

# **Nuova procedura di misurazione degli idrocarburi nelle acque: sviluppo e convalida**

---

**Paolo de Zorzi**

***Servizio Metrologia Ambientale - ISPRA***

***Roma, 26 novembre 2014***

# Un processo condiviso

- a) Costituzione **Gruppo di lavoro**
- b) Analisi dei problemi ed **elaborazione** procedura di misurazione (varie fasi)
- c) Acquisizione **pareri** ARPA/APPA
- d) Esecuzione studio di **convalida** (studio collaborativo)
- e) Risultati: **discussione** nel Gdl e laboratori
- f) procedura di misurazione: **revisione** e **stesura** finale
- g) *Processo di **approvazione** del Consiglio Federale*
- h) *Manuali e Linee Guida ISPRA: **pubblicazione***

# Gdl Idrocarburi acque

**2012 - 2014**

Istituzione di un GdL per stesura di una procedura per determinazione degli idrocarburi nelle acque.

**ISPRA,**

**ARPA** (Emilia Romagna, Liguria, Lombardia, Piemonte, Toscana, Veneto)

**ISS**

**CNR-IRSA**

# Da dove si è partiti

## **Obiettivo:**

- Unica procedura in grado di determinare il contenuto di idrocarburi totali in diverse matrici acquose, in risposta alle richieste di legge;
- Abbandonare l'utilizzo di sostanze dannose per l'ambiente e per la salute (cancerogene)
- Adattare procedure e norme tecniche già utilizzate a livello nazionale ed internazionale
- Definire caratteristiche di prestazione della procedura

# Struttura della procedura

## **PROCEDURA DI MISURAZIONE PER LA DETERMINAZIONE DEGLI IDROCARBURI TOTALI NELLE ACQUE**

- Scopo
- Campo di applicazione
- Riferimenti
- Termini e definizioni
- Interferenze
- Metodo A – Frazione volatile
- Metodo B – Frazione estraibile
- Calcolo concentrazione idrocarburi totali
- Calcolo LOQ
- Ripetibilità e riproducibilità
- Calcolo incertezza

# Scopo

Determinazione per via gascromatografica (GC-FID) degli idrocarburi nelle acque.

- determinazione della frazione **volatile** (**Metodo A**)
- determinazione della frazione **estraibile** (**Metodo B**)

**idrocarburi totali come somma delle due frazioni, esprimibili anche come n-esano**

# Campo di applicazione (1)

Acque **sotterranee, superficiali**, acque **reflue** e acque da impianti di trattamento degli **scarichi fognari**

**concentrazioni > 0,05 mg·L<sup>-1</sup>**

acque superficiali destinate ad **uso potabile** e acque **reflue**



Frazione estraibile - **Metodo B**

Il contenuto di idrocarburi totali misurato in GC-FID nelle acque reflue non può essere sottratto dal contenuto di idrocarburi determinato con altri metodi, basati su principi differenti, per esprimere il contenuto relativo a specifiche frazioni di idrocarburi non quantificabili con la presente procedura.

# Campo di applicazione (2)

**"oli e grassi animali e vegetali" ?**

(scarichi in acque superficiali e in fognatura)



**ASTM D7066-04  
(2011)** alternativo a  
APAT-IRSA-CNR 5160B



**APAT-IRSA-CNR  
5160**  
(gravimetrico)

**determinazione degli "idrocarburi totali" in accordo alla  
procedura messa a punto dal Gruppo di Lavoro**

# Definizione: idrocarburi totali

- a) Idrocarburi, determinati mediante spazio di testa statico (EPA 5021 A) e analisi in gascromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC-FID) compresi tra il 2-metilpentano ( $C_6H_{14}$ ) e il n-decano ( $C_{10}H_{22}$ ) inclusi (frazione volatile), sottratti il MTBE, l'ETBE, il TAME e il DIPE in quanto eteri;
- b) 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 ( $C_{40}H_{82}$ ), esclusi (frazione estraibile).

Note:

idrocarburi alifatici, aliciclici, aromatici o aromatici alchil-sostituiti, a catena lunga o ramificata, in accordo alla definizione IUPAC.

Idrocarburi con  $C > 5$  e  $C < 40$ .

# Interferenze

---

Normali precauzioni adottate in laboratorio per evitare interferenze (effetti memoria, pulizia vetreria, reattivi, verifica bianchi, etc.)

