

ALLEGATO II

**Metodo di campionamento e di analisi
per la misura delle concentrazioni degli idrocarburi policiclici aromatici
diversi dal benzo(a)pirene**

1. Finalità

Il presente allegato descrive una procedura analitica atta alla determinazione dei seguenti idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in fase particolata nell'aria ambiente: benz[*a*]antracene, benzo[*b*]fluorantene, benzo[*j*]fluorantene, benzo[*k*]fluorantene, benzo[*a*]pirene, dibenz[*a,h*]antracene, indeno[1,2,3-*cd*]pirene.

In linea di principio, il metodo è applicabile anche ad altri IPA presenti in aria in fase particellare, non citati nella normativa e tuttavia riconosciuti mutageni e/o cancerogeni. Tra di essi, speciale importanza hanno i congeneri con 4-5 anelli e con caratteristiche chimico-fisiche simili a quelle dei suddetti sette IPA (p.es., il metodo può essere applicato per la stima del crisene e del benzo[*ghi*]perilene). In tale prospettiva, per la valutazione dell'incertezza si fa riferimento alla norma ENV 13005:1999 (*Guide to expression of uncertainty in measurements*), mentre il soddisfacimento degli altri requisiti (efficienza di recupero, limite di rivelabilità, controllo di qualità) dovrà essere dimostrato con la convalida per l'estensione del metodo agli ulteriori analiti (rif. Guida EURACHEM *The fitness for purpose of analytical methods*).

Nel testo che segue, con la locuzione "IPA cancerogeni" o semplicemente con "IPA" si devono intendere i sette congeneri di cui al primo paragrafo.

Il metodo è stato redatto sulla base della norma UNI EN 15549:2008 [1] modificata dove necessario per inserire nella valutazione, oltre al benzo[*a*]pirene, gli altri sei IPA sopra citati. Il metodo è utilizzabile nell'ambito dell'applicazione del D.Lgs. 13 agosto 2010, n. 155 [2].

Le caratteristiche di qualità del metodo di misura descritto sono basate su campionamenti di polveri sospese protratti per 24 h. Il metodo è costituito da una sequenza di più azioni principali, comprendendo: *a*) la raccolta degli IPA atmosferici come parte delle polveri toraciche (PM10), applicando sistemi che soddisfino i requisiti della norma UNI EN 12341:2001; *b*) l'estrazione del campione dal substrato, *c*) l'analisi chimica strumentale operata per cromatografia liquida ad alta pressione accoppiata alla rivelazione per fluorescenza (HPLC-FLD) oppure per gascromatografia capillare accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MSD); tra le azioni *b*) e *c*) è spesso operata, in special modo per l'analisi strumentale condotta per GC-MSD, la purificazione dell'estratto organico, per eliminare la gran parte degli interferenti analitici. Poiché la quantità di campione analitico, a parità d'altre condizioni, è proporzionale alla velocità del flusso di campionamento delle polveri sospese, ai fini della misura può essere opportuno il raggruppamento di campioni quotidiani su base settimanale, quindicinale o mensile e valutare il contenuto medio degli IPA (e i corrispettivi rapporti di concentrazione) per l'intero periodo considerato. L'operazione non inficia le misure, ai fini della normativa sopra citata.

Il metodo è applicabile per misure di IPA le cui concentrazioni ricadano in un campo compreso tra $\sim 0,02 \text{ ng/m}^3$ e $\sim 20 \text{ ng/m}^3$. Il limite inferiore del campo d'applicazione dipende dalle condizioni



sperimentali di campo e di laboratorio (p.es., flusso d'aspirazione del campionatore di polveri, risposta strumentale dello strumento analitico, intensità del rapporto segnale/rumore, intensità dei segnali di bianco-filtro di laboratorio). D'altro canto, se le concentrazioni degli IPA eccedono il valore superiore dell'intervallo di taratura dello strumento, l'estratto organico può essere diluito con opportuno solvente.

2. Termini e definizioni

Per gli scopi di questo metodo si applicano i seguenti termini e definizioni.

2.1 analita

Sostanza oggetto d'indagine quali/quantitativa. Nel nostro caso, congenere IPA la cui presenza nel substrato deve essere confermata e quantificata.

2.2 soluzione di taratura

Soluzione usata per tarare lo strumento d'analisi chimica, contenente gli analiti d'interesse a concentrazioni opportune, preparata per diluizione di una soluzione madre di *riferimento* (IPA al massimo grado di purezza possibile).

2.3 materiale di riferimento certificato (CRM)

Materiale di riferimento di cui una o più proprietà (p.es., il contenuto di alcune sostanze chimiche) sono certificate da una procedura tecnica valida, accompagnata da/riconducibile a un certificato ovvero altra documentazione rilasciata da un ente certificatore.

2.4 soluzione di riferimento esterni

Soluzione di analiti a concentrazioni note.

2.5 filtro bianco di campo

Filtro o membrana di raccolta per le polveri, che è stato sottoposto alla stessa procedura applicata ai campioni di polveri atmosferiche, ma attraverso il quale non è stata fatta passare aria ambiente.

2.6 soluzione di riferimento interno/i

Soluzione di una o più sostanze note a concentrazioni prestabilite, aggiunte al campione prima dell'analisi strumentale (cromatografica).

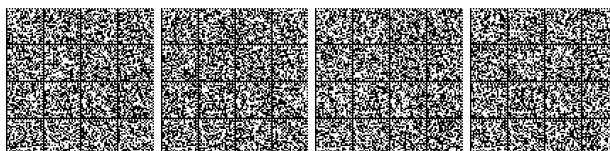
Una sola soluzione di riferimento interno sembra necessaria quando si opera in HPLC/FLD; qualora l'analisi strumentale sia eseguita in GC/MSD, si consiglia l'uso di almeno due soluzioni di riferimento interne che eluiscono in porzioni distinte del cromatogramma, al fine di tenere conto della diversa volatilità degli analiti.

2.7 filtro bianco di laboratorio

Filtro (o membrana filtrante) non trasportato al di fuori del laboratorio, che è sottoposto alla medesima procedura analitica utilizzata per il campione ambientale.

2.8 PM10

Materiale particolato che penetra attraverso un ingresso dimensionale selettivo conforme al metodo di riferimento per il campionamento e la misurazione del PM10 (norma UNI EN 12341), con



un'efficienza di penetrazione del 50 per cento per materiale particolato di diametro aerodinamico pari a 10 μm . [3]

2.9 soluzione di bianco reagenti

Soluzione che contiene tutti i reagenti utilizzati nel corso dell'analisi del campione, escludendo il campione medesimo e la matrice del filtro. [normativa EN 14902:2005] [4]

2.10 soluzione madre di riferimento

Soluzione usata per preparare le soluzioni di taratura, contenente gli analiti ognuno a una concentrazione riconducibile a campioni nazionali o internazionali (riferibilità).

2.11 soluzione di riferimento surrogato/i

Soluzione di una o più sostanze note e a concentrazione nota, usata per fortificare i filtri-membrana prima dell'estrazione, al fine di valutare l'efficienza di recupero della procedura.

L'uso di una sola sostanza è indispensabile, tuttavia per la GC/MSD generalmente essa non è sufficiente per minimizzare la variabilità di risposta relativa del sistema analitico verso le sostanze, conseguente dalla differenza di volatilità (o di tensione di vapore a condizioni normali) dei sette IPA considerati. Infatti, per qualunque combinazione strumentale si opti, in specie riguardo al dispositivo iniettore, la frazione di analita trasferita alla colonna separativa cambia considerevolmente da composto a composto e anche da una corsa analitica all'altra, in ragione della volatilità: le risposte relative risultano ragionevolmente costanti solo per sostanze eluite entro una finestra temporale di pochi minuti. Pertanto, si consiglia l'uso di tre soluzioni di riferimento surrogate, uno in corrispondenza del benz[a]antracene, un secondo per la regione dei benzofluoranteni e del benzo[a]pirene, e il terzo per l'indeno[1,2,3-cd]pirene e il dibenz[a,h]antracene.

2.12 valore obiettivo

Livello fissato al fine di evitare, prevenire o ridurre effetti nocivi per la salute umana o per l'ambiente nel suo complesso, da conseguire, ove possibile, entro una data prestabilita.

2.13 incertezza (di misura)

Parametro associato al risultato d'una misura, che ne caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibile all'elemento o grandezza da misurare. [ENV 13005:1999]

3. Simboli e abbreviazioni

3.1 Simboli

- a_i pendenza della funzione di taratura (*slope* della retta di proporzionalità quantità/segnale) per l'IPA *i*-esimo;
- $A_{C,i}$ area o l'altezza del picco cromatografico dell'IPA per l'IPA *i*-esimo, ovvero del suo ione caratteristico nel cromatogramma della soluzione di taratura;
- $A_{E,i}$ area o l'altezza del picco cromatografico dell'IPA per l'IPA *i*-esimo, ovvero del suo ione caratteristico nel cromatogramma dell'estratto organico del campione di polveri atmosferiche;
- A_{IS} area o l'altezza del picco cromatografico del riferimento interno ovvero del suo ione caratteristico nel cromatogramma della soluzione di taratura;



A_{ISE}	area o l'altezza del picco cromatografico del riferimento interno ovvero del suo ione caratteristico nel cromatogramma dell'estratto organico del campione di polveri atmosferiche;
b_i	intercetta della funzione di taratura lineare per l'IPA i -esimo;
C_i	concentrazione di un IPA nell'aria ambiente, espresso in ng/m^3 ;
D_C	limite di rivelabilità di una sostanza, espresso in ng/m^3 ;
$D_{M,i}$	limite assoluto di rivelazione d'una sostanza contenuta in un campione, espresso in ng ;
f_i	fattore di risposta (del rivelatore) tipico di un IPA i -esimo oggetto d'indagine;
$[m]_i$	valore medio di IPA i -esimo presente nei bianchi di filtro di laboratorio, espresso in ng ;
$m_{C,i}$	massa (quantità) dell'IPA i -esimo contenuta nella soluzione di taratura, espressa in ng ;
$m_{E,i}$	massa (quantità) dell'IPA i -esimo contenuta nell'estratto del campione, espressa in ng ;
$m_{F,i}$	massa (quantità) dell'IPA i -esimo contenuta nel campione raccolto su filtro, espressa in ng ;
$m_{i,j}$	bianco di filtro individuale, espresso in ng dell'IPA i -esimo;
m_{IS}	massa (quantità) di riferimento interno contenuta nella soluzione di taratura, espressa in ng ;
m_{ISE}	massa (quantità) di riferimento interno contenuta nell'estratto del campione, espressa in ng ;
m_{SSE}	massa (quantità) di riferimento surrogato nell'estratto del campione, espressa in ng ;
m_{SSF}	massa (quantità) di riferimento surrogato aggiunta al campione raccolto su filtro, espressa in ng ;
m/z	rapporto massa/carica per un dato ione (p.es., uno ione-frammento di un IPA);
n	numero di filtri analizzati;
R	efficienza di recupero di IPA espressa in termini percentuali (%);
R_s	risoluzione del picco cromatografico d'interesse da picchi prossimi;
S_{lib}	scarto tipo dei bianchi di filtro di laboratorio, in ng ;
$t_{n-1,0,95}$	fattore t di Student valido per n misure, con un intervallo di confidenza del 95%;
t_{R1}	tempo di ritenzione del picco cromatografico 1, espresso in min ;
t_{R2}	tempo di ritenzione del picco cromatografico 2, espresso in min ;
V_E	volume dell'estratto organico del filtro, in ml ;
V	volume dell'aria campionata (aspirate attraverso il filtro di raccolta delle polveri), in m^3 ;
V_n	volume nominale di campionamento giornaliero delle polveri sospese, in m^3 ;
w_1	ampiezza del picco cromatografico 1, in min ;
w_2	ampiezza del picco cromatografico 2, in min ;
X_a	frazione di massa misurata di IPA, in mg/kg ;
X_{ca}	frazione di massa certificata di IPA, in mg/kg .

