



LEARNING TOXICOLOGY
THROUGH OPEN EDUCATIONAL
RESOURCES

CAMPIONAMENTO AMBIENTALE E MISURE ANALITICHE

Camelia DRAGHICI, Ileana MANCIULEA

Transilvania University of Braşov

c.draghici@unitbv.ro, i.manciulea@unitbv.ro



Erasmus+

This work is licensed under a Creative
commons attribution – non commercial 4.0
international license



1. INTRODUZIONE

Seguendo il flusso di monitoraggio ambientale, questa unità illustrerà come implementare la fase di esecuzione (**Figura 1.**):

- principi di campionamento e preparazione del campione per l'analisi ambientale (U 2.1);
- principi dei metodi analitici applicabili alla determinazione degli inquinanti nell'ambiente e ai requisiti di qualità per l'analisi ambientale (U 2.2).



Figura 1. Flusso di monitoraggio ambientale, fasi di esecuzione e valutazione.

Alla fine dell'Unità 2, gli studenti saranno in grado di:

- descrivere i principi dei metodi disponibili per il campionamento ambientale e la preparazione del campione;
- selezionare i metodi di campionamento e di preparazione del campione appropriati per un campione ambientale specifico ';
- descrivere i principi dei metodi analitici disponibili per l'analisi ambientale;
- identificare e selezionare i metodi analitici appropriati per le misure degli inquinanti da campioni ambientali;
- descrivere concetti introduttivi e applicazioni della metrologia in chimica per l'analisi ambientale.

Esistono diverse aree per le quali sono richiesti campionamenti e analisi ambientali:

1. **monitoraggio di routine** -ad esempio per misurare la concentrazione di inquinanti nell'ambiente e identificare le tendenze a breve e lungo termine;
2. **intervento di emergenza**- ad esempio per rilevare il rilascio accidentale di inquinanti nell'ambiente e per valutare il rischio e la tossicità per esseri umani e biota;

3. **applicazione della normativa e conformità alla normativa** - ad esempio per misurare la quantità di inquinanti rilasciati nell'ambiente (emissioni gassose, scarico delle acque reflue) al fine di soddisfare i requisiti normativi;
4. **ricerca scientifica** -per esempio studiare il destino e il trasporto di contaminanti e valutare l'efficienza dei sistemi di bonifica.

Come già accennato in U1., il campione è una parte di un sistema (ambiente), rappresentativa del luogo e del momento di campionamento. I campioni sono sistemi omogenei complessi (soluzioni) o eterogenei. Raramente analizziamo un campione monocomponente. Nella maggior parte dei casi, i campioni reali sono sistemi multicomponenti, formati da composti presenti come componente principale o componenti di traccia. Considerando la complessità di un campione ambientale, è ovvio perché la caratterizzazione di questi campioni sia un processo completo e rigoroso, che richiede una conoscenza iniziale minima del sito di campionamento e della composizione.

Un'definizione dei termini dovrebbe essere menzionata:

- *componente / composto / sostanza* è una parte della materia delimitata da una certa composizione elementare e a cui è attribuita una formula chimica;
- *analita* rappresenta il composto di interesse che è oggetto di analisi;
- *gli analiti* sono oggetto di *determinazione*;
- *i campioni* sono oggetto di *analisi*.

Alcuni tipici composti inquinanti, riscontrabili con il monitoraggio di aria, acqua o suolo, sono dati in **Tabella 1**.

Tabella 1. Composti tipici presenti in aria, acqua e suolo.

Composti	Aria	Acqua	Terreno
gas inorganici	O ₂ , CO ₂ , CO, SO _x , NO _x , Cl ₂ , H ₂ S, HCl	ossigeno disciolto (DO)	
anioni	nitrito, nitrato, solfuro, cloruro, formiato, acetato...		
metalli pesanti	molto raro	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Ni ²⁺ , Hg ²⁺ , Fe ²⁺	
COV ⁽¹⁾	COV	raro	molto raro
POP ⁽²⁾	IPA ⁽³⁾ , PCB ⁽⁴⁾ , pesticidi, esplosivi		
altro	particolato	detergenti	detergenti, acidi umico / fulvico

⁽¹⁾Composti organici volatili; ⁽²⁾ Inquinanti organici persistenti; ⁽³⁾ Idrocarburi policiclici aromatici;

⁽⁴⁾ Policlorobifenili

La tabella non presenta i parametri di monitoraggio regolamentati, ma alcuni dei gruppi di composti previsti, secondo criteri di diversità: stato di aggregazione, natura del campione e origine dei composti, composizione e idrofobicità. Da notare che i composti che si possono trovare nei campioni di acqua e di suolo sono abbastanza simili, a causa della cosiddetta "soluzione del suolo" che contiene la maggior parte delle sostanze idrosolubili disperse nelle zone interstiziali del suolo.

2. CAMPIONAMENTO AMBIENTALE

Campionamento è il termine generico che indica due distinti gruppi di operazioni:

- *operazioni pre-laboratorio*- consistente in (i) prelievo / raccolta di campioni sul posto (di solito anche denominati "campionamento"), (ii) conservazione in loco, (iii) trasporto e stoccaggio;
- *operazioni in laboratorio* - consistenti nel pre-trattamento del campione e nella preparazione per l'analisi; questo include separazione, purificazione, concentrazione o altre operazioni.

2.1. CAMPIONAMENTO

Per i composti che potrebbero subire notevoli trasformazioni durante il trasporto in laboratorio, i campioni dovrebbero essere analizzati sul posto. Per queste misurazioni sono disponibili attrezzature adeguate, basate principalmente su sensori selettivi e kit di reagenti. Sebbene le apparecchiature disponibili non siano abbastanza sensibili e precise per l'analisi delle tracce, le informazioni sulle misurazioni in loco sono molto preziose e mirano a completare la caratterizzazione finale del campione.

Tabella 2. presenta le sette fasi della vita del campione, dalla pianificazione del campionamento allo scarico del campione, quando il campione è scaduto o quando non è più necessario o valido. La tabella elenca anche alcune domande correlate da tenere in considerazione, al fine di passare in rassegna le sette fasi della vita del campione.