Sostanze a bassa polarità (idrocarburi alogenati).  
Sostanze polari (alta concentrazione)  
Tensioattivi



Fase di estrazione

# Metodo A: frazione volatile

---

Poco solubile in acqua, occupa lo spazio di testa di flaconi chiusi ermeticamente, in cui è contenuto il campione acquoso.

La tecnica “**spazio di testa** statico” consiste nell’analisi in GC-FID della fase vapore del campione in equilibrio termodinamico con la fase liquida.

Si misura l’area del cromatogramma compresa tra il **2-metilpentano** e il **n-decano, inclusi**

Quantificazione mediante una **retta di taratura esterna di benzina certificata o di n-esano**, in funzione delle modalità di espressione del risultato richieste dalla legge.

# Metodo A:

## alcuni aspetti tecnico-procedurali (1)

**Bianco  
strumentale**

**Bianco Procedurale**

Area < 50% dell'area del punto di  
taratura corrispondente al LOQ

### **Controllo di taratura**

Soluzione di riferimento di benzina (o n-esano) di lotto  
diverso rispetto a soluzione di riferimento utilizzata per la  
taratura

### **Sistema GC-FID**

- ✓ auto campionatore per spazio di testa statico
- ✓ Colonna in silice fusa:

*fase stazionaria non polare o a media polarità;*

*lunghezza: da 5 a 60 m;*

*diametro interno: da 0.25 mm a 0.53 mm;*

*spessore della pellicola: da 0.25  $\mu\text{m}$  a 1.2  $\mu\text{m}$ .*

# Metodo A:

## alcuni aspetti tecnico-procedurali (2)

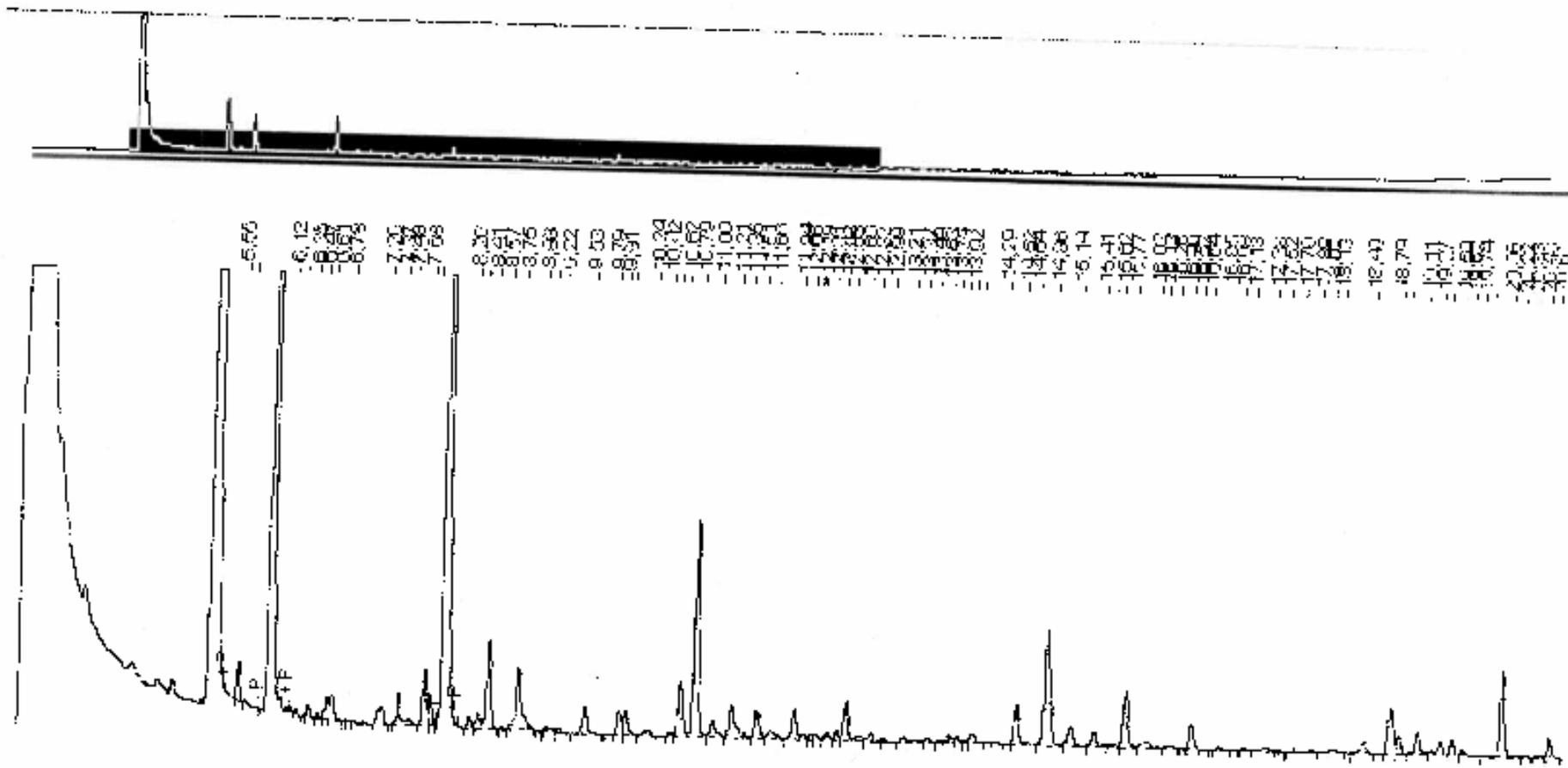
### Qualità del dato

si raccomanda, per ogni sessione analitica, di eseguire in **doppio** almeno un campione di prova incognito. La ripetibilità osservata  $\leq$  limite di ripetibilità del laboratorio per il metodo.

### Analisi e calcoli

Riportare il dato finale come sommatoria delle aree dei picchi integrati. Individuare ed integrare i singoli picchi relativi al MTBE, ETBE, DIPE e TAME. Sottrarre i valori delle loro aree all'area totale metilpentano/n-decano.