3.2 Abbreviazioni

BaA	benz[a]antracene
BbF	benzo[b]fluorantene
BjF	benzo[j]fluorantene
BkF	benzo[k]fluorantene
BFs	benzofluoranteni (somma d'isomeri)
BPE	benzo[ghi]perilene
BaP	benzo[a]pirene
BeP	benzo[e]pirene
CH	crisene
CRM	materiale di riferimento certificato (<i>Certified Reference Material</i>)
DAD	rivelatore per assorbimento UV di tipo "diode array" (utilizzato in HPLC)
DBacA	dibenz[a,c]antracene
DBahA	dibenz[a,h]antracene
DBajA	dibenz[a,j]antracene
FLD	rivelatore a fluorescenza (utilizzato in HPLC)
GC	gascromatografia



HPLC	cromatografia liquida ad alta pressione (o ad alte prestazioni)
IP	indeno[1,2,3-cd]pirene
IPA	idrocarburi policiclici aromatici (indicati anche come PAHs)
MS	spettrometria di massa (tecnica di rivelazione associabile sia alla GC, sia all'HPLC)
MSD	rivelatore spettrometrico di massa
PE	perilene
TR	trifenilene

4 Principio del metodo

Il metodo consta di due sezioni principali, il campionamento delle polveri sospese operato sul campo e l'analisi chimica di laboratorio.

Durante il campionamento, le particelle sospese sono raccolte su un filtro aspirando un volume d'aria noto attraverso di esso, utilizzando uno dei sistemi "campionatori" tra quelli descritti nella norma UNI EN 12341:2001. È possibile adottare sistemi di campionamento di polveri diversi (p.es. per la portata o per disegno dell'impattore inerziale per separare le particelle sospese) previa dimostrazione dell'equivalenza al metodo di riferimento eseguita in accordo all'allegato VI del D.Lgs. 13 agosto 2010, n. 155 [2].

L'intervallo del singolo campionamento è pari a 24 ore. Sistemi d'aspirazione e raccolta sequenziali possono conservare il campione, al buio in contenitori non in contatto con l'aria esterna e a temperature non superiori a 20°C, per non più di quindici giorni. Dopodiché il filtro è sigillato, trasportato in laboratorio d'analisi e conservato al buio, a temperature non superiori a 20°C). Gli IPA sono estratti dal substrato mediante solvente organico e sottoposti ad analisi chimica strumentale, entro i successivi 15 gg, se mantenuti a temperatura ambiente (il tempo di conservazione può essere prolungato se i campioni sono conservati in frigorifero o congelatore: Nota). Qualora necessario (in ragione della procedura prescelta per l'identificazione e quantificazione), l'estratto è purificato per eliminare le possibili interferenze analitiche (Il "clean up" aumenta la vita operativa della colonna di separazione e del rivelatore). Se lo richiede il sistema di rivelazione, si operano il cambio di solvente e/o la diluizione dell'estratto finale. La soluzione risultante è processata per HPLC/FLD, HPLC/UV ovvero GC/MS.

NOTA: Poiché gli IPA lentamente si degradano anche al buio quando sono mantenuti a temperatura ambiente, diversamente da quanto previsto nel Metodo UNI EN 15549:2008 il tempo di conservazione massimo consentito (dal prelievo all'analisi chimica) non si superiore a 30 giorni. Qualora il campione sia custodito a temperature sub-ambiente è possibile conservare il campione per un tempo più ampio: fino a un massimo di 75 gg. per temperature ≤5°C, fino a un anno per temperature inferiori a -15°C.

NOTA: L'uso della HPLC con rivelazione UV può dimostrarsi vantaggiosa per discriminare gli isomeri BbF e BjF, operando un'opportuna selezione delle λ d'assorbimento.

NOTA: L'incertezza associata alle temperature sopra riportate non deve essere superiore a 1°C.



5. Requisiti del metodo

5.1 Requisiti del sito di misura

Gli specifici requisiti del sito di misura sono determinati dagli obiettivi del monitoraggio. Nel caso di misurazioni eseguite in ragione degli obiettivi del D.Lgs. 13 agosto 2010, n. 155, saranno rispettate le istruzioni riguardo al collocamento dei campionatori di polveri atmosferiche fornite nell'Allegato III dello stesso decreto legislativo [2].

5.2 Requisiti del campionamento

Il sistema di campionamento delle polveri sospese deve essere conforme a uno tra quelli indicati nella norma UNI EN 12341:2001 [3]. E' possibile utilizzare sistemi di campionamento diversi (ad es. riguardo alla portata o alla geometria della testa di campionamento) previa dimostrazione dell'equivalenza al metodo di riferimento, nei modi previsti dall'allegato VI del D.Lgs. 13 agosto 2010, n. 155 [2].

5.3 Analisi chimica

5.3.1 Efficienza di recupero

Usando il metodo del riferimento esterno o del riferimento interno per la quantificazione, è necessario valutare periodicamente l'efficienza di recupero per ognuno degli IPA cancerogeni drogando bianchi-filtro di laboratorio (del medesimo lotto utilizzato per la raccolta) con una nota quantità di analiti e applicando la normale procedura d'analisi chimica. L'efficienza di recupero di ciascun IPA dovrà essere compresa tra l'80% e il 120%, altrimenti occorrerà adottare il metodo del riferimento surrogato. Il test dell'efficienza di recupero deve essere ripetuto con una frequenza tale da garantire il mantenimento del 95% di probabilità della correttezza della misura (par.11.4, 12.1, 12.2).

Nel caso in cui si applichi il metodo del riferimento surrogato (par.10.1.3), questo test preliminare per la valutazione del recupero non è necessario. Il recupero dei surrogati per campioni reali (filtri di campo) non può essere inferiore al 50% né superiore al 150%, altrimenti i campioni medesimi vanno scartati.

NOTA: Un recupero dei surrogati costantemente inferiore al 70% è indicativo di problemi nella procedura di preparazione del campione analitico. Questi problemi devono essere eliminati.

Valutare l'affidabilità del metodo riguardo all'efficienza d'estrazione di ciascun IPA d'interesse processando opportunamente un materiale di riferimento certificato, utilizzando l'equazione (1):

$$R = \frac{X_a}{X_{ca}} \times 100. \quad (1)$$

In particolare, per il BaP:

$$R = \frac{X_{BaP}}{X_{cBaP}} \times 100.$$

Dove:

R efficienza di recupero in %;

X_a frazione di massa misurata (concentrazione espressa in $\mu\text{g/g}$);



X_{ca} frazione di massa certificata (concentrazione espressa in $\mu\text{g/g}$);
L'efficienza di recupero deve ricadere nell'intervallo 80 % ÷ 120 %.

NOTA: Un materiale di riferimento certificato contenente la medesima matrice della polvere PM10, valida per qualsivoglia contorno ambientale non è disponibile. Esistono, tuttavia, materiali di riferimento certificati, costituiti da polveri atmosferiche raccolte e omogeneizzate in situazioni controllate (p.es., materiale particolato urbano: NIST SRM 1649B; PM_{10} : NIST SRM 2786; matrici PM10-simile: CRM ERM CZ-100).

Le interferenze e modificazioni che interessano i campioni ambientali (filtri di campo), come ad esempio, le reazioni chimiche degli IPA che avvengono durante l'estrazione con solvente, possono essere identificate:

- Ripetendo l'estrazione con un metodo o un solvente diverso e confrontando i risultati;
- Comparando i rapporti di concentrazione tra l'IPA d'interesse e un IPA più stabile e altobollente, p.es., il benzo[*e*]pirene o benzo[*k*]fluorantene: una spia del verificarsi di problemi durante la preparazione del campione per l'analisi strumentale consiste nel riscontrare deviazioni (valori più bassi dei rapporti di concentrazione) rispetto a precedenti misurazioni eseguite nello steso luogo e nella stessa stagione dell'anno. Cambiando la procedura di preparazione del campione (p.es., scegliendo un altro solvente o diverse condizioni operative d'estrazione, ovvero modificando la procedura di purificazione) è possibile verificare ed eventualmente eliminare il problema.

5.3.1.1 Limite di rivelabilità

5.3.1.2 Generalità

Il limite di rivelabilità di ogni IPA deve risultare inferiore a 0.02 ng/m³, tenendo conto del volume dell'estratto del campione pronto per l'analisi e della quantità d'aria ambiente campionata.

*Nota: Se si utilizza la tecnica HPLC-FD/UVA, la risposta del benzo[*j*]fluorantene risulta notevolmente inferiore. Pertanto, il limite di rivelabilità per questo composto per la procedura applicata (qualora si voglia discriminare dagli isomeri BbF e BkF) deve risultare migliore di 0.2 ng/m³.*

5.3.1.3 Determinazione basata sui bianchi-filtro di laboratorio

Determinare il limite di rivelabilità assoluto di ogni IPA mediante lo scarto tipo calcolata su almeno dieci bianchi-filtro di laboratorio, applicando la relazione (2):

$$S_{ffb} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n ([m]_i - m_{i,j})^2}{n-1}} \quad (2)$$

dove:

S_{ffb} scarto tipo dei bianchi-filtro di laboratorio, espressa in ng;

$[m]_i$ media dei bianchi-filtro di laboratorio, espressa in ng, per l'IPA *i*-esimo;

$m_{i,j}$ valore individuale *j*-esimo di bianco-filtro di laboratorio, espressa in ng, per l'IPA *i*-esimo;

n numero dei filtri analizzati.

La minima quantità d'analita rivelabile è calcolata attraverso la formula (3):

$$D_{M,j} = t_{n-1;0,95} \times S_{ffb} \quad (3)$$

dove:



$D_{M,i}$ minima quantità rivelabile dell'IPA i -esimo, espressa in ng;
 $t_{n-1;0,95}$ fattore t di Student, valido per n misure con un intervallo di confidenza pari al 95 %;
 S_{fjb} scarto tipo dei bianchi-filtro di laboratorio, in ng.

