

OTTIMIZZAZIONE DELLA TECNICA AD ULTRASUONI PER L'ESTRAZIONE DI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI DA PARTICOLATO ATMOSFERICO

Maria Grazia Perrone¹, Stefano Guidi², Ezio Bolzacchini¹, Vorne Gianelle³,
Gloria Mognaschi³

¹ Department of Environmental Sciences, University of Milano-Bicocca, Piazza della Scienza 1, I-20126 Milano, Italy.

² SOLTEC S.r.l., Via Castelbarco 17, 20136 Milano s.guidi@soltec.it

³ ARPA Lombardia, Via Juvara 22, 20129 Milano, Italy.

grazia.perrone@unimib.it

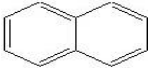
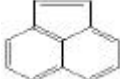

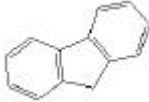

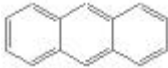


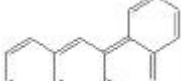
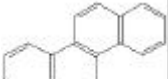
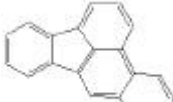
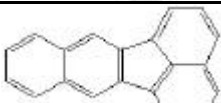
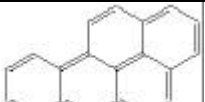
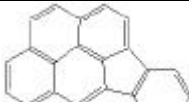
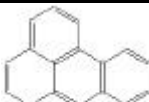
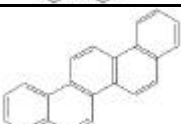
INTRODUZIONE

L'inquinamento da particolato atmosferico

L'inquinamento da particolato atmosferico, in particolare nei grandi centri urbani, è un problema attuale. La normativa italiana (DM 2 Aprile 2002 n°60), riprendendo le direttive comunitarie europee (99/30/CE), stabilisce dei limiti di concentrazione per il PM₁₀ (particolato atmosferico con diametro aerodinamico $d_p < 10 \mu\text{m}$) al fine di tutelare la salute dei cittadini. I limiti sono sia rivolti a contenere fenomeni di inquinamento acuto (i limiti di attenzione ed allarme per la concentrazione media giornaliera di PM₁₀ sono 50 e 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, DGR Lombardia 28/10/2002) che stabiliscono degli obiettivi di qualità all'interno dei quali mantenersi per un controllo dell'inquinamento da PM₁₀ sul lungo periodo (concentrazione media annua di PM₁₀ $< 40 \mu\text{g}/\text{m}^3$). È infatti stato dimostrato da diversi studi epidemiologici come elevate concentrazioni di PM₁₀ abbiano effetti negativi sulla salute umana (effetti acuti e cronici), causa anche di mortalità [1]. In particolare sono le particelle fini (come PM_{2,5} e PM₁, rispettivamente particolato atmosferico con $d_p < 2,5 \mu\text{m}$ e $d_p < 1 \mu\text{m}$) ad avere le maggiori conseguenze tossicologiche, in quanto, penetrando in profondità nell'apparato respiratorio, possono trasportare all'interno dell'organismo le sostanze tossiche presenti nel particolato. Questo è il caso ad esempio di composti mutageni come alcuni idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) nel particolato

Il particolato atmosferico è costituito da centinaia di diverse specie chimiche, inorganiche ed organiche. Per quanto riguarda la frazione organica la classe degli idrocarburi policiclici aromatici costituisce una frazione inconsistente della massa totale del particolato atmosferico ($< 0,1\%$, [2]) ma ha un importante interesse tossicologico, in relazione all'attività mutagena e cancerogena di alcuni IPA. In particolare l'EPA (United States Environmental Protection Agency) ha identificato all'interno di tale classe 16 inquinanti prioritari, alcuni dei quali appartengono alla classe di cancerogenicità 2A (probabile cancerogeno per l'uomo) e 2B (possibile cancerogeno per l'uomo) come definite dalla IARC (agenzia internazionale per la ricerca sul cancro). (Tab1)

Composto	Formula	Peso Molecolare	CAS	Struttura
Naftalene	C ₁₀ H ₈	128.17	91-20-3	
Acenaftilene	C ₁₂ H ₈	152.19	208-96-8	
Acenaftene	C ₁₂ H ₁₀	152.21	83-32-9	
Fluorene	C ₁₃ H ₁₀	166.2	86-73-7	
Fenantrene	C ₁₄ H ₁₀	178.2	85-01-8	
Antracene	C ₁₄ H ₁₀	178.23	120-12-7	
Fluorantene	C ₁₆ H ₁₀	202.25	206-44-0	
Pirene	C ₁₆ H ₁₀	202.3	129-00-0	
Benzo[a]antracene	C ₁₈ H ₁₂	228.29	56-55-3	
Crisene	C ₁₈ H ₁₂	228.29	218-01-9	
Benzo[b]fluorantene	C ₂₀ H ₁₂	252.31	205-99-2	
Benzo[k]fluorantene	C ₂₀ H ₁₂	252.3	207-08-9	
Benzo[a]pirene	C ₂₀ H ₁₂	252.3	50-32-8	
Indeno[1,2,3-cd]pirene	C ₂₂ H ₁₂	276.3	193-39-5	
Benzo[g,h,i]perilene	C ₂₂ H ₁₂	276.33	191-24-2	
Dibenzo[a,h]antracene	C ₂₂ H ₁₄	278.35	53-70-3	

Tabl I policiclici aromatici identificati come inquinanti prioritari dall' Environmental Protection Agency

Gli IPA derivano dai processi di combustione incompleta di materiale organico e in ambiente urbano le elevate concentrazioni di IPA in atmosfera sono principalmente legate al traffico autoveicolare (in ambiente urbano ~ 80% [3])

Nei processi di combustione sono inizialmente generati in fase gassosa, e successivamente, con il raffreddamento delle emissioni, si adsorbono sul particolato atmosferico. A temperatura ambiente, la distribuzione dei diversi IPA tra fase gassosa e particolata dell'atmosfera dipende principalmente dalla loro tensione di vapore, che varia da 10^1 a 10^{-10} Pa (a 25°C). Gli IPA con più di 5 anelli aromatici, tra i quali si trovano i composti a maggior interesse tossicologico (es. Benzo[a]pirene) sono presenti quasi esclusivamente nella fase particolata (>90%, [4]), adsorbiti alle particelle fini.

Alcuni studi [5] hanno dimostrato come la mutagenicità diretta del particolato atmosferico sia principalmente attribuibile proprio alla classe degli idrocarburi policiclici aromatici (e derivati): tra questi attualmente la normativa italiana prevede un limite di legge solo per il benzo[a]pirene, stabilendo che la sua concentrazione nel PM_{10} deve rispettare l'obiettivo di qualità di 1 ng/m^3 come media mobile giornaliera dei valori registrati in 1 anno.

Analisi degli idrocarburi policiclici aromatici nel particolato atmosferico: tecniche di estrazione

La normativa italiana prevede che nei centri urbani venga monitorato in modo continuativo la concentrazione di IPA in atmosfera durante tutto l'anno. Nella normativa sono descritte le tecniche di campionamento, di estrazione degli IPA da particolato e le modalità di analisi (allegato VII del Decreto 25 Novembre 1994).

In letteratura sono riportate diverse tecniche di estrazione degli IPA da particolato atmosferico [6]. Diffusa è l'estrazione in Soxhlet, una tecnica che permette buoni recuperi ma è piuttosto laboriosa, con diversi svantaggi relativi soprattutto alla lentezza del processo (comunemente 12 o 24 h), alle quantità di solventi organici usati per estrarre (alcune centinaia di ml) e ai passaggi necessari per la preparazione del campione finale (necessità di concentrare il campione, portando a secco e riprendendo con volume ridotto). Altre tecniche sono l'estrazione in bagno ad ultrasuoni e, meno diffuse, l'estrazione in microonde, l'estrazione in fase liquida supercritica (SWE) e la microestrazione in fase solida (SPME).

La metodica di estrazione prevista dalla normativa italiana prevede l'impiego di un comune bagno ad ultrasuoni. Gli ultrasuoni hanno in generale il pregio della rapidità e semplicità, ma la scarsa standardizzazione può rendere molto diversa da caso a caso l'efficienza della procedura.

IL NUOVO ESTRATTORE AD ULTRASUONI SONICA®

Presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Ambientali (DISAT), Università degli Studi Milano-Bicocca, è stata sperimentata l'estrazione degli IPA da particolato atmosferico mediante il nuovo estrattore ad ultrasuoni SONICA® ad alta frequenza modulata, testandone l'efficienza, oltre che importanti vantaggi, relativi soprattutto alla velocità e semplicità del processo. L'estrattore SONICA® è stato sviluppato ponendo particolare attenzione alla massimizzazione dell'efficienza di questa tecnica, attraverso la messa a punto di un apparecchio a ultrasuoni dedicato in maniera specifica all'estrazione dal particolato.

In particolare, durante la progettazione del nuovo apparecchio, sono stati presi in considerazione tre parametri importanti: frequenza ultrasuoni, concentrazione dell'energia di cavitazione in uno spazio ben definito, velocità di estrazione.

Caratteristiche tecniche



L'estrattore ad ultrasuoni SONICA® Ultrasonic extractor con tecnologia Sweep System è composto da un generatore ad ultrasuoni con tecnologia *Sweep* e da un cilindro di estrazione accoppiato ad uno speciale sonotrodo in leghe speciali di alluminio e ceramiche piezoelettriche ad alto rendimento. Il trasduttore piezoelettrico concentra un'intensa energia ultrasonora in uno spazio ben definito all'interno di un cilindro di estrazione calibrato appositamente studiato per l'alloggiamento di sette vials per i campioni. Il mezzo di trasmissione dell'energia di cavitazione ultrasonora alle vials con il campione da estrarre è

dato da un piccolo volume di acqua demineralizzata. Il nuovo generatore elettronico controllato da un microprocessore, produce un segnale ad ultrasuoni a modulazione di frequenza intorno ad una frequenza centrale di circa 40 KHz. Il binomio frequenza e modulazione, abbinato ad un'ottimizzazione della geometria del cilindro di estrazione, generano un intenso campo di energia ultrasonora in grado di estrarre in soli 3 minuti 7 campioni contemporaneamente. L'estrattore ad ultrasuoni genera una modulazione di frequenza che garantisce la migliore distribuzione di energia cavitazionale per unità di superficie. L'energia di cavitazione così generata e ben distribuita, garantisce la rimozione e ottimi risultati di estrazione in solvente di particolato fine come PM₁₀ e PM_{2,5}.

In figura 1 e 2 sono riportate due immagini al SEM (Microscopio a Scansione elettronica) di un filtro campionato per il PM₁₀, diviso in due metà, una estratta in Soxhlet (24h) (Fig1) e l'altra con estrattore SONICA® (3 min.) (Fig.2). Con estrattore SONICA® si ha una completa estrazione del particolato fine adeso al filtro.

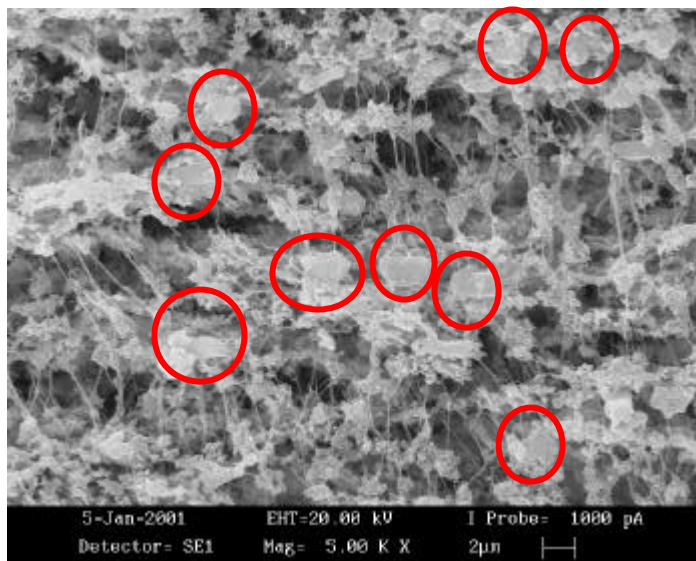


Fig1 Filtro dopo estrazione in Soxhlet (24h). In rosso indicato il particolato che non riesce ad essere estratto e rimane adeso al filtro.

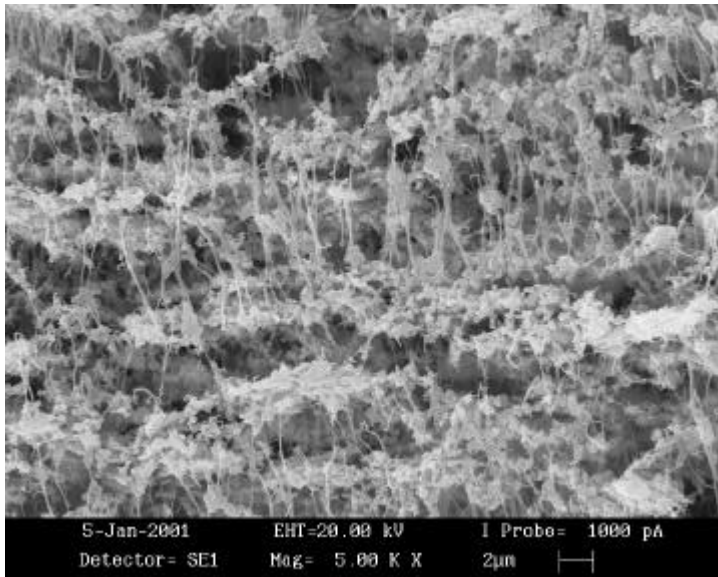


Fig2 Filtro dopo estrazione con ultrasuoni SONICA® (3 minuti).

Risultati

L'estrattore ad ultrasuoni SONICA® viene abitualmente usato da più di 1 anno presso i laboratori del DISAT, Università Milano-Bicocca, per l'estrazione degli IPA da particolato atmosferico (PM₁₀ e PM_{2,5}), campionato a Milano mediante sistema gravimetrico basso volume (16,67 l/min, Tecora) su filtri da 47 mm di diametro. Comunemente vengono impiegati filtri in Teflon, anche se possono essere usati filtri di altro tipo (es. filtri in fibra di vetro o quarzo e filtri in policarbonato)

Secondo metodica sviluppata presso i laboratori del DISAT il filtro viene posto in una vial ambrata da 8 ml con 2 ml di acetonitrile (per HPLC UltraGradient Grade): perché il filtro risulti completamente immerso nel solvente organico durante tutta la fase di estrazione, è mantenuto sul fondo della vial per mezzo di un apposito distanziatore SONICA® realizzato in acciaio speciale .

La vial è quindi posta nell'estrattore SONICA® (possibilità di estrarre 7 campioni contemporaneamente), con un tempo di estrazione di soli 3 minuti (vedi EFFICIENZA DI ESTRAZIONE).

L'estratto viene poi filtrato mediante filtro (PTFE, porosità 0.45 µm), per evitare che il particolato che si è staccato dal filtro interferisca nella fase di analisi, e trasferito in una nuova vial. Il campione viene quindi analizzato per gli IPA mediante tecnica HPLC con rivelatore a fluorescenza.

Le concentrazioni di B[a]P nel PM₁₀ campionate a Milano vanno da 0.02 ad oltre 10 ng/m³.

EFFICIENZA DI ESTRAZIONE

Particolato standard certificato NIST1649a

L'efficienza di estrazione degli IPA da particolato mediante estrattore ad ultrasuoni SONICA® è stata valutata utilizzando il particolato standard NIST 1649a, materiale standard di riferimento per i metodi analitici di determinazione di IPA , PCB e pesticidi clorurati nel particolato atmosferico e matrici simili(www.nist.gov). Lo standard NIST1649a è certificato per la concentrazione di 22 IPA (e con valori di riferimento per altri 22 IPA).

Le prove sono state condotte caricando dei filtri bianchi, dello stesso tipo di quelli usati per il campionamento ambientale, con quantitativi differenti di particolato standard, estratto ed analizzato secondo la metodica precedentemente descritta.

Il particolato standard è stato pesato mediante bilancia analitica (Mettler Toledo, errore sperimentale 1µg), previo condizionamento per 24 h in essiccatore a 35% RH (i valori certificati sono espressi come frazione di massa, rispetto al peso secco). Nelle normali condizioni di campionamento, 24 h con sistema gravimetrico basso volume, il particolato raccolto su filtro è mediamente compreso tra 0.5 – 2 mg. Sono state condotte diverse prove considerando quantitativi variabili di particolato standard, fino a 16 mg, al fine di verificare l'efficienza del processo di estrazione anche per carichi particolarmente elevati.

Inizialmente si è verificato come, con estrattore ad ultrasuoni SONICA®, già un tempo di soli 3 minuti fosse sufficiente per il processo di estrazione: prolungando i tempi non si è infatti avuto nessun miglioramento significativo della resa di estrazione.

Applicando quindi le condizioni operative definite, si è verificata l'efficienza costante del processo di estrazione degli IPA da particolato (Fig.3), che si mantiene anche per quantitativi di materiale superiori alle normali condizioni .

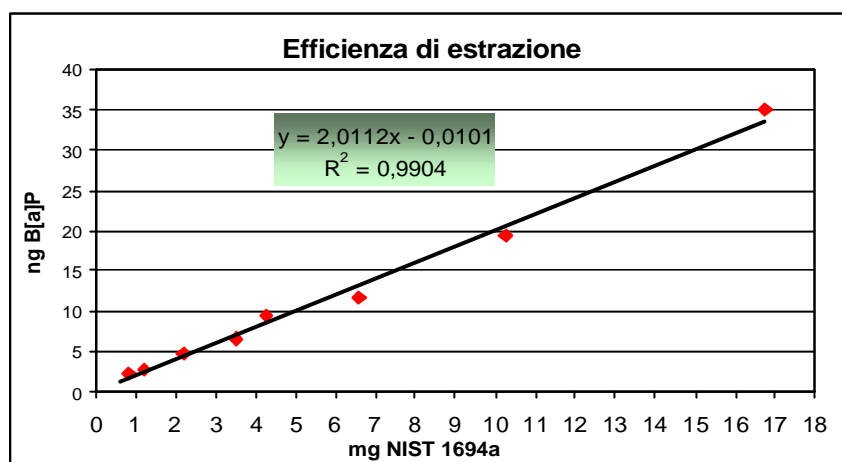


Fig3. Efficienza costante del processo di estrazione degli IPA da particolato, quest'ultimo in quantità da 0,6 a 16 mg. In ascissa = mg di particolato standard NIST1649a; in ordinata = ng di benzo[a]pirene analizzati.

In figura 4 è riportata l'efficienza di estrazione per i 9 IPA analizzati, con valori compresi tra il 67% per il Benzo[g,h,i]perilene a valori oltre il 90% per Benzo[a]antracene e Crisene.

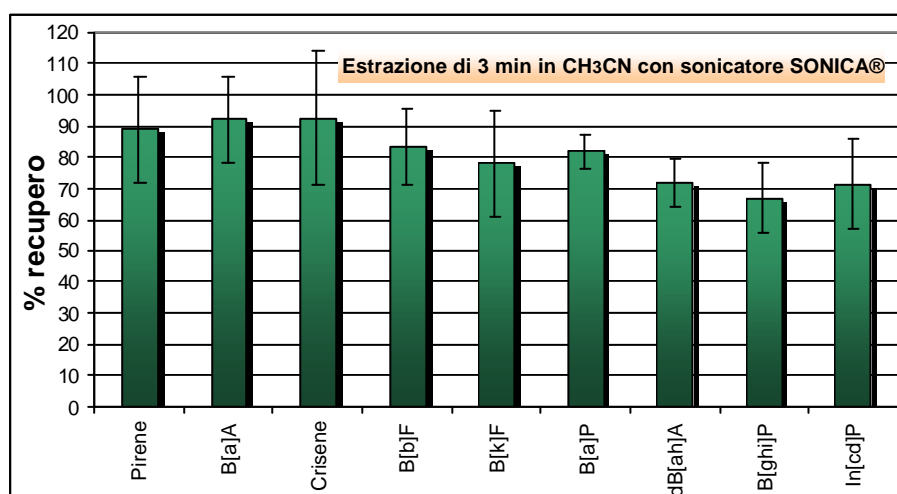


Fig4 Efficienza di estrazione media (e deviazione standard; n=8) per 9 IPA da particolato standard NIST1649a. Pirene, B[a]a=benzo[a]antracene, Crisene, B[b]F=benzo[b]fluorantene, B[k]F=benzo[k]fluorantene, B[a]P=benzo[a]pirene, dB[ah]A=diBenzo[a,h]antracene, B[ghi]P=benzo[g,h,i]perilene, In[cd]= indeno[c,d]pirene.

I risultati ottenuti sono stati confrontati con prove di estrazione in Soxhlet (250 ml diclorometano, Cl_2CH_2 , per 24 ore) (Tab 2). L'estrazione in Soxhlet presenta efficienze di estrazione degli IPA molto simili o di poco superiori rispetto alla metodica di estrazione messa a punto con il nuovo estrattore ad ultrasuoni SONICA[®] (solo per l'indeno[1,2,3-c,d]pirene, il composto a maggior peso molecolare tra quelli considerati, l'efficienza di estrazione in Soxhlet è significativamente più alta). Tuttavia l'estrazione in Soxhlet (per tempi e maggiore laboriosità del processo) è difficilmente proponibile per l'analisi di numerosi campioni.

		Pirene	B[a]A	Crisene	B[b]F	B[k]F	B[a]P	dB[ah]A	B[ghi]P	In[cd]P
SONICA [®]	eff. estrazione %	88,78	92,19	92,52	83,20	77,82	81,78	71,55	66,63	71,33
	dev.st	13,76	21,69	12,03	5,71	7,86	10,95	14,55	4,67	9,12
		Pirene	B[a]A	Crisene	B[b]F	B[k]F	B[a]P	dB[ah]A	B[ghi]P	In[cd]P
SOXLHET	eff. estrazione %		91,85	95,74	71,42	76,15	89,73			98,18
	dev.st		24,99	20,35	7,40	6,33	6,96			19,32

Tabella 2. Efficienza di estrazione degli IPA : confronto tra estrazione con estrattore ad ultrasuoni SONICA[®] e Soxhlet. Pirene, B[a]a=benzo[a]antracene, Crisene, B[b]F=benzo[b]fluorantene, B[k]F=benzo[k]fluorantene, B[a]P=benzo[a]pirene, dB[ah]A=diBenzo[a,h]antracene, B[ghi]P= benzo[g,h,i]perilene, In[cd]= indeno[c,d]pirene. Per la determinazione di Pirene, dB[ah]A, B[ghi]P nelle prove con il Soxhlet si sono avuti problemi analitici (coeluzione con altri composti).

CONCLUSIONI

Il metodo messo a punto per l'estrazione degli IPA da particolato mediante estrattore ad ultrasuoni SONICA[®] presenta buone rese di estrazione, mediamente dell'80% (circa 70% per gli IPA a maggior peso molecolare come l'indeno[1,2,3-c,d]pirene, oltre 90% per IPA a 4 anelli aromatici come benzo[a]antracene e crisene): con le efficienze di estrazione calcolate sono quindi corrette le concentrazioni analizzate per i campioni ambientali. Tale metodica presenta grossi vantaggi legati soprattutto alla semplicità e velocità del processo, in quanto la fase di estrazione è ridotta ad un tempo di soli 3 minuti. L'estrazione con estrattore ad ultrasuoni SONICA[®] presenta quindi requisiti adatti soprattutto ad analisi che devono essere effettuate su numerosi campioni, standardizzate e in modo routinario, come è previsto per il monitoraggio nei centri urbani degli IPA nel particolato.

Bibliografia

- [1] OMS, Centro Europeo Ambiente e Salute, Divisione di Roma; 20 giugno 2000. *Fact sheet sull'impatto sanitario dell'inquinamento atmosferico nelle 8 maggiori città italiane*. <http://www.who.it/>
- [2] "Speciation of PM_{10} and $\text{PM}_{2.5}$ in the urban atmosphere of Milan" E.Bolzacchini, V. Gianelle, M.G. Perrone, L. Pozzoli, G. Mognaschi, F. Avella, D.Faedo, B. Rindone; EGS-AGU-EUG Joint Assembly, 6-11 Maggio 2003, Nizza (Fr)
- [3] "Traffic contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the center of a large city", T.Nielsen; Atmospheric Environment 1996, n°20, pp 3481-3490
- [4] "Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chicago Air", M. Odabasi.; N.Vardar, A. Sofuoglu, Y. Tasdemir, M.T. Holsen; The Science of the Total Environment, 1999, 227, 57-67

[5] “ Bioassy –Directed Chemical Analysis of Los Angeles Airborne Particulate Matter Using Human Cell Mutagenicity Assay” M.P Hanningan.,G.R Cass, B. Penman, C.L. Crespi, A.L. Lafleur, W.F. Jr. Busby, W.G. Thilly, B.R.T. Simoneit.; Environmental. Science and Technologies. 1998, 32, 3502- 3514

[6] “*Polycyclic aromatic hydrocabons in the atmosphere:monitoring, sources and sinks. I:Monitoring*” S. Gilardoni, M.G.Perrone, L. Pozzoli, D. Vione, G. DeGennaro,M. DeRienzo; Annali di Chimica (submitted)