

5000 - COSTITUENTI ORGANICI

La determinazione del materiale organico nelle acque può essere effettuata attraverso due differenti tipi di misure:

- misure adatte alla quantificazione di sostanze aventi caratteristiche comuni;
- misure adatte alla quantificazione di singole sostanze.

Premesso che la determinazione di singole sostanze non ha bisogno di particolari commenti, occorre precisare che alcuni parametri, come ad esempio il carbonio organico e la richiesta chimica di ossigeno, possono essere utilizzati per stabilire la quantità totale di sostanze organiche presenti.

Di queste, una frazione importante è rappresentata dalla richiesta biochimica di ossigeno, che può essere impiegato come indice del materiale organico biodegradabile.

Altri parametri, come i grassi e oli animali e vegetali e gli idrocarburi totali, rappresentano le sostanze organiche estraibili con solvente non polare, a loro volta separabili mediante passaggio su colonna impaccata di gel di silice.

I metodi descritti in questa sezione prevedono l'impiego delle seguenti tecniche:

- spettrofotometria di assorbimento molecolare nella regione del visibile;
- spettrofotometria infrarossa;
- gascromatografia;
- gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa;
- cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC);
- volumetria;
- potenziometria.

Queste tecniche sono ampiamente descritte nella parte generale (Sezione 1020), dove sono anche riportati i metodi di campionamento e conservazione dei campioni (Sezione 1030).

Esistono molte raccomandazioni sull'uso in sicurezza di strumentazione analitica e di reattivi di laboratorio. Data la diversità di tipologie e modelli di strumenti e l'elevato numero di reattivi utilizzati nei singoli metodi proposti in questa sezione del manuale, non è possibile in questa sede operare una lista di tutte le possibili avvertenze. Pertanto, si rimanda alla consultazione dei manuali d'uso dei singoli strumenti e delle schede di sicurezza dei singoli reattivi nonché alla lettura delle frasi di rischio riportate sulle etichette degli imballaggi delle sostanze e preparati utilizzati.

Solo in alcuni casi particolari si è provveduto ad esplicitare, all'interno del singolo metodo, particolari avvertenze sulla sicurezza d'uso della strumentazione e dei reattivi. Comunque tutte le operazioni analitiche devono essere effettuate nel rispetto delle disposizioni stabilite dalla normativa sulla sicurezza nei luoghi di lavoro.

5010. Aldeidi (Composti carbonilici)

Introduzione

I composti carbonilici sono inquinanti di rilevante interesse ambientale in quanto vengono generati durante i processi di ossidazione. Nelle acque naturali e di scarico, questi composti possono essere prodotti dalla foto-degradazione del materiale organico disciolto e possono essere rilasciati come metaboliti di processi microbiologici. Recentemente, i composti carbonilici di basso peso molecolare hanno ricevuto particolare attenzione in quanto è stata dimostrata la loro formazione durante i processi di disinfezione e di ossidazione.

Diversi composti carbonilici sono pericolosi per la salute umana anche quando sono presenti nelle acque a basse concentrazioni. In particolare è stato dimostrato che la formaldeide è un composto mutageno e carcinogeno mentre il gliossale può indurre tumori allo stomaco.

Nel seguito vengono descritti tre procedimenti analitici per il dosaggio di detti composti nelle acque.

Il primo (Metodo A) si basa sulla reazione di aldeidi alifatiche con il cloridrato di 3-metil-2-benzotiazolone idrazone (MBTH) e cloruro ferrico, con formazione di un derivato di colore blu, la cui assorbanza è misurata alla lunghezza d'onda di 628 nm.

Il secondo (Metodo B1) consiste in una preventiva derivatizzazione dei composti carbonilici, estrazione liquido-solido dei composti derivatizzati ed analisi successiva in cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

Il terzo (Metodo B2) consiste in una derivatizzazione dei composti carbonilici, estrazione liquido-liquido dei composti derivatizzati ed analisi in gascromatografia.

A differenza dei metodi cromatografici, il metodo spettrofotometrico soffre di notevoli limitazioni:

- non è adatto, per la sua scarsa sensibilità, alla determinazione di aldeidi in tracce;
- come tutti i metodi aspecifici, è scarsamente accurato e tende generalmente a sovrastimare il contenuto di aldeidi nel campione;
- non è in grado di distinguere aldeidi con diversa tossicità e quindi risulta inadatto a valutare l'impatto di questi composti sull'ambiente.

Tale metodo può essere impiegato, tuttavia, in valutazioni preliminari ("screening") sul contenuto di aldeidi in un campione acquoso o per caratterizzare effluenti a composizione chimica nota. Pertanto, limitatamente a questi ambiti di applicazione, si è ritenuto opportuno mantenere detto metodo.

Per una valutazione più accurata degli effetti di questi composti sull'ambiente si deve ricorrere all'impiego dei metodi cromatografici precedentemente indicati.

