



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DAFNAE:

AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE NATURALI E AMBIENTE

CORSO DI STUDI:

SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE ED IL TERRITORIO

CAMPIONAMENTO A CAMINO E DETERMINAZIONE QUANTITATIVA
DEL DIOCTILSTAGNO DILAURATO

LAUREANDO:

ANDREA VICINO

RELATRICE:

PROF.SSA SARA BOGIALLI

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

1 PREMESSA

1.1 INTRODUZIONE ALLA SPECIE CHIMICA

1.1.a Generalità sulla molecola

1.1.b Utilizzo industriale

2.1 NORMATIVA

1.2.a Panoramica sul Testo Unico Ambientale

1.2.b Il caso studio

2 MATERIALI E METODI

1.1 CAMPIONAMENTO DEL DOTL

2.1.a Panoramica sul campionamento di flussi gassosi convogliati

2.1.b Descrizione dei punti di prelievo e dell'impianto d'abbattimento

2.1.c Uso della sostanza all'interno della ditta

2.1.d Campionamento polveri secondo la norma UNI EN 13284-1 e strumentazione impiegata

2.1.e Campionamento mediante fiala a carboni attivi e strumentazione impiegata

2.1.f Campionamento realizzato per gorgogliamento in metanolo e strumentazione impiegata

2.1.g Campionamento e spiegazione dei campioni realizzati

2.1 RICERCA E STUDIO DEL METODO ANALITICO

2.2.a Ricerca realizzata su metodologie che impieghino strumentazione GC-MS

2.2.b Ricerca realizzata su metodologie che impieghino strumentazione HPLC-MS

2.2.c Ottimizzazione dei parametri strumentali d'analisi

2.2.d Caratterizzazione dei picchi

2.2.e Creazione della retta di taratura

2.2.f Realizzazione dei Laboratory Control Sample, studio sull'estrazione dell'analita e determinazione della percentuale di recupero

3 REAGENTI

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

1.1 PROVE EFFETTUATE SULLE DIVERSE FASI MOBILI

2.1 OTTIMIZZAZIONE DEI PARAMETRI STRUMENTALI D'ANALISI

3.1 CARATTERIZZAZIONE DEI PICCHI

4.1 CREAZIONE DELLA RETTA DI TARATURA

5.1 REALIZZAZIONE DEI LABORATORY CONTROL SAMPLE, STUDIO SULL'ESTRAZIONE DELL'ANALITA E DETERMINAZIONE DELLA PERCENTUALE DI RECUPERO

6.1 ANALISI DEI CAMPIONI REALIZZATI IN CAMPO

5 CONCLUSIONI

6 METODO

7 BIBLIOGRAFIA

1 PREMESSA

1.1 INTRODUZIONE ALLA MOLECOLA

1.1.a) Generalità sulla molecola

Il Dioctilstagno Dilaurato è un composto organo stannico generalmente indicato con l'acronimo DOTL; la formula molecolare di tale specie chimica è $C_{40}H_{80}O_4Sn$ ed il numero CAS ad essa associato è 3648-18-8.

Tale molecola presenta una struttura caratterizzata da un ingombro sterico importante, con una massa molecolare di 743.8 U (fattore che avrà implicazioni molto importanti nella fase di campionamento, come spiegato nel paragrafo ad esso dedicato) e presenta al centro un atomo di Stagno, il quale vede i quattro elettroni dell'orbitale esterno non completo, legati con due catene carboniose idrate (ognuna costituita di otto atomi di carbonio e relativi idrogeni) ed infine presenta due ligandi laurati (sali dell'acido laurico, un acido carbossilico a catena media [$CH_3(CH_2)_{10}COOH$]). Quest'ultimi vedono i propri ossigeni debolmente legati allo stagno, il quale, presenta una carica parziale positiva su di esso, essendo già impegnato in due legami polarizzati (verso il carbonio che è più elettronegativo dello stagno).

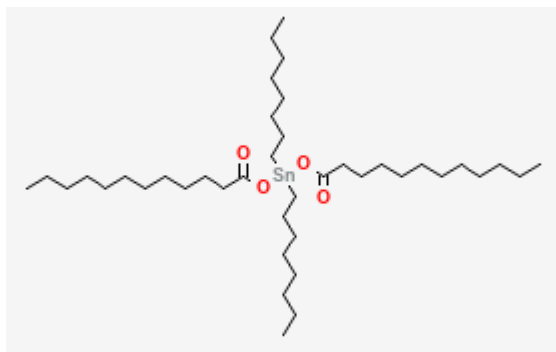


Figure 1: struttura molecolare del DOTL

La voluminosa componente organica rende questo composto molto affine al comparto biotico e di conseguenza facilmente bioaccumulabile ed, essendo inoltre tossico, gli sono state associate frasi di pericolo quali: H410, H412, H413 che specificano per "effetti nocivi di lunga durata" verso la fauna acquatica, mentre H400 specifica per danni all'ambiente acquatico in seguito ad esposizione acuta; H361, H360D sono frasi di Warning riferite rispettivamente alla sospetta tossicità verso la fertilità dell'individuo esposto e del feto, mentre la seconda cita "può danneggiare il feto". Altre frasi associate alla tossicità intrinseca della sostanza sono: H371, H302 (ingestione), H332 (inalazione) ovvero frasi che specificano per danni verso gli organi interni attraverso diverse vie d'esposizione. Infine, ulteriori frasi associate al composto, sono quelle che specificano per i pittogrammi allo stesso assegnati ovvero: Corrosivo (H314 e H318) e Pericoloso per la salute (H372). [1]

Si presenta come solido di colore bianco o come liquido di colore giallognolo trasparente, anche se solitamente lo si trova a cavallo tra le due fasi avendo un punto di fusione pari a 17-18 gradi celsius.

1.1.b) Utilizzo industriale

La caratteristica del DOTL, che ne ha permesso l'impiego nell'industrie a livello globale da svariati decenni, è quella di fungere da catalizzatore nel processo di sintesi di polimeri. In particolare, questi composti organostannici catalizzano le reazioni di esterificazione e transesterificazione durante i processi di crosslinking (fase che vede la formazione di legami covalenti tra le varie catene di polimeri, un esempio è la vulcanizzazione della gomma che vede la formazione di legami tioeterei tra i polimeri) e di policondensazione (sintesi del polimero stesso a partire dai singoli monomeri) [2].

In generale, gli organostannici, sono stati da sempre di fondamentale importanza nel processo di sintesi del silicone, il quale vede lo stagno implicato nella formazione dei legami Si-O-Si [3], nel processo di cross-linking.

Nello specifico, i principali impieghi industriali del DOTL, al giorno d'oggi, sono:

- Catalizzatore nel processo di sintesi della gomma siliconica utilizzata in ambito medico;
- Fissante per vernici bicomponenti poliuretaniche a base solvente;

Lo ritroviamo, inoltre, impiegato nei processi di sintesi e/o utilizzo di cere, coloranti, prodotti chimici per le industrie cartiere e concerie, prodotti per la pulizia della casa ed in alcuni processi di trattamento dei tessuti [4].

1.2 NORMATIVA

1.2.a) Panoramica sul Testo Unico Ambientale

Le norme legate alla tutela ambientale sono comprese dal Decreto Legislativo 3 Aprile 2006 n°152, denominato: Testo Unico Ambientale (TU o TUA) [5].

Il TUA viene, nello specifico, suddiviso in sei parti differenti ognuna a sua volta suddivisa in sezioni e a seguire titoli, capi ed articoli (ognuno dei quali contrassegnato da un numero e dalla propria rubrica). Le varie parti trattano, ciascuna, un macro-argomento, della tutela ambientale, diverso e sono:

1. Disposizioni comuni e principi generali
2. Procedure per la valutazione ambientale strategica (vas), per la valutazione dell'impatto ambientale (via) e per l'autorizzazione integrata ambientale (ippc o AIA)
3. Norme in materia di difesa del suolo e lotta alla desertificazione, di tutela delle acque dall'inquinamento e di gestione delle risorse idriche
4. Norme in materia di gestione dei rifiuti e di bonifica dei siti inquinati
5. Norme in materia di tutela dell'aria e di riduzione delle emissioni in atmosfera
6. Norme in materia di tutela risarcitoria contro i danni all'ambiente

Come si evince dal precedente elenco, il monitoraggio delle emissioni in atmosfera è legato alla parte quinta; val la pena di richiamare alcuni articoli di legge importanti per capire l'attività dei controlli analitici.

- 268: contiene le definizioni necessarie alla corretta interpretazione degli articoli di legge;
- 269: prevede l'autorizzazione che dev'essere presentata, dal soggetto responsabile dell'attività interessata dall'emissione, all'autorità competente. A tal fine l'articolo definisce:
 - Contenuto della domanda di autorizzazione: progetto dell'impianto e relazione tecnica del ciclo produttivo complessivo coinvolto (all'interno di questa sono definiti anche i termini entro i quali devono essere effettuati tutti gli accertamenti di messa a regime e scadenze per ricontrolli ecc.);
 - Obblighi dell'autorità competente;
 - Modalità di captazione e convogliamento delle emissioni, ne identifica le metodologie di campionamento e analisi, il valore limite ed i criteri per la valutazione della conformità dell'impianto, oltre alla periodicità dei controlli;
 - Casistiche che richiedono la presentazione della domanda di autorizzazione, ovvero: definisce il concetto di "modifica sostanziale" e di "messa in esercizio".
- 270: norma il convogliamento delle emissioni, prodotte dalla sorgente, all'eventuale impianto di trattamento, fino all'emissione in atmosfera;
- 271: "Valori limite di emissione e prescrizioni per gli impianti e le attività":
 - Definisce che l'autorità competente ha la possibilità di fissare, per tutti gli impianti e attività identificati all'articolo 272, valori limite d'emissione, prescrizioni (anche in merito alle condizioni di costruzione ed esercizio dell'impianto) e le portate caratteristiche dell'impianto;
 - definisce le modalità di scelta dei valori limite nella stesura di: "Piani e programmi per la qualità dell'aria" e "Domanda di autorizzazione";
 - tratta l'elaborazione del valore parametrico ottenuto quando richiesta, come nel caso di valori riferiti a condizioni di lavoro standard o nel caso d'impianti dove l'emissione viene diluita, ecc;

- norma il monitoraggio da parte dell'autorità competente e del gestore, e fornisce le linee guida nel caso si presentino "Non conformità" degli impianti;
- 272: identifica gli impianti e attività in deroga;
- 273-274: questi articoli disciplinano i grandi impianti di combustione e la raccolta e trasmissione dei dati sulle emissioni di questi;
- 275: norma le emissioni di sostanze organiche volatili (COV);
- 276-277: trattano le modalità d'esercizio degli impianti di distribuzione di carburante al fine di tutelare l'ambientale dalla dispersione di COV;
- 278: norma le conseguenze della mancata conformità d'impianti alle condizioni apposte dagli articoli suddetti, specificando gli obblighi dell'autorità competente in tali casistiche (differenti dall'applicare le sanzioni):
 - Procedura di diffida, che comprende l'assegnazione del termine entro cui l'irregolarità deve essere corretta;
 - Procedura di diffida addizionata al provvedimento di temporanea sospensione dell'autorizzazione;
 - Revoca dell'autorizzazione in caso di mancato adeguamento dell'impianto alle prescrizioni della diffida, entro i tempi definiti;
- 279: tratta l'ambito delle sanzioni in caso di non rispetto delle norme precedenti.

Ad ogni parte del TUA fanno infine capo i vari allegati che rappresentano la parte più tecnica e pratica delle norme; in particolare per la parte quinta il più importante è sicuramente l'"Allegato 1". In esso sono contenute la maggior parte dei limiti d'emissione e le prescrizioni sulla struttura ed esercizio degli impianti, oltre alle varie metodologie e formule, impiegate nei processi di rielaborazione dei dati sopra citati, e altre informazioni a sfondo pratico.

La disposizione della norma, al giorno d'oggi, può essere consultata sia nella versione originale che in forma consolidata, ovvero come atto multivigente. Quest'ultimo mostra tutte le aggiunte, sostituzioni o abrogazioni apportate, nel tempo, alla norma mediante la pubblicazione di atti normativi numerati e non, in "Gazzetta Ufficiale" e/o "Raccolta Ufficiale delle Leggi e dei Decreti".

Considerando che i limiti riportati dalla norma, sono limiti per gli impianti "esistenti", cioè ancora i vecchi limiti ripresi dal D.M. 12/09/1990, l'inquadramento di molte specie chimiche non risulta più essere attuale. Un esempio per tutti riguarda quello dell'Aldeide Formica, ancora inserita in seconda classe della Tabella D, quando invece è un inquinante da includere in classe A in quanto sospetto cancerogeno.

Inoltre, gli attuali limiti della normativa nazionale sono "statici", in quanto i diversi inquinanti vengono identificati e attribuiti a diverse classi; per fare un esempio diverso, la Provincia di Trento ha adottato un criterio dinamico, basato sui limiti dell'ACGIH Americana, con limiti che vanno modificati di anno in anno in funzione degli aggiornamenti del relativo TLV.

Infine, come si può facilmente intuire, l'elenco delle sostanze normate non è esaustivo, ed il testo di legge rimanda, per limiti da applicare a sostanze non incluse in alcun elenco, a specie chimiche con caratteristiche tossicologiche simili. Tale è la situazione del composto organostannico oggetto del presente lavoro.

1.2.b) Il caso studio

Una norma, soprattutto in campo ambientale, può subire svariate modifiche per motivi diversi, ad es. mediante decreto-legge o legislativo per il recepimento di una direttiva comunitaria.

L'introduzione della novità normativa attuata ad esempio da organismi internazionali può essere legata all'aggiornamento dello stato di conoscenza del pericolo di esposizione (il danno che la sostanza reca una volta che l'individuo o l'ambiente sia stato esposto ad esso) o del rischio che questa comporta (variazione dello scenario d'esposizione).

Il presente caso studio nasce dalla modifica, realizzata mediante il decreto legislativo 30 luglio 2020 n°102 [6], al decreto legislativo 15 novembre 2017, n°183 [7], il quale recepisce la direttiva (UE) n. 2015/2193 del Parlamento europeo e del Consiglio .

Il 102/2020 contiene, per l'appunto, correzioni ed integrazioni al 183/2017 e va a modificare in maniera sostanziale svariati articoli del TUA, tra cui il 271; questo va ad essere modificato a livello di vari commi, ma presenta la modifica più rilevante in corrispondenza del settimo, a livello del quale, viene aggiunto il comma 7-bis.

Il suddetto comma aveva già subito altre modifiche negli anni precedenti:

- Atto originale: trattava tutte le sostanze per le quali la Regione o la Provincia Autonoma non aveva definito dei limiti di concentrazione d'emissione specifici ed asserisce che nel caso in cui l'attività o l'impianto impieghi una quantità di sostanza superiore alla soglia di rilevanza, l'utilizzo delle sostanze e le emissioni da esso derivanti dovranno rispettare i limiti di cui all'Allegato 1;
- Sostituzione con il decreto legislativo 29 giugno 2010, n°128: prescrive la possibilità alle Regioni o Province autonome, nel normare l'utilizzo di determinate sostanze e le emissioni ad esso collegate, mediante l'adozione di un decreto o la definizione di piani e programmi di qualità dell'aria (così come previsto dalla normativa vigente in materia, comma 3 dello stesso articolo), di applicare limiti e prescrizioni più stringenti di quelli contenuti negli allegati uno, due, tre e cinque della parte quinta del TUA (se necessario per raggiungere gli obiettivi di qualità previsti dalla normativa vigente);
- Aggiunta del comma 7-bis, come sopra citato, attraverso il decreto legislativo 30 luglio 2020, n°102. Il comma prescrive: "*Le emissioni delle sostanze classificate come cancerogene o tossiche per la riproduzione o mutagene (H340, H350, H360) e delle sostanze di tossicità e cumulabilità particolarmente elevata devono essere limitate nella maggior misura possibile dal punto di vista tecnico e dell'esercizio. Dette sostanze.....devono essere sostituite non appena tecnicamente ed economicamente possibile nei cicli produttivi da cui originano emissioni delle sostanze stesse.*" Obbliga inoltre gli stabilimenti che impiegano queste sostanze a presentare, dopo cinque anni dal rilascio dell'autorizzazione, una relazione, all'autorità competente, dove vengono analizzate la disponibilità di alternative, i rischi che queste comporterebbero e la fattibilità economica della sostituzione delle stesse. Inoltre, se alcune sostanze impiegate, successivamente ad un cambio nella loro classificazione, finiscano per rientrare nelle categorie sopra citate, entro tre anni dalla modifica, l'attività dovrà fornire all'autorità competente una domanda di autorizzazione al fine di adeguarsi alle disposizioni del presente decreto, in aggiunta alla relazione come definito poco sopra.

Come visto in precedenza il Diocilstagno Dilaurato presenta tra le varie indicazioni di pericolo anche la frase di rischio H360D, quindi, con l'introduzione del comma 7-bis, per l'impiego di tutte le miscele che presentano al loro interno questa sostanza in concentrazione superiore allo 0,3% in peso va applicata la procedura sopra descritta.

La ditta interessata dalla problematica e seguita con il presente progetto di tesi, ricade in Autorizzazione Integrata Ambientale di cui al Titolo II del D.L.gs. 152/2006 (Attività IPPC), visto il quantitativo di COV presente nei preparati utilizzati per il rivestimento di superfici. In sede di rinnovo della suddetta autorizzazione, richiesta dall'Amministrazione Provinciale competente a seguito del gran numero di Modifiche Non Sostanziali richieste dall'attività nel tempo, ed a seguito della relazione tecnica presentata ai sensi dell'articolo 271, comma 7-bis del D.L.gs. 152/2006, così come modificato dal D.L.gs. 102/2020, la Ditta interessata ha deciso di effettuare un'analisi preventiva conoscitiva sulle proprie emissioni convogliate, al fine di quantificare il diocilstagno dilaurato. Va precisato che l'autorizzazione in questione vieta l'impiego di sostanze che presentano frasi H360 (strettamente) e H360F ma non H360D (quale, per l'appunto il DOTL) e non avendo nessuna prescrizione da parte della Provincia relativamente al composto organostannico in questione, sia in merito all'utilizzo della sostanza sia all'emissioni di questa in ambiente, l'azienda non aveva finora mai effettuato accertamenti ed analisi in questo senso.

In particolare, oggetto dello studio sono stati i flussi gassosi convogliati derivanti dall'attività di rivestimento di oggetti in materiale plastico mediante vernici a base solvente, con misure sia all'ingresso che all'uscita dell'impianto di abbattimento dei Composti Organici Volatili (specie chimiche con tensione di vapore uguale o superiore a 0,01kPa a 20°C e ad 1013 mBar).

L'abbattimento sopra citato è costituito da un filtro a zeoliti per l'abbattimento specifico delle COV (l'intera struttura ed il funzionamento dell'impianto d'abbattimento sarà descritta nel paragrafo dedicato), e da un successivo trattamento ossidativo dell'adsorbito tramite un combustore ceramico a due camere più compensazione.

Avendo scelto di quantificare questo analita, la problematica principale risultava essere l'assenza d'un metodo di prova standard per il campionamento e determinazione del DOTL a condotto, che fosse riconosciuto dalla normativa italiana ovvero un metodo CEN (European Committee of Standardization), UNI (Ente Italiano di Normalizzazione) o ISO (International Organization for Standardization). Considerando la forte affinità dei composti organo stannici verso la componente biotica, sono invece disponibili in letteratura molte metodologie per la determinazione di questo composto in matrici ambientali come acque lagunari e marine, sedimenti e biota; tuttavia, questi metodi di prova quasi mai sono selettivi nei confronti del DOTL.

Da questa necessità, origina il caso studio presente, il quale sarà affrontato a vari step partendo da un'analisi/ricerca bibliografica di documentazione in merito a metodi di prova per sostanze simili o comunque adattabili al DOTL, seguita dallo sviluppo della metodologia analitica vera e propria e, in conclusione, da delle prove in campo nel sito interessato dall'emissione e successiva analisi dei campioni, al fine d'identificare il metodo di campionamento più adeguato. L'obiettivo è dunque quello di definire un metodo "interno" al fine di rispondere alle richieste della ditta e che possa fungere da metodo di riferimento per il campionamento di questo analita, da descrivere nei rapporti di prova delle misure ufficiali che l'azienda farà effettuare negli anni.

MATERIALI E METODI

2.1 CAMPIONAMENTO DEL DOTL

Nonostante la specie chimica, come già detto in precedenza, non sia volatile alle condizioni di utilizzo, abbiamo ipotizzato diverse linee di campionamento a camino in modo da poter fermare in matrici diverse sia particelle liquide o solide sotto forma di aerosol, sia l'eventuale forma gassosa.

I prelievi sono stati realizzati come indicato nelle varie norme che regolano i diversi metodi di campionamento. Di seguito è proposta una rassegna delle caratteristiche fondamentali che un campionamento di flussi gassosi convogliati deve avere.

2.1.a) Panoramica sul campionamento di flussi gassosi convogliati

Come visto in premessa, è presente e vigente una normativa in merito alle emissioni realizzabili dai vari impianti produttivi e di conseguenza sarà presente in merito le modalità di campionamento e di verifica del rispetto o meno di questi obblighi. Le metodologie standard riconosciute dallo stato italiano ed applicabili sono le:

- CEN (European Committee of Standardization);
- UNI (Ente Italiano di Normalizzazione);
- ISO (International Organization for Standardization).

Queste norme ogni fase e procedura del campionamento, identificano la strumentazione consona, specificano i requisiti a livello di produzione dell'impianto soggetto ad analisi ed infine riportano gli obblighi dei responsabili (in tema sicurezza ed ambiente) dell'attività lavorativa; quest'ultimi riguardano, principalmente, la messa in sicurezza dell'impianto e della stazione di prelievo e la creazione di punti di prelievo adeguati alle varie tipologie di campionamento da effettuare nel condotto specifico. La verifica riguardo il rispetto di queste norme è affidata all'Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione dell'Ambiente (ARPA) che provvede ad effettuare sopralluoghi nelle ditte e controlli sull'operato dei tecnici delle ditte esterne che monitorano le emissioni per verificare il rispetto dei limiti imposti dal TUA e sue modifiche.

Come riportato in precedenza le misure di flussi gassosi convogliati possono essere effettuate solo in determinate condizioni di sicurezza per l'operatore e solamente se il condotto presenta una sezione di misura adeguata alle tipologie di prelievo da realizzare. Il punto di prelievo alla sezione di misura viene definito "Tronchetto di prelievo" e le sue funzioni principali risultano essere quella di permettere l'accesso al flusso gassoso e quella di sostenere la strumentazione impiegata per il prelievo, la quale varia a seconda del parametro da determinare. La norma di legge non entra nel dettaglio delle caratteristiche del tronchetto, rimandando a norme tecniche specifiche, tra le quali la UNI EN 15259:2008.

Allo scopo di fare chiarezza in merito a questa materia, il dipartimento provinciale di Treviso di ARPAV ha redatto delle linee guida definite: standardizzazione delle metodologie operative per il controllo delle emissioni in atmosfera [8]. Queste trattano le caratteristiche che il punto di prelievo e la sezione di misura devono avere, dal tronchetto alla piattaforma, più altre tematiche generali sui campionamenti.

Il punto di prelievo deve, secondo la suddetta guida, presentare le seguenti caratteristiche:

- Il tronchetto deve essere posizionato a più di 20 cm al di sopra del parapetto più alto della piattaforma e ad un'altezza compresa tra i 120 ed i 150 cm dalla base della stessa;
- Nel caso di camini circolari dev'essere posizionato a cinque diametri interni a valle ed a monte di qualsiasi deformazione del condotto, compresa il punto d'emissione in atmosfera;
- Il numero di tronchetti dipende dal diametro interno del condotto e sono richiesti: un tronchetto fino ai 35 cm di diametro, due posizionati a 90° l'uno dall'altro dai 35 ai 150 cm e quattro se il diametro interno del condotto supera i 150 cm. Importante è che siano posti sulla stessa sezione del condotto;
- In base alla necessità di realizzare campionamenti in isocinetismo o meno saranno necessari tronchetti dal diametro interno di 4 pollici e muniti di controflangia (vedi foto sotto) per fissare le sonde di campionamento, oppure un tronchetto da 2 pollici e mezzo con semplice filettatura gas (vedi figura 2.1). Nel caso in cui sia necessario ricercare microinquinanti (es. IPA, PCB, Diossine) devono essere presenti entrambe le tipologie di tronchetto.



Figura 2.1: tronchetto di prelievo munito di controflangia

Per camini rettangolari ci sono più variabili da considerare e siccome il camino del caso studio è circolare, questa parte non verrà trattata.

Quando si parla nello specifico di misure effettuate su flussi gassosi convogliati diverse informazioni risultano indispensabili per poter interpretare i risultati ottenuti in modo corretto. Tra queste quelle più importanti risultano essere: la portata dell'impianto (molto soggetta all'influenza di altri parametri come esplicitato in seguito), ottenere informazioni sulle lavorazioni/attività effettuate nelle stazioni/macchine interessate dall'impianto d'aspirazione a cui fa capo il punto di prelievo (es. pezzi prodotti /lavorati all'ora, quantità di solvente impiegato, quantità di vernice applicata, eventuali fermi produttivi, informazioni sulle fasi dei cicli delle varie macchine,) ed ottenere informazioni sugli impianti d'abbattimento eventualmente presenti (es. tipologia d'abbattimento, ultima data di manutenzione dell'impianto,).

Determinare la portata dell'impianto è fondamentale, innanzitutto, per capire la quantità in massa di sostanza emessa in atmosfera, ma anche per poter effettuare i campionamenti, qualora richiesto dalla normativa, in isocinetismo nel gas in uscita dal condotto.

La procedura per la misurazione della portata è definita nella norma UNI EN 16911-1 del 2013 e s'effettua mediante l'utilizzo di un tubo Pitot (foto della strumentazione nel paragrafo dedicato) collegato mediante delle canne in silicone ad un anemometro. Ci sono diversi tipi di tubi a Pitot, i più comuni sono:

- Pitot ad S: consiste in due tubi d'acciaio del diametro (4 mm solitamente), saldati parallelamente tra loro e con le estremità divergenti ad entrambi i capi dei tubi. Il funzionamento è molto semplice in quanto è sufficiente inserire un'estremità del pitot a

camino di modo che il flusso arrivi perpendicolarmente alla sezione complanare ai due tubi del Pitot. Così facendo, il flusso gassoso, entrerà direttamente in uno dei due tubi misurando quindi la pressione esercitata dal flusso; la seconda bocca, invece, si troverà orientata nel verso opposto e quindi misurerà la depressione realizzata dallo stesso flusso fornendo in output il dato di Δp ;

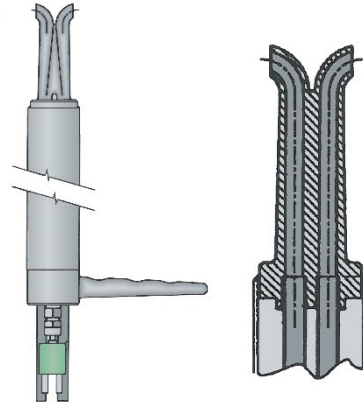


Figura 2.2: schema del tubo di Pitot a S

- Pitot ad L: il funzionamento è simile ma è diversa la struttura dello strumento. Questo vede le due camere concentriche, in particolare, il tubo della presa totale (quella che opera la misurazione della pressione realizzata dal flusso, sempre rivolta nella direzione d'arrivo dello stesso) è interno a quello facente capo alla seconda presa. Quest'ultima viene definita statica.

