



DETERMINAZIONE DI MERCURIO MEDIANTE DMA-80

Falco, F., Salvagio Manta, D., Bonsignore, M., Mazzola, S.

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del consiglio Nazionale delle ricerche
(IAMC-CNR), UOS di Capo Granitola, via del Mare 3-91021,
(Torretta Granitola, TP), Italia;



Maggio 2016

Rapporto tecnico

Abstract	3
1 Introduzione	3
1.1 Il Mercurio, generalità e ciclo biogeochimico	3
2. Procedure analitiche per la determinazione di Hg	5
3. Spettrofotometria DMA-80	6
3.1 Preparazione dei campioni	8
3.1.1 Sedimento	8
3.1.2 Matrici biologiche	8
3.1.3 Acque	9
3.2 Metodi	9
3.3 Retta di calibrazione	10
3.4 Validazione del metodo	12
3.5 Limite di determinabilità (detection of limit)	12
3.6 Limite di determinabilità quantitativa	13
3.7 Precisione	13
3.8 Accuratezza del metodo	15
3.9 Sensibilità	16
3.10 Campo di misura	17
3.11 Incertezza di misura	18
4. Conclusioni	19
Bibliografia	20

Abstract

I fenomeni di contaminazione antropica da mercurio sono sempre più diffusi e preoccupanti, tanto da spingere all'attivazione di politiche nazionali ed internazionali atte a ridurre o almeno "contenere" i rischi legati a questo metallo tossico. Con quest'obiettivo è prioritaria la necessità di determinare la concentrazione del metallo in maniera veloce, economica ed efficiente. Il seguente report intende fornire informazioni utili nell'utilizzo dello spettrofotometro DMA-80 nell'analisi di Hg in varie matrici ambientali. Lo strumento è stato acquistato dall'IAMC-CNR di Capo Granitola per rispondere alle esigenze progettuali del progetto "Dinamica dei processi di evasione e deposizione del mercurio nell'area industrializzata della Rada di Augusta e definizioni delle mappe di rischio sanitario per le popolazioni residenti" (prot.n°0000466 18/2/2011) finanziato dall'Assessorato alla Salute della Regione Sicilia con l'obiettivo di verificare il potenziale impatto del mercurio, derivato dalle emissioni dei reflui non trattati dell'impianto di cloro-soda SYNDIAL Priolo-Gargallo sulle popolazioni residenti nell'aria fortemente industrializzata di Augusta-Melilli (Siracusa).

1 Introduzione

1.1 Il Mercurio, generalità e ciclo biogeochimico

Il mercurio (simbolo Hg, dal latino Hydrargirium, numero atomico 80, peso atomico 200,59), si può trovare nello stato di ossidazione 0 (mercurio elementare), +2 (caratteristica che condivide con gli altri elementi del gruppo IIB della tavola periodica: Zn, Cd) e +1 (nella forma chimica Hg^{2+}). A temperatura ambiente (25°C) il mercurio si trova nell'aria con un tasso di volatilizzazione di 0.007mg/cm²h (Grdenić, D., 1965) La sua tensione di vapore è strettamente dipendente dalla temperatura. Nell'ambiente, raramente si trova allo stato liquido puro, ma piuttosto sotto forma di Sali organici ed inorganici che hanno una più bassa tensione di vapore (Nriagu Andren 1979). Il mercurio è un elemento relativamente abbondante in tutta la crosta terrestre, naturalmente presente in alcuni minerali, il più diffuso dei quali è il cinabro (HgS, di colore rosso).

Tabella 1: Principali caratteristiche chimico-fisiche del mercurio

PUNTO DI FUSIONE -38.9 °C	PUNTO DI EBOLLIZIONE 356.6 °C
DENSITA' 13.53 g cm ⁻³ a 25 °C	SOLUBILITA' 6.4 x 10 ⁻⁵ g L ⁻¹ H ₂ O a 25 °C

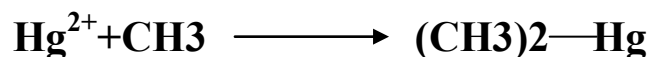
Il Hg nell'ambiente partecipa ad un complesso ciclo biogeochimico che coinvolge tutte le sfere geochimiche, in cui il bilancio tra le forme ridotte ed ossidate dell'elemento dipende dalle reazioni di ossidoriduzione dei vari mezzi. Il ciclo acquatico comprende la formazione di

Rapporto tecnico

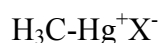
metilmercurio (CH_3Hg) a partire da mercurio inorganico divalente (Hg^{2+}), l'accumulo del metilmercurio negli organismi viventi e nella rete trofica, ed i processi di demetilazione. Nella colonna d'acqua Hg^{2+} può, inoltre, essere ridotto attraverso processi abiotici (fotoriduzione) e biotici (mediante l'intervento di organismi procariotici ed eucaristici). Alcune specie chimiche che si vengono a formare (principalmente Hg^0) si volatilizzano in atmosfera (Fitzgerald et al., 1991). Nel ciclo atmosferico si realizza, la conversione del mercurio inorganico divalente alle forme volatili del mercurio elementare (Hg^0) e/o del dimetilmercurio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$), che si diffondono in atmosfera; segue la riossidazione atmosferica del Hg che ricade sulle superfici acquatiche e terrestri attraverso le deposizioni secche e umide (Lindqvist, 1994). Il mercurio così ridepositato o trasportato sulle superfici acquatiche riprende il ciclo.

Le specie di mercurio più tossiche per gli esseri viventi sono rappresentati dalla forma elementare (Hg^0), e dal monometilmercurio (CH_3Hg). Il primo entra nell'organismo attraverso gli alveoli polmonari e si dissolve nel plasma (Clarkson, 1997). Nelle cellule Hg^0 è ossidato ad Hg^{2+} che, così intrappolato, raggiunge il cervello molto lentamente (Lipfert et al., 1995).

La creazione di metilmercurio avviene principalmente ad opera di microorganismi solfato riducenti (Benoit et al., 2003) a partire dal mercurio inorganico divalente mediante intercessione della meticolabammina (B12), un catalizzatore naturale presente nei solfo batteri, e acidi umici.



Che a pH acido si trasforma in monometilmercurio (CH_3Hg), per demetilazione del dimetilmercurio.



(Formula del monometilmercurio)

La principale fonte di esposizione umana al monometilmercurio è costituita dal consumo dei pesci, frutti di mare e mammiferi marini (Kjellstrom 1986; Davidson 1995; Soresen&Murata 1999; Bellanger 2000; Sanzo 2001; Hightwer 2003; Mahaffey et al., 2004). Essendo un composto lipofilo viene facilmente trattenuto nella sostanza grassa e tende a bioaccumularsi nella catena alimentare acquatica concentrandosi nei tessuti degli organismi posti al vertice della rete trofica, fino all'uomo. La combinazione della lipofilia del metilmercurio nel mezzo acquatico esterno e dell'idrofilia delle specie di mercurio intracellulari ne provoca l'intenso bioaccumulo: la prima ne consente la penetrazione, la seconda la ritenzione. Nelle cellule infatti, il carattere estremamente calcofilo del metilmercurio favorisce la formazione del complesso metilmercurio-cisteina, strutturalmente simile all'amminoacido metionina. Così mascherato il composto tossico è in grado di attraversare le barriere cellulari e di raggiungere gli organi bersaglio.