Tabella 2. Sette fasi della vita del campione

7 fasi della vita del campione	Aspetti correlati
1. pianificazione del campionamento	<ul style="list-style-type: none"> • quando prendere i campioni • quanto spesso verranno prelevati campioni • quali campioni raccogliere (aria, acqua, suolo) • chi prenderà il campione (custodia del campione)
2. i punti di campionamento sono identificati	<ul style="list-style-type: none"> • dove prendere i campioni
3. i campioni sono raccolti (prelevati)	<ul style="list-style-type: none"> • come raccogliere i campioni • quanti campioni prendere • quanto campione è necessario
4. i campioni vengono trasferiti in laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • come conservare i campioni • per quanto tempo il campione sarà stabile
5. i campioni vengono preparati e analizzati	<ul style="list-style-type: none"> • quale proprietà analizzare (fisica, chimica, biologica)
6. i campioni vengono trasformati in un punto dati chimico	
7. i campioni scadono e vengono scaricati	

2.1.1. IMPORTANZA DEL CAMPIONAMENTO

Il campionamento è un'attività molto importante, tenendo conto che se i campioni non sono correttamente raccolti o se non sono rappresentativi del luogo e del momento del campionamento, i dati analitici ottenuti su tali campioni non saranno affidabili, e corrisponderanno ad altre prove.

Il campionamento dipende dalla complessità e dalla quantità dei campioni e degli analiti, nonché dai requisiti di qualità del laboratorio: standard disponibili per i metodi analitici da utilizzare nella fase di misurazione, attrezzature, reagenti e materiali di riferimento o personale specializzato. Qualsiasi

informazione sulla **storia del campione** sarà utile per la scelta ottimale del metodo analitico.

2.1.2. CONSERVAZIONE E STOCCAGGIO DEI CAMPIONI AMBIENTALI

Per i composti che sono stabili o possono essere conservati durante il periodo di pretrattamento, viene utilizzata la procedura di conservazione. Dal sito di campionamento, i campioni conservati vengono trasportati al laboratorio e stoccati. Queste fasi e operazioni sono eseguite secondo gli standard (se disponibili) e tutte le informazioni devono essere accuratamente registrate sulle etichette dei campioni e su moduli standard, per essere ulteriormente utilizzate per la formulazione del risultato finale.

Etichetti di campioni contenenti informazioni su:

- nome della persona che esegue il campionamento;
- data, ora, sito e luogo del prelievo del campione

I campioni sono accompagnati da un modulo standard contenente informazioni su:

- scopo e obiettivi di campionamento;
- tipologia di ulteriori analisi;
- tipo e stato del contenitore di campionamento;
- osservazioni sulla portata dell'inquinamento e delle fonti di inquinamento;
- informazioni meteorologiche;
- condizioni di conservazione del campione.

La conservazione e lo stoccaggio di campioni ambientali, sono fasi pre-laboratorio, con l'obiettivo di evitare processi fisici o chimici (**Tabella 3.**) che potrebbe verificarsi durante il trasporto dei campioni in laboratorio.

Tabella 3. CONSERVAZIONE E STOCCAGGIO DEI CAMPIONI AMBIENTALI

Processi evitati		Conservazione / stoccaggio del campione
fisico	volatilizzazione, diffusione, adsorbimento, assorbimento	<ul style="list-style-type: none">• refrigerazione / raffreddamento• scegliere un adeguato contenitore di stoccaggio

chimico / biochimico	degradazione microbica, reazioni chimiche, reazioni fotochimiche	<ul style="list-style-type: none"> • refrigerazione / raffreddamento • scegliere un adeguato contenitore di stoccaggio • aggiunta di reagenti chimici (conservanti)
-------------------------	---	--

I processi fisici come la volatilizzazione, la diffusione, l'assorbimento o l'adsorbimento sono evitati tramite raffreddamento e scegliendo i contenitori appropriati di campionamento e stoccaggio.

I processi chimici e biochimici, così come la degradazione microbica, le reazioni chimiche o fotochimiche, vengono anch'essi evitati raffreddando e scegliendo i recipienti appropriati, oltreché aggiungendo reagenti chimici, i cosiddetti conservanti. I reagenti usati come conservanti reagiranno con determinati composti presenti nel campione. Questo metodo è accettato purché la reazione chimica sia completa e controllata qualitativamente e quantitativamente. Questi processi chimici saranno presi in considerazione durante i calcoli che porteranno ad esprimere il risultato finale.

Nella **Figura 2**, vengono presentati diversi campioni raccolti per analisi ambientali, conservati in contenitori diversi, come flaconi o sacchetti di plastica.



Figura 2. Esempi di campioni raccolti per analisi ambientali.

La tabella 4 fornisce esempi di conservazione dei campioni ambientali, quali reagenti sono utilizzati e quali processi degradativi possono essere evitati per determinati composti di interesse, di origine inorganica o organica. Per esempio:

- al fine di evitare la precipitazione di metalli nella forma dei loro ossidi o idrossidi, viene aggiunto acido nitrico, che forma nitrati metallici solubili;
- per evitare la reazione di cianuro con il cloro, si aggiunge acido ascorbico, noto come vitamina C;
- per evitare la volatilizzazione di composti organici volatili, è richiesto il riempimento completo del contenitore di campionamento;
- il campionamento in un contenitore scuro viene utilizzato per evitare la fotodegradazione dei prodotti petroliferi.

Tabella 4. Conservazione dei campioni ambientali

Analita	Processi evitati	Conservazione del campione
metalli	precipitazione di ossidi / idrossidi	HNO ₃ (PH <2)
NH ₃	volatilizzazione	H ₂ SO ₄ (pH <2)
H ₂ S e solfuri	volatilizzazione	Zn acetato e NaOH (pH> 9)
cianuro	volatilizzazione	NaOH (pH> 9)
	reazione chimica conCl ₂	acido ascorbico
composti organici disciolti	reazione chimica conCl ₂	tiosolfato di sodio
estere ftalico	diffusione attraverso la plastica	boccette di vetro o teflon
COV*	volatilizzazione	riempimento completo delle beute
ossigeno disciolto	introduzione di ossigeno dall'aria	riempimento completo delle beute
IPA**	degradazione fotochimica	boccette di vetro scuro
prodotti petroliferi	adsorbimento su materie plastiche	boccette di vetro

*COV - composti organici volatili; ** IPA - idrocarburi policiclici aromatici

2.2. PRE-TRATTAMENTO / PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il pre-trattamento / preparazione del campione è il secondo gruppo di operazioni, come fase di pre-analisi, da eseguire sui campioni in laboratorio. Lo scopo della preparazione del campione è di portare i campioni in una forma misurabile.