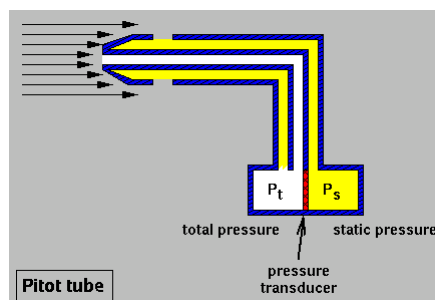


Figura 2.3: schema del tubo di Pitot a L

Le due tipologie di pitot sopra descritte arrivano allo stesso risultato ma mediante principi differenti, o meglio, applicando questi principi in maniera differente. Inoltre, ogni pitot differisce dagli altri in base alla lunghezza ed alla costruzione dello stesso. Per questo motivo ogni pitot deve essere tarato, ovvero deve esserne calcolata la "costante caratteristica" (k) dello stesso. Questa si calcola mediante dei flussi in condizioni standard, ovvero dei flussi di cui si conoscono esattamente le caratteristiche del campo di moto. La misurazione della velocità avviene collegando al manometro i due tubi in silicone collegati al pitot prestando attenzione a quale faccia capo la presa totale e quella statica.

Un altro parametro misurato attraverso il pitot è la pressione statica; misurata orientando il pitot perpendicolarmente (per quanto riguarda quello a S mentre per quello ad L è sufficiente togliere la presa totale) rispetto alla direzione del flusso e facendo arrivare al pitot una sola canna in silicone, permette di capire la differenza di pressione tra il condotto e l'atmosfera (permette di capire se il condotto è in pressione o depressione, solitamente dipende dalla posizione del punto di prelievo rispetto alla ventola che origina il flusso e dalle condizioni d'omogeneità dello stesso). Questo dato è quasi ininfluenza dal punto di vista del calcolo della portata (ma risulta fondamentale durante l'ottenimento dei ΔP), mentre è fondamentale per la fase di campionamento stessa o di analisi sul campo mediante strumenti in continuo; questo perché se il condotto è in depressione (aspira aria

ambiente) va a diluire il gas prelevato in continuo dall'analizzatore falsificando il dato. Questo si evita tappando il tronchetto di prelievo dopo averci fissato lo strumento, operazione che è preferibile effettuare sempre in caso di prelievi isocinetici, in quanto è importante che il flusso venga alterato il meno possibile al fine di garantire un campionamento rappresentativo. Sempre per far fronte alla disomogeneità del flusso, nel caso di campionamenti isocinetici, sarà fondamentale studiare le caratteristiche del flusso e campionarlo in diversi punti come definito dalla UNI EN 15259 "Requisiti delle sezioni e dei siti di misurazione e dell'obiettivo, del piano e del rapporto di misurazione".

Ottenuta la velocità, al fine di calcolare la portata normalizzata, sono necessari i parametri di temperatura del fluido (calcolata mediante una semplice termocoppia), l'area interna del condotto (calcolata mediante la misurazione del lato maggiore e minore del camino se rettangolare o il diametro interno se circolare) e l'umidità del gas.

Tutti i dati raccolti in campo vengono riportati in quello che viene definito "foglio di campionamento" al fine di permettere una tracciabilità sulle attività eseguite e di garantire gli standard di qualità richiesti per l'accreditamento delle prove. Ogni foglio di campionamento viene riferito ad un punto di prelievo specifico o spesso (quando il punto di prelievo a livello di un condotto è singolo) direttamente al camino. Inoltre, singoli punti di prelievo possono necessitare di più fogli dal momento in cui la maggior parte delle prove è effettuata tramite triplo controllo e molti camini presentano più parametri diversi da quantificare.

Presso Ecoricerche srl vengono impiegati dei fogli di campionamento strutturati come segue (i caratteri colorati fanno riferimento alle sezioni illustrate nelle figure 2.4 e 2.5):

1. 🌿 La testata del fronte foglio presenta i campi dove vengono inseriti i dati necessari a contestualizzare le prove eseguite, ad esempio: il punto di prelievo interessato, i tecnici prelevatori coinvolti, il committente dell'analisi (l'ente/società richiedente l'analisi, spesso la sede legale dell'azienda se sono presenti più stabilimenti o direttamente altre figure professionali esterne alla ditta che ne seguono gli aspetti di sicurezza ambientale) e la sede dell'impianto produttivo, la data, ecc....
2. 🌿 Di seguito troviamo la sezione dedicata alla raccolta dei dati sui campionamenti eseguiti per ciascun parametro. Ogni foglio presenta sei sezioni di questo tipo e contengono ciascuna i campi:
 - a. Descrizione, usato per indicare il numero del controllo nel caso di più prelievi realizzati per uno stesso parametro (solitamente tre, come visto in precedenza);
 - b. Impianto/caratt. di processo: qui vengono riportate informazioni sull'impianto produttivo e su eventuali particolari fasi di produzione che implicano variazioni sulla metodologia di prelievo prevista dalla norma;
 - c. Prova: qui viene inserito il parametro da quantificare ad esempio COT (carbonio organico totale), acido solforico, polveri, SOV, ecc. Inoltre, in questa sezione vengono riportati i dati inerenti agli standard utilizzati per la taratura in campo degli strumenti (analizzatori in continuo);
 - d. Etichetta: codice utilizzato durante la fase d'accettazione del campione eseguita in un secondo momento in ufficio. In questo modo viene contrassegnato ogni campione con un codice a barre univoco, venendo caricati nel database aziendale e garantendo la tracciabilità durante la fase di analisi in laboratorio;
 - e. I campi restanti caratterizzano il prelievo in sé e sono: numero e tipologia di filtro (se utilizzato), ora inizio e fin di ogni controllo, matricola dello strumento utilizzato/contaltri al quale vanno riferiti i litri iniziali e finali del campionamento e la temperatura dello strumento ed infine il flusso di prelievo;

3. 🌸 A piè del fronte pagina troviamo da compilare la parte che fa capo alla quantificazione dell'umidità del gas, realizzata mediante una torre in gel di silice pesata prima e dopo aver campionato un determinato volume di gas;
4. 🌸 Il retro del foglio di campionamento è dominato dalla tabella necessaria per il calcolo della portata. Questa è suddivisa in tre colonne poiché le prove da eseguire prevedono un triplo controllo ed ognuno dev'essere effettuato in isocinetismo e quindi regolando l'aspirazione prodotta dal campionatore in base al punto, della sezione trasversale del condotto, in cui si sta campionando. Ogni colonna è a sua volta suddivisa in quattro colonne: temperatura del condotto, Δp (rilevato attraverso il Pitot), ugello applicato alla sonda (nel caso di prelievo isocinetico) e il flusso di prelievo utilizzato per il campionamento. A seconda del diametro (ed anche delle condizioni d'omogeneità del flusso, parametro valutato dal tecnico stesso) del condotto si dovrà calcolare il Δp in più punti. In testa alla tabella troviamo una riga dove vengono specificate le matricole di tutti gli strumenti impiegati per il calcolo della portata, quindi la termocoppia, il tubo di pitot ed il manometro, oltre al diametro misurato del condotto, il numero di fori che questo presenta (presso quello stesso punto di prelievo) e l'identificativo del cammino;
5. 🌸 Al di sotto della tabella troviamo
 - a. una sezione dove vengono indicati eventuali non conformità del punto di prelievo e del flusso (es. flusso troppo irregolare, angolo di Swirl del flusso [può essere definita come una misura sulla turbolenza del flusso], diametri di tratto rettilineo a monte ed a valle del tronchetto);
 - b. Due tabelle per inserire i dati di calcolo dell'umidità del flusso e della massa molecolare media del gas;
 - c. Un'ultima tabella dove annotare l'avvenuto controllo di tenuta della linea di campionamento. Questa parte è fondamentale in quanto si deve essere certi che la linea non abbia perdite e che quindi non venga falsato il dato.

Foglio di campionamento MV000-02 rev. 4

Committente _____ Produttore _____ OT _____ Data ____/____/____
 Cammino n° _____ Patm. _____ (mbar) Barom. _____ T. amb. _____ (°C) Termom. _____ Flussim. _____

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3601 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3602 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3603 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3604 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3605 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Descrizione
 Impianto/caratt. di Processo _____
 Prova _____ Etich. EW3606 R.P. n° _____
 Filtro n° _____ Tipo Filtro _____ Ora ____/____/____ Camp. o contatti _____ T media camp. _____ (°C)
 Flusso ____/____ Durata ____ (min) Tipo Selettore KOM CIS Volume ____/____ = ____ (l)

Torre n° _____ Peso ____/____ (g) **Note** _____
 Verifica Bilancia: massa camp. ____ (g) massa letta ____ (g) Esito: Positivo Negativo

Figura 2.4: fronte del foglio di campionamento adottato dalla ditta "Ecoricerche srl"

CARATTERIZZAZIONE DEL FLUSSO GASSOSO MP201-01 Rev. N° 17

Cammino ____ Tort. ____ F. stat. nel. nel. H₂O ____ Diam. (L) in ____ Pitot ____ Manom. _____

Punti di misura per la velocità e l'isocinetismo (ovvero da caratterizzare in caso di ristrettezze)

Punti	Ora in				Ora fine				Ora in				Ora fine						
	Alford. (cm)	T °C	Δp (mmHg)	Ug. (mm)	Q (l/m)	T °C	Δp (mmHg)	Ug. (mm)	Q (l/m)	T °C	Δp (mmHg)	Ug. (mm)	Q (l/m)	T °C	Δp (mmHg)	Ug. (mm)	Q (l/m)	Swirl	
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
7																			
8																			
9																			
10																			
11																			
12																			
13																			
14																			
15																			
16																			
17																			
18																			

Rispetto delle condizioni di stazionarietà di flusso, UNI EN ISO 28911:
 - le variazioni di dati per ciascun punto misurato sono inferiori a 2,6 mm H₂O dal da medio? Sì No
 - le variazioni di Δp al punto di riferimento ____/____/____ sono inferiori del 10% da Δp medio. Sì No
 - Ripetibilità delle condizioni di tratto rettilineo per la sezione di misurazione, UNI EN 15253 capitolo 6.2.1 e 6.2.2 Sì No
 - Se "no" indicare il n° di diametri idraulici di tratto rettilineo a monte della sezione di misura ____ ed o valle ____ e verificare le seguenti condizioni:
 - angolo del flusso gassoso minore di 15° rispetto all'asse del condotto? Sì No
 - rapporto tra la velocità locale del gas più elevata e quella più bassa minore di 3:1? Sì No

Calcolo della massa molecolare media del gas considerando il solo contributo dell'acqua
 T camp. (°C) _____ vol. camp. (l) _____ peso (iniz. (g) _____ Finale (g) _____

Calcolo della massa molecolare media del gas considerando anche i componenti diversi dall'acqua
 % O₂ _____ % CO₂ _____ NOx _____ SOx _____ CO _____

Barriera con una [M] la casella con l'esito del test relativo alla prova effettuata (nel caso di zero e spin tra >2% e <5% sul Fondo Scala riportare i valori)

Riferimento prova mod. MV000-02 (esistente)	Esito test di tenuta per pompe più/gas		Test di zero/span per Analizzatori in continuo			
	Positivo	Negativo	Zero e span >2% sul F.S.	Zero e span >2% e <5% sul F.S.	Zero e span >5% sul F.S. (ingetere la misura)	
Prova riga 1				Valore di zero	Valore di span	
Prova riga 2						
Prova riga 3						
Prova riga 4						
Prova riga 5						
Prova riga 6						

Note in caso di negatività: _____
 note: _____

Figura 2.5: retro del foglio di campionamento adottato dalla ditta "Ecoricerche srl"

Come citato in uno degli ultimi punti dell'elenco, una prova da effettuare obbligatoriamente e di fondamentale importanza, è quella di tenuta. Questa deve coinvolgere l'intera linea di prelievo, dalla sonda al campionatore ed è volta a verificare che la stessa sia a tenuta stagna o che non sia ostruita o che presenti altre criticità. Per strumenti che analizzano in continuo e che non possono realizzare grandi depressioni questo test viene effettuato mediante la taratura in campo dello zero strumentale e mediante atmosfere standard.

Ultimo aspetto fondamentale del campionamento è la conservazione del campione tal quale fino all'analisi in laboratorio. Questa fase è tanto più importante tanto più l'analita è reattivo o presenta caratteristiche che possono portare ad eventuali perdite della sostanza come può essere la bassa tensione di vapore o la tendenza a ripartirsi con le pareti del contenitore impiegato. La modalità impiegata più spesso consiste nel tenere i campioni al riparo dai raggi solari ed a basse temperature il più possibile, durante il trasporto, ed una volta giunti al laboratorio, riporli in frigoriferi dotati di data-logger, il quale ne registra ciclicamente la temperatura per garantire la qualità del dato emesso dal laboratorio.

Prima d'illustrare le modalità di prelievo realizzate in campo è necessario capire come sono strutturati i punti di prelievo sfruttati.

2.1.b) Descrizione dei punti di prelievo e dell'impianto d'abbattimento

Il punto di prelievo dove sono state realizzate le prove è situato a monte dell'impianto d'abbattimento principale della linea costituito da due rotoconcentratori a zeoliti ripristinati in continuo, con successiva combustione termica del concentrato. Come puntualizzato inizialmente, l'interesse della ditta sta nel dimostrare che già all'entrata dell'impianto d'abbattimento non è presente la sostanza o che sia presente in concentrazioni bassissime; per tale motivo è opportuno effettuare la ricerca del DOTL a monte del sistema di trattamento VOC. Il punto di prelievo è mostrato in figura 2.6.



Figura 2.6: punto di prelievo in testa all'impianto d'abbattimento

Il condotto si sviluppa dall'alto (tetto della ditta) verso il basso, per poi presentare un tratto di una decina di metri ipogeo, a livello del quale, viene suddiviso in due condotti minori facenti capo ognuno ad una singola ruota di zeoliti. Come si può notare dalla foto, il punto di prelievo è costituito di due tronchetti con tappo filettato del diametro di 4 pollici, obbligatori in quanto il condotto presenta un diametro di 140 cm e come descritto nel paragrafo dedicato, sono richiesti minimo due tronchetti al fine di poter calcolare la portata correttamente e, nel caso fossero necessari, effettuare campionamenti in isocinetismo col flusso gassoso. Nello specifico per la portata viene indagata la differenza di pressione realizzata dal flusso in 12 punti totali distribuiti su tre diametri (quattro punti per diametro ottenuti a coppie dai due tronchetti disponibili, vedasi foglio di campionamento nel paragrafo dedicato ai campioni realizzati in campo).

L'impiego di solvente da parte della ditta è massivo e la capacità nominale, in termini dell'articolo 275 del D.L.gs. 152/2006, è superiore alle 400 ton/anno. Grazie all'abbattimento dei COV l'azienda in questione contiene l'emissione totale (come somma di emissione convogliata e diffusa) ed il solvente abbattuto dall'impianto è la maggiore voce di bilancio nel Piano di Gestione Solventi previsto dall'articolo 275 del D.L.gs. 152/2006.

La portata massima del trattamento è di 80.000 Nm³/h ed una portata d'esercizio di circa 61.000 Nm³/h e riesce a gestire un carico di solvente in entrata fino a 500 mg/Nm³ ed abbatterlo fino ad ottenere in uscita dall'impianto una concentrazione massima di 50 mg/Nm³.

L'impianto è costituito da due unità: una di preconcentrazione (RC) ed una di combustione termico-rigenerativa (RTO). Inizialmente, il gas contaminato suddiviso in due flussi minori arriva nell'unità di preconcentrazione dove attraversa i due rotori impregnati di zeoliti idrofobe, costituenti il materiale attivo adsorbente contenuto in una struttura rotante. Rispetto ai carboni attivi, le zeoliti offrono il grande vantaggio di non essere combustibili e di essere inerti, molto stabili e resistenti all'acqua e agli acidi e di poter sopportare temperature fino a 600 °C. Come indicato nell'immagine sottostante (Figura 2.7), il flusso passa, per la maggior parte, nella sezione inferiore del rotore e viene espulsa direttamente in atmosfera come depurata; una piccola parte, invece, viene filtrata e successivamente riscaldata prima d'essere re-iniettata in un'area specifica della ruota in controcorrente.

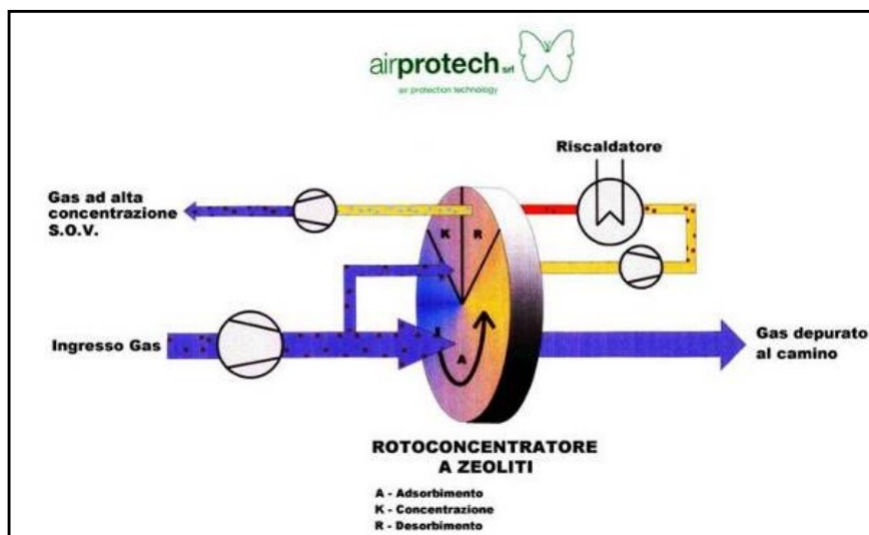


Figura 2.7: Schema dei flussi gassosi che interessano la ruota di zeoliti

Il flusso caldo funge da carrier per le SOV adsorbite sulle zeoliti e sfocia nell'unità di combustione rigenerativa. Questa è costituita di due camere che funzionano alternamente da combustore e da camere di preriscaldamento del flusso pulente. La combustione porta alla completa ossidazione delle molecole di solvente ad anidride carbonica ed acqua. Il flusso concentrato arriva alla camera di combustione dove permane per circa un secondo e poi viene espulso a camino.

Di seguito sono riportate due immagini relative all'impianto. La figura 2.8 mostra l'impianto dall'esterno e si può notare a sinistra una delle camere del combustore termico rigenerativo (evidenziata in rosso) ed in centro una struttura cubica contenente uno dei due rotori a zeoliti (evidenziato in verde). La figura 2.9, invece, presenta un dettaglio del combustore rigenerativo; qui è possibile notare le due camere di combustione ed il sistema pneumatico che ne permette il funzionamento alternato permettendo quindi il recupero del calore.



Figura 2.8: foto dell'impianto d'abbattimento delle sostanze organiche volatili con in primo piano la struttura contenente una dei due rotori di zeoliti e sulla destra le camere di post-combustione



Figura 2.9: foto raffigurante le due camere del post-combustore ed il sistema pneumatico che ne permette il funzionamento alternato

Nella prima foto è possibile notare anche il camino d'uscita a livello del punto di prelievo e la piattaforma realizzata per raggiungere il punto di prelievo e poter alloggiare gli strumenti vicino ad esso.

Le caratteristiche dei camini in entrata ed in uscita dell'impianto sono riportate a livello dei fogli di campionamento compilati durante le uscite realizzate nella ditta cliente e mostrati nella sezione dedicata alla spiegazione dei campioni realizzati.

Al fine di selezionare i metodi più affini a questo campionamento è stata effettuata una ricerca sull'utilizzo della sostanza da parte della ditta; nello specifico è stata analizzata della documentazione, originata da Ecoricerche srl per la ditta cliente al momento della progettazione dell'impianto d'abbattimento e l'autorizzazione integrata ambientale (AIA) del cliente.

2.1.c) Uso della sostanza all'interno della ditta

La ditta del presente caso studio vede il DOTL presente in tre preparati utilizzati nelle operazioni di verniciatura, ovvero:

- Accelerante 20502-50: catalizzatore della reazione di polimerizzazione tra i componenti delle vernici. Percentuale in peso di DOTL contenuto: 1-6%;
- Vernice Brillante XIA 203826: vernice bicomponente a base di resine acriliche -poliuretaniche. Questa resina viene definita a base solvente in quanto nella propria miscelazione oltre alle due resine è anche presente una parte di diluente. Percentuale in peso di DOTL contenuto: 0-0.3%;
- Vernice per grilamide 204134: Percentuale in peso di DOTL contenuto: 0.09-0.11%.

L'applicazione di questi prodotti avviene mediante operazioni di verniciatura automatica, verniciatura manuale e verniciatura semiautomatica. Quest'ultima vede due diverse modalità d'applicazione: in cabine semiautomatiche "a pozzo" o attraverso cabine di microdecorazione che permettono d'ottenere particolari effetti cromatici sul componente tramite una distribuzione del prodotto ad una distanza di soli 20-30 mm dal substrato. In questo l'overspray è irrisorio se paragonato a quello originato dai tradizionali metodi di verniciatura manuale.

Il condotto oggetto dell'indagine convoglia in atmosfera le emissioni captate da:

- Zone di stoccaggio dei solventi;
- Cappe dedicate alla preparazione dei colori;
- Cappe dedicate alla pulizia delle attrezzature di verniciatura;
- Un impianto di verniciatura automatica;
- Sette impianti di verniciatura semiautomatica a pozzo;
- Sette postazioni di verniciatura manuale;
- Sei forni d'essiccazione;
- Applicazione per Microdecorazione;
- Area di realizzazione di trattamenti superficiali con solventi;
- Smorchiatore.

Ricordando che il DOTL non ha una tensione di vapore molto elevata (ai sensi delle definizioni di cui all'articolo 268 non può essere considerato un VOC in quanto essa è inferiore a 0,01 KPa) sarà improbabile che venga generato da siti di stoccaggio o durante la preparazione delle vernici, mentre visto l'elevato numero di stazioni di verniciatura facenti capo al condotto, nel caso in cui venissero

realizzate delle emissioni di DOTL dai processi d'applicazione delle vernici, queste potrebbero essere presenti al punto di prelievo sotto forma di microparticelle aerodisperse generate dall'overspray delle macchine di verniciatura. Per intercettare le particelle realizzate da questo processo sono installati nelle cabine dei sistemi a velo d'acqua e l'atmosfera interna alle cabine viene aspirata e convogliata.

Al punto di prelievo è quindi necessario intercettare, certamente, le polveri e per assicurarsi che non sia presente DOTL in forma libera vengono realizzate anche delle prove di campionamento con fiale di carbone attivo per sostanze organiche volatili e delle prove campionando mediante gorgogliamento in soluzione apolare ed affine all'analita.

2.1.d) Campionamento polveri secondo la norma UNI EN 13284-1 e strumentazione impiegata

Le polveri totali sono il parametro più comune che richiede un campionamento in isocinetismo. Questo consente di campionare le polveri con la stessa velocità con la quale queste percorrono il condotto, influenzando il meno possibile il flusso e potendo stimare con la massima accuratezza possibile la quantità emessa. A tal fine, quindi, è necessario analizzare continuamente il moto del flusso di gas nei primi dintorni dell'ugello e regolare in continuazione la depressione originata dal campionatore. Per rendere questi campionamenti possibili sono state ideate delle sonde apposite munite di pitot e termocoppia, le quali possono essere messe in contatto con il campionatore di modo che questo possa autoregolarsi al variare delle condizioni del flusso. Queste sonde permettono, inoltre, di mantenere l'intero corpo della sonda, e di conseguenza anche il filtro, termostatati così che non s'intasi con l'eventuale umidità presente; la suddetta presenta, infine, un sostegno molto più lungo di una classica sonda in quanto il campionamento dev'essere eseguito in un determinato numero di punti differenti nella sezione del condotto. L'esecuzione del campionamento prevede un dispositivo a sé stante che contiene il software per elaborare i dati derivanti dal pitot e dalla termocoppia, il quale sia anche in grado di comunicare con il campionatore in modo da modificarne il flusso; lo strumento in questione (utilizzato da Ecoricerche s.r.l.) è l'isocheck ovvero un tablet da campo che presenta il software suddetto. Infine, per fare effettuare il prelievo è particolarmente importante il posizionamento della sonda a camino, in quanto l'ugello dev'essere sempre puntato nella direzione d'arrivo del flusso e parallelamente ad esso (nel presente caso studio a livello del punto di prelievo in ingresso l'ugello è stato rivolto verso l'alto).

La quantificazione del parametro "polveri totali" viene ottenuta tramite determinazione gravimetrica e quindi per pesata attraverso bilancia analitica con precisione di 0.0001 g. Questo comporta la necessità di condizionare il filtro e quindi creare delle condizioni ambientali standard nelle quali effettuare la pesata; le variabili considerate sono temperatura e umidità, le quali sono mantenute costanti ad un valore del 48% per l'umidità ed una temperatura di 20 gradi centigradi all'interno d'un essiccatore termostatato. Prima d'effettuare la pesatura del bianco, nelle suddette condizioni, è necessario effettuare un pretrattamento del filtro a 180 gradi in forno d'essiccazione (la normativa prevede di pretrattarli ad una temperatura superiore di 20°C rispetto alla massima temperatura che ci si aspetta di trovare a camino, a livello di laboratorio è stato scelto il suddetto valore per cercare di abbracciare la maggior parte delle casistiche normalmente incontrate) per un'ora per poi essere riposti nell'essiccatore termostatato per almeno 2 ore prima della pesata del bianco. Una volta campionato il filtro viene trattato in forno essiccatore per un'ulteriore ora, questa volta a 160 gradi celsius e di conseguenza dovrà essere ricondizionato per almeno 2 ore nello stesso essiccatore. Al fine di non incorrere in errori dovuti alla perdita di materiale è previsto anche il risciacquo delle parti di linea antecedenti il filtro, nel caso delle sonde da noi impiegate l'ugello e la parte piramidale dell'alloggio del filtro. Il lavaggio viene effettuato con una sostanza avente una tensione di vapore bassa (acqua + acetone) e viene raccolto il liquido in un contenitore, preventivamente pesato, che poi viene riposto nel concentratore ed essiccato per poi essere pesato per determinare la polvere presente per metodo gravimetrico.

