

c.n.r. istituto di ricerca sulle acque

Metodi analitici

per le acque

notiziario

ISSN: 0392-1425

Anno 9 - N. 3

Luglio-Settembre 1989

- Dosaggio di pesticidi nelle acque: estrazione per mezzo di una cartuccia di Carbo-pack B e quantificazione mediante HPLC (A. Di Corcia, M. Marchetti, S. Capri, A. Liberatori)
- Indice generale del manuale sui «Metodi analitici per le acque»
- Indice generale del manuale sui «Metodi di analisi per acque di mare»
- *Solid phase extraction by Carbo-pack B and HPLC determination of pesticides in water (A. Di Corcia, M. Marchetti, S. Capri, A. Liberatori)*
- «Metodi analitici per le acque» (Handbook for Water Analysis). General Index.
- «Metodi di analisi per acque di mare» (Handbook for Seawater Analysis). General Index.

La riproduzione è autorizzata a condizione che venga citata la fonte:
C.N.R. - ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE - ROMA

ISSN: 0381-1422

Luglio-Settembre 1989

Anno 9 - N. 3

Con questo Notiziario trimestrale l'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR intende dare un contributo alla divulgazione ed al trasferimento dei risultati di studi relativi all'ammodernamento ed aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi degli inquinanti nelle acque, con riferimento allo sviluppo di nuove tecniche analitiche, alla determinazione di nuovi indici, alla definizione ed ai rimedi per nuove interferenze. In tal senso il Notiziario si rivolge ai laboratori di analisi e controllo pubblici e privati ed ai centri di ricerca specializzati nel settore dell'analisi delle acque ai quali intende fornire un utile strumento di lavoro. Le metodologie che vengono proposte per la determinazione di inquinanti non potranno, in ogni caso, essere considerati ufficiali finché non verranno recepite nel Manuale IRSA «Metodi Analitici per le acque».

NORME REDAZIONALI

1. Il Notiziario accoglie lavori originali, contributi e comunicazioni a carattere sperimentale e applicativo, reviews e informazioni su attività relative alle metodologie applicate all'analisi delle acque. Inoltre pubblica rubriche speciali dedicate a particolari argomenti di carattere ambientale ivi incluse normative nazionali e comunitarie. I lavori vengono sottoposti per l'approvazione al Comitato di Redazione che provvederà a comunicare agli autori il proprio parere in merito.
2. I testi dei lavori debbono pervenire in originale, dattiloscritti con interlinea due e debbono essere corredati da: 1) il titolo del lavoro; 2) i nomi completi degli Autori e dei rispettivi enti di appartenenza; 3) un breve riassunto (non più di 10 righe) in italiano e in inglese.
3. Il materiale illustrativo deve essere di ottima qualità e consistere in originali disegnati con inchiostro di china su carta non millimetrata, oppure copie eliografiche o fotografiche, oppure fotografie in bianco e nero, possibilmente su carta opaca. Figure (Fig.) e tabelle (Tab.) debbono avere la relativa didascalia, essere numerate progressivamente con numeri arabi e richiamate nel testo. È preferibile non appesantire le figure con scritte esplicative, che trovano migliore collocazione nella didascalia a piè pagina con numerazione di richiamo nella figura.
4. La Bibliografia sarà riportata alla fine del testo e dovrà essere ordinata alfabeticamente indicando, nel seguente ordine, il cognome e le iniziali del nome di tutti gli Autori, l'anno di pubblicazione, possibilmente il titolo dell'articolo, il titolo del periodico, il numero del volume, la prima e l'ultima pagina del lavoro.
La Bibliografia dovrà essere citata nel testo indicando il cognome degli Autori e l'anno di pubblicazione di ciascun lavoro. Per l'abbreviazione dei titoli dei periodici si prega di attenersi alle norme internazionali oppure si consiglia di citarli per esteso.

DOSAGGIO DI PESTICIDI NELLE ACQUE: ESTRAZIONE PER MEZZO DI UNA CARTUCCIA DI CARBOPACK B E QUANTIFICAZIONE MEDIANTE HPLC**A. Di Corcia (*), M. Marchetti (*), S. Capri (**), e A. Liberatori (**)**

(*) Dipartimento di Chimica, Università «La Sapienza», Roma

(**) IRSA - CNR, Roma

Riassunto

Viene descritto un procedimento di estrazione liquido-solido per mezzo di una cartuccia di Carbo-pack B per l'isolamento di 25 erbicidi dalle acque. Grazie alla presenza di particolari gruppi chimici contaminanti la superficie del Carbo-pack, la completa separazione di pesticidi basici/neutri da quelli acidi è stata resa possibile. Dopo parziale rimozione dei solventi, le due frazioni sono state subfrazionate e quantificate per mezzo di HPLC in fase inversa e gradiente di eluizione con rilevazione UV. Rispetto ad una cartuccia di C-18, la cartuccia di Carbo-pack è molto più efficace ad estrarre erbicidi polari, diminuisce di sette volte il tempo di estrazione ed è più adattabile all'estrazione «in situ». I limiti di rivelabilità di questo metodo per gli erbicidi considerati erano compresi tra 0.8 e 10 ng/L.

Summary

A liquid-solid extraction procedure involving a Carbo-pack B cartridge for isolation of 25 herbicides from environmental waters is presented. By taking advantage of the presence of positively charged active centers on the Carbo-pack B surface, a stepwise elution system allowed the complete separation of base/neutral pesticides from the acidic ones. After partial solvent removal, the two fractions were subfractionated and quantified by gradient elution, reverse-phase HPLC with UV detection. Compared to a C-18 cartridge, the Carbo-pack cartridge offers the advantages of much better recoveries of polar herbicides, of seven times shortening the extraction time and to be more adaptable to field use. The detection limits of this method for all the herbicides considered were between 0.8 and 10 ng/L by extracting 2 L of a water sample.

Introduzione

È noto che la quantità totale di pesticidi usati a scopo sia agricolo che industriale è in crescita continua.

Come risultato, i pesticidi sono penetrati in tutti i compartimenti dell'ambiente naturale (Wauchope, 1978; Aharonson, 1978; Rivera et al., 1986; Gudehn & Kolmodin-Hedman, 1987; Glotfelty et al., 1987).

La determinazione di pesticidi in matrici ambientali pone sostanziali problemi analitici. La Direttiva CEE 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, recepita dalla legislazione

italiana (D.P.C.M. 8/2/85), pone concentrazioni massime ammissibili di 0.1 $\mu\text{g/L}$ per pesticidi individuali e 0.5 $\mu\text{g/L}$ per pesticidi totali. Allo scopo di giudicare con sufficiente confidenza se lo standard di 0.1 $\mu\text{g/L}$ è stato superato o no, sono necessari metodi analitici di sufficiente accuratezza e sensibilità in grado di apprezzare concentrazioni dell'ordine di 0.01-0.02 $\mu\text{g/L}$. Inoltre la presenza sul mercato di centinaia di pesticidi e la facilità con cui, nel giro in pochi anni, vengono sostituiti da altri formulati rendono difficile l'applicazione dei metodi analitici esistenti, sviluppati per la misura di un singolo pesticida o una singola classe di pesticidi. Da un punto di vista ideale, una possibilità di limitare gli sforzi è l'impiego di pochi metodi non specifici che dovrebbe facilitare la rapida identificazione di un gran numero di pesticidi ai limiti di sensibilità richiesti. Se necessario, la presenza di pesticidi individuati potrebbe essere confermata per mezzo di metodi accurati e calibrati per specifici pesticidi, come quelli che impiegano la spettrometria di massa e tecniche enzimatiche.