La preparazione del campione comporta operazioni mirate sia al campione che all'analita:

- operazioni che interessano il campione:
 - ponderazione, essiccazione, setacciatura - usato per omogeneizzare il campione o rimuovere l'umidità;
 - cambiamenti di fase del campione (liquido) - adeguato per gli strumenti analitici;
- operazioni che interessano l'analita:
 - aumento / diminuzione della concentrazione dell'analita (concentrazione / diluizione) - dipende dalla concentrazione dell'analita nel campione;
 - dissoluzione - si basa sulle proprietà di solubilità degli analiti; a volte la dissoluzione si basa anche su reazioni chimiche (dissoluzione chimica);
 - rimozione dei composti interferenti - separazione / purificazione dell'analita dalla matrice del campione; viene fatto per distinguere gli analiti di interesse dal resto dei composti, che coesistono nel campione; queste "impurità" potrebbero introdurre informazioni interferenti, simili all'analita di interesse, generando così errori e incertezza nel risultato finale;
 - rilascio dell'analita di interesse dalla matrice del campione - aumenta la risposta del rivelatore;
 - modifica della struttura chimica dell'analita - derivatizzazione chimica che consiste nella trasformazione chimica degli analiti in un nuovo composto chimico, adeguato ai sistemi di misurazione e / o rilevamento.

Tenendo conto delle modifiche fisiche o chimiche che si verificano durante il pre-trattamento del campione, siano esse operazioni semplici o più complesse, la **tabella 5** fornisce esempi di tali operazioni di preparazione del campione.

Tabella 5. Operazioni di preparazione del campione.

Operazione fisica		Operazioni chimiche	
Semplice	Complesso		
<ul style="list-style-type: none"> • pesatura • asciugatura • concentrazione • diluizione 	<ul style="list-style-type: none"> • dissoluzione • distillazione • filtrazione • ad / assorbimento • estrazione 	<ul style="list-style-type: none"> • dissoluzione chimica • precipitazione • scambio ionico • chelazione • derivatizzazione chimica 	

Metodo di separazione utilizzato nel pre-trattamento del campione

La maggior parte delle operazioni utilizzate nel pre-trattamento del campione sono basate su processi di separazione e ci sono diverse modalità per classificarle e raggrupparle. La classificazione che proponiamo si basa sul diverso equilibrio di fase:

- *equilibriogas-liquido*: assorbimento, estrazione, distillazione;
- *equilibriogas-solido*: adsorbimento, estrazione;
- *equilibrioliquido-liquido*: tecniche di estrazione liquido-liquido;
- *equilibrio liquido-solido*: filtrazione, centrifugazione, ad / assorbimento, estrazione in fase solida (microestrazione in fase solida, estrazione con solvente, estrazione Soxhlet, estrazione per sonicazione, estrazione assistita da microonde);

Tutti questi processi contribuiscono alla separazione di alcuni analiti specifici dal resto della matrice. Le operazioni di separazione si stanno attualmente sviluppando in termini di metodo (principio) e tecnica (attrezzatura) perché gli analisti hanno compreso l'importanza del campionamento (compresa la fase di pretrattamento) per le misurazioni e l'elaborazione dei dati. Solo un campione adeguatamente pre-trattato potrà garantire un'incertezza limitata del risultato finale.

Da tutti i possibili composti inquinanti dati in **Tabella 1.**, presenteremo inoltre due principali classi di inquinanti, considerati di interesse per il monitoraggio ambientale, con esempi di procedure tipiche di pre-trattamento:

1. cationi dei metalli pesanti, dalla classe degli inquinanti inorganici;
2. composti organici, raggruppati in base alle loro proprietà specifiche (COV, POP), alla composizione specifica (IPA, PCB) o all'uso specifico (pesticidi, detergenti).

2.2.1. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI DEI METALLI PESANTI

Il campionamento per l'analisi dei metalli pesanti si basa su un principio molto semplice: portare i cationi in una *forma solubile, stabile e misurabile*:

- sia come cationi monoatomici (Cu^{2+} , Fe^{2+} , eccetera);
- sia come composti metallici (inorganici o organici), dove gli atomi metallici sono collegati a un altro gruppo di atomi, formando diverse specie misurabili - ioni o molecole neutre.

Tecniche di pre-trattamento utilizzate per campioni liquidi

Al fine di solubilizzare i metalli pesanti, vengono utilizzati *lo scambio ionico, la precipitazione o la chelazione*, che trasformano il composto di interesse in una forma estraibile, seguiti dall'estrazione di questo. Appena ottenute le forme solubile e estraibile dei metalli pesanti, le loro soluzioni sono pronte per l'analisi chimica.

Tra le tecniche di estrazione utilizzate per la preparazione dei metalli pesanti per l'analisi da campioni liquidi si menzionano:

- **estrazione liquido-liquido (LLE)** - con solventi di diverse polarità;
- **estrazione in fase solida (SPE)**- consistente nella ritenzione / adsorbimento di campioni di metallo su un adeguato adsorbente, seguito dal desorbimento con un solvente organico adatto o con uno inorganico, come anche l'acqua.

Tecniche di pre-trattamento utilizzate per campioni solidi

Il pretrattamento di campioni per l'analisi di metalli pesanti da campioni solidi viene effettuato mediante semplice dissoluzione in acqua (fredda o calda), mineralizzazione o digestione. La **mineralizzazione** consiste nel trasformare le specie inorganiche e organiche in composti inorganici semplici (minerali).

Le seguenti tecniche di **digestione** sono disponibili per la preparazione dei campioni finalizzata all'analisi dei metalli pesanti:

- digestione acida - con acidi forti o forti miscele acide con un potente ossidante (HCl , HF , HNO_3 , acqua regia, H_2SO_4 con H_2O_2);
- digestione alcalina - con NaOH o KOH , specialmente quando i metalli pesanti di interesse hanno carattere anfotero (Cr , Mn);

- disaggregazione per mezzo di fusione con fondenti (NaOH o $K_2S_2O_8$) seguita dalla dissoluzione dei composti ottenuti;
- calcinazione ad alta temperatura - seguita dalla dissoluzione dei composti che causa la cenere di calcinazione, nelle condizioni acide o alcaline sopra menzionate;
- digestione ad alta pressione - in contenitori per digestione;
- digestione a microonde - combina l'effetto della pressione con quello della temperatura.