Per il prelievo stesso viene impiegato un flusso che varia da pochi litri al minuto (<10 L/min) fino quasi a 40 L/min a seconda della portata del camino, ovvero dalla velocità del gas. Per l'impostazione dello strumento per l'isocinetismo sarà sufficiente fornire al programma i dati relativi al condotto e alla sonda impiegata, ovvero il diametro del condotto e l'ugello utilizzato. Quest'ultimi sono categorizzati in base al diametro dello stesso espresso in mm, ad es. Ugello 8. Configurato l'isocheck e messo in comunicazione col pitot ed il campionatore si può collegare i restanti componenti della linea, effettuare il test di tenuta (da ripetere ogni qualvolta venga cambiato il filtro, l'ugello o gel di silice) e procedere al prelievo. Il campionamento può essere effettuato mediante una filtrazione interna al condotto o esterna ad esso (interna nel nostro caso) a seconda della

collocazione del filtro. Uno schema della linea impiegata nei campionamenti realizzati in ditta è illustrato di seguito.

Legenda			
1	Ugello di ingresso	7	Misurazione dinamica della pressione
2	Alloggiamento del filtro	8	Tubo di supporto (dispositivo all'interno del condotto)
3	Tubo di Pitot	9	Sistema di raffreddamento ed essiccazione
4	Sensore di temperatura	10	Unità di aspirazione e dispositivo di misurazione del gas
5	Indicatore di temperatura	11	Manometro
6	Misurazione statica della pressione		

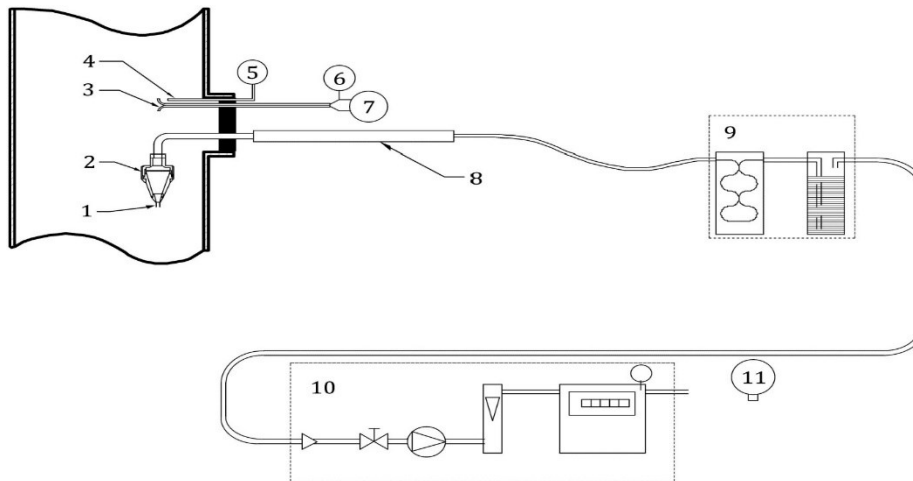


Figura 2.10: schema della linea di prelievo impiegata per il campionamento delle polveri totali in flussi convogliati

Per il campionamento delle polveri totali è stata utilizzata la seguente strumentazione:

- Sonde per campionamento polveri e nebbie oleose tramite matrice filtrante. Nella figura 2.12 possiamo notare l'alloggio/supporto del filtro;



Figura 2.11: sonda in acciaio impiegata per il campionamento delle polveri totali



Figura 2.12: supporto della matrice filtrante interno alla sonda

- Reggi sonda: nelle figure 2.13 e 2.14 lo si vede con la sonda per polveri fissata ad esso e di seguito entrambi disposti per il prelievo in condotto a livello del tronchetto di prelievo;

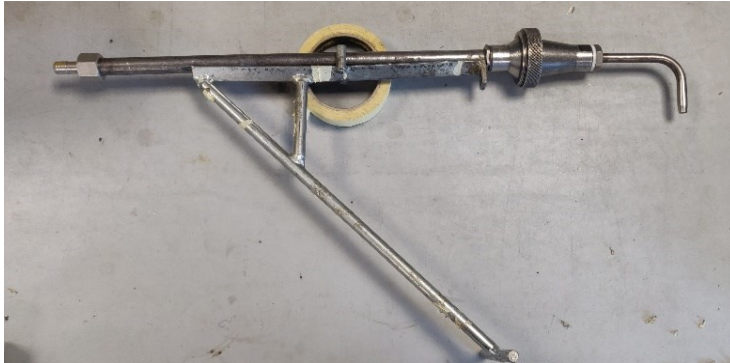


Figura 2.13: sonda per il campionamento delle polveri disposta sul reggisonda



Figura 2.14: sonda + reggisonda disposti a camino

- Campionatori/contaltri:
 - Campionatore ad alto flusso per campionamento su filtri, range di flusso: 0.25-55 L/min



Figura 2.15: campionatore ad alto flusso



Figura 2.16: lato del campionatore che presenta il supporto ove verrà attaccato il tubo in silicone

- Tubi in silicone;
- Filtri in fibra di vetro: porosità 1.2 μm e diametro 47 mm;
- Filtri in Nitrato di Cellulosa: porosità 1.2 μm e diametro 47 mm;
- Torrione di gel di silice;

Per determinare la portata realizzata del flusso gassoso convogliato è necessario:

- Manometro digitale da collegare al tubo di pitot;



Figura 2.17: manometro digitale

- Tubi di pitot ad S (sotto) ed a L;



Figura 2.18: tubi di pitot a S (sotto) e L (sopra)

- Sonda per la misurazione della temperatura e termometro digitale;



Figura 2.19: termometro digitale più sonda da inserire nel tronchetto

- Metro.

2.1.e) Campionamento mediante fiala a carboni attivi e strumentazione impiegata

Per riassumere la metodologia s'è fatto riferimento alla specifica tecnica UNI CEN/TS 13649 pubblicata nel marzo 2015 e consultata presso Ecoricerche s.r.l. [10]

Il campionamento delle sostanze organiche volatili (SOV) viene realizzato mediante una fiala a carboni attivi, i quali andranno a bloccare le SOV, le quali si adsorberanno su questi vista la forte affinità e l'elevatissima

superficie specifica di cui sono dotati. Questo prelievo non richiede di essere eseguito in isocinestimo e quindi presenta una linea di prelievo più semplificata. In testa troviamo una sonda in acciaio che presenta un filtro in maglia metallica o fibra di vetro, al fine d'intercettare tutte le polveri che andrebbero ad intasare il filtro a carboni attivi; inoltre, questi pre-filtri permettono d'intercettare l'umidità che se eccessiva andrebbe a compromettere il processo d'adsorbimento delle SOV. Al fine di rendere più efficiente il prefiltraggio, la sonda può essere riscaldata così da limitare ulteriormente la formazione di condensa a livello della fiala posta subito a monte della sonda, esternamente al condotto. Nel caso la fiala s'intasasse d'umidità rallenterebbe la diffusione dell'inquinante verso la superficie dei carboni più lenta di svariati ordini di grandezza (soprattutto nel caso del DOTL essendo idrofobico) falsando i dati dell'analisi.

La fiala a carboni attivi dev'essere di materiale inerte verso le SOV ovvero di vetro o PTFE; nel nostro caso il tubo è costituito di vetro e presenta all'interno delle sezioni: in primis è presente uno spazio di testa vuoto, seguito da un filtro in fibra di vetro che tutela ulteriormente i carboni da polvere ed umidità e permette che stiano impaccati; ora troviamo i carboni attivi stessi divisi in due sezioni, una di dimensioni maggiori rispetto all'altra, poste in successione. La prima è costituita di 100 mg di carboni che costituiranno il campione vero e proprio a fine prelievo, susseguita dalla seconda sezione, sempre delimitata da dischi in fibra di vetro. Quest'ultima contiene solo 50 mg aventi funzione di back-up, ovvero, nel caso in cui i primi carboni attivi fossero saturi di analita o con troppa condensa e permettessero ad alcune SOV di oltrepassare il primo step della fiala, queste verrebbero intercettate a livello della seconda sezione, la quale va sempre analizzata e non deve presentare tracce d'analita al fine di poter accettare il risultato dell'analisi del campione.

Per il campionamento è sufficiente rimuovere i tappi che sigillano la fiala a carboni attivi e fissarla alla sonda nel senso corretto e prestando attenzione a non avere tratti di tubo in silicone in testa alla sonda in quanto quest'ultimo può interagire con le SOV liberandone o sottraendole al flusso. Infine, è sufficiente impostare un flusso da 0.5 a 0.7 L/Min come indicato dal produttore delle fiale fino a raggiungere un volume minimo di 30 L per singolo campionamento avendo cura di ritappare le fiale e porle in un ambiente refrigerato a fine prelievo.

L'analisi del campione parte da una fase d'estrazione dell'analita dai carboni attivi. Come primo step viene aperta la fiala rompendo il vetro esterno, vengono rimossi i carboni e posti in due vial per HPLC/GC tappo dotato di membrana in PTFE (disponibile anche in silicone ma meglio evitare per il motivo d'interferenza esposto in precedenza). Mediante una siringa viene iniettato nelle vial 1 ml di solfuro di carbonio (CS₂) e vengono poste in bagno ad ultrasuoni per minimo 10 min ad una temperatura non eccedente i 25°C. Terminata l'estrazione le vial vengono poste nel rack (porta campioni) del gascromatografo e viene eseguita l'analisi modificando le caratteristiche dell'iniezione in colonna a seconda degli analiti da ricercare.

L'intero campionamento può essere effettuato con le fiale a desorbimento termico che presentano un'unica sezione di carboni, però è possibile metterne più di una in serie così da tenere le altre come back-up. L'estrazione non è necessaria in questo caso, in quanto, iniezione in colonna avviene direttamente tramite il desorbimento termico realizzato dallo strumento sulla fiala. Nel caso di prelievi in condizioni d'elevata umidità sarà opportuno far fluire del gas carrier o aria da atmosfere standard secca e successivamente procedere con il termodesorbimento. Le fiale utilizzare per il desorbimento termico possono essere riutilizzate anche più di cento volte ciascuna.

Per effettuare il campionamento su fiala a carboni attivi è stata utilizzata la seguente strumentazione:

- Sonde dotate di filtro metallico in testa per campionamenti a flussi minori e di sostanze volatili o campionate in forma gassosa (nella foto si possono notare la fiala a carboni fissata in serie in uscita dalla sonda e collegata di seguito ad un tubo di teflon che andrà alla pompa contaltri);



Figura 2.20: sonda in acciaio per campionamenti su fiale a bassi flussi

- Campionatore a basso flusso, range di flusso: 0.1-1.5 L/Min.



Figura 2.21: campionatore per bassi flussi visto dall'alto



Figura 2.22: campionatore per bassi flussi visto dal lato frontale con in primo piano il flussimetro, il contaltri ed il torrione di gel di silice

- Fiala a carboni attivi per il campionamento di sostanze organiche volatili;

2.1.f) Campionamento realizzato per gorgogliamento in metanolo e strumentazione impiegata

Per la descrizione della presente tecnica è stata analizzata la norma europea UNI EN ISO 21877 del gennaio 2020 presso l'archivio di Ecoricerche s.r.l. [11]

L'impiego dei gorgogliatori è previsto per diverse metodologie e non solo per il campionamento dell'ammoniaca (norma citata appena sopra) ma anche per aldeidi, metalli, acidi inorganici e altre sostanze. Inoltre, i gorgogliatori sono impiegati come back-up per altri prelievi o come sostituti di altri in condizioni operative particolari come, ad esempio, per i metalli, i quali possono essere campionati tramite filtro in fibra di vetro se il camino non ha temperatura e umidità elevate (deviazione del metodo accettata dall'ente accreditatore e dall'ente regionale per la prevenzione e la protezione dell'ambiente), sennò il prelievo necessita di appositi gorgogliatori (non a setto poroso, permettono di mantenere flussi di campionamento maggiori come richiesto per questo parametro). Quindi variando la soluzione gorgogliata possiamo adattare questa metodologia a svariati campionamenti.

La linea è molto semplice; è costituita da una sonda in acciaio, analoga a quella utilizzata nel campionamento per SOV, munita di filtro in maglia di metallo al fine di non intasare la linea in questo caso a livello del setto poroso. La sonda è collegata ai gorgogliatori mediante un tubicino in teflon o silicone a seconda della sostanza da campionare e infine al campionatore per bassi flussi. I gorgogliatori vedono arrivare dalla bocca laterale il flusso gassoso che passerà il setto e gorgoglierà nella soluzione prima di uscire dall'alto, estremità collegata al campionatore. Ogni campionamento richiede che i gorgogliatori siano refrigerati e mantenuti ad una temperatura costante mediante appositi sistemi refrigeranti così da prevenire la perdita di gorgogliato per evaporazione. Ciascun analita oggetto di campionamento richiede un diverso numero di gorgogliatori disposti in serie, contenenti ciascuno diversi volumi di soluzione; queste variazioni tra i metodi si spiegano analizzando l'affinità tra soluzione ed analita e la concentrazione attesa dello stesso nel flusso gassoso. Solitamente i gorgogliatori sono disposti in serie di tre di cui i primi due impiegati per ottenere il campione vero e proprio mentre il terzo costituisce una sorta di trappola o di bianco, il quale non dovrebbe presentare l'analita. Il setto poroso

Questa, è l'unica metodologia che, di fatto, è stata adattata per essere idonea al campionamento del DOTL; infatti, come soluzione gorgogliante è stato impiegato il metanolo puro, il quale non viene ritrovato in nessun'altro metodo. Questo ha comportato una modifica anche del processo d'estrazione e purificazione dell'analita che verrà affrontata nella parte dedicata.

Oltre alla strumentazione elencata per il campionamento delle sostanze organiche volatili è stata impiegata la seguente strumentazione:

- Gorgogliatori di vetro con setto poroso

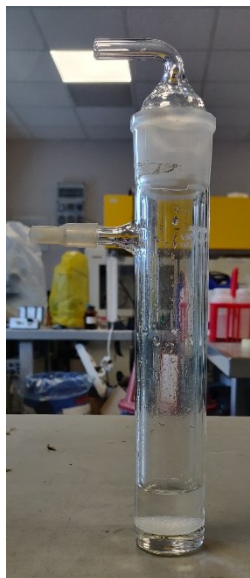


Figura 2.23: gorgogliatore di vetro munito di setto poroso



Figura 2.24: dettaglio del setto poroso del gorgogliatore in vetro

- Impianto refrigerante;
- Tubi in teflon;

2.1.g) Campionamento e spiegazione dei campioni realizzati

Ogni parametro analizzato non in continuo, ovvero non attraverso strumenti che ti forniscono in tempo reale il dato di concentrazione ricercato, prevede tre repliche del campionamento al fine di poter campionare l'analita durante le varie fasi produttive che si susseguono a livello della linea produttiva o anche la produzione di prodotti differenti così da confrontarne le rispettive emissioni (anche nel caso di analisi in continuo vengono forniti tre dati corrispondenti alla media dei valori ottenuti in quell'ora di tempo. Tuttavia, l'impiego di questi strumenti è molto interessante in quanto direttamente in campo è possibile costruire una panoramica delle emissioni realizzate nelle varie fasi cicliche che si possono avere in una linea produttiva e permette al prelevatore, inoltre, di comprendere l'effettivo funzionamento di eventuali impianti d'abbattimento e trattamento del flusso gassoso). Nel presente caso è stato scelto d'effettuare solamente due campioni per tipologia prelievo per due motivi principalmente: le analisi non sono tutt'ora previste dalla normativa, quindi, non è prescritto il triplo controllo ed inoltre per non conferire al laboratorio eccessivo lavoro.

Come riportato nella sezione dedicata alla panoramica sul campionamento, prima di procedere con lo stesso è fondamentale accertarsi in primis che il punto di prelievo sia conforme con quanto riportato in normativa e che la/e linea/e facenti capo al condotto recante il punto di prelievo, siano effettivamente in funzione ed abbiano produzione. Dopo essersi accertati di poter effettuare il prelievo si procede a portare la strumentazione al punto di prelievo e a tirare la corrente dalla torretta più vicina, la quale dovrebbe essere in corrispondenza del punto di prelievo. In seguito, si procede ad aprire i tronchetti di prelievo e si verifica che siano mantenuti correttamente e che non si presentino condizioni come quelle mostrate nella figura 2.25.



Figura 2.25: foto d'un punto di prelievo per il campionamento di flussi gassosi convogliati derivanti da attività di verniciatura a polvere

Successivamente ci si accerta che l'impianto d'aspirazione stia funzionando correttamente e di seguito si va a misurare la portata per poter settare adeguatamente i campionatori (sempre nel caso di prelievi isocinetici); inoltre, nel caso in cui l'impianto aspirante sia munito d'inverter è possibile regolarne la frequenza, nell'eventualità che la portata d'aspirazione sia eccessiva o troppo bassa.

Ora si può procedere a comporre le linee di prelievo ovvero:

- Nel caso del prelievo secondo normativa polveri viene posizionato, nell'alloggio apposito, un filtro, in fibra di vetro o nitrato di cellulosa nel nostro caso. Di seguito si può richiudere la sonda, fissarla al treppiede di supporto e collegarla tramite tubo in silicone al torrione di gel di silice ed infine al campionatore;
- Per quanto riguarda la linea di campionamento per sostanze organiche volatili sarà sufficiente settare la linea come indicato nella sezione di descrizione del metodo prestando attenzione a disporre la fiala in modo che i carboni costituenti il campione siano in testa mentre la sezione di backup sia direzionata verso il campionatore per bassi flussi;
- Infine, per quanto riguarda il prelievo mediante gorgogliatori, sarà necessario riempire e accendere il frigo così che raggiunga la temperatura desiderata e successivamente verranno versati rispettivamente nel primo gorgogliatore 50 ml di metanolo, mentre in quello di backup 30 ml dello stesso. Di seguito viene creata la linea composta dalla "sondina" in acciaio munita di filtro in maglia metallica, tubo in teflon collegato direttamente al primo gorgogliatore e in serie a quello di backup che verrà infine collegato con il campionatore per bassi flussi.

I campionamenti sono stati realizzati presso entrambi i punti di prelievo e quindi prima e dopo l'impianto a rotori di zeoliti. I prelievi realizzati al fine di confrontare le varie tipologie di campionamento sono stati realizzati a monte dell'impianto d'abbattimento così da avere una possibilità maggiore di rintracciare l'analita; a valle dello stesso, invece, è stato realizzato un unico campionamento mediante un filtro in fibra di vetro. I dati riferiti ai camini ed ai campioni realizzati sono illustrati nei fogli di campionamento sotto riportati.

Il primo foglio (fronte/retro) fa riferimento al punto di prelievo in ingresso all'impianto (Figure 2.26 e 2.27).

Le immagini sopra riportate (figure 2.28 e 2.29) fanno, invece, riferimento al punto di prelievo in uscita dall'impianto e presenta caratteristiche differenti rispetto al precedente.

Il filtro campionato come sopra è stato analizzato per metà come da metodo sviluppato per il Dioctilstagno Dilaurato in HPLC e l'altra metà è stata analizzata come se fosse un campionamento per metalli a camino freddo, andando a determinare la concentrazione dello stagno attraverso un'analisi in ICP-MS. In questa analisi il campione viene preparato eseguendo una digestione acida del filtro e del particolato su di esso adeso, in forno per almeno otto ore ad una temperatura di 180 °C in un contenitore di PTFE. Successivamente la digestione viene caricata nello strumento e verrà di conseguenza nebulizzato all'interno di un plasma dove viene completamente ionizzato ed infine vengono quantificati i vari metalli presenti nel filtro. Questo confronto è stato realizzato in modo da accertarsi che, i composti dello stagno, adsorbiti e deadsorbiti dalle ruote a zeoliti e di conseguenza combust, non diano vita ad altre forme dello stagno che con il metodo in HPLC non sarebbero rilevabili. I risultati di entrambe le analisi hanno riportato l'assenza totale dei vari analiti come illustrato più nello specifico nella sezione "4.6)".

In campo, una volta ottenuti i campioni, sono stati riposti negli appositi contenitori o sono stati sigillati come nel caso della fiala per campionamento SOV. In totale quindi si hanno, per quanto riguarda quelli realizzati in ingresso, quattro barattoli in plastica da 100 ml chiusi ermeticamente contenenti le quattro soluzioni di metanolo (due gorgogliatori per ogni prelievo), due fiale a carboni attivi sigillate coi propri tappi e due filtri uno in fibra di vetro ed uno in nitrato di cellulosa riposti nelle apposite scatole di plastica rigida. Tutti i campioni sono mostrati in figura 2.30, affiancati dal bianco della soluzione di metanolo utilizzata.



Figura 2.30: foto dei campioni realizzati in campo in ingresso all'impianto d'abbattimento e riferiti al foglio di campionamento mostrato nelle figure 2.26 e 2.27

Nella foto manca il filtro realizzato in uscita che in questo momento era già in analisi, come il filtro in fibra di vetro mancante (etichetta a destra non applicata) in quanto è stato impiegato per realizzare altre analisi su di esso al contrario di quello in nitrato di cellulosa che è, invece, stato realizzato al solo fine di sviluppo del metodo.

Per l'estrazione dei campioni sopra descritti sono state impiegate diverse metodologie:

- Per il filtro in fibra di vetro ed in nitrato di cellulosa è stata applicata la procedura utilizzata per gli LCS e che verrà riportata nel metodo finale;

- I carboni attivi sono stati rimossi dalle fiale e sono stati riposti in una vial munita di tappo ad avvitamento; di seguito, nella vial è stato versato un volume di circa 30 ml di fase mobile essendo che è stato provato che è la miglior fase estraente. Dopo un'ora di bagno ad ultrasuoni è stato predisposto il corpo di una siringa in vetro alla cui base è stato messo un filtro e sopra di questo è stato creato uno strato di solfato anidro di sodio per aiutare, oltre che nel processo di filtrazione, anche nell'assorbire parte della componente acquosa così da facilitare la fase d'evaporazione della soluzione che verrà effettuata a ruota della filtrazione. Il campione viene portato a secchezza sempre grazie al concentratore per campioni liquidi ed una volta secco viene ripresa la parte sedimentata mediante dei lavaggi con l'esano. Quest'ultimo verrà portato al volume di un millilitro e poi disposto nella vial da 1.5 ml per analisi HPLC. Le foto sottostanti mostrano da sinistra a destra: i frammenti di carbone attivo in soluzione (figura 2.31) e quindi il motivo cui si rende necessario filtrare accuratamente il campione per non danneggiare lo strumento; l'immagine centrale (figura 2.32) mostra come si presenta la siringa una volta settata e quindi prima della filtrazione ed infine, a destra, due provette con rispettivamente i carboni estratti, il filtrato e la siringa che ha filtrato i residui in sospensione (figura 2.33). Questa divisione è stata fatta solo per la foto e successivamente i carboni sono stati disposti anch'essi nella siringa per cercare di non dar luogo a perdite di analita;



Figura 2.31: soluzione con i carboni attivi in sospensione

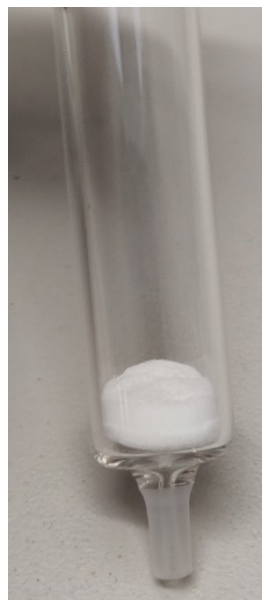


Figura 2.32: filtro e solfato di sodio disposti alla base della siringa affinché fungano da filtro

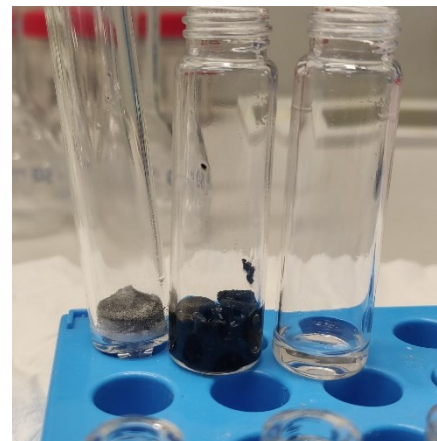


Figura 2.33: illustrazione delle due fasi separate e aspetto del sistema filtrante post filtrazione

- Le soluzioni A e B di entrambi i campioni sono state portate direttamente a secchezza e poi ciò che rimane viene ripreso in esano e disposto in una vial. Al contrario delle aspettative, abbiamo riscontrato dei problemi nel portare a secchezza i suddetti campioni in quanto, probabilmente, s'era formata della condensa durante il gorgogliamento.

Man mano che i campioni sono stati estratti e iniettati nella vial veniva riportato, sulla stessa, il volume finale contenuto nella suddetta; questo poteva corrispondere a 1 ml o 1.5 ml come si può notare nella figura 2.34, la quale mostra tutti i campioni estratti e disposti nelle vial pronti per le corse in HPLC.

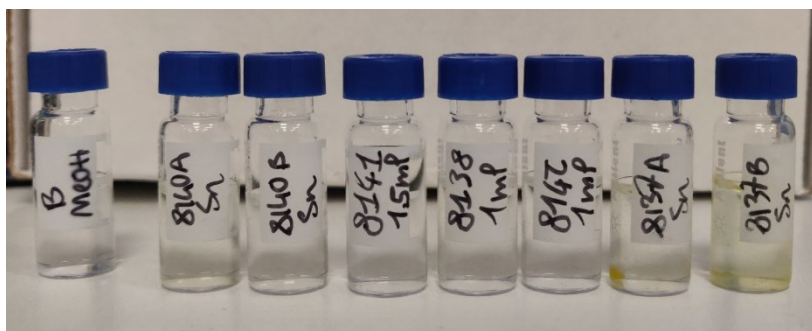


Figura 2.34: viali ottenute dall'estrazione dei vari campioni realizzati in campo e mostrati in figura 2.30

2.2 RICERCA E STUDIO DEL METODO ANALITICO

La ricerca è rivolta ad un metodo per la determinazione qualitativa e quantitativa del dioctilstagno dilaurato come tale, quindi d'un metodo molto selettivo. Tale necessità deriva dal fatto che con buona probabilità a livello d'emissione saranno presenti altre sostanze contenenti lo stagno, ad esempio il monossido di stagno a livello del pigmento in eccesso convogliato in condotto. Questo ci impedisce di utilizzare metodologie per la determinazione quantitativa del metallo, in quanto non sarebbe rappresentativa. Il metodo, quindi, dovrà andare a ricercare l'intera molecola o frammenti della componente organica della stessa per la quantificazione del composto.

