

EDITORIALE

L'identificazione e la quantificazione di tensioattivi in matrici ambientali è operazione analiticamente complessa per la natura di questi inquinanti, presenti nei formulati commerciali sotto forma di miscele di omologhi, oligomeri ed isomeri di composti con caratteristiche chimiche diverse (anionici, cationici, non ionici ed anfoteri).

I metodi ufficiali ad oggi disponibili, sia a livello nazionale che internazionale, per il controllo di questi inquinanti secondo le normative vigenti, sono metodi cumulativi i cui limiti intrinseci (scarsa affidabilità, nessuna informazione sulla composizione della miscela e sulla presenza di eventuali metaboliti) sollecitano la messa a punto di metodologie basate sull'impiego di tecniche strumentali specifiche (GC o HPLC). Questa esigenza è stata recentemente recepita anche in campo normativo, nell'ambito delle prescrizioni sulle metodologie analitiche da impiegare fissate dal Regolamento dell'Unione Europea del 2004 relativo ai detergenti.

In questo contesto viene presentato un metodo per la determinazione in acque e in matrici solide ambientali di un metabolita di tensioattivi non ionici (4-nonilfenolo), presente nella lista EU delle sostanze prioritarie, e di alchilbenzene solfonati lineari, tensioattivi anionici ampiamente utilizzati. Il metodo si basa sull'impiego della cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) e rivelazione in fluorescenza.

Come secondo contributo abbiamo il piacere di ripubblicare la scheda "Solidi totali", inserita nel Volume 2 "Parametri Tecnologici" del Quaderno IRSA n. 64 Metodi Analitici per i Fanghi, in cui abbiamo provveduto ad eliminare l'errore presente nella formula per il calcolo dei solidi totali fissi. Con l'occasione, ringraziando gli operatori per la segnalazione, si rinnova l'invito ad inviare al Comitato di Redazione proposte e suggerimenti migliorativi riguardanti i metodi ufficiali e da ufficializzare, articoli scientifici, note e quant'altro ritenuto meritevole di pubblicazione.

Infine, riportiamo l'annuncio del 1° Circuito Interlaboratoriale di Qualificazione per l'analisi dei batteri filamentosi dei fanghi attivi. Come è noto la descrizione delle proprietà dei fanghi attivi nonché la stima e l'identificazione dei principali batteri filamentosi (necessarie per una corretta gestione del processo di depurazione biologica) è oggi condotta principalmente per via microscopica su base prevalentemente morfologica.

Il circuito, organizzato da IRSA-CNR e Università di Parma insieme all'ENIA, multiutility nata dalla fusione tra AGAC, AMPS e TESA – aziende municipalizzate operanti nel settore dei servizi pubblici nelle Province di Parma, Piacenza e Reggio Emilia – ha lo scopo di qualificare gli operatori addestrati all'analisi microscopica dei batteri filamentosi dei fanghi attivi, secondo il metodo IRSA-CNR (IRSA-CNR Q.110:1999, Appendice A), ai sensi delle norme UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2000. I partecipanti al circuito, la cui prima Edizione è prevista per il prossimo Ottobre 2008, hanno l'opportunità di confrontare le proprie risultanze analitiche con quelle complessivamente ottenute dagli altri laboratori partecipanti. Il circuito interlaboratoriale è organizzato conformemente alla Guida ISO/IEC 43-1:1977. Sono riportate nel Notiziario le informazioni per partecipare a questa prima Edizione del Circuito. Il Certificato di Qualificazione sarà rilasciato in base ai risultati del test ed al raggiungimento di un punteggio minimo prefissato.

Dr. Romano Pagnotta

Direttore dell'Istituto di Ricerca sulle Acque

Roma, agosto 2008

INDICE

DETERMINAZIONE DI NONILFENOLO (4-NP) E DI ALCHILBENZENE SOLFONATI LINEARI (LAS) IN ACQUE E IN MATRICI SOLIDE AMBIENTALI	1-9
---	-----

REVISIONE METODO PER LA DETERMINAZIONE DEI SOLIDI TOTALI NEI FANGHI	9-10
---	------

Annuncio

"1° CIRCUITO INTERLABORATORIALE DI QUALIFICAZIONE PER L'ANALISI MICROSCOPICA DEI BATTERI FILAMENTOSI DEI FANGHI ATTIVI"	11-13
---	-------

DETERMINAZIONE DI NONILFENOLO (4-NP) E DI ALCHILBENZENE SOLFONATI LINEARI (LAS) IN ACQUE E IN MATRICI SOLIDE AMBIENTALI

a cura di Valsecchi S. *, Lietti E. ** e Polesello S. *

* IRSA - CNR, via Mornera 25, Brugherio (MI)

** Salita Quarcino 25, 22100 Como

RIASSUNTO

Viene presentata la messa a punto di un metodo HPLC in fase inversa con gruppo polare incorporato ("polar embedded HPLC") e rivelazione in fluorescenza per la separazione, l'identificazione e la determinazione del 4-nonilfenolo e dei singoli omologhi degli alchilbenzene solfonati lineari (C₁₀-LAS, C₁₁-LAS, C₁₂-LAS e C₁₃-LAS) in estratti di acque superficiali, di scarico e di campioni solidi (particolato, fanghi e sedimenti).

SUMMARY

An analytical procedure is described for the determination of 4-nonylphenol and individual (C₁₀-C₁₃) linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in natural waters, waste waters and environmental solid samples (particulate, sediment and sludge). The analysis was performed by polar-embedded reverse phase HPLC and fluorescence detection.

INTRODUZIONE

La comprensione del destino e del comportamento ambientale di composti organici, quali i tensioattivi, sono il presupposto fondamentale per una gestione sostenibile dello sviluppo economico, della protezione della salute umana e degli ecosistemi. Poiché i tensioattivi sono prodotti ed utilizzati in grandi quantità, è fondamentale avere una conoscenza dettagliata del tempo di emivita, dei processi di degradazione che avvengono in un impianto di depurazione e nell'ambiente e della loro ecotossicità (Knepper *et al.*, 2003). L'identificazione e la quantificazione di tensioattivi commerciali nell'ambiente sono rese più complicate dal fatto che essi sono composti da una miscela di decine-centinaia di omologhi, oligomeri e isomeri di composti con caratteristiche chimiche diverse, anionici, cationici, non ionici ed anfoteri.