Ancora, per il BaP:

$$S_{fjb} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n ([m]BaP - m_{BaP,j})^2}{n-1}}; \quad (2a)$$

$$D_{M,BaP} = t_{n-1;0,95} \times S_{fjb}. \quad (3a)$$

5.3.1.4 Determinazione basata sul rapporto segnale-rumore

Eeguire un'analisi cromatografica senza iniettare nulla (corsa a vuoto). Mantenere i parametri cromatografici usati per la taratura e la rivelabilità degli IPA. Calcolare il limite di rivelabilità per ciascun IPA moltiplicando per tre il valore medio dell'altezza del segnale di rumore valutato in corrispondenza dell'intervallo individuato dal tempo di ritenzione dell'IPA, \pm dieci volte l'ampiezza a meta altezza del picco corrispondente al minimo livello di concentrazione utilizzato per la taratura.

5.3.1.5 Calcolo del limite di rivelabilità

Il limite di rivelabilità, espresso in quantità di IPA per volume d'aria (ng/m^3), è calcolato introducendo il volume nominale di campionamento, secondo l'equazione (4):

$$D_C = \frac{D_M}{V_n} \quad (4)$$

dove:

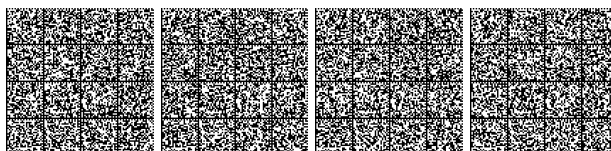
D_C limite di rivelabilità, espresso in ng/m^3 ;
 D_M quantità minima di IPA rivelabile, espressa in ng;
 V_n volume nominale di aria campionato, in m^3 .

Per il volume nominale di campionamento, si utilizzeranno i dati registrati normalmente durante la medesima operazione. Nei casi in cui la misura di IPA si effettui su filtri giornalieri individuali, i volumi corrisponderanno alle quantità d'aria filtrata nelle 24 ore. Per analisi cumulative di filtri (p.es., gruppi settimanali o mensili di filtri o di loro aliquote) si calcoleranno di conseguenza i volumi equivalenti d'aria filtrata.

6. Strumenti e materiali per l'analisi chimica

6.1 HPLC

Cromatografo liquido composto da un sistema d'iniezione (es. valvola a sei vie adatta alle alte pressioni di liquido), una colonna in fase inversa (p.es., di tipo C_{18} , CN o NH_2) per l'analisi degli IPA, un sistema termostatico con alloggio per la colonna, un sistema di pompaggio dei solventi e un rivelatore di tipo FLD (Allegato E1). È anche richiesta la presenza d'un degassatore per i solventi d'eluizione.



NOTA: Se la concentrazione di IPA nell'estratto è elevata e/o si effettua la purificazione dell'estratto delle polveri, è ammesso l'impiego d'un rivelatore del tipo DAD (par.10.1 e Allegato C).

Lo strumento deve essere equipaggiato con un opportuno miscelatore per operare in programma di solventi.

La temperatura della colonna deve essere mantenuta costante entro $\pm 1^\circ\text{C}$.

6.2 Sistema GC

Il gascromatografo deve essere equipaggiato con un iniettore adatto per le sostanze a bassa volatilità (p.es., di tipo *split-less* o *vaporizzatore PTV* o *cold on-column*) e con rivelatore spettrometrico di massa. La colonna deve possedere caratteristiche adatte per la separazione degli IPA (Allegato C).

6.3 Reagenti e gas

6.3.1 Solventi

Devono essere utilizzati solventi di massima purezza (toluene, cicloesano, isoottano, acetonitrile, metanolo, isopropanolo, *n*-esano, acetone, diclorometano, acqua), classificati "per analisi HPLC nel lontano ultravioletto" oppure "per analisi di residui" (par.11.1 e par.13).

6.3.2 Gas

Per la degassificazione dei solventi di HPLC si può usare azoto a elevata purezza ($> 99,999\%$) o l'ultra-sonicazione.

Per la separazione cromatografica mediante GC, si usa preferenzialmente elio ultrapuro ($>99,999\%$) o in alternativa idrogeno. Il gas di trasporto è ulteriormente purificato mediante trappole assolute o serie di trappole per idrocarburi, ossigeno e acqua.

6.3.3 Soluzioni di riferimento esterno

Le soluzioni di *riferimento* di IPA sono utilizzate singole o (preferibilmente) in miscela, p.es., operando la diluizione d'una soluzione di IPA con concentrazioni riferibili a campioni internazionalmente accettati (*soluzione madre o primaria*) (par. 6.3.6).

6.3.4 Soluzioni di riferimento interno

IPA alogenati (p.es. fluorurati) e IPA metilati (p.es. 6-metilcrisene) sono adatti per l'analisi via HPLC/FLD;

IPA deuterati o marcati con C^{13} (p.es. perylene- d_{12} o crisene- C^{13}) sono usati in GC/MS.

È necessario accertarsi che le soluzioni di riferimento non contengano più dell'1% di IPA nativi.

6.3.5 Soluzioni di riferimento surrogato

IPA alogenati o metilati (p.es., 7-metilbenzo[*a*]pirene (per HPLC/FLD);

IPA (se uno solo, a cinque anelli), deuterati o marcati con C^{13} , p.es. BaP- d_{12} (per GC/MS).

È necessario accertarsi che le soluzioni di riferimento non contengano più dell'1% di IPA nativi.



6.3.6 Soluzione di riferimento “stock” (madre o primaria)

Diluizione d’una soluzione di IPA con concentrazioni riferibili a campioni internazionalmente accettati, p.es. una soluzione *NIST 1647e* (soluzione madre o primaria) (devono essere soddisfatti i requisiti di riferibilità).

6.3.7 Materiale di riferimento certificato

Materiale contenente concentrazioni certificate di IPA in una matrice simile al particolato PM10 e alle particelle che lo compongono (p.es., NIST SRM 1649B, NIST SRM 2786, CRM ERM CZ-100).

6.4 Sistema di campionamento delle polveri atmosferiche

6.4.1 Campionatore per la frazione PM10 del particolato atmosferico

Il sistema di campionamento deve corrispondere o essere equivalente a quello previsto nella normativa UNI EN 12341:2001, ai sensi dell’allegato VI del D. Lgs. 155/2010 [2].

6.4.2 Grasso per superfici

Se richiesto dal Costruttore, la superficie d’impatto della testa di prelievo deve essere trattata con un opportuno materiale ingrassante (fare riferimento al relativo Manuale d’istruzioni). Questo non deve interferire con l’analisi chimica degli IPA.

6.4.3 Filtri in fibra di quarzo o di vetro

Di dimensioni adatte per l’impiego con il campionatore. L’efficienza di cattura per le particelle con diametro aerodinamico $\leq 0,1 \mu\text{m}$, nominalmente rispettata ($\geq 99\%$) con questi tipi di materiale, deve mantenersi anche dopo il pre-trattamento del filtro in stufa per eliminare sostanze interferenti (par.11.6, 11.7 e 13). In specie, il trattamento termico non deve rendere fragili i filtri stessi, né indurre perdite di materiale (p.es., in presenza di leganti). È consigliabile utilizzare filtri la cui efficienza di separazione sia stata misurata dalla Ditta fabbricante in accordo alle norme UNI EN 13274-7 e/o EN 1822-1.

La purezza dei filtri deve essere verificata (par.13).

NOTA: Se sulle polveri non devono essere eseguite valutazioni di carbonio elementare e/o organico, è possibile optare per membrane in quarzo in sostituzione dei filtri in quarzo/vetro. In questo caso, la tuttavia, l’efficienza di cattura delle polveri di dimensioni ridotte ($\leq 0,1 \mu\text{m}$) deve essere garantita dal Costruttore.

Nella scelta del materiale filtrante occorre tenere conto dell’eventualità di eccessiva impedenza lungo la linea di gas, causata dall’intasamento della membrana. Piuttosto che dall’eccessiva quantità di polveri, problemi possono essere causati dall’umidità atmosferica se i filtri hanno proprietà idrorepellenti. Per esempio, per le membrane i teflon è raccomandato l’impiego di materiale con porosità pari a $2 \mu\text{m}$, operando campionamenti non superiori a 24 h. Analoghi problemi possono incorrere qualora a valle del filtro s’intenda collocare una trappola per vapori organici in XAD (amberlite).

6.4.4 Flussimetro

Il flussimetro tarato, da utilizzare per il controllo della portata del sistema campionatore, deve garantire un’incertezza di misura $\leq \pm 2 \%$ per valori di portata volumetrica pari a quelli del



campionatore, in analogia a quanto richiesto dalla norma UNI EN 12341:2001, par. B.4. La taratura del flussimetro deve essere riferibile ai campioni internazionalmente accettati.

6.5 Preparazione/estrazione del campione

Per l'estrazione degli IPA dal substrato particellare, è richiesto uno dei seguenti sistemi:

- *pallone a fondo tondo con condensatore a riflusso;*
- *soxhlet completo;*
- *sistema di digestione a micro-onde;*
- *sistema d'estrazione accelerata con solvente (tipo ASE, PFE o simili)*
- *bagno a ultrasuoni.*

Per esempi o dettagli della procedura, si rimanda all'Allegato B.

6.6 Purificazione dell'estratto-campione

Qualora si operi la purificazione dell'estratto-campione prima dell'analisi chimica strumentale (Allegato C), sono richiesti:

- *Cartucce per l'estrazione in fase solida (SPE) di silice;*
- *Allumina (neutra o basica) per cromatografia di Brockmann*
- *Colonne per cromatografia in borosilicato, equipaggiate con rubinetto in teflon e setto poroso in vetro.*
- *Solventi per analisi di residui o per cromatografia liquida "far UV": isoottano, diclorometano, acqua.*

7 Campionamento delle polveri PM10

7.1 Preparazione dello strumento prima del campionamento

Consultare il manuale d'istruzioni del Costruttore per conoscere i requisiti minimi di voltaggio e potenza elettrica impegnata del campionatore e accertarsi che nel sito di prelievo sia disponibile un'alimentazione elettrica adeguata alle esigenze strumentali.

Pulire accuratamente le parti interne della testa di campionamento (*sampling inlet*), la linea di prelievo e ogni altra parte del campionatore che, secondo le istruzioni e avvertenze del Costruttore, possa venire a contatto con il filtro di raccolta delle polveri prima dell'uso (p.es., il meccanismo di cambio dei filtri, i portafiltri e i loro componenti). Analogamente, ispezionare le parti ingrassate come le superfici d'impatto; se necessario, pulirle prima del campionamento e procedere a un nuovo ingrassaggio.

Il test di tenuta stagna della linea di prelievo va eseguito prima di dislocare il campionatore sul campo, al fine di verificare l'esistenza di problemi e risolverli preliminarmente alla fase operativa.

Il test di tenuta della linea di prelievo deve essere ripetuto dopo aver installato il campionatore nel sito prescelto.

7.2 Manipolazione dei filtri

I filtri (di diametro pari a 47 mm) devono essere manipolati con pinzette a punta arrotondata e piatta, al fine d'evitare contaminazioni e danneggiamenti.

Nota: Poiché la procedura non è applicabile con filtri più grandi (usati di solito operando ad alto flusso), in questo caso s'indosseranno dei guanti in materiale opportuno (cotone, lattice), toccando soltanto le pareti esterne dei filtri.