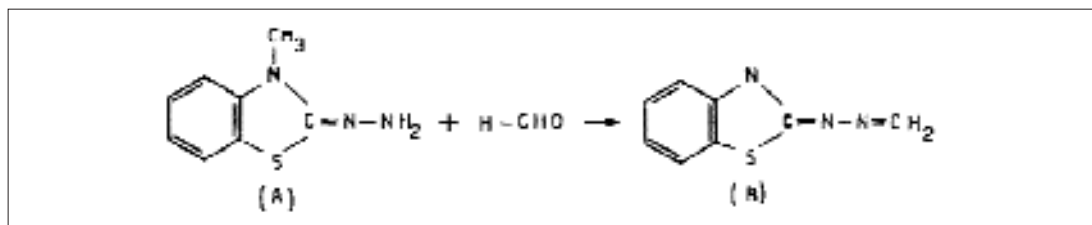
METODO A – Determinazione spettrofotometrica mediante cloridrato di 3-metil-2-benzotiazolone idrazone (MBTH)

1. Principio del metodo

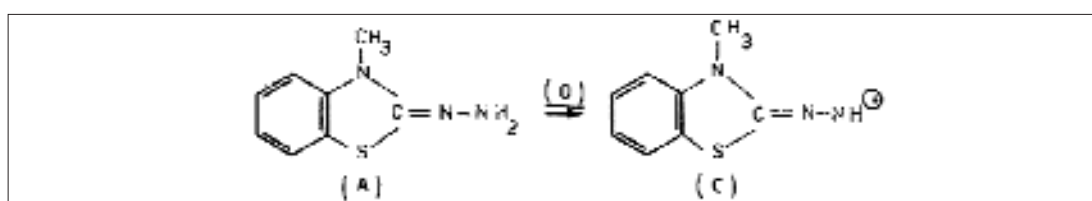
Le aldeidi alifatiche idrosolubili presenti nelle acque vengono determinate per reazione con il cloridrato di 3-metil-2-benzotiazolone idrazone (MBTH) e cloruro di ferro (III) con formazione di un derivato di colore blu.

Il meccanismo di reazione, applicato alla formaldeide, è il seguente:

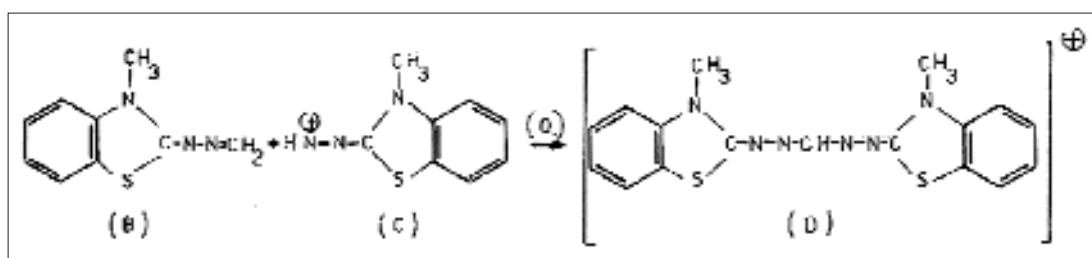
a) Reazione dell'aldeide con l'idrazona A (MBTH) per formare l'azina B.



b) Ossidazione della parte A che non ha reagito per formare il reattivo cationico C.



c) Reazione fra B e C con formazione del catione condensato D di colore blu.



Il catione colorato (D) presenta in soluzione acquosa due massimi di assorbimento: il primo a circa 625 nm, il secondo intorno a 665 nm.

Come per la determinazione dello stesso parametro nell'aria, si è ritenuto opportuno adottare la lunghezza d'onda di 628 nm.

L'assorbimento molare varia da composto a composto; è più elevato per le prime quattro aldeidi della serie alifatica e per queste la variazione è minima.

2. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile ad acque naturali e di scarico nell'intervallo di concentrazione 0,05-1 mg/L. Concentrazioni superiori possono essere rilevate diluendo il campione.

3. Interferenze e cause d'errore

Interferiscono ammine aromatiche, composti imminoeterociclici, carbazoli, stilbeni, coloranti azoici, basi di Schiff.

4. Conservazione del campione

Il campione deve essere conservato in bottiglia di vetro scuro, completamente piena e tappata, mantenuta alla temperatura di circa +4°C. Il campione va analizzato entro 48 ore dal prelievo.

5. Apparecchiature

5.1 *Spettrofotometro* munito di celle aventi cammino ottico di 1 cm.

5.2 *Normale attrezzatura di laboratorio*

6. Reattivi

Tutti i reattivi devono essere del tipo puro per analisi e l'acqua distillata o deionizzata.

6.1 *Soluzione di MBTH (P.M. 215,7) allo 0,05%*

Sciogliere 0,5 g di cloridrato di 3-metil-2-benzotiazolone idrazone (MBTH) in 1000 mL di acqua.

Questa soluzione non deve essere colorata e se torbida va filtrata.

Il reattivo conservato in bottiglie di vetro scuro, alla temperatura di 4°C, è stabile una settimana.

6.2 *Soluzione ossidante*

Sciogliere 16,0 g di acido solfammino ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$) e 10,0 g di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 1000 mL di acqua.

La soluzione è stabile almeno un mese, se conservata a 4°C.

6.3 *Soluzione di Dimedone*

Sciogliere 1,07 g di dimedone (5,5-Dimetilcicloesan-1,3-dione) in acqua e diluire a 500 mL.

6.4 *Soluzione di riferimento di formaldeide (1000 mg/L di HCHO)*

Diluire 2,7 mL di una soluzione di formaldeide al 37-39% in peso a 1000 mL con acqua.

