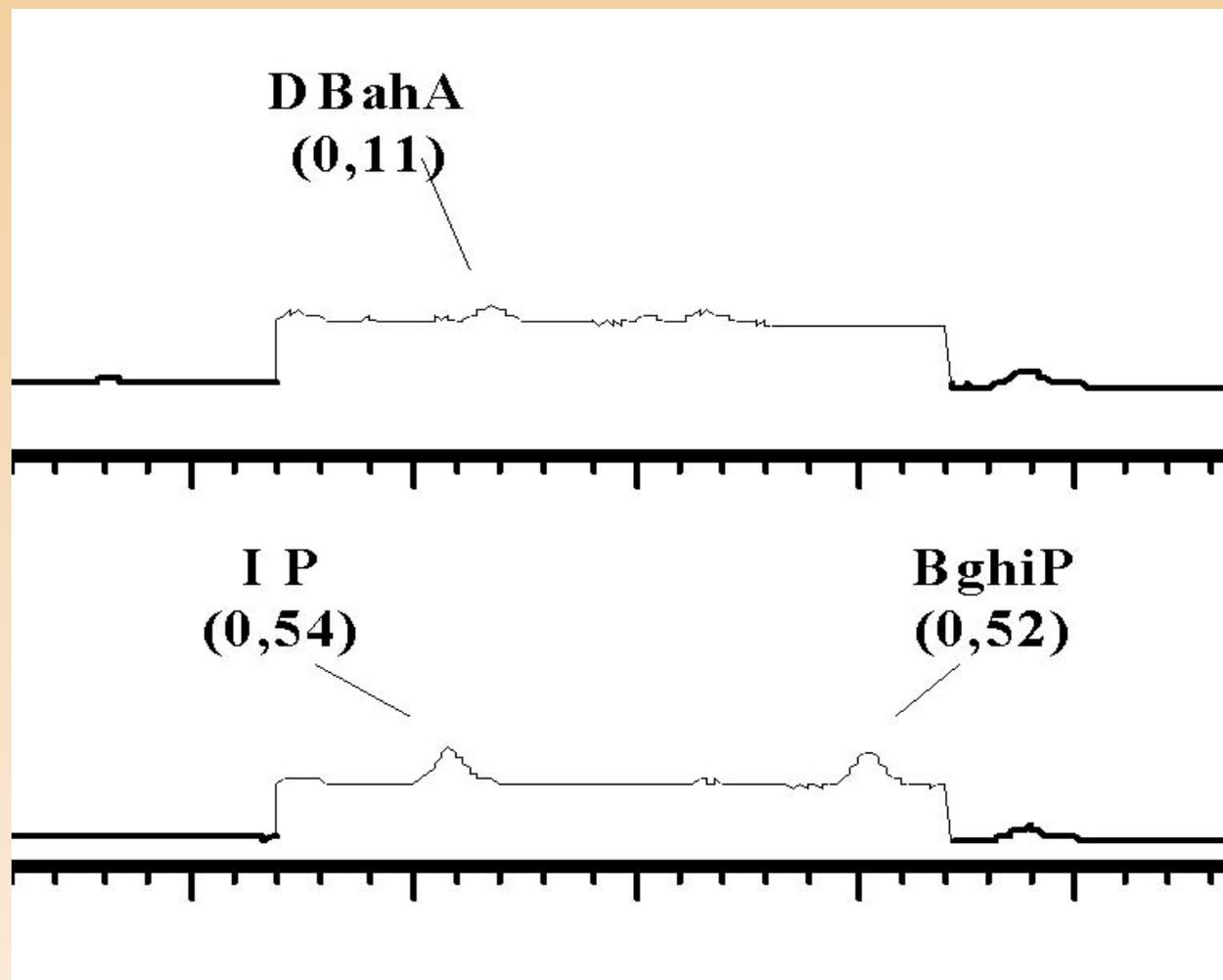
Figura 1 - Cromatogramma di una soluzione di IPA + IS a 100 µg/l.