I metodi ufficiali disponibili ad oggi per la determinazione routinaria sono basati su reazioni colorimetriche precedute da estrazioni più o meno selettive e sono tutti metodi cumulativi che, oltre ad essere spesso poco affidabili, specie nel caso di matrici complesse, non forniscono alcuna informazione sulla composizione di omologhi od oligomeri, né sulla lunghezza della catena idrofobica.

Questa limitazione dei metodi ufficiali è riconosciuta anche a livello ufficiale nell'Unione Europea che, nel Regolamento n. 648/2004 relativo ai detergenti (CE 648/2004), afferma che per i tensioattivi che non reagiscono ai metodi colorimetrici "o qualora sembri più opportuno per ragioni di efficienza e di esattezza si applicano adeguate analisi strumentali specifiche, quali la cromatografia in fase liquida ad alta pressione (HPLC) o la cromatografia in fase gassosa (GC)."

Queste considerazioni, oltre alla necessità di determinare, oltre ai tensioattivi di partenza, anche i metaboliti per lo studio dei processi degradativi, ci ha spinto a verificare l'applicabilità di una nuova fase stazionaria per la determinazione HPLC di tensioattivi.

La particolarità di questa fase consiste in una nuova chimica di disattivazione dei siti silanolicci residui sulla fase stazionaria C₁₈ (Liu *et al.*, 2006). La superficie di scambio della fase stazionaria è infatti composta da catene alchiliche, gruppi amminici terziari e gruppi ammidici polari che consentono differenti meccanismi di separazione degli analiti come la fase inversa, lo scambio anionico e le interazioni dipolo-dipolo. I tensioattivi anionici vengono ritenuti principalmente grazie ad interazioni di scambio ionico e ripartizioni idrofobiche, mentre i tensioattivi non-ionici vengono separati grazie ad interazioni idrofobiche e dipolo-dipolo. I tensioattivi cationici, infine, vengono eluiti all'inizio della separazione cromatografica, al contrario di quanto avviene in una fase inversa convenzionale, in quanto repulsi dai gruppi amminici terziari e separati, quindi, solo grazie ad interazioni di tipo idrofobico.

È così possibile separare le tre principali classi di tensioattivi (cationici, non ionici e anionici) in una sola corsa analitica, ottenendo in più informazioni quantitative sulla presenza di isomeri e metaboliti degli stessi.

Questa nuova selettività è stata impiegata nella determinazione, mediante analisi HPLC-fluorescenza, di 4-nonilfenolo e dei singoli omologhi degli alchilbenzene solfonati lineari (LAS con numero di atomi di carbonio sulla catena da 10 a 13).

1 - PRINCIPIO DEL METODO

I campioni acquosi vengono sottoposti ad estrazione liquido-solido su cartucce per estrazione a fase solida (SPE) con fase C₁₈ a base silicea. Le matrici solide vengono estratte con metanolo a caldo e l'estratto è successivamente purificato su gel di silice. L'analisi degli estratti, concentrati di volume, è effettuata mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata ad un rivelatore a fluorescenza.

Il riconoscimento dei picchi nei cromatogrammi degli estratti si effettua confrontando il loro tempo di ritenzione con quello dei picchi di una soluzione di riferimento multicomponente costituita da 4-nonilfenolo e alchilbenzene solfonati lineari (omologhi da C₁₀ a C₁₃). L'analisi quantitativa viene effettuata sulla base di opportune curve di taratura area-concentrazione, ottenute riportando in ascissa la concentrazione della soluzione di riferimento e in ordinata la media delle aree dei picchi delle soluzioni di riferimento.

2 - CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo è applicabile alle acque dolci naturali (superficiali, sotterranee, potabili, minerali e meteoriche), alle acque trattate e agli scarichi domestici ed industriali.

Il metodo è applicabile a sedimenti fluviali, lacustri e costieri. Questo metodo può essere inoltre applicato a particolato solido sospeso raccolto per filtrazione o centrifugazione e, con adeguate verifiche sulla presenza di eventuali sostanze interferenti, a fanghi di depurazione.

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 a quelli dei composti in esame. Nel caso di evidenza di interferenze, individuarne la provenienza analizzando ogni singolo passaggio della procedura e procedere alla loro eliminazione. Può essere richiesta una specifica selezione dei reattivi e dei solventi.

Bisogna sottolineare che la diffusione quasi ubiquitaria dei tensioattivi nei materiali di uso comune (come plastiche, detergenti, ecc..) costringe ad una elevata cautela nella scelta dei prodotti e materiali da utilizzare, con continue verifiche di bianchi.

E' buona norma perciò, sia all'inizio dell'indagine che periodicamente, sottoporre all'intera procedura uno o più "bianchi" preparati seguendo la stessa procedura di estrazione e analisi senza aggiungere il campione solido o sostituendo al campione acquoso acqua ultrapura.

Evitare l'uso di detergenti per il lavaggio della vetreria, ma pulirla con acido e quindi sciacquarla con acqua ultrapura. Prima dell'utilizzo effettuare una pulizia finale con acetone.

Per campioni contenenti particolato sospeso si consiglia il trattamento secondo le modalità descritte al punto 7.1.

4 - CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni vengono prelevati in bottiglie di vetro, possibilmente scuro, conservati al buio ad una temperatura di 4° C. La preconcentrazione deve essere effettuata nel minor tempo possibile dal momento del prelievo affinché non si alteri la composizione chimica.

5 - APPARECCHIATURE

5.1 - Vetreria di laboratorio

5.2 - Cromatografo liquido ad alta prestazione HPLC

HPLC con una pompa a gradiente equipaggiata con un rivelatore di fluorescenza a lunghezza d'onda variabile.

5.3 - Colonna a fase stazionaria inversa con gruppo polare incorporato

È in grado di separare nonilfenolo (come unico picco formato dalla miscela di isomeri) e i singoli omologhi della miscela di alchilbenzene solfonati lineari. Si consiglia l'uso della colonna Acclaim Surfactant (Dionex, USA), la cui superficie di scambio è composta da catene alchiliche, gruppi amminici terziari e gruppi ammidici polari, o equivalente.

5.4 - Sistema di registrazione e di calcolo delle aree dei picchi.

5.5 - Bilancia analitica, risoluzione 0,1 mg.

5.6 - Bilancia tecnica, risoluzione 0,1 g.

5.7 - Evaporatore rotante dotato di bagno termostatico, predisposto per il vuoto e con sistema di regolazione del vuoto.