2. Procedure analitiche per la determinazione di Hg

È possibile classificare le varie procedure analitiche per la determinazione del mercurio sulla base dei composti di mercurio che si vogliono investigare. Le differenze tra le diverse procedure analitiche dipendono dalle fasi di estrazione, separazione, e soprattutto dalla modalità di preparazione del campione e dalla scelta dei reagenti utilizzati per la sua estrazione. L'indagine del complesso di reagenti disponibile per lo studio del comportamento del mercurio porta a classificare i metodi esistenti nel seguente modo:

- Metodi per la determinazione del mercurio totale (THg);
- Metodi per la determinazione di singole specie di mercurio;
- Estrazione sequenziale delle tutte le specie di mercurio presenti nel medesimo campione.

È risaputo come la determinazione del mercurio totale nei campioni sia un'informazione di per sé non sufficiente, tanto nell'analisi del comportamento biogeochimico del mercurio quanto nella valutazione del rischio per la salute dell'ecosistema e dell'uomo (Issaro et al., 2009). Sebbene la determinazione di mercurio totale (THg) non sia in grado di fornire informazioni in merito alla pericolosità dei diversi composti del mercurio, rimane comunque l'approccio più semplice ed immediato per la valutazione dello stato chimico di un sistema.

A livello internazionale esiste una vastissima esperienza nel campo della determinazione del mercurio, infatti, esistono numerosi metodi ufficiali validati (Issaro et al., 2009). Ad esempio le procedure per la determinazione del mercurio in suoli e sedimenti sono molto simili, tranne che per le diverse miscele e le diverse proporzioni di reagenti di cui servirsi. Dopo una prima fase di digestione acida e una seconda di riduzione dei composti ad Hg^0 , la determinazione si rileva mediante tecniche spettrometriche. Nelle principali tecniche analitiche viene prediletto l'utilizzo di $SnCl_2$ come agente riducente dei composti mercuriati o mercuriosi a mercurio elementare (Hg^0) che si libera come "vapore freddo", tecnica che conferisce il nome al metodo; anche il $NaBH_4$ può essere come agente riducente, ma, essendo molto più reattivo, può causare interferenze.

Tra le metodologie di analisi più comuni si annoverano:

- ✓ Spettrometria di assorbimento atomico con vapori freddi (CV-AAS);
- ✓ Spettrometria di fluorescenza atomica con vapori freddi (CV-AFS);
- ✓ Spettrometria di emissione atomica con plasma induttivamente accoppiato (ICP-AES) con sistema a idruri;
- ✓ Plasma induttivamente accoppiato con rilevatore a spettrometria di massa (ICP-MS).

Infine esistono metodi analitici innovativi che per la loro versatilità possono anche essere in qualche caso utilizzati anche in situ. Questa tipologia di analisi prende il nome di **Direct Mercury Analysis**.

Rapporto tecnico

Questo nuovo sistema per la determinazione di mercurio non richiede infatti alcun tipo di pretrattamenti del campione. L'analisi viene effettuata direttamente su una porzione di campione tale quale.

3. Spettrofotometria DMA-80

Il DMA 80 (DMA80, atomic absorption spectrophotometer, Milestone, Wesleyan University, Middletown, CT, USA) è un analizzatore diretto di mercurio di nuovissima generazione, che consente di misurare il mercurio in tutti i tipi di matrice ottenendo dei risultati attendibili e convalidati in accordo alla normativa (US EPA method 7473).

Lo strumento esegue l'analisi diretta del mercurio su matrici solide, liquide e gassose senza la necessità di mineralizzare né pretrattare il campione per la riduzione a mercurio metallico. Il campione, inserito direttamente nelle navette in dotazione allo strumento (Fig. 1), viene pesato con una bilancia analitica a quattro cifre decimali ed introdotto nella fornace del DMA-80 dove viene asciugato (250 °C per 60 s) e poi decomposto termicamente in corrente d'ossigeno (750 °C per 150 s) (Fig. 2) (Carbonell et al., 2009).

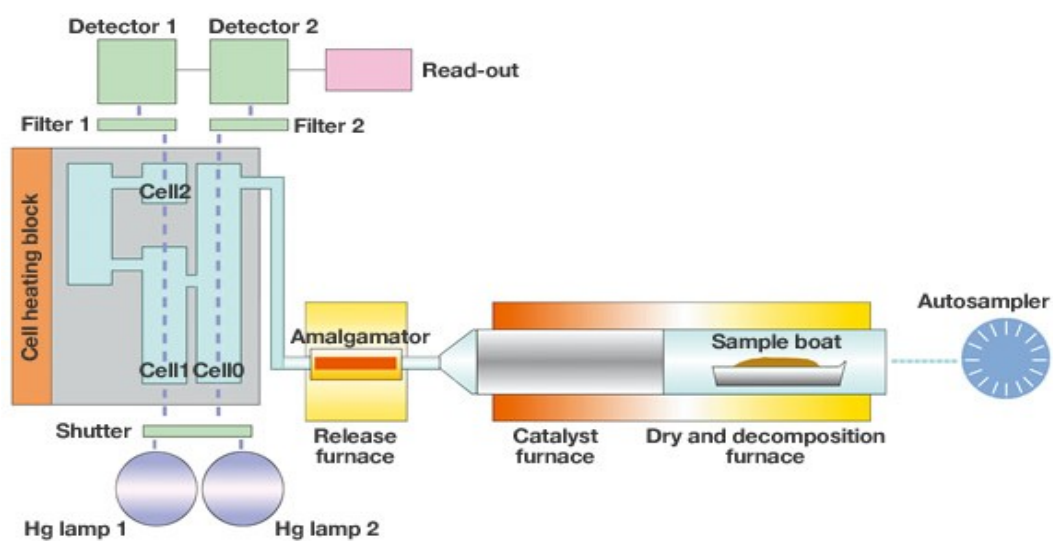


Figura 1: Schema di funzionamento DMA 80

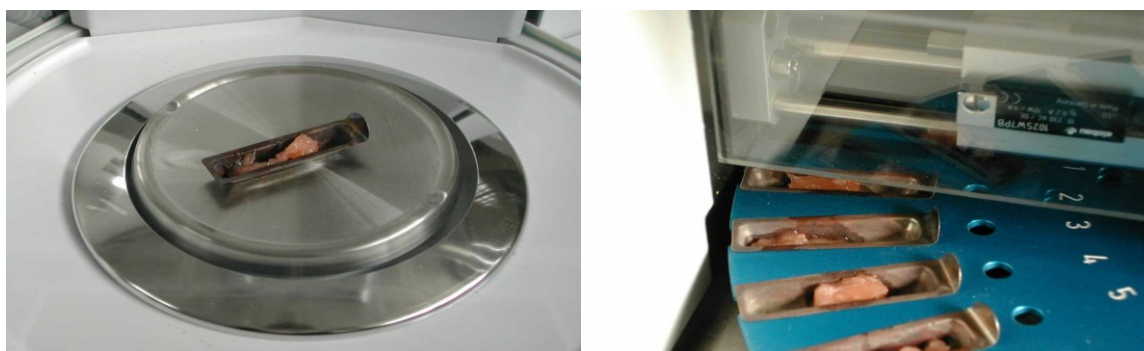


Figura 2: Sistema di introduzione del campione nel DMA-80.

I prodotti di combustione vengono evacuati ed i vapori di mercurio intrappolati dall'amalgamatore in oro e successivamente rilasciati per la determinazione quantitativa, utilizzando la spettroscopia in assorbimento atomico a 254 nm (EPA1998). Il tempo di analisi va da 6 a 10 minuti (i campioni più arricchiti richiedono un tempo di esposizione alla pirolisi maggiore). L'uso di questa tecnica consente di abbassare il limite di rivelazione per il mercurio fino a 250 ng/Kg (0.025ng in valore assoluto). In Fig. 1 viene riportato uno schema di funzionamento dello strumento.