Il risultato della misura ( $C_{volatile}$ ) è ottenuto dalla retta di taratura.

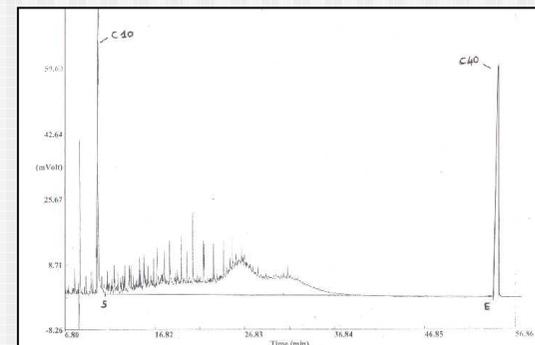


# Metodo B: frazione estraibile

**Estrazione** del campione con solventi di idrocarburo singolo o miscela di idrocarburi con temperature di ebollizione rientranti all'interno dell'intervallo 36-69°C (**ad esempio n-esano**).

**Purificazione** su Florisil, **concentrazione, taratura e analisi in GC-FID**

**Misura dell'area totale** dei picchi compresi tra **n-decano** e **n-tetracontano (estremi esclusi)**, mediante confronto con una curva di **taratura esterna** ottenuta con soluzioni di riferimento (**miscela certificata di due oli minerali**)



# Metodo B:

## Calcolo ed espressione dei risultati (1)

$$\rho_{\text{estraibile}} = \frac{(A_m - b) \cdot f \cdot V \cdot w}{a \cdot (m_1 - m_2)}$$

$\rho_{\text{estraibile}}$  = concentrazione in massa ( $\text{mg L}^{-1}$ ) di idrocarburi della frazione estraibile;

$a$  = pendenza ( $\text{L mg}^{-1}$ ) della retta di taratura;

$A_m$  = area di picco integrata dell'estratto del campione, in unità dipendenti dalla strumentazione;

$f$  = fattore di diluizione dell'estratto del campione;

$m_1$  = la massa (g) del contenitore di campionamento riempito;

$m_2$  = massa (g) del flacone del campione vuoto;

$w$  = densità ( $\text{g mL}^{-1}$ ) del campione d'acqua (per l'acqua, può essere utilizzato  $1,00 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );

$V$  = volume (mL) dell'estratto finale;

$b$  = intersezione della retta sull'asse  $y$ , in unità dipendenti dalla strumentazione.

# Metodo B:

## Calcolo ed espressione dei risultati (2)

Il dato ottenuto può essere **espresso come n-esano** applicando un fattore di correzione (**fattore di risposta**) determinato sperimentalmente.