Il controllo del titolo viene eseguito con le seguenti modalità: introdurre in tre palloni da 100 mL 3 aliquote di 50 mL di soluzione di dimedone (6.3) ed aggiungere in ognuno di essi 10 mL della soluzione di riferimento di formaldeide (6.4). Agitare bene, tappare e lasciare a riposo almeno una notte a temperatura ambiente. Filtrare attraverso crogioli a setto poroso (tipo Gooch) precedentemente pesati. Seccare i precipitati sotto vuoto a 70°C (o a temperatura ambiente su P_2O_5) fino a peso costante.

Il titolo della soluzione (6.4) si ricava dalla seguente formula:

$$C = \frac{P \cdot 0,1027 \cdot 1000}{V}$$

dove:

C = concentrazione (mg/L);

P = peso (mg) del precipitato (valore medio di tre determinazioni);

0,1027 = fattore gravimetrico di conversione in formaldeide;

V = volume (mL) di soluzione di riferimento utilizzata.

6.5 *Soluzione intermedia di formaldeide (100 mg/L di HCHO)*

Introdurre 10 mL di soluzione di riferimento (6.4) in un matraccio tarato da 100 mL e portare a volume con acqua.

6.6 Soluzione diluita di formaldeide (1 mg/L di HCHO)

Introdurre 10 mL della soluzione intermedia (6.5) in un matraccio tarato da 1000 mL e portare a volume con acqua (1 mL=1 µg di HCHO)

7. Procedimento

7.1 Taratura

Prelevare 1 mL; 2 mL; 4 mL; 8 mL e 10 mL di soluzione diluita (6.6), corrispondenti a 1 µg; 2 µg; 4 µg; 8 µg e 10 µg di HCHO, ed introdurli in cilindri graduati da 25 mL, portando a volume di 10 mL con acqua. Aggiungere 10 mL di soluzione MBTH (6.1), miscelare e dopo 1 ora aggiungere 5 mL della soluzione ossidante (6.2). Preparare secondo le stesse modalità, ma senza la soluzione diluita (6.6), una quinta soluzione di taratura (bianco).

Attendere almeno 5 minuti per consentire lo sviluppo completo del colore e misurare allo spettrofotometro le assorbanze delle soluzioni alla lunghezza d'onda di 628 nm usando celle da 1 cm di cammino ottico.

Riportare in grafico i valori di assorbanza delle soluzioni, corrette del valore del bianco, in corrispondenza dei µg di HCHO, tenendo conto delle correzioni ricavate dal controllo gravimetrico.

7.2 Dosaggio del campione

In cilindri tarati da 25 mL introdurre 10 mL di campione o una sua aliquota diluita a 10 mL e procedere come descritto al Paragrafo 7.1.

8. Calcoli

Per calcolare la concentrazione di aldeidi nel campione utilizzare la seguente formula:

$$C = \frac{a}{V}$$

dove:

C = concentrazione (mg/L) di aldeidi;

a = quantità di aldeidi (µg) ricavata dalla curva di taratura;

V = volume (mL) di campione analizzato.

9. Qualità del dato

Prove effettuate (n=7) da un singolo laboratorio su campioni di acqua di scarico contenenti 300 µg/L di HCHO hanno fornito un coefficiente di variazione [CV (%) = (scarto tipo/valore medio)·100] pari all'1% e un'accuratezza del 30%.

METODI B – Determinazioni cromatografiche**B1 – Determinazione mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC)****1. Principio del metodo**

Il metodo si basa su una derivatizzazione dei composti carbonilici nella fase acquosa mediante reazione con dinitro-fenil-idrazina (DNPH) e successiva estrazione liquido-solido, su cartucce SPE ("solid phase extraction"), dei composti derivatizzati. I composti carbonilici derivatizzati contenuti nell'estratto organico concentrato vengono separati e rilevati mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata ad una rivelazione spettrofotometrica nell'ultravioletto (UV).

L'analisi qualitativa dei singoli composti è basata sul confronto dei tempi di ritenzione dei picchi ottenuti nel cromatogramma del campione con quelli ottenuti da idonee miscele di riferimento. La determinazione quantitativa dei vari composti viene effettuata con le aree dei rispettivi picchi cromatografici sulla base di opportune rette di taratura di miscele di riferimento. I risultati sono di norma espressi in $\mu\text{g/L}$, per ciascun composto carbonilico.

2. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile alle acque superficiali, sotterranee e di scarico e consente la determinazione dei composti carbonilici riportati in Tab. 1.

Tabella 1: Composti carbonilici analizzabili con il presente metodo

	Composto
1	acetaldeide
2	acetone
3	acroleina
4	benzaldeide
5	butanale
6	crotonaldeide
7	cicloesanone
8	decanale
9	2,5-dimetilbenzaldeide
10	formaldeide
11	eptanale
12	esanale
13	gliosale
14	isovalerialdeide
15	nonanale
16	ottanale
17	pentanale
18	propanale
19	m-tolualdeide
20	o-tolualdeide
21	p-tolualdeide

Per le acque superficiali e di scarico il metodo presenta un limite di rilevabilità, per ciascun composto carbonilico, inferiore a $10 \mu\text{g/L}$.