Il software crea un grafico assorbanza/ng e restituisce una concentrazione in $\mu\text{g/Kg}$ o mg/Kg calcolata in base al peso del campione analizzato. La relativa concentrazione viene calcolata seguendo la legge di Lambert-Beer. I risultati sono attendibili e convalidati in accordo alla normativa (*US EPA method 7473*). Maggiori dettagli sulle determinazioni analitiche in varie matrici ambientali sono di seguito riportate.

Il DMA-80 può essere azionato tramite un apposito terminale touch screen (Fig. 3) il cui software operativo Easy Control controlla tutte le funzioni del sistema, e fornisce un prezioso feedback alle prestazioni strumentali.



Figura 3: Touch screen in dotazione al DMA-80.

Il software è compatibile con vari sistemi di laboratorio Information Management (LI-MS) ed è pienamente conforme alle normative. Lo strumento inoltre è dotato di un solo accessorio (trappola di mercurio) consistente in tubo di vetro pieno di carbone attivo, che, grazie alla sua porosità, assorbe le sostanze inquinanti presenti nei fumi di combustione: mercurio, cloro e qualsiasi gas nocivo emesso dal campione durante la decomposizione. Lo strumento è dotato di un sistema di diagnostica che consente di controllare in qualsiasi momento le temperature delle quattro fornace.

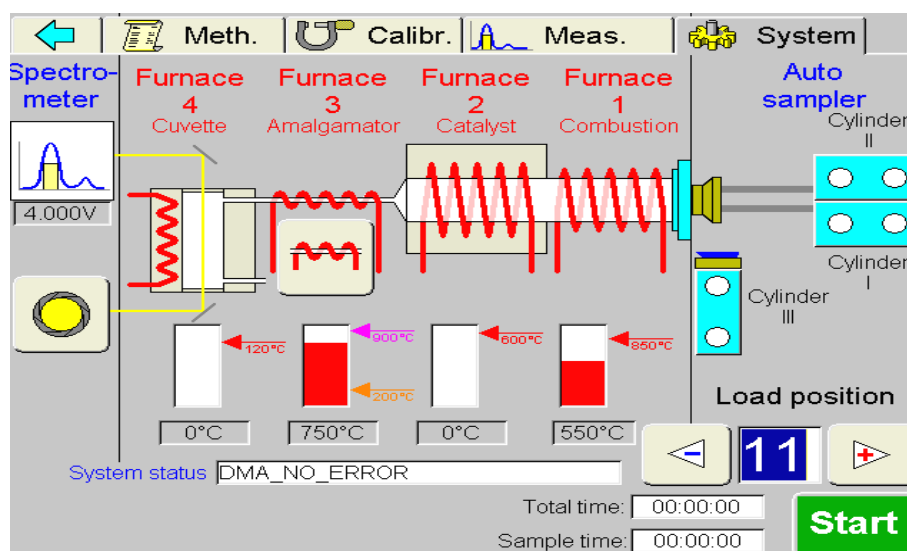


Figura 4: Schema di funzionamento del sistema

I vantaggi che si ottengono utilizzando la tecnica spettrometrica con DM80 sono:

- Analisi diretta del mercurio in tracce su matrici solide, liquide;
- Non è richiesta la mineralizzazione del campione;
- Non è richiesto il trattamento del campione per la riduzione a mercurio metallico;
- Solo pochi minuti di analisi per campione;
- Non si producono rifiuti da smaltire;
- Risultati attendibili e convalidati in accordo alla normativa (US EPA method 7473);
- accuratezza e precisione;
- ripetibilità analitica;
- sensibilità discrete;
- costi relativamente bassi;

3.1 Preparazione dei campioni

3.1.1 Sedimento

Un aliquota di ~100mg di sedimento essiccato (35°C) e polverizzato viene pesata direttamente in navicelle in nickel (Ni) con bilancia analitica a quattro cifre decimale e caricati nello autocampionatore del DMA-80 per l'analisi di Hg totale in un intervallo di calibrazione di 5-1000 µg/Kg. Il tempo di analisi è di circa 8 minuti, in accordo col metodo EPA 7473. Metodo analogo viene utilizzato per l'analisi di Hg in campioni di suolo.

3.1.2 Matrici biologiche

Un'aliquota fresca (~100 mg) di tessuto (muscoli, fegati, branchie etc..) viene pesata direttamente in navicelle in Nickel (Ni) con una bilancia analitica a quattro cifre decimali. I campioni vengono poi

Rapporto tecnico

caricati all'interno dell'autocampionatore dello strumento DMA-80 per l'analisi del HgT nel range di calibrazione 5-1000 µg/Kg. Il tempo di analisi è di circa 8 minuti, in accordo col metodo EPA 7473. Metodo analogo viene utilizzato per l'analisi di Hg in campioni di foglie.

3.1.3 Acque

La determinazione di HgT nelle acque è certamente la più impegnativa considerate le basse concentrazioni di mercurio nella matrice acquosa. In questo caso, vengono utilizzate navicelle portacampione in quarzo, precedentemente lavate con HCl (10%) e sciacquate con acqua Milli-Q.

Per assicurare la completa pulizia, le navicelle vengono inoltre introdotte vuote nell'autocampionatore e sottoposti a diversi cicli di decomposizione termica.

Per l'analisi di HgT i campioni di acqua di mare vengono pretrattati con una soluzione fresca di BrCl (0,05% w/v) in accordo col metodo EPA Method 1631 (Horvat et al., 2003). Per l'analisi della fase disciolta (HgD) l'acqua viene prima filtrata con filtri in policarbonato da 0.45 µm, e stabilizzata con BrCl (0,05% w/v). I campioni trattati vengono conservati a T_(ambiente) protetti dalla luce ed analizzati dopo 12-24 h. ~400 µl vengono posti nelle navicelle in quarzo precedentemente lavate ed analizzati attraverso DMA-80 seguendo la procedura US EPA 7473.

Per l'analisi di Hg nel mezzo acquoso è stata messa a punto una metodologia specifica per l'analisi delle ultratracce che implica la pre-concentrazione del campione. Il DMA-80 permette infatti di accumulare più aliquote di campione e di restituire una risposta unica derivante dalla media di due o più letture. Il segnale, così amplificato, può essere rilevato dal detector. Il range di calibrazione impiegato per la determinazione del HgT e DHg (disciolto) è 0,015-2 µg/L.

3.2 Metodi

La tabella 2 riporta lo schema riassuntivo dei parametri impiegati per l'analisi delle matrici acquose e solide, in accordo col metodo EPA 7473.

Tabella 2: Parametri analitici utilizzati per l'analisi di THg in varie matrici ambientali.

