



Metodo EPA 8260 VOC in GC-MS

dott. Davide Facciabene

GC & GC-MS Product Specialist at Thermo Fisher Scientific

VL. Leopardi 31/C - Montevarchi (AR)

3 e 4 Settembre 2013



EPA 8260

E' il metodo strumentale più utilizzato per la ricerca dei VOC (Composti Organici Volatili)

Unitamente ai seguenti metodi di preparativa:

- **EPA 5021** – *Spazio di testa (solidi/liquidi)*
- **EPA 5030** – *Purge & Trap (liquidi)*
- **EPA 5035** – *Purge & Trap (solidi)*

In conformità con le principali norme vigenti:

- D.Lgs 152/2006 – Tutela Ambientale
- D.Lgs 31/2001 – Acque Potabili
- DM 29/12/2003 – Acque Minerali

Composti Organici Volatili (COV o SOV)

- Alifatici alogenati e non alogenati
- Aromatici alogenati e non alogenati
- Eteri
- Esteri
- Alcoli

VOC

Component	RT
DICLORODIFLUOROMETANO	1.11
CLOROMETANO	1.26
CLORURO_DI_VINILE	1.33
BROMOMETANO	1.6
CLOROETANO	1.67
TRICLOROFLUOROMETANO	1.86
1,1-DICLOROETENE	2.33
DICLOROMETANO	2.88
MTBE	3.14
1,2-DICLOROETENE-TRANS	3.17
1,1-DICLOROETANO	3.76
2,2-DICLOROPROPANO	4.52
1,2-DICLOROETANO-CIS	4.6
BROMOCLOROMETANO	4.92
CLOROFORMIO	4.97
1,1,1-TRICLOROETANO	5.15
TETRACLORURO_DI_CARBONIO	5.32
1,1-DICLOROPROPENE	5.35
BENZENE	5.55
1,2-DICLOROETANO	5.66

Component	RT
TRICLOROETILENE	6.27
1,2-DICLOROPROPANO	6.5
DIBROMOMETANO	6.62
BROMODICLOROMETANO	6.75
1,3-DICLOROPROPENE-CIS	7.17
TOLUENE	7.42
1,3-DICLOROPROPENE-TRANS	7.66
1,1,2TRICLOROETANO	7.79
TETRACLOROETILENE	7.85
1,3-DICLOROPROPANO	7.91
DIBROMOCLOROMETANO	8.06
1,2-DIBROMOETANO	8.15
CLOROBENZENE	8.43
ETILBENZENE	8.47
1,1,1,2-TETRACLOROETANO	8.48
M+P-XILENE	8.53
O-XILENE	8.77
STIRENE	8.78
BROMOFORMIO	8.92
ISOPROPILBENZENE	8.95

Component	RT
BROMOBENZENE	9.15
1,1,2,2-TETRACLOROETANO	9.16
N-PROPILBENZENE	9.17
1,2,3-TRICLOROPROPANO	9.18
2-CLOROTOLUENE	9.2
1,3,5-TRIMETILBENZENE	9.25
4-CLOROTOLUENE	9.29
TERT-BUTILBENZENE	9.41
1,2,4-TRIMETILBENZENE	9.44
SEC-BUTILBENZENE	9.52
ISOPROPILTOLUENE	9.57
1,3-DICLOROBENZENE	9.62
1,4-DICLOROBENZENE	9.65
N-BUTYLBENZENE	9.76
1,2-DICLOROBENZENE	9.83
1,2-DIBROMO-3-CLOROPROPANO	10.19
1,2,4-TRICLOROBENZENE	10.6
ESACLOROBUTADIENE	10.64
NAFTALENE	10.74
1,2,3-TRICLOROBENZENE	10.88

83 composti

ISTD

Clorobenzene-D5

1,4-Diclorobenzene-D4

1,4-Difluorobenzene

Pentafluorobenzene

SURROGATI

Fluorobenzene

Toluene-D8

Pentafluorobenzene

Dibromofluorometano

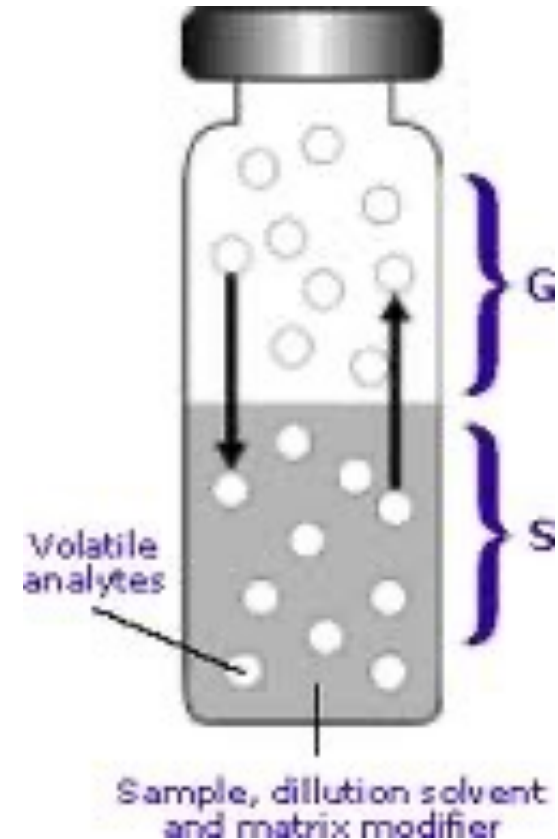
1,2-Diclorobenzene-D4

4-Bromofluorobenzene

Dicloroetano

EPA 5