3. Interferenze e cause di errore

Normali interferenti possono essere quei composti organici che danno luogo, durante l'analisi cromatografica, a picchi con tempi di ritenzione coincidenti con quelli dei composti in esame. Solventi, reattivi, vetreria, contaminazione dell'ambiente di lavoro ed ogni trattamento del campione possono causare la presenza di picchi interferenti e/o alterazioni della corrente di fondo del rivelatore con conseguenti difficoltà d'interpretazione del tracciato cromatografico.

Pertanto, al fine di essere sicuri che tutti i materiali utilizzati siano esenti da interferenze nelle condizioni operative adottate è buona norma, sia all'inizio dell'indagine che periodicamente, sottoporre all'intera procedura uno o più "bianchi" sostituendo al campione acqua distillata. Nel caso di evidenza d'interferenze, individuarne la provenienza analizzando ogni singolo passaggio della procedura e procedere alla loro eliminazione. Può essere richiesta una specifica selezione dei reattivi ed una purificazione dei solventi mediante distillazione.

Particolare attenzione deve essere rivolta alla formaldeide in quanto essendo ormai ubiquitario nell'ambiente può contaminare il derivatizzante. Qualora questo venga accertato, si consiglia di utilizzare una nuova confezione di derivatizzante o di purificarlo per cristallizzazione. La vetreria da utilizzare non deve venire in contatto con acetone e con metanolo, che possono reagire con il derivatizzante dando luogo a composti interferenti.

4. Campionamento e conservazione del campione

I campioni vengono prelevati in bottiglie di vetro neutro, possibilmente scuro, con chiusura a smeriglio oppure a vite con guarnizione di teflon. Non filtrare l'acqua ed evitare ogni operazione che faciliti la perdita dei composti organici volatili disciolti. Riempire la bottiglia fino all'orlo e tappare subito evitando di lasciare spazi gassosi nei quali possono passare i componenti più volatili che vanno perduti all'apertura della bottiglia, dando risultati in difetto.

Le analisi devono essere effettuate al più presto e in ogni caso non oltre 48 ore dopo il prelievo del campione, conservando questo in frigorifero a 4°C nel periodo d'attesa.

5. Apparecchiature

5.1 HPLC

Si consiglia l'uso di uno strumento dotato di rivelatore UV a lunghezza d'onda variabile, o a serie di diodi (DAD), impostato a 360 nm e di colonna a fase inversa. La fase mobile è costituita da una miscela di acetonitrile/acqua o metanolo/acqua. L'analisi viene effettuata in gradiente la cui composizione e durata, così come il flusso di lavoro, dipende dal tipo e dalle dimensioni della colonna utilizzata.

5.2 Adsorbenti per l'estrazione SPE

Per l'estrazione liquido-solido si consiglia di utilizzare cartucce costituite da materiale polimerico, con fase stazionaria polare o di materiale siliceo con fase stazionaria C₁₈ o C₈. La quantità di materiale adsorbente dipenderà dal tipo di cartucce utilizzate. La procedura di condizionamento, estrazione ed eluizione viene effettuata sotto vuoto montando la cartuccia su una beuta da vuoto o su un sistema per estrazione liquido-solido disponibile in commercio, secondo le modalità consigliate dal produttore delle cartucce.

5.3 "Vial"

Flaconcini di vetro ("vials") di idonea capacità con tappo a vite e guarnizione in silicone teflonata.

5.4 Bilancia tecnica, risoluzione 0,1 g.

5.5 *Bilancia analitica, risoluzione 0,1 mg.*

5.6 *Normale vetreria di laboratorio*

Dopo il lavaggio e prima dell'uso, la vetreria deve essere sciacquata con acqua bidistillata ed asciugata in stufa.

6. Reattivi

6.1 *Acetonitrile o metanolo (per HPLC)*

6.2 *Acqua (per HPLC)*

6.3 *NaOH 6 M*

6.4 *HCl 6 M*

6.5 *Soluzione di 2,4-dinitro-fenilidrazina (DNPH)*

Sciogliere 428,7 mg di DNPH al 70% in 100 mL di acetonitrile.

6.6 *Tampone citrato 1 M, pH=3*

Miscelare 80 mL di una soluzione di acido citrico 1 M con 20 mL di una soluzione di citrato di sodio 1 M e aggiustare il pH con NaOH.

6.7 *Soluzioni di composti carbonilici*

Sono disponibili in commercio delle soluzioni multicomponente di alcuni composti carbonilici derivatizzati con DNPH. Queste soluzioni, essendo vendute con certificato d'analisi, possono essere utilizzate come riferimenti primari. Le soluzioni di riferimento per la taratura, a concentrazione di circa 0,1-10 mg/L vengono ottenute per diluizioni successive delle soluzioni di riferimento concentrate impiegando come solvente la fase mobile usata nell'analisi HPLC.

Le soluzioni concentrate dei rimanenti composti carbonilici si preparano pesando esattamente una quantità di circa 100 mg in un matraccio tarato (100 mL) e portando a volume con acqua o acetonitrile. Queste soluzioni possono essere conservate a 4°C per un mese. Le soluzioni di riferimento, a concentrazione di circa 0,005-10 mg/L, vengono ottenute per diluizioni successive delle soluzioni concentrate impiegando come solvente acqua e derivatizzate come per il campione. È preferibile che le soluzioni di riferimento siano preparate e derivatizzate giornalmente.

7. Procedimento

7.1 *Trattamento preliminare*

Se il campione è stato refrigerato, prima dell'estrazione farlo riequilibrare a temperatura ambiente. Controllare l'eventuale presenza di particelle in sospensione ed agitare per consentire una migliore omogeneità.

7.2 *Derivatizzazione con DNPH*

In una beuta introdurre 50 mL di campione acquoso e aggiungere 2 mL di tampone citrato. Portare il pH a 3 con HCl o NaOH. Aggiungere 3 mL di soluzione di DNPH, chiudere la beuta e riscaldare a 40°C per 1 ora tenendo la soluzione in agitazione.

Condizionare la cartuccia SPE come suggerito dal produttore. Far passare quantitativamente il volume di soluzione dopo averla lasciata raffreddare. Seccare la cartuccia sotto vuoto, o con azoto, ed eluire le aldeidi derivatizzate con 6 mL di acetonitrile. Portare il volume dell'estratto a 2 mL sotto moderato flusso d'azoto. Eseguire l'analisi in HPLC-UV a 360 nm. La separazione di tutti i composti carbonilici di Tab. 1 in un'unica analisi risulta abbastanza problematica a causa della co-eluzione di alcuni di essi. Se necessario si possono utilizzare due colonne in serie per migliorare la separazione dei vari componenti o, alternativamente, si possono effettuare due analisi, la prima ottimizzata alla separazione dei composti con tempi di ritenzione più piccoli, la seconda ottimizzata alla separazione dei composti con tempi di ritenzione più grandi.

La Fig. 1 mostra una tipica separazione di alcuni composti carbonilici con questa procedura.

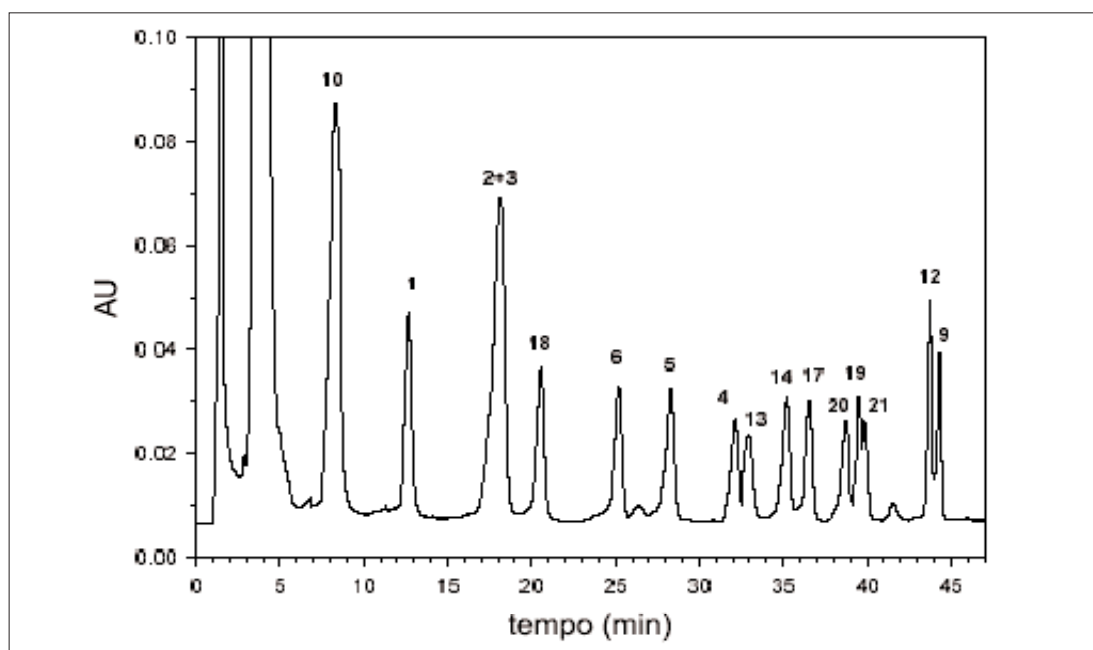


Figura 1: Cromatogramma ottenuto mediante derivatizzazione ed estrazione con cartucce SPE Bondelut C18 da 1 g di un campione di acqua di scarico contaminato con 100-150 ppb di alcuni composti carbonilici di Tab. 1. Condizioni analitiche: colonna cromatografica Supelcosil LC-18 250x3 mm, dimensione particelle 5 µm, volume iniettato 10 µL, flusso 0,7 mL/min, rivelazione 360 nm. Gradiente (acqua/acetonitrile): 60/40 da 0 a 7 min, 40/60 a 40 min, 30/70 a 41 min.

8. Calcoli

Introdurre nel cromatografo liquido volumi uguali di campione e di soluzioni di riferimento. Preparare almeno 3 miscele di composti carbonilici (6.7) ad opportune concentrazioni. Costruire quindi le rette di taratura per i singoli composti, accertandosi di operare nel campo di linearità dello strumento, riportando in grafico l'area del picco del componente (A) in funzione della concentrazione del componente stesso e interpolando i punti sperimentali con il metodo dei minimi quadrati. Ricavare il coefficiente angolare (a) e l'intercetta (b) della retta di taratura. La concentrazione incognita di ogni componente è data dalla relazione:

$$C = \frac{A - b}{a} \cdot \frac{V_f}{V_i}$$

dove:

C = concentrazione (µg/L) di aldeidi;

A = area del picco del composto nella miscela incognita;

b = valore dell'intercetta della retta di taratura;

α = valore del coefficiente angolare della retta di taratura;
 V_f = volume (mL) dell'estratto finale;
 V_i = volume (mL) del campione acquoso.