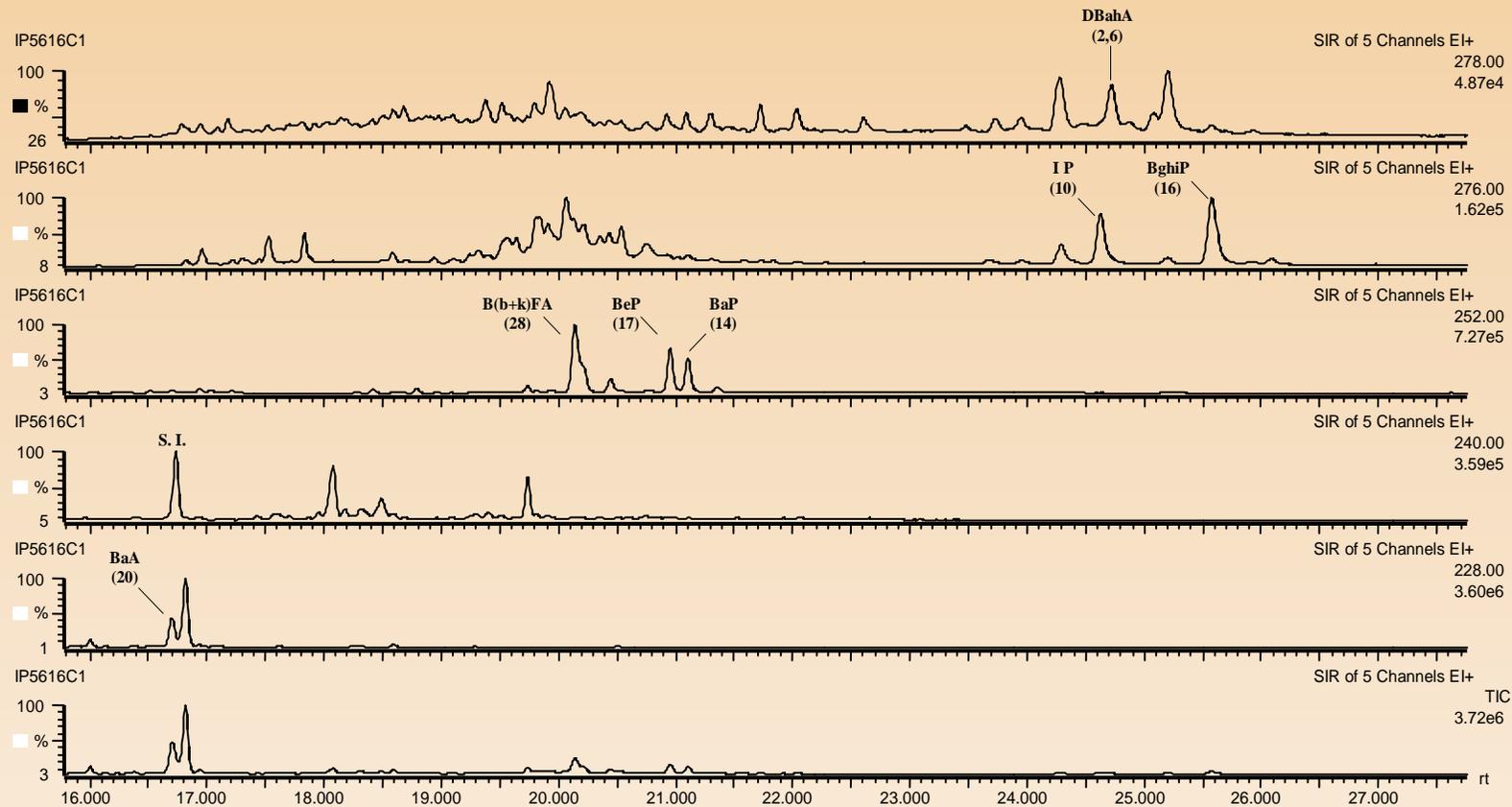
**Figura 2:** Cromatogramma di un campione di olio di sansa raffinato a basso contenuto di IPA su cui è stata effettuata un'aggiunta di 5  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  di IS (nelle parentesi é indicata la concentrazione rilevata in  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ).