Il fattore di risposta, determinato sperimentalmente, è dato dal rapporto tra il valore di concentrazione di idrocarburi ottenuto per un medesimo campione a fronte di una retta di taratura in n-esano (con solvente n-pentano) e quello ottenuto con una retta di taratura con miscela di oli minerali (tipo A + tipo B).

**fattore di risposta  $\sim 1$  (0.9-1,2)**

# Idrocarburi totali e LOQ

$$C_{totali} = C_{volatile} + C_{estraibile}$$

Concentrazione espressa in **mg L<sup>-1</sup> con due cifre significative**. Per esprimere in  $\mu\text{g L}^{-1}$  con tre cifre significative si moltiplica il risultato espresso in  $\text{mg L}^{-1}$  per 1000. Le cifre significative oltre la seconda saranno sempre pari a zero (ad esempio  $340 - 360 \mu\text{g L}^{-1}$ ), operando di fatto un arrotondamento alla decina (o alle centinaia nel caso di misure dell'ordine del migliaio di microgrammi per litro).

**Un solo valore < LOQ**, si somma al valore quantificato il 50% del valore del LOQ.  $C_{totali} = C_{volatile} + 1/2LOQ_{estraibile}$

**Entrambi i valori < LOQ** si sommano il 50% di ciascun LOQ

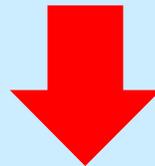
$$C_{totali} = 1/2LOQ_{volatile} + 1/2LOQ_{estraibile}$$

# Convalida del metodo (1)



## ISPRA SC008 (anno 2013-2014)

Definizione dei parametri di prestazione della procedura di misurazione



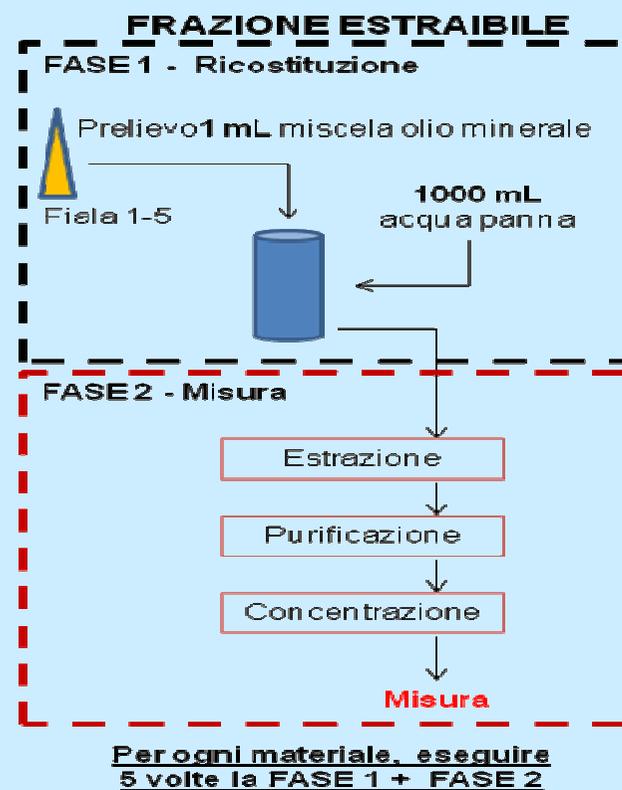
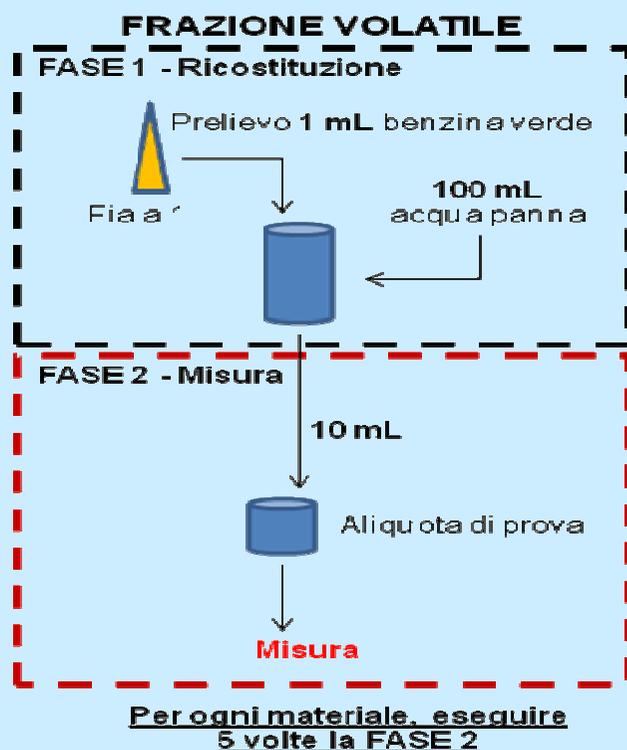
**S<sub>r</sub>% Ripetibilità** (intra-laboratorio)