Sebbene la gas-cromatografia (GC) con colonne capillari rimane la tecnica più popolare per l'analisi simultanea di un gran numero di pesticidi, il numero di pubblicazioni apparse in letteratura che propongono metodi non selettivi per l'analisi di tracce di pesticidi per mezzo di cromatografia liquida (HPLC) è in continua crescita (Cotterill & Byast, 1984; Osselton & Snelling, 1986; Boessenkool et al., 1987; Bellar & Budde, 1988; Martindale, 1988; Reupert & Ploeger, 1988). Ciò è dovuto al fatto che le proprietà di alcune classi di pesticidi di introduzione relativamente recente, come feniluree, fenossiacidi, carbammati ed ammine quaternarie, rendono la determinazione di questi pesticidi più agevole per mezzo di HPLC che non per GC.

Fino ad alcuni anni fa, il pretrattamento del campione per l'isolamento di composti organici da matrici acquose era invariabilmente fatto per mezzo dell'estrazione liquido-liquido. Questa tecnica è lenta, richiede una manipolazione eccessiva del campione con conseguente sua possibile contaminazione e fa uso di grandi volumi di solventi costosi, infiammabili e nocivi. Inoltre, falsi positivi possono essere introdotti nell'analisi a causa delle impurezze del solvente. Infine, questa tecnica non si presta all'estrazione «in situ» del campione acquoso che elimina i problemi di contaminazione del campione da parte dei recipienti di raccolta e quelli del trasporto e conservazione di grandi volumi d'acqua.

Tutte queste difficoltà hanno condotto allo sviluppo di tecniche di estrazione per mezzo di piccole cartucce contenenti adatti solidi adsorbenti. Tra questi, il più popolare è certamente la silice chimicamente modificata con catene alchiliche, come octadecil (C-18). Comunque, uno studio comparativo fatto da Bellar e Budde ha mostrato che l'efficienza di estrazione di una cartuccia C-18 per pesticidi polari in acqua è persino più scarsa di quella della tecnica di ripartizione liquido-liquido.

Il Carbopack B è un tipo ben noto di carbon black grafitizzato, avente una superficie non-porosa, sostanzialmente non-polare ed omogenea con un'area di circa 100 m^2/g . Da alcuni anni, questo adsorbente è impiegato per l'estrazione in fase solida di vari analiti da fluidi biologici (D'Ascenzo et al., 1982; Di Corcia et al., 1982; Andreolini et al., 1983; Cosmi et al., 1983; Andreolini et al., 1985; Andreolini et al., 1987), di insetticidi triazinici (Battista et al., 1989) e fenossiacidi (Di Corcia et al., 1989) da campioni acquosi. Cartucce di Carbopack hanno mostrato una superiore efficienza nei rispetti di cartucce C-18 nell'estrazione di fenoli (Borra et al., 1986) e cloroaniline (Di Corcia & Samperi, 1990) da acqua.

Alcuni anni fa, l'esistenza sulla superficie di Carbopack di gruppi chimici ossigenati aventi la struttura di sali di benzpirilio è stata dimostrata mediante misure polarografiche (Campanella et al., 1982). La presenza di questi complessi chimici, capaci di scambiare anioni, è stata sfruttata con successo per il frazionamento di estrogeni e loro metaboliti acidi in base alla loro classe di coniugazione (Andreolini et al., 1987).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di sviluppare un procedimento analitico semplice, rapido e sensibile per il dosaggio di erbicidi acidi, basici e neutri nelle acque. L'estrazione degli erbicidi dai campioni acquosi è stata fatta per mezzo di una piccola cartuccia di Carbopack campionando a flussi di 120-140 mL/min .

Rapporti di concentrazione di circa 4000 erano ottenuti campionando 2 litri di acque potabili e di falda. Sfruttando l'esistenza dei centri attivi sopra citati sulla superficie del Carbopack B, un sistema di

eluizione frazionato ha permesso di isolare una frazione acida, in modo che noti erbicidi acidi come bentazone, fenossiacidi e derivati fenolici possono essere separati da pesticidi basici e neutri e quindi analizzati separatamente diminuendo le possibilità di interferenze. Dopo riestrazione dei pesticidi dalla cartuccia di Carbopack B con adatti sistemi eluenti, i due estratti erano parzialmente concentrati e le soluzioni finali iniettate in un apparato HPLC operante in fase inversa e con gradiente di eluizione.

Parte sperimentale

Reattivi e prodotti chimici. Gli standard dei fenossiacidi furono ottenuti dall'Eurobase (Milano, Italia). Tutti gli altri pesticidi, considerati in questo lavoro furono forniti dalla Riedel-de Hën (Seelze, Germania Ovest).

Le soluzioni standard individuali furono preparate sciogliendo 100 mg di ogni pesticida in 100 mL di metanolo. Per la misura dei recuperi dei pesticidi mediante il procedimento di estrazione da noi elaborato, furono preparate due distinte soluzioni standard di lavoro, una mescolando 80-350 μ L di ogni pesticida neutro o basico e diluendo a 50 mL con metanolo e la seconda mescolando 200 μ L di ogni pesticida acido (100 μ L per la soluzione di ioxynil) e diluendo a 50 mL con metanolo.

Per l'analisi HPLC, l'acqua distillata era ulteriormente purificata passandola attraverso una cartuccia Norganic (Millipore). Metanolo ed acetonitrile furono acquistati dalla Baker (Deventer, Olanda) l'acido trifluoroacetico dalla Fluka AG (Buchs, Svizzera) e l'acido ascorbico dalla Carlo Erba.