5.8 - Sistema per estrazione Soxhlet**5.9 - Sistema per evaporazione in flusso di azoto****6 - REATTIVI**

6.1 - Acqua ad elevata purezza esente da sostanze organiche che possano interferire nell'analisi (esempio: acqua deionizzata trattata su sistemi dotati di apposita cartuccia in carbone attivo).

6.2 - Acetone per residui di pesticidi.

6.3 - Metanolo per HPLC grado gradiente.

6.4 - Acetonitrile per HPLC grado gradiente.

6.5 - Acido cloridrico concentrato
(HCl; d = 1,2 g/mL)

6.6 - Ammonio acetato ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$) di grado standard per cromatografia.

6.7 - Soluzione concentrata di ammonio acetato (1 M)
Pesare 77,08 g di ammonio acetato, essiccato per 2 ore a 100 °C; sciogliere in acqua e diluire a 1 litro con acqua in matraccio tarato. La soluzione è stabile per sei mesi in bottiglia di polietilene, polipropilene o vetro.

6.8 - Soluzione eluente di ammonio acetato (100 mM, pH 4)
Diluire 10 volte la soluzione concentrata (100 mL in 1 L) in un matraccio tarato. Portare il pH di questa soluzione a 4 con acido cloridrico concentrato. L'eluente deve essere preparato fresco ogni qual volta si inizi una sessione di analisi.

6.9 - 4-Nonilfenolo (4-NP) di grado standard per cromatografia.

6.10 - Sodio dodecilbenzene solfonato (LAS)
(miscela di omologhi, da 10 a 13 atomi di carbonio, di alchilbenzene solfonati lineari) di grado standard per cromatografia.

6.11 - Soluzioni di riferimento

Preparare soluzioni di riferimento concentrate (0,5-1 g/L) in metanolo di nonilfenolo e di sodio dodecilbenzene solfonato. Le soluzioni multicomponente aventi concentrazioni comprese nell'intervallo 0,2-5 mg/L per 4-NP e 10-250 mg/L per la somma dei LAS sono ottenute per diluizioni successive in metanolo delle soluzioni concentrate. Le soluzioni vanno conservate a 4°C.

6.12 - Filtri per campioni acquosi

6.13 - Filtri fibra di vetro con porosità nominale 0,7 µm tipo Whatman GF/F o equivalenti.

6.14 - Cartucce SPE riempite di fase adsorbente C_{18} .

La C_{18} è una fase adsorbente apolare costituita da catene idrocarburiche con il gruppo ottadecilico legato al gel di silice, che è in grado di trattenere soprattutto composti apolari o debolmente polari. Scegliere una quantità di fase sufficiente per trattenere gli analiti e qualsiasi contaminante che è co-estratto dal campione.

6.15 - Azoto gassoso, purezza 5.0

6.16 - Ditali in borosilicato per estrazione Soxhlet

6.17 - Gel di silice (70-230 mesh) attivato per riscaldamento in stufa a 160 °C per 16 ore. Conservare in essiccatore.

7 - PROCEDIMENTO**7.1 - Trattamento preliminare dei campioni acquosi**

La filtrazione dei campioni d'acqua è condotta per rimuovere i solidi sospesi che andrebbero a otturare la fase della cartuccia SPE. Impiegare filtri compatibili con la filtrazione di campioni acquosi (fibra di vetro, cellulosa rigenerata, nitrato di cellulosa ecc.) e verificare con l'uso di bianchi l'assenza di contaminanti.

7.2 - Preconcentrazione ed eluizione dei campioni acquosi

I campioni acquosi filtrati vengono fatti passare mediante aspirazione attraverso colonnine (SPE) a perdere, precedentemente attivate con:

- 10 mL di acetone
- 10 mL di metanolo
- 10 mL di acqua ad elevata purezza

L'apposito sistema di filtrazione sotto vuoto è collegato ad una pompa ad aspirazione, in grado di fornire un flusso costante di circa 10 mL/minuto.

Terminata l'estrazione del campione, la colonnina è fatta asciugare facendo passare aria in aspirazione per almeno 30 minuti e poi eluita prima con 10 mL di acetone (frazione contenente il 4-NP) e poi con 10 mL di metanolo (frazione contenente i LAS). Ogni frazione è ridotta di volume tramite flusso d'azoto.

Il volume finale, non inferiore a 1 mL, è in funzione della concentrazione degli analiti negli estratti. Gli estratti sono raccolti in fiale di vetro scuro e iniettati nel minor tempo possibile in HPLC.

7.3 - Estrazione del campione solido

Campioni di sedimenti o fanghi di depurazione, freschi o liofilizzati, campioni di particolato separati per filtrazione su membrane filtranti in fibra di vetro o per centrifugazione vengono estratti con metanolo a caldo.

I campioni solidi possono essere estratti sia utilizzando tecniche tradizionali di estrazione con solvente (come *Soxhlet* o *Randall*) o innovative come la PLE (*Pressurised Liquid Extraction*) o l'estrazione mediante microonde (*Microwave Assisted Solvent Extraction*, MASE).

La procedura per estrazione mediante *Soxhlet* o *Randall* automatizzato è di seguito descritta.

Estrarre in *Soxhlet* per 10 ore (9 cicli all'ora) con 400 mL di metanolo da 1 a 5 grammi di campione. In alternativa è possibile utilizzare estrattori automatici di tipo *Randall* secondo la seguente procedura: estrarre da 1 a 5 grammi di campione con 120 mL di metanolo in immersione a 260°C per 2 ore e con solvente a riflusso per 3 ore.

La soluzione in metanolo, risultante dall'estrazione, viene sottoposta alla purificazione descritta al par. 7.4.

7.4 - Purificazione degli estratti dei campioni solidi

Concentrare gli estratti di metanolo a 1-2 mL con evaporatore rotante e trasferirli in testa alla fase di una colonnina riempita con 9 g di gel di silice attivato e lavato con metanolo.

Eluire la colonnina con 20 mL di metanolo; scartare i primi 5 mL e ridurre di volume il seguente 15 mL di eluato tramite flusso d'azoto. Il volume finale, non inferiore a 1 mL è in funzione della concentrazione degli analiti negli estratti. Nel caso di fanghi, per esempio, è utile aumentare l'aliquota di campione da estrarre in modo da non ridurre troppo l'estratto purificato in modo che non si formi precipitato durante l'evaporazione del solvente.

Raccogliere gli estratti in fiale di vetro scuro e iniettarli nel minor tempo possibile in HPLC.