**S<sub>R</sub>% Riproducibilità** (tra laboratori)

Il Rapporto Conclusivo (2014) è disponibile su richiesta  
[metrologia.ambientale@isprambiente.it](mailto:metrologia.ambientale@isprambiente.it)

# Convalida del metodo (2)

**16 laboratori ARPA/APPA**  
**5 soluzioni riferimento** (2 volatili + 3 estraibili, diverse concentrazioni)



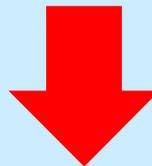
# Convalida del metodo (3)

## Elaborazioni statistiche

Per ogni laboratorio, **5 misure indipendenti** per ciascuna soluzione

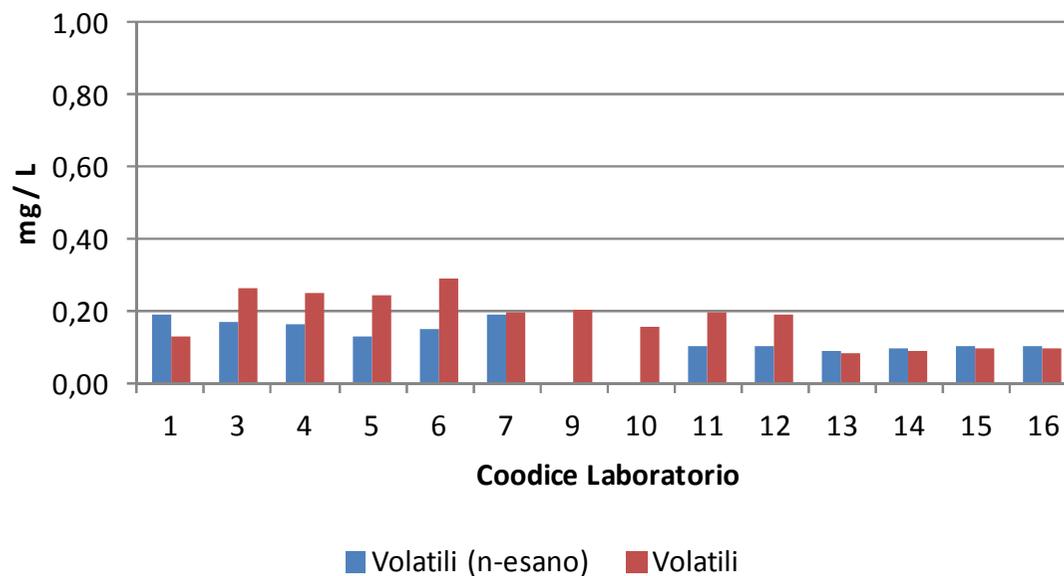
**Test di Grubbs** e **Cochran** per la verifica di **valori dubbi** (struggler) e **anomali** (outlier) sia per le medie che per le varianze (intra-laboratorio).

**Test** secondo la **statistica  $h$  e  $k$  (Mandel)**, per valutare graficamente la consistenza statistica dei risultati dei laboratori (intra e tra laboratorio).