Preso questa decisione, il punto di partenza è la scelta dello standard di riferimento; essendo il DOTL impiegato a livello globale in svariati processi industriali, è oggi presente una vasta gamma di produttori che commercializzano la sostanza pura che può quindi essere usata come standard. Avendo la possibilità, è stato deciso di acquistare lo stesso standard impiegato dalla ditta che fornisce i prodotti per la verniciatura utilizzati nei processi che generano l'emissione in esame (i dettagli sullo standard sono contenuti nella sezione dedicata ai reagenti).

Successivamente è stato scelto lo strumento a cui fare riferimento; inizialmente, vista la maggiore velocità di analisi e la più facile regolazione dei parametri di funzionamento, s'è deciso d'improntare la ricerca verso metodi che impiegano come metodo selettivo quello gascromatografico; una selezione, quindi, realizzata in base alla diversa affinità al substrato adesivo all'interno della colonna capillare ove il gas carrier fluisce insieme agli analiti. La maggior parte dei metodi oggi esistenti per gli organo stannici impiegano questo strumento accoppiato a metodi di rilevazione mediante spettrofotometria di massa (MS), assorbimento atomico (AAS), spettrometria ad emissione atomica (AES), fotometria di fiamma (FDP) o fotometria di fiamma pulsata (PFPD). In laboratorio, è stata impiegata una sorgente ad Electric Ionizzazione (EI).

Inoltre, come riportato dall' International Standard 17353:2004 [12], la spettrometria di massa permette di evitare problemi di coeluizione con un livello di specificità impossibile da raggiungere con metodi di rilevazione ottici (vedi quelli sopra citati).

2.2.a) Metodi GC-MS

L'utilizzo del gascromatografo prevede, per gli organo stannici, la preparazione del campione secondo i seguenti passaggi:

1. estrazione dell'analita: come abbiamo visto anche in precedenza, la determinazione degli organo stannici avviene a livello di matrici ambientali complesse come sedimenti o materiale biologico. Questa fase, quindi, è di fondamentale importanza e solitamente viene impiegata la tecnica della Solid Phase MicroExtraction (SPME) per immersione/stretto contatto col campione oppure in modalità head-space, la quale prevede che la fibra di polidimetilsilossano

su cui è adeso il materiale (adsorbente solido o polimero liquido) affine all'analita, entri in contatto con i vapori dello stesso in equilibrio con la propria componente solubilizzata, di modo da estrarla. Questa operazione nello specifico permette anche di purificare e concentrare l'analita (nel caso in cui siano presenti sostanze simili all'analita, verranno selezionate durante la corsa cromatografica o durante il desorbimento termico), ciò permette un risparmio di tempo e reagenti che spiega la forte diffusione della tecnica. Altri metodi prevedono invece un'estrazione liquido/liquido, come ad esempio quelle che coinvolgono matrici acquose, con le quali vengono impiegati solventi apolari e si ottengono ottime rese, però tale approccio implica l'applicazione dei passaggi illustrati di seguito, oltre a passaggi preliminari come, ad esempio, l'omogenizzazione del campione biologico;

2. derivatizzazione: processo che, solitamente, prevede l'utilizzo di tetraetil-borato di sodio o reattivi di Grignard, al fine di catalizzare la formazione di legami di gruppi esterei, a livello dell'analita, così da aumentarne la volatilità e facilitarne l'analisi cromatografica;
3. purificazione: realizzata mediante filtrazione mediante siringhe su cartucce di gel di silice (a volte associato anche a magnesio) e solfato di sodio anidro che permettono la purificazione. Non sempre questo passaggio è previsto in quanto la corsa in colonna cromatografica ha la medesima funzione.

In base alla metodologia impiegata per i precedenti passaggi si avranno metodi diversi di caricamento del campione nello strumento; in caso di estrazione con SPME sarà sufficiente inserire la fibra nello strumento che poi provvederà al desorbimento termico e alla corsa in colonna, mentre se l'analita è presente in soluzione questa viene prelavata mediante micro siringa, iniettata in una pre-colonna e poi, sempre mediante desorbimenti termico, viene immessa nella colonna vera e propria mediante un gas carrier.

Nel nostro caso, la maggior parte dei passaggi sopra elencati, si suppongono non necessari in quanto il campione sarà molto meno complesso e contaminato, effettuando un campionamento mirato verso il DOTL "libero" o comunque non adsorbito o legato a sostanze organiche o altre matrici complesse.

La fase successiva della ricerca s'è quindi improntata sull'identificazione d'un metodo da cui ottenere una metodologia di derivatizzazione ed un range di valori per i vari parametri strumentali, del gas cromatografo, in modo da determinare, mediante l'impiego dello standard derivatizzato, il tempo di ritenzione specifico dell'analita.

Diversi studi e metodi basati sull'impiego del gascromatografo sono stati analizzati [15,16,17] e tra questi sono stati selezionati i seguenti: "Screening for Organotin Compounds in European Landfill Leachates", I. Mersiowsky, R. Brandsch, and J. Ejlertsson, J. Environ. Qual. 30:1604–1611 (2001) [13] e lo standard ISO UNI EN 17353:2004 [12].

Lo studio mira a determinare qualitativamente e quantitativamente gli organo-stannici contenuti in percolati di varie discariche europee. Lo studio è basato sulla metodologia standard tedesca "Standard Method DIN 38404 C5" e i ricercatori s'avvalgono di un gascromatografo accoppiato ad un rilevatore FPD (Flame Photometric Detector) che presenta un filtro ad interferenza selettivo verso lo stagno. Quindi anche in questo caso la quantificazione è realizzata sullo stagno e non è di nostra utilità, ciò che abbiamo ricavato dallo studio sono i parametri strumentali e la metodologia di derivatizzazione, anche se quest'ultima è comune quasi a tutti gli studi in merito agli organostannici.

L'International Standard "Determinazione di composti organici dello stagno, selezionati. ISO 17353:2004" [12] descrive una serie di metodi basati sull'impiego del GC accoppiato con vari rilevatori ottici e non. Essendo adattabile ad un range maggiore di sostanze è stata applicata quest'ultima procedura.

Lo strumento utilizzato è il seguente

- GC-MS:

- Gas cromatografo: Clarus 680 Gas Chromatograph dotato di
 - colonna cromatografica: “Agilent J&W GC Columns, HP-5ms Ultra Inert”, lunghezza 30 metri, diametro interno 250 µm, spessore film 0.25 µm. Colonna che presenta una bassa polarità; range temperature di lavoro 60°C | 325/350 °C
- Spettrometro di massa: Clarus SQ 8T, dotato di sorgente “Electrical Ionization” (EI)

Come sottolineato in precedenza la derivatizzazione di questi composti avviene mediante soluzioni di tetra-etilborato di sodio o mediante reattivi di Grignard; nelle prove eseguite in laboratorio è stato scelto di impiegare due soluzioni a concentrazione differente del primo agente derivatizzante preparate all'interno di matracci da 10 ml come segue:

- dopo aver pesato 200mg di tetra-etilborato di sodio, vengono riposti nel matraccio e viene portato a volume con acqua [A];
- dopo aver pesato 2 g di tetra-etilborato di sodio, vengono riposti nel matraccio e viene portato a volume con tetra-idrofurano [B].

Essendo il metodo ISO 17353 studiato per campioni acquosi s'è proceduto a creare un campione sciogliendo lo standard DOTL in acqua bensì non sia tanto solubile in essa (solubilità in acqua del DOTL 15.2 µg/L [19]). Seguendo la procedura sono stati aggiunti a 50 ml del campione, per le due prove, rispettivamente 5 ml dell'agente derivatizzante A e 0.5 ml di B, ciascuno seguito da 20 ml di esano ed è stato agitato per un minuto. Il pH è stato corretto ad un valore di 4.5 mediante aggiunte di acido acetico glaciale e successivamente la soluzione è stata mescolata per 20 min.

Una volta separate le due fasi mediante imbuto separatore, la fase organica è stata trasferita in un becker da 100 ml e fatta evaporare aggiungendo 2 g di solfato di sodio. Infine, la soluzione è stata trasferita su un vial portando la soluzione ad un volume di circa 1 ml.

Il metodo prevede anche due procedimenti nel caso il campione fosse a concentrazioni troppo basse o troppo elevate, ma essendo stato creato in laboratorio il campione questi passaggi sono stati omessi (la concentrazione del campione deve rientrare nel range di 10-1000 ng/L. Nel nostro caso il campione è stato ottenuto solubilizzando 0.5 mg /500 ng di DOTL in 1 L di acqua).

Infine, sono state effettuate le corse cromatografiche analizzando nell'ordine:

1. esano;
2. un bianco dell'estratto (bianco sottoposto a tutti i passaggi precedentemente elencati per la soluzione campione);
3. campione estratto.

Le iniezioni effettuate mediante il sistema Clarus 680, consistevano in un volume di 1 µL inserito in colonna mediante riscaldamento da 100 a 350 °C. I parametri della sorgente erano già conformi a quelli della metodologia standard e non sono stati modificati per effettuare l'analisi.

Impiegando una sorgente ad EI (come descritto dalla metodologia ISO) sono stati indagati i vari “cluster” di masse maggiori e minori corrispondenti a sostanze simili come: tetra-butilstagno o tatre-propilstagno anche se i frammenti generati da questi differiranno da quelli ottenibili dal DOTL. Il range di masse dei tre cluster su cui ci si è concentrati corrispondono rispettivamente a: 291,1-289,1 e 249,1-247,1 (masse maggiori), 235,1-233 e 165-163 (cluster intermedi) e 179-177 e 207-205 (cluster minori, anche se quello riferito al tetra-propilstagno risulta maggiore del precedente intermedio). Nessun cluster attribuibile allo standard è stato riscontrato in nessuno dei due LCS realizzati. La preparazione e le analisi sono state ripetute ma senza nessun risultato nuovamente. Con buona probabilità s'è verificato un problema nella fase di derivatizzazione o estrazione che non ha permesso l'entrata in colonna della sostanza.

2.2.b) Metodi HPLC-MS

Come visto in precedenza, la problematica, associata all'utilizzo di questa strumentazione è la tempistica che è di fondamentale importanza, in quanto in ambito lavorativo, comporta un costo molto maggiore in numero minore di analisi effettuabili nel tempo e in costo di reagenti. D'altra parte, in questo caso, non è necessario compiere alcuna azione sull'analita se non la semplice estrazione dello stesso dalla matrice impiegata per il campionamento a seconda della metodologia che verrà selezionata.

La prima cosa da determinare in questo caso è la composizione della fase mobile. L'indagine di questo parametro in ambito pratico avrebbe comportato un dispendio di materiale e tempo troppo elevato e quindi s'è ricorso ad un'ulteriore ricerca bibliografica al fine di trovare indizi non solo sulla fase mobile ma anche su altre incognite come: flusso della fase mobile, tipologia di colonna, volume da analizzare e molti altri parametri (verranno descritti successivamente).

La ricerca ha portato a selezionare i seguenti metodi:

- EPA 8321B "Solvent-extractable nonvolatile compounds by high-performance liquid chromatography/thermospray/mass spectrometry (HPLC/TS/MS) or ultraviolet (UV) detection." [14]
- EPA 8323: "Determination of organotins by micro-liquid chromatography- electrospray ion trap mass spectrometry" [18]

A partire da queste, in particolare dalla seconda, è stata ottenuta la composizione della fase mobile che ha fornito la migliore risposta strumentale. La fase mobile in questione è composta:

- Per l'80% in Metanolo (CH_3OH);
- Per il 14% di acqua milliq;
- Per il restante 6% di Acido Acetico (CH_3COOH).

Per verificare che la fase mobile trovata fosse veramente la più indicata, sono state realizzate prove con fasi mobili aventi diversa polarità. L'indagine consisteva nel caratterizzare, inizialmente, il rumore di fondo tipico di ciascuna fase, ovvero, si sono identificati i picchi corrispondenti ai frammenti e agli ioni molecolari [M^+ , M^-], prodotti a livello della sorgente dello spettrometro di massa, dalle stesse fasi mobili; successivamente, sono state realizzate delle soluzioni con standard ed esano per vedere se si registrassero alterazioni del segnale rispetto al rumore di fondo ricavato in precedenza e quindi verificare che la fase mobile permetta il passaggio del DOTL in colonna.

Dovendo indagare soluzioni incognite e parzialmente apolari, al fine di diminuire il rischio d'intasare la colonna, s'è scelto di utilizzare due soluzioni per ciascuna corsa. Le fasi mobili testate sono:

- Fase mobile 1:
 - Soluzione A: Acqua milliq 94%, Acido Acetico 6%, Trietilammina 0.1%
 - Soluzione B: Acetonitrile 100%
- Fase mobile 2:
 - Soluzione A: Acqua milliq + formiato d'ammonio 0,1M
 - Soluzione B: acetonitrile 100%
- Fase mobile 3:
 - Soluzione A: Soluzione acquosa di ammonio acetato 0.1M, Acido Acetico 1%
 - Soluzione B: Metanolo 100%
- Fase mobile 4:
 - Soluzione A: Soluzione acquosa di Ammonio formiato 0.1M, Acido Acetico 1%
 - Soluzione B: Metanolo 100%

Arrivati alla conclusione che la fase mobile più adatta sia quella descritta nella metodologia EPA 8323, s'è potuto procedere con le fasi successive di sviluppo del metodo: caratterizzazione dei picchi, ottimizzazione dei parametri strumentali, creazione di una retta di taratura per la quantificazione con successiva determinazione del LOQ ottenibile dall'analisi e definizione delle percentuali di recupero dell'analita mediante lo studio dei Laboratory Control Samples.

La strumentazione per HPLC-MS consiste in:

- Sistema HPLC: "Perkin Elmer, Flexar LC" composto di moduli:
 - Solvent Manager: scomparto dove sono situate le varie fasi mobili gestite in parallelo dallo strumento in quanto dotato di pompa quaternaria;
 - LC Autosampler: autocampionatore dotato di valvola a sei vie per l'iniezione in colonna e la pulizia del "loop";
 - LC Pump: pompa quaternaria;
 - Column oven: ambiente termostato che ospita la colonna;
- Colonna cromatografica: "Restek, Raptor C18", colonna per cromatografia a fase inversa, impaccata con fase stazionaria composta di octadecilsilano, la colonna ha una porosità di 2.7 μm , una lunghezza pari a 150 mm e un diametro di 4.6 mm.
- Spettrometro di massa: "Perkin Elmer, SQ Detector Altus", sorgente con possibilità di lavorare in "Electro Spray Ionization" (ESI) o "Atmospheric Pressure Chemical Ionization" (APCI). Presenta un sistema di rilevazione a singolo quadrupolo;

Di seguito la strumentazione utilizzata durante lo sviluppo del metodo analitico:

- Bagno ad ultrasuoni: Novatec Mod. MU-9L LCD;
- Concentratore per campioni liquidi: "LabTech - MultiVap 10";
- Muffola;
- Porta provette;
- Siringa da 50 μL ;
- Micropipetta con range di funzionamento 100-1000 μL ;
- Filtro in nylon per siringhe con porosità 0.45 μm ;
- Vial di dimensioni differenti e per HPLC;

Le fasi seguite per lo sviluppo del metodo sono:

1. ottimizzazione dei parametri strumentali;
2. caratterizzazione dei picchi;
3. determinazione della retta di taratura necessaria così da poter quantificare la sostanza;
4. creazione di Laboratory Control Samples (LCS) per testare l'estrazione ed il recupero percentuale ottenibili.

L'attività riportata al punto "4", ovvero, la determinazione della percentuale di recupero ottenibile dall'estrazione dell'analita e l'efficienza estrattiva dello stesso, insieme all'ottimizzazione dei suddetti, verrà sviluppata solamente nel momento in cui sarà stata identificata la metodologia di campionamento, ovvero quando la matrice costituente il campione sarà definita.

2.2.c) Ottimizzazione dei parametri strumentali d'analisi

Le fasi di regolazione della corsa cromatografica in LC e della frammentazione con sorgente ESI sono molto articolate in quanto prevedono la regolazione di svariati parametri. In questo senso, per snellire lo sviluppo del metodo strumentale per l'organo stannico, alcuni parametri sono stati mantenuti tali a quelli strumentali standard, considerando il fatto che la variazione di questi, probabilmente, non avrebbe influito sull'analisi. In tal modo è stato possibile focalizzare l'attenzione solamente sui parametri di nostro interesse.

Per quanto riguarda il procedimento di settaggio dei parametri per la corsa cromatografica, il programma permette di regolare il funzionamento di ogni singolo modulo dello stesso.

Per prima cosa viene indicata quale fase mobile utilizzare tra quelle stoccate nell'apposito scompartimento. La pompa quaternaria permette infatti di gestire più fasi mobili nel corso di una stessa analisi/corsa cromatografica, così da poter capire meglio il comportamento dell'analita in colonna. Successivamente viene regolato il funzionamento dell'autocampionatore mediante parametri quali: profondità d'immersione dell'ago/capillare nella vial, quantità da prelevare ed inserire in colonna, flusso di prelievo ed infine il cuscinetto d'aria eventualmente presente in testa al campione prelevato. Il settaggio di quest'ultimi è rimasto invariato rispetto al metodo strumentale preimpostato, così come la temperatura di termostatazione della colonna. Il parametro di maggior rilevanza è il flusso della fase mobile; questo è fondamentale per diversi motivi:

- permette di variare il tempo d'analisi, fornendo quindi la possibilità di ridurre le quantità di reagenti impiegate e le tempistiche richieste, in sostanza influisce sul costo totale dell'analisi;
- fornisce la possibilità d'indagare eventuali reazioni che possono avvenire durante la corsa e che richiedono più tempo o non permette che le stesse avvengano.

Il flusso è stato regolato inizialmente ad un valore 0.3 ml/min ed è stato impiegato lo stesso per quasi l'intero sviluppo del metodo. Una volta identificati i picchi "qualifier" e "quantifier", nel tentativo di ridurre le tempistiche della corsa cromatografica, il flusso è stato regolato a 0.4 ml/min fino a dieci minuti per poi ritornare al valore utilizzato in precedenza così da evidenziare meglio i picchi. Da questa prova è emerso che i picchi erano ben visibili anche a flussi maggiori e venivano rilevati, come si può vedere dalla foto sottostante, due minuti prima in confronto con i picchi mostrati insieme ai cromatogrammi nelle immagini 4.9 e 4.10 i quali vengono rilevati a 10 min dall'inizio della corsa.

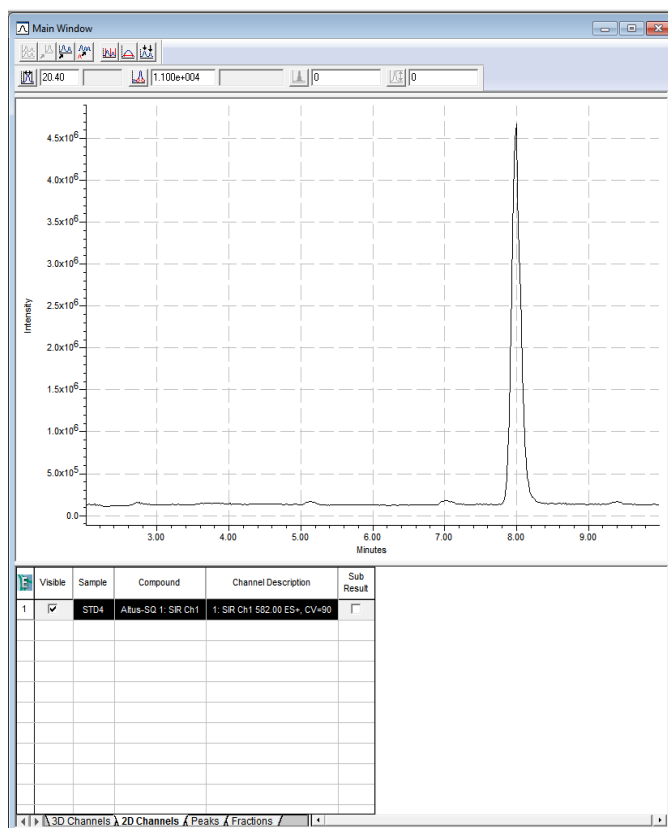


Figura 2.35: L'immagine mostra il segnale registrato in Single Ion Scan del picco corrispondente alla massa 582 m/z, ovvero il picco quantifier, ad un $\Delta V=90kV$

Procedendo con l'impostazione dello strumento, è stato settato lo spettrometro di massa. In questo caso i moduli da impostare sono due: sorgente e rivelatore.

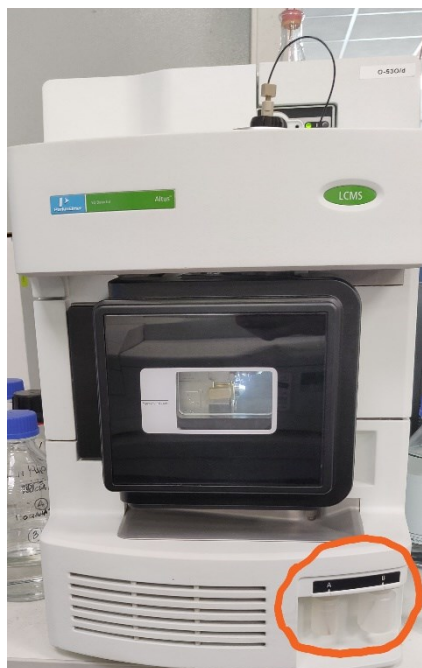


Figura 2.36: facciata dello spettrometro di massa con evidenziate le boccette utilizzate per l'iniezione in continuo



Figura 2.37: testa della sorgente con schema della valvola a sei vie che mostra la possibilità d'analizzare la soluzione derivante dalla colonna o dalle bottiglie A e B

Per la ionizzazione ad elettro spray è importante la regolazione della differenza di potenziale (ΔV) tra punta del capillare ed il controelettrodo (cono metallico che raccoglie poi gli ioni prodotti e li converge al rivelatore); questa consente d'ottenere un campo elettrico che permetterà di seguito la ionizzazione delle specie eluite dalla colonna. La regolazione del ΔV è fondamentale in quanto è richiesto un certo valore di ΔV al fine di permettere la formazione del cono di Taylor, necessario per il processo di elettrobulizzazione. La regolazione di questi parametri viene illustrata sfruttando le operazioni attuate in un primo momento e riferite ai picchi (i quali presentano il pattern isotopico associato allo stagno) individuati, inizialmente, come quantifiers e corrispondenti alle masse 404 ± 3 m/z. A seguire, verrà illustrato come, per i picchi definitivi, i voltaggi ottimali siano differenti.

Per la regolazione di questi parametri abbiamo sfruttato un metodo che permette l'iniezione diretta del campione in sorgente bypassando la corsa cromatografica e permettendo una rilevazione continua della sostanza. Nella pratica sono stati prelevati 50 ml di fase mobile, successivamente riposti in una bottiglietta di plastica dove vengono aggiunte poche gocce di standard. La bottiglia viene avvitata sull'apposito supporto (vedi "Figura 2.36") il quale presenta un capillare per il prelievo della soluzione. La gestione dello strumento è realizzata mediante l'interfaccia mostrata in figura 2.38 dalla quale possono essere impostati i valori del potenziale di elettrodo e controelettrodo, la temperatura della sorgente, il flusso del gas in sorgente per la creazione del cono ed altri parametri relativi al rivelatore che regolano la risoluzione dei picchi e sotto, infine, l'"Ion Energy" la quale consente di scegliere se operare analisi in positivo o negativo.

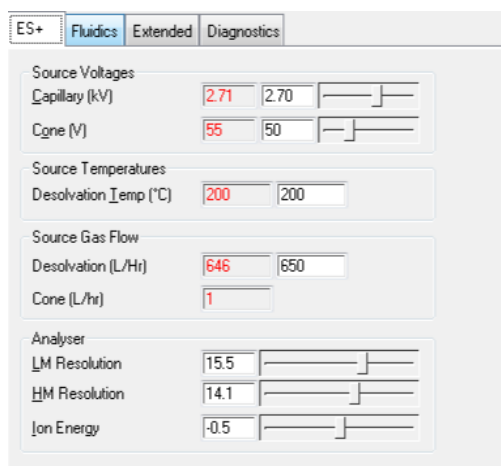


Figura 2.38: Quadro che permette di regolare la frammentazione realizzata dalla sorgente ESI

I parametri relativi alla regolazione della frammentazione vengono gestiti dall'interfaccia software illustrata di seguito insieme ad altre variabili; la stessa permette, inoltre di visualizzare il segnale rivelato ed elaborato in tempo reale.

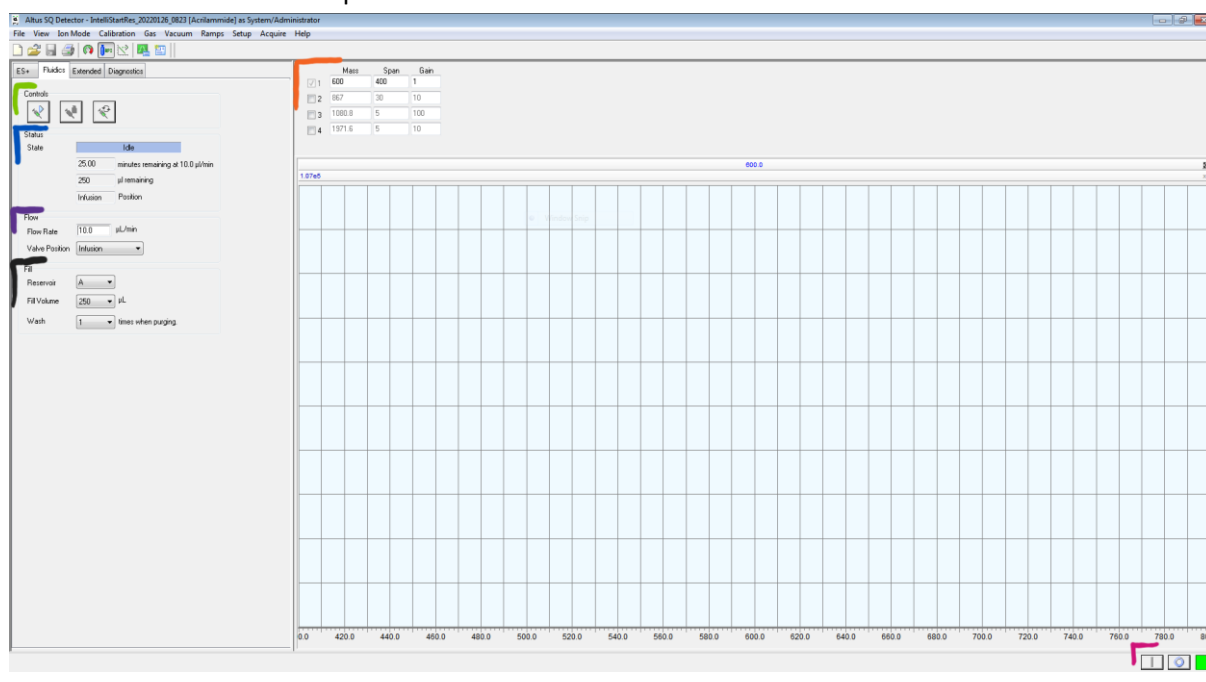


Figura 2.39: Interfaccia software per il controllo della sorgente ESI. In base al colore associato: magenta (Parte di accensione e regolazione del flusso di azoto), arancione (selezione della massa d'interesse, del range di visualizzazione e dello zoom sui picchi), verde (controlli del processo di iniezione in sorgente, caricamento del campione e fase di wash), blu (indicatori di stato dell'iniezione come volume e tempo rimanenti), viola (regolazione del flusso d'iniezione e stato della valvola "infusion", "purge" e "fill") e nero (specifica della posizione di prelievo [bocchetta A nel caso presente], volume da caricare e numero di risciacqui finali).