Procedimento. 250 mg di Carbopack B (Supelco, Bellefonte, PA, USA) le cui particelle avevano dimensioni comprese tra 37 e 74 μ m, furono impaccati in un tubo di polipropilene (6.5 cm x 1.4 cm). Setti porosi di polietilene (Supelco, Bellefonte, PA, USA) aventi pori di 20 μ m furono collocati sopra e sotto il letto dell'adsorbente. Il setto poroso superiore fu appoggiato delicatamente sul letto di Carbopack per evitare una possibile rottura delle particelle di adsorbente con conseguente diminuzione della permeabilità della cartuccia. Prima di processare i campioni d'acqua, la cartuccia fu lavata con 3 mL di cloruro di metilene/metanolo (95:5 in volume), seguiti da 2 mL di metanolo e 10 mL di una soluzione acquosa di acido ascorbico, 10 g/L. La cartuccia era piazzata, quindi, in una beuta da vuoto ed i liquidi forzati a passare attraverso la cartuccia per mezzo del vuoto prodotto da una pompa ad acqua. Quando necessario, i campioni di acqua superficiale erano filtrati per mezzo di filtri a fibra di vetro per eliminare alghe e detriti che possono ostruire la cartuccia. Campioni di acqua contenenti ioni ipoclorito erano pretrattati aggiungendo 0.4 g di solfito di sodio per litro d'acqua allo scopo di eliminare l'ipoclorito. In tal modo oltre ad evitare l'ossidazione parziale degli analiti aggiunti dall'esterno allo scopo di valutare l'efficienza di estrazione della cartuccia di Carbopack, venivano eliminati altri effetti negativi che saranno discussi più avanti. I campioni d'acqua contaminati artificialmente erano agitati per un minuto e, dopo 10 minuti, versati in un recipiente di vetro connesso alla cartuccia di adsorbente. L'acqua era costretta a passare attraverso la cartuccia a flussi di 120-140 mL/min riducendo la pressione dentro la beuta al minimo. Dopo il passaggio del campione, il vuoto era eliminato, 5 mL di acqua distillata erano introdotti nella cartuccia e un vuoto moderato era ripristinato nella beuta in modo da far passare l'acqua attraverso il letto di Carbopack a flussi di 10-15 mL/min. Questa operazione aveva lo scopo di eliminare gocce d'acqua attaccate alla parete di plastica della cartuccia la cui presenza può diminuire l'efficienza dei solventi organici usati per desorbire gli analiti. In seguito al passaggio di grandi volumi di acqua una certa contrazione del letto di adsorbente era notata. In questo caso, prima del lavaggio con 5 mL di acqua distillata, il setto superiore era spinto contro la colonna di adsorbente. Questa operazione serviva a facilitare la susseguente rimozione di acqua dalla cartuccia e migliorare l'efficacia del sistema eluente poiché questo può permeare in modo più omo-

geneo il letto di adsorbente. Dopo il passaggio di acqua, la maggior parte di questa era allontanata riducendo la pressione nella beuta al minimo per 30 sec. Staccata la pompa, una provetta di vetro con il fondo tondo e con un diametro di 1.4 cm era collocata sotto la cartuccia e 1.4 mL di metanolo erano versati nella cartuccia. Collegata di nuovo la pompa con la beuta, il metanolo era forzato a passare attraverso la cartuccia goccia a goccia (flusso pari a circa 2 mL/min), regolando la pressione in modo conveniente. Dopo il passaggio di metanolo, l'eluizione della frazione basica/neutra era continuata percolando due aliquote di 3 mL di cloruro di metilene/metanolo (95:5 in volume). Le ultime gocce di questa soluzione impregnante il letto d'adsorbente erano raccolte diminuendo la pressione dentro la beuta. La frazione contenente gli analiti acidi era raccolta dentro una seconda provetta di vetro facendo passare lentamente 5 mL di cloruro di metilene/metanolo (60:40 in volume) alcalinizzati con idrossido di sodio, 40 mmol/L. Questo sistema solvente era preparato di fresco ogni giorno. Le ultime gocce di questo sistema eluente erano raccolte dalla cartuccia diminuendo di nuovo la pressione nella beuta. Prima della concentrazione, l'estratto contenente gli analiti acidi era acidificato aggiungendo 0.35 mL di acido trifluoroacetico al 5% (V/V) in acqua. Sia l'estratto acido che quello basico/neutro erano concentrati fino ad un volume finale rispettivamente di circa 0.3 e 0.5 mL, ponendoli in un bagno ad acqua posto a 28 °C e sotto un flusso moderato di azoto. Nell'ultima parte di questo processo, possono formarsi due strati, uno costituito da acqua/metanolo e l'altro da cloruro di metilene/metanolo. In tal caso, le due provette erano agitate due o tre volte allo scopo di eliminare il doppio strato. Questa operazione facilita la rimozione del cloruro di metilene con conseguente riduzione del tempo di concentrazione e, soprattutto, evita che l'estratto finale contenente gli analiti basici/neutri contenga ancora piccole quantità di cloruro di metilene, che interferisce nell'analisi HPLC.

Dopo aver misurato esattamente i volumi degli estratti finali, 30 e 100 μ L degli estratti contenenti rispettivamente analiti basici/neutri ed acidi erano iniettati nell'apparato HPLC.

Strumentazione. L'analisi cromatografica era eseguita con uno strumento Varian (Walnut Creek, MA, USA) Modello 5000 equipaggiato con un iniettore Rheodyne Modello 7125 avente un «loop» di 100 μ L e con un rivelatore UV Varian Modello 2550. La colonna cromatografica, 25 cm x 4.6 mm, conteneva particelle di C-18 DB di diametro medio di 5 μ m (Supelco). Per il subfrazionamento di composti basici e neutri, la composizione iniziale della fase mobile era acqua/acetonitrile (75:25 in volume) programmata linearmente sino al 50% in 25 minuti; per i composti acidi, la composizione iniziale era acqua contenente lo 0.2% (V/V) di acido trifluoroacetico e metanolo 55:45 in volume) che era programmata a raggiungere l'80% di metanolo in 40 min.

I composti basici e neutri erano rivelati in UV a 220 nm, mentre i composti acidi erano rivelati a 230 nm.

Le concentrazioni degli analiti in acqua erano calcolate misurando le altezze dei picchi di ogni erbicida e paragonandole con soluzioni standard. Per gli erbicidi basici e neutri, la soluzione era preparata aggiungendo un volume appropriato della soluzione standard di lavoro a 0.5 mL di acqua/metanolo (40:60 in volume). Per gli acidi, invece, la soluzione standard era preparata aggiungendo un volume noto della soluzione standard di lavoro a 5 mL dello stesso sistema eluente utilizzato per eluire gli acidi dalla cartuccia di Carbo-pack B e 0.35 mL della soluzione acquosa di acido trifluoroacetico e sottoponendo questa soluzione al processo di concentrazione del solvente.

In tal modo, un'impurezza volatile contenuta negli standard puri dei fenossiacidi, che produceva un picco con tempo di ritenzione molto simile all'MCPP, era rimossa per evaporazione.

Risultati e discussione

Dati relativi all'efficienza di estrazione della cartuccia di Carbopack B ottenuti campionando volumi crescenti di un campione di acqua di falda priva di pesticidi sono riportati in Tabella 1. Ai campioni d'acqua erano aggiunte quantità dei pesticidi tali da realizzare concentrazioni individuali tra 250 e 600 ng/L. Nessun aggiustamento del pH del campione era fatto prima dell'estrazione. Come si vede, la cartuccia di Carbopack B è estremamente adatta ad estrarre da grandi volumi d'acqua pesticidi ben solubili in acqua come cloridazon, bentazone e dinitro-o-cresolo. Per mezzo di una cartuccia di Carbopack B, 2 litri di acqua possono essere estratti in circa 15 minuti con un fattore di arricchimento di 4000. Perciò, l'adsorbente da noi valutato rende possibile la determinazione anche di residui di pesticidi con basso coefficiente di estinzione molare in modo semplice e rapido.