9. Qualità del dato

Le iniezioni del campione e delle soluzioni di riferimento vanno ripetute almeno due volte al fine di migliorare l'accuratezza delle misure sperimentali. La ripetibilità dell'analisi viene verificata ripetendo per 10 volte l'analisi di una delle soluzioni di riferimento. L'impiego di soluzioni multicomponente di alcuni composti carbonilici già derivatizzati ha permesso di stabilire che i recuperi sono superiori all'80% con un coefficiente di variazione del 12%.

Nota: si consiglia ai laboratori di attivare, in accordo con le norme internazionali più recenti, dei programmi di controllo formale sulla qualità dei dati prodotti. Ciò si può realizzare verificando le proprie prestazioni attraverso analisi effettuate, ad intervalli regolari di tempo, su materiali di riferimento certificati prodotti da organismi internazionali e su materiali di riferimento non certificati (carte di controllo). Informazioni sul tipo di materiali certificati e sugli organismi che li producono sono fornite nella Sezione 1040 "Qualità del dato analitico".

Il materiale di riferimento non certificato va caratterizzato in termini di valore medio ed incertezza ad esso associata, rispetto al quale si verificano gli scostamenti di misure giornaliere condotte in parallelo con l'insieme dei campioni incogniti da determinare.

METODO B2 – Determinazione mediante gascromatografia

1. Principio del metodo

Il metodo si basa su una derivatizzazione dei composti carbonilici nella fase acquosa mediante reazione con O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzil)-idrossilammina idrocloruro (PFBHA-HCl) e successiva estrazione liquido-liquido (LLE). I composti carbonilici derivatizzati contenuti nell'estratto organico concentrato vengono separati e rilevati mediante gascromatografia (GC) accoppiata ad un rivelatore a cattura di elettroni (ECD).

L'analisi qualitativa dei singoli composti è basata sul confronto dei tempi di ritenzione dei picchi ottenuti nel cromatogramma del campione con quelli ottenuti da idonee miscele di riferimento. La determinazione quantitativa dei vari composti viene effettuata con le aree dei rispettivi picchi cromatografici sulla base di opportune rette di taratura di miscele di riferimento. I risultati sono di norma espressi in $\mu\text{g/L}$, per ciascun composto carbonilico.

2. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile alle acque superficiali, sotterranee e di scarico e consente la determinazione dei composti carbonilici riportati in Tab. 1 (vedi Metodo B1).

Per le acque superficiali e di scarico il metodo presenta un limite di rilevabilità, per ciascun composto carbonilico, inferiore a $10 \mu\text{g/L}$.

3. Interferenze e cause di errore

Normali interferenti possono essere quei composti organici che danno luogo, durante l'analisi cromatografica, a picchi con tempi di ritenzione coincidenti con quelli dei composti in esame. Solventi, reattivi, vetreria, contaminazione dell'ambiente di lavoro ed ogni trattamento del campione possono causare la presenza di picchi interferenti e/o alterazioni della corrente di fondo del rivelatore con conseguenti difficoltà d'interpretazione del tracciato cromatografico.

Pertanto, al fine di essere sicuri che tutti i materiali utilizzati siano esenti da interferenze nelle condizioni operative adottate è buona norma, sia all'inizio dell'indagine che periodicamente, sottoporre all'intera procedura uno o più "bianchi" sostituendo al campione acqua distillata. Nel caso di evidenza d'interferenze, individuarne la provenienza analizzando ogni singolo passaggio della procedura e procedere alla loro eliminazione. Può essere richiesta una specifica selezione dei reattivi ed una purificazione dei solventi mediante distillazione. Particolare attenzione deve essere rivolta alla formaldeide in quanto essendo ormai ubiquitario nell'ambiente può contaminare il derivatizzante. Qualora questo venga accertato, si consiglia di utilizzare una nuova confezione di derivatizzante o di purificarlo per cristallizzazione. Si deve evitare che la vetreria da utilizzare venga in contatto con acetone in quanto questo solvente reagisce con il derivatizzante dando luogo a composti interferenti.

4. Campionamento e conservazione del campione

I campioni vengono prelevati in bottiglie di vetro neutro, possibilmente scuro, con chiusura a smeriglio oppure a vite con guarnizione di teflon. Non filtrare l'acqua ed evitare ogni operazione che faciliti la perdita dei composti organici volatili disciolti. Riempire la bottiglia fino all'orlo e tappare subito evitando di lasciare spazi gassosi nei quali possono passare i componenti più volatili che vanno perduti all'apertura della bottiglia, dando risultati in difetto. Le analisi devono essere effettuate al più presto e in ogni caso non oltre 48 ore dopo il prelievo del campione, conservando questo in frigorifero a 4°C nel periodo d'attesa.