Nelle figure successive viene illustrata la variazione del segnale al variare del voltaggio del capillare.

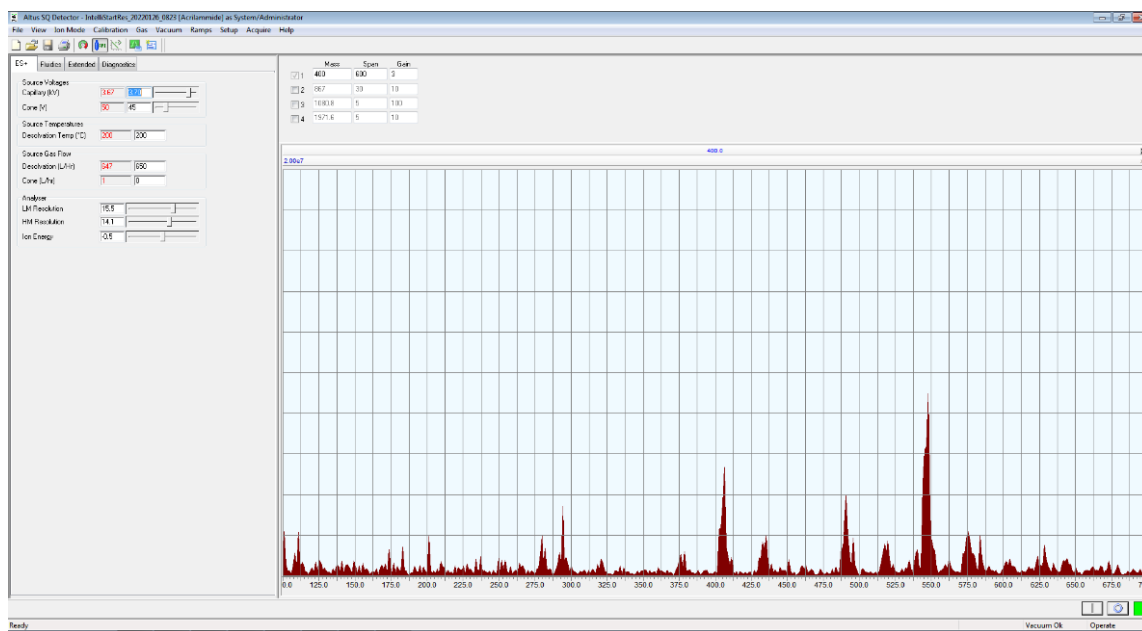


Figura 2.40: segnale strumentale con Voltaggio del capillare = 3.7kV.

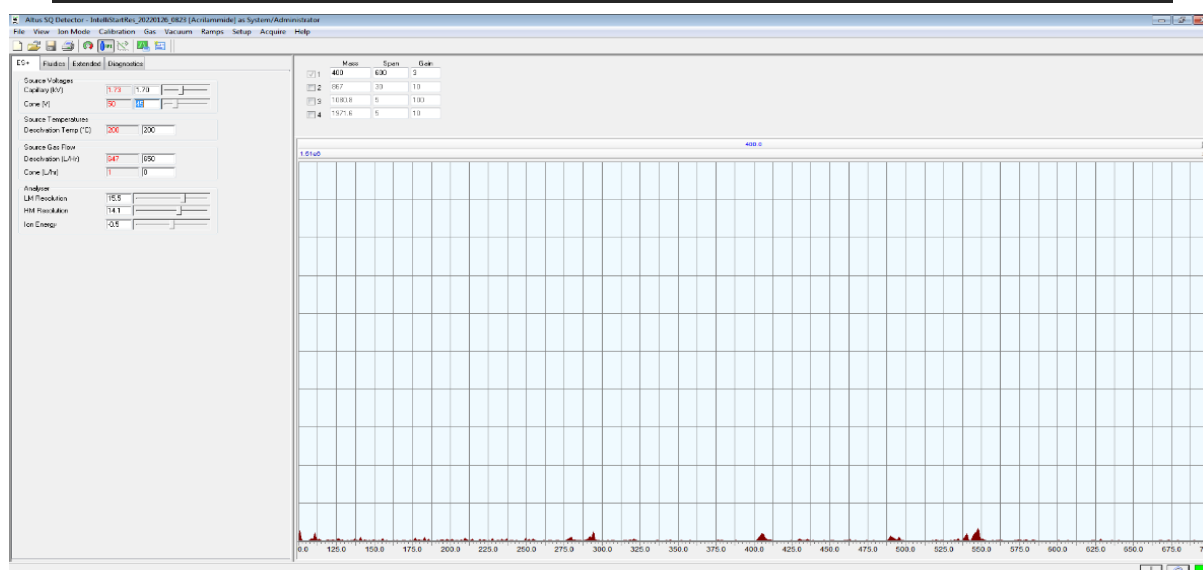


Figura 2.41: segnale strumentale con voltaggio del capillare impostato a 1.7 kV

Come si nota dalle figure soprastanti a voltaggi troppo elevati si realizza una frammentazione eccessiva che porta ad avere un rumore di fondo molto elevato; a voltaggi minimi invece notiamo come non si registrino segnali a livello dell'interfaccia grafica, questo per il motivo spiegato in precedenza. La condizione ricercata è quella mostrata nei risultati al paragrafo "4.2", dove è possibile notare il picco ricercato ed è possibile distinguerlo facilmente dal rumore di fondo; quest'ultimo dev'essere il più contenuto possibile così che il rapporto segnale / rumore sia il più alto possibile. Nel modo medesimo è stato identificato il voltaggio ottimale per il controlettrodo. Tutte le prove sopra riportate sono state eseguite inizialmente in polarità negativa, mentre per la seconda parte la rilevazione è stata effettuata in modalità positiva.

Questa prima parte di settaggio della frammentazione è stata eseguita sui primi picchi con i quali è stata realizzata una prima retta di taratura. In seguito ad ulteriori analisi, però, sono stati selezionati dei picchi che permettono un'analisi qualitativa e quantitativa più accurata e precisa. Le modalità che

hanno permesso d'identificarli verranno esposte nel paragrafo dedicato; possiamo affermare, tuttavia che le condizioni di frammentazione ottimali per questi picchi differiscono da quelle selezionate per il segnale a 404 Da e sono 2kV a livello dell'elettrodo e 90V per il controlettrodo (figura 4.7).

Un altro parametro eventualmente modificabile è la temperatura della sorgente che facilita il processo della fissione di Coulomb permettendo di diminuire la tensione superficiale del solvente; questa è stata mantenuta a 200°C come preimpostato a livello di strumento.

L'ultimo modulo strumentale, coinvolto nella corsa cromatografica, che presenta dei parametri settabili a piacere, è quello del rilevatore; a livello di questo possiamo impostare il "dwell time". Quest'ultimo corrisponde al tempo che il rilevatore dedica ad ogni singola massa. Diminuendo, quindi, il dwell time si otterranno picchi descritti da più punti singoli e quindi più definiti e questo permette di aumentare la selettività e precisione del metodo e soprattutto migliorar la determinazione quantitativa. Nel caso presente, il parametro è stato impostato in un secondo momento, ovvero quando i picchi definitivi, qualifier e quantifier, sono stati scelti; il valore impostato è di 0.5 secondi per ciascuna massa e, di conseguenza, ogni secondo verrà registrato il dato di rilevazione per entrambe le masse selezionate.

2.2.d) Caratterizzazione dei picchi

Questa fase consiste nel mero studio dello spettro di massa dell'analita ed è strettamente legata alla precedente in quanto è indispensabile avere un buon rapporto segnale/rumore di fondo per poter analizzare correttamente i picchi. Questa analisi permette di effettuare analisi qualitative molto accurate, in quanto, permette di risalire all'analita incognito mediante il confronto dello spettro ottenuto con librerie online costruite impiegando le medesime condizioni strumentali. Non sempre però, sono presenti gli spettri delle sostanze analizzate nelle varie librerie online, come nel presente caso, e quindi, è necessario effettuare un riconoscimento dei picchi "manuale" analizzando quelli ricongiungibili alla sostanza in esame.

Ci sono diverse informazioni che si possono ottenere da uno spettro di massa, ad esempio: la massa dello ione molecolare incognito, la presenza di elementi che hanno rapporti d'abbondanza isotopica particolari (classificate come: "A"= elemento mono-isotopico o con abbondanza trascurabile; "A+1"= elemento con abbondanza isotopica non sempre trascurabile, è un esempio l'azoto la cui abbondanza isotopica va presa in considerazione quando si analizzano macromolecole come le proteine, ricche in questo elemento; "A+2"= elemento che presenta un'abbondanza isotopica peculiare e facilmente identificabile), infine, facendo corrispondere ogni picco al rispettivo frammento si può risalire alla formula molecolare e, in alcuni casi, alla struttura della sostanza incognita. Nel presente caso studio non è necessario caratterizzare la formula molecolare o la struttura della molecola, bensì è sufficiente accertarsi che i picchi isolati dal rumore di fondo derivino dal DOTL e capire a che frammenti corrispondono. Il modo migliore per associare i picchi al diottilstagno dilaurato è quella di analizzare l'abbondanza isotopica dello stesso stagno e ricercare la stessa proporzione a livello dei picchi (l'intensità del picco, e quindi del segnale, è proporzionale all'abbondanza della specie a livello del campione ionizzato. Questa proprietà permette il riconoscimento, tramite i rapporti d'abbondanza isotopica, di determinati elementi). Lo stagno presenta un numero d'isotopi elevato dei quali dieci sono quelli stabili e di conseguenza più abbondanti e che costituiscono il pattern di rapporto isotopico, successivamente ne presenta ventinove di instabili e vari radioisotopi. Gli isotopi principali sono: Sn¹¹⁶ (14.54%, blu), Sn¹¹⁷ (7.68%, verde), Sn¹¹⁸ (24.22%, viola), Sn¹¹⁹ (8.59%, arancione), Sn¹²⁰ (32.58%, nero), Sn¹²² (4.63%, azzurro) e Sn¹²⁴ (5.79%, grigio); quest'ultimi si possono far corrispondere facilmente alla morfologia dei picchi che compongono i segnali a $m/z = 404 \pm 3$ e 867.5 ± 2 come mostrato nell'immagine 2.7.

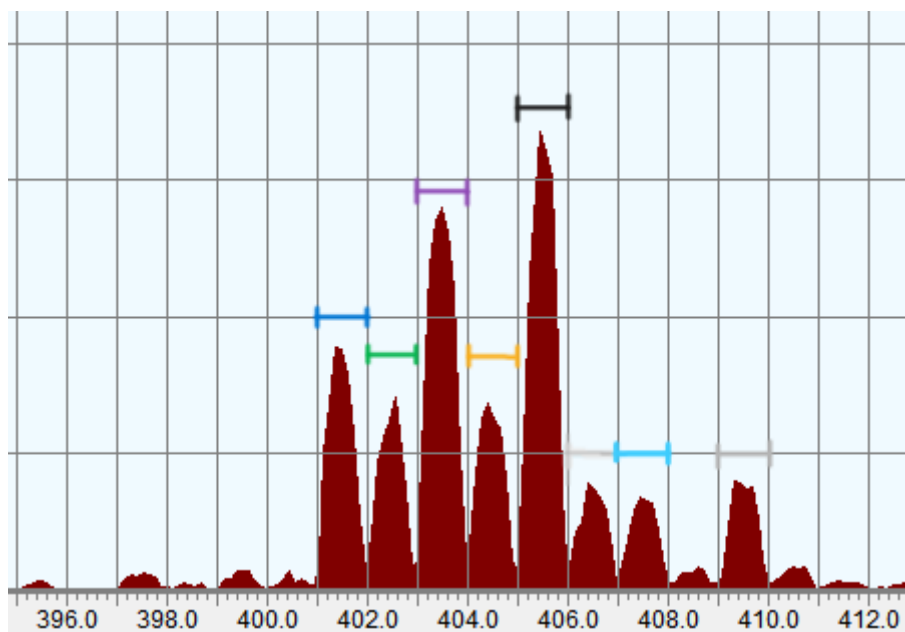


Figura 2.42: l'associazione tra l'intensità dei picchi e l'abbondanza isotopica percentuale riportata sopra è evidente

La forte correlazione ha permesso di selezionare questo insieme di picchi e, di seguito, ne sono stati studiati i possibili frammenti corrispondenti; in questo senso, è necessario analizzare i possibili frammenti prodotti dall'analita e dalla fase mobile, nonché dalle ricombinazioni che questi possono presentare. Questa analisi è possibile in quanto le frammentazioni seguono delle regole precise definite in base a certi parametri come: energia applicata a livello di sorgente, energia di legame e stabilità dei prodotti originati dalla frammentazione. Nel caso del DOTL si avrà la perdita delle catene laterali di "laurato" in quanto presentano un legame più debole e maggiore stabilità del prodotto ionico (quest'ultimo disporrà di una possibilità di delocalizzare la carica maggiore, permettendo la presenza di più strutture di risonanza aumentando di molto la stabilità del prodotto e favorendo quindi la rottura di questi legami). Il residuo ottenuto da questa doppia frammentazione, se addizionato a due ioni derivanti dalla ionizzazione del metanolo, porterebbe alla formazione di un addotto avente massa ≈ 404 Da e corrispondente la picco principale identificato. Essendo il metanolo presente in grande quantità nella fase mobile riteniamo che sia probabile che il frammento corrispondente alla massa 404 Da sia quello sopra descritto.

Per quanto riguarda il secondo picco, scelto insieme al 404, s'è cercato un possibile addotto con tutti i frammenti già considerati, ma non è stato ottenuto alcun risultato. Si può supporre che si formi un addotto con ioni acetato in quanto, l'acido acetico presente nella fase mobile, fornisce protoni (essenziali per favorire le reazioni di frammentazione) e successivamente può formare addotti con molecole non protonabili. Ai segnali intorno alla massa 867 quindi non è stato possibile associare dei frammenti attendibili.

I ragionamenti soprariportati sono stati effettuati in un primo momento in modo da poter quantificare la sostanza nei campioni realizzati in campo, al fine di poter fornire ai clienti delle risposte (anche se ancora solamente indicative) nel minor tempo possibile in merito alla presenza della sostanza, posticipando le analisi di quantificazione a quando il metodo sarebbe stato ultimato in toto.

Proseguendo con lo sviluppo della metodologia ed effettuando svariate corse cromatografiche, principalmente al fine di limitare i tempi d'analisi ed aumentare la risoluzione della stessa, è stata identificata una sequenza di picchi interessante e già notata a livello del confronto tra le diverse fasi mobili. La suddetta è stata identificata modificando le condizioni di frammentazione alzando il ΔV , a livello del controlettrodo, ad un valore di 90V ed a livello dell'elettrodo a 2.7 kV.

In particolare, la sequenza interessa le masse nell'intervallo 760-490 Da e vede una serie di 7 picchi distanziati tutti di circa 44 Da; questa differenza di massa è riconducibile alla perdita, da parte dell'analita, di frammenti propilici generati dalle catene di laurato laterali (il numero di frammenti propilici originabili è pari, infatti, a sei). La sequenza notata è la seguente:

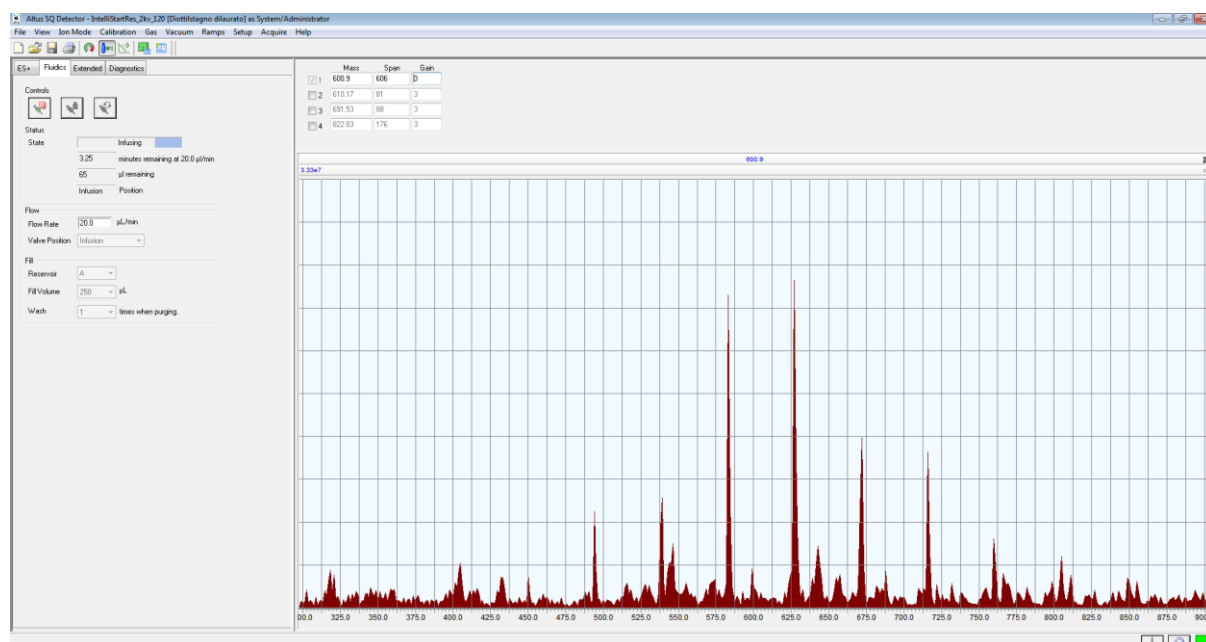


Figura 2.43 sequenza di segnali corrispondenti alla perdita di frammenti propilici

Analizzando il grafico possiamo trarre le seguenti conclusioni:

- essendo la massa ≈ 404 Da sempre presente possiamo affermare che la frammentazione principale avviene a livello dei gruppi carbossilici delle catene laurate e che non richiede forti ionizzazioni affinché avvenga; questo per i due motivi illustrati sopra ovvero: è un sito molto ricco di elettroni (vedere immagine sotto) e fornisce dei prodotti ionici molto stabili;
- aumentando l'energia di ionizzazione vanno a frammentarsi le catene di acido laurico andando a formare questi segnali.

Al fine di visualizzare al meglio i siti di frammentazione più probabili viene mostrato di seguito un modello rappresentante la nube elettronica intorno alla molecola di DOTL; si nota come le zone rosse,

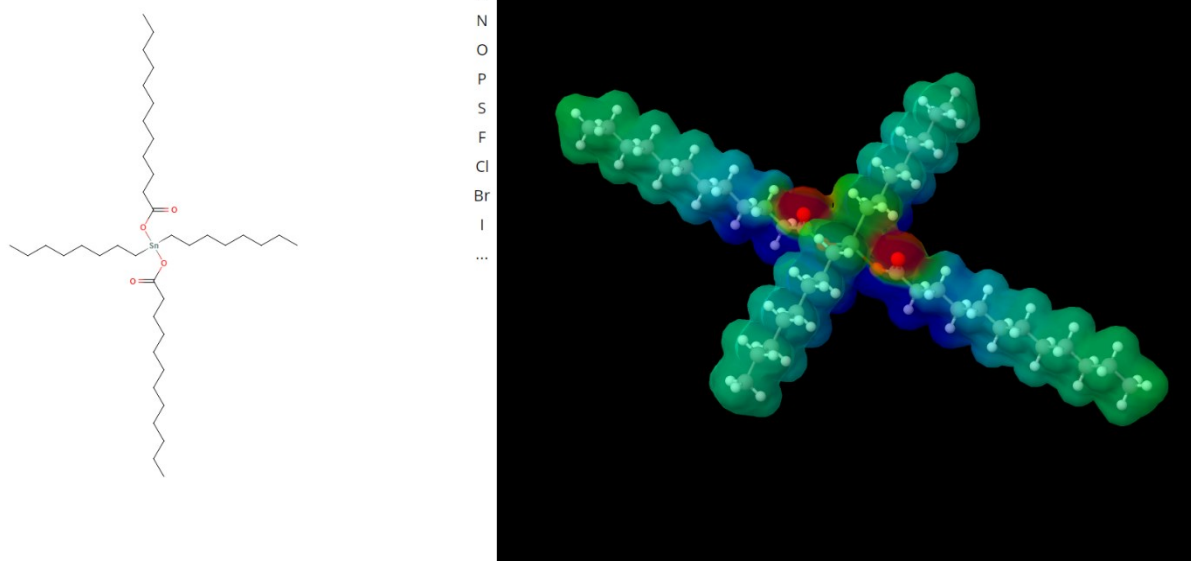


Figura 2.44: immagine che mostra la nube elettronica caratteristica del DOTL

ovvero con densità elettronica maggiore, sussistano a livello dei gruppi carbossilici dell'acido. Queste zone daranno luogo a frammentazione con più facilità rispetto agli altri siti e infatti la rottura di questi legami consiste nella frammentazione principale della specie.

Caratterizzata la sequenza di picchi s'è scelto di valutare quale segnale fosse il più adatto al fine di costruire una retta di taratura che presenti delle caratteristiche adeguate. Con quest'obiettivo sono state realizzate delle corse in single ion scan andando a concentrare il rivelatore sulle masse: 495,538, 582, 627, 670 e 715 m/z.

Dai risultati ottenuti è emerso come le masse 670 Da e 582 Da permettano d'ottenere i segnali migliori e sono quindi stati selezionati rispettivamente come picchi quantifier (in quanto avendo una massa maggiore ci si aspetta che sia più stabile e possa dare meno problemi d'interferenza) e qualifier.

Per queste masse non è stata mostrata la parte d'identificazione mediante la valutazione del rapporto isotopico, in quanto, essendo associati ad altri picchi come il 404 e non essendo stati riscontrati nelle analisi dei bianchi eseguiti con la fase mobile, siamo certi essere dovuti alla presenza del DOTL.

2.2.d) Creazione della retta di taratura

La parte di metodo sviluppata finora fa riferimento all'analisi qualitativa e quindi d'identificazione della molecola. Per riuscire a quantificare la specie è necessario creare una retta di taratura, la quale permetta al software d'associare una determinata area dei picchi del segnale quantifier alla concentrazione dell'analita. La retta di taratura viene ottenuta effettuando diverse corse impiegando soluzioni a diverse concentrazioni dello standard di DOTL in esano. Inizialmente viene pesato il dioctilstagno dilaurato mediante bilancia analitica e viene disciolto in un matraccio da 10 ml; ottenuta così la soluzione madre si può procedere alla diluizione nelle varie vial. Gli estremi superiore e inferiore della concentrazione degli standard scelti sono fondamentali in quanto determinano il range di concentrazioni entro il quale è possibile accettare il risultato dell'analisi. Ogni corsa ha una durata di dieci minuti e i dati vengono registrati a due minuti dalla partenza, in quanto precedentemente s'è sicuri che non possa esserci alcun segnale d'interesse. A livello di metodo lo strumento richiede cinque corse di bianchi (solamente fase mobile) successivamente vengono analizzati i sei standard, dalla concentrazione minore alla maggiore, ed infine viene programmato un metodo di standby che permette di preservare lo strumento.

Inizialmente la retta è stata costruita sui segnali ottenuti dall'analisi in single ion scan della massa 404 Da però non si è riusciti ad ottenere una retta che avesse le caratteristiche per garantire una buona attendibilità del dato come spiegato in precedenza nella parte "6.b)". Dopo vari tentativi e proseguendo con ulteriori analisi per ultimare il metodo, sono state identificate altre due masse una quantifier ed una qualifier.

La retta di taratura, realizzata per la quantificazione del DOTL nei campioni realizzati in campo e per gli LCS, è stata ottenuta dai segnali della massa 670 Da. È stata scelta questa massa, a discapito della 582 Da, in quanto è più pesante e quindi, potenzialmente, meno influenzabile dal segnale di altre masse simili.

Per costruire la retta è stata realizzata una soluzione madre in esano a concentrazione di DOTL = 19.162 mg/ml; da questa, successivamente, si sono ricavati gli standard diluiti a concentrazioni di:

- 9.581 mg/ml
- 4.79 mg/ml
- 1.916 mg/ml
- 0,958 mg/ml
- 0,192 mg/ml

Effettuando, infine, le prove per gli LCS è stata realizzata un'ulteriore retta per provare ad abbassare il LOQ d'un fattore x10. A partire dalla soluzione a concentrazione 50.8 mg/ml (realizzata per gli LCS) è stata ottenuta una soluzione madre prelevando 4 ml della suddetta soluzione, diluita in un matraccio da 10 ml con esano al fine d'ottenere una soluzione madre a 20.3 mg/ml, la quale avrebbe funto anche da sesto standard. Inizialmente, quindi, è stata creata una retta con sei standard, a livello della quale, il valore dello standard più concentrato risultava maggiore d'un fattore 1000x rispetto a quello minore e di conseguenza, lo standard a 0.02 mg/ml presentava una deviazione altissima anche se per i restanti punti la retta rimaneva ugualmente valida. Preso atto del risultato è stata costruita una retta con quattro standard.

Le concentrazioni selezionate sono:

- 5 mg/ml, ottenuta prelevando 250 µl dalla soluzione madre e riponendoli direttamente nella vial e portando a volume di 1 ml;
- 1 mg/ml, ottenuta come la precedente ma prelevando un volume di 50 µl;
- 0.5 mg/ml, ottenuta come la precedente ma prelevando un volume di 25 µl;
- 0.02 mg/ml, quest'ultima è stata ottenuta in un matraccio separato in quanto con la siringa a disposizione non sarebbe stato possibile prelevare un microlitro. Sono, quindi, stati prelevati 10 µl sempre dalla prima soluzione standard e sono stato portati a volume in un matraccio da 10 ml.