Tipo di campione	Capacità massima	Tempo di asciugatura (s)	Tempo di decomposizione (s)	Tempo di attesa
Acque	500 µL	0.7 s*vol (µL)	100	40
Solidi secchi	500 mg	10	0.4 s * peso secco (mg)+100s	40
Solidi umidi	500 mg	0.7 s * Peso umido (mg) * %contenuto d'acqua	0.4s*peso umido (mg) +100 s	40
Solidi con elevati contenuti di sostanza organica	500 mg	0.7 s * Peso umido (mg) * %contenuto d'acqua	100	40

Rapporto tecnico

Vengono inoltre impostate le seguenti condizioni standard:

- ✓ Max start T 250°C
- ✓ Purge time 120s
- ✓ Amalgamator heating time 12s
- ✓ Signal recording time 30s

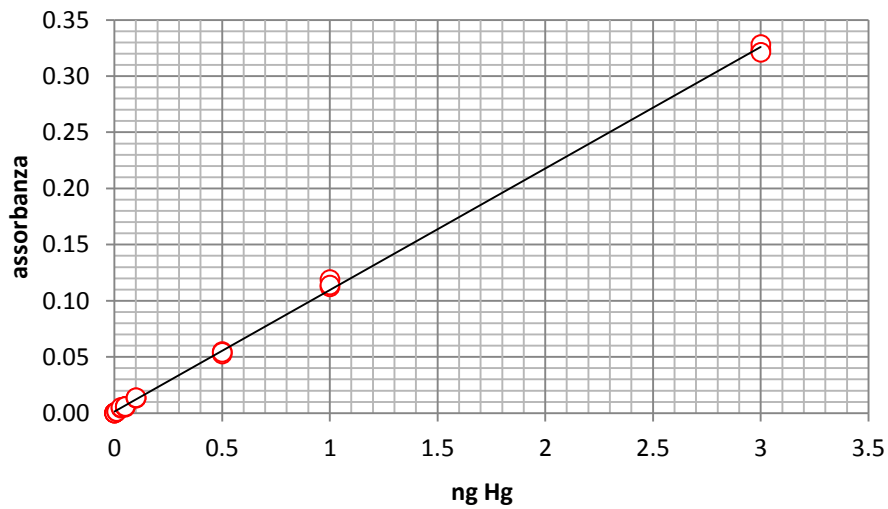
3.3 Retta di calibrazione

La curva di calibrazione viene costruita utilizzando standard a concentrazioni note di mercurio.

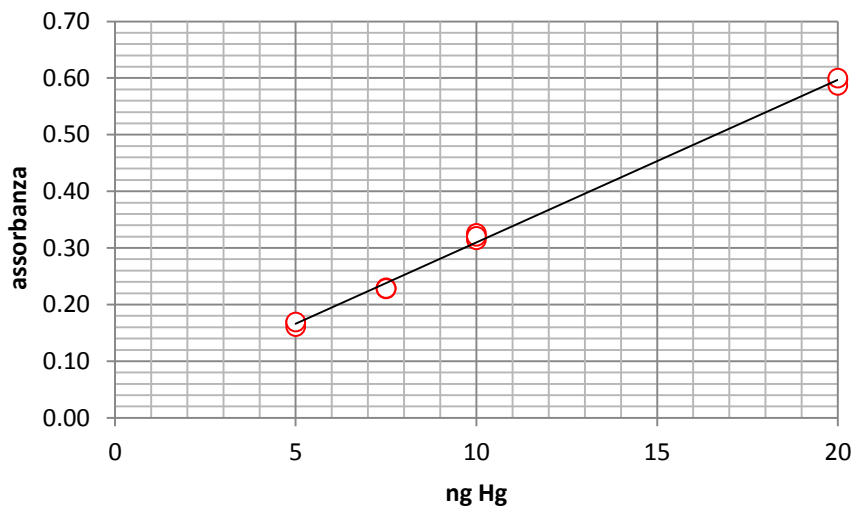
In matracci in vetro precedentemente lavati con HCl (10%) e sciacquati più volte con acqua MilliQ vengono preparate le soluzioni standard (100 ppt, 1000 ppt, 100 ppb, 1 ppm, 10 ppm) a partire dallo standard certificato da 1000 mg/L (CZECH Metrology institute Analytika).

Rapporto tecnico

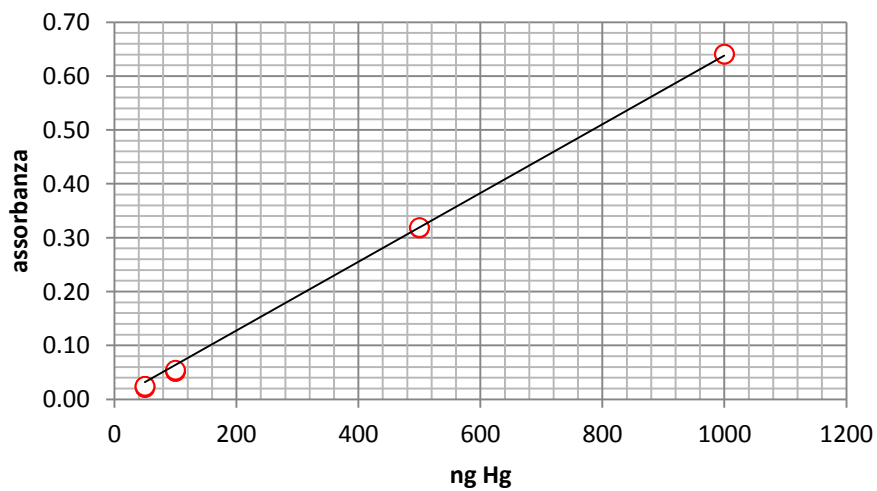
Di seguito vengono riportate le rette corrispondenti agli intervalli di calibrazione 0,0250 ÷ 3 ng (Fig. 5a), 5÷20 ng (Fig. 5b) e 25÷1000 ng.



(a)



(b)



(c)

Figura 5: Retta di calibrazione della cella di flusso a lungo cammino ottico da 0.0025 a 3ng (a), 20ng (b) e 1000 ng (c)

Rapporto tecnico

Le rette vengono costruite ponendo sull'asse delle Y i valori dell'assorbimento della radiazione emessa dalla lampada; tanto più la radiazione risultante viene attenuata, tanto più alta è la concentrazione di sostanza presente, questi ultimi valori verranno registrati sull'asse delle x.

Caratteristica essenziale per l'analisi in assorbimento atomico è la formazione di atomi allo stato "libero" con stato di ossidazione "0"; queste accortezze, se non rispettate, provocherebbero una variazione di lunghezza d'onda alla quale queste nuove sostanze assorbirebbero la radiazione e quindi una variazione nella lettura dei risultati e conseguente errore di rilevazione (DMA-80 Specifications, Application Notes 2009).

La retta viene costruita definendo semplici impostazioni:

- non deve passare per l'origine.
- l'unità di misura impostata è ng.

3.4 Validazione del metodo

Per caratterizzare in maniera completa il metodo di analisi è necessario conoscere **il limite di rilevabilità** (qualitativa) ed **il limite di determinabilità** (quantitativa). Quest'ultimo rappresenta il valore pari a dieci volte la deviazione standard calcolata su almeno 7 repliche di un campione "bianco". Il limite di rilevabilità rappresenta, invece il valore limite di una grandezza che è possibile distinguere in modo significativo dal valore del *bianco* e può essere definito come quel segnale (es. altezza del picco del cromatogramma) della grandezza da misurare pari almeno a tre volte il rumore di fondo.

Conoscere questi limiti ci consente non solo di avere informazioni sul valore minimo rilevabile di una certa grandezza, ottenuta con uno specifico metodo, ma consente anche di esprimere correttamente il risultato di una analisi il cui valore non sia significativamente diverso da zero (valore del bianco o rumore di fondo). Non è corretto, infatti, riportare zero come risultato di una analisi, mentre è corretto riportare che la grandezza misurata è risultata inferiore al limite di rilevabilità.

3.5 Limite di determinabilità (detection of limit)

Il limite di determinazione strumentale, che risulta coincidente con quello analitico in quanto non è stato effettuato preparazione trattamento del campione, è stato calcolato eseguendo analisi vuote per sette volte e per tre giorni consecutivi. I risultati di assorbimento ottenuti sono stati riportati in tabella 3.