7.3 Preparazione dei filtri

Filtri che sono visibilmente contaminati, p.es., durante l'impaccamento o il trasporto, devono essere eliminati. Ogni filtro va ispezionato prima dell'uso, facendo attenzione che non compaiano fori, sbavature, depositi, macchie, granelli, imperfezioni, non-uniformità del substrato. Per esempio, si può adoperare una lente d'ingrandimento e una sorgente luminosa, oppure osservare il filtro controluce. Qualsiasi sospetto o fonte d'imperfezione o non integrità induce a scartare il filtro.

Assegnare a ogni filtro un codice unico d'identificazione e disporlo in un contenitore stagno, fornito d'etichetta. Il contenitore sarà usato per conservare e trasportare il filtro tra il laboratorio e il luogo di campionamento.

NOTA: Il contenitore deve essere fatto di materiale appropriato, come vetro o PTFE.

Se è necessario marcare il filtro ai fini identificativi (e non è sufficiente etichettare il contenitore di trasporto), l'operazione va eseguita ai margini del filtro stesso, in una sezione che non sarà analizzata in seguito (p.es., per filtri con anello di tenuta rimovibile, la marcatura si farà sull'anello). Stabilire una sequenza-filtro registrata (p.es., il quaderno/registo organizzato secondo lo schema del diagramma di flusso delle operazioni cui il filtro è sottoposto) per documentare la vita e le caratteristiche d'ogni filtro. Registrare il numero di filtri custoditi nella sequenza registrata. Se il sistema campionatore è del tipo sequenziale che opera continuativamente per un periodo stabilito, caricare il numero richiesto di filtri negli alloggiamenti porta-filtro etichettati e nel caricatore dello strumento. L'insieme deve essere sigillato pronto per l'impiego e deve essere conservato tale nel trasporto, fino al momento del montaggio nel campionatore. Registrare quale filtro è collocato in ciascun alloggiamento e qual è la sua posizione nel caricatore (qual è il periodo di campionamento dall'atmosfera corrispondente).

Manipolare i filtri bianchi di laboratorio esattamente come i campioni reali, senza tuttavia trasportarli al luogo di campionamento e senza aspirare aria attraverso di essi. Bisogna saggiare ogni serie di filtri prima dell'uso, analizzando un filtro bianco (o un gruppo congruo) (par.11.6).

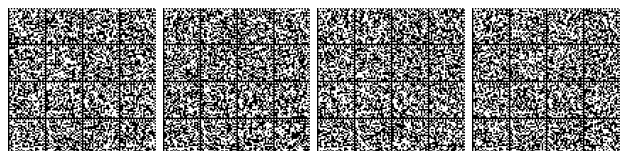
Preparare filtri bianchi di campo e processarli, per quanto possibile, come fossero campioni reali. Trasportarli al sito di campionamento, dislocarli nel campionatore (senza far partire la pompa aspirante),

riprenderli e ricondurli in laboratorio, analizzarli allo stesso modo di campioni reali. Almeno un filtro ogni venti dovrà essere analizzato come bianco di campo. Se per un qualsiasi IPA il filtro bianco di campo eccede significativamente il valor medio dei filtri bianchi di laboratorio, la fonte di contaminazione deve essere identificata ed eliminata. Se i risultati dei campioni reali sono significativamente alterati dal filtro bianco di campo, qualora possibile i campioni debbano essere rianalizzati.

7.4 Raccolta e conservazione dei campioni

Collocare e regolare il campionatore sul campo, in accordo con le istruzioni del Costruttore (manuale). Assicurarsi che i requisiti per il sito e le condizioni ambientali al contorno siano soddisfatti (par.5.1).

Eseguire il test di tenuta della linea di prelievo e controllare il flusso d'aspirazione del campionatore usando il flussimetro tarato, prima del campionamento, e ripetere l'operazione almeno ogni tre mesi. Allo scopo, seguire le istruzioni del Costruttore. Se il flusso reale devia dal valore nominale



più di quanto assicurato dal Costruttore, tarare il campionatore aggiustando la velocità di flusso quanto necessario.

Raccogliere i filtri bianchi di campo ad ogni sito di misura degli IPA, almeno una volta ogni venti filtri usati per i prelievi.

Caricare un filtro pulito (per sistemi di campionamento individuali) o un caricatore di filtri puliti (per sistemi sequenziali) nel campionatore all'inizio del periodo di prelievo. Programmare il sistema in conformità con le istruzioni del Costruttore, far partire il timer e registrare l'ora e la data di partenza. La durata del campionamento è fissa e uguale a 24 h.

Per sistemi individuali, recuperare il filtro dal campionatore alla fine del prelievo, quindi riporlo in un contenitore da trasporto etichettato in modo inequivoco e sigillare il contenitore per compiere il trasporto in laboratorio. Per sistemi sequenziali, raccogliere il treno di filtri usati (spesso, alloggiati insieme in uno speciale caricatore), avvolgerlo con un film isolante (p.es., alluminio e/o *parafilm*) e predisporlo al trasporto in laboratorio.

NOTA: Qualora i filtri siano stati ripiegati al fine di trasportarli e custodirli più agevolmente, sarà necessario analizzarli per intero perché l'operazione può modificare la distribuzione delle particelle sulla superficie filtrante; in questo caso, quindi, non è possibile suddividere il campione e analizzarne separatamente le aliquote. La sezione che riporta l'eventuale etichetta del filtro (9.3) deve essere asportata prima dell'estrazione.

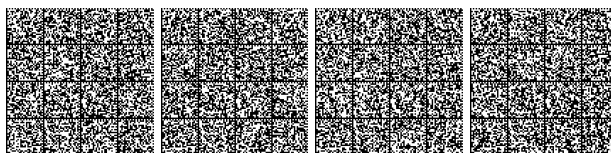
I filtri saranno estratti non oltre quattro settimane dopo il campionamento, se custoditi in un contenitore sigillato, al buio, a temperature inferiori a $20\pm 1^\circ\text{C}$. Se sono custoditi in frigorifero ($5\pm 1^\circ\text{C}$) o in un congelatore ($\leq -15\pm 1^\circ\text{C}$), il tempo di conservazione può essere prolungato fino a 2 mesi o 1 anno, rispettivamente.

NOTA: Campioni individuali raccolti per un periodo complessivo compreso tra qualche giorno e un mese possono essere combinati e analizzati come un unico campione composito [2]. Aliquote d'identiche dimensioni di giorni singoli sono estratte insieme. Se il contenuto in IPA di questi estratti compositi è diviso per la somma dei volumi d'aria corrispondenti alle aliquote di filtro campionato, il risultato fornisce il valore medio della concentrazione per l'intero periodo. La copertura minima temporale dei campionamenti da eseguire in un'area è stabilita dal D.Lgs. 155/2010.

Registrare tutti i dettagli del campione e del campionamento nel registro dei filtri: ora e data di fine campionamento, flusso d'aspirazione, volume cumulato di campionamento (contatore), interruzioni elettriche e problemi meccanici eventualmente intervenuti, e qualsiasi informazione sia utile per valutare la qualità e rappresentatività del campione stesso.

Pulire e ingrassare la superficie d'impatto, almeno una volta ogni 30 campioni giornalieri, seguendo le istruzioni fornite dal Costruttore.

Procedere a una regolare ed efficace pulizia della testa di prelievo PM10 secondo le istruzioni del Costruttore. Qualora il fabbricante non dia istruzioni al riguardo, la pulizia della testa di campionamento deve essere effettuata in funzione delle concentrazioni di PM10 presenti nel sito di campionamento e comunque almeno una volta ogni 30 giorni.



8 Preparazione del campione

8.1 Pulizia del laboratorio

Strumenti e accessori impiegati nell'analisi degli IPA devono essere opportunamente trattati o selezionati, affinché i valori di bianco siano nulli o inferiori a una quantità equivalente a una concentrazione finale tale da interferire con le valutazioni di campioni reali, soprattutto nelle indagini eseguite in aree remote o rurali. Infatti, se in aree urbane o soggette a inquinamento di tipo industriale o da traffico veicolare sono presumibilmente accettabili limiti inferiori di valutazione corrispondenti a $\sim 0,03 \div 0,04 \text{ ng/m}^3$, in aree rurali i rispettivi valori devono esser contenuti entro $0,015 \div 0,020 \text{ ng/m}^3$.

8.2 Estrazione degli IPA dalla matrice particolata

Le seguenti tecniche hanno dimostrato d'essere adatte per l'estrazione con solvente del benzo[a]pirene dal PM10, in accordo con i requisiti di qualità d'analisi (par.6.3.1) [1]:

- estrazione in soxhlet;
- estrazione accelerata con solvente (tipo ASE, PFE e simili);
- bagno ultrasonico;
- digestione a micro-onde.

In linea di principio, queste tecniche normate per il BaP consentono il rispetto dei requisiti di 5.3.1 anche per gli altri IPA. Per poterne eseguire la misura, tuttavia, il laboratorio d'analisi dovrà dimostrare che, nelle condizioni sperimentali adottate, tali requisiti siano effettivamente rispettati per tutti gli IPA cancerogeni. Infatti non per tutti gli IPA e per tutte le matrici gli strumenti e le procedure comunemente adottati sono, in linea di principio, equivalenti. Perciò, la verifica con polveri certificate per il contenuto di IPA appare necessaria.

I metodi s'estrazione ammessi sono descritti nell'Allegato C.

Ogni metodo d'estrazione conduce, come risultato finale, a una soluzione di IPA in un solvente organico, impura per la compresenza d'altre sostanze. Nel caso si esegua l'analisi strumentale per via GC-MSD, l'estratto può essere direttamente analizzato purché sia ridotto a un (piccolo) volume noto e purché risulti assodato che non sia indispensabile compiere la purificazione. Per l'analisi HPLC/FLD, invece, è indispensabile quantomeno eliminare qualsiasi traccia di solvente diverso dall'acetonitrile. Pertanto, l'estratto sarà con cura concentrato in evaporatore rotante fino a un volume di circa 5 ml e poi ridotto quasi a secco sotto flusso d'azoto (pur facendo attenzione che il solvente non evapori completamente). Il residuo sarà disciolto in acetonitrile e nuovamente concentrato quasi a secco. Alla fine il residuo sarà disciolto in un volume noto d'acetonitrile.

Ogni laboratorio dovrà provare che, nelle condizioni sperimentali prescelte, le efficienze di recupero degli IPA (e dell'eventuale riferimento surrogato) ottenute con questa procedura consentano il rispetto dei requisiti riportati in par.5.3.1.

Se necessario, l'estratto sarà sottoposto a una fase di purificazione previa riduzione del volume a non oltre il 10% rispetto al valore iniziale (Allegato B). Se non è analizzata immediatamente, la soluzione deve essere custodita al buio e a bassa temperatura ($<6^\circ\text{C}$) per evitare sia la decomposizione degli IPA, sia l'evaporazione del solvente. Il tempo massimo di conservazione in queste condizioni è un mese (in congelatore a -16°C è pari a 4 mesi).