Elaborazioni successive hanno portato a creare una retta sul segnale corrispondente alla massa 582 Da, portando ad avere diverse rette. Questo aspetto del metodo potrà essere approfondito in futuro per aumentarne l'accuratezza ed abbassarne ulteriormente il LOD.

Essendo la retta limitata come range di concentrazione è stata fatta una prova per valutare la bontà della quantificazione ottenibile con la stessa al di fuori dal range di concentrazioni usato per ottenerla. Nella pratica è stato quantificato il segnale di un campione estratto, al quale è stato aggiunto lo standard in un secondo momento ed è stato poi analizzato nuovamente; la quantificazione è stata realizzata sfruttando la retta ottenuta dal segnale 670 e quella ottenuta come descritto poco sopra con il segnale corrispondente alla massa 582 Da così da confrontare i due risultati avendo le due rette.

2.2.e) Realizzazione dei Laboratory Control Sample, studio sull'estrazione dell'analita e determinazione della percentuale di recupero

Come elencato in precedenza l'ultimo step consiste nel determinare la bontà del processo estrattivo e di conseguenza le percentuali di recupero della sostanza dal campione, mediante l'impiego degli LCS. Questo studio viene realizzato una volta identificato il metodo di campionamento più adeguato attraverso le prove eseguite in campo; questo perché il campione e quindi la matrice sarà poi diversa e di conseguenza lo sarà anche il processo d'estrazione. Avendo quindi selezionato il campionamento secondo la normativa UNI EN 13284-1-2017 per il campionamento di polveri a condotto, il campione sarà costituito da un filtro in fibra di vetro ove saranno depositate le particelle con adesivo il DOTL; la situazione da ricreare con LCS è quindi la suddetta.

Nelle prove eseguite in laboratorio s'è voluto testare l'efficacia estrattiva di tre soluzioni estraenti, ovvero:

- Esano ed Acetone 50/50%;
- Esano puro;
- Fase mobile.

Verranno creati sei filtri per un totale di due prove per fase estraente. Per creare un LCS sarà necessario impiegare la stessa matrice che verrà utilizzata in campo ed applicare la soluzione nella modalità più “quantitativa” possibile (sarebbe ottimale realizzare gli LCS nebulizzando il prodotto impiegato dalla ditta, ma in questo modo sarebbe difficile quantificare quanto DOTL è stato posto sul filtro, oltre a richiedere molta strumentazione non in possesso ad Ecoricerche srl). Nel nostro caso è stata realizzata una soluzione di DOTL in esano a concentrazione di 22.16 mg/ml (concentrazione scelta in quanto non aspettandoci un recupero del 100% saremmo potuti rientrare nel range di quantificazione della retta di taratura creata), della quale ne vengono distribuiti 1 mL omogeneamente su ciascun filtro in fibra di vetro mediante l’uso d’una pro-pipetta elettronica. In questo passaggio è fondamentale aver cura di distribuire la soluzione a piccole quantità così da non realizzare percolazione attraverso il filtro con successiva perdita di analita; contemporaneamente bisogna aver cura di creare un volume sufficiente di soluzione e disporla in un contenitore facilmente sigillabile così da non permettere che la soluzione si concentri per evaporazione durante la creazione degli LCS. Dopo aver lasciato essiccare i filtri sotto cappa, questi vengono riposti in delle vial di grandi dimensioni dentro le quali vengono aggiunte le diverse fasi estraenti (il volume d’estraente non è fondamentale e varia dalle dimensioni della vial, è molto importante, invece, che l’intero filtro sia sommerso). L’estrazione, quindi, avviene immergendo le vial in un bagno ad ultrasuoni per un’ora ad una frequenza di 37 kHz. In seguito, si rimuove il filtro e la soluzione viene fatta evaporare attraverso evaporatore; nel nostro caso abbiamo scelto d’impostare la temperatura del bagno dell’evaporatore ad una temperatura di 50°C così da aiutare l’evaporazione nella vial con fase mobile in quanto, contendo acqua, avrebbe, in caso contrario, impiegato molto più tempo ad evaporare. Una volta portate a secchezza il risultato è quello esposto nella figura sottostante.

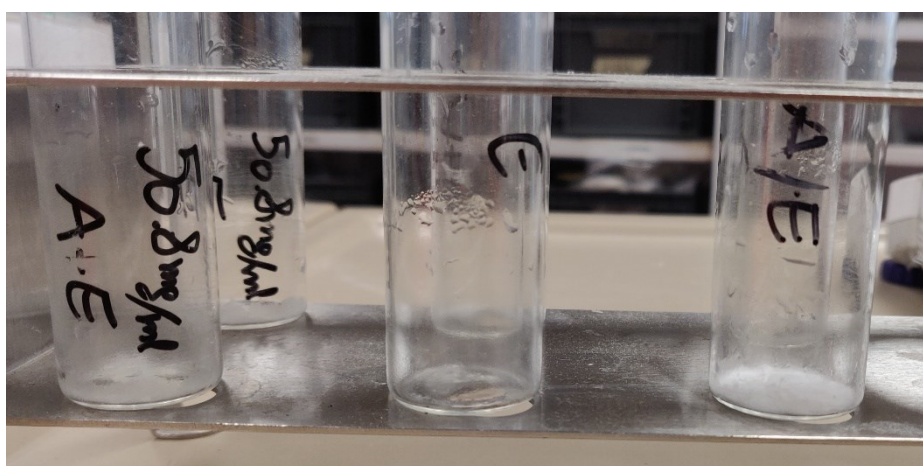


Figure 2.45: LCS portati a secchezza e pronti ad essere ripresi con esano. Notiamo un chiaro deposito di materiale solido bianco a livello delle provette sulla destra e sulla sinistra, composti da fibre di vetro che si sono separate dal filtro durante l'estrazione

Notiamo che a livello della base della vial si possono identificare dei depositi bianchi, i quali corrispondono a parti del filtro in fibra di vetro che s’è sfaldato durante il bagno ad ultrasuoni. Questi residui andranno ad essere sciacquati nella fase di ripresa dell’analita. In questa fase è fondamentale risciacquare anche le pareti interne che sono state in contatto con l’analita e cercare di recuperare tutto il DOTL eventualmente rimasto assorbito nei residui del filtro. A tal fine, questi, vengono aspirati ed espulsi diverse volte attraverso una pipetta con l’esano utilizzato per il recupero. Infine, l’esano viene caricato in una siringa e filtrato attraverso dei filtri usa e getta con una porosità di 0.45 μm in quanto è fondamentale che non arrivi alcuna fibra allo strumento di cromatografia liquida; la filtrazione avviene direttamente nella vial da 1.5 ml. È fondamentale che il volume ottenuto alla fine sia corrispondente ad un millilitro in quanto è il volume a cui ci si riferirà per la determinazione quantitativa.

Essendo stati i primi tentativi effettuati su più LCS consecutivamente si sono riscontrati dei problemi durante alcune fasi della preparazione come la concentrazione della soluzione applicata ai filtri bianchi, una leggera percolazione attraverso il filtro durante l'applicazione e minime perdite di analita riscontrate durante il processo di filtraggio. È stato quindi deciso d'effettuare altre prove applicando circa la stessa quantità di analita al filtro ma aumentando la concentrazione della soluzione e diminuendo il numero di LCS da creare; in particolare è stata ottenuta una soluzione di dioctilstagno dilaurato in esano a concentrazione 50.8 mg/ml in un matraccio di 10 ml. Questa volta è stato applicato, ai due LCS, mezzo millilitro di soluzione al filtro così da rendere il processo più veloce e non dar luogo a percolazioni attraverso la matrice come nel caso precedente. Successivamente gli LCS saranno estratti con esano e la miscela di esano + acetone, in quanto ci si aspettava che dall'estrazione con i suddetti estraenti si potessero ottenere risultati migliori di quanto non sia effettivamente avvenuto. Purtroppo, come in precedenza, i risultati sono stati pessimi in quanto la concentrazione ottenuta dall'analisi è irrisoria sia per la soluzione ottenuta estraendo in esano sia per quella estratta in esano + acetone. Allo stesso tempo però è stato ottenuto ugualmente un risultato in quanto applicando circa la stessa quantità di analita nella preparazione dell'LCS è stata rilevata una concentrazione, a valle del processo estrattivo, di quattro volte superiore alla precedente come mostrato nel paragrafo dedicato.

3 REAGENTI

- Standard Dioctilstagno Dilaurato in purezza al 96%, CAS 3648-18-8;

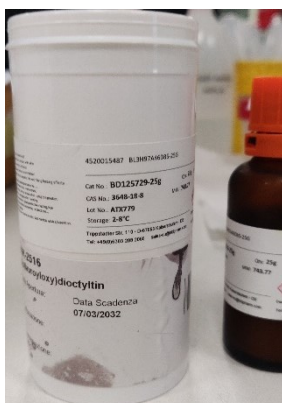


Figura 3.1: flacone contenente lo standard di DOTL

- Acido Acetico puro al 99.7%, CAS 64-18-6;
- Acido formico puro al 98-100%, CAS 33-01-5;
- Aceto nitrile puro al 99.95%, CAS 75-05-8;
- Acqua Milli-Q;
- Metanolo puro >99%, CAS 67-56-1;
- Esano puro al 100%, Cas 110-54-3;
- Acetone puro al 100%, CAS 67-64-1;
- Tetra-etilborato di sodio, CAS 15523-24-7;
- Solfato di sodio puro al 100%, CAS 7757-82-6;
- Tetraidrofurano, CAS 109-99-9.

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1) Prove effettuate sulle diverse fasi mobili

I primi risultati raccolti riguardano le varie prove eseguite per selezionare la fase mobile migliore per l'analisi del DOTL. I commenti delle prove effettuate sono riferiti al picco corrispondente alla massa 404 Da, in quanto, le suddette prove, sono state realizzate nella prima fase di sviluppo del metodo.

Le varie fasi mobili testate sono:

- Fase mobile 1:
 - Soluzione A: Acqua milliq 94%, Acido Acetico 6%, Trietilammina 0.1%
 - Soluzione B: Acetonitrile 100%
- Fase mobile 2:
 - Soluzione A: Acqua milliq + formiato d'ammonio 0,1M
 - Soluzione B: acetonitrile 100%
- Fase mobile 3:
 - Soluzione A: Soluzione acquosa di ammonio acetato 0.1M, Acido Acetico 1%
 - Soluzione B: Metanolo 100%
- Fase mobile 4:
 - Soluzione A: Soluzione acquosa di Ammonio formiato 0.1M, Acido Acetico 1%
 - Soluzione B: Metanolo 100%

Dalle corse realizzate è stato evinto che per:

- Fase mobile 1: il tempo di ritenzione aumenta sensibilmente, il picco principale risulta essere a 382 ± 2 m/z, si nota ugualmente il picco a 404 m/z ed un altro intorno ai 495 m/z. La foto sottostante mostra il risultato migliore ottenuto e come si può notare il rapporto tra segnale dell'analita e rumore di fondo è molto basso. È stato concluso che la presente fase mobile non fosse adeguata;

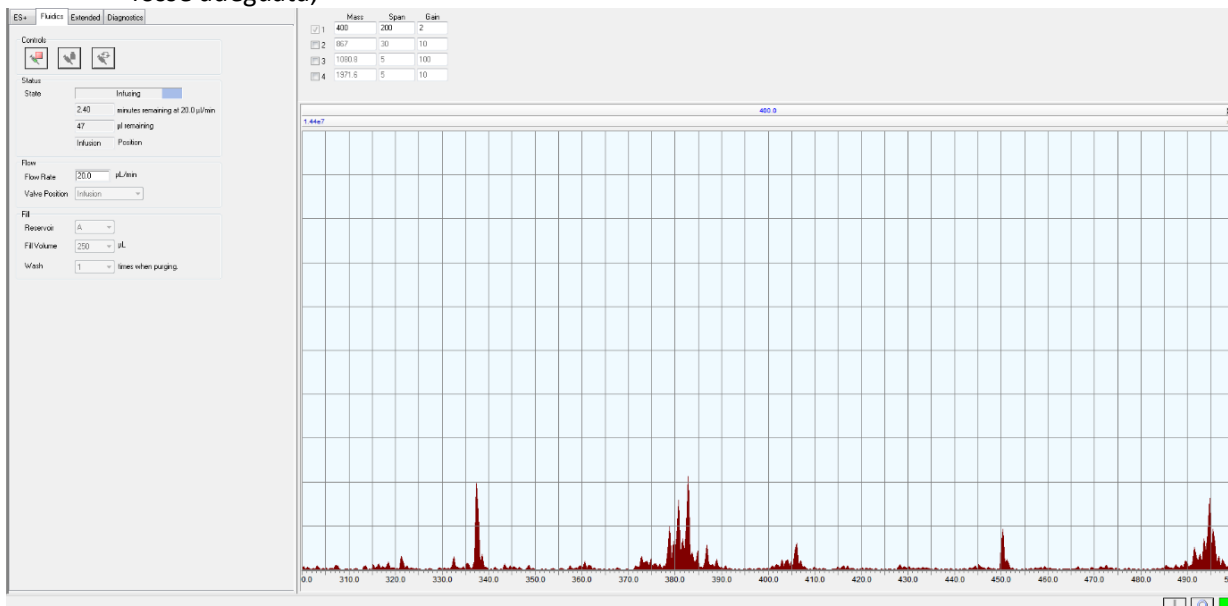


Figure 4.1: segnale ottenuto dall'analisi dello standard impiegando la prima fase mobile testata

- La seconda fase mobile è stata testata aggiungendo diverse aliquote di una soluzione standard di DOTL. Queste analisi hanno fornito dati contrastanti, in quanto, aumentando la concentrazione di standard, la risposta dello strumento non era proporzionale all'aumento o

addirittura risultava opposta. Le foto sottostanti corrispondono, nell'ordine, a corse realizzate aggiungendo 5-10-15 gocce di standard (la spiegazione della serie regolare di picchi identificati con queste corse è rimandata alla parte di caratterizzazione dei picchi illustrata nel paragrafo "2.2d"). Oltre all'incongruenza sull'intensità della risposta si può notare come il segnale dell'analisa si riscontri all'inizio dell'iniezione e non più a due minuti dal termine come per la prima fase mobile (barra di stato azzurra d'avanzamento del processo d'iniezione nella parte alta sinistra delle foto). Queste incongruenze ci hanno portato ad ipotizzare che la colonna si fosse intasata dello standard non completamente solubilizzato ed abbiamo quindi deciso di procedere con più corse di solo metanolo al fine di ripulire la colonna cromatografica.

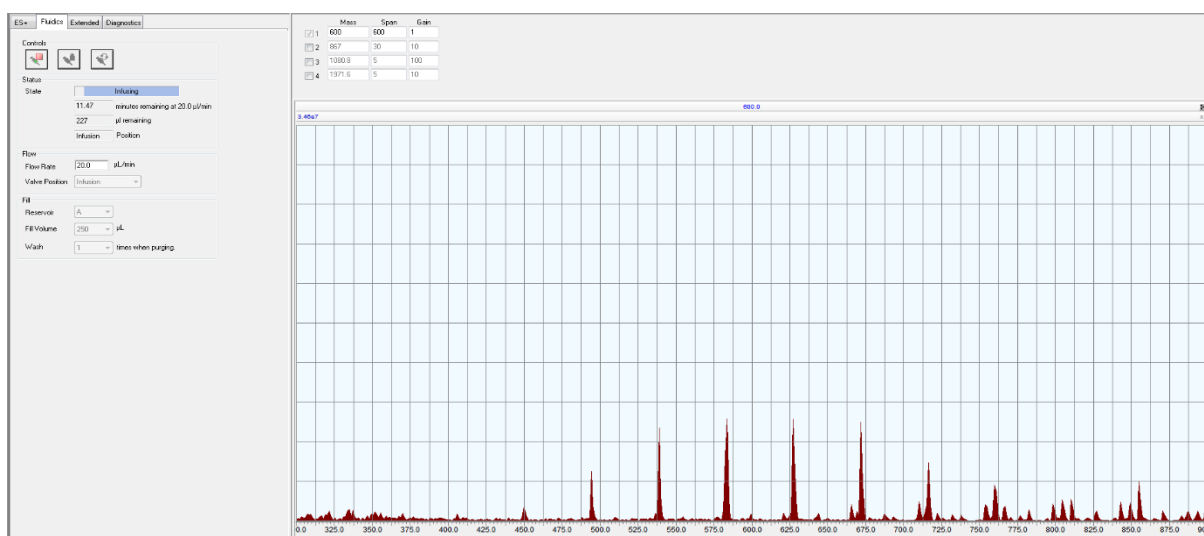


Figura 4.2: segnale strumentale corrispondente all'aggiunta di 5 gocce di standard

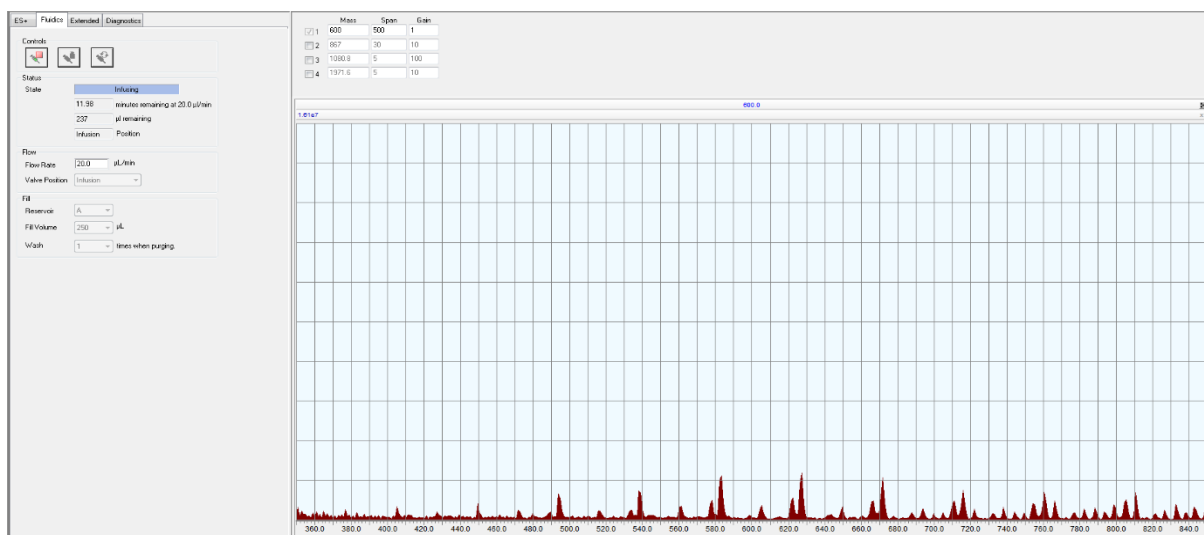


Figura 4.3: segnale strumentale corrispondente all'aggiunta di 10 gocce di standard

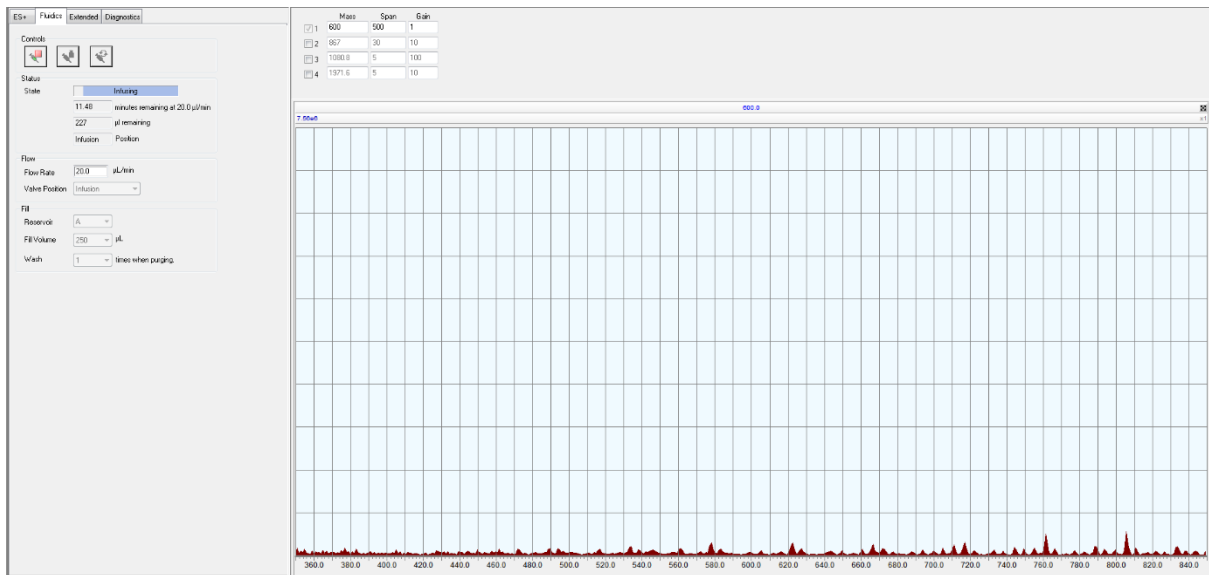


Figura 4.4: segnale strumentale corrispondente all'aggiunta di 15 gocce di standard

Sotto viene mostrata la foto del segnale originato dalla prima corsa con solo solvente; notiamo come si registri evidentemente la presenza dell'analita. Come ulteriore sicurezza, dopo le corse col metanolo, è stato fatto eseguire il programma di "washing" così da ripristinare le condizioni standard di lavoro dello strumento.

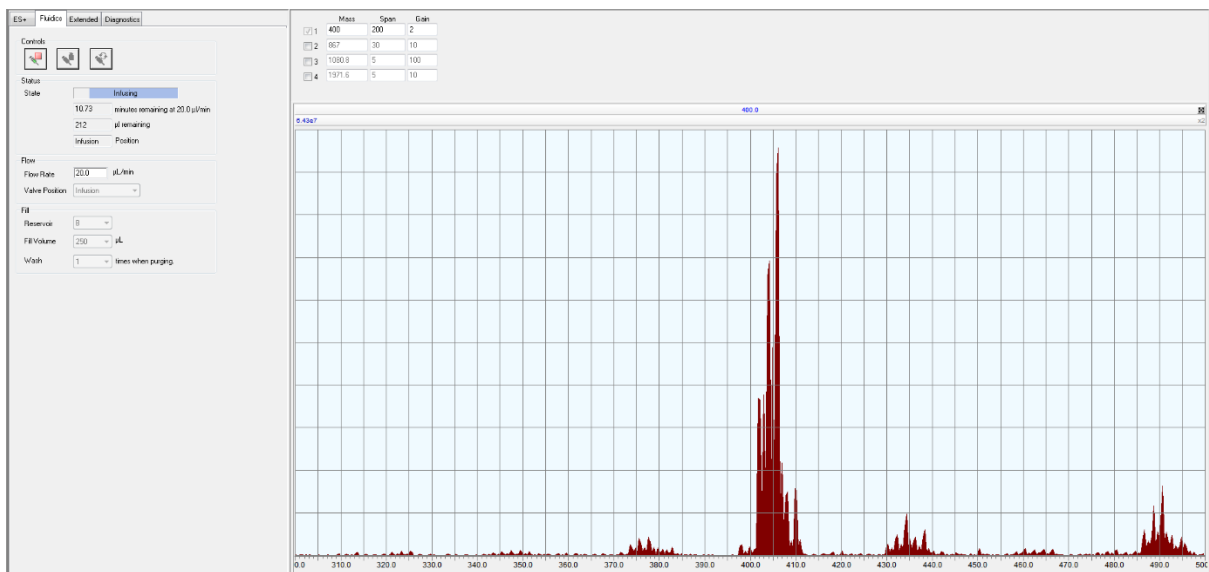


Figura 4.5: segnale strumentale dell'analisi di solo Metanolo. Vediamo che non solo è presente un ottimo segnale a 404 m/z, ma bensì sono presenti diversi picchi che presentano il pattern isotopico dello stagno e che emergono dal rumore di fondo dell'analisi. Questi dati uniti al basso tempo di ritenzione hanno permesso d'identificare la contaminazione della

- Le fasi mobili tre e quattro non hanno portato ad alcun risultato in quanto, come nel caso della prima fase non permettono d'ottenere un rapporto segnale/rumore sufficiente.

Analizzando i risultati possiamo affermare che la fase mobile migliore sia quella ottenuta dal metodo EPA 8323 e composta da metanolo per l'80%, da acqua per il 14% e acido acetico per il restante 6% e quindi si sono proseguite le analisi impiegando questa.

Successivamente è stato sviluppato il metodo analitico vero e proprio; la pria fase di questo studio riguarda l'ottimizzazione dei parametri strumentali ed in modo particolare quelli inerenti la frammentazione.

4.2) Ottimizzazione dei parametri strumentali d'analisi

Come già spiegato nella sezione relativa ai metodi è stata calibrata la frammentazione su più picchi durante l'intero sviluppo del metodo. Dalla foto sottostante si possono notare i voltaggi ottimali risultanti dalle prove eseguite come descritto nel paragrafo 2.2.c. Questi permettono un segnale più pronunciato corrispondente alla massa 404 Da e sono: 2 kV (range di funzionamento $1.7 < X < 4$ [kV]) a livello del capillare e 45 V (range di funzionamento $35 < X < 90$ [kV]) applicati al cono. Con questi valori risulta ben visibile anche il secondo picco a 867.5 ± 2 m/z, scelto come qualifier nella prima parte di sviluppo della metodologia.