Tab. 1 - Recupero dei pesticidi estratti da volumi crescenti di acque di falda.

COMPOSTI	RECUPERO (%) ^a		
	VOLUME (L)		
	1	2	3
BASICI/NEUTRI			
Cloridazon	96	98	96
Simazina	96	97	98
Metribuzina	98	100	96
Atrazina	96	97	97
Monolinuron	98	100	97
Paraoxon	100	97	99
Propazina	95	98	100
Propanil	98	97	99
Linuron	97	98	101
Molinate	90	86	86
ACIDI			
Bentazone	98	100	97
Dinitro-o-cresolo	96	98	93
Bromoxynil	93	96	98
2,4-D	102	97	99
Ioxynil	103	99	101
MCPA	102	98	100
2,4-DP	97	99	100
MCPP	100	98	99
2,4,5-T	103	99	100
2,4-DB	100	98	97
MCPB	95	97	99
2,4,5-TP	100	97	98
Dinoseb	100	96	99
Dinoterb	101	101	103
Pentaclorofenolo	93	92	94

^a Valori medi calcolati da tre estrazioni

Sebbene pochi di numero (Andreolini et al., 1987), i complessi ossigenati con struttura simile ai sali di benzpirilio presenti sulla superficie del Carbopack, rendono questo materiale molto più efficace degli scambiatori anionici tradizionali nel catturare composti acidi da campioni acquosi. Ciò è dovuto al fatto che, contrariamente agli scambiatori anionici, l'abilità del Carbopack nell'estrarre anioni organici non è influenzata dalla presenza di quelli inorganici. Questo comportamento può essere spiegato assumendo che l'adsorbimento di anioni organici sulla superficie di Carbopack è il risultato di una azione sinergica svolta sia dai particolari complessi ossigenati superficiali che dalla struttura grafitica prevalente dell'adsorbente. Ne discende che gli anioni inorganici non possono competere con quelli organici per l'adsorbimento sulla superficie di Carbopack, giacché i primi non hanno alcuna affinità con la superficie grafitica dell'adsorbente.

Accuratezza, Precisione e Limite di Rivelabilità. L'accuratezza e la precisione di questo metodo sono state valutate a concentrazioni in acqua relativamente basse ed alte degli erbicidi considerati. Aliquote di 2 litri di un campione di acqua di falda priva dei pesticidi considerati furono contaminate artificialmente aggiungendo volumi noti delle due soluzioni standard di lavoro. Altre aliquote di 2 L dello stesso campione d'acqua, con un contenuto in pesticidi dieci volte più basso, furono analogamente preparate per mezzo di porzioni delle due soluzioni di lavoro preventivamente diluite dieci volte. I risultati quantitativi, riportati in Tabella 2, mostrano che l'efficienza di recupero non era influenzata diminuendo di un fattore dieci il contenuto dei pesticidi nel campione acquoso. Ciò dimostra l'assenza di fenomeni di adsorbimento irrever-

Tab. 2 - Accuratezza, precisione e limite di rivelazione del metodo a due differenti concentrazioni degli erbicidi in 2 litri di acqua di falda.

Composti	Conc. (ng/l)	Recupero %	(RSD) ^a	Conc. (ng/l)	Recupero %	(RSD) ^a	Limite Rivelazione (ng/l)
BASICI/NEUTRI							
Cloridazon	800	98.3	(1.96)	80	94.3	(2.69)	2
Simazina	800	97.2	(1.59)	80	98.0	(2.32)	1
Metribuzina	1500	99.1	(1.09)	150	98.7	(2.97)	6
Atrazina	600	97.6	(1.21)	60	98.1	(2.18)	0.8
Monolinuron	1500	99.4	(1.40)	150	99.6	(2.63)	10
Paraoxon	1500	98.6	(1.28)	150	99.4	(2.25)	8
Propazina	800	98.2	(1.22)	80	98.5	(2.16)	2
Propanil	1200	97.7	(1.45)	120	97.6	(2.22)	4
Linuron	1200	99.0	(1.62)	120	98.4	(2.74)	4
Molinate	2700	87.9	(2.16)	270	88.2	(3.65)	10
ACIDI							
Bentazone	600	98.6	(2.41)	60	101	(5.60)	6
Dinitro-o-cresolo	600	98.3	(3.02)	60	100	(4.7)	6
Bromoxynil	600	99.2	(2.71)	60	97.7	(4.81)	6
2,4-D	600	98.8	(1.86)	60	99.0	(3.86)	9
Ioxynil	300	100	(1.5)	30	97.5	(3.38)	2
MCPA	600	98.6	(2.13)	60	96.2	(3.27)	9
2,4-DP	600	99.0	(1.28)	60	96.4	(5.12)	6
MCPB	600	96.7	(3.41)	60	98.1	(4.89)	3
2,4,5-T	600	94.1	(1.19)	60	99.6	(5.08)	9
2,4-DB	600	99.6	(2.05)	60	97.9	(3.66)	6
MCPB	600	98.1	(2.02)	60	96.7	(3.42)	3
2,4,5-TP	600	96.4	(1.23)	60	98.8	(3.89)	6
Dinoseb	600	95.9	(2.09)	60	123	(7.12)	3
Dinoterb	600	99.4	(2.56)	60	99.3	(5.10)	6
Pentaclorofenolo	600	94.6	(3.02)	60	118	(6.45)	3

^a Valori medi e deviazioni standard relative calcolate da sei estrazioni.

sibile da parte dei centri attivi della superficie di Carbopack. Recuperi più alti del 100% furono misurati per il dinoseb ed il pentaclorofenolo. Ciò era il risultato di impurezze provenienti dai materiali di plastica della cartuccia, specialmente dai setti porosi di polietilene, che interferivano con l'analisi dei due pesticidi succitati. Questo problema di contaminazione che può abbassare la qualità dell'analisi di tracce di contaminanti, potrebbe essere in parte risolto adottando setti porosi in acciaio piuttosto che in polietilene, come suggerito da alcuni ricercatori (Watts et al., 1988).

Campionando 2 litri di un campione acquoso e nelle condizioni cromatografiche adottate, i limiti di rivelabilità (rapporto segnale/rumore = 3) di questo metodo sono tra 0.8 e 10 ng/l. La Direttiva sull'acqua potabile della Comunità Europea stabilisce che la concentrazione individuale di un pesticida non deve eccedere il valore di 100 ng/l in qualsiasi campione d'acqua potabile. Perciò, questo metodo è in grado di soddisfare i requisiti analitici imposti dalla Direttiva CEE.

L'efficacia del procedimento analitico descritto è stata paragonata con quella ottenibile usando una cartuccia contenente 0.5 g di C-18 disponibile commercialmente (Supelco). Le dimensioni del tubo di plastica contenente il materiale siliceo erano eguali a quello contenente il Carbopack B. Per l'estrazione con cartucce di C-18, ad aliquote di 2 litri dello stesso campione d'acqua di falda usato per le prove di estrazione con Carbopack B erano aggiunti separatamente volumi noti delle soluzioni standard di lavoro dei pesticidi.