# IPA ....



**Figura 3** Cromatogramma di un campione di olio di sansa grezzo su cui è stata effettuata un'aggiunta di 10 µg/Kg di IS (nelle parentesi é indicata la concentrazione rilevata in µg/Kg).



**Tabella 1** Parametri statistici relativi al recupero di 10 µg/Kg di ogni singolo IPA aggiunti ad un olio a basso contenuto di IPA

	<b>BaA</b>	<b>BbF</b>	<b>BkF</b>	<b>BaP</b>	<b>IP</b>	<b>DBahA</b>	<b>BghiP</b>
Prova 1	10,4	10,6	9,4	9,1	9,6	9,0	9,1
Prova 2	10,5	10,0	9,5	9,8	9,0	9,4	9,7
Prova 3	9,9	9,8	9,5	9,5	9,4	8,9	9,9
Prova 4	10,4	10,2	9,1	9,8	9,0	9,4	9,7
Prova 5	9,5	9,7	9,9	9,9	10,1	9,9	10,2
Prova 6	10,3	9,5	10,3	10,6	9,4	9,4	9,2
Prova 7	10,0	9,2	10,0	9,5	9,9	10,1	9,5
Prova 8	9,0	10,3	9,8	10,4	10,2	9,8	10,3
Media	10,0	9,9	9,7	9,8	9,6	9,5	9,7
Recupero	90-105%	92-106%	91-103%	91-106%	90-102%	90-101%	91-103%
Errore Std	0,19	0,16	0,14	0,17	0,16	0,15	0,15
Dev. Std	0,52	0,45	0,38	0,49	0,46	0,42	0,43
Coef. Var. %	5,24	4,59	3,95	4,99	4,81	4,45	4,44

**Tabella 2 - Parametri statistici relativi al recupero di 1 µg/Kg di ogni singolo IPA aggiunti ad un olio a basso contenuto di IPA**

	<b>BaA</b>	<b>BbF</b>	<b>BkF</b>	<b>BaP</b>	<b>IP</b>	<b>DBahA</b>	<b>BghiP</b>
Prova 1	1,06	0,96	0,88	0,79	0,91	0,97	0,99
Prova 2	0,84	0,87	0,84	0,98	0,78	0,93	0,83
Prova 3	0,80	0,90	0,91	0,78	0,80	0,90	0,85
Prova 4	0,88	0,82	0,85	0,81	0,84	0,93	0,88
Prova 5	0,85	0,87	0,88	0,90	0,88	0,89	0,91
Media	0,89	0,88	0,87	0,85	0,84	0,92	0,89
Recupero	80-106%	82-96%	84-91%	78-98%	78-91%	89-97%	83-99%
Errore std	0,05	0,02	0,01	0,04	0,02	0,01	0,03
Dev. std	0,10	0,05	0,03	0,09	0,05	0,03	0,06
Coef. Var %	11,44	5,80	3,18	10,08	6,42	3,39	7,02

**Tabella 4 - Contenuto di IPA in  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  su campioni di olio di sansa grezzo**

Campione	<i>BaA</i>	<i>B(b+k)FA</i>	<i>BeP</i>	<i>BaP</i>	<i>IP</i>	<i>DBahA</i>	<i>BghiP</i>	Somma
1	18	25	16	9.8	8.3	4.8	15	96
2	31	43	27	29	15	3.6	30	179
3	24	30	19	8.9	8.0	3.4	16.2	109
4	46	27	16	11	7.2	2.1	9.9	119
5	20	28	17	14	10	2.6	16	108

## Conclusioni

- Come si evince dalle tabelle 1 e 2 relative ai parametri statistici calcolati su due livelli di concentrazione ( $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  e  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ), la metodica descritta ha dato delle ottime percentuali di recupero, comprese tra 78% e 106 %.

Metodi analitici a confronto: esperienze nella misura degli Idrocarburi Policiclici  
Aromatici in matrici ambientali  
Roma 28 ottobre 2008

Grazie per l'attenzione



ARPA Puglia – Dipartimento Provinciale di Bari