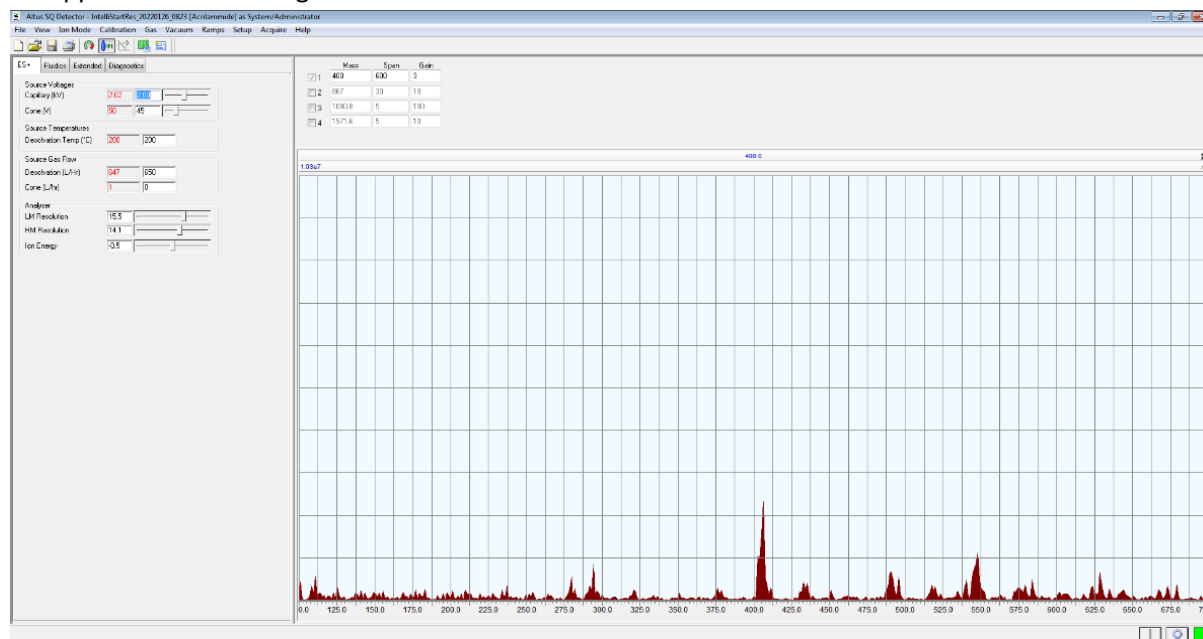


Figura 4.6: segnale strumentale con voltaggio del capillare impostato a 2kV e voltaggio del cono settato a 45V. Il picco di massa 404 ± 3

Successivamente è stata regolata la frammentazione sui picchi delle masse 670 DA e 582 Da. Sotto è riportata l'immagine che mostra come per il picco corrispondente alla massa 582 Da il voltaggio ottimale corrisponda a 90 V a livello del controlettrodo mentre quello dell'elettrodo risulta quasi inalterato. Essendo le due masse una dipendente dall'altra i valori ottimali sono uguali per entrambe.

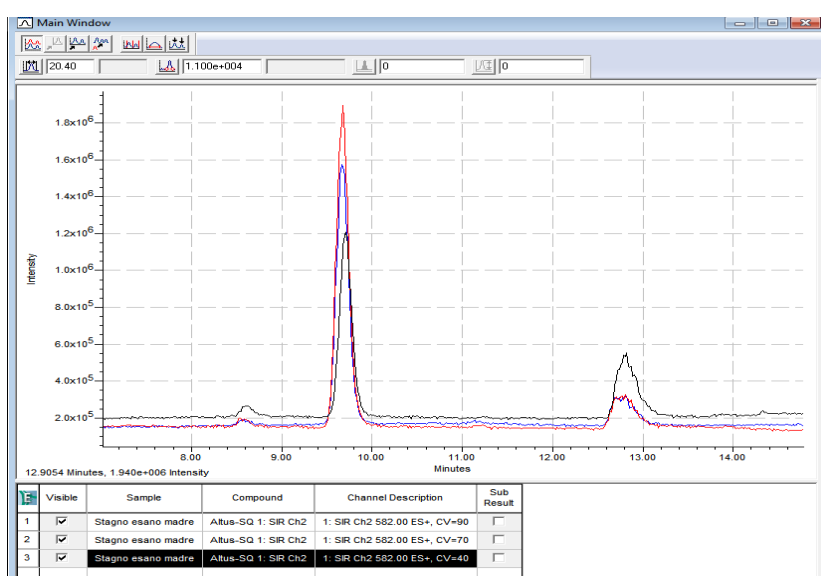


Figura 4.7: segnali della massa 582 Da rivelati a diversi voltaggi. Quello evidenziato in tabella corrisponde a quello nero che risulta essere molto meno intenso degli altri.

Notiamo dalla figura sopra riportata come al crescere del voltaggio applicato al controlettrodo, l'intensità del segnale rilevato aumenti ed inversamente il rumore di fondo diminuisca. Il voltaggio corrispondente ai vari segnali è riportato nella colonna "channel description" (CV=X).

4.3) Caratterizzazione dei picchi

Dall'analisi in single ion scan dei vari picchi identificati dalla sequenza ottenuta con voltaggio 90 V sono stati ottenuti i grafici sottostanti.

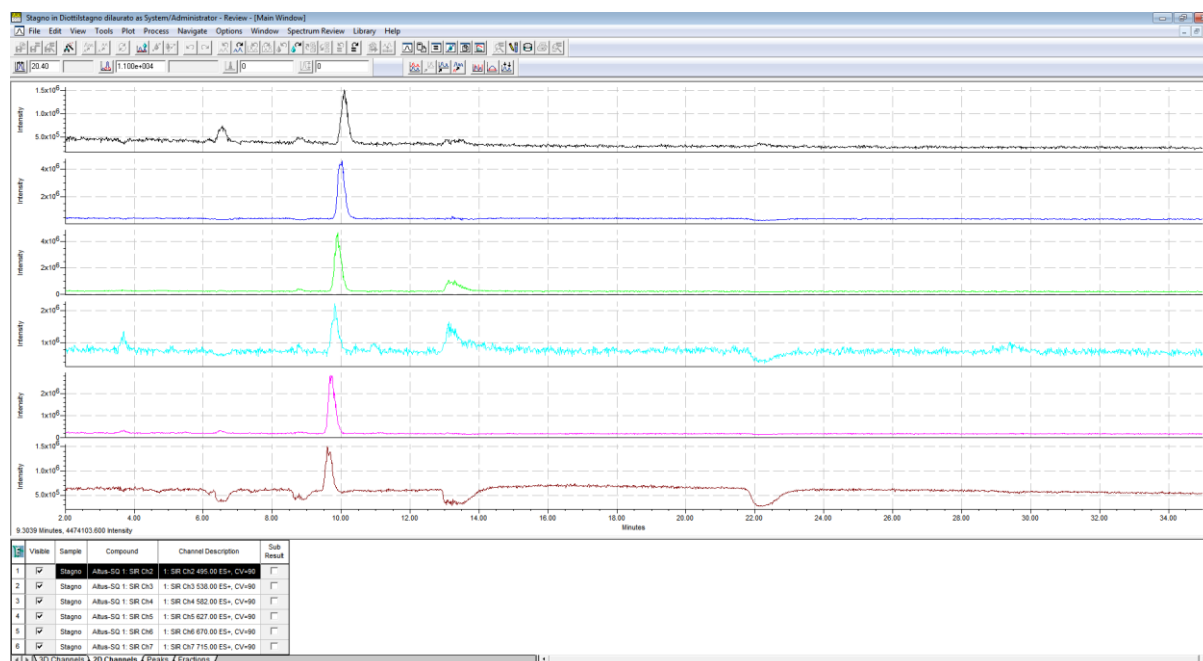


Figura 4.8: in figura possiamo notare la tabella in basso a sinistra che illustra l'ordine di disposizione dei picchi ed il voltaggio a cui sono stati realizzati, ovvero 90V al controlettrodo.

Dal confronto dei grafici possiamo apprendere che:

- la massa 582 e 670 presentano il minor rumore di fondo rispetto alle altre analizzate;
- a livello della massa 627 si nota un picco ben definito e di buona intensità a fronte, però, d'un rumore di fondo non trascurabile;

Al fine di giustificare la scelta dei nuovi picchi per la costruzione della retta di taratura vengono mostrate di seguito due immagini dei cromatogrammi dei vari segnali registrati durante le corse realizzate in modalità full ion scan a 30V e 90V di potenziale al controlettrodo. Notiamo come in entrambe le immagini il segnale della massa 404 Da sia presente, questo per le motivazioni presentate nella parte dedicata e perché le condizioni di frammentazione sono simili a quelle ottimali per questo picco, in modo particolare quelle utilizzate per il cromatogramma ottenuto a 30 V. Nella seconda foto è, inoltre, possibile vedere come il segnale corrispondente alla massa 404 Da sia distribuito su un tempo molto lungo; questo fatto porterà ad avere un picco molto largo e molto poco definito, avente intensità costantemente differente.

Queste caratteristiche rendono la quantificazione su questo segnale impossibile, come verificato nei vari tentativi vani di costruire una retta sul suddetto segnale.

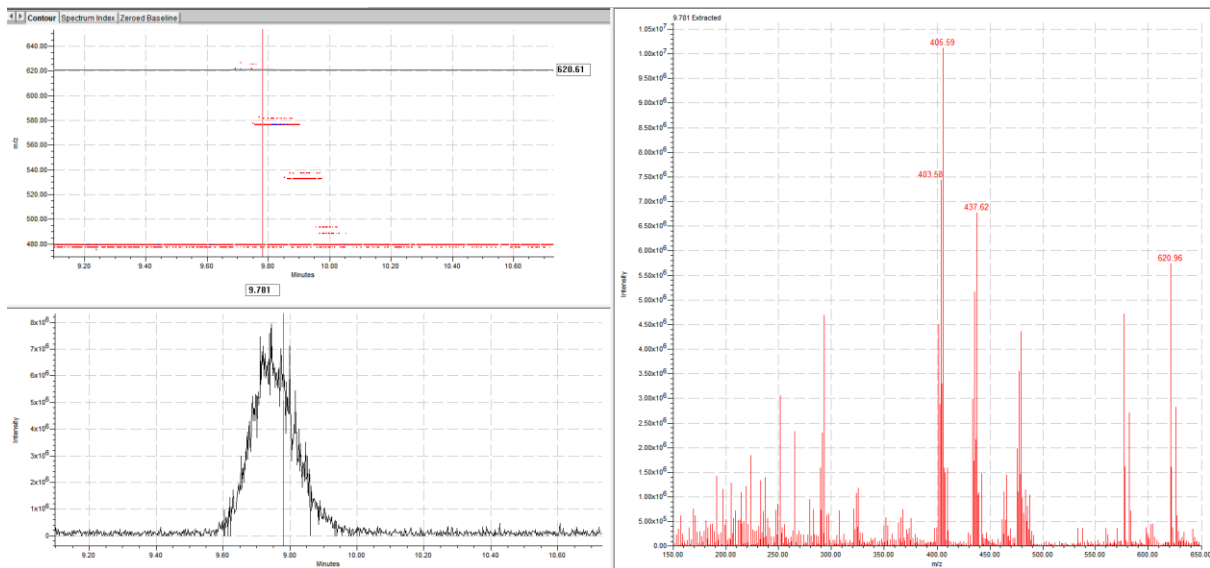


Figura 4.9: Segnali registrati analizzando lo standard in modalità full ion scan a 30V. Come notiamo dal cromatogramma, nella parte bassa sinistra della figura, riferito alla massa 626.61 Da (una delle masse che ritroviamo nella sequenza di picchi. Questa è stata selezionata dal grafico soprastante il cromatogramma, il quale mostra la distribuzione temporale dei picchi sull'asse x), il segnale risulta poco risoluto e con un'intensità variabile. Questo vale anche per i segnali corrispondenti alle masse 582 Da e 670 Da (quest'ultimo non presente nell'immagine).

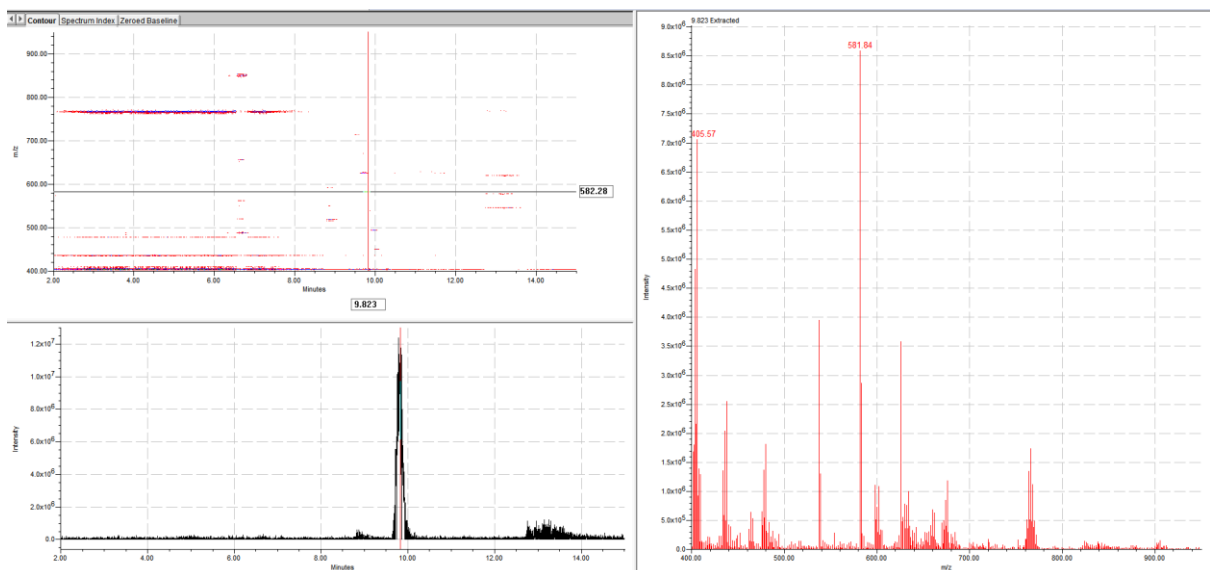


Figura 4.10: Segnali registrati analizzando lo standard in modalità full ion scan a 90 V. In queste condizioni operative il segnale prevalente è quello della massa 581.84 Da, la quale presenta anche un cromatogramma molto risoluto, con un tempo di ritenzione specifico. L'immagine è stata ottenuta da una corsa realizzata in un momento antecedente alla regolazione finale del flusso, infatti, notiamo che il picco lo ritroviamo a 10 min dall'inizio della e non a 8 min come in seguito all'aumento del flusso a 0.4 ml/min.

Per rafforzare le conclusioni tratte dall'analisi sopra riportata, sono state fatte tre corse impostando il rivelatore in modalità single ion scan rivelando le masse 582, 621 e 850 Da (quest'ultima era stata notata assieme alla sequenza ripetuta ed è stata analizzata anch'essa). Il grafico ottenuto è quello sottostante.

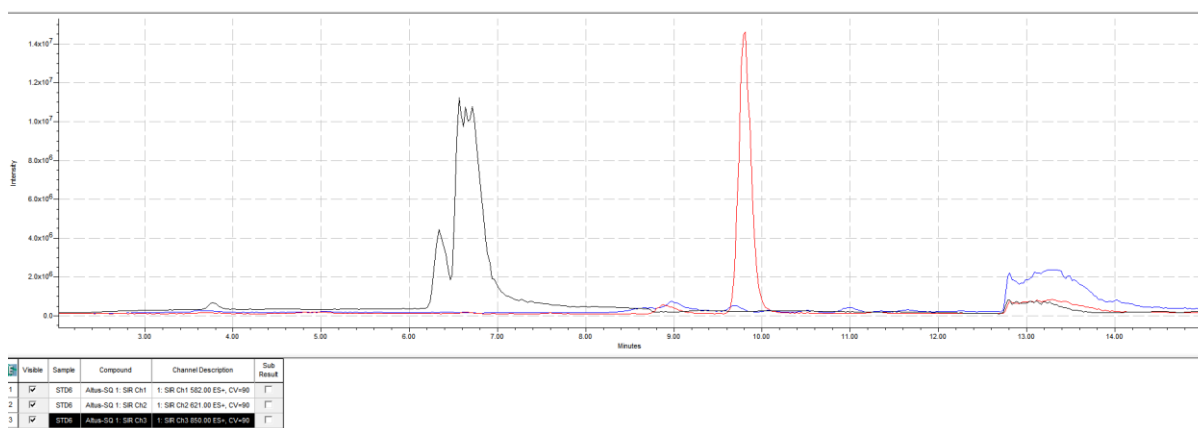


Figura 4.11: segnale delle tre corse eseguite in single ion scan

Il segnale strumentale attribuito al composto di massa 621 Da è quello di colore blu; questo risulta molto poco evidente ed in una zona dove anche per le altre masse è stato registrato del rumore di fondo e quindi non si può utilizzare al fine di sviluppare la retta. Il segnale riferito alla massa 850, invece, fornisce un picco a tempi minori e, anche se non definito, comunque con un segnale intenso. L'informazione di nostro interesse è che la massa 582 Da viene rivelata con un segnale di ottima intensità, con poco rumore di fondo nei pressi del picco. Queste caratteristiche lo rendono un ottimo candidato per essere il picco qualifier o quantifier insieme a quello riferito alla massa 670 Da.

4.4) Creazione della retta di taratura

La retta di taratura utilizzata per quantificare i campioni realizzati in campo e gli LCS realizzati in laboratorio è la seguente ed è stata ottenuta dai segnali corrispondenti alla massa 670 Da.

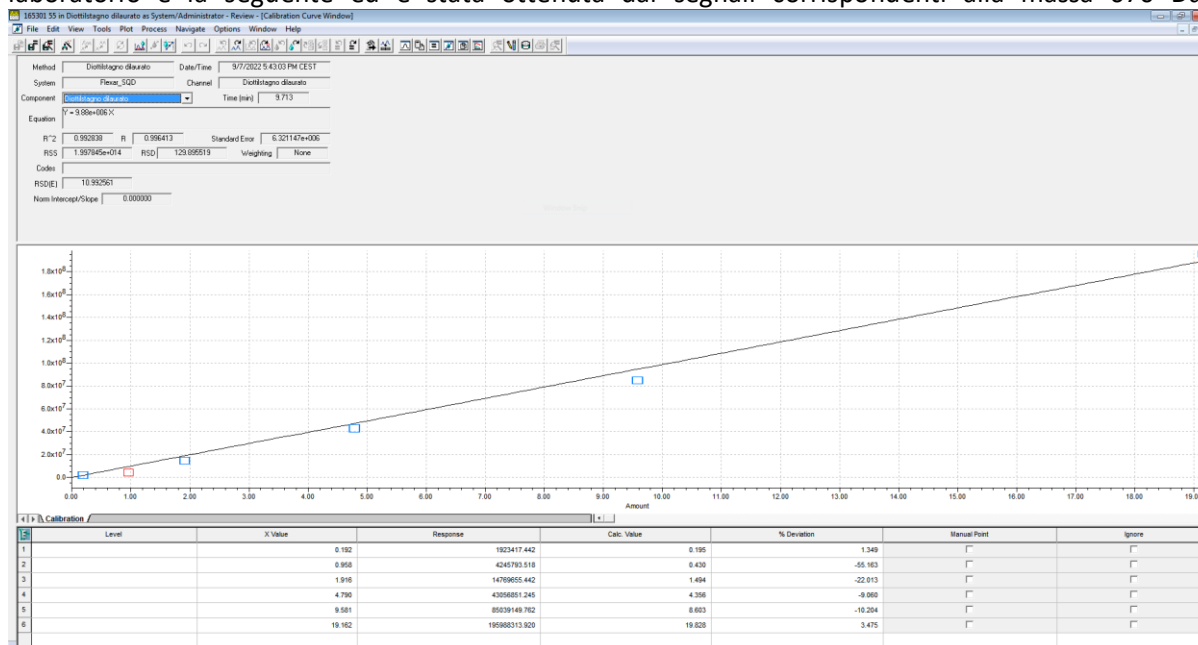


Figura 4.12: retta di taratura ottenuta dai segnali corrispondenti alla massa 670 Da

La prima caratteristica della retta che si può notare è la bassissima deviazione tra i punti e la retta, esplicitata in valore numerico nella colonna “%Deviation”; riscontriamo di conseguenza un R^2 alto corrispondente a 0.9928 in valore assoluto. Guardando la colonna “Conc. Value” si può riscontrare come i valori calcolati usando la retta sopra indicata si discostino di poco dal valore di concentrazione calcolato per ogni standard, in modo particolare, agli estremi della retta.

La retta ottenuta nel tentativo di abbassare il LOD è la seguente:

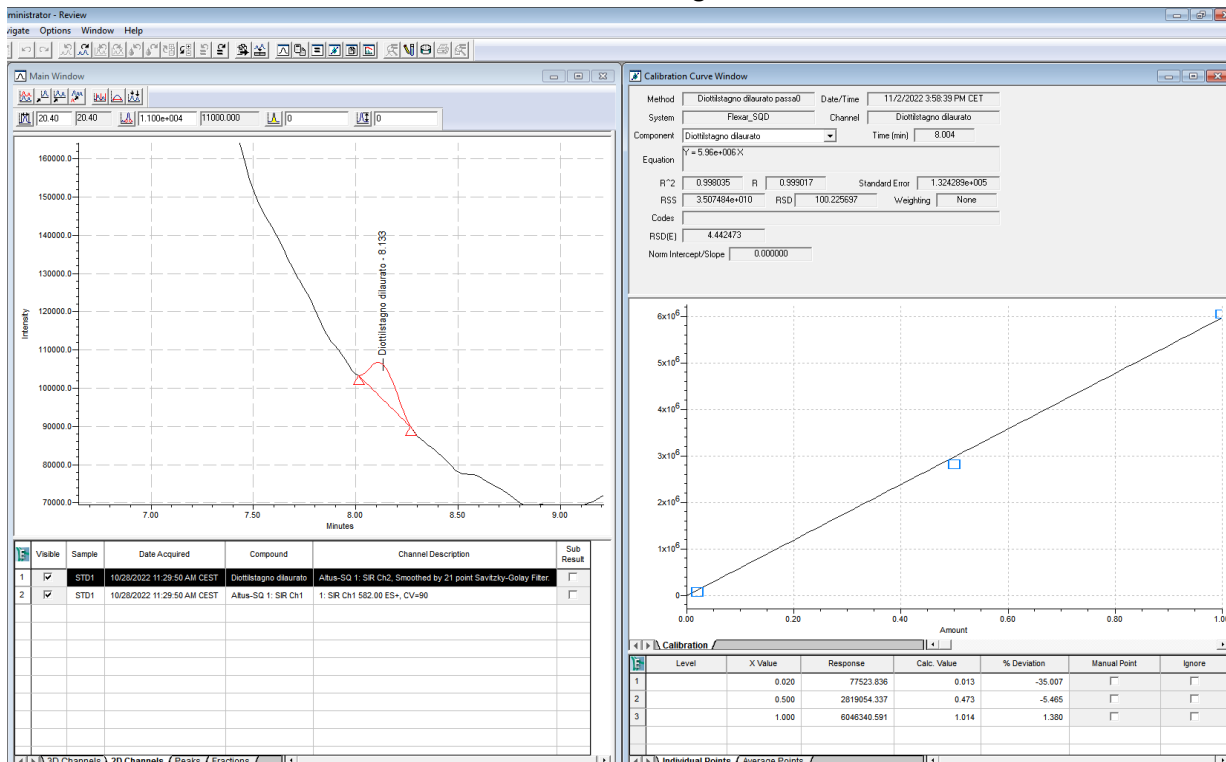


Figura 4.13: retta ottenuta sui segnali della massa 670 Da, come possiamo vedere il picco elaborato e corrispondente al DOTL è veramente esiguo e difficilmente utilizzabile

Purtroppo, la retta non è risultata pulita come si poteva sperare in quanto a livello dello standard più diluito la deviazione permane molto elevata e di conseguenza va ad infierire sulla bontà dell'intera retta. Si può ovviare al problema rimuovendo lo standard a concentrazione maggiore o operando interpolazioni dei dati impiegando funzioni matematiche differenti, andando così però a perdere la linearità della retta che permetterebbe d'interpretare valori anche fuori dall'intervallo utilizzato per la retta. Ad ogni modo operando le suddette modifiche si può ottenere una retta su tre punti avente un indice r^2 buono ma comunque rimane poco significativa.

Analizzando gli spettri ottenuti rivelando la massa 582 Da, notiamo come questi, a differenza dei precedenti, abbiano un buon rapporto segnale/rumore e presentino dei picchi più puliti. Questo ci porta ad affermare che, nonostante abbia una massa maggiore e quindi meno soggetta ad influenze, a concentrazioni così basse è richiesta un'intensità generale del segnale maggiore come nel caso della massa 582 Da (come visto nelle figure 4.10 e 4.11). Un'altra ipotesi è che i segnali della massa 670 Da abbiano risentito d'un problema di rielaborazione matematica durante la computazione del segnale per la creazione del picco. Il sistema, infatti, è dotato di una funzione di smoothing, la quale leviga i picchi con segnali non abbastanza forti, così da cercare di rendere quelli di nostro interesse più visibili e identificabili. Essendo che per l'elaborazione dei segnali corrispondenti al qualifier non era attiva la suddetta funzione, è possibile che questi risultino più evidenti e definiti.

Dopo aver ragionato come sopra è stato deciso di elaborare i picchi del qualifier e costruire una retta con questi segnali e così facendo abbiamo ottenuto quanto segue:

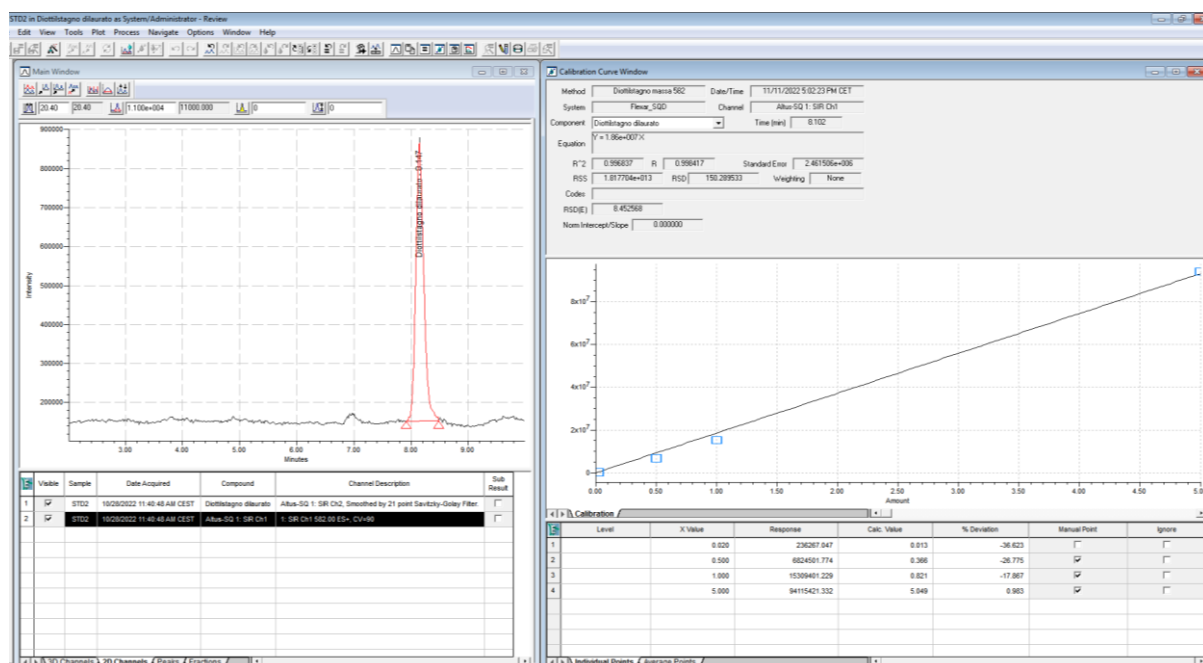


Figura 4.14: retta ottenuta elaborando i picchi riferiti alla massa qualifier, ovvero la 582 Da. a sinistra è mostrato il picco riferito al secondo standard

La retta così ottenuta presenta un ottimo indice r^2 pari a 0.9968 ed è stata ottenuta interpolando i punti con una funzione lineare passante per lo zero. Dai risultati ottenuti da ulteriori prove, e mostrati nelle immagini sotto riportate, possiamo dimostrare come la retta sia rappresentativa per valori al di fuori dell'intervallo di concentrazione utilizzato per gli standard (ricordiamo che nel caso si presentino campioni molto concentrati potrebbero sempre essere quantificati utilizzando la massa che, a quel punto, verrebbe impiegata come qualifier ovvero la 670 Da dalla quale è stata ottenuta la retta in figura 4.12 ed utilizzata per quantificare campioni ed LCS)

Dalle quantificazioni operate sul campione estratto dopo l'aggiunta dello standard sono stati ottenuti degli ottimi risultati. Partendo da una concentrazione ≈ 26 mg/ml (la prova non richiedeva una quantificazione ma bensì si concentrava sul confronto dei risultati ottenuti) e quantificando l'analita con le rette riferite ai picchi corrispondenti rispettivamente alle masse 670 Da (figura 4.12) e 582 Da (figura 4.14), otteniamo una concentrazione risultante pari a, rispettivamente, 26.546 mg/ml e 26.542 mg/ml. La retta risulta quindi ottima anche a concentrazioni molto eccedenti il proprio range di concentrazioni (considerazioni fatte ammettendo l'improbabilità che tali concentrazioni possano essere riscontrate da un campionamento a camino della sostanza in questione, a meno di gravi problemi a livello di produzione o abbattimento comunque riscontrabili più facilmente con altre analisi. Tali affermazioni, inoltre, non vogliono proporre un utilizzo della retta per la quantificazione di segnali eccedenti il proprio range di concentrazioni in quanto illegale se a fine di analisi accreditate).