2.2.2. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER ANALISI DI INQUINANTI ORGANICI

Il pretrattamento dei campioni per l'analisi dei composti organici si basa su un principio simile a quelli usati per l'analisi dei metalli pesanti: estrarre il composto organico dalla matrice del campione in una forma solubile e stabile. Questa fase di preparazione dipende dallo stato di aggregazione della matrice del campione: liquido o solido.

A causa delle strutture più complesse dei composti organici (rispetto a quelli inorganici), le tecniche di estrazione utilizzate nella fase di pre-trattamento si basano sulle diverse proprietà fisiche degli analiti: trasformazioni di fase; proprietà assorbenti; solubilità in solventi polari o non polari.

Estrazione di inquinanti organici da campioni liquidi

I composti organici volatili (COV) sono separati mediante estrazione statica dello spazio di testa (estrazione in vapori saturi) o mediante estrazione purge and trap (vaporizzazione seguita da condensazione). I composti organici semi-volatili (COSV) e i composti organici non volatili (CONV) vengono separati in due fasi: il primo stadio è finalizzato all'ottenimento di un liquido omogeneo ed è seguito dalla fase di estrazione.

Per la separazione di COSV e CONV si utilizzano inquinanti provenienti da campioni liquidi:

1. estrazione liquido-liquido (LLE)
2. estrazione in fase solida (SPE) e microestrazione in fase solida (SPME)

Estrazione di inquinanti organici da campioni solidi



Per l'estrazione di composti organici semi-volatili e non volatili da campioni solidi, le seguenti tecniche sono maggiormente applicabili:

- Estrazione Soxhlet (automatizzata),
- estrazione accelerata con solventi (ASE),
- estrazione con solvente a ultrasuoni (USE),
- estrazione con solvente sotto pressione (PSE),
- estrazione assistita da microonde (MAE).

Come applicazione specifica abbiamo esemplificato tecniche per l'estrazione di pesticidi da campioni liquidi o solidi. Nella **Tabella 6**, vengono presentate le tecniche di estrazione, con le applicazioni corrispondenti a seconda dello stato di aggregazione dei composti rispetto al campione. Potrebbero essere interessanti anche altre informazioni come i costi o informazioni tecniche (come il tempo di estrazione).

Tabella 6. Esempi di estrazione di pesticidi da campioni ambientali liquidi e solidi.

Tecnica di estrazione	Applicazioni	Costi	Tempo di estrazione
LLE	Composti COV, COSV, CONV in campioni liquidi	basso	1 h
SPE		media	30 min
SPME		basso	30 min
Soxhlet	Composti COVS, CONV in campioni solidi	basso	12-48 h
UTILIZZO		media	15-30 minuti
MAE		media	15 min.
ASE (PSE)		alto	20-30 minuti

Sulla base della complessità del campione, l'analista sceglierà le operazioni di pre-trattamento più adeguate, a meno che non siano soggette a standardizzazione, considerando diversi criteri di selezione basati sulle caratteristiche di prestazione: selettività; specificità; precisione e accuratezza; riproducibilità; recupero.

Informazioni particolari per il campionamento di aria, acqua o suolo e pre-trattamento del campione saranno illustrate nel capitolo 6.4.

3. ANALISI AMBIENTALE

La maggior parte delle analisi ambientali sono regolate da standard, che sono soggetti a revisione di volta in volta, a seconda dei metodi analitici e dello stato di sviluppo delle attrezzature. Inoltre, a volte il campione potrebbe essere più complesso dello standard disponibile. Pertanto, lo scopo dei seguenti paragrafi è presentare i *principi di base dei metodi analitici e non degli standard ambientali europei o di altri standard internazionali*. Riteniamo che la comprensione dei principi dei metodi e delle tecniche analitiche contribuirà all'uso adeguato di questi, correlando tutte le informazioni disponibili.

La chimica analitica è la scienza che studia e utilizza metodi e strumenti sviluppati per separare, identificare e quantificare la composizione di materia / campione.

L'analisi chimica rappresenta una somma delle operazioni sul posto o in laboratorio eseguite per fornire informazioni qualitative e quantitative in merito alla composizione di un campione complesso. L'analisi chimica di un campione consiste nel caratterizzarlo dal punto di vista della sua composizione chimica e, in linea di principio, si basa su una proprietà misurabile del soluto (analita), a volte della soluzione (campione).

3.1. PRINCIPI DEI METODI ANALITICI

Principi dei metodi analitici si basano su una proprietà misurabile (P) dell'analita (A): massa, volume, proprietà termica, elettrica o ottica.

Lo sviluppo dei **metodi analitici**, in termini di meccanismi o attrezzature, ha consentito lo sviluppo di nuove **tecniche analitiche** dello stesso metodo, nel senso che la tecnica analitica è definita dalla stessa proprietà misurabile. Le tecniche analitiche appartengono allo stesso metodo, avendo lo stesso principio, ma sono sviluppate sulla base di diversi meccanismi di misurazione.

La determinazione della composizione chimica di un campione impone due tipi di informazioni da acquisire: *informazioni qualitative* (analisi qualitativa o identificazione); *informazioni quantitative* (analisi quantitativa o quantificazione). Per analisi quantitativa si intende l'individuazione di *proprietà misurabili (P)* che possono essere correlate in funzione della *concentrazione dell'analita (CA)*, basata su leggi fisico-chimiche: $P = f(CA)$. Non è possibile determinare

informazioni quantitative affidabili senza una caratterizzazione qualitativa corretta e completa del campione.

3.2. CLASSIFICAZIONE DEI METODI ANALITICI AMBIENTALI

I metodi analitici possono essere raggruppati in due categorie:

- **metodi analitici classici** - detti anche metodi chimici umidi;
- **metodi analitici moderni o strumentali**; gli analiti sono soggetti a trasformazione fisica durante le misurazioni, quindi sono metodi non distruttivi; questi metodi utilizzano curve di calibrazione per determinazioni quantitative ottenute su soluzioni standard $P = f(CA)$.

I metodi chimici (classici) sono stati sviluppati per primi, dipendendo dallo sviluppo della tecnologia nel tempo e si basano sulle reazioni chimiche che avvengono tra l'analita e i reagenti specifici, quindi sono metodi distruttivi. I metodi analitici strumentali si sono sviluppati più recentemente, sulla base della trasformazione fisica dell'analita, quindi non sono distruttivi.

A volte è necessaria una combinazione di trasformazione fisica e chimica e i metodi sono quindi chiamati fisico-chimici. Di solito, si verifica un pretrattamento chimico dell'analita (ad esempio una derivatizzazione), seguito da una trasformazione della proprietà fisica.