9 Analisi chimica strumentale

9.1 Analisi per HPLC/FLD

9.1.1 Principio del metodo

L'estratto organico contenente gli IPA è filtrato e, se necessario, purificato mediante cromatografia su colonna (ad esempio l'Allegato B), quindi è ridotto quasi a secco per sostituire il solvente con l'acetonitrile, adatto per l'analisi HPLC.

Un'aliquota della soluzione è iniettata nello strumento HPLC/FLD. Gli IPA sono identificati attraverso i rispettivi tempi di ritenzione. Le aree e/o le altezze dei picchi cromatografici sono adoperate per la misura delle rispettive concentrazioni nel campione.

La risposta e la sensibilità del rivelatore FLD si mantengono costanti per lunghi periodi, cosicché è possibile applicare indifferentemente il metodo del riferimento *esterno* ovvero il metodo del riferimento *interno* per la quantificazione degli IPA. Se la fase di purificazione o la complessità del substrato del campione deprimono l'efficienza di recupero, si può utilizzare il metodo del riferimento *surrogato* per correggere le perdite di analita verificatesi durante la preparazione del campione d'analisi.

9.1.2 Reagenti

9.1.2.1 Soluzioni di taratura

La composizione quantitativa della soluzione di riferimento madre (*stock*) dovrà tenere conto della diversa risposta dei singoli IPA analizzati con il rivelatore a fluorescenza, nelle condizioni strumentali adottate, ed eventualmente dei differenti livelli di concentrazione degli IPA nei campioni reali.

Per individuare la curva di risposta strumentale valida per ciascun IPA, si preparino le soluzioni di taratura dalla soluzione stock a non meno di cinque livelli di concentrazione, trasferendo appropriati volumi della soluzione madre in un pallone tarato e portando a volume con acetonitrile. Le concentrazioni dovranno coprire un intervallo operativo corrispondente a quello atteso per le concentrazioni dei campioni reali. La minima concentrazione di ciascun IPA dovrà essere prossima al limite di rivelabilità, ma superiore a questo.

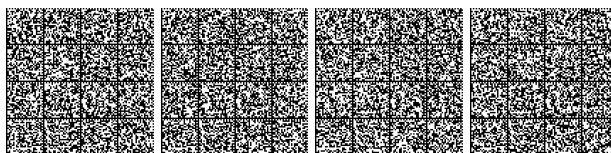
La retta di taratura sarà definita per ogni IPA in ragione delle concentrazioni ambientali, stimati attraverso analisi di screening o attesi per il periodo in base ad archivi di serie storiche. Gli estremi inferiore e superiore dell'intervallo di taratura devono essere rispettivamente inferiore e superiore d'un ordine di grandezza alle concentrazioni stimate. L'incertezza della misura nell'intorno di concentrazioni equivalenti a $1,0 \text{ ng/m}^3$ (ovvero il valore obiettivo del BaP) deve essere $\leq 10\%$.

NOTA: Se si applica il metodo del riferimento esterno queste soluzioni sono utilizzate ai fini della taratura, mentre con i metodi del riferimento interno o del riferimento surrogato le soluzioni servono per verificare la linearità (test del lack of fit).

NOTA: Per esempio, dato un volume equivalente d'aria pari a 100 m^3 e un volume finale d'estratto pari a $1,00 \text{ ml}$, al valore obiettivo di 1 ng/m^3 di BaP corrisponde una concentrazione pari a 100 ng/ml .

9.1.2.2 Soluzione di riferimento/i esterno/i

Usare una soluzione di taratura (par.9.1.2.1) con le concentrazioni più prossime a quelle equivalenti ai valori attesi per gli IPA nei campioni reali.



9.1.2.3 Soluzione di riferimento/i interno/i

Diluire il/i riferimento/i interno/i (par.7.4) in acetonitrile. Aggiungere, per esempio, 10 µl di questa soluzione all'estratto campione (se necessario, dopo la purificazione) prima dell'analisi strumentale. La concentrazione della soluzione dovrà essere equivalente al valore obiettivo in aria ($\pm 20\%$) di BaP.

NOTA : Per esempio, dato un volume equivalente d'aria pari a 100 m³ e un volume finale d'estratto pari a 1,00 ml, al valore obiettivo di 1 ng/m³ corrisponde una concentrazione pari a 100 ng/ml.

9.1.2.4 Soluzione di riferimento/i surrogato/i

Diluire il/i riferimento/i surrogato/i (par.7.5) in acetonitrile. Per esempio, aggiungere 10 µl di questa soluzione al filtro, prima dell'estrazione con solvente. La concentrazione della soluzione dovrà corrispondere approssimativamente ai valori attesi di benzo[a]pirene nei campioni reali.

NOTA : Per esempio, dato un volume equivalente d'aria pari a 100 m³ e un volume finale d'estratto pari a 1.00 ml, al valore obiettivo di 1 ng/m³ di BaP corrisponde una concentrazione pari a 100 ng/ml.

9.1.3 Parametri adatti per l'analisi strumentale HPLC/FLD degli IPA

I parametri operativi strumentali variano in ragione del tipo di strumento e della colonna separativa utilizzati. Un esempio è fornito in E.1.

9.1.4 Taratura

Se si adotta il metodo del riferimento esterno per la quantificazione degli IPA, iniettare direttamente nel sistema HPLC/FLD le soluzioni di taratura (par.9.1.2.1; p.es., aliquote di 20 µl; il valore dipende dalle caratteristiche della colonna separativa); per ogni IPA, tracciare il grafico dell'area o altezza di picco in funzione della concentrazione. Processare almeno in triplicato ogni livello di concentrazione. Calcolare la funzione di taratura usando la regressione lineare. I risultati dello studio della *La lack of fit* della funzione di taratura dovranno soddisfare i requisiti riportati in par.12.2.

9.1.5 Rivelazione e misura degli IPA

Rimuovere gli estratti campione dal contenitore di custodia freddo e dar loro il tempo di riportarsi a temperatura ambiente. Iniettare un'aliquota d'estratto (p.es., 20 µl) nel sistema HPLC/FLD e identificare ciascun IPA attraverso il suo caratteristico tempo di ritenzione. Qualora la concentrazione di un IPA nell'estratto risulti maggiore del limite superiore dell'intervallo di lavoro determinato dal laboratorio, diluire un'aliquota dell'estratto e ripetere l'analisi. Per la quantificazione, usare secondo opportunità o preferenza uno tra i metodi del riferimento *esterno*, del riferimento *interno* o del riferimento *surrogato*.

9.2 Analisi chimica strumentale mediante GC/MSD

9.2.1 Principio del metodo

L'estratto organico contenente gli IPA può essere purificato mediante cromatografia su colonna (esempio riportato nell'Allegato B), qualora sia necessario. In seguito, l'estratto è evaporato, portato a volume con un solvente opportuno (toluene, cicloesano, cloroformio) e un'aliquota (1÷2µl) è iniettata nel sistema GC/MSD. Dopo la separazione operata dalla colonna capillare, gli IPA sono



rivelati dallo spettrometro di massa. Ogni sostanza è identificata dal tempo di ritenzione caratteristico nelle condizioni operative e dai valori m/z dei suoi ioni specifici; l'area o l'altezza di picco sono utilizzate per la misura della sua concentrazione nel campione.

Nell'analisi GC/MSD, per la quantificazione degli analiti è richiesta una combinazione dei metodi del riferimento interno e del riferimento surrogato. È importante, ai fini della precisione, che il volume di soluzione-campione o miscela riferimento effettivamente iniettato nel sistema GC-MS e la procedura d'iniezione (tempistica, tipo di siringa) siano sempre uguali; l'uso d'un autocampionatore è d'aiuto a questo scopo.

9.2.2 Reagenti

9.2.2.1 Soluzioni di verifica della linearità (*lack of fit*)

Preparare le soluzioni di taratura dalla soluzione madre (*stock*) a non meno di cinque livelli di concentrazione, diluendo appropriati volumi di soluzione madre con un solvente adatto, in un pallone tarato, e portare a volume (Tabella A.1 in Allegato A). La minima concentrazione di ciascun IPA deve essere prossima, ma superiore, al corrispondente limite di rivelabilità. Le altre concentrazioni dovranno coprire un intervallo operativo corrispondente a quello atteso per gli IPA nei campioni reali. La concentrazione di benzo[a]pirene di una soluzione dovrà essere equivalente ($\pm 20\%$) al valore obiettivo per questa sostanza in aria ambiente.

NOTA: Per esempio, con un volume di campionamento pari a 100 m^3 e un volume finale d'estratto di $1,00\text{ ml}$, al valore obiettivo di 1 ng/m^3 di benzo[a]pirene corrisponde una concentrazione di 100 ng/ml .

9.2.2.2 Soluzione di riferimento/i interno/i

Diluire la soluzione di riferimento interno in un solvente appropriato (Tabella A.1 in Allegato A). Aggiungere un volume adatto (p.es., $10\text{ }\mu\text{l}$) di questa soluzione agli estratti campione prima dell'analisi strumentale. La concentrazione della soluzione dovrà corrispondere alla concentrazione di benzo[a]pirene al valore obiettivo $\pm 20\%$.

9.2.2.3 Soluzione di riferimento/i surrogato/i

Diluire la soluzione di riferimento surrogato con un solvente adatto. Aggiungere un volume opportuno (p.es., $10\text{ }\mu\text{l}$) di questa soluzione agli estratti campione prima dell'estrazione. La concentrazione della soluzione dovrà essere approssimativamente equivalente a quella attesa per il benzo[a]pirene nei campioni reali.

NOTA: Per esempio, con un volume di campionamento pari a 100 m^3 e un volume finale d'estratto di $1,00\text{ ml}$, al valore obiettivo di 1 ng/m^3 di benzo[a]pirene corrisponde una concentrazione di 100 ng/ml .

9.2.3 Parametri strumentali operative per l'analisi mediante GC/MSD

I valori dei parametri strumentali sono selezionati in base al tipo ed alle caratteristiche dell'insieme strumentale, nonché delle caratteristiche della colonna separativa.

Un esempio di parametri adatti all'analisi degli IPA è fornito in (D.2).

9.2.4 Verifica dell'assenza di correlazione (*lack of fit*)

Al fine di stabilire l'intervallo lineare operativo del rivelatore per ciascun IPA, iniettare le soluzioni per verificare l'assenza di correlazione (*lack of fit*; p.es., aliquote di $2\text{ }\mu\text{l}$) direttamente nel



gascromatografo e riportare in grafico le aree dei picchi cromatografici in funzione delle rispettive concentrazioni (par.9.2.2.1). Invece delle aree, si possono prendere le altezze dei picchi. Verificare la *lack of fit* della funzione (per i requisiti par.12.2).

9.2.5 Rivelazione e misura degli IPA

Asportare gli estratti campione dal contenitore di custodia freddo e dar loro il tempo di condizionarsi a temperature ambiente. Iniettare un'aliquota di campione (p.es., 2 µl) nel sistema GC/MSD. Identificare ciascun IPA mediante il corrispondente tempo di ritenzione e la traccia m/z del suo ione molecolare e di uno ione appropriato (esempio nell'Allegato D.2). Usare il segnale integrato (area o altezza di picco) dello ione target per la quantificazione. La quantificazione sarà condotta attraverso la combinazione delle tecniche del riferimento *interno* e del riferimento *surrogato* (par.12.2). Diluire un'aliquota dell'estratto e ripetere l'analisi se la concentrazione di un IPA nell'estratto è maggiore dell'estremo superiore dell'intervallo operativo determinato dal laboratorio.

