

Appendice XI

(allegato VI)

Metodo di riferimento per il campionamento e l'analisi della deposizione del mercurio

1 Campionamento delle Deposizioni atmosferiche

1.1 Campionatori e materiali

Il campionamento delle deposizioni atmosferiche per la determinazione del mercurio viene effettuato mediante l'utilizzo di particolari campionatori. I materiali utilizzati (imbuti e bottiglie di raccolta) per il campionamento del mercurio devono essere di vetro borosilicato, di Teflon o PFA.

I campionatori utilizzati possono essere di due tipi:

- a) Campionatori tipo “wet only” che campionano solo quando un evento di deposizioni atmosferiche “wet” è in atto e sono quelli più comunemente usati poiché evitano la deposizione di particelle in assenza di deposizioni atmosferiche di tipo “wet”.
- b) Campionatori tipo “bulk” dove l'imbutto di raccolta rimane sempre aperto.

I campionatori devono essere in grado di campionare e conservare il campione durante tutte le stagioni e in tutte le condizioni climatiche. Pertanto devono essere provvisti di un sistema di termoregolazione della temperatura in modo tale da riscaldare durante l'inverno per fondere la neve e prevenire la formazione di ghiaccio nell'imbutto e nelle bottiglie, e raffreddare durante l'estate per prevenire l'evaporazione del campione. Per periodi di campionamento lunghi è necessario favorire la diffusione di mercurio elementare (Hg^0) dal campione di deposizioni atmosferiche raccolto, dal momento che il mercurio elementare potrebbe subire l'ossidazione a forme solubili in acqua e quindi contribuire all'aumento della concentrazione di mercurio presente nel campione raccolto. Questo è possibile usando un tubo capillare tra l'imbutto e la bottiglia. È anche necessario schermare il campione raccolto nella bottiglia dalla luce per evitare reazioni fotochimiche indotte che alterino la concentrazioni di mercurio presente nel campione di deposizioni atmosferiche.

1.2 Procedura di Campionamento

La procedura descritta di seguito è quella seguita utilizzando il campionatore rappresentato in Figura 1. Per altre tipologie di campionatori può essere adottata la stessa procedura.

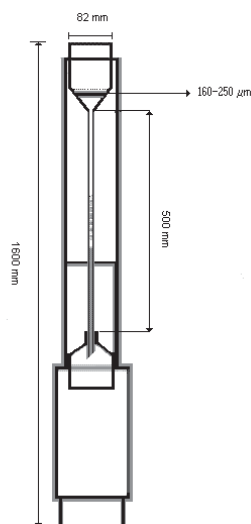


Figura 1 – *Schema del campionatore tipo Bulk.*

Tutto il materiale occorrente per il campionamento deve essere maneggiato con cura ed attenzione sia durante il trasporto che durante la fase di conservazione dei campioni. Le bottiglie utilizzate per il campionamento devono sempre essere poste in doppia busta, chiuse ermeticamente e maneggiate solo ed esclusivamente usando guanti sterili da laboratorio per evitare problemi di contaminazione dei campioni. Prima di utilizzare le bottiglie per il campionamento, aggiungere HCl ultrapuro 0.5% v/v nel caso si prevede un campionamento mensile. In alternativa, per periodi di campionamento inferiori a 2 settimane, si aggiunge al campione raccolto HCl ultrapuro 1% v/v.

Per controllare ulteriori problemi di contaminazione (i.e., insetti, materiale organico) durante il campionamento si raccomanda l'utilizzo in parallelo di due o tre campionatori. In tal modo, infatti, i campioni contaminati possono essere facilmente individuati e di conseguenza i risultati analitici eliminati.

1.3 Conservazione del campione

I Campioni delle deposizioni atmosferiche contengono basse quantità di elementi in tracce e quindi vanno manipolati con estrema cura per evitare contaminazioni dei campioni stessi. I campioni prelevati vanno stabilizzati, subito dopo il prelievo, con l'aggiunta di HCl ultrapuro 1% v/v, successivamente sigillati in sacchetti di polietilene e conservati in frigorifero a +4 °C. L'analisi può essere effettuata al massimo entro sei mesi.

1.4 Procedura di lavaggio

Tutto il materiale occorrente sia per il campionamento che per l'analisi (tubi in teflon, raccordi, tappi, contenitori ecc.) deve essere pulito in modo da evitare tutte le possibili contaminazioni indirette, secondo la seguente procedura:

- Il materiale occorrente va prima di tutto sciacquato con acetone, poi con acqua calda ed infine con detergente diluito specifico per l'analisi in tracce. Si risciacqua abbondantemente, più volte, con acqua deionizzata.
- Sotto cappa si predispone una bacinella in polietilene munita di coperchio contenente HCl 3M (preparato con HCl ultra puro e acqua Milli-Q) immersa in un bagno ad acqua e termostato e si immerge tutto il materiale trattato in precedenza ad una temperatura di 80°C per 6 ore.
- Dopo 6 ore, si rimuove la bacinella dal bagno termostatico e si fa raffreddare a temperatura ambiente.
- In una seconda bacinella munita di coperchio contenente HNO₃ 0.56 M (preparato con HNO₃ ultra puro e acqua Milli-Q) viene trasferito tutto il materiale trattato in precedenza con la soluzione di Acido Cloridrico e si lascia il tutto immerso per 72 ore a temperatura ambiente. Trascorse le 72 ore si risciacqua il tutto con acqua Milli-Q e si asciuga usando Aria ultra pura esente da mercurio³.
- Tutto il materiale, pronto all'uso, viene riposto in triplice busta di polietilene con chiusura a Zip.

1.5 Controllo di Qualità

Tutti gli operatori devono essere istruiti al fine di seguire esattamente le procedure che eliminano e/o minimizzano tutte le possibili contaminazioni dei campioni.

Il duplice campionamento è vivamente consigliato per poter quantificare la precisione del metodo.

2 Principio del metodo

Il presente metodo viene utilizzato per la determinazione del mercurio totale nelle deposizioni atmosferiche. Il mercurio presente nelle sue varie forme, viene ossidato a mercurio divalente (Hg²⁺) per aggiunta al campione di Bromo mono-Cloruro (BrCl). Dopo 12 ore il BrCl viene neutralizzato con una soluzione di Idrossilammina Idrocloruro (NH₂OH·HCl). Tutto il mercurio divalente (Hg²⁺) viene ridotto a mercurio elementare (Hg⁰) per addizione al campione di Stagno Cloruro (SnCl₂).

Mediante la tecnica *purge and trap* con Azoto o Argon 5.0 i vapori di mercurio elementare vengono preconcentrati (secondo il principio dell'amalgama con l'oro) su

³ L'Aria in bombole di grado UPP, deve essere ulteriormente purificata per lo scopo inserendo nella linea di utilizzo un filtro a carbone attivo.

una trappola contenente quarzo ricoperto di oro. Successivamente, per desorbimento termico della trappola (campione), i vapori di mercurio vengono trasportati nella linea analitica da un flusso di Argon (carrier gas) e amalgamati nuovamente su una seconda trappola (analitica). Si procede successivamente al desorbimento termico di quest'ultima ed il mercurio trasportato dal carrier nella cella di misura viene rilevato mediante fluorescenza atomica CVAFS (Cold-Vapor-Atomic-Fluorescence-Spectrometry).

L'Azoto o l'Argon utilizzato per il *purge and trap* del campione deve essere di elevato grado di purezza ed eventuali tracce di mercurio presenti devono essere eliminate mediante una trappola d'oro (Trappola filtro) inserita sulla linea del gas prima dell'ingresso nel gorgogliatore.

3 Campo di applicazione

Questo metodo consente la determinazione del mercurio totale nelle deposizioni atmosferiche nell'intervallo di concentrazione 0.04 - 100 ng/L. Per concentrazioni superiori a 100 ng/L è possibile rientrare nell'intervallo indicato ricorrendo alla diluizione del campione.

4 Materiale e Apparecchiature

- Rivelatore a fluorescenza atomica munito di mass flow controller per il gas (CVFAS)
- Mass Flow Controller (necessario nel caso in cui il rivelatore CVFAS non ne sia provvisto)
- Integratore o sistema equivalente di acquisizione segnale dal CVFAS
- Cappa a Flusso Laminare di Classe 100
- Argon 5.0
- Azoto 5.0
- Bilancia analitica precisione 0.1 g.
- Sistema di calibrazione costituito da: bagno termostatico ad acqua, termometro, ampolla di vetro per mercurio metallico, siringa gas tight
- Flussimetro a sfera regolabile a 300-500 cc/min.
- Flussimetro a sfera regolabile a 30-40 cc/min
- Gorgogliatori in vetro borosilicato
- Tubi in Teflon da 1/4" e 1/8"
- Tubi in Teflon da 3/8" per la preparazione delle trappole di Soda Lime
- Raccordi per tubi in teflon con attacco da 3/8" a 1/4"
- Pompa di campionamento a basso flusso
- Trappole in quarzo
- Quarzo ricoperto d'oro
- Trappola di Soda Lime
- Guanti Anti-Statici
- Pinzette Anti-Statiche

- Occhiali, Cuffie e Camici
- Resistenze Ni-Cr
- Ventole di raffreddamento
- Contenitori in polietilene
- Bacinelle in teflon da 20 L con coperchio per procedura di lavaggio “acid clean”
- Rubinetto in Teflon
- Gorgogliatore per *purge and trap* da 100 ml
- Bottiglie in Teflon da 50, 100, 250, 500, 1000 ml
- Termometro digitale con sonda di temperatura > 500 °C

5 Reattivi

Tutti i reattivi, l'acqua utilizzata per il lavaggio della vetreria e dei materiali utilizzati per la preparazione delle soluzioni devono essere ad elevato grado di purezza.

Tutti i reagenti devono riportare: numero di lotto, data e procedura di preparazione.

Un Bianco reagenti deve essere effettuato per ogni reagente preparato.

5.1 Acido Cloridrico

Viene impiegato Acido Cloridrico concentrato ($d=1.40$) di grado ultrapuro.

5.2 Acido Nitrico

Viene impiegato Acido Nitrico di grado ultrapuro.

5.3 Acetone

Viene impiegato Acetone di grado ACS.

5.4 Acqua Milli-Q

Acqua Deionizzata con una conducibilità di 18 M Ω /cm, preparata da un sistema ad Osmosi-Inversa. Viene utilizzata per la preparazione di tutti i reagenti e per il risciacquo di tutta la vetreria e materiali utilizzati per l'analisi e il campionamento.

5.5 IdrossilAmmina Cloridrato

Si sciolgono 30 gr di $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ in acqua Milli-Q per arrivare al volume finale di 100 ml in un matraccio. Questa Soluzione viene purificata tramite l'aggiunta di 0,5 ml di SnCl_2 e lasciata gorgogliare per 12 ore con Azoto (esente da mercurio). La soluzione preparata deve essere conservata in una bottiglia scura di Teflon in frigorifero per un massimo di trenta giorni, allo scadere dei quali deve essere preparata nuovamente.

5.6 Bromo MonoCloruro

10.8 gr di Potassio Bromuro (KBr) vengono sciolti in 1 L di HCl Conc. di grado ultrapuro agitando la soluzione tramite un piccolo magnete rivestito in Teflon. Quando tutto il KBr è disciolto si aggiungono 15.2 gr. di Potassio Bromato (KBrO_3)⁴. Questo processo porta alla formazione di Bromo e Cloro gassosi, pertanto tutto il trattamento deve essere effettuato rigorosamente sotto cappa chimica. Dopo l'aggiunta del sale, la soluzione deve raggiungere una colorazione giallo scuro. La soluzione di BrCl preparata deve esser conservata a temperatura ambiente sotto cappa. Tale soluzione deve essere preparata nuovamente ogni mese. Prima dell'addizione della quantità opportuna ai campioni da analizzare, deve essere effettuato un bianco della soluzione stessa come di seguito riportato nella procedura "bianco dei reattivi".

5.7 Cloruro Stannoso

In un matraccio da 100 ml si solubilizzano 20 gr di SnCl_2 con circa 70 ml di acqua Milli-Q; si aggiungono alla soluzione 10 ml di HCl Conc. di grado ultrapuro e si porta a volume con acqua Milli-Q. Per eliminare dalla soluzione eventuali tracce di mercurio si lascia passare all'interno della stessa un flusso di Azoto (esente da mercurio) a 300-400 cc/min per una notte. La soluzione preparata viene conservata in frigorifero a + 4 °C in una bottiglia di Teflon scura per un massimo di trenta giorni allo scadere dei quali la soluzione deve essere preparata nuovamente.

5.8 Soluzione Madre di mercurio

La soluzione Madre di mercurio è una soluzione standard (1000 mg/l in HNO_3).

5.9 Standard Secondario (100ng Hg/ml)

Lo Standard Secondario si ottiene trasferendo 100 μL della soluzione madre (1mg/ml in HNO_3) dentro un matraccio da 1L cui si aggiungono 5 ml di BrCl conc., si porta a volume con acqua Milli-Q e si agita vigorosamente. La soluzione è stabile per più di un anno.

5.10 Standard di Lavoro (2ng Hg/ml)

Lo Standard di Lavoro viene preparato prelevando 2 ml di Standard Secondario successivamente trasferiti in un matraccio da 100 ml, con l'aggiunta di 1ml di BrCl e portando a volume con acqua Milli-Q. Lo Standard di Lavoro deve essere preparato ogni trenta giorni.

⁴ Per ridurre il contenuto di mercurio nei reagenti di partenza si consiglia di porre in muffola a 250 °C per una notte il KBr e il KBrO_3 , quindi si lasciano raffreddare in essiccatore contenente gel di silice e carbone attivo. Quest'operazione è consigliata ogni qualvolta si deve preparare la soluzione di BrCl.

5.11 Lana di quarzo

Viene utilizzata per la preparazione delle trappole campione, trappole analitiche e trappole soda Lime. Prima dell'uso viene riposta in muffola a 500 °C per due/tre ore al fine di eliminare eventuali tracce di mercurio presenti all'interno della stessa, si lascia raffreddare in essiccatore contenente gel di silice e carbone attivo e si conserva il buste di polietilene con chiusura a zip.

5.12 Soda Lime (Calce Sodata)

La Trappola Soda Lime viene utilizzata per adsorbire l'umidità e gli alogeni nella fase di *Purge and Trap* del mercurio dal campione, poiché la presenza di umidità e/o alogeni riduce l'efficienza delle trappole e, quindi, l'affidabilità delle stesse.

La Trappola di Soda Lime può essere realizzata con un tubo di teflon della lunghezza di 10 cm e del diametro esterno di 3/8" con alle due estremità due raccordi in teflon da 3/8" a 1/4". L'impaccamento della trappola viene eseguito nel seguente modo: ad una delle due estremità avvitare il raccordo in teflon, inserire dalla parte opposta uno strato di circa 1 cm di lana di quarzo, riempire il tubo con la Soda Lime fino a circa 1.5 cm dall'estremità del tubo, inserire uno strato di lana di quarzo di circa 1 cm e avvitare il secondo raccordo in teflon. Nelle due estremità da 1/4" inserire e avvitare due pezzi di tubo in Teflon da 1/4" della lunghezza appropriata per il posizionamento nella linea del *purge and trap* dove viene condizionata come descritto nella sezione 6.2.

5.13 Preparazione delle Trappole d'oro

I granuli di oro o di quarzo ricoperti con oro, usati nelle trappole vengono impaccati in un tubicino di quarzo di 10 – 12 cm di lunghezza avente all'interno due dentellature come illustrato in Figura 2.



Fig.1 SCHEMA TRAPPOLA DI CAMPIONAMENTO

Figura 2 - Schema della trappola d'oro

Ogni trappola contiene approssimativamente 0.7 gr di granuli di quarzo ricoperti d'oro o di oro mescolato con granuli di quarzo e sono impaccati usando della lana di

quarzo posizionata all'interno delle dentellature. I granuli, la lana di quarzo ed il tubicino devono essere condizionati a 600°C per un' ora prima della preparazione e tutto l'occorrente (tubicini, tappi e pinzette di teflon) deve essere pulito usando la procedura precedentemente descritta.

Dopo la preparazione le trappole vengono identificate tramite un codice per poter rintracciare la data di preparazione, i bianchi e le risposte analitiche di ogni singola trappola.

Le trappole prima dell'uso devono essere condizionate mediante riscaldamento a 500°C per 5 minuti facendo passare un flusso di Argon a 300cc/min al fine di eliminare tutte le eventuali impurità presenti all'interno della trappola. Questa procedura di condizionamento e pulizia viene eseguita due volte.

6 Analisi

6.1 Analisi dei campioni

Ad un'aliquota di campione da 100 ml, introdotta in bottiglie di teflon da 125 ml, si aggiunge l'1% (v/v) di BrCl, si chiude la bottiglia e si lascia reagire al buio per almeno 24 ore agitando periodicamente. Nel caso in cui i campioni presentino un elevato contenuto di materiale particellare la quantità di BrCl che si aggiunge a 100 ml di campione deve essere del 5%. Allo scadere delle 24h la soluzione deve avere una colorazione giallina dovuta ad un eccesso di BrCl. Nel caso in cui la soluzione risulti incolore deve essere ripetuto il trattamento con il BrCl.

Nel gorgogliatore (Figura 3) si versano 100 ml di campione trattato con il BrCl. Si aggiungono 250 µL della soluzione di Idrossilammina cloridrato o una quantità maggiore rapportata alla quantità di BrCl aggiunta al campione, si chiude e si lascia reagire per 5 min. per ridurre l'eccesso di BrCl nella soluzione. Trascorsi i 5 min. la soluzione diventa incolore indicando che tutto il BrCl è stato ridotto.

Si aggiungono alla soluzione così trattata 500 µL di Cloruro Stannoso, si inserisce nella linea del *purge and trap* una trappola d'oro campione, precedentemente pulita, all'estremità libera della Soda Lime Trap (Figura 3), si apre il regolatore di gas impostato a 450 cc/min e la soluzione si lascia gorgogliare per 7 min.

La trappola campione viene successivamente inserita nella linea analitica (Figura 4) assicurandosi che la parte contenente il quarzo ricoperto di oro sia completamente avvolta dalla resistenza. Si lascia passare un flusso di Argon per 2 min. all'interno della linea analitica in modo da pulire completamente la stessa dall'aria ambiente filtrata all'interno del sistema durante l'inserimento della trappola campione.

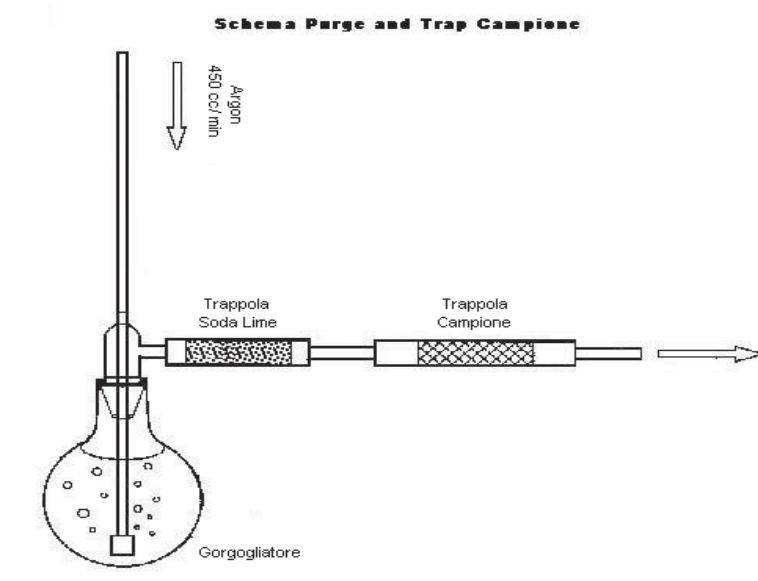


Figura 3 – Schema della tecnica Purge and Trap

Si procede quindi al desorbimento della trappola campione attivando il riscaldamento della resistenza (R1) per 2 min.; il mercurio desorbito viene trasportato dal gas carrier nella linea ed intrappolato sulla seconda trappola del sistema (trappola analitica).

Si procede quindi al raffreddamento della trappola campione mediante l'attivazione della ventola di raffreddamento (V1) e contemporaneamente si attiva il riscaldamento della resistenza (R2) per 2 min. all'interno della quale si trova la trappola analitica.

Il mercurio desorbito viene trasportato per mezzo del gas Carrier (Argon), regolato a 35 cc/min da un mass flow controller (MFC), nella cella di misura del rivelatore a fluorescenza atomica. Alla fine dei due minuti si attiva la ventola (V2) per il raffreddamento della trappola analitica.

Il segnale del rivelatore viene acquisito mediante un integratore o un sistema di acquisizione dati per convertire il segnale in area usata successivamente per i calcoli. Il rivelatore a fluorescenza atomica (CVAFS) deve essere settato in modo da dare una risposta di 1000mV per 1 ng di standard di Hg, mentre la linea di base viene impostata a 5 mV.

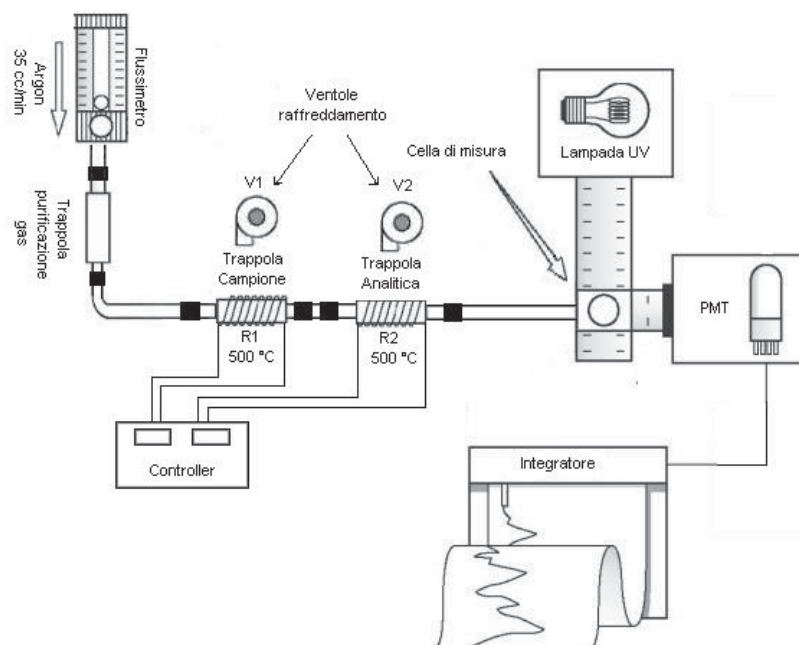


Figura 4 - Schema della Linea Analitica CVFAS

6.2 Condizionamento Trappola Soda lime e Pulizia del Sistema

Prima di analizzare la serie di campioni, è necessario condizionare la Trappola di Soda Lime e pulire la linea riempiendo il gorgogliatore con 50 ml di acqua Milli-Q, aggiungendo 1 ml di SnCl_2 e lasciando gorgogliare per 15–20 min. a 450cc/min. Successivamente si effettua un bianco di sistema per accertare l'assenza di contaminazioni.

6.2.1 Bianco di Sistema

Si collega una trappola pulita alla Trappola Soda Lime e si aggiunge 1 ml di SnCl_2 alla soluzione utilizzata precedentemente per la pulizia del sistema, quindi si lascia gorgogliare per 5 min. a 450cc/min.

Successivamente si procede all'analisi come descritto precedentemente per i campioni.

6.2.2 Bianco Reagenti

Prima di ogni serie di analisi deve essere effettuato un Bianco per testare i reagenti impiegati per l'analisi dei campioni. Il Bianco viene effettuato su un campione

precedentemente analizzato e quindi esente da mercurio. Per un'aliquota di 100 ml di campione, si utilizzano: 1ml di BrCl, 0.25ml di $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ e 0.5ml di SnCl_2 . Si inserisce una trappola pulita immediatamente dopo la Trappola Soda Lime e si lascia gorgogliare per 7 min. a 450cc/min. Successivamente si procede all'analisi come descritto precedentemente per i campioni.

Il risultato ottenuto servirà per determinare il limite di rilevabilità del metodo e per il calcolo della concentrazione del campione.

6.3 Curva di Calibrazione e Standard di Controllo

La curva di calibrazione deve essere effettuata prima di ogni serie di analisi, con un minimo di quattro punti.

Per ogni standard si inserisce una trappola campione pulita immediatamente dopo la Trappola Soda Lime. Nel gorgogliatore contenente 100 ml di acqua Milli-Q, si aggiunge l'aliquota di standard di lavoro e 1 ml di SnCl_2 e si lascia gorgogliare per 7 min. a 450 cc/min. Alla fine del processo si analizza la trappola campione seguendo la procedura descritta per il campione.

Gli Standard di controllo devono essere analizzati ogni sei campioni, nella maniera precedentemente descritta.

6.3.1 Calcolo della Concentrazione di mercurio

La Concentrazione di mercurio totale nelle deposizioni atmosferiche viene espressa in ng/L.

La Concentrazione di mercurio viene calcolata mediante la seguente formula:

$$\text{Hg ng/L} = \frac{C - B}{V} \times 1000$$

Dove:

C = Concentrazione in ng di Hg ricavata dalla curva di calibrazione

B = Concentrazione in ng di Hg del bianco calcolato come segue:

$$B = \text{Bianco dei reagenti} + \text{Bianco del sistema analitico}$$

V = Volume dell'Aliquota Analitica

7 Risoluzione dei Problemi

Uno dei problemi più ricorrenti è quello di un cattivo funzionamento delle trappole che, come accennato in precedenza, devono essere identificate. Ogni campione deve

essere associato alla o alle singole trappole in modo da tracciare un'analisi dell'andamento delle stesse nel corso delle determinazioni.

Il contatto delle trappole con vapori di alogeni o il surriscaldamento delle stesse possono renderle inutilizzabili.

Pertanto è consigliabile controllare spesso la Trappola Soda Lime, sostituirla quando necessario e controllare che la temperatura di desorbimento non superi i 550 °C.

Se durante l'analisi si osserva una risposta bassa del rivelatore è possibile che vi sia qualche perdita all'interno della linea analitica o in quella di gorgogliamento. Ispezionare le trappole campione e Soda Lime e tutti i raccordi.

Se durante l'analisi si osservano picchi molto larghi o non se ne rilevano affatto, il problema potrebbe derivare da una possibile perdita nella linea analitica. L'allargamento dei picchi può anch'essere dovuto da un basso flusso di gas o condensa all'interno delle trappole, oppure da un inadeguato riscaldamento. In questi casi è consigliabile sostituire le trappole.

Se la linea di base risulta non stabile è possibile che la lampada UV sia esaurita. Dopo la sostituzione della stessa lo strumento si deve stabilizzare per almeno 24 ore fin quando la lampada non va a regime. Se il problema persiste, la causa potrebbe derivare da fluttuazioni di corrente o variazioni della temperatura interna della lampada.

La temperatura ambiente della stanza dove viene utilizzato il rivelatore a fluorescenza atomica (CVAFS) deve essere mantenuta tra i 20-22°C. Per temperature superiori ai 26 °C potrebbe verificarsi un incremento del rumore di fondo.

8 Bibliografia

Horvat, M., Kotnik, J., Fajon, V., Logar, M., Zvonaric, T., Pirrone, N. (2003) *Speciation of Mercury in Surface and Deep-Sea waters in the Mediterranean Sea*. Atmospheric Environment, Vol. 37/S1 , 93-108.

CEN/TC 264/WG 25: *Speciation for Validation Measurements of a Method for Determination of Mercury in Ambient Air and Deposition*. (URL: <http://www.cs.iiia.cnr.it/CEN/index.htm>).