Nella **Tabella 7**, vengono presentati i principali metodi analitici e le relative tecniche, con informazioni sulla proprietà misurata, di cui verranno ulteriormente presentati i metodi più comunemente utilizzati: tecniche gravimetriche, titrimetriche, spettrometriche e cromatografiche.

Tabella 7. Metodi e tecniche utilizzati per l'analisi ambientale.

Metodi	Tecniche	Proprietà misurata
Gravimetrico ⁽¹⁾ , ⁽²⁾	<ul style="list-style-type: none">• elettrogravimetria• termogravimetria	massa di puro analita o di una miscela
Titrimetrico ⁽¹⁾ , ⁽²⁾	<ul style="list-style-type: none">• acido-base• Ossido-riduzione• precipitazione• complesso	volume della soluzione di un reagente standard che reagisce con l'analita

Metodi elettrochimici ⁽³⁾ , (4)	<ul style="list-style-type: none"> voltammetria potenziometria conduttometria 	proprietà elettriche delle soluzioni dell'analita: potenziale, forza elettromotrice, conducibilità
Spettrometria ⁽³⁾ , (4)	<ul style="list-style-type: none"> spettrometria atomica / molecolare spettrometria di assorbimento / emissione 	lunghezza d'onda e intensità della radiazione elettromagnetica emessa o assorbita dall'analita
Cromatografia ⁽³⁾ , (4)	<ul style="list-style-type: none"> gascromatografia cromatografia liquida 	ripartizione dell'analita tra due fasi non miscibili (fase mobile e stazionaria)

(1) - analisi quantitativa; (2) - concentrazione di inquinanti a livello maggiore, minore, a volte tracce; (3) - analisi qualitativa e quantitativa; (4) - concentrazione di inquinanti a livello maggiore, minore o di tracce.

3.2.1. METODI DI CHIMICA UMIDA E APPLICAZIONI NELL'ANALISI AMBIENTALE

La gravimetria è un metodo chimico classico, il cui *principio* si basa sulla misurazione della massa di un analita da solo o, nella maggior parte dei casi, sulla massa di un prodotto, ottenuta durante una reazione chimica.

Il metodo è applicato per campioni ambientali, per la determinazione dell'umidità, o del contenuto di solidi, oli e grassi.

La titrimetria è anch'essa un metodo chimico classico, il cui *principio* si basa sulla reazione tra l'analita e un reagente specifico (acido / base, ossidoriduzione, precipitazione o reagente complessante), misurando il volume di una soluzione standard di un composto coinvolto nella reazione di titolazione.

Le tecniche titrimetriche sono utilizzate per l'analisi ambientale, come:

- titolazione acido-base per acidità, determinazione alcalinità;
- titolazione ossidoriduzione per la determinazione di cloro e solfuro residui;
- titolazione delle precipitazioni per la determinazione del cloruro;
- titolazione della complessazione per la determinazione del cianuro.

3.2.2. TECNICHE SPETTROMETRICHE E APPLICAZIONI NELL'ANALISI AMBIENTALE

La tabella 7. mostra alcune tecniche spettrometriche con informazioni sul principio del metodo ed esempi di applicazioni nelle analisi ambientali. Le tecniche spettrometriche possono essere di adsorbimento o emissione, per determinazioni atomiche o molecolari. Questa vasta gamma di principi consente l'uso di tecniche spettrometriche per determinare un gran numero di inquinanti nei campioni ambientali. Ad esempio, la spettrometria di assorbimento atomico viene utilizzata per determinare i metalli pesanti nell'analisi di tracce, mentre la spettrometria di adsorbimento molecolare consente la determinazione di composti organici inorganici e insaturi (Tabella 8.).

3.2.3. TECNICHE CROMATOGRAFICHE E APPLICAZIONI NELL'ANALISI AMBIENTALE

Un altro gruppo di metodi analitici utilizzati nell'analisi ambientale è la cromatografia, in grado di fornire informazioni complesse: *separazione, qualitativa, quantitativa, oltre che strutturale*. Il *principio* della cromatografia è la distribuzione differenziata di analiti tra due fasi immiscibili tra loro, una fase mobile (un gas o un liquido) e una stazionaria (un liquido o un solido).

Tabella 8. Tecniche spettrometriche e loro applicazioni nelle analisi ambientali.

Tecnica	Acronimo	Principio	Applicazioni
AES (Atomic Emission Spectrometry) spettrometria di emissione atomica	AES ICP-AES	emissione atomica in arco, in fiamme; emissione atomica al plasma	metalli e non metalli (tracce)
Spettrometria atomica a fluorescenza		emissione atomica a fluorescenza	Hg, idruri non metallici (tracce)
Fluorimetria		emissione molecolare	IPA
Spettrometria ad assorbimento atomico	AAS	assorbimento atomico	metalli e non metalli (tracce)

Spettrometria UV-VIS	UV/VIS	assorbimento molecolare	specie inorganiche e composti organici insaturi
Spettrometria IR	IR	assorbimento molecolare	gas, soluzioni o solidi di composti inorganici o organici
Spettrometria di massa	MS	ionizzazione molecolare e frammentazione	identificazione e analisi strutturale di composti organici

La gascromatografia, la cromatografia liquida e la cromatografia ionica sono state applicate per la separazione e la determinazione qualitativa e quantitativa di inquinanti da campioni ambientali (Tabella 9.). Ad esempio, la gascromatografia viene utilizzata per analisi di inquinanti gassosi, composti organici volatili o semi-volatili.

Tabella 9. Tecniche cromatografiche e loro applicazioni nelle analisi ambientali.

Tecnica cromatografica	Applicazioni
Gascromatografia (GC)	gas, COV, COSV
Cromatografia liquida (LC)	COSV, CONV (pesticidi, IPA, PCB)
Cromatografia ionica (IC)	specie ioniche e molecole polari

Le tecniche cromatografiche sono idonee tecniche ifonate, accoppiate con la spettrometria di massa (MS), che svolge un ruolo importante nell'identificazione (informazioni strutturali) dei composti organici:

- GC-MS; GC-MS-MS;
- LC-MS; LC-MS-MS.