Tabella 3: Assorbanza strumento senza campione

Campione	1° giorno	2° giorno	3° giorno
vuoto	0.0005	0.0010	0.0013
vuoto	0.0012	0.0008	0.0008
vuoto	0.0009	0.0007	0.0009
vuoto	0.0004	0.0007	0.0007
vuoto	0.0007	0.0013	0.0006
vuoto	0.0010	0.0010	0.0006
SD	0.0021	(assorbanza)	

3.6 Limite di determinabilità quantitativa

Il limite di determinabilità è stato calcolato analizzando soluzioni a concentrazione nota e calcolando la più bassa concentrazione rilevabile dallo strumento con un valore di assorbanza dieci volte la deviazione standard ottenuta dalle letture del bianco. Il valore di assorbanza di riferimento è di 0.0021 ng, molto vicino al valore strumentale teorico (0.0015 ng).

Al fine di validare questo metodo sono state effettuate prove su tre matrici certificate:

- Standard Reference Material **PACS-2** – “Marine Sediment Reference Materials for Trace Metals and other Constituents” - National Research Council Canada, Institute for National Measurement Standards;
- Standard Reference Material **TORT-2** – “Lobster Hepatopancreas Reference Material for Trace Metals”-National Research Council Canada, Institute for National Measurement Standards;
- Standard reference **MESS-3** ”Marine Sediment Reference Materials for Trace Metals and other Constituents” National Research Council Canada, Institute for National Measurement Standards;

Le caratteristiche analitiche e i valori di Hg tot sono riportati nei certificati negli allegati (1-2)

3.7 Precisione

Indica la vicinanza tra i valori dei dati sperimentali ottenuti dall’analisi degli standard sottoposti alla determinazione di mercurio: un’elevata precisione significa che le misurazioni sono vicine tra loro ovvero, che la loro deviazione standard dei valori sarà bassa.

Una misura è tanto più precisa quanto più i singoli valori misurati in condizioni di ripetibilità si concentrano intorno alla media della serie di misure effettuate. La variabilità dei risultati viene quantificata, come di consueto, nella deviazione standard σ . Ma questa di per sé non è adatta a quantificare la precisione della misura secondo il significato usuale del termine di “qualità della misura”. E’ preferibile quantificare la precisione con il modulo del coefficiente di variazione espresso in percentuale:

$$v = \sigma / X_m$$

Per calcolare la precisione dello strumento per la matrice acquosa sono state eseguite N=10 repliche dello standard da 0.5 µg/kg (concentrazione usata per costruire la retta di calibrazione). La precisione strumentale calcolata deriva dalla percentuale della deviazione standard delle repliche effettuate (Tab. 5). La precisione sulle matrici pesce e sedimento è stata calcolata su N= 10 repliche delle matrici certificate TORT-2, e PACS-2 (Tab. 4).

Tabella 4: Precisione strumentale

	Valore atteso	Repliche										Precisione (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
STD 0.5 (µg/kg)	0.500	0.51	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.50	0.49	0.50	0.50	1.45
TORT-2 (mg/kg)	0.27±0.06	0.22	0.22	0.22	0.21	0.22	0.21	0.21	0.22	0.21	0.23	2.59
PACS-2 (mg/kg)	3.04±0.20	2.64	2.58	2.77	2.63	2.56	2.51	2.77	2.65	2.74	2.74-	3.16%

3.8 Accuratezza del metodo

L'accuratezza è il grado di corrispondenza del dato teorico, desumibile da una serie di valori misurati, con il dato reale o di riferimento (<https://it.wikipedia.org/wiki/Accuratezza>).

Nella fattispecie, indica la vicinanza tra il valore medio e il valore vero: un'elevata accuratezza significa che il valore medio di una serie di misurazione è vicino al valore vero.

L'accuratezza è stata calcolata dall'errore assoluto delle matrici certificate, ovvero l'errore di misura tra una quantità analizzata ed il valore vero o accettato che la quantità pesata dovrebbe contenere. Infatti, il Mess-3 è stato scelto per il range di Hg 0,025 ÷5 ng; il Tort- 2" per il range 5 ÷20 ng ed il PACs- 2 per i range 25÷1000 ng.

L'accuratezza è stata quindi misurata come:

$$E_{acc} = V_{mis} - V_{ver}$$

E_{acc} = errore d'accuratezza

V_{mis} = media valore misurato

V_{ver} = valore vero

L'accuratezza sui tessuti di pesce è stata determinata su N=10 repliche di 100 mg di tort-2. Alla media dei valori ottenuti è stata associata la deviazione standard dal valore reale; l'accuratezza ottenuta è di 1,46%. La differenza percentuale tra la media dei valori ottenuti ed il valore certificato degli standard di qualità (allegato 1 e 2) hanno fornito il dato l'accuratezza del metodo. L'accuratezza sulla matrice sedimento, determinata su N=10 repliche di 100 mg di tort-2, è di 0,19%. Utilizzando il PACS -2, il valore ottenuto è di 0.27%.

Tabella 5: Accuratezza analitica

	MESS-3 (mg/Kg)	Valore atteso	PACS-2 (mg/Kg)	Valore atteso	TORT-2 (mg/Kg)	Valore atteso
	0.090		3.000		0.154	
	0.089		2.576		0.154	
	0.086		2.767		0.288	
	0.085		2.559		0.230	
	0.082		2.633		0.227	
	0.087		2.508		0.213	
	0.089	0.091	2.768	3.040	0.238	0.270
	0.085		2.642		0.252	
	0.089		2.744		0.246	
	0.091		2.736		0.236	
	0.091		2.560		0.191	
	0.090		2.634		0.181	
	0.086		2.508		0.170	
	0.084		2.768		0.228	
media	0.087		2.646		0.200	
dev.st	0.003		0.278		0.049	

3.9 Sensibilità

La sensibilità di uno strumento di misura è il rapporto tra la variazione del valore ottenuto dalla lettura strumentale e la variazione del valore reale atteso. Più il rapporto è vicino all'unità, più lo strumento è sensibile. La sensibilità è stata ottenuta dal rapporto tra la media degli standard (R) ed il valore atteso (E) (Tab. 6)

Tabella 6: Sensibilità strumentale

	E	R	Sensibilità
STD-1	250 ng/kg	267 ng/kg	1,07
STD-2	500 ng/kg	407 ng/kg	1,22
STD-3	1000 ng/kg	770 ng/kg	1,29
STD-4	5 µg/kg	4,7 µg/kg	1,06
STD-5	10 µg/kg	9,4 µg/kg	1,06
STD-6	50 µg/kg	48,9 µg/kg	1,02
STD-7	100 µg/kg	96,8 µg/kg	1,03
STD-8	250 µg/kg	262 µg/kg	0,95
STD-9	5 mg/kg	7,5 mg/kg	1,50
STD-10	10 mg/kg	13,87 mg/kg	1,39

Dalla tabella 6 si evince che lo strumento subisce un'abbassamento della sensibilità al di sotto nella fascia di misura 250÷1000 ng/kg. Per questa ragione le analisi sulla matrice acqua di mare sono state effettuate con il metodo della concentrazione precedentemente descritto. Dalla tabella si

Rapporto tecnico

può osservare inoltre che per concentrazioni di Hg al di sopra dei 250 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ la sensibilità strumentale si abbassa, andando incontro a problemi di saturazione.

In egual maniera potrà essere calcolata la sensibilità del metodo.

Dal rapporto tra la media dei valori calcolati per le matrici certificate (Tab.7) ed il valore certificato (allegati 1, 2, 3) si può stimare la sensibilità del metodo per ogni range di misura rappresentato dallo standard di riferimento:

Tabella 7: Sensibilità strumentale calcolata per ogni range di misura

Matrice certificata	sensibilità	Range di misura	celle
Mess-3	0.96	250-3000 ng/kg	0
Tort-2	0.71	3-3000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ -	1
Pacs-2	0.87	3-10 mg/Kg	2

3.10 Campo di misura

Dal rapporto tra le concentrazioni determinabili e la sensibilità calcolata per ogni concentrazione, è stato possibile determinare il campo di misura dello strumento, ovvero il range di misura tra il valore di mercurio minimo e massimo che lo strumento è in grado di determinare.