Di seguito sono riportate le immagini riferite ai risultati appena sopra trattati.

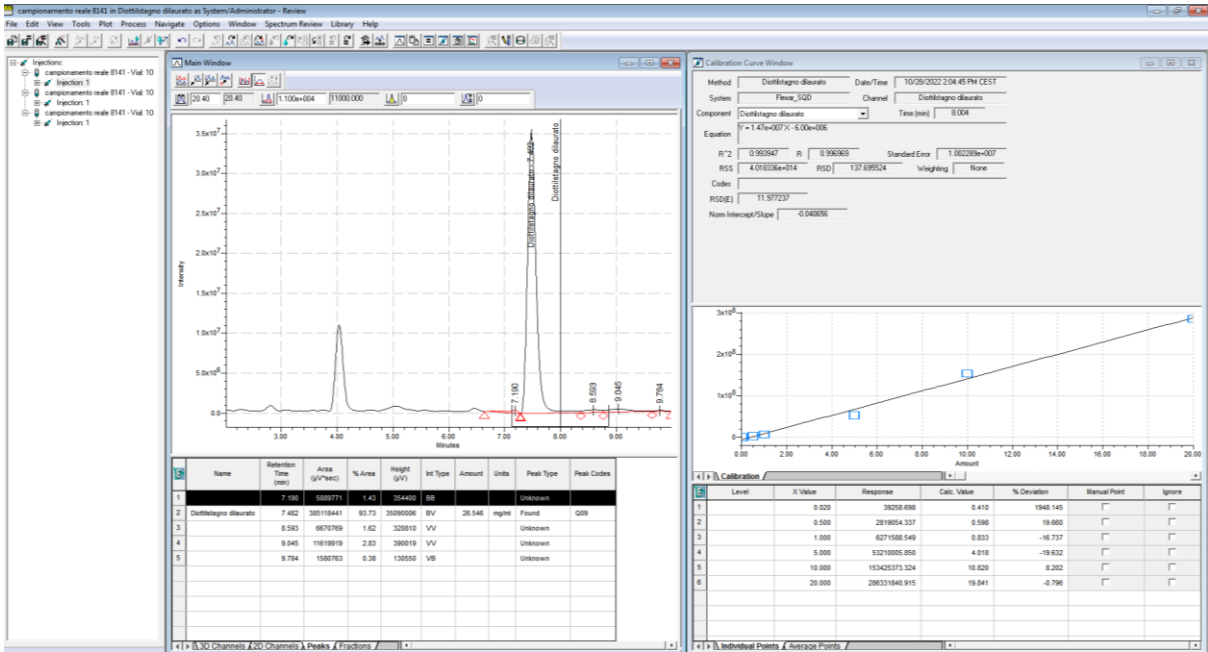


Figura 4.15: quantificazione del campione "spikato" realizzata mediante la retta costruita sui segnali corrispondenti alla massa 670 Da

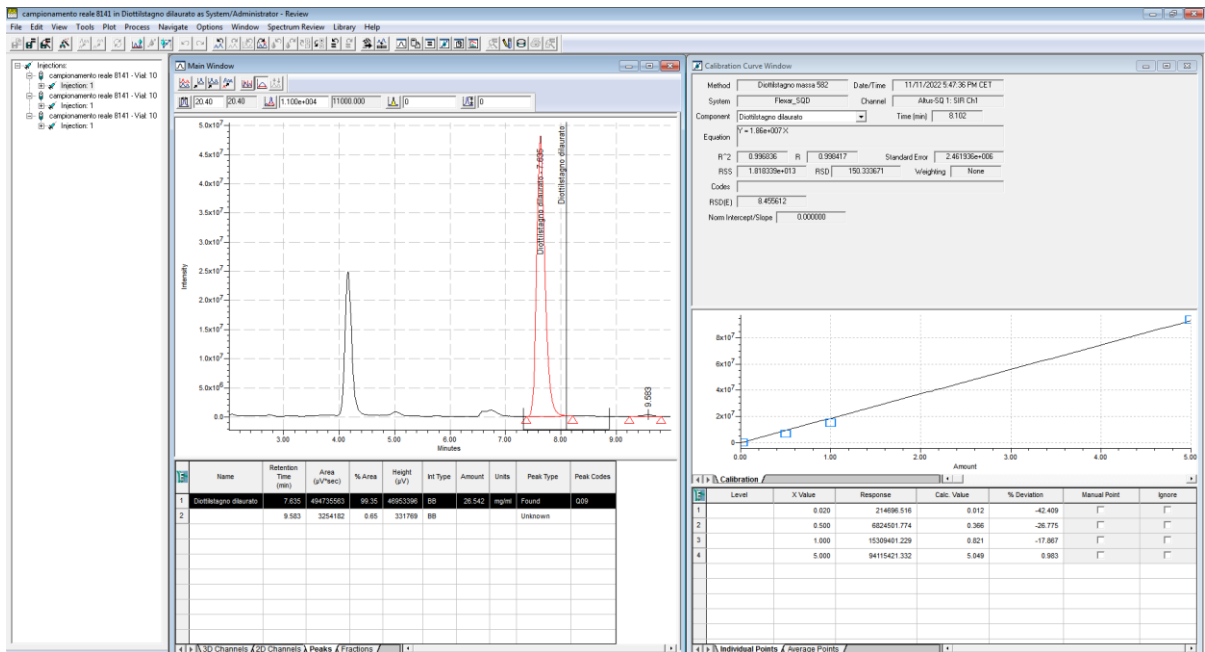


Figura 4.16: quantificazione del campione "spikato" realizzata mediante la retta costruita sui segnali corrispondenti alla massa 582 Da

4.5) Realizzazione dei Laboratory Control Sample, studio sull'estrazione dell'analita e determinazione della percentuale di recupero

Di seguito sono mostrati i risultati delle corse realizzate sugli LCS estratti con esano e con la fase eluente.

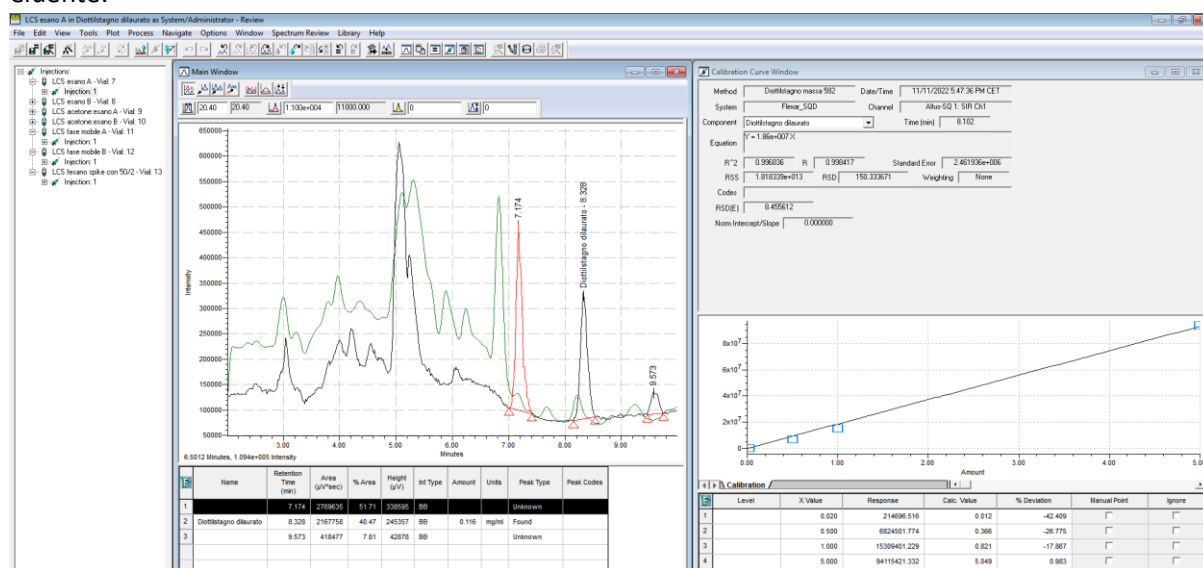


Figure 4.17: segnale registrato analizzando la soluzione ottenuta dall'LCS estratto con esano puro. In grafico si notano due segnali, ovvero quello del quantifier (verde, 670 Da) e del qualifier (nero, 582 Da)

Guardando i segnali risulta evidente come i segnali non siano buoni e nonostante il qualifier mostri un bel picco rimane d'intensità bassa e la concentrazione identificata (quantificata con la retta in figura 4.14) è di 0.116 mg/ml quindi un recupero quasi nullo.

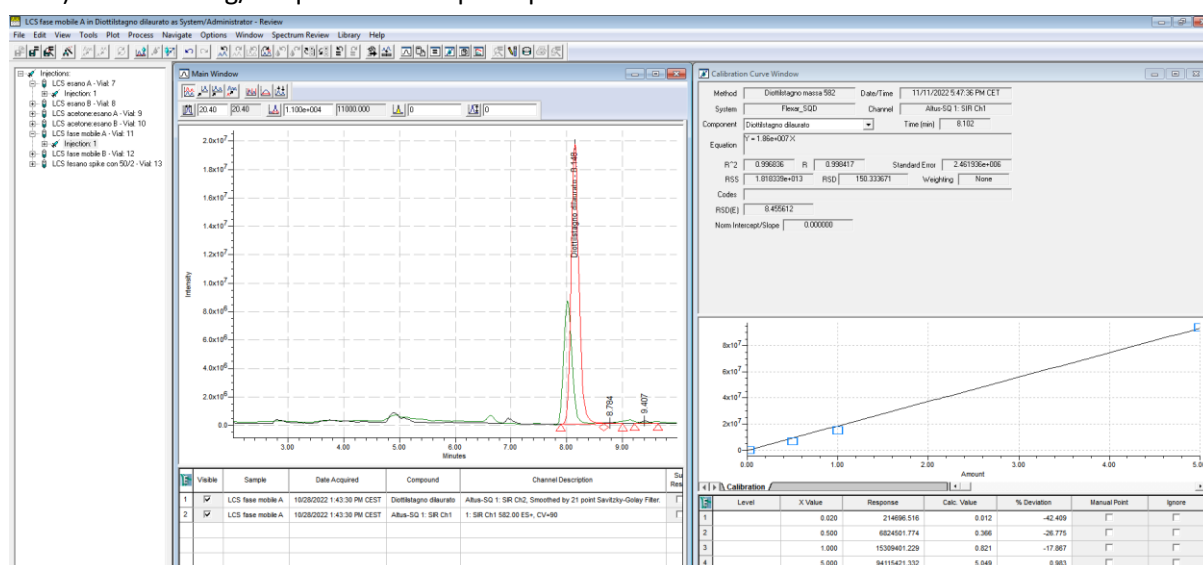


Figure 4.18: segnale registrato analizzando la soluzione ottenuta estraendo l'analita dall'LCS impiegando la fase mobile. In grafico sono sempre presenti i segnali del quantifier e del qualifier

Quest'ultimo grafico mostra un picco molto più definito e intenso per entrambi i segnali e la quantificazione, realizzata anche nel presente caso a livello del segnale della massa qualifier (582 Da) e quindi attraverso la retta in figura 4.14, è risultata pari a 11.78 mg/ml. Avendo caricato in vial un millilitro di soluzione estratta otteniamo che nella stessa siano contenuti 11.78 mg di analita, che se rapportati alla quantità iniziale applicata corrispondente a 22.16 mg corrisponde ad una percentuale di recupero del 53.16%. Contrariamente da quanto potessimo aspettarci, quindi, la soluzione con maggiore capacità estraente è la stessa fase mobile.

Dal secondo tentativo di creazione degli LCS applicando alla matrice filtrante solo mezzo millilitro di soluzione è stato ottenuto il seguente risultato.

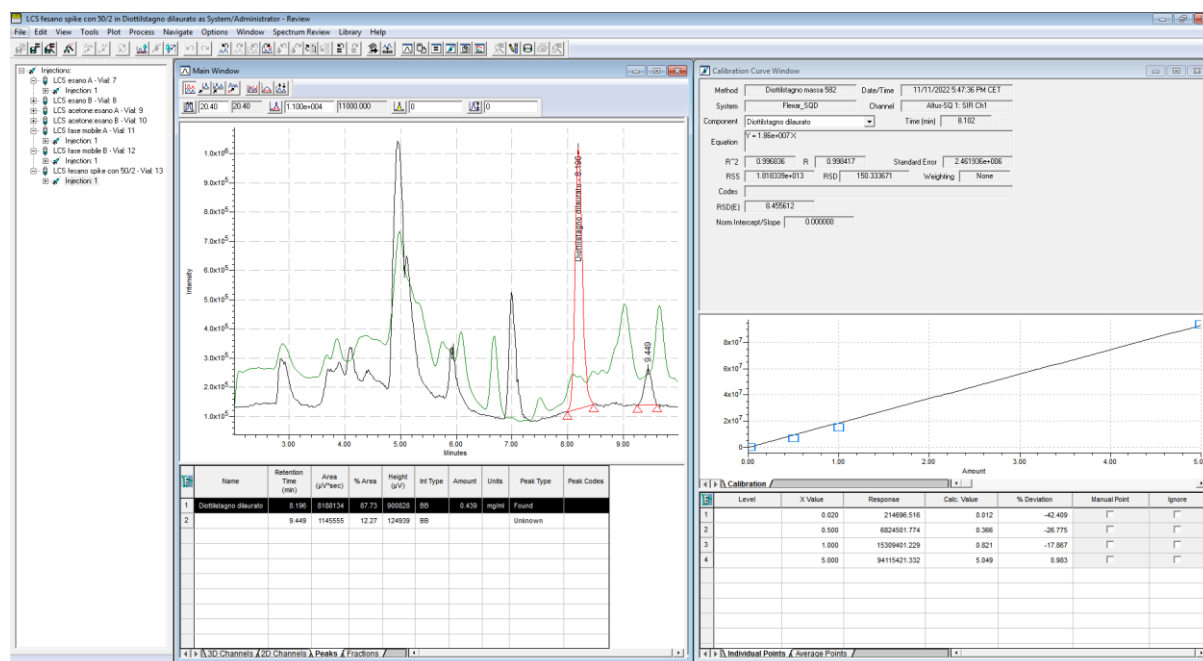


Figure 4.19: segnale registrato analizzando la soluzione ottenuta dall'LCS estratto con esano puro e realizzato applicando alla matrice 0.5 ml di soluzione rispetto che un millilitro, minimizzando di fatto la perdita d'analita per percolazione.

Come si vede a livello della colonna "Amount" sottostante il grafico, la concentrazione riscontrata è di 0.429 mg/ml a fronte di quella calcolata sul segnale ottenuto realizzando l'LCS con un millilitro di soluzione ovvero 0.116 mg/ml quindi quasi quattro volte maggiore. Ciò ci porta ad affermare che la fase di creazione degli LCS sia la più critica ed influenzi molto il recupero ottenibile.

Per motivi di tempo non è stato possibile effettuare ulteriori analisi sugli LCS così da quantificare più precisamente il recupero, ma ci riteniamo comunque soddisfatti dai dati raccolti che permetteranno futuri approfondimenti garantendo percentuali di recupero maggiori. Analizzando il risultato sulla migliore fase estraente, dal punto di vista del laboratorio che realizzerà queste analisi, apprendiamo che sarà sufficiente realizzare un'unica soluzione sia per l'estrazione, sia per la corsa avendo di conseguenza un risparmio di reagenti, strumentazione e tempo.

4.6) Analisi dei campioni realizzati in campo

Le prove di campionamento effettuate in campo sulle diverse metodologie selezionate hanno portato i seguenti risultati:

- estraendo il filtro in nitrato di cellulosa abbiamo riscontrato che lo stesso rimane più intatto a seguito del bagno ad ultrasuoni semplificando di fatto la fase successiva di recupero dopo aver portato a secchezza il campione. Dall'analisi di questo però non è stato ottenuto alcun segnale corrispondente alle masse quantifier e qualifier;
- Dall'analisi delle soluzioni campione derivanti dai prelievi realizzati tramite gorgogliamento e attraverso le fiale a carboni attivi non è stato possibile ottenere alcun dato. I segnali rilevati da queste analisi, infatti, presentano un rumore di fondo molto elevato, dato dalla complessità della matrice e di fatto non permette di associare i picchi rilevati alla presenza del DOTL.

Di conseguenza ciò che possiamo constatare è che il metodo di campionamento più adatto per questa specie è quello realizzato secondo quanto indicato dalla norma UNI 13284-1 riferita al campionamento delle polveri totali in flussi convogliati.

Infine, dall'analisi del filtro campionato in uscita dall'impianto d'abbattimento non è stato rilevato alcun segnale della presenza del DOTL né di altre specie contenute lo stagno come emerso dall'analisi realizzata con l'ICP-MS.

5 CONCLUSIONI

Avendo confermato che la metodologia che fornisce i risultati più rappresentativi sia quella di campionamento per la determinazione delle polveri totali mediante filtro in fibra di vetro, sono stati eseguiti altri tre prelievi all'ingresso dell'impianto d'abbattimento. Quest'ultimi hanno fornito risultati ottimi in quanto il diocilstagno dilaurato è stato identificato qualitativamente ma a concentrazioni inferiori a quelle visibili col presente metodo e quindi inferiori ai possibili limiti di legge applicabili all'analita. Ricordiamo inoltre che non è stata rilevata traccia dell'analita a valle dell'impianto di trattamento e post-combustione dei fumi. Questi dati, uniti alla ricerca compiuta finora per lo sviluppo della metodologia, permetteranno alla ditta d'affermare che il proprio sito non realizza emissioni della sostanza oggetto della modifica di legge e che quindi è possibile, in accordo con la pubblica amministrazione, non eseguire campioni in questo senso.

6 METODO

Elaborando i dati raccolti dalle varie prove effettuate è possibile definire il seguente metodo di campionamento ed analisi dell'analita:

- Il campionamento verrà realizzato secondo quanto riportato nella norma UNI EN 13284-1:2017 per la determinazione quantitativa delle polveri totali in condotto; essendo l'analita presente, presumibilmente, in basse concentrazioni è consigliabile campionare un volume non inferiore a 1000 L;
- Una volta arrivato al laboratorio d'analisi, il filtro, viene riposto in una vial, di dimensioni tali, da permetterne la completa immersione nella soluzione estraente senza dover ripiegare eccessivamente lo stesso. La soluzione estraente è costituita di metanolo, acqua e acido acetico nelle rispettive percentuali: 80, 16 e 4. Una volta sommerso il filtro, la vial viene riposta nel bagno ad ultrasuoni per un'ora; in questo modo l'analita passa dall'essere adeso in forma solida alla matrice (filtro in fibra di vetro) ad essere disciolto nella soluzione estraente;
- Ora viene rimosso il filtro dalla vial e la stessa viene riposta in un evaporatore al fine di portarla a secchezza. Il tempo richiesto per questo passaggio dipenderà dalla tipologia d'evaporatore impiegato e dal volume di soluzione estraente impiegato. Una volta ultimata l'evaporazione, ciò che nella vial è ora presente, viene ripreso per mezzo di lavaggi realizzati utilizzando esano; questi risciacqui dovranno coinvolgere la parete interna della vial entrata in contatto con l'analita ed i residui del filtro sedimentati nella vial. Per accertarsi che i sedimenti non trattengano parte dell'analita, questi vengono agitati per poi venire aspirati ed espulsi nella stessa vial per mezzo di una pipetta;
- Effettuato questo passaggio, si procede filtrando la soluzione ottenuta direttamente nella vial per HPLC mediante dei filtri in nylon per siringhe con porosità non inferiore a 0.45 µm al fine di tutelare l'integrità dello strumento cromatografico. La vial viene portata a volume e il medesimo viene riportato; questa specifica potrà risultare banale ma è dovuta in quanto i passaggi descritti nel punto precedente portano un'importante fonte di variabilità nel totale dell'analisi e non è possibile prevedere il volume di soluzione finale ottenuto;
- Ora la soluzione d'esano contenente l'analita viene analizzata tramite lo strumento HPLC-MS. Per le corse cromatografiche verrà impiegata come fase mobile la fase utilizzata per l'estrazione dal filtro. Disponendo della strumentazione elencata nel paragrafo dedicato, la corsa verrà realizzata con un flusso di 0.4 ml/min. A livello della sorgente ESI questa verrà impostata applicando all'elettrodo ed al controlettrodo rispettivamente, un potenziale di 2.7 kV e 90 V. Il rivelatore dovrà essere impostato per ricercare le masse qualifier (582 Da) e quantifier (670 Da). La quantificazione verrà realizzata dal software sfruttando una retta di taratura realizzata sul segnale quantifier; questa dovrà coprire un intervallo il più ampio possibile, ma dovrà, obbligatoriamente comprendere concentrazioni inferiori a quella limite, ovvero 5 mg/ml. Per garantire una buona rappresentatività dei dati inferiori al limite è suggerito di realizzare una retta di taratura con lo standard più diluito avente concentrazione pari ad un decimo del limite quindi uguale o inferiore a 0.5 mg/ml.

Per definire il suddetto limite è stato eseguito un ragionamento in merito alla possibile classe d'inquinanti riportati nell'Allegato | alla parte quinta del "Testo Unico Ambientale"; essendo il diocilstagno dilaurato una sostanza potenzialmente cancerogena è stato deciso d'inserirla a livello della tabella A1 nella classe 3 e quindi aventi un limite d'emissione in atmosfera pari a 5 mg/Nm³. Ipotizzando di campionare un metro cubo di gas e di portare la soluzione finale di ripresa dell'analita in esano ad un volume di un millilitro, si otterrà che la concentrazione limite ottenibile a livello d'analisi è di 5 mg/ml.

BIBLIOGRAFIA

- [1] [Brief Profile - ECHA \(europa.eu\)](#)
- [2] [BNT – DOTL Dioctyltin Dilaurate | BNT-chemicals](#)
- [3] Organotin catalysts in organosilicon chemistry, Jorge Cervantes,^{a*} Ramón Zárraga and Carmen Salazar-Hernández, Appl. Organometal. Chem. 2012, 26, 157–163
- [4] [Substance Information - ECHA \(europa.eu\)](#)
- [5] [DECRETO LEGISLATIVO 3 aprile 2006, n. 152 - Normattiva](#)
- [6] [DECRETO LEGISLATIVO 30 luglio 2020, n. 102 - Normattiva](#)
- [7] [DECRETO LEGISLATIVO 15 novembre 2017, n. 183 - Normattiva](#)
- [8] [Settore Ambiente e Pianificazione Territoriale della Provincia di Treviso - Linee guida camini](#)
- [9] UNI EN ISO 13284-1 - “Emissioni da sorgente fissa - Determinazione della concentrazione in massa di polveri in basse concentrazioni”
- [10] UNI CEN/TS 13649 – “Emissioni da sorgente fissa - Determinazione della concentrazione in massa di singoli composti organici in forma gassosa - Metodo per adsorbimento seguito da estrazione con solventi o desorbimento termico”
- [11] “Emissioni da sorgente fissa - Determinazione della concentrazione di massa dell'ammoniaca - Metodo manuale”
- [12] UNI EN ISO 17353
- [13] Screening for Organotin Compounds in European Landfill Leachates, I. Mersiowsky, R. Brandsch, and J. Ejlertsson, J. Environ. Qual. 30:1604–1611 (2001)
- [14] [Method 8321B: Solvent-Extractable Nonvolatile Compounds by High-Performance Liquid Chromatography/Thermospray/Mass Spectrometry \(HPLC/TS/MS\) or Ultraviolet \(UV\) Detection, part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods \(epa.gov\)](#)
- [5.2] [Quaderno BT \(isprambiente.gov.it\)](#)
- [15] ISO 16179 _ Footwear-Critical substances potentially present in footwear and footwear components -Determinazione of organotin compounds in footwear materials
- [16] Christophe Devos, Maarten Vliegen, Bart Willaert, Frank David, Luc Moens, Pat Sandra, - “Automated headspace-solid-phase micro extraction–retention time locked-isotope dilution gas chromatography–mass spectrometry for the analysis of organotin compounds in water and sediment samples”, Journal of Chromatography A, Volume 1079, Issues 1–2, 2005, Pages 408-414
- [17] Clara Coscollà, Santiago Navarro-Olivares, Pedro Martí, Vicent Yusà, “Application of the experimental design of experiments (DoE) for the determination of organotin compounds in water samples using HS-SPME and GC–MS/MS”, Talanta, Volume 119, 2014, Pages 544-552
- [18] [Method 8323: Determination of Organotins by Micro-Liquid Chromatography-Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry, part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods \(epa.gov\)](#)
- [19] [Bis\(lauroyloxy\)dioctyltin CAS#: 3648-18-8 \(chemicalbook.com\)](#)