10 Quantificazione

10.1 Analisi per HPLC/FLD

10.1.1 Metodo della soluzione di riferimento esterna (o del riferimento esterno)

Calcolare la quantità di ciascun IPA contenuta nell'estratto grazie all'equazione (5), utilizzando la funzione di taratura:

$$m_{E,i} = \frac{A_{E,i} - b_i}{a_i} \times V_E, \quad (5)$$

dove:

- $m_{E,i}$ quantità di IPA *i*-esimo contenuta nell'estratto, espressa in ng;
- $A_{E,i}$ area o altezza del picco dell'IPA *i*-esimo nel tracciato dell'estratto;
- b_i intercetta della funzione di taratura lineare, espressa in conteggi, per l'IPA *i*-esimo;
- a_i pendenza della funzione di taratura lineare, in ml/ng, per l'IPA *i*-esimo;
- V_E volume dell'estratto, in ml.

In particolare, per il BaP:

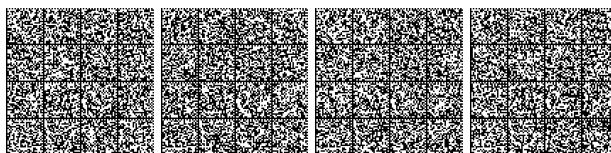
$$m_{E,BaP} = \frac{A_{E,BaP} - b_{BaP}}{a_{BaP}} \times V_E, \quad (5a)$$

Usare la/e soluzione/i di riferimento esterno/i (par.9.1.2.2) per verificare la piena funzionalità del sistema HPLC/FLD (in misura pari almeno al 10% dei campioni).

Verificare le efficienze di recupero (par.5.3.1) e, se necessario, includere la fase di purificazione dell'estratto, processando filtri bianchi di laboratorio (almeno 5% rispetto ai campioni), drogati con la soluzione di riferimento esterno/i (par.9.1.2.2).

10.1.2 Metodo della soluzione di riferimento interna (o del riferimento interno)

Preparare cinque o più soluzioni contenenti IPA a concentrazioni tali da coprire l'intero intervallo di lavoro e una concentrazione costante di riferimento/i interno/i. La concentrazione di questi sarà



uguale ($\pm 20\%$) alla concentrazione di benzo[a]pirene e degli altri IPA, equivalente al valore obiettivo.

NOTA: Le soluzioni di taratura possono essere impiegate per questo scopo (par.9.1.2.1), aggiungendo volumi costanti della soluzione di riferimento interno/i (par.9.1.2.3).

Iniettare le soluzioni e calcolare i fattori di risposta f attraverso le aree o altezze dei picchi cromatografici di ciascun IPA e dello/degli riferimento interno/i e le corrispondenti quantità, attraverso l'equazione (6):

$$f_i = \frac{A_{IS} \times m_{c,i}}{A_{c,i} \times m_{IS}} \quad (6)$$

dove:

- f_i fattore di risposta dell'IPA i -esimo;
- A_{IS} area o altezza del picco del riferimento interno nel cromatogramma della soluzione di taratura;
- $A_{c,i}$ area o altezza del picco dell'IPA i -esimo nel cromatogramma della soluzione di taratura;
- $m_{c,i}$ quantità dell'IPA i -esimo nella soluzione di taratura, espressa in ng;
- m_{IS} quantità del riferimento interno nella soluzione di taratura, espressa in ng.

I valori medi dei fattori di risposta possono essere usati per successive analisi.

Aggiungere la soluzione di riferimento interno/i alla soluzione prima dell'iniezione nel GC/MSD (par.9.1.2.3).

Per il BaP:

$$f_{BaP} = \frac{A_{IS} \times m_{c,BaP}}{A_{c,BaP} \times m_{IS}} \quad (6a)$$

La quantità di IPA i -esimo presente in un estratto di campione sarà calcolata attraverso l'equazione (7):

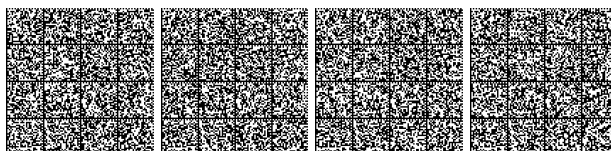
$$m_{E,i} = \frac{f_i \times A_{E,i} \times m_{ISE}}{A_{ISE}} \quad (7)$$

dove:

- f_i fattore di risposta dell'IPA i -esimo;
- $A_{E,i}$ area o altezza del picco dell'IPA i -esimo nel cromatogramma dell'estratto campione;
- A_{ISE} area o altezza del picco del riferimento interno nel cromatogramma dell'estratto campione;
- $m_{E,i}$ quantità dell'IPA i -esimo nell'estratto del campione, espressa in ng;
- m_{ISE} quantità di riferimento interno contenuta nell'estratto campione, in ng.

In particolare, per il BaP:

$$m_{E,BaP} = \frac{f_{BaP} \times A_{E,BaP} \times m_{ISE}}{A_{ISE}} \quad (7a)$$



Verificare le efficienze di recupero (par.6.3.1), includendo la fase di purificazione, se eseguita, con cinque bianchi-filtro di laboratorio (in numero non inferiore al 5% dei campioni) drogati con la soluzione di riferimento esterni (par.9.1.2.2).

10.1.3 Metodo del riferimento surrogato

Correggere le quantità misurate per gli IPA in ragione delle rispettive efficienze di recupero, operando come segue: calcolare la concentrazione del riferimento surrogato, impiegando la funzione di taratura [in analogia a par.10.1.1] e l'equazione (5) per il metodo del riferimento esterno, oppure usando i fattori di risposta [in analogia a par.10.1.2] e le equazioni (6) e (7) per il metodo del riferimento interno.

Per esempio, aggiungere 10 µl della soluzione di riferimento surrogato (par.9.1.2.4) al filtro prima della fase d'estrazione. Evaporare il solvente e calcolare la quantità di IPA presente nel filtro con l'equazione (8):

$$m_{F,i} = \frac{m_{SSF} \times m_{E,i}}{m_{SSE}} \quad (8)$$

dove:

- $m_{F,i}$ quantità di IPA i -esimo nel filtro campione, in ng;
- m_{SSF} quantità di riferimento surrogato aggiunta al filtro, in ng;
- $m_{E,i}$ quantità dell'IPA i -esimo nell'estratto, espressa in ng, calcolata con l'equazione (5) o (7);
- m_{SSE} quantità del riferimento surrogato nell'estratto del campione, espressa in ng.

Per il BaP:

$$m_{F,BaP} = \frac{m_{SSF} \times m_{E,BaP}}{m_{SSE}} \quad (8a)$$

10.2 Analisi via GC/MSD

Preparare cinque o più soluzioni contenenti IPA a concentrazioni tali da coprire l'intero intervallo di lavoro e una concentrazione costante di riferimento interno/i (par.7.4). La concentrazione di quest'ultimo sarà uguale ($\pm 20\%$) alla concentrazione di benzo[a]pirene equivalente al valore obiettivo.

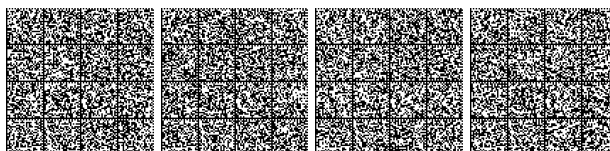
NOTA: Le soluzioni di taratura possono essere impiegate per questo scopo (par.9.1.2.1), aggiungendo volume costanti della soluzione di riferimento interno/i (par.9.1.2.3).

Iniettare le soluzioni e calcolare i fattori di risposta f attraverso le aree o altezze dei picchi cromatografici di ciascun IPA e dello/degli riferimento interno/i e le corrispondenti quantità, attraverso l'equazione (9):

$$f_i = \frac{A_{IS} \times m_{c,i}}{A_{c,i} \times m_{IS}} \quad (9)$$

dove:

- f_i fattore di risposta dell'IPA i -esimo;
- A_{IS} area o altezza del picco del riferimento interno nel cromatogramma della soluzione di taratura;
- $A_{c,i}$ area o altezza del picco dell'IPA i -esimo nel cromatogramma della soluzione di taratura;
- $m_{c,i}$ quantità dell'IPA i -esimo nella soluzione di taratura, espressa in ng;
- m_{IS} quantità del riferimento interno nella soluzione di taratura, espressa in ng.



In particolare:

$$f_{BaP} = \frac{A_{IS} \times m_{c,BaP}}{A_{c,BaP} \times m_{IS}} \quad (9a)$$

I valori medi dei fattori di risposta possono essere usati per ulteriori analisi.

Aggiungere la soluzione di riferimento interno/i alla soluzione prima dell'iniezione nel GC/MSD (par. 9.1.2.2).

La quantità di IPA *i*-esimo presente in un estratto di campione sarà calcolata attraverso l'equazione (10):

$$m_{E,i} = \frac{f_i \times A_{E,i} \times m_{ISE}}{A_{ISE}} \quad (10)$$

dove:

f_i fattore di risposta dell'IPA *i*-esimo;

$A_{E,i}$ area o altezza del picco dell'IPA *i*-esimo (della sua traccia *m/z* target) nel cromatogramma dell'estratto campione;

A_{ISE} area o altezza del picco del riferimento interno (della sua traccia *m/z* target) nel cromatogramma dell'estratto campione;

$m_{E,i}$ quantità dell'IPA *i*-esimo nell'estratto del campione, espressa in ng;

m_{ISE} quantità di riferimento interno contenuta nell'estratto campione, in ng.

Per il BaP:

$$m_{E,BaP} = \frac{f_{BaP} \times A_{E,BaP} \times m_{ISE}}{A_{ISE}} \quad (10a)$$

Correggere la quantità di ciascun IPA per l'efficienza di recupero mediante il metodo del riferimento surrogato.

Calcolare la concentrazione del riferimento surrogato in analogia all'equazione (5). Aggiungere al filtro la soluzione di riferimento surrogato (par.9.2.2.3) prima dell'estrazione con solvente. Calcolare la quantità di ciascun IPA contenuta nel filtro, in base all'equazione (11):

$$m_{F,i} = \frac{m_{SSF} \times m_{E,i}}{m_{SSE}} \quad (11)$$

dove:

$m_{F,i}$ quantità di IPA *i*-esimo nel filtro campione, in ng;

m_{SSF} quantità di riferimento surrogato aggiunta al filtro, in ng;

$m_{E,i}$ quantità dell'IPA *i*-esimo nell'estratto, espressa in ng, calcolata con l'equazione (10);

m_{SSE} quantità del riferimento surrogato nell'estratto del campione, espressa in ng.