Come si evince dalla figura 6, lo strumento mostra una maggiore precisione ed accuratezza per valori di Hg tra 5 e 250 mg/Kg

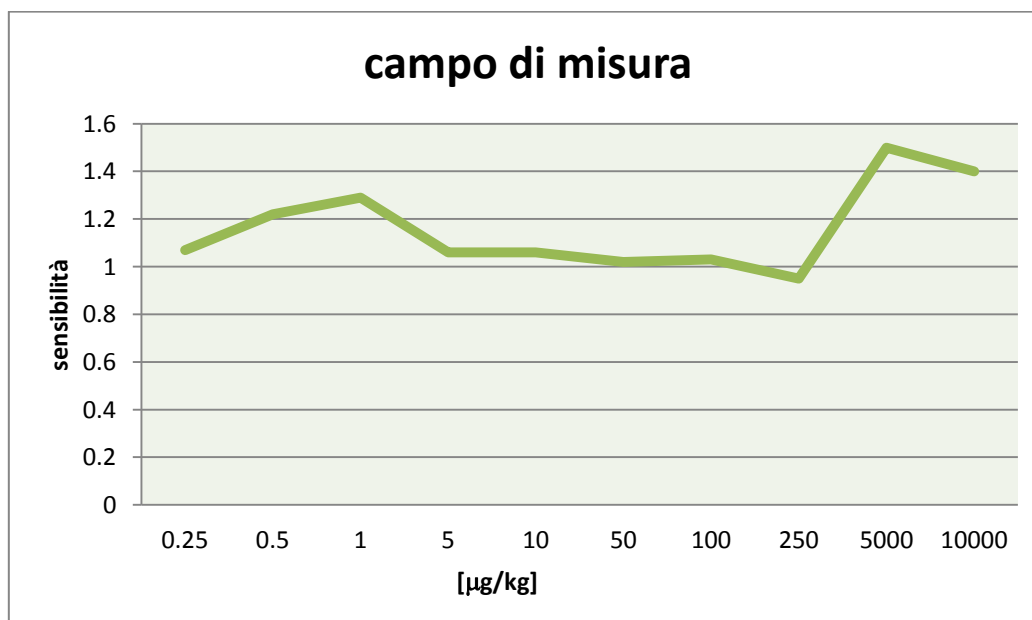


Figura 6: Rappresentazione grafica del campo di misura del metodo

3.11 Incertezza di misura

L'incertezza di una misura è un intervallo di valori non negativi, attribuibile alla grandezza che si intende misurare (misurando). Le misure sono sempre affette da “fluttuazioni” o errori (almeno potenziali), mai perfettamente conoscibili. Ciò, si traduce in una naturale “indeterminazione o *“incertezza”* sul risultato di misura. Infatti, il risultato di una misura non è mai un unico valore “deterministico” ma un intervallo di valori possibili entro il quale il misurando può trovarsi con una data probabilità.

L'incertezza di misura è stata calcolata considerando i valori max e min dell'assorbanza ottenuta dalla lettura dai bianchi riportati in tabella 4, ed è stato indicata come errore relativo della misura (e_m):

$$e_m = (Ass. \max - Ass. \min) / 2;$$

L'errore relativo alla lettura dell'assorbanza di $\pm 0,0007$.

4. Conclusioni

Questo report intende fornire chiare evidenze sull'utilità dell'utilizzo dello spettrofotometro DMA-80 nell'analisi di mercurio su diverse matrici ambientali. I fondamentali vantaggi di questo strumento sono rappresentati dall'elevata qualità analitica dei risultati prodotti, nonché dalla facilità e dalla velocità del metodo .

L'analisi della concentrazione di mercurio assume un ruolo rilevante nella salvaguardia dell'ambiente e della salute umana.

Lo spettrofotometro offre inoltre il vantaggio di coprire un ampio spettro di concentrazioni (dai ppt ai ppm) permettendo di eseguire analisi su diverse tipologie di matrici ambientali (sedimento, materiale biologico, acque). I test statistici hanno confermato una buona accuratezza e riproducibilità per ogni range di misurazioni.

L'utilizzo di questo strumento ha permesso di ridurre al minimo l'impiego di reagenti nocivi e, conseguentemente, i costi di smaltimento delle sostanze pericolose prodotte.

E' inoltre importante sottolineare che questo metodo riduce sensibilmente l'esposizione a questo metallo da parte degli operatori, sia durante la fase di preparazione (non contemplata) che di analisi. Non sono stati contaminati gli ambienti di lavoro, gli unici prodotti di scarto ottenuti dalle analisi sono: la trappola di mercurio, in cui vengono accumulati i fumi della combustione, gli standard, usati per la determinazione della retta di taratura, la lampada a Hg, il catalizzatore a base di vanadio, e l'amalgama in (Au). La loro eliminazione avviene secondo, il DLg 152/2006-(cod 060313),

Bibliografia

- A.W. Andren, J.O. Nriagu The global cycle of mercury J.O. Nriagu (Ed.), The biogeochemistry of mercury in the environment, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam (1979), pp. 1–15.
- Analytica Chimica Acta, Volume 631, Issue 1, 5 January 2009, Pages 1-12
- Bellanger T.M., Caesar E.M. and Trachtman L. 2000. Blood mercury levels and fish consumption in Louisiana. *Journal of the Louisiana State Medical Journal* 152: 64-73.
- Bloom, N.S., Prestbo, E., von der Geest, E., Kuhn, E.S., 1996. Distribution and origins of mercury species in the Pacific Northwest atmosphere. Paper presented at fourth International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Hamburg, Germany.
- Carbonell, G., et al. "A new method for total mercury and methyl mercury analysis in muscle of seawater fish." *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 83.2 (2009): 210-213.
- Clarkson, Thomas W. "The toxicology of mercury." *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 34.4 (1997): 369-403.
- Davidson P.W., Myers G.J., Cox C., Shamlaye C., Choisy O., Sloane-Reeves J., Cernichiari E., Marsh D.O., Berlin M., Tanner M. 1995. Neurodevelopmental test selection, administration, and performance in the main Seychelles child development study. *Neurotoxicology* 16: 665-676.
- Dispense del corso "Chimica Analitica B" prof. Valter Maurino, professore associato di Chimica analitica, Facoltà di Scienze MFN, Università degli Studi di Torino. Dipartimento di Chimica Analitica.
- Dispense del corso "Chimica Generale ed Inorganica C" dott. Mario Chiesa e dott. Enzo Laurenti, docenti di Chimica generale ed inorganica, Facoltà di Scienze MFN, Università degli Studi di Torino. Dipartimento di Chimica Inorganica Fisica e dei Materiali.
- Fitzgerald, William F., Carl H. Lamborg, and Chad R. Hammerschmidt. "Marine biogeochemical cycling of mercury." *Chemical Reviews* 107.2 (2007): 641-662.
- Grdenić, D. "The structural chemistry of mercury". *Quarterly Reviews, Chemical Society* 19.3 (1965): 303-328.
- Hammerschmidt, Chad R., Carl H. Lamborg, and William F. Fitzgerald. "Aqueous phase methylation as a potential source of methylmercury in wet deposition." *Atmospheric Environment* 41.8 (2007): 1663-1668.
- Hightower J. M. and Moore D. 2003. Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environmental Health Perspectives* 111: 604–608.
- Horvat, Milena, et al. "Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China." *Science of the Total Environment* 304.1 (2003): 231-256.
- <http://ats-scientific.com/uploads/products/docs/Milestone-Direct-Mercury-Analyzer-DMA-80.pdf>
- Kjellstrom T., Kennedy P., Wallis S., Mantell C. 1986. Physical and Mental Development of Children with Prenatal Exposure to Mercury from Fish. Stage I: Preliminary Tests at Age 4. Report 3080. Solna, Sweden National Swedish Environmental Agency.
- Lindqvist, Oliver, et al. "Mercury in the Swedish environment—recent research on causes, consequences and corrective methods." *Water, Air, and Soil Pollution* 55.1-2 (1991): xi-261.
- Lipfert, F. W., et al. "An assessment of adult risks of paresthesia due to mercury from coal combustion." *Mercury as a Global Pollutant*. Springer Netherlands, 1995. 1139-1148.
- Mahaffey KR. 2004. Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids. Eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environmental Research* 95: 414-428.
- Mason, Robert P., and G-R. Sheu. "Role of the ocean in the global mercury cycle." *Global biogeochemical cycles* 16.4 (2002): 40-1.