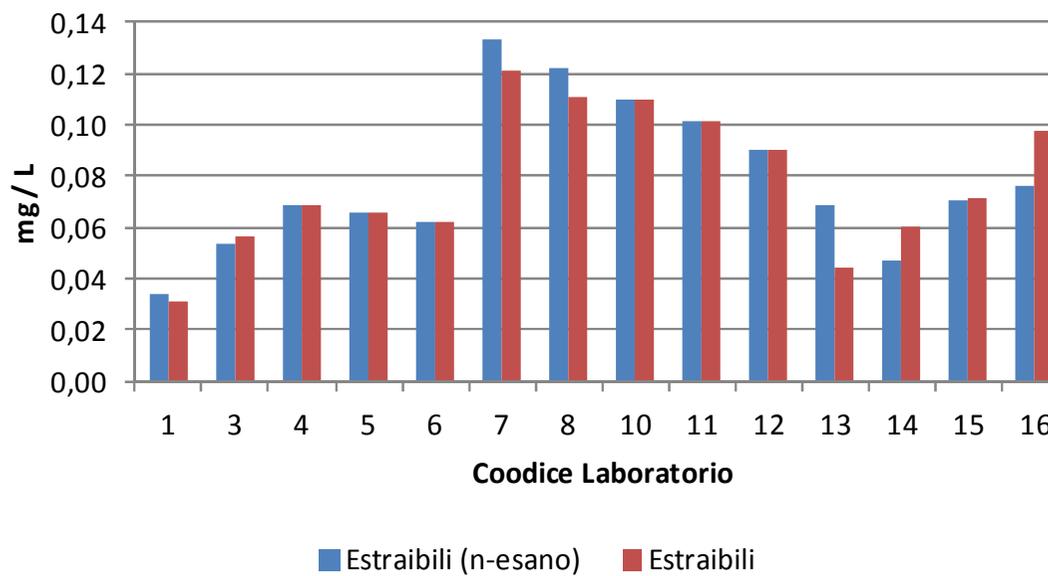


UNI ISO 5725-2:2004

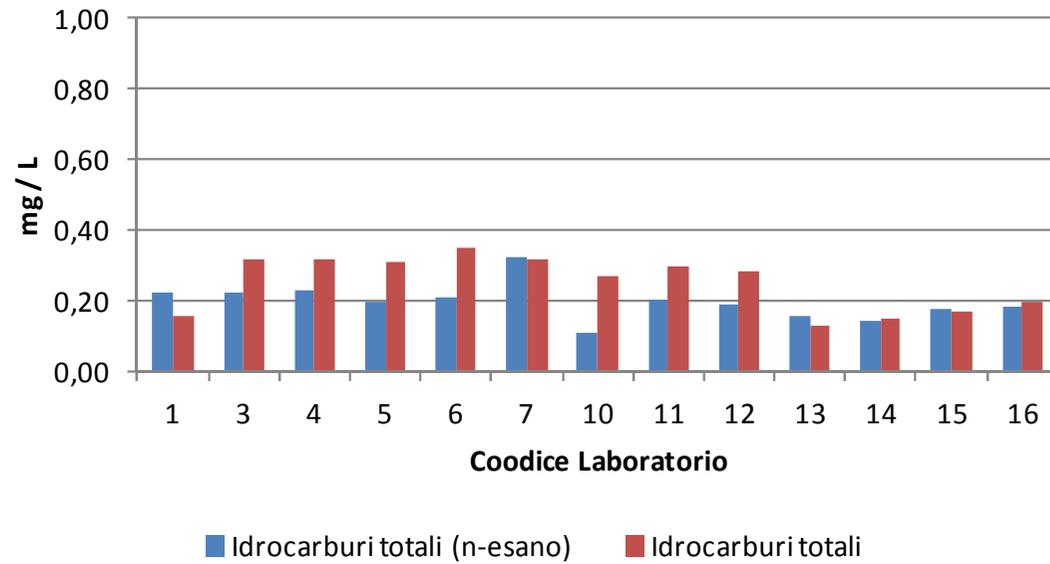
ISPRA RM051 - Frazione volatile



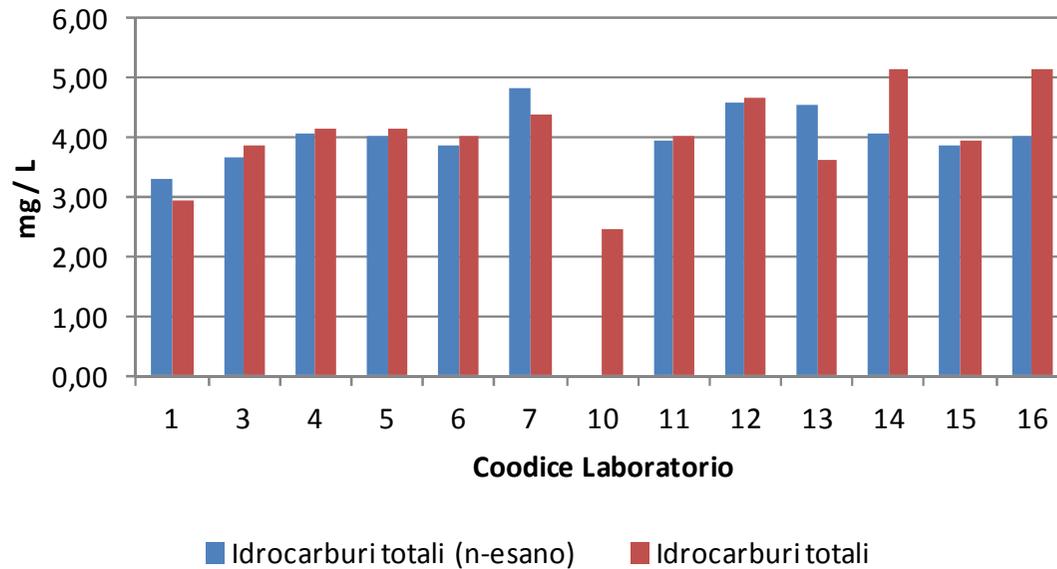
ISPRA RM053 - Frazione estraibile



**Idrocarburi totali - Bassa concentrazione**



**Idrocarburi totali - Alta concentrazione**



# Metodo A: frazione volatile

	Campione 1		Campione 2	
	$C_{volatile}$	$C_{volatile}$ (espressa in n- esano)	$C_{volatile}$	$C_{volatile}$ (espressa in n- esano)
Media mg L <sup>-1</sup>	0,18	0,13	0,66	0,49
<b>Ripetibilità</b> $S_r$ %	<b>7,9</b>	<b>6,5</b>	<b>4,6</b>	<b>6,1</b>
<b>Riproducibilità</b> $S_R$ %	<b>39,8</b>	<b>28,0</b>	<b>44,2</b>	<b>35,5</b>
$n$	14	11	14	12
Lab eliminati	0	1	0	0

## Metodo B: frazione estraibile

	Campione 3		Campione 4		Campione 5	
	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n- esano)	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n- esano)	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n-esano)
Media mg L <sup>-1</sup>	0,079	0, 079	0,23	0,23	3,9	3,9
<b>Ripetibilità</b> <i>S<sub>r</sub></i> %	<b>14,3</b>	<b>13,3</b>	<b>15,9</b>	<b>16,5</b>	<b>17,0</b>	<b>7,0</b>