7.5 - Analisi cromatografica

Le condizioni cromatografiche, per una colonna da 5 µm; 150x4,6 mm, sono le seguenti:

Eluente: miscela binaria
 Acetonitrile/Ammonio acetato 100 mM, pH=4
 flusso eluente: 1 mL/min
 volume di iniezione: 20 µL
 lunghezza d'onda: 0 min: eccitazione 230 nm,
 emissione 302 nm; 17 min: eccitazione 221 nm,
 emissione 284 nm.

gradiente:

Tempo (minuti)	Acetonitrile (%)	Ammonio Acetato 100 mM, pH=4 (%)
0	50	50
20	85	15
30	85	15

Sia il pH della soluzione di ammonio acetato che il gradiente sopra riportato sono puramente indicativi e possono essere modificati in funzione delle diverse caratteristiche del sistema cromatografico utilizzato, e della eventuale presenza di picchi interferenti. Si deve comunque mantenere una sufficiente risoluzione tra i picchi (si può tollerare una sovrapposizione tra i picchi che non superi il 10 % dell'altezza misurata dalla base del picco)¹.

Le figure 1, 2, 3 e 4 mostrano i cromatogrammi di estratti di campioni reali.

8 - CALCOLI

Si può utilizzare il metodo del calibrazione esterno iniettando volumi uguali di campione e di riferimento. Si preparano opportune soluzioni di riferimento degli analiti (vedi par. 6.11), di composizione tale da non provocare sovrapposizione di picchi.

Si ricavano quindi le curve di taratura per i singoli analiti calcolando i fattori di risposta e accertandosi di operare nel campo di linearità dello strumento.

¹ Ciascun picco è costituito da un insieme di isomeri più o meno risolti. Per questo motivo non si può ottenere un picco cromatografico di forma gaussiana.

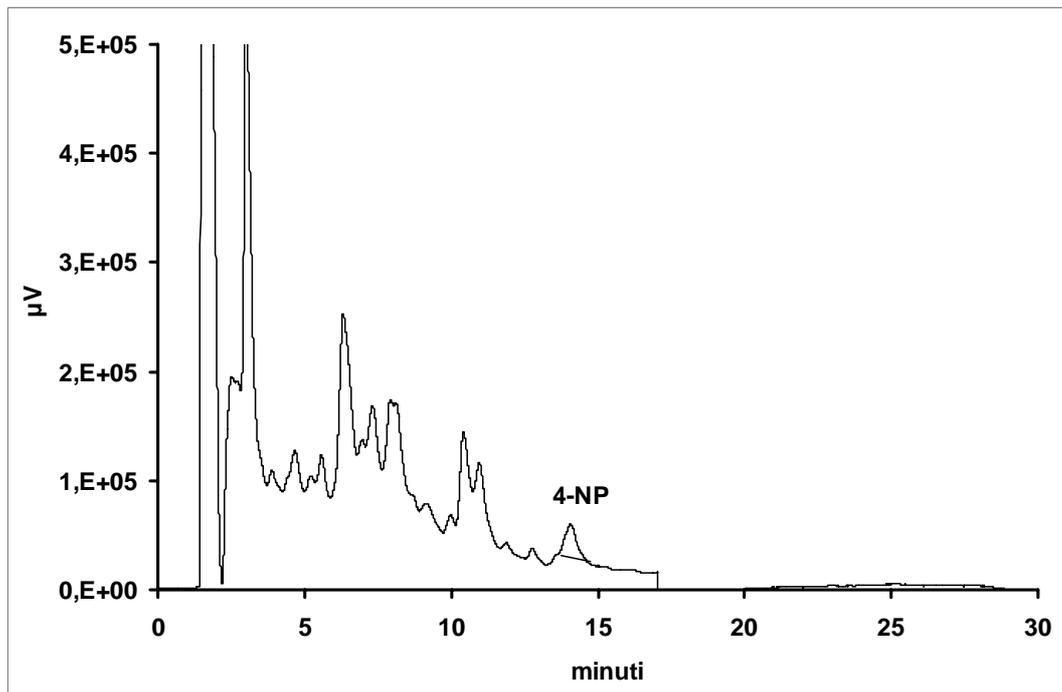


Fig. 1 - Cromatogramma di effluente di depuratore urbano estratto con cartucce Phenomenex Strata C18-U (55 μm , 500 mg/6 mL), frazione acetone, utilizzando le condizioni d'estrazione e di analisi riportate nel testo. Volume di campione estratto 1 L; volume finale dell'estratto 1 mL; 4-NP 1,32 $\mu\text{g/L}$.

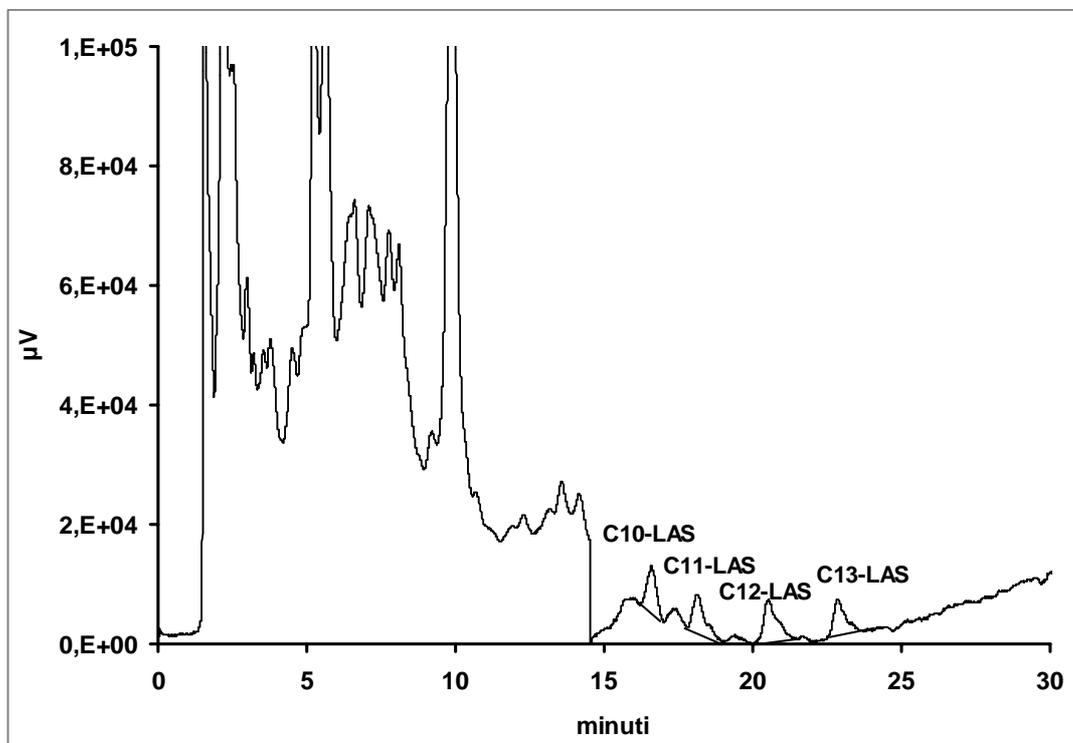


Fig. 2 - Cromatogramma di effluente di depuratore urbano estratto con cartucce Phenomenex Strata C18-U (55 μm , 500 mg/6 mL), frazione metanolo, utilizzando le condizioni d'estrazione e di analisi riportate nel testo. Volume di campione estratto 0,5 L; volume finale dell'estratto 1 mL; C₁₀-LAS 4,9 $\mu\text{g/L}$; C₁₁-LAS 3,8 $\mu\text{g/L}$; C₁₂-LAS 4,2 $\mu\text{g/L}$; C₁₃-LAS 3,5 $\mu\text{g/L}$.

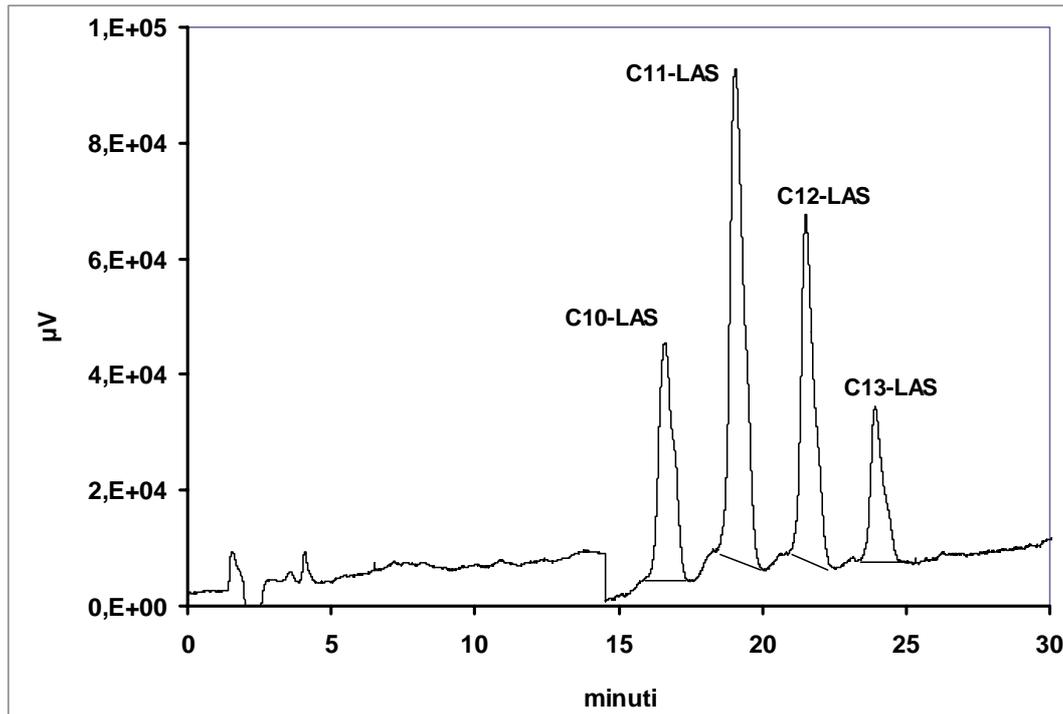


Fig. 3 - Cromatogramma di refluo estratto con cartucce Phenomenex Strata C18-U (55 μm , 500 mg/6mL), frazione metanolo, utilizzando le condizioni d'estrazione e di analisi riportate nel testo. Volume di campione estratto 0,2 L; volume finale dell'estratto 1 mL; C₁₀-LAS 259 $\mu\text{g/L}$; C₁₁-LAS 652 $\mu\text{g/L}$; C₁₂-LAS 499 $\mu\text{g/L}$; C₁₃-LAS 166 $\mu\text{g/L}$.

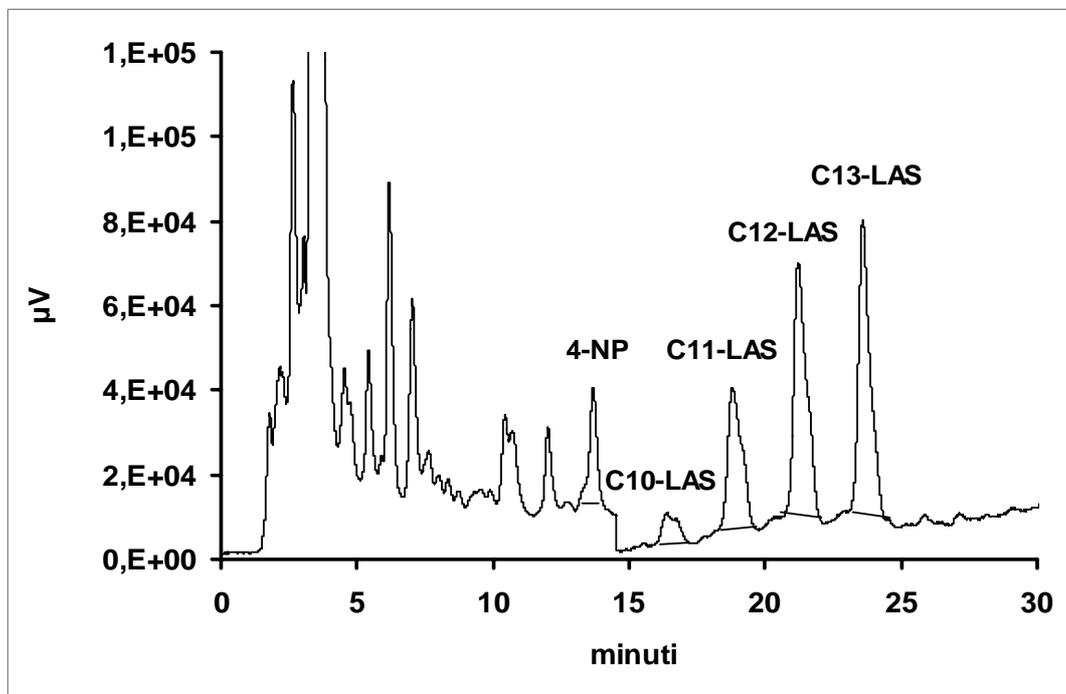


Fig. 4 - Cromatogramma di un campione di fango estratto mediante Randall automatizzato utilizzando le condizioni d'estrazione e di analisi riportate nel testo. Campione estratto 0,1 g p.s.; volume finale dell'estratto 1 mL; 4-NP 1,64 $\mu\text{g/g p.s.}$; C₁₀-LAS 37 $\mu\text{g/g p.s.}$; C₁₁-LAS 122 $\mu\text{g/g p.s.}$; C₁₂-LAS 230 $\mu\text{g/g p.s.}$; C₁₃-LAS 219 $\mu\text{g/g p.s.}$.

9 - QUALITÀ DEL DATO

9.1 - Accuratezza

La valutazione dell'accuratezza del metodo è stata effettuata mediante la determinazione della percentuale di recupero ottenuta su campioni, a diversa matrice, addizionati con soluzioni concentrate di 4-NP e di LAS (Tab. 1).

I recuperi medi risultano compresi tra il 62 e il 98% confermando l'accettabilità del metodo anche nel caso di matrici molto complesse come fanghi o effluenti di depuratore.

Nell'ambito di una ricerca sulla presenza di alchilfenoli in scarichi industriali tessili di un comprensorio lombardo, sono state confrontate le concentrazioni di 4-NP misurate con il metodo qui descritto con quelle determinate con un metodo precedentemente pubblicato (Capri et al., 2004), che utilizza una colonna in fase inversa a base fenil-silica. I risultati dei due metodi separativi, applicati al medesimo estratto, sono in ottimo accordo come si può vedere dalla tabella 2.

9.2 - Precisione

La precisione associata alla sola determinazione cromatografica, senza la variabilità dovuta all'omogeneità del campione o alla tecnica di estrazione, è stata valutata dalla deviazione standard relativa (RSD) di una serie di ripetizioni di soluzioni di riferimento effettuate in giorni diversi. Per il 4-NP risulta compresa tra il 4%, per il livello di taratura più elevato ($2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), e il 10% per il livello più basso ($0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), mentre per i singoli omologhi dei LAS risulta compresa tra il 5%, per il livello di taratura più elevato ($34 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), e il 19% per il livello più basso ($1,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Se si considera anche l'estrazione del campione, i valori di RSD di una serie di estrazioni ($n=2-4$), risultano compresi, tra il 2 e il 87% con i valori più alti (18 e 87% per 4-NP e C_{13} -LAS rispettivamente) corrispondenti a livelli di concentrazione bassi o prossimi al LOD del metodo ($0,19$ e per 4-NP e $2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ C_{13} -LAS) (Tab. 3).

9.3 - Limite di rilevabilità

Il limite di determinazione cromatografico, calcolato come tre volte la deviazione standard di una serie di analisi ($n>10$) di una soluzione di riferimento degli analiti (vedi par. 6.11) a concentrazione prossima al limite di rilevabilità, è risultato pari a $0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ per il 4-NP, $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ per il C_{10} -LAS, $0,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ per il C_{11} -LAS, $0,8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ per il C_{12} -LAS e $1,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ per il C_{13} -LAS.

Considerando i fattori di concentrazione, che possono essere 5X (5 g concentrato a 1 mL) per i campioni solidi e 1000X (1 L d'acqua concentrato ad 1 mL) per le acque, si stima il limite di rilevabilità complessivo del metodo. Esso risulta pari per la matrice solida a $0,01 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ per 4-NP e $0,25 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ per il meno sensibile degli omologhi dei LAS (C_{13} -LAS) e per i liquidi a $0,05 \text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ per il 4-NP e $1,3 \text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ per il meno sensibile degli omologhi dei LAS (C_{13} -LAS).

Tab. 1 - Media delle percentuali di recupero ottenute estraendo campioni naturali addizionati con una miscela di 4-NP e di LAS; N=numero di repliche; i risultati sono espressi come media \pm SD.

Recupero %	Fango (N=2)	Fiume (N=4)	Effluente (N=1)
4-NP	62 \pm 8	80 \pm 23	82
C_{10} -LAS	96 \pm 3	67 \pm 14	n.d.
C_{11} -LAS	97 \pm 16	87 \pm 20	98
C_{12} -LAS	83 \pm 4	87 \pm 16	92
C_{13} -LAS	96 \pm 5	79 \pm 21	85

n.d. non determinato

Tab. 2 - Determinazione di nonilfenolo in campioni di scarichi di industria tessile.

	Colonna Acclaim Surfactant 4-NP $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Colonna a fase fenil-silica 4-NP $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Azienda 1	92,1	93,5
Azienda 2	3,7	3,5
Azienda 3	7,7	8,2
Azienda 4	5,2	5,9

Tab.3 - Concentrazioni di 4-NP e di LAS misurate sui campioni senza aggiunta utilizzati per la misura dell'accuratezza; N=numero di repliche; i risultati sono espressi come media \pm SD.

	Fango (N=2) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ p.s.	Fiume (N=4) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
4-NP	1,8 \pm 0,2	0,19 \pm 0,03
C_{10} -LAS	18,1 \pm 0,5	2,07 \pm 0,04
C_{11} -LAS	121 \pm 7	4 \pm 2
C_{12} -LAS	472 \pm 33	4 \pm 1
C_{13} -LAS	292 \pm 6	2 \pm 2

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. Per i LAS (da C₁₀ a C₁₃) e per il 4-NP è disponibile come materiale di riferimento certificato solo fango di depuratore urbano (www.eurofins.dk). Per le matrici acqua e sedimento è necessario ricorrere a materiali di riferimento secondari prodotti nei laboratori, da validare, se possibile, mediante circuiti di interconfronto.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano Silvano Cavalli e Caroline Desbiolles della Dionex (Europe) per aver messo a disposizione la colonna per la separazione cromatografica e per i preziosi suggerimenti durante lo sviluppo del metodo.

BIBLOGRAFIA

CAPRI S., DE ANGELIS S., PATROLECCO L., POLESELLO S., VALSECCHI S. (2004): "Determinazione del nonilfenolo e nonilfenoli mono- e di -etossilati in acque superficiali", *Notiziario dei Metodi Analitici*, Roma, aprile, 1-8.

KNEPPER T., BARCELÓ D., VOOGT P. (2003): "Analysis and fate of surfactants in the aquatic environment", *Comprehensive Analytical Chemistry, XL*, Elsevier, Amsterdam.

LIU X., POHL C. A., WEISS J. (2006): "New polar-embedded stationary phase for surfactant analysis", *J. Chromatogr. A*, **1118**, 29-34.

Regolamento (CE) N. 648/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 31 marzo 2004 relativo ai detersivi, Gazzetta ufficiale dell'Unione europea, 8.4.2004 L 104/1.

SOLIDI TOTALI (*)

Al fine di ovviare ad uno spiacevole refuso riguardante la formula per il calcolo dei solidi totali fissi, pubblichiamo la scheda 2. Solidi Totali, inserita nel Quaderno IRSA n. 64, nella versione corretta. Scusandoci per l'errore si ringraziano gli operatori per la loro segnalazione.

1 Generalità

Con il termine «solidi totali» s'intende il residuo che permane in una capsula dopo evaporazione di un campione di fango ed il suo susseguente essiccamento in stufa a temperatura definita.

La temperatura ed il tempo di essiccamento hanno un'importanza determinante sul risultato, poiché da essi dipendono le eventuali perdite di peso dovute alla volatilizzazione del materiale organico e dell'acqua di cristallizzazione e allo sviluppo dei gas provenienti dalla decomposizione chimica, nonché l'aumento in peso dovuto all'ossidazione.

I solidi totali sono distinti in:

- «residuo secco», determinato dopo essiccamento alla temperatura di 103-105°C;
- «solidi totali fissi», determinati dopo incenerimento a 550°C.

La differenza tra il valore del «residuo secco» e quello dei «solidi totali fissi» rappresenta i «solidi totali volatili» che costituiscono un indice di valutazione del contenuto delle sostanze organiche nel fango.

Alla temperatura di 103-105°C la perdita di anidride carbonica è dovuta sostanzialmente alla trasformazione dei bicarbonati in carbonati; inoltre le perdite di materiale organico per volatilizzazione sono molto esigue. Poiché a questa temperatura la diffusione dell'acqua di occlusione è lenta, il raggiungimento del peso costante non è sempre ottenibile rapidamente.

2 Principio del metodo

Un volume a peso noto del campione viene posto in una capsula a peso noto e fatto essiccare a 103-105 °C fino a peso costante. Successivamente la capsula, contenente il fango essiccato, viene portata alla temperatura di 550 °C. Le variazioni di peso della capsula rappresentano rispettivamente i contenuti in residuo secco e in solidi totali fissi del fango in esame. Il metodo è applicabile sia a fanghi liquidi che a fanghi palabili.

(*) Quad. Ist.Ric. Acque, 64
Metodi Analitici per i Fanghi. Vol. 2. Parametri tecnologici

3 Apparecchiature

- Stufa munita di termostato capace di regolare la temperatura entro (2 °C.
- Forno a muffola.
- Essiccatore provvisto di un indicatore colorato per controllare il grado di esaurimento della miscela essiccante.
- Bilancia analitica con sensibilità 0,1 mg.
- Materiale vario da laboratorio (bicchieri, cilindri graduati, pipette tarate con relative propipette per il prelievo dei campioni, capsule di porcellana).

4 Procedimento

4.1 Residuo secco

4.1.1 Determinare il peso P_1 (g) della capsula dopo averla essiccata in stufa per circa 1 ora alla stessa temperatura per la determinazione del residuo; se bisogna procedere alla determinazione del residuo fisso, la capsula va ulteriormente tenuta per 30 minuti a 550 °C.

4.1.2 Porre un'aliquota omogenea del campione di fango in esame nella capsula. Nel caso di fanghi liquidi prelevare un'aliquota che possa presumibilmente fornire un residuo minimo compreso tra 100-250 mg (generalmente 50 cm³).

4.1.3 Determinare il peso P_2 (g) della capsula più il fango in essa contenuto.

4.1.4 Essiccare in stufa a 103-105 °C fino a peso costante (orientativamente 12 ore). Successivamente raffreddare in essiccatore fino a temperatura ambiente e determinare il peso P_3 (g).

4.2 Solidi totali fissi

4.2.1 Porre la capsula con il fango essiccato di cui al punto 4.1.4 in muffola. Portare la muffola a 550 °C.

4.2.2 Estrarre la capsula dalla muffola dopo una permanenza di 2 ore circa, lasciarla raffreddare prima all'aria per qualche minuto e poi in essiccatore fino a temperatura ambiente, e quindi determinare il peso P_4 (g).

5 Calcoli

I contenuti in solidi totali del campione si calcolano mediante le seguenti relazioni:

Residuo secco:

$$DR (\%) = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \times 100$$

Solidi totali volatili:

$$STV (\%) = \frac{P_3 - P_4}{P_2 - P_1} \times 100$$

Solidi totali fissi

$$STF (\%) = DR (\%) - STV (\%)$$

Oppure per fanghi liquidi:

$$DR (\%) = \frac{P_3 - P_1}{V} \times 10^6$$

$$STV (\%) = \frac{P_3 - P_4}{V} \times 10^6$$

$$STF (mg/L) = DR (mg/L) - STV (mg/L)$$

dove:

P_1 = peso (g) della capsula portata a peso costante

P_2 = peso (g) del campione di fango + capsula

P_3 = peso (g) del residuo + capsula
dopo essiccamento a 103-105 °C

P_4 = peso (g) del residuo + capsula
dopo incenerimento a 550 °C

V = Volume (cm³) del campione di fango liquido

BIBLIOGRAFIA

ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE (1979):
«Materiali in sospensione totali», scheda B-005,
Quad. Ist. Ric. Acque, 11.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA



1° CIRCUITO INTERLABORATORIALE DI QUALIFICAZIONE PER L'ANALISI MICROSCOPICA DEI BATTERI FILAMENTOSI DEI FANGHI ATTIVI

PRESENTAZIONE

Il circuito ha lo scopo di qualificare gli operatori addestrati all'analisi microscopica dei batteri filamentosi dei fanghi attivi, secondo il metodo IRSA-CNR (IRSA-CNR Q.110:1999). Il problema del bulking filamentoso e delle schiume biologiche negli impianti a fanghi attivati; Appendice A, ai sensi delle norme UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2000. I partecipanti al circuito hanno inoltre l'opportunità di confrontare le proprie risultanze analitiche con quelle complessivamente ottenute dagli altri laboratori partecipanti.

Il circuito interlaboratoriale è organizzato conformemente alla Guida ISO/IEC 43-1:1977

MODALITA'

I campioni utilizzati per le prove sono costituiti da fanghi attivi freschi, prelevati presso impianti di depurazione urbani o industriali. In considerazione della modesta conservabilità dei campioni di fango attivo, i laboratori iscritti al circuito riceveranno, a mezzo corriere, due campioni di fango in contenitori refrigerati ed il protocollo di esecuzione delle prove.

Per ogni campione verrà redatta un'unica Scheda delle osservazioni. Il calendario previsto per il completamento del circuito è il seguente:

- Richiesta d'iscrizione al circuito entro il 10/09/2008
- Conferma iscrizione, assegnazione Codice identificativo ed invio Regolamento entro il 19/09/2008
- Data spedizione campioni 20/10/2008
- Data ricevimento campioni entro il 22/10/2008 (al ricevimento conservare i campioni in frigorifero)
- Esecuzione delle prove entro il 25/10/2008
- Trasmissione Schede delle osservazioni entro il 7/11/2008
- Elaborazione dei risultati e spedizione dei Rapporti di prova entro il 12/12/2008

Il corredo strumentale minimo necessario per l'esecuzione delle prove è costituito da un microscopio ottico a contrasto di fase con obiettivi 10x, 100x e micrometro oculare. Ogni partecipante è invitato ad eseguire vetrini a piccolo ingrandimento per osservazioni sull'abbondanza dei filamenti e struttura del fiocco, nonché vetrini a forte ingrandimento per le colorazioni e l'identificazione delle specie.

Contestualmente gli esperti della Commissione scientifica eseguiranno prove ripetute sui medesimi campioni di fango attivo; i risultati della Commissione rappresentano i “valori assegnati”, utilizzati come riferimento per la valutazione delle prestazioni dei laboratori partecipanti.

I dati analitici verranno registrati in forma anonima su apposita “Scheda delle osservazioni”, trasmessi via fax o e-mail all'organizzatore (Enia SPA 0522-297542; e-mail gianluigi.spigoni@eniaspa.it) e valutati a cura della Commissione scientifica.

QUOTE DI ISCRIZIONE

È previsto il pagamento di una quota d'iscrizione di 280,00 € + IVA al 20%. I soggetti esenti IVA dovranno inviare la dichiarazione di esenzione.

MODALITA' DI ISCRIZIONE

Per l'iscrizione al circuito non è richiesto alcun titolo preferenziale e può essere effettuata mediante compilazione dell'apposito modulo predisposto dall'organizzatore; il modulo potrà essere trasmesso via fax al n. 0522.297542, o mediante posta elettronica all'indirizzo e-mail maura.davoli@eniaspa.it

Le domande dovranno pervenire all'organizzatore entro il quarantesimo giorno dalla data fissata in calendario per l'esecuzione delle prove, assieme ad attestato di versamento della quota d'iscrizione, mediante bonifico bancario su Bipop-Carire c/c n. 000000900851 (ABI 05437, CAB 12892, CIN P, IBAN IT49P0543712892000000900851) intestato ad Enia SpA, Via Nubi di Magellano 30, Reggio Emilia, causale: “Circuito di Qualificazione per l'analisi dei batteri filamentosi”. In caso di mancata partecipazione al Circuito per la quale sia stata versata regolare quota d'iscrizione, verrà comunque trattenuto e fatturato il 100% della quota ed inviato il Rapporto di prova.

La conferma dell'avvenuta iscrizione sarà comunicata ai diretti interessati entro sette giorni dal ricevimento delle domande, assieme al codice identificativo ed al Regolamento.

INFORMAZIONI GENERALI

Segreteria organizzativa: Enia SpA - Funzione laboratori - Via Nubi di Magellano 30, 42100 Reggio Emilia. Sig.ra Maura Davoli, tel 0522-297207, fax 0522-297542, e-mail maura.davoli@eniaspa.it

1° CIRCUITO INTERLABORATORIALE DI QUALIFICAZIONE PER L'ANALISI MICROSCOPICA DEI BATTERI
FILAMENTOSI DEI FANGHI ATTIVI

da inviare entro 10/09/2008

SCHEDA DI ADESIONE

Da compilare in modo leggibile e inviare (anche via fax al n° 0522-297542) alla Segreteria del corso di formazione:

E-mail: maura.davoli@eniaspa.it

Indirizzo: Enia S.p.A. – Funzione Laboratori, sig.ra Maura Davoli – Via Nubi di Magellano 30 - 42100 Reggio Emilia RE

Dati partecipante:

Nome _____ Cognome _____

Ente o Società _____

Indirizzo _____ CAP _____ Città _____

Telefono _____ Fax _____

E-mail _____ Firma _____

Intestazione fattura (sede legale):

Ente o Società _____

Indirizzo _____ CAP _____ Città _____

P. IVA o C. fiscale _____ Azienda o Ente soggetto non soggetto ad IVA

Destinazione fattura (indicare solo se diversa da sede legale): _____

Informativa sul trattamento dei dati personali (D.Lgs.n.196:2003)

I dati acquisiti sono utilizzati da Enia S.p.A. per l'invio di proprie comunicazioni e non sono divulgati a terzi.

In caso di Vostra richiesta, avrete la possibilità di verificare, rettificare o cancellare i Vostri dati.

La firma in calce acconsente all'invio delle future iniziative di Enia.

Data _____ Firma _____

istituto di ricerca sulle acque - cnr
NOTIZIARIO DEI METODI ANALITICI

Supplemento a *Quaderni*, (Aut Trib. di Roma n. 17228 del 14.4.1978)

Pubblicazione dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche

Direzione e redazione: Istituto di Ricerca sulle Acque. Via Reno, 1 - 00198 Roma

Tel. 06/8841451 - Fax 06/8417861

Direttore responsabile: Romano Pagnotta

Comitato di redazione: L. Campanella, S. Capri, A. Liberatori e R. Pagnotta

Segreteria di redazione: G. Barbiero

Stampato in proprio e distribuito "on-line": www.irsacnr.it/Notiziario

Grafica: P. Fusco

Disegni: M. Ronda

Allestimento e stampa: A. Priori