5. Apparecchiature

5.1 Gascromatografo

Si consiglia l'uso di un gascromatografo dotato di iniettore "splitless" o "on-column", colonna capillare di vetro o silice fusa di media polarità, di opportuna lunghezza e diametro interno, e di rivelatore ECD. Si consiglia l'uso di un elaboratore di dati cromatografici per la misura delle aree dei picchi con possibilità di stampa di dati e cromatogrammi. L'analisi viene effettuata in "programmata di temperatura" le cui caratteristiche e durata, così come il flusso del gas di trasporto, dipendono dal tipo e dalle dimensioni della colonna utilizzata.

5.2 "Vial"

Flaconcini di vetro ("vials") di idonea capacità con tappo a vite e guarnizione in silicone teflonata.

5.3 Bilancia tecnica, risoluzione 0,1 g.

5.4 Bilancia analitica, risoluzione 0,1 mg.

5.5 Normale vetreria di laboratorio

Dopo il lavaggio e prima dell'uso, la vetreria deve essere sciacquata con acqua bidistillata ed asciugata in stufa.

6. Reattivi

6.1 *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzil)-idrossilammina idrocloruro (PFBHA-HCl)

Preparare una soluzione 1 g/L in acqua.

6.2 Tiosolfato di sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 M

6.3 *n*-Esano puro per analisi

6.4 Acido solforico 0,1 M e 18 M

6.5 Solfato di sodio anidro (Na_2SO_4)

6.6 Elio o idrogeno puri per gas cromatografia usati come gas di trasporto, eventualmente passati attraverso una trappola a carbone attivo e una trappola a setacci molecolari. Un'ulteriore purificazione può essere fatta tramite passaggio in una trappola per l'eliminazione delle tracce d'ossigeno.

6.7 Soluzioni di riferimento di composti carbonilici

6.7.1 Soluzioni concentrate

Le soluzioni concentrate si preparano pesando una quantità di circa 100 mg di ognuno dei composti carbonilici di Tab. 1, trasferendola in un matraccio tarato (100 mL) e portando a volume con acqua o metanolo. Queste soluzioni possono essere conservate a 4°C per un mese.

6.7.2 Soluzioni diluite

Le soluzioni diluite, a concentrazione di circa 0,005-10 mg/L, vengono ottenute per diluizioni successive delle soluzioni di riferimento (6.7.1) impiegando come solvente acqua e derivatizzate come per il campione. È preferibile che dette soluzioni siano preparate e derivatizzate giornalmente.

7. Procedimento

7.1 *Trattamento preliminare*

Se il campione è stato refrigerato, prima dell'estrazione farlo riequilibrare a temperatura ambiente. Controllare l'eventuale presenza di particelle in sospensione ed agitare per consentire una migliore omogeneità.

7.2 *Derivatizzazione con PFBHA-HCl*

In una "vial" introdurre 5 mL di campione acquoso, aggiungere 2 gocce di soluzione di tiosolfato 0,1 M e 0,5 mL di soluzione di PFBHA-HCl. Chiudere la beuta e agitare la soluzione per 2 ore. Aggiungere 1 goccia di soluzione di acido solforico 18 M, 1 mL di *n*-esano e agitare vigorosamente per estrarre i composti carbonilici per 2-3 minuti. Trasferire la fase di esano in un'altra "vial", aggiungere 5 mL di soluzione di acido solforico 0,1 M e agitare vigorosamente per 2-3 minuti. Trasferire la fase di esano in un'altra "vial", anidrificare con solfato di sodio ed eseguire l'analisi in GC-ECD.

La Fig. 2 mostra una tipica separazione di alcuni composti carbonilici con questa procedura.

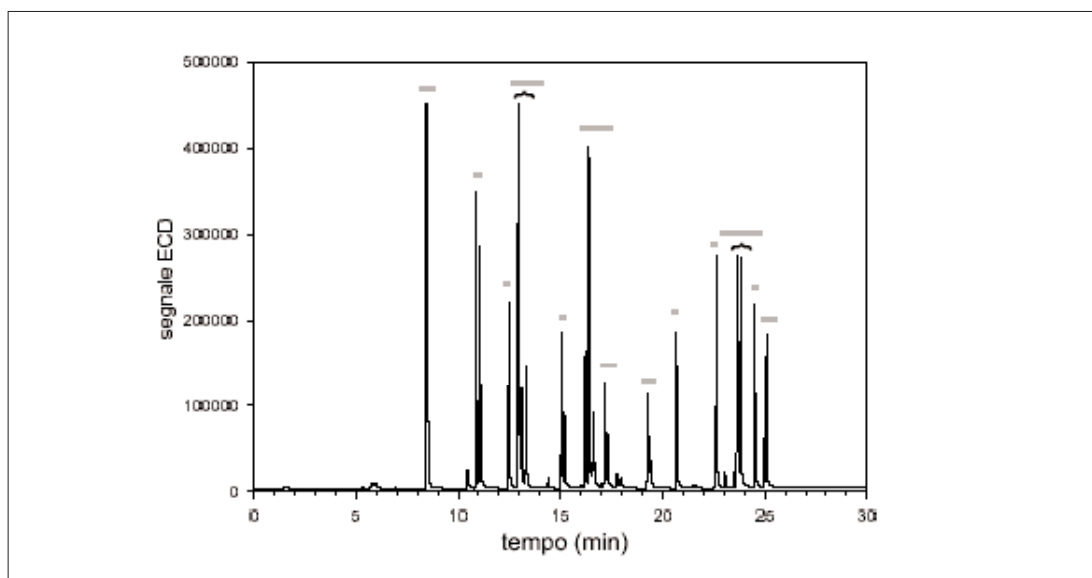


Figura 2: Cromatogramma ottenuto mediante estrazione di un campione di acqua di pozzo contaminato con 50 ppb di alcuni composti carbonilici di Tab. 1. Condizioni analitiche: colonna cromatografica Chrompack CP-Sil 60 m x 0,32 mm, spessore del film 0,25 μm , gas di trasporto idrogeno (40 cm/s), volume iniettato 1 μL . Temperatura del forno: 40°C per 1 min, 6°C/min fino a 150°C, 15°C/min fino a 280°C, isoterma per 5 min.

8. Calcoli

Introdurre nel cromatografo liquido volumi uguali di campione e di soluzioni di riferimento. Preparare almeno 3 miscele di composti carbonilici (6.7.2) ad opportune concentrazioni. Costruire quindi le rette di taratura per i singoli composti, accertandosi di operare nel campo di linearità dello strumento, riportando in grafico l'area del picco del componente (A) in funzione della concentrazione del componente stesso e interpolando i punti sperimentali con il metodo dei minimi quadrati. Ricavare il coefficiente angolare (a) e l'intercetta (b) della retta di taratura. La concentrazione incognita di ogni componente è data dalla relazione:

$$C = \frac{A - b}{a} \cdot \frac{V_f}{V_i}$$

dove:

C = concentrazione ($\mu\text{g/L}$) di aldeidi;

A = area del picco del composto nella miscela incognita;

b = valore dell'intercetta della retta di taratura;

a = valore del coefficiente angolare della retta di taratura;

V_f = volume (mL) dell'estratto finale;

V_i = volume (mL) del campione acquoso.

9. Qualità del dato

Le iniezioni del campione e delle soluzioni di riferimento vanno ripetute almeno due volte al fine di migliorare l'accuratezza delle misure sperimentali. La ripetibilità dell'analisi viene verificata ripetendo per 10 volte l'analisi di una delle soluzioni di riferimento.

Nota: si consiglia ai laboratori di attivare, in accordo con le norme internazionali più recenti, dei programmi di controllo formale sulla qualità dei dati prodotti. Ciò si può realizzare verificando le proprie prestazioni attraverso analisi effettuate, ad intervalli regolari di tempo, su

materiali di riferimento certificati prodotti da organismi internazionali e su materiali di riferimento non certificati (carte di controllo). Informazioni sul tipo di materiali certificati e sugli organismi che li producono sono fornite nella Sezione 1040 "Qualità del dato analitico". Il materiale di riferimento non certificato va caratterizzato in termini di valore medio ed incertezza ad esso associata, rispetto al quale si verificano gli scostamenti di misure giornaliere condotte in parallelo con l'insieme dei campioni incogniti da determinare.

BIBLIOGRAFIA

ALCEON CORPORATION (1993): "Overview of available information on the toxicity of drinking water disinfectants and their by-products", Cambridge, MA.

CHORUS I., KLEIN G., FASTNER J. & ROTARD W. (1992): "Off-flavors in surface waters - How efficient is bank filtration for their abatement in drinking water?" *Wat. Sci. Technol.*, **25**, (2), 251-258.

EPA (1992): "Method 8315, Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography", November 1992, Cincinnati, Ohio, USA.

EPA (1992): "Method 554, Determination of carbonyl compounds in drinking water by dinitrophenyl-hydrazine derivatization and high performance liquid chromatography", November 1992, Cincinnati, Ohio, USA.

GLAZE W.H., KOGA M. & CANCELLA D. (1989): "Ozonation by-products. 2. Improvement of an aqueous-phase derivatization method for the detection of formaldehyde and other carbonyl compounds formed by the ozonation of drinking water", *Environ. Sci. Technol.*, **23**, 838-847.

HAUSER T.R. (1965): "Determination of aliphatic aldehydes: 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone hydrochloride (MBTH) method. Selected methods for the measurement of air pollutants", U.S.D.H.E.W., P.H.S.

HAUSER T.R. & CUMMINGS R.L. (1964): "Increasing sensitivity of 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test for analysis of aliphatic aldehydes in air", *Anal. Chem.*, **36**, 679.

KIEBER R.J. & MOPPER K. (1990): "Determination of picomolar concentrations of carbonyl compounds in natural waters, including seawater, by liquid chromatography", *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 1477-1481.

KRASNER S.W., MCGUIRE M.J., JACANGELO J.G., PATANIA N.L., REAGAN K.M. & AIETA E.M. (1989): "The occurrence of disinfection by-products in US drinking water", *J. Am. Wat. Wks. Assoc.*, **81** (8), 41-53.

SAWICKI E., HAUSER T.R., STANLEY T.W. & ELBERT W. (1961): "The 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test", *Anal. Chem.*, **33**, 93.

SCHEUPEIN R.J. (1985) In: *Advances in Chemistry 210*, V. Turoski (Ed.), American Chemistry Society, Washington, 237-245.