In particolare:

$$m_{F,BaP} = \frac{m_{SSF} \times m_{E,BaP}}{m_{SSE}} \quad (11a)$$

10.3 Concentrazione di IPA in aria ambiente

Calcolare la concentrazione di ciascun IPA in aria ambiente attraverso l'equazione (12):

$$C_i = \frac{m_{F,i}}{V} \quad (12)$$

dove:

C_i concentrazione in aria dell'IPA *i*-esimo, espressa in ng/m³;



$m_{F,i}$ quantità dell'IPA i -esimo nel filtro campione, espressa in ng;
 V volume d'aria campionato, alle condizioni ambiente, espresso in m³.

In particolare, per il BaP:

$$C_{BaP} = \frac{m_{F,BaP}}{V} \quad (12a)$$

NOTA: La quantità $m_{i,F}$ deve essere normalizzata per la frazione di filtro (superficie esposta) che è stata sottomessa ad estrazione.

11 Controllo di qualità

11.1 Test del bianco reagenti

Analizzare una soluzione di bianco reagenti con frequenza superiore a un test ogni cinquanta campioni e ogniqualvolta sono usati nuovi reagenti e lotti di reagenti. Se un IPA o un picco interferente con un IPA è rivelato ad una concentrazione che contribuirebbe in misura significativa alla concentrazione attesa nei campioni reali (p.es., se il bianco fosse contaminato con un'interferenza che produce un segnale equivalente al 4% del valore-obiettivo del BaP), occorre sospendere l'analisi, al fine d'identificare la fonte della contaminazione e di rimuovere i reagenti contaminati.

11.2 Verifica della deriva di taratura (drift)

Analizzare la soluzione di taratura contenente benzo[a]pirene a una concentrazione corrispondente al valore obiettivo ($\pm 20\%$; par.9.1.2.1, 9.2.2.1) almeno una volta ogni dieci campioni. Qualora la concentrazione di ciascun IPA sia mutata di oltre il 10% (5% nel caso d'impiego dell'HPLC/FLD e del ricorso al metodo del riferimento esterno; par.10.1.1), sospendere l'analisi e ritarare il sistema cromatografico. Riprocessare le soluzioni campione analizzate durante il periodo in cui è avvenuto il cambio di sensibilità strumentale, oppure, se ciò non sia possibile, correggere i dati tendendo conto del cambio di sensibilità. In questo caso, è necessario tenere conto di ogni ulteriore fonte d'incertezza.

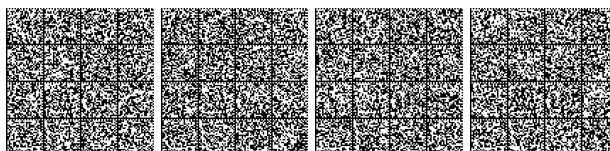
NOTA: Nel caso dell'uso dell'HPLC/FLD e del metodo del riferimento interno, le variazioni della sensibilità del rivelatore inficiano direttamente il risultato della misurazione. Conseguentemente, i requisiti per la stabilità del rivelatore sono più stringenti.

11.3 Soluzioni per il controllo di qualità

A intervalli regolari analizzare soluzioni di controllo adatte, diverse dalle soluzioni di taratura (p.es., combinazioni d'estratti già analizzati o di loro aliquote), dopo la taratura per verificare la funzionalità del metodo. Riportare in grafico i risultati (in accordo con la procedura ISO 8258) e, se i dati numerici indicano che il metodo è fuori controllo, ricercarne le ragioni e porre in atto azioni correttive; se necessario, ripetere l'analisi.

11.4 Test dell'efficienza di recupero

Estrarre separatamente almeno cinque aliquote opportune di un materiale di riferimento certificato CRM (par.7.7) o d'un materiale riferimento SRM, al fine di dimostrare l'efficienza del metodo. Il valor medio delle efficienze di recupero di tutte le aliquote e di tutti gli analiti calcolate sulla base



dei valori di concentrazione del materiale di riferimento certificato deve variare tra 80% e 120%. Saggiare l'efficienza di recupero del metodo almeno ogni sei mesi, estraendo e processando il CRM. Se i requisiti del recupero non sono soddisfatti, porre in essere azioni correttive e ripetere la valutazione dell'efficienza di recupero.

NOTA: Il certificato d'analisi delle polveri CRM NIST 1649B fornisce le concentrazioni certificate per tutti gli IPA oggetto di questo metodo, con l'eccezione del B_jF per il quale è fornita una concentrazione "di riferimento". Analogamente, per le polveri SRM NIST 2787 (di tipo PM₄) e sono certificate le concentrazioni di BaP, B_bF, B_jF, B_kF, IP, mentre per BaA e DBaA sono riportati valori "di riferimento". Per inciso, sono certificati anche gli IPA mutageni CH e il BPE. Nelle polveri CRM ERM CZ-100 sono certificati i valori di concentrazione esclusivamente per i sette IPA cancerogeni.

11.5 Verifica e valutazione delle interferenze cromatografiche

11.5.1 Analisi per HPLC/FLD

Per assicurarsi che non sussistano interferenze né per gli IPA, né per la/le soluzione di riferimento surrogato/e, bisogna dimostrare che la colonna per HPLC è in grado di separare ciascun IPA dai picchi più prossimi nel cromatogramma d'eluizione, con un fattore di risoluzione di picco non inferiore a 1,2.

NOTA: La risoluzione dei picchi può essere calcolata attraverso la formula (13):

$$R_s = 2 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_1 + w_2} \quad (13)$$

dove:

- R_s risoluzione di picco;
- t_{R1} tempo di ritenzione del picco 1, espresso in min;
- t_{R2} tempo di ritenzione del picco 2, espresso in min;
- w_1 ampiezza del picco 1, in minuti
- w_2 ampiezza del picco 2, in minuti.

Ripetere il test a ogni cambio della colonna cromatografica e almeno una volta al mese.

11.5.2 Analisi per GC/MSD

Al fine di stabilire che non sussistano interferenze ovvero che il loro effetto sia minimo, dimostrare che la colonna è in grado di separare il benzo[a]pirene dall'omologo deuterato (BaP, BaP-d₁₂), con una risoluzione di picco uguale o superiore a 1,0.

Ripetere il test ogniqualvolta si sostituisca la colonna capillare e comunque almeno una volta al mese.

11.6 Controllo dei filtri bianchi di laboratorio

Utilizzare il test dei filtri bianchi di laboratorio ai fini della garanzia di qualità soltanto per verificare la purezza dei filtri di raccolta delle polveri.

Se il cromatogramma rivela la presenza di un picco in corrispondenza del tempo di ritenzione di un IPA, avente un'area o altezza indicatrice di una concentrazione che contribuirebbe significativamente ($\geq 4\%$) al valore atteso dell'IPA nei campioni reali, il lotto di filtri non può essere utilizzato per la misura e l'analisi degli IPA.

NOTA: Utilizzando filtri in quarzo o vetro, la contaminazione spesso è ridotta notevolmente o eliminata del tutto ponendo i filtri in muffola a temperature $\geq 500^\circ\text{C}$ per non meno di 3 h (par.8.1.3).



Membrane in PTFE, eventualmente adottate in sostituzione di filtri in quarzo, possono essere condizionate a temperature di 50°C÷70°C.

Tuttavia, occorre tener presente che i filtri trattati termicamente possono diventare fragili.

11.7 Test dei filtri bianchi di campo

Si raccolgano i bianchi di campo per ogni centralina, con frequenza migliore o uguale ad un campione al mese.

Utilizzare i filtri bianchi di campo solo ai fini della garanzia di qualità. Se il cromatogramma mostra un picco in corrispondenza del tempo di ritenzione di un IPA, con un'area o altezza indicativa di una concentrazione sufficiente per interferire nel valore atteso per il contenuto di IPA nel campione reale, è necessario identificarne le cause e porre in essere azioni correttive. La variazione per la concentrazione degli IPA in conseguenza dell'interferenza del bianco di campo non deve eccedere il 4% del valore atteso.

Se si osserva un'interferenza in corrispondenza del BaP, che genera un segnale uguale o superiore al 4% del valore obiettivo di quest'ultimo, si ripetano i test dei bianchi di campo e del bianco reagenti e, se necessario, si modifichino i parametri operativi dell'analisi chimica strumentale.

11.8 Valutazione esterna della qualità

Se il laboratorio esegue analisi di IPA in aria ambiente con regolarità (p.es., in conformità a programmi di monitoraggio), si raccomanda che esso partecipi a un piano esterno di verifica della qualità, ovvero a un piano di verifica della perizia in materia del Personale impiegato.

NOTA: Si raccomanda che il laboratorio operi concordemente con i requisiti indicate nella normativa EN ISO/IEC 17025 [5]. Ciò può essere dimostrato da una formale certificazione rilasciata da un Ente di Accreditamento.

12 Determinazione dell'incertezza di misura

12.1 Introduzione

La misura della concentrazione di IPA in aria ambiente deve rispondere al requisito della massima incertezza ammessa per i valori misurati nell'intorno del valore obiettivo, prescritta dal D. Lgs. 155/2010.

Al fine di soddisfare questo requisito, l'incertezza di misura deve essere valutata applicando i metodi descritti in *UNI CEI ENV 13005*, *ISO 5725-2* [6], *CR 14377* [7] e in documenti equivalenti. In pratica, i dati d'input per la stima dell'incertezza possono essere tratti da diverse fonti sperimentali, p. es. da studi di validazione (inclusi test di laboratorio, test di campo e/o confronti inter-laboratorio) oppure da procedure di QA/QC (incluse misure ripetute di campioni bianchi e di controllo e di materiali di riferimento certificati, oppure procedure di taratura). Nel metodo *UNI EN 15549:2008* [1] la stima dell'incertezza della misura del BaP è basata sui risultati di test di laboratorio.

12.2 Variabili che contribuiscono all'incertezza della misura

L'incertezza della misura di ciascun IPA è racchiusa implicitamente nella formula applicata per il calcolo della concentrazione ambiente (12):

$$C_i = \frac{m_{F,i}}{V},$$



laddove $m_{F,i}$ è la quantità (dedotta ultimamente dalla curva di taratura) dell'IPA i -esimo nel campione di polveri sospese, V è il volume d'aria equivalente e C_i è la concentrazione: ogni elemento che rende il valore di $m_{F,i}$ e V approssimato (affetto da incertezza) si riflette su C_i . P.es., il volume d'aria filtrato può essere letto direttamente da un contatore volumetrico (che viene azzerato ad ogni operazione, oppure riporta il volume totale aspirato dal sistema), ovvero può essere calcolato conoscendo la velocità d'aspirazione (flusso) e la durata del campionamento.

I parametri che sono stati identificati come contribuenti all'incertezza delle concentrazioni di BaP misurate in filtri-campione applicando il metodo di riferimento *UNI EN 15549:2008* sono elencati nel metodo stesso ([1], sezione 14.2.1, Tabella 1).

Tabella 1. Parametri d'incertezza e requisiti minimi di qualità per la misura degli IPA atmosferici

A. Parametro d'incertezza	simbolo	sezione	requisiti minimi di qualità
volume d'aria campionato	V		Incertezza migliore del 5%
flusso di campionamento (taratura e misura)	ϕ		$\phi_{\text{nomin.}} - \phi_{\text{misur.}} \leq \pm 5\%$; incertezza del calibratore $\leq 1\%$.
intervallo di campionamento	t		incertezza $\leq 0.1\%$.
massa d'IPA individuale raccolta	$m_{F,i}$		
efficienza di campionamento (compreso l'effetto dell'ozono)	S		$\geq 99\%$, nel campo di concentrazioni sopra la soglia superiore di valutazione
Stabilità dell'analita i -esimo	A_i		sostanziale indifferenza tra i risultati d'analisi condotte prima e dopo la conservazione
massa d'IPA individuale nell'estratto	$m_{E,i}$		
B. Metodo dello std esterno	simbolo	sezione	requisiti minimi di qualità
efficienza di recupero dell'IPA i -esimo	R_i		$80\% \leq R_i \leq 120\%$, con incertezza $\leq \pm 3\%$
massa dell'IPA i -esimo nei riferimenti di taratura	$m_{c,i}$		Incertezza relativa $\leq \pm 2\%$.
lack-of-fit della funzione di taratura	δ		Residui relativi, fuori del campo di taratura, $\leq \pm 3\%$ (2% al valore obiettivo, se c'è)
deriva di risposta tra le tarature	d_i		$\leq \pm 5\%$ (per l'IPA i -esimo)
ripetibilità analitica	U_{anal}		$\leq \pm 3\%$
selettività	s		HPLC: fattore di risoluzione ≥ 1.2 ; GC-MS: fattore di risoluz. $\geq \pm 1.0$ per BaP e BaP-d ₁₂
C. Metodo del riferimento interno	simbolo	sezione	requisiti minimi di qualità
efficienza di recupero dell'IPA i - esimo	R_i		$80\% \leq R_i \leq 120\%$, con incertezza $\leq \pm 3\%$
fattore di risposta medio dell'IPA i -esimo	f_i		Scarto tipo relativo $\leq \pm 5\%$
concentrazione del riferimento	m_{ISE}		$\leq \pm 2\%$



interno nell'estratto selettività	s	HPLC: fattore di risoluzione ≥ 1.2 ; GC-MS: fattore di risoluz. $\geq \pm 1.0$ per BaP e BaP-d ₁₂
precisione della misura di risposta	s _f	$\leq \pm 3\%$
D. Metodo dello std surrogato	simbolo	sezione
recupero del riferimento surrogato	r	>50% con un'incertezza relativa $\leq \pm 5\%$
massa dell'IPA <i>i</i> -esimo nel filtro bianco	m _{b,i}	$\leq 1\%$ del valore obiettivo del BaP

Per praticità, i medesimi parametri sono riportati con le necessarie modifiche in Tabella 1A/D. Per ciascuno di questi parametri sono indicati i requisiti minimi, utilizzabili come base per stabilire futuri programmi di QA/QC.

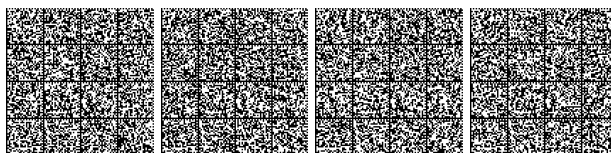
Il metodo fornisce anche un esempio di calcolo dell'incertezza, applicato al BaP, che consente all'utilizzatore di soddisfare i requisiti riportati nel D. Lgs. 155/2010 [1, Allegato D]. Tali calcoli sono stati applicati ai risultati dei test di campo per la validazione del metodo del BaP e hanno dato un'incertezza estesa per il composto, al livello di 1 ng/m³, pari a $\pm 37\%$ [1, Allegato E.2.2.1.2].

Nell'applicazione di questo metodo per gli IPA, ogni Laboratorio dovrà verificare che, nelle proprie condizioni sperimentali, per le variabili la cui incertezza può dipendere dall'IPA, i requisiti minimi siano soddisfatti per tutti gli IPA. Nel caso in cui per qualche parametro il requisito minimo non sia soddisfatto, il laboratorio dovrà verificare che il calcolo dell'incertezza dia un valore non superiore all'obiettivo di qualità stabilito dal D. Lgs. 155/2010.

12.3 Raccomandazioni

Si raccomanda d'applicare un appropriato livello di controllo di qualità, p. es. in accordo con la normativa *EN ISO/IEC 17025* [5] o con un altro documento equivalente. Oltre alle misure interne per il controllo di qualità descritte nel presente Metodo, il laboratorio dovrebbe eseguire misure esterne di controllo di qualità, p. es. utilizzando materiali di riferimento, partecipando a confronti inter-laboratorio per valutazioni di soluzioni artificiali e reali o per misure di campo. Dovrebbe anche, possibilmente, aver ottenuto l'accreditamento per la determinazione degli IPA in aria, rilasciato da un Ente di Accreditamento.

Un materiale di riferimento contenente IPA in concentrazioni certificate è reperibile presso il NIST (*NIST CRM 1649B, urban dust*): sono fornite le concentrazioni di massa di numerosi IPA (compresi i sette cancerogeni) e le rispettive incertezze (deviazioni riferimento percentuali). Solo per il benzo[*j*]fluorantene è fornito un valore "indicativo" o "di riferimento", non certificato. Quantunque la polvere *NIST CRM 1649B* sia una matrice differente dal PM10 effettivamente raccolto sui filtri-campione, essa è attualmente un materiale di riferimento generalmente considerato adatto (e praticamente adottato) ai fini del controllo di qualità della misura di IPA in aria ambiente. Analogamente, il NIST produce riferimento di riferimento certificati (SRM), costituiti da polveri sospese PM10 e PM4 (*NIST SRM 2786-2787*), e la Commissione Europea il materiale CRM ERM CZ-100, per i quali si conoscono le concentrazioni degli IPA, con le corrispondenti incertezze. Questi materiali di riferimento possono essere processati a intervalli regolari per stimare le efficienze di recupero degli IPA.



13 Interferenze

13.1 Interferenze chimiche e fisiche: generalità

Risultati inusuali, strane forme dei picchi cromatografici o tempi di ritenzione imprevisi o alterati degli IPA sono molto indicativi della presenza d'interferenze cromatografiche. Queste possono dar luogo a valori misurati di IPA maggiori o minori di quelli reali.

L'esposizione al calore, all'ozono e alla luce ultravioletta causa facilmente la degradazione degli IPA durante il campionamento, la conservazione del campione e l'analisi chimica. Pertanto, bisogna evitare per quanto possibile l'esposizione dei filtri e degli estratti a questi agenti.

NOTA: L'impatto negativo dell'ozono, in presenza e assenza di luce solare, è stato sufficientemente provato in ambienti artificiali, quantunque le stime quantitative siano assai dubbie e incerte nell'applicazione di "fattori di correzione" per atmosfere reali. Diversamente dall'ozono, l'NO₂ non sembra incidere in misura significativa sui livelli di IPA, alle concentrazioni normalmente registrate in aria ambiente.

NOTA: Parallelamente, l'equilibrio di ripartizione tra fase gassosa e materiale particolato fa sì che quest'ultimo non contenga la totalità di IPA dispersi in atmosfera: quantunque gli IPA più cancerogeni abbiano scarsa volatilità, tuttavia in condizioni di alta temperatura e di basse concentrazioni di polveri e di analiti la frazione gassosa aumenta a valori percentualmente apprezzabili.

NOTA: Nonostante quanto riportato nelle Note precedenti, nella prassi tuttora non si adottano né sistemi/procedure, né artifici di calcolo, che minimizzino o computino gli artefatti di misura. Questo approccio, ancorché consenta di confrontare dati più omogenei perché affetti dal medesimo tipo d'errore, comporta che le concentrazioni di IPA misurate in aria ambiente siano inferiori a quelle reali.

13.2 Interferenze chimiche e fisiche: identificazione

Si richiede la ricerca di eventuali sostanze incognite che co-eluiscono con uno qualsiasi degli IPA target, operando come segue:

Per analisi GC/MSD: Si valuti la relazione (ed eventualmente il rapporto d'intensità) del segnale corrispondente allo ione target (p.es., per il BaP, $m/z = 252$) con quelli d'altri ioni caratteristici della sostanza, significativamente abbondanti (p.es., for BaP, $m/z = 126$ e/o $m/z = 250$). Si valuti se picchi con valori caratteristici m/z diversi da quelli che appaiono nello spettro di massa dell'IPA considerato sono presenti, e particolarmente abbondanti, in corrispondenza del tempo di ritenzione dell'IPA.

Per analisi HPLC/FLD: Si aggiunga uno riferimento contenente IPA a concentrazione nota alla soluzione campione. Se il tempo di ritenzione di un picco cromatografico cambia per più dello 0,50% del tempo di ritenzione dell'IPA più vicino, o se la forma del picco appare modificata (p.es., se compare un picco-spalla o un picco scisso), l'interferenza cromatografica è provata.

NOTA: Se la concentrazione dell'IPA nell'estratto è sufficientemente alta, la soluzione può essere analizzata di nuovo utilizzando il rivelatore ad assorbimento UV a reticolo di diodi (DAD). Registrando lo spettro UV del picco e confrontandolo con quello dell'IPA più prossimo puro, se differisce da questo per più del 10% la presenza d'una interferenza nel cromatogramma è dimostrata.

Occorre prestare molta attenzione alle interferenze che riguardano il BaA, i tre benzofluoranteni e il DBaH quando si opera in GC/MSD, o il BbF lavorando in HPLC/FLD (Allegato D). In specie, nel primo caso: il benz[a]antracene spesso non è del tutto separato dal crisene e può sovrapporsi al crisene deuterato, se questo è usato come riferimento interno o surrogato; la separazione di BbF,



BjF e BkF non è mai completa (comunemente, il BjF si sovrappone al BbF o al BkF); il DBahA si sovrappone, almeno in parte, al DBacA e al DBajA (Allegato E).

Se un'interferenza cromatografica è identificata nell'estratto, analizzare nuovamente il campione operando in diverse condizioni sperimentali e/o sottoporlo alla purificazione (p.es., Allegato D). Se ciò non è possibile, annottarlo nel registro dei campioni specificando la presenza dell'interferenza cromatografica.

14 Rapporto dei risultati

La presentazione dei risultati conterrà almeno le seguenti informazioni:

- il riferimento a questo metodo e alla normativa europea riferimento *UNI EN 15549:2008* da cui esso è stato adattato,
- l'identificazione completa del campione,
- il tipo di campionatore impiegato per le polveri sospese (e d'impattore inerziale),
- la descrizione del luogo di prelievo del campione,
- il tempo di campionamento (data e ora d'inizio e fine, durata),
- il volume d'aria aspirata,
- la pressione barometrica e temperature ambientale (valori medi),
- il tipo di filtro,
- il risultato dell'analisi, espresso in ng/m^3 ,
- le stranezze e particolarità notate durante il campionamento, la conservazione e le analisi di laboratorio,
- i limiti di rivelazione e di quantificazione,
- i valori di bianco per i filtri di laboratorio,
- i valori di bianco per i filtri di campo,
- la procedura d'analisi,
- le eventuali deviazioni dal metodo di protocollo (p.es., la diluizione di un estratto troppo ricco di IPA).