Mason, Robert P., and William F. Fitzgerald. "The distribution and biogeochemical cycling of mercury in the equatorial Pacific Ocean." *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 40.9 (1993): 1897-1924.

Mason, Robert P., et al. "Monitoring the response to changing mercury deposition." *Environmental science & technology* 39.1 (2005): 14A-22A.

Morel, François MM, Anne ML Kraepiel, and Marc Amyot. "The chemical cycle and bioaccumulation of mercury." *Annual review of ecology and systematics* (1998): 543-566.

N.Issaro, C. Abi Ghanem, A. Bermond Fractionation studies of mercury in soils and sediments: A review of the chemical reagents used for mercury extraction Review Article

Sorensen N. and Murata K., 1999. Prenatal methylmercury exposure as a cardiovascular risk factor at 7 years of age. *Epidemiology* 10: 370-375.

St. Louis, M.J. Sharp, A. Steffen, A. May, J. Barker, J.L. Kirk, D.J.A. Kelly, S.E. Arnott, B. Keatley, J.P. Smol Some sources and sinks of monomethyl and inorganic mercury on Ellesmere Island in the Canadian High Arctic *Environmental Science & Technology*, 39 (2005), pp. 2686–2701

Sunderland, Elsie M., et al. "Mercury sources, distribution, and bioavailability in the North Pacific Ocean: Insights from data and models." *Global Biogeochemical Cycle*'s 23.2 (2009).

US EPA (1998) Mercury in soils and solutions by thermal decomposition amalgamation and atomic spectrophotometry. Method 7473

Wikipedia, portale italiano certificato di metrologia



HISS-1, MESS-3, PACS-2

Marine Sediment Reference Materials for Trace Metals and other Constituents

The following tables show those constituents for which certified and information values have been established. Certified values are based on the results of determinations by at least two independent methods of analysis. The uncertainties represent 95% confidence limits for an individual sub-sample of 250 mg or greater. The uncertainties in the certified values of the butyltins are based on the expanded uncertainties.**

Trace Metals

(milligrams per kilogram)

	HISS-1	MESS-3	PACS-2
Antimony	(0.13)*	1.02 ± 0.09	11.3 ± 2.6
Arsenic	0.801 ± 0.099	21.2 ± 1.1	26.2 ± 1.5
Beryllium	0.129 ± 0.023	2.30 ± 0.12	1.0 ± 0.2
Cadmium	0.024 ± 0.009	0.24 ± 0.01	2.11 ± 0.15
Chromium	30.0 ± 6.8 [†]	105 ± 4	90.7 ± 4.6
Cobalt	(0.65)*	14.4 ± 2.0	11.5 ± 0.3
Copper	2.29 ± 0.37	33.9 ± 1.6	310 ± 12
Lead	3.13 ± 0.40	21.1 ± 0.7	183 ± 8
Lithium	2.83 ± 0.54	73.6 ± 5.2	32.2 ± 2.0
Manganese	66.1 ± 4.2	324 ± 12	440 ± 19
Mercury	(0.01)*	0.091 ± 0.009	3.04 ± 0.20
Molybdenum	(0.13)*	2.78 ± 0.07	5.43 ± 0.28
Nickel	2.16 ± 0.29	46.9 ± 2.2	39.5 ± 2.3
Selenium	0.050 ± 0.007	0.72 ± 0.05	0.92 ± 0.22
Silver	0.016 ± 0.002	0.18 ± 0.02	1.22 ± 0.14
Strontium	96.9 ± 11.2	129 ± 11	276 ± 30
Thallium	(0.06)*	0.90 ± 0.06	(0.6)*
Tin	(0.11)*	2.50 ± 0.52	19.8 ± 2.5
Uranium	(0.26)*	(4)*	(3.)*
Vanadium	6.80 ± 0.78	243 ± 10	133 ± 5
Zinc	4.94 ± 0.79	159 ± 8	364 ± 23
Tributyltin (as Sn)**	---	---	0.890 ± 0.105
Dibutyltin (as Sn)**	---	---	1.047 ± 0.064
Monobutyltin (as Sn)**	---	---	(0.6)*

*information value only

[†] see page 3

** a separate certificate for the butyltins is available.

Matrix and Minor Constituents - Percent

	HISS-1	MESS-3	PACS-2
Al (f,i,n,x)	0.73 ± 0.05	8.59 ± 0.23	6.62 ± 0.32
C (e)	—	(2)*	(3.3)*
Ca (f,i,n,x)	1.14 ± 0.10	1.47 ± 0.06	1.96 ± 0.18
Cl (n,x)	(0.35)*	—	(3.)*
Fe (f,i,n,x)	0.246 ± 0.009	4.34 ± 0.11	4.09 ± 0.06
K (f,n,x)	0.332 ± 0.013	(2.6)*	1.24 ± 0.05
Mg (f,i,x)	0.075 ± 0.016	(1.6)*	1.47 ± 0.13
Na (f,i,n)	0.373 ± 0.026	(1.6)*	3.45 ± 0.17
P (i,x)	—	(0.12)*	0.096 ± 0.004
S (i,x)	—	(0.19)*	1.29 ± 0.13
Si (i,x)	(44.)*	(27.)*	(28.)*
Ti (f,i,n,x)	0.076 ± 0.004	0.44 ± 0.06	0.443 ± 0.032

Methods of Determination for Trace Metals

Antimony (b,g,i,n,q)	Molybdenum (g,i,q)
Arsenic (b,g,h,i,n,x)	Nickel (b,g,i,q,x)
Beryllium (b,g,i)	Selenium (b,g,h)
Cadmium (b,g,i,q)	Silver (b,g,i,q)
Chromium (b,g,i,n,q,x)	Strontium (f,i,n,q,x)
Cobalt (b,g,i,n,x)	Thallium (b,q)
Copper (b,g,i,n,q,x)	Tin (b,g,i,q)
Lead (b,g,i,q,x)	Uranium (q)
Lithium (b,g,i,q)	Vanadium (b,g,i,n,x)
Manganese (b,g,i,n,x)	Zinc (b,g,i,n,q,x)
Mercury (a,c,q)	organotin species (l,m)

Coding

- | | |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| a - Atomic fluorescence spectrometry | h - Hydride generation atomic absorption spectrometry |
| b - Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) | i - Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry |
| c - Cold vapour atomic absorption spectrometry | l - High-performance liquid chromatography ICPMS |
| e - Coulometry | m - Gas chromatography microwave induced plasma atomic emission |
| f - Flame atomic absorption spectrometry | n - Instrumental neutron activation analysis |
| g - Graphite furnace atomic absorption spectrometry | q - Isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry |
| | r - Infrared spectrometry |
| | x - X-ray fluorescence spectrometry |

Not all the methods listed above were applied to all three certified reference materials.