<b>Riproducibilità</b> <i>S<sub>R</sub></i> %	<b>35,4</b>	<b>37,6</b>	<b>39,1</b>	<b>44,1</b>	<b>24,6</b>	<b>21,4</b>
<i>n</i>	14	14	14	14	14	13
Lab eliminati	0	0	0	0	0	1

# Idrocarburi totali: volatile+estraibile

	Idrocarburi totali <b>bassa</b> concentrazione		Idrocarburi totali <b>alta</b> concentrazione	
	$C_{totali}$	$C_{totali}$ (espressa in n- esano)	$C_{totali}$	$C_{totali}$ (espressa in n-esano)
Media mg L <sup>-1</sup>	0,25	0,19	4,0	4,0
<b>Ripetibilità</b> $S_r$ %	<b>6,5</b>	<b>6,5</b>	<b>8,7</b>	<b>8,8</b>
<b>Riproducibilità</b> $S_R$ %	<b>31,2</b>	<b>15,5</b>	<b>20,5</b>	<b>13,0</b>
$n$	13	11	13	12
Lab eliminati	0	1	0	0

# **Incertezza: che fare? (1)**

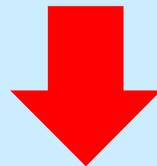
**Il laboratorio stabilisce l'incertezza da associare al risultato della misura in funzione della sua destinazione d'uso.  
Come?**

**Ad esempio:**

- a. Utilizzare i risultati di **confronti interlaboratorio** in cui sono specificati i parametri di **ripetibilità** ( $S_r$ ) e **riproducibilità** ( $S_R$ )
- b. **Studio di convalida** del metodo al proprio **interno** e definizione dei contributi all'incertezza (con riferimento alla GUM "Guida alla Valutazione dell'Incertezza di Misura")