3.2.4. FASI NELLE MISURAZIONI AMBIENTALI CHE RICHIEDONO UNA METODOLOGIA

Per l'analisi ambientale, di solito sono disponibili standard di campionamento, preparazione dei campioni e metodi analitici, ma a volte il campione potrebbe essere più complesso o inadeguato per uno standard particolare. Pertanto, tutte queste operazioni sono soggette allo sviluppo del metodo (Figura 3.).

I metodi analitici hanno richiesto un lungo periodo di sviluppo del metodo, con ricerche specializzate condotte da analisti chimici, in laboratori professionali. Successivamente, considerando l'impatto del campionamento e della

preparazione del campione sull'incertezza totale del risultato finale, sono stati sviluppati nuovi metodi e tecniche relativi a queste fasi analitiche.

Quando non è disponibile uno standard o quando anche se disponibile lo standard non è applicabile in un determinato laboratorio, l'analista è nella posizione di scegliere i metodi e le tecniche più adeguati, sia per la preparazione del campione che per l'analisi. La scelta di queste tecniche dovrebbe tenere conto di diversi criteri di valutazione: a seconda del campione; a seconda della prestazione e convalida dei metodi; a seconda del laboratorio di analisi.

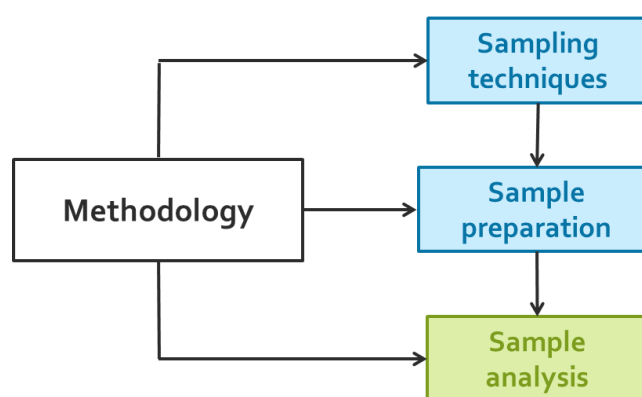


Figura 3. Fasi del processo analitico che richiedono lo sviluppo del metodo.

3.3. REQUISITI DI QUALITÀ PER LE MISURE AMBIENTALI

Considerando le fasi di esecuzione del flusso di monitoraggio, la **figura 4.** rappresenta l'intero processo analitico che è soggetto alla garanzia della qualità e al controllo di qualità (QA / QC).

La società moderna si basa sulle misurazioni. Il 40% delle direttive UE si riferisce alle misurazioni: nella tecnologia, nel commercio, nei regolamenti, a conferma della dichiarazione. La società moderna richiede qualità nei risultati delle misurazioni chimiche, in modo tale da renderle accessibili ovunque. Esistono due modi per garantire la qualità delle misure chimiche: (1) l'applicazione dei sistemi di gestione di qualità e certificazione (ISO / IEC 17025, 1999); (2) l'applicazione dei principi della scienza della misurazione (metrologia) alle misure chimiche (metrologia in chimica - MiC). Perciò, Il MiC è

stato sviluppato sulla base della necessità di confrontare e disporre di un sistema uniforme per riportare i risultati.

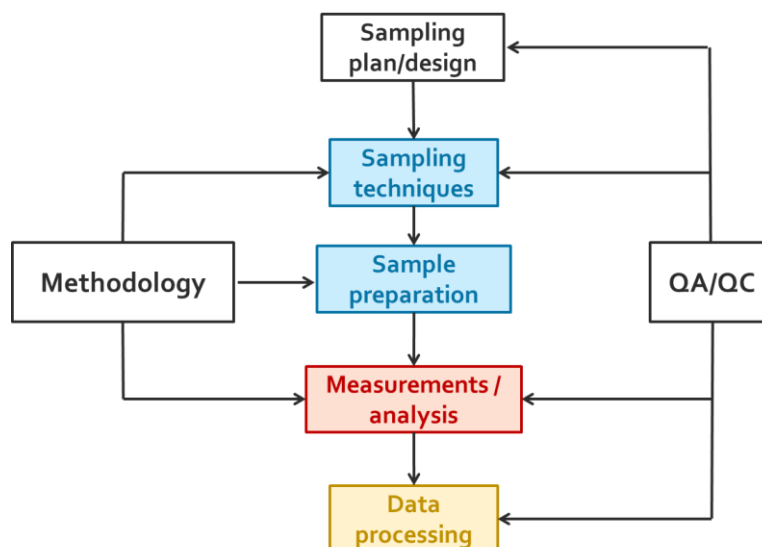


Figura 4. Processo analitico che richiede garanzia di qualità (quality assurance) e controllo di qualità (quality control).

Al fine di garantire la qualità dei risultati delle misurazioni chimiche, nel 1999 è stato lanciato lo standard di certificazione ISO / IEC 17025 (ultima versione del 2017), concepito come guida per i requisiti generali per la competenza nell'esecuzione di test e / o calibrazioni, incluso il campionamento, con metodi standard, metodi non standard o anche metodi sviluppati in laboratorio. Lo standard ISO / IEC 17025 si basa sui seguenti obiettivi:

- fornire una base che sarà utilizzata dagli organismi di accreditamento per valutare la competenza dei laboratori;
- stabilire i requisiti generali per dimostrare la conformità del laboratorio a eseguire prove o calibrazioni specifiche;
- dare assistenza nello sviluppo e nell'attuazione del sistema di qualità di un laboratorio.

La certificazione consente al laboratorio di dimostrare che i risultati sono giustificati da uno standard riconosciuto e non cambiano al cambiare del personale di laboratorio o delle circostanze. La certificazione ISO / IEC 17025 è applicabile a qualsiasi organizzazione che esegue test e / o calibrazioni. È utilizzata da: (i) laboratori accreditati o in fase di accreditamento; (ii) organismi di accreditamento; (iii) autorità regolatorie.

Per ottenere l'accreditamento, il laboratorio deve fornire informazioni relative all'origine del metodo (standard o non standard), un confronto con i metodi standard che sostituisce (se applicabile) e la procedura di convalida dei dati.

3.4. METROLOGIA IN CHIMICA

La metrologia nella chimica presuppone che l'analisi chimica si basi sul campionamento e sulle misure, entrambe fasi che contribuiscono all'incertezza di misura. I principi metrologici sono importanti per tutti gli analisti che si occupano di misurazioni chimiche, ovvero i temi più rilevanti di interesse per il MiC, la cui *validazione del metodo e stima dell'incertezza* saranno ulteriormente illustrati in questa unità:

- a. stabilire *la tracciabilità* dei risultati delle misurazioni,
- b. utilizzare *metodi convalidati* di analisi,
- c. stimare *l'incertezza dei risultati di misurazione*,
- d. utilizzare *materiali di riferimento certificati (CRM)* e
- e. partecipazione a *test di abilità (PT) schemi e confronto inter laboratorio (ILC)*.

EURACHEM è una rete di organizzazioni in Europa con l'obiettivo di istituire un sistema per la tracciabilità internazionale delle misurazioni chimiche e per la promozione di pratiche di buona qualità. EURACHEM ha pubblicato una serie di guide su questioni legate alla qualità e alla certificazione nella misurazione analitica, per tutti gli argomenti di interesse sopra menzionati (a - e). Tutte le guide sono disponibili sul sito web di EURACHEM.

3.4.1. CONVALIDA DEL METODO

Secondo la Guida EURACHEM (2014), la validazione del metodo è il processo di definizione di un requisito analitico, e conferma che il metodo in esame ha capacità di prestazione coerenti con quanto richiesto dall'applicazione. La convalida fornisce inoltre la conferma, mediante esame e fornitura di prove obiettive, che i requisiti particolari di un determinato uso previsto siano soddisfatti, o **adatti allo scopo**. Un metodo deve essere convalidato ogni volta che si verifica un cambiamento nel processo analitico, e il laboratorio deve dimostrare che i suoi parametri di prestazione sono adeguati per il suo uso in un particolare problema analitico, ovvero:

- è stato sviluppato un nuovo metodo;
- il metodo esistente è stato rivisto;

- il metodo sta cambiando nel tempo;
- il metodo è utilizzato in un altro laboratorio, o con diversi analisti o strumenti diversi;
- il metodo è equivalente a un altro, ad esempio uno standard.

Per convalidare un metodo è obbligatorio dimostrare i seguenti criteri di prestazione del metodo: specificità / selettività, precisione, accuratezza, linearità e gamma di linearità, limite di rilevazione (LOD), limite di quantificazione (LOQ) e durezza / robustezza. Come presentato nella Tabella 10. non tutti i parametri di prestazione del metodo sono richiesti per qualsiasi procedura di validazione. Dipende dallo scopo analitico: test di identificazione; test di impurità; test di analisi.

Tabella 10. Criteri di prestazione del metodo dipendenti dallo scopo analitico.

Parametro prestazione-metodo	Test di identificazione	Test di impurità		Test di analisi
		Test del limite di impurità	Test di impurità quantitativa	
selettività e specificità	+	+	+	+
accuratezza	-	-*	+	+
precisione	-*	-	+	+
linearità e gamma lineare	-*	-	+	+
limite di rilevamento (LOD)	-*	+	-	-
limite di quantificazione (LOQ)	-*	-	+	-
robustezza	+	+	+	+

* può essere eseguito

Selettività e specificità sono misure che valutano l'affidabilità delle misurazioni in presenza di interferenze. Un metodo è selettivo se produce risposte per un gruppo di entità chimiche o analiti che possono essere distinti l'uno dall'altro, mentre il metodo è specifico se produce una risposta solo per un singolo analita.

La **precisione** fornisce il grado di diffusione dei dati ed è suddivisa in due componenti: *precisione e accuratezza*.

L' **accuratezza** di un metodo è la misura di quanto vicina sia la media di un insieme di risultati (prodotto dal metodo) al valore reale. Poiché il vero valore è sempre ignoto, esso viene sostituito da un valore di riferimento, e stimato secondo il valore medio. La valutazione pratica dell'accuratezza si basa sul confronto dei risultati medi di un metodo con i valori di riferimento. E' utilizzato

soprattutto il test di recupero (R), basato sull'aggiunta di un campione bianco con una quantità nota del composto di interesse puro e stabile (valore di riferimento), e calcolato con l'equazione 1.

La precisione del metodo misura quanto i risultati siano vicini tra loro. La precisione può essere valutata come: precisione di ripetibilità intra-laboratorio; precisione di riproducibilità intra-laboratorio (o precisione intermedia); precisione di riproducibilità inter-laboratorio. Solitamente, la precisione è espressa da misure come deviazione standard (s o SD), dispersione (s²), o deviazione standard relativa (% di RSD), secondo le equazioni 2-3:

$$R = \frac{C_F - C_I}{C_A} 100 \quad 1.$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{X} - X_i)^2}{n-1}} \quad 2.$$

$$RSD = \frac{s}{x} \cdot 100 \quad 3.$$

dove: C_F è la concentrazione finale del campione arricchito; C_I è la concentrazione iniziale prima dell'addizione; C_A è la concentrazione della soluzione aggiunta; X_i sono i valori discreti misurati, \bar{X} è il valore medio di n misurazioni ripetute.

La linearità e la gamma di linearità forniscono informazioni sulla capacità del metodo di produrre una risposta al segnale (proprietà misurabile) in una relazione lineare con le concentrazioni (o quantità) dell'analita. All'estremità inferiore dell'intervallo di concentrazione i fattori limitanti sono i valori dei limiti di rilevazione e / o quantificazione.

Il limite di rilevamento (LOD) rappresenta il contenuto più basso dell'analita che può essere misurato con ragionevole certezza statistica. Fornisce un'informazione "qualitativa".

Il limite di quantificazione (LOQ), rappresenta il contenuto più basso di un analita che può essere determinato con accuratezza accettabile nelle condizioni specificate nel test. Fornisce informazioni "quantitative".

Robustezza e durezza sono misure della capacità del metodo di produrre risultati non influenzati da variazioni, interrogando il parametro metodo (robustezza) o le condizioni operative (durezza).

3.4.2. STIMA DELL'INCERTEZZA

Secondo la Guida EURACHEM (2012), l'incertezza (U) è un parametro associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori che potrebbero essere ragionevolmente attribuiti al misurando (risultato). L'incertezza può essere espressa come deviazione standard relativa (RSD) e intervallo di confidenza.

La stima dell'incertezza è **richiesta** ogni volta che:

- una nuova procedura / metodo è introdotto nel laboratorio;
- un importante parametro di processo viene modificato (strumentazione, tipo di campione);
- un nuovo metodo è validato;
- **non è richiesta** per analisi giornaliere.

La **tabella 11**, presenta le fonti di incertezza, derivanti sia dal campionamento che dalle misurazioni analitiche.

Tabella 11. Fonti e stime dell'incertezza

Contributi all'incertezza	Simbolo	Fonti di incertezza
Contributo del campionamento	U_S	campionamento, trasporto, stoccaggio
Contributo delle misure	U_M	strumentazione, purezza dei reagenti, condizioni di misurazione
Totale incertezza	U	$U = U_S + U_M$

Ci sono due passi da seguire per stimare l'incertezza:

1. identificare le fonti di incertezza e costruire il diagramma di Ishikawa ;;
2. calcolare l'incertezza considerando le fonti, che hanno il ruolo più rilevante nell'incertezza totale.

Il diagramma di Ishikawa può essere costruito separatamente considerando le fonti di incertezza derivanti dal campionamento, dalle misurazioni su soluzioni standard (**Figura 5.**), o su campioni reali (**Figura 6.**). È stato dimostrato che il contributo del campionamento all'incertezza totale è piuttosto considerevole, a volte arriva fino all'80% del valore U.

Per il cliente, la stima dell'incertezza significa che il risultato finale (R) è annunciato come somma tra la concentrazione media (C) e il contributo di incertezza (equazione 4).

$$R = C \pm U \quad 4.$$

Per la stima dell'incertezza di laboratorio si dà il grado di fiducia associato alla procedura analitica.

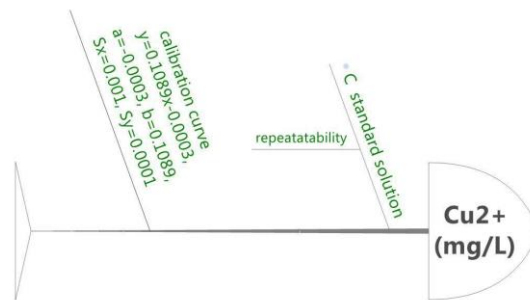


Figura 5. Il diagramma di Ishikawa per le fonti di incertezza sulle soluzioni standard.

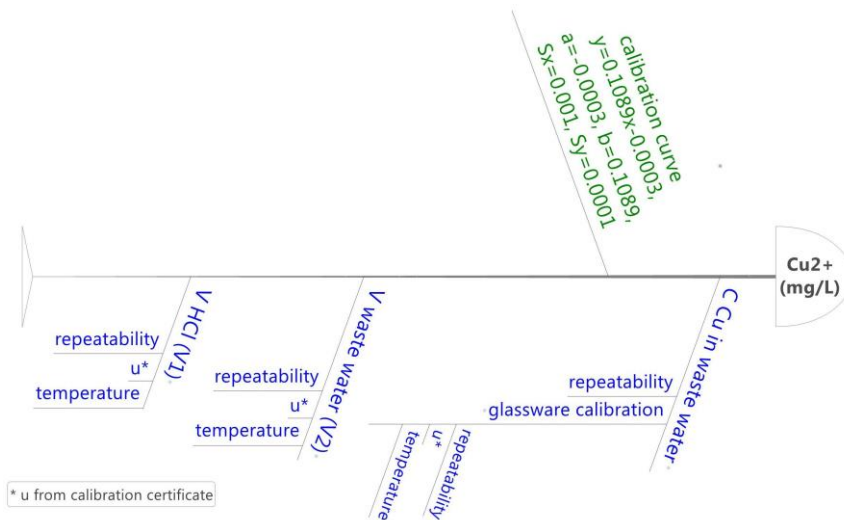


Figura 6. Il diagramma di Ishikawa per le fonti di incertezza sui campioni di acque reflue.

RIFERIMENTI

1. Chirila, E., Draghici, C., Analytical Approaches for Sampling and Sample Preparation for Pesticides Analysis in Environmental, Food and Biological Samples, in Simeonov, L.I., Macaev, F.Z., Simeonova, B.G. (Eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2013, 37-54.
2. Chirila, E., Draghici, C., Analytical Approaches for Sampling and Sample Preparation for Heavy Metals Analysis in Biological Materials, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B.G. (Eds.), Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2011, 129-143.
3. Chunlong C.Z., Fundamentals of Environmental Sampling and Analysis, John Wiley & Sons, Hoboken NJ, USA, 2007.
4. Colbeck, I., Draghici, C., Perniu, D., (Eds), Environmental Pollution and Monitoring, in EnvEdu series, ISSN 1584-0506, ISBN 973-27-1169-8, Romanian Academy Press, Bucharest, 2003.
5. Draghici, C., Chirila, E., Complex Characterization of Polluted Samples, in L. Simeonov, M. Hassanien (Eds.), Exposure and Risk Assessment of Chemical Pollution – Contemporary Methodology, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2009, 165-180.
6. Draghici, C., Galan, E., Stoian, M.G., Method Validation for Pesticides Identification, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B. G. (Eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2013, 365-380.
7. Draghici, C., Jelescu, C., Dima, C., Coman, Gh., Chirila, E., Heavy Metals Determination in Environmental and Biological Samples, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B. G. (Eds.), Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2011, 145-158.
8. Patnaik P., Handbook of Environmental Analysis, 2nd Edition, Chemical Pollutants in Air, Water, Soil, and Soil Wastes, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton FL, USA, 2010.
9. Taverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E., Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, Trends in Analytical Chemistry, 23(8), 2004, 535- 552.
10. ISO/IEC 17025:1999; ISO/IEC 17025:2005; ISO/IEC 17025:2017.
11. Terminology in Analytical Measurement: Introduction to VIM 3.

12. EURACHEM Guide to Quality in Analytical Chemistry - 3rd edition (2016).
13. EURACHEM Guide, The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition (2014).
14. EURACHEM Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition (2012).
15. EURACHEM Guide, Measurement uncertainty arising from sampling (2007).
16. EURACHEM Guide, Traceability in Chemical Measurement (2003).
17. EURACHEM Guide, The Selection and use of Reference Materials (2002).
18. EURACHEM Guide, Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes by Laboratories (2011).
19. <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides>
20. <https://www.eea.europa.eu/>
21. <https://ec.europa.eu/jrc/en/research-topic/environmental-monitoring>



**VNiVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



South-Eastern Finland
University of Applied Sciences

U. PORTO



**Universitatea
TRANSILVANIA
din Braşov**



**UNIVERZITA
KARLOVA**



ИКИТ

<https://toxoeer.com>

Coordinatrice del progetto: Ana I. Morales
Sede centrale di Salamanca,
Dipartimento Campus Miguel de Unamuno, 37007.
Contatto Telefono: +34 663 056 665.