These reference materials are primarily intended for use in the calibration of procedures and the development of methods used for the analysis of marine sediments and materials with similar matrices.

Preparation of material

HISS-1 was collected from the Hibernia Shelf, off the coast of Newfoundland. MESS-3 is from the Beaufort Sea. PACS-2 was collected in the harbour of Esquimalt, B.C. They were all freeze dried, screened to pass a No. 120 (125 µm) screen, blended and bottled by Institute staff using the facilities of the Canada Centre for Mineral and Energy Technology in Ottawa. After bottling, the samples were radiation sterilized with a minimum dose of 2.5 Mrad by Nordion International Inc. to minimize any effects from biological activity.

Instructions for drying

Although initially free from moisture following the freeze drying, the materials, which contain sea salt, have picked up moisture during subsequent operations. They should be dried to a constant weight before use. Drying for several hours at 105°C has proved to be a relatively simple method to achieve a dry weight for most purposes.

Storage

Repeated analysis of these materials has demonstrated that elemental concentrations are stable for at least 10 years when bottles are stored well sealed, and in a cool place. Each bottle is packaged in a trilaminate foil pouch as an impermeable barrier to mercury vapour. Experiments have shown that, under conditions of high ambient levels of mercury vapour, mercury is able to penetrate the plastic cap of the bottle, thereby potentially contaminating the contents.

Storage of PACS-2 for Organotin Stability

To ensure the stability of the organotin species in PACS-2 it is necessary to store the material at a temperature of 4°C or lower.

Information values

Information values are considered less reliable than certified values because they are not based on the results of at least two independent methods, there were insufficient analyses performed or inhomogeneity is suspected. These numbers are given for information only and care should be exercised not to attribute more reliability to these numbers than they warrant.

Homogeneity

Randomly selected bottles were used for the analytical determinations. Results from different bottles showed no significant differences compared to results from sub-samples within bottles. Nor was there any correlation between values obtained and bottle sequence. Thus, it is assumed that all bottles of each of these materials have essentially the same composition. One exception is Co in HISS-1 where results indicated sample inhomogeneity.

†Chromium in HISS-1

It became apparent during the certification of HISS-1 that there is a significant fraction of Cr that is not easily solubilized. The certified value of 30 mg/kg was obtained using solid sampling techniques or prolonged digestion with hydrofluoric, sulphuric and perchloric acids. Less vigorous acid dissolution techniques (including microwave heating using closed vessels at high pressure) result in Cr values between 10 and 13 mg/kg.

Acknowledgements

These materials were prepared following the advice of the NRC Committee on Marine Analytical Chemistry. The guidance of the members is much appreciated.

The following staff of the Institute for National Measurement Standards, National Research Council of Canada, participated in the analysis of at least one of these sediment certified reference materials:

S. Berman, V.J. Boyko, V.P. Clancy,
J. Lam, P. Maxwell, J.W. McLaren,
B. Methven, C. Scriver, K.W.M. Siu,
R. Sturgeon, S. Willie and L. Yang.

The cooperation of the following during the certification of one or more of these sediments is gratefully acknowledged:

Nordion International Inc., Ville de Laval,
Québec.

E. Crecelius, B. Lasorsa, C.W. Apts,
O.A. Cotter, R.W. Sanders and T. Gilfoil,
Battelle Pacific Northwest,
Sequim, Washington.

R. Presley, P. Boothe, R. Taylor and
T. Wade, Texas A & M University,
College Station, Texas.

M. Leaver, R. Beaudoin and H. Steger, Canada
Centre for Mineral and Energy Technology,
Natural Resources Canada,
Ottawa, Ontario.

W. May, D.A. Becker, Rolf Zeisler,
R.R. Greenberg and S. Wise,
National Institute of Standards and Technology,
Gaithersburg, Maryland.

R. Parker, Department of Geology,
University of Auckland, New Zealand.

C. Davies, Z. Huang and P. Moore
Brooks Rand Ltd., Seattle, Washington.

Alan Jeffrey, John Stewart, Peter Lynch, Helen
Walker, John Drinnan and Glenn Barry,
Department of Natural Resources
Indooroopilly, Queensland, Australia.

Ms. Anne Scott, Australian Government
Analytical Laboratories, Pymble, N.S.W.
Australia.

R. Smith, Skidaway Inst. of Oceanography,
Savannah, GA.

Issac Pereiro and Ryszard Lobinski,
Laboratoire de Chimie Bio-Inorganique et
Environnement, Pau, France.

HISS-1 issued February 1997
MESS-3 issued January 2000
PACS-2 issued August 1997
Date of expiry: August 2012

Butyltin values updated: August 2004
Date of expiry (butyltins): September 2007

The results listed in this certificate are traceable to the SI through gravimetrically prepared standards of established purity and international measurement intercomparisons. As such, they serve as suitable reference materials for laboratory quality assurance programs, as outlined in ISO/IEC 17025. These CRMs are registered at the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) in Appendix C of the Comité International des Poids et Mesures database listing Calibration and Measurement Capabilities accepted by signatories to the Mutual Recognition Arrangement of the Metre Convention.

Comments, information and inquiries should be addressed to:

Dr. R.E. Sturgeon
National Research Council of Canada
Institute for National Measurement Standards
M-12, Montreal Road
Ottawa, Ontario, Canada K1A 0R6

Telephone (613) 993-2359
Facsimile (613) 993-2451
E-mail crm.inms@nrc-cnrc.gc.ca

Également disponible en français sur demande.



National Research
Council Canada

Conseil national
de recherches Canada

TORT-2

Lobster Hepatopancreas Reference Material for Trace Metals

The following table lists those elements for which certified values have been established. Certified concentrations are based on results of determinations by at least two independent methods of analysis. The uncertainties represent 95% confidence limits for an individual subsample. That is, 95% of samples, 250 mg or greater, from any bottle would be expected to have concentrations within the specified range 95% of the time. Values are based on a dry weight.

Trace Metals (milligrams/kilogram)

Arsenic (g,h,m)	21.6 ± 1.8
Cadmium (g,p)	26.7 ± 0.6
Chromium (g,p)	0.77 ± 0.15
Cobalt (g,m)	0.51 ± 0.09
Copper (g,i,p)	106. ± 10.
Iron (g,i)	105. ± 13.
Lead (g,p)	0.35 ± 0.13
Manganese (g,i,m)	13.6 ± 1.2
Mercury (c,e)	0.27 ± 0.06
Molybdenum (g,p)	0.95 ± 0.10
Nickel (g,p)	2.50 ± 0.19
Selenium (g,h,q)	5.63 ± 0.67
Strontium (i,p)	45.2 ± 1.9
Tin (p)	(0.04)*
Vanadium (g,i,m)	1.64 ± 0.19
Zinc (g,i,p)	180. ± 6.
Methylmercury(as Hg) (e,t)	0.152 ± 0.013

*information value only

c - cold vapour atomic absorption spectrometry
 e - cold vapour microwave induced plasma atomic emission spectrometry
 g - graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS)
 h - hydride generation GFAAS
 i - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
 m - inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS)

p - isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry
 q - isotope dilution hydride generation ICPMS
 t - gas chromatography - electron capture detection

The coding refers only to the ultimate method of analyte determination. Methods of sample preparation or decomposition are available by request.

NRC · CNRC