Prima dell'estrazione, il pH del campione d'acqua contenente i pesticidi acidi era portato a 2 con HCl concentrato, giacché il materiale C-18 è incapace di trattenere composti acidi al valore di pH originale del campione di acqua. I pesticidi erano eluiti dalla cartuccia di C-18 con 5 mL di metanolo. I risultati comparativi sono riportati in Tabella 3. Come si può vedere, la cartuccia di C-18 è indubbiamente meno

Tab. 3 - Efficienza di una cartuccia di C-18 nell'estrarre gli erbicidi considerati da 2 litri di acqua paragonata a quella di una cartuccia di Carbopack.

COMPOSTI	RECUPERO (%)	
	C-18 ^a	Carbopack
BASICI/NEUTRI		
Cloridazon	18	98
Simazina	98	97
Metribuzina	60	100
Atrazina	96	97
Monolinuron	92	100
Paraoxon	92	97
Propazina	98	98
Propanil	99	97
Linuron	100	98
Molinate	88	86
ACIDI		
Bentazone	75	100
Dinitro-o-oresolo	10	98
Bromoxynil	33	96
2,4-D	41	97
Ioxynil	77	99
MCPA	51	98
2,4-DP	90	99
MCPP	92	98
2,4,5-T	85	99
2,4-DB	100	98
MCPB	99	97
2,4,5-TP	100	97
Dinoseb	99	96
Dinoterb	96	101
Pentaclorofenolo	101	92

^a Valori medi calcolati da tre estrazioni

efficace per l'estrazione di pesticidi polari di una cartuccia di Carbopack B. Un altro svantaggio mostrato dalla cartuccia di C-18, se paragonata a quella di Carbopack, è che il campionamento di grandi volumi d'acqua richiede tempi relativamente lunghi (circa 100 minuti per 2 Litri di acqua). Infine, l'utilizzazione di cartucce C-18 nell'estrazione «in situ» di campioni d'acqua per l'analisi a largo spettro di pesticidi non appare facilmente praticabile. Oltre alla necessità di acidificare il campione allo scopo di trattenere anche pesticidi acidi, un corretto campionamento di acqua con il materiale siliceo dovrebbe essere fatto usando due cartucce separate, poiché alcuni pesticidi, come i derivati della triazina, non sono stabili in ambiente acido.

Il procedimento analitico qui descritto è stato applicato alla determinazione di residui di pesticidi in un campione d'acqua di superficie, come quello del fiume Po. In questo caso, 1 litro d'acqua fu estratto senza manipolazione del campione. I risultati sono visibili nelle figure 1 e 2. Come si può leggere, un'identificazione tentativistica, non convalidata da misure supplementari effettuate con una tecnica altamente specifica, come la spettrometria di massa, indica la presenza nell'acqua del Po di alcuni degli erbicidi da noi considerati, la cui selezione fu fatta in base alla loro popolarità in Italia. Il fatto che gli erbicidi identificati siano presenti in concentrazioni abbastanza basse si può spiegare considerando che il campionamento dell'acqua fu fatto in dicembre e che l'inquinamento agricolo è soggetto a drastiche fluttuazioni stagionali. Infatti, in un campione d'acqua dello stesso fiume prelevato in giugno dello stesso anno, fu misurata una concentrazione di molinate circa 8 volte superiore (Stelluto et al., 1990) a quella qui riportata.

Variabili Analitiche Critiche. Quando l'estrazione degli erbicidi considerati, aggiunti ad aliquote di 2 litri di acqua al livello individuale di circa 100 ng/L, era fatta usando Carbopack non pretrattato con una soluzione di acido ascorbico, perdite di metribuzina e cloridazon rispettivamente del 70 e 40% erano osservate. Nessuna traccia di questi due composti era trovata nell'effluente acquoso. Il lavaggio, prima dell'estrazione, della cartuccia di Carbopack con una soluzione acquosa di acido ascorbico, che è un noto agente anti-ossidante, aveva l'effetto di eliminare completamente ogni perdita dei due analiti sopra menzionati. In passato, noi ottenemmo un'evidenza sperimentale dell'esistenza sulla superficie del Carbopack di gruppi idrochinonici che sono in qualche misura in equilibrio con le loro forme ossidate, cioè semichinoni e chinoni (Campanella et al., 1982). Questi gruppi furono sospettati di essere responsabili del parziale chemisorbimento o della degradazione ossidativa di metribuzina e cloridazon.

Allo scopo di sostanziare questa ipotesi, la frazione non acida degli erbicidi considerati fu estratta da 2 Litri di acqua distillata per mezzo di una cartuccia di Carbopack che era stata precedentemente lavata passando attraverso essa 300 mL di una soluzione acquosa contenente 2 mg/L di ipoclorito di sodio. Questo pretrattamento fu fatto allo scopo di ossidare a chinone ogni idrochinone superficiale. Dopo aver eliminato ogni traccia di ipoclorito lavando ripetutamente con acqua distillata, il campione acquoso contaminato con gli erbicidi era fatto passare attraverso la cartuccia. In queste condizioni, la metribuzina era completamente perduta ed il recupero del cloridazon scendeva al 16%. Da un punto di vista pratico, la presenza di ogni specie ossidante sulla superficie di Carbopack si può eliminare lavando l'adsorbente con acido ascorbico. Inoltre, bisogna evitare un passaggio troppo prolungato di ossigeno atmosferico attraverso la cartuccia e prima di estrarre campioni d'acqua contenenti ioni ipoclorito, bisogna aggiungere 0.4 g di solfito di sodio per litro d'acqua per degradare gli ioni ipoclorito.

Per ottenere un fattore di arricchimento sufficientemente elevato e quindi essere in grado di determinare gli inquinanti presenti in campioni ambientali a livelli di tracce, si rende necessario, qualunque sia il procedimento di estrazione seguito prima del subfrazionamento e della quantificazione per mezzo di tecniche cromatografiche, uno stadio di rimozione del solvente organico. È stato riportato (Bowers et al., 1981) che anche una rimozione parziale del solvente può causare severe e irripetibili perdite di analiti relativamente volatili. Queste perdite possono essere causate da diversi fattori, come il metodo di con-

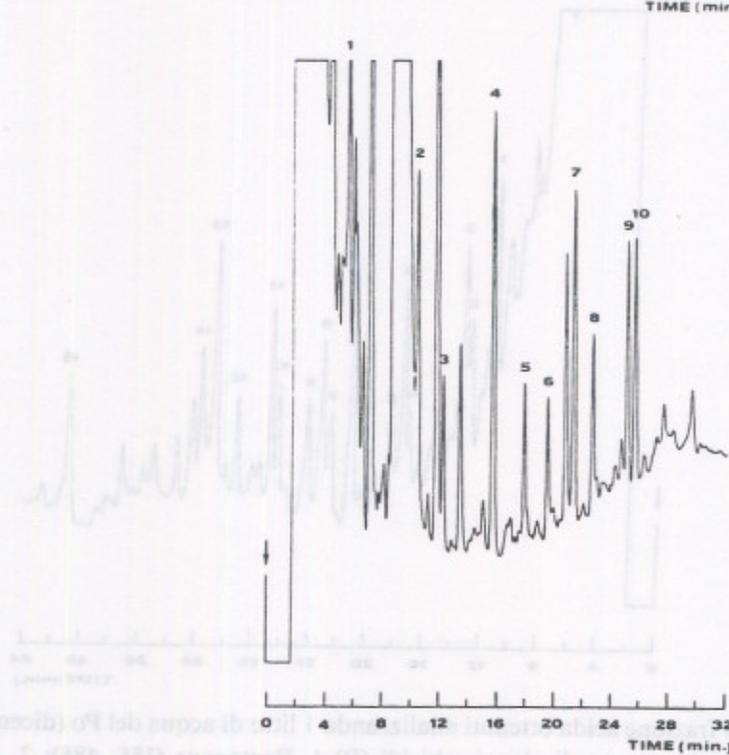
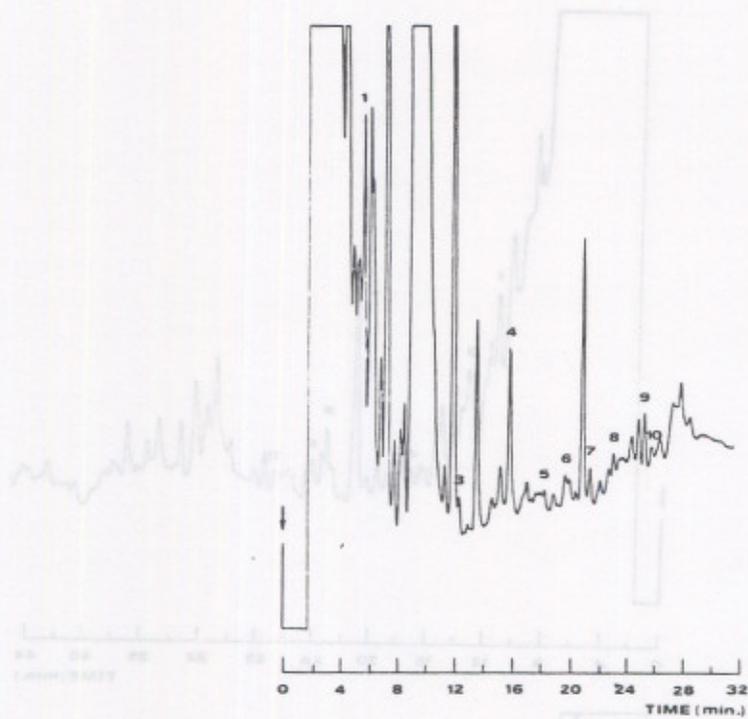


Fig. 1 - Cromatogrammi della frazione neutra ottenuti analizzando 1 litro di acqua del Po (dicembre 1989) senza (A) e con aggiunta esterna di alcuni erbicidi (B) 1. Cloridazon (75; 235); 2. Simazina (-; 160); 3. Metribuzina (80; 380); 4. Atrazina (74; 194); 5. Monolinuron (40; 340); 6. Paraoxon (73; 373); 7. Propazina (18; 178); 8. Propanil (18; 258); 9. Linuron (52; 292); 10. Molinate (151; 691). I numeri in parentesi indicano, di seguito, le concentrazioni in ng/L degli erbicidi prima e dopo l'aggiunta.

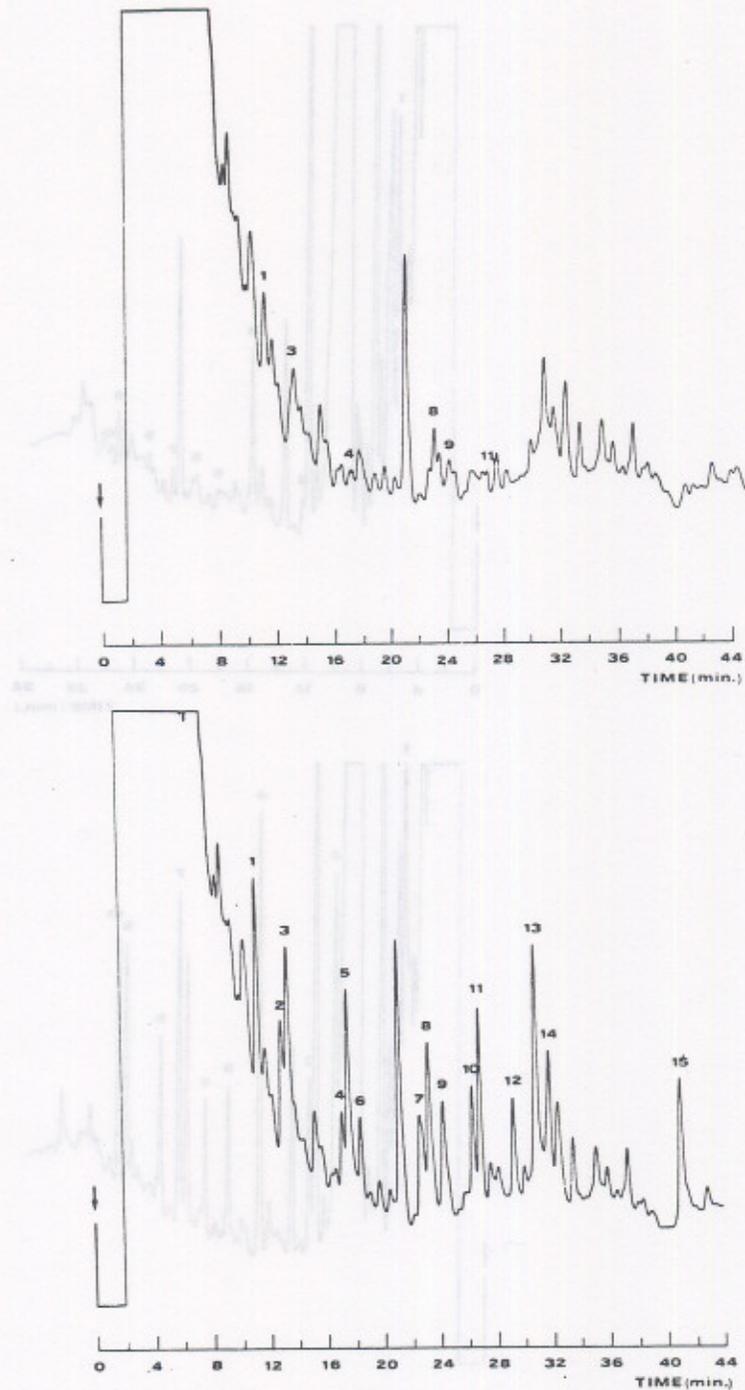


Fig. 2 - Cromatogrammi della frazione acida ottenuti analizzando 1 litro di acqua del Po (dicembre 1989) senza (A) e con aggiunta esterna di alcuni erbicidi (B) 1. Bentazone (185; 485); 2. Dinitro-*o*-cresolo (-; 300); 3. Bromoxynil (190; 490); 4. 2,4-D (60; 360); 5. Ioxynil (-; 150); 6. MCPA (-; 300); 7. 2,4-DP (-; 300); 8. MCPP (188; 488); 9. 2,4,5-T (150; 450); 10. 2,4-DB (-; 300); 11. MCPB (34; 334); 12. 2,4,5-TP (-; 300); 13. Dinoseb (-; 300); 14. Dinoterb (-; 300); 15. Pentaclorofenolo (-; 300). I numeri in parentesi indicano, di seguito, le concentrazioni in ng/L degli erbicidi prima e dopo l'aggiunta. Un picco con tempo di ritenzione molto simile quello del Dinoseb è dovuto, in parte o totalmente, ad una impurezza proveniente dal materiale plastico della cartuccia.

concentrazione adottato, la natura del solvente o solventi da rimuovere, la temperatura alla quale lo stadio di concentrazione è seguito, il volume finale di estratto raggiunto. Per questo motivo, nelle condizioni sperimentali adottate per riestrarre gli analiti intrappolati dalla cartuccia di adsorbente e concentrare l'estratto, cioè eluizione con una miscela di cloruro di metilene/metanolo e susseguente rimozione parziale di questa mediante evaporazione in un bagno ad acqua sotto flusso di azoto, fu condotto uno studio di ottimizzazione in termini di accuratezza e rapidità dello stadio di rimozione del solvente, variando la temperatura del bagno ed il volume finale di estratto. A questo scopo, volumi noti delle due soluzioni standard di lavoro degli erbicidi acidi e neutri erano direttamente aggiunti rispettivamente a 5 mL di cloruro di metilene/metanolo (60:40, in volume) alcalinizzati con idrossido di sodio, 40 mmoli/L, ed a 1.4 mL di metanolo + 6 mL di cloruro di metilene/metanolo (95:5, in volume). A quest'ultima soluzione erano aggiunti anche 0.35 mL di acqua, essendo questo volume di acqua approssimativamente quello che ancora rimaneva nella trappola prima del desorbimento degli analiti. In Tavola 4 sono riportati i dati relativi al molinate, che, tra gli erbicidi considerati, era l'unico ad essere soggetto a perdite per evaporazione nello stadio di concentrazione dell'estratto. È da porre in evidenza che una riduzione del volume di estratto ad almeno 0.6-0.5 mL era necessario per assicurare la completa rimozione del cloruro di metilene. Infatti il cloruro di metilene, quando presente in quantità relativamente grandi nella soluzione finale iniettata nella colonna HPLC, produceva un grosso picco e qualche allargamento dei picchi corrispondenti ai primi composti eluiti, come cloridazon, simazina e metribuzina. Una temperatura del bagno di 28 °C, un flusso moderato di azoto e un volume finale di estratto di circa 0.5 mL erano le migliori condizioni operative per minimizzare la perdita di molinate e concentrare l'estratto in un tempo ragionevole, diciamo 35-40 min. Poiché la concentrazione del solvente può essere un punto critico dell'analisi, è raccomandabile l'uso di un bagno ad acqua il cui contenitore sia in materiale trasparente, allo scopo di poter apprezzare agevolmente il volume finale desiderato di estratto.

Nessuna perdita degli erbicidi acidi considerati era notata durante lo stadio di concentrazione del solvente, a patto di acidificare l'estratto con acido trifluoroacetico (vedi parte sperimentale) prima dell'evaporazione. In caso contrario, si avevano gravi perdite dei dinitrofenoli, cioè dinitro-*o*-cresolo, dinoseb e dinoterb a causa della loro degradazione in un ambiente che diveniva sempre più basico mano a mano che i solventi erano rimossi per evaporazione.

Tab. 4 - Recupero di molinate dopo parziale rimozione dei solventi.

		Temperatura					
		24		28		32	
		Volume Residuo (mL)					
		0.2	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
		Recupero (%) ^a					
		68	91	67	88	61	73

^a Valori medi calcolati da tre determinazioni.

Bibliografia

- WAUCHOPE R.D.J. (1978): *J. Environ. Qual.*, **7**, 459-472.
- RIVERA J., CAIXACH H. & DE TORRES M. (1986): *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **24**, 183-191.
- AHARONSON N. (1978): *Pure Appl. Chem.*, **59**, 1419-1446.
- GUDEHN A. & KOLMODIN-HEDMAN B. (1987): *J. Chromatogr.*, **387**, 420-427.
- GLOTFELTY D.E., SEIBER J.N. & Liljedahl L.A. (1987): *Nature*, **325**, 602-605.
- COTTERILL E.G. & BYAST T.H. (1984): *Liquid Chromatography Environmental Analysis*. (Humana, Clifton, N.J., USA) 77-114.
- OSSELTON M.D. & SNELLING R.D. (1986): *J. Chromatogr.* **368**, 265-271.
- MARTINDALE R.W. (1988): «Determination of residues of a range of fungicides antisprouting agents and organochlorine and organophosphorus insecticides in potatoes by gas-liquid and high performance liquid chromatography», *Analyst*, **113**, 1229-1233.
- BOESSENKOOL H.J., CLEIJ P., GOEWIE, C.F. & VAN DEN BROCK H.H. (1987): *Microkim. Acta*, **2**, 75-92.
- REUPERT R. & PLOEGER E. (1988). *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **33**, 503-509.
- BELLAR T.A. & BUDDE W.L. (1988): «Determination of nonvolatile organic compounds in aqueous environmental sample using liquid chromatography/mass spectrometry», *Anal. Chem.*, **60**, 2076-2083.
- D'ASCENZO G., DI CORCIA A., SAMPERI R. & VINCI G. (1982): *Clin. Chem.*, **28**, 365-372.
- DI CORCIA A., RIPANI L. & SAMPERI R. (1982): *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **229**, 365-372.
- G. COSMI, A. DI CORCIA, R. SAMPERI & G. VINCI (1983): *Clin. Chem.*, **29**, 319-321.
- ANDREOLINI F., DI CORCIA A., LAGANÀ A. & SAMPERI R. (1983): *Clin. Chem.*, **29**, 2076-2078.
- ANDREOLINI F., BORRA C., CACCAMO F., A. DI CORCIA & R. SAMPERI (1985): *Clin. Chem.*, **31**, 1968-1972.
- ANDREOLINI F., BORRA C., CACCAMO F., DI CORCIA A. & SAMPERI R. (1987): «Estrogen conjugates in late pregnancy fluids: extraction and group separation by a graphitized carbon black cartridge and quantification by high-performance liquid chromatography», *Anal. Chem.*, **59**, 1720-1725.
- BACALONI A., GORETTI G., LAGANÀ A., PETRONIO B. & ROTATORI M. (1980): «Sorption capacities of graphitized carbon black in determination of chlorinate pesticides in water», *Anal. Chem.*, **52**, 2033-2037.
- MANGANI F., CRESCENTINI G. & BRUNER F. (1981): «Sample enrichment for determination of chlorinated pesticides in water and soil by chromatographic extraction», *Anal. Chem.*, **53**, 1627-1631.
- BATTISTA M., DI CORCIA A. & MARCHETTI M. (1989): «Extraction and isolation of triazine herbicides from water and vegetable by a double trap tandem system», *Anal. Chem.*, **61**, 935-939.
- DI CORCIA A., MARCHETTI M. & SAMPERI R. (1989): Extraction and isolation of phenoxy acid herbicides in environmental waters using two adsorbents in one minicartridge», *Anal. Chem.*, **61**, 1363-1367.
- BORRA C., DI CORCIA A., MARCHETTI M. & SAMPERI R. (1986): Evaluation of graphitized carbon black cartridges for rapid organic trace enrichment from water: application to priority pollutant phenols», *Anal. Chem.*, **58**, 2048-2052.
- DI CORCIA A. & SAMPERI R. (1990): *Anal. Chem.*, in corso di stampa.
- CAMPANELLA L., DI CORCIA A., SAMPERI R. & GAMBACORTA A. (1982): *Mater. Chem.*, **7**, 429-438.
- WATTS C.D., CLARK L., HENNINGS S. & MOORE K. (1989): «Aquatic environmental behaviour of pesticides», *Proceedings of a Workshop on «Pesticides: analytical requirements for compliance with EC directives»*, Medmenham (UK), 23-24 nov. '88, 16-34.

INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI "METODI ANALITICI PER LE ACQUE" (*)

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione A - (Parte generale)			
• A-001	Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	1984	—
• A-002	Lineamenti di tecniche analitiche	1983	—
• A-003	Metodi di campionamento	1977	—
• A-004	Elaborazione dei risultati	1983	—
Sezione B - (Determinazione di parametri fisici e chimico fisici)			
B-001	pH	1972	1981
B-002	Temperatura	1972	1979
B-003	Colore	1972	1980
B-004	Materiali sedimentabili	—	1979
B-005	Materiali in sospensione	—	1979
B-006	Conducibilità	1972	—
B-007	Salinità	—	—
B-008	Odore	1972	—
B-009	Torbidità	1972	—
Sezione C - (Determinazione di metalli e di specie metalliche)			
C-001	Alluminio	1972	1988
C-002	Argento	1972	—
C-003	Arsenico	1972	1983
C-004	Bario	1972	1980
C-005	Berillio	1972	—
C-006	Boro	1972	1982
C-007	Cadmio	1972	1986
C-008	Calcio	1972	1986
C-009	Cromo (VI)	1972	1982
C-010	Cromo (III)	1972	1982
C-011	Ferro	1972	1980
C-012	Litio	1972	1986
C-013	Magnesio	1972	1986
C-014	Manganese	1972	1980
C-015	Mercurio	1972	1986
C-016	Molibdeno	—	—
C-017	Nichel	1972	1980
C-018	Piombo	1972	1979-1984
C-019	Potassio	1972	1986
C-020	Rame	1972	1987
C-021	Selenio	1972	1986
C-022	Sodio	1972	1986
C-023	Stagno	1972	1987
C-024	Zinco	1972	1980
C-025	Cromo totale	1972	1982

(segue)

(*) I metodi analitici sono in vendita presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993255). La spedizione viene effettuata con pagamento contro assegno.

(*) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

Segue: Indice generale sui «Metodi Analitici per le Acque»

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione D - (Determinazione di sostanze e parametri inorganici non metallici)			
D-001	Acidità e basicità	1972	
D-002	Azoto ammoniacale	1972	1981-1983
D-003	Azoto nitroso	1972	1981
D-004	Azoto nitrico	1972	1986
D-005	Biossido di carbonio	1972	
D-006	Solfuri	1972	1984
D-007	Cianuri	1972	1980
D-008	Cloro	1972	
D-009	Cloruri	1972	1979
D-010	Fluoruri	1972	1983
D-011	Fosforo	1972	1981
D-012	Ossigeno disciolto	1972	
D-013	Silice	1972	
D-014	Solfati	1972	1979
D-015	Solfiti	1972	1983
Sezione E - (Determinazione di sostanze e parametri organici)			
E-001	Azoto albuminoideo	1972	
E-002	Azoto organico	1972	
E-003	Sostanze oleose totali	1972	1984
E-004	Oli minerali	—	1984
E-005	Grassi e oli animali e vegetali	—	1984
E-006	Carbonio organico	1972	
E-007	Richiesta chimica di ossigeno (COD)	1972	1981
E-008	Richiesta biochimica di ossigeno (BOD)	1972	1982
• E-009	Pesticidi clorurati	1978	—
• E-010	Pesticidi fosforati	1982	—
• E-011	Policlorodifenili	1981	—
• E-012	Policloroterfenili	1981	—
E-013	Tensioattivi non ionici	1972	1979
E-014	Fenoli	1972	1979
E-015	Aldeidi	—	1978
E-016	Solventi aromatici	—	1984
E-017	Tensioattivi anionici	1972	1983
E-018	Solventi organici clorurati	—	1978
Sezione F - (Determinazione di parametri biologici e microbiologici)			
F-001	Saggio di tossicità	1972	
F-002	Coliformi totali	1972	
F-003	Coliformi fecali	1972	
F-004	Streptococchi fecali	1972	

(*) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI «METODI DI ANALISI PER ACQUE DI MARE» (*)

Codice	Metodo	Anno di pubblicazione
—	Indicazioni generali	
—	Fattori di conversione e di calcolo	
—	Campionamento	
100	Caratteristiche chimico- fisiche	
110	Trasparenza	1984
120	Temperatura	
130	Colore	
140	Salinità	1983
150	Materiale in sospensione	1984
160	pH	
170	Ossigeno disciolto	
200	Specie metalliche	
210	Alluminio	
215	Argento	
220	Arsenico	
225	Cadmio	1983
230.3	Cromo	1984
235	Ferro	1983
240	Manganese	
245	Mercurio	
250	Nichel	1983
255	Piombo	1983
260	Rame	1983
265	Selenio	1983
270	Zinco	
300	Specie inorganiche non metalliche	
310	Azoto ammoniacale	1984
315	Azoto nitroso	
320	Azoto nitrico	
325	Azoto totale	
330	Fosforo ortofosfato solubile	1982
340	Fosforo totale	1982
350	Silice	1983
400	Composti organici	
410	Fenoli	
420	Oli minerali	1984
430	Tensioattivi anionici	
440	Composti organo-alogenati	
440.1	Pesticidi clorurati	1986
500	Saggi biologici e microbiologici	
510	Coliformi totali	1983
520	Coliformi fecali	1983
530	Streptococchi fecali	1983
540	Salmonelle	1984
550	Enterovirus	
560	Adenosintrifosfato (ATP)	1988
600	Prove di tossicità	
610	Saggio di ittiotossicità	

(*) I metodi sono pubblicati a scheda e sono in vendita, con il relativo raccoglitore, presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993.255). La spedizione viene effettuata con pagamento contro assegno.