## **Incertezza: che fare? (2)**

**ripetibilità ( $S_r$ ) e riproducibilità ( $S_R$ )**



ISO 21748:2010

Incertezza estesa da associare al risultato della misura

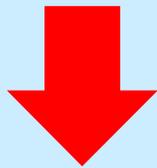
$$U = k \times S_R$$

**Verificare che:**

- **La propria ripetibilità  $\leq$  quella riportata in procedura**
- **che lo scostamento, rispetto ad un materiale di riferimento certificato (CRM) idoneo allo scopo, sia trascurabile.**

## Incertezza: che fare? (3)

Se scostamento NON trascurabile



$$\frac{u_c}{C} = \sqrt{S_R^2 + \left(\frac{u_{CRM}^2}{C_{CRM}}\right)^2}$$

Dove: 
$$\frac{u_{CRM}^2}{C_{CRM}} = \sqrt{\left(\frac{u_{cert}}{C_{cert}}\right)^2 + \left(\frac{S_{mis}}{\sqrt{n}}\right)^2}$$

$S_{mis}$  = scarto tipo di n misure del CRM

$u_{cert}$  = incertezza ricavata dal certificato del CRM

$C_{cert}$  = concentrazione in massa del parametro idrocarburi nel certificato del CRM.

# **Incertezza:**

**Quali valori di riproducibilità?**

---

Il valore è in funzione della matrice e della concentrazione misurata

**Caso 1:** concentrazione di idrocarburi totali nelle acque sotterranee (espressi come n-esano)

**Caso 2:** concentrazione di idrocarburi nelle acque reflue

# Caso 1: concentrazione di idrocarburi totali nelle acque sotterranee (espressi come n-esano)

Concentrazione misurata: 0,43 mg/L

	Idrocarburi totali <b>bassa</b> concentrazione		Idrocarburi totali <b>alta</b> concentrazione	
	$C_{totali}$	$C_{totali}$ (espressa in n-esano)	$C_{totali}$	$C_{totali}$ (espressa in n-esano)
Media mg L <sup>-1</sup>	0,25	0,19	4,0	4,0
Ripetibilità $S_r$ %	6,5	6,5	8,7	8,8
Riproducibilità $S_R$ %	31,2	15,5	20,5	13,0

## Caso 2: concentrazione di idrocarburi nelle acque reflue

Concentrazione misurata: 2,2 mg/L

	Campione 3		Campione 4		Campione 5	
	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n-esano)	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n-esano)	$C_{estraiibile}$	$C_{estraiibile}$ (espressa in n-esano)
Media mg L <sup>-1</sup>	0,079	0,079	0,23	0,23	3,9	3,9
<b>Ripetibilità</b> $S_r$ %	<b>14,3</b>	<b>13,3</b>	<b>15,9</b>	<b>16,5</b>	<b>17,0</b>	<b>7,0</b>
<b>Riproducibilità</b> $S_R$ %	<b>35,4</b>	<b>37,6</b>	<b>39,1</b>	<b>44,1</b>	<b>24,6</b>	<b>21,4</b>

# Riferimenti

1. UNI EN ISO 5667-3:2013. *Qualità dell'acqua - Campionamento - Parte 3: Conservazione e trattamento di campioni d'acqua.*
2. ISO 8466-1:1990. *Water quality- Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics- Statistical evaluation of the linear calibration function.*
3. UNI EN ISO 9377-2:2002. *Qualità dell'acqua- Determinazione dell'indice di idrocarburi Metodo mediante estrazione con solvente e gascromatografia.*
4. EPA 5021A:2003. *Volatile Organic Compounds in soils and other solid matrices using equilibrium headspace analysis.*
5. EPA 8015D:2003 *Non-halogenated Organics using GC/FID.*
6. APAT-IRSA/CNR "Metodi analitici per le acque" Manuali e linee guide N°29/2003, Vol.2
7. ASTM D7066-04 (2011), "Standard Test Method for dimer/trimer of chlorotrifluoroethylene (S-316) Recoverable Oil and Grease and Nonpolar Material by Infrared Determination
8. UNI ISO 5725-2:2004, "Accuratezza (esattezza e precisione) dei risultati e dei metodi di misurazione - Parte 2: Metodo base per determinare la ripetibilità e la riproducibilità di un metodo di misurazione normalizzato"
9. ISO 21748:2010, "Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation"