

## **ALLEGATO 1**

### **FOGLI DI LAVORO ANALISI DIOSSINE/FURANI E PCB IN MATRICE AMBIENTALE (solidi e liquidi)**

Di seguito sono illustrati in modo schematico gli step delle operazioni analitiche oggetto del mio studio e tutte le possibili procedure che sono state messe a punto e utilizzate durante il mio lavoro di ricerca, sia in matrice solida che liquida.

#### **SOLIDI (suoli, top soil, fanghi, rifiuti, fly Ash, sedimenti)**

- 1. DIOSSINE E PCB: Attacco Acido, Estrazione ASE, Purificazione Acido/Base, Purificazione /separazione Power Prep, analisi HRGC/HRMS**
- 2. DIOSSINE E PCB: Estrazione ASE, Purificazione Acido/Base, Purificazione /separazione Power Prep, analisi HRGC/HRM**
- 3. DIOSSINE E PCB: Estrazione ASE, Purificazione /separazione Power Prep, analisi HRGC/HRM**
- 4. PCB: Attacco Acido, estrazione ASE, Purificazione Acido/Base, analisi HRGC/HRMS**
- 5. PCB: Estrazione ASE, Purificazione Acido/Base, analisi HRGC/HRMS**
- 6. PCB: Estrazione ASE, Purificazione Permanganato/Acido solforico**

#### **LIQUIDI (acque)**

- 7. DIOSSINE E PCB nelle acque: Estrazione Liquido-Liquido, Purificazione Power Prep**
- 8. PCB nelle acque: Estrazione Liquido-Liquido**

## 1. DIOSSINE E PCB

## Metodo EPA 1613 e EPA 1668

(fanghi, rifiuti, fly Ash) Pretrattamento con Attacco Acido, estrazione ASE, purificazione Ripartizione Acido-Base, separazione Power Prep, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

### Pretrattamento (Attacco acido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96%) (PROTOCOLLO UNICHIM)

- Pesare **2 g** di campione in un becker da 100 ml (\_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 10 µl** Extraction Standard EN-1948 **ES** (200/400 ppb) + **10 µl** Sampling Standard EN-1948 **SS** (200/400 ppb) + marcati PCB [**25 µl** di PCB marcato di estrazione 100 ppb]; \_\_\_\_\_
- BIANCO**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_\_\_\_\_
- OPR**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **5 µl** EPA-1613 **PAR** (40/200/400 ppb) Native + **25 µl** di PCB nativi 100 ppb; \_\_\_\_\_
- Aggiungere con cautela 2 ml di acido solforico al 96 %; \_\_\_\_\_
- Agitare con bacchetta di vetro fino ad ottenere una pasta omogenea e densa; \_\_\_\_\_
- Lasciare riposare per 1 ora, successivamente aggiungere 4 gr di bicarbonato di sodio;
- Agitare con bacchetta di vetro fino ad ottenere un solido granuloso secco; \_\_\_\_\_
- Se il solido rimane umido aggiungere circa 1 gr di solfato di sodio anidro fino ad ottenere un solido secco ed omogeneo; \_\_\_\_\_

### Estrazione ASE (EPA 3545)

- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo); \_\_\_\_\_
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un po' di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1; \_\_\_\_\_
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

### **Purificazione: Ripartizione Acido-Base (EPA 3650B)**

- Prelevare 40 ml di ESANO e trasferire in imbuto separatore da 250 ml; \_\_\_\_\_
- Aggiungere l'estratto \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI ACIDO:  
Aggiungere 40 ml di Ac. Solforico al 96% e agitare CON DELICATEZZA! \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi e eliminare la fase acida; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI NaCl:  
Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI KOH:  
Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa di KOH al 2% e agitare; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_
- Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- Filtrare la soluzione esanica su solfato di sodio anidro raccogliendo in un pallone da 250 ml; \_\_\_\_\_
- Effettuare due- tre lavaggi dell'imbuto separatore e del filtro con 20 ml circa di ESANO; \_\_\_\_\_
- Ridurre a piccolo volume con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

### **Purificazione: sistema Automatico Power Prep**

- lavaggio linee: caricare metodo PPLAVA
- filtrare l'eluato con filtri in PTFE montati su siringa (fissati bene con un sistema pinza-sostegno); \_\_\_\_\_
- raccogliere il filtrato in un palloncino conico a cuore da 25 ml; \_\_\_\_\_
- lavare tutto il sistema, pallone e siringa/filtro, con esano e unire il solvente di lavaggio all'estratto; \_\_\_\_\_
- Addizionare: 5 µl Cleanup Standard EPA-1613 CSS (40 ppb); \_\_\_\_\_
- caricare i palloncini con i campioni al power prep:
  - metodo PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_
  - metodo NOCARBONE: per campioni poco sporchi; \_\_\_\_\_

- raccolta degli eluati (150 ml di eluato per ciascuno)

**Eluato 1:** aliquota contenente PCB (150 ml esano/DCM 95/5 v/v)

**Eluato 2:** aliquota contenente le Diossine (150ml)

**Eluato 1 PCB** in *esano/DCM 95/5 v/v*

- Eluato 1: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con 25 µl di PCB marcati di siringa 100 ppb + 25 ul di solvente; \_\_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS:GC SX TRACE GC 2 metodo *PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin* ; data \_\_\_\_\_

**Eluato 2 PCDD/DF:** in toluene dal mtd PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_

in esano/DCM 50/50 v/v dal mtd NOCARBONE); \_\_\_\_\_

- Eluato 2: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con **20 µl** della soluzione **STD di Siringa** EN-1948IS soluzione diluita a 100 ppb; \_\_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS: GC DX TRACE GC 1 metodo *Diossine\_GC\_1\_TR-5MS*; data\_\_\_\_\_

## 2. DIOSSINE E PCB

## Metodo EPA 1613 e EPA 1668

(suoli, top soil, sedimenti ) Estrazione ASE, purificazione Ripartizione Acido-Base, separazione Power Prep, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

### Estrazione ASE (EPA 3545)

- Pesare **5-7 g** di campione in un beaker da 100 ml ( \_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo);
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un pò di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 10 µl** Extraction Standard EN-1948 **ES** (200/400 ppb) + **10 µl** Sampling Standard EN-1948 **SS** (200/400 ppb) + marcati PCB [**25 µl** di PCB marcati di estrazione 100 ppb]; \_\_\_\_\_
- BIANCO**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_\_\_\_\_
- OPR**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **5 µl** EPA-1613 **PAR** (40/200/400 ppb) Native + **25 µl** di PCB nativi 100 ppb; \_\_\_\_\_
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1; \_\_\_\_\_
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

### Purificazione: Ripartizione Acido-Base (EPA 3650B)

- Prelevare 40 ml di ESANO e trasferire in imbuto separatore da 250 ml; \_\_\_\_\_
- Aggiungere l'estratto \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI ACIDO:  
Aggiungere 40 ml di Ac. Solforico al 96% e agitare CON DELICATEZZA! ; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi e eliminare la fase acida; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI NaCl:  
Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_

Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_

- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI KOH:

Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa di KOH al 2% e agitare; \_\_\_\_\_

Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_

- Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_

- Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_

- Filtrare la soluzione esanica su SOLFATO DI SODIO ANIDRO raccogliendo in un pallone da 250 ml; \_\_\_\_\_

- Effettuare due - tre lavaggi dell'imbuto separatore e del filtro con 20 ml circa di ESANO; \_\_

- Ridurre a piccolo volume con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

#### **Purificazione: sistema Automatico Power Prep**

- lavaggio linee: caricare metodo PPLAVA

- filtrare l'eluato con filtri in PTFE montati su siringa (fissati bene con un sistema pinza-sostegno); \_\_\_\_\_

- raccogliere il filtrato in un palloncino conico a cuore da 25 ml; \_\_\_\_\_

- lavare tutto il sistema, pallone e siringa/filtro, con esano e unire il solvente di lavaggio all'estratto; \_\_\_\_\_

- Aggiungere: 5 µl Cleanup Standard EPA-1613 CSS (40 ppb); \_\_\_\_\_

- caricare i palloncini con i campioni al power prep:

- metodo PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_

- metodo NOCARBONE: per campioni poco sporchi; \_\_\_\_\_

- raccolta degli eluati (150 ml di eluato per ciascuno)

**Eluato 1:** aliquota contenente PCB (150 ml esano/DCM 95/5 v/v)

**Eluato 2:** aliquota contenente le Diossine (150ml)

#### **Eluato 1 PCB in esano/DCM 95/5 v/v**

- Eluato 1: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_

- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con **25 µl** di PCB **marcati di siringa** 100 ppb + **25 ul** di solvente; \_\_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS:GC SX TRACE GC 2 metodo *PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin* ; data \_\_\_\_\_

**Eluato 2 PCDD/DF:** in toluene dal mtd PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_  
in esano/DCM 50/50 v/v dal mtd NOCARBONE); \_\_\_\_\_

- Eluato 2: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con **20 µl** della soluzione **STD di Siringa** EN-1948IS soluzione diluita a 100 ppb;
- iniettare al GC/HRMS: GC DX TRACE GC 1 metodo *Diossine\_GC\_1\_TR-5MS*; data \_\_\_\_\_

### 3. DIOSSINE E PCB

### Metodo EPA 1613 e EPA 1668

(suoli, top soil, sedimenti ) Estrazione ASE, separazione Power Prep, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

#### Estrazione ASE (EPA 3545)

- Pesare **5-7 g** di campione in un beaker da 100 ml ( \_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo);
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un po' di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 10 µl** Extraction Standard EN-1948 **ES** (200/400 ppb) + **10 µl** Sampling Standard EN-1948 **SS** (200/400 ppb) + marcati PCB [**25 µl** di PCB marcati di estrazione 100 ppb]; \_\_
- BIANCO**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_
- OPR**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **5 µl** EPA-1613 **PAR** (40/200/400 ppb) Native + **25 µl** di PCB nativi 100 ppb; \_\_\_\_\_
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1; \_\_\_\_\_
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

#### Purificazione: sistema Automatico Power Prep

- lavaggio linee: caricare metodo PPLAVA
- filtrare l'eluato con filtri in PTFE montati su siringa (fissati bene con un sistema pinza-sostegno); \_\_\_\_\_
- raccogliere il filtrato in un palloncino conico a cuore da 25 ml; \_\_\_\_\_
- lavare tutto il sistema, pallone e siringa/filtro, con esano e unire il solvente di lavaggio all'estratto; \_\_\_\_\_
- Aggiungere con std di cleanup: **5 µl** Cleanup Standard EPA-1613 **CSS** (40 ppb);\_
- caricare i palloncini con i campioni al power prep:  
metodo PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_  
metodo NOCARBONE: per campioni poco sporchi; \_\_\_\_\_
- raccolta degli eluati (150 ml di eluato per ciascuno)

**Eluato 1:** aliquota contenente PCB (150 ml esano/DCM 95/5 v/v)

**Eluato 2:** aliquota contenente le Diossine (150ml)

**Eluato 1 PCB** in *esano/DCM 95/5 v/v*

- Eluato 1: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con **25 µl** di PCB **marcati di siringa** 100 ppb + **25 ul** di solvente; \_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS:GC SX TRACE GC 2 metodo *PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin* ; data \_\_\_\_\_

**Eluato 2 PCDD/DF:** in toluene dal mtd PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_

in esano/DCM 50/50 v/v dal mtd NOCARBONE); \_\_\_\_\_

- Eluato 2: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con 20 µl della soluzione STD di Siringa EN-1948IS soluzione diluita a 100 ppb;
- iniettare al GC/HRMS: GC DX TRACE GC 1 metodo *Diossine\_GC\_1\_TR-5MS*; data \_\_\_\_\_

#### 4. PCB

#### Metodo EPA 1668

(fanghi, rifiuti, fly Ash) Pretrattamento con Attacco Acido, estrazione ASE, purificazione Ripartizione Acido-Base, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

##### Pretrattamento (attacco acido - acido solforico)

- Pesare **2 g** di campione in un beaker da 100 ml (\_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 25 µl** di PCB marcati di estrazione 100 ppb; \_\_\_\_\_
- BIANCO**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_\_\_\_\_
- OPR**: usare Hydromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **25 µl** di PCB nativi 100 ppb; \_\_\_\_\_
- Aggiungere con cautela 2 ml di acido solforico al 96 %; \_\_\_\_\_
- Agitare con bacchetta di vetro fino ad ottenere una pasta omogenea e densa; \_\_\_\_\_
- Lasciare riposare per 1 ora, successivamente aggiungere 4 gr di bicarbonato di sodio;
- Agitare con bacchetta di vetro fino ad ottenere un solido granuloso secco; \_\_\_\_\_
- Se il solido rimane umido aggiungere circa 1 gr di solfato di sodio anidro fino ad ottenere un solido secco ed omogeneo; \_\_\_\_\_

##### Estrazione ASE

- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo); \_\_\_\_\_
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un po' di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_

## Purificazione Ripartizione Acido-Base

- Prelevare 40 ml di ESANO e trasferire in imbuto separatore da 250 ml; \_\_\_\_\_
- Aggiungere l'estratto \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI ACIDO:  
Aggiungere 40 ml di Ac. Solforico al 96% e agitare CON DELICATEZZA! ; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi e eliminare la fase acida; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI NaCl:  
Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI KOH:  
Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa di KOH al 2% e agitare; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- Aggiungere 40 ml di soluzione acquosa satura di NaCl e agitare; \_\_\_\_\_
- Lasciare separare le due fasi ed eliminare la fase acquosa; \_\_\_\_\_
- Filtrare la soluzione esanica su solfato di sodio anidro raccogliendo in un pallone da 250 ml; \_\_\_\_\_
- Effettuare due - tre lavaggi dell'imbuto separatore e del filtro con 20 ml circa di ESANO; \_\_\_\_\_
- Ridurre a piccolo volume con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con 25 ul di PCB marcati di siringa 100 ppb + 25 ul di solvente; \_\_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS:GC SX TRACE GC 2 metodo *PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin* ;  
data \_\_\_\_\_

## 5. PCB

## Metodo EPA 1668

(suoli, top soil, sedimenti ) Estrazione ASE, purificazione Ripartizione Acido-Base, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

### Estrazione ASE

- Pesare 2 g di campione in un beaker da 100 ml ( \_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo); \_\_
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un po' di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 25 µl** di PCB marcati di estrazione 100 ppb; \_\_\_\_\_
- BIANCO**: usare Hidromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_
- OPR**: usare hidromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **25 µl** di PCB nativi 100 ppb;
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi;

### Purificazione Ripartizione Acido-Base: si veda procedura1.PCB

## 6. PCB

## Metodo EPA 1668

(suoli, top soil, sedimenti ) Estrazione ASE, purificazione Purificazione permanganato/acido\_solforico, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_

DATA

\_\_\_\_\_

### Estrazione ASE:

- Pesare 2 g di campione in un beaker da 100 ml (\_\_\_\_\_ g); \_\_\_\_\_
- Aggiungere una spatolettata di rame in polvere (sedimenti o campioni con zolfo); \_\_\_\_
- Nel caso di polveri molto sottili o ceneri aggiungere un po' di materiale inerte disperdente (Hydromatrix) e miscelare bene; \_\_\_\_\_
- Preparazione cella media ASE: Porre sul fondo un filtro e spingere con apposita bacchetta di plastica nera e aggiungere una piccola aliquota di solfato di sodio (circa 1 cm) ; \_\_\_\_\_
- Caricare nella cella il campione (circa 4 cm); \_\_\_\_\_
- Aggiungere al **campione: 50 µl di PCB marcati di estrazione 100 ppb**; \_\_\_\_\_
- BIANCO**: usare Hidromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione; \_\_\_\_
- OPR**: usare Hidromatrix ed effettuare le stesse additivazioni del campione + **50 µl** di PCB nativi 100 ppb; \_\_\_\_\_
- Inserire sulla cima della cella un altro poco di Hydromatrix, se necessario, uno strato di solfato di sodio (1cm), un filtro e compattare; \_\_\_\_\_
- Caricare il METODO 1
- Ridurre a piccolo volume (circa 2-3 ml) con il sistema Buchi;

### Purificazione metodo 3665A permanganato/acido solforico

- Trasferire l'estratto in provetta con tappo a vite; \_\_\_\_\_
- Portare l'estratto a **2 ml** sotto flusso d'azoto; \_\_\_\_\_
- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI ACIDO**: Aggiungere 5 ml di miscela acido solforico:acqua 1:1, tappare la provetta e agitare in vortex per 1 min; \_\_\_\_\_  
Lasciare separare le due fasi per 1 minuto e trasferire la fase esanica in un'altra provetta; \_\_\_\_

- FARE TRE VOLTE L'AGGIUNTA DI PERMANGANATO: Aggiungere 5 ml di una soluzione di permanganato di potassio al 5 %, tappare la provetta e agitare in vortex per 1 min; \_\_\_\_\_
- Lasciare separare le due fasi per 1 minuto e trasferire **1 ml** (prelevare con precisione) la fase esanica in un'altra provetta; \_\_\_\_
- Evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi ul; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi ul di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con **25 ul** di PCB marcati di siringa 100 ppb + **25 ul** di solvente; \_\_\_\_\_
- iniettare al GC/HRMS:GC SX TRACE GC 2 metodo PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin ; data \_\_\_\_\_

## LIQUIDI

### 7. DIOSSINE E PCB

### Metodo EPA 1613 e EPA 1668

(acque) Estrazione Liquido-Liquido, separazione Power Prep, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

**N.B.** Se il campione contiene particelle visibili deve essere filtrato attraverso un filtro di fibre di vetro: il filtro viene estratto in soxhlet ed il filtrato viene estratto con il metodo descritto in seguito. Gli estratti vengono combinati per la successiva purificazione.

#### **Estrazione liquido-liquido**

- Prelevare 1,8 l di campione e versarlo all'interno di una bottiglia da 2 l (contenente un magnete); \_\_\_\_\_
- Aggiungere con: 10 µl Extraction Standard EN-1948 ES (200/400 ppb) + 10 µl Sampling Standard EN-1948 SS (200/400 ppb) + 25 µl di PCB marcati di estrazione 100 ppb in acetone; \_\_\_\_\_
- Attendere circa 30 minuti; \_\_\_\_\_
- Aggiungere 150 ml di DCM; \_\_\_\_\_
- Tappare la bottiglia; \_\_\_\_\_
- Agitare fortemente per 30 minuti sull'agitatore magnetico; \_\_\_\_\_
- Immergere una pipetta da 50 ml nel fondo della bottiglia ed aspirare tutta la fase organica e trasferirla in un imbuto separatore da 500 ml; \_\_\_\_\_
- Aggiungere altri 150 ml di DCM nella bottiglia; \_\_\_\_\_
- Tappare la bottiglia; \_\_\_\_\_
- Agitare fortemente per 30 minuti sull'agitatore magnetico; \_\_\_\_\_
- Immergere una pipetta da 50 ml nel fondo della bottiglia ed aspirare tutta la fase organica + una piccola aliquota d'acqua alla separazione di fase e trasferirla nello stesso imbuto separatore; \_\_\_\_\_
- Attendere la formazione delle due fasi all'interno dell'imbuto separatore; \_\_\_\_\_
- Separare la fase inferiore filtrando su solfato di sodio anidro nel pallone; \_\_\_\_\_
- Lavare accuratamente l'imbuto separatore ed il filtro con DCM (per evitare perdite);  
\_\_\_\_\_

- Aggiungere una piccola aliquota di esano (per evitare di far andare a secco durante l'evaporazione); \_\_\_\_\_
- Concentrare a piccolo volume (circa 1 ml); \_\_\_\_\_
- Effettuare il cambio di solvente: esano \_\_\_\_\_

### **Purificazione: sistema Automatico Power Prep**

- Lavaggio linee: caricare metodo PPLAVA
- Filtrare l'eluato con filtri in PTFE montati su siringa; \_\_\_\_\_
- Raccogliere il filtrato in un palloncino conico a cuore da 25 ml; \_\_\_\_\_
- Lavare tutto il sistema, pallone e siringa/filtro, con esano e unire il solvente di lavaggio all'estratto; \_\_\_\_\_
- Aggiungere con standard di cleanup: 5 µl Cleanup Standard EPA-1613 CSS (40 ppb); \_\_\_\_\_
- caricare i palloncini contenente il campione al power prep:
- metodo PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_
- metodo NOCARBONE: per campioni poco sporchi; \_\_\_\_\_
- raccolta degli eluati

**eluato 1:** aliquota contenente PCB

**eluato 2:** aliquota contenente Diossine

### **Eluato 1 PCB in *esano/DCM 95/5 v/v***

- Eluato 1: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi µl di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi µl; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi µl di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secchezza; \_\_\_\_\_
- riprendere con 25 µl di PCB marcati di siringa 100 ppb + 25 µl di solvente; \_\_\_\_\_
- iniettare 2 µl al GC/HRMS: GC SX TRACE GC 2 metodo *PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin; data* \_\_\_\_\_

**Eluato 2 PCDD/DF:** in toluene dal mtd PCB\_PCDD; \_\_\_\_\_

in *esano/DCM 50/50 v/v* dal mtd NOCARBONE); \_\_\_\_\_

- Eluato 2: portare a piccolo volume 1ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta (lavando più volte il pallone con pochi µl di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a pochi µl; \_\_\_\_\_
- trasferire in vial (lavando più volte la provetta con pochi µl di esano) ed evaporare sotto flusso di azoto fino a secco; \_\_\_\_\_
- riprendere con 20 µl della soluzione STD di Siringa EN-1948IS soluzione diluita a 100 ppb;\_
- iniettare 2 µl al GC/HRMS: GC DX TRACE GC 1 metodo *Diossine\_GC\_1\_TR-5MS*; data \_\_\_\_\_

## 8. PCB

## Metodo EPA 1668

(acque) Estrazione Liquido-Liquido, analisi HRGC/HRMS

IDENTIFICATIVO CAMPIONE \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

### Estrazione

- Prelevare 50 ml di campione e versarlo in un imbuto separatore; \_\_\_\_\_
- aggiungere 10 µl di PCB marcati di estrazione 100 ppb in ACETONE; \_\_\_\_\_
- attendere per trenta minuti; \_\_\_\_\_
- Effettuare per TRE volte: con aliquote di solvente fresco e filtrare su unico filtro
  - estrarre con 25 ml di DCM; \_\_\_\_\_
  - separare la fase inferiore filtrando su SOLFATO DI SODIO ANIDRO in un pallone; \_
- lavare accuratamente il filtro con DCM e lo smeriglio (per evitare perdite); \_\_\_\_\_
- aggiungere una piccola aliquota di ISOTTANO (per evitare di far andare a secco durante l'evaporazione); \_\_\_\_\_
- concentrare l'estratto a circa 1 ml con il sistema Buchi; \_\_\_\_\_
- trasferire in provetta e portare a secco \_\_\_\_\_
- Riprendere l'estratto con 200 µl di esano (ripetere due volte) \_\_\_\_\_
- Trasferire in vials con inserto in vetro e portare a secco \_\_\_\_\_
- Riprendere con 10 µl di esano + 10 µl di PCB marcati di siringa 100 ppb in isottano \_\_\_\_\_
- iniettare al GC-HRMS DFS Thermo (metodo PCB HR GC\_2\_TR-Dioxin (PCB); data \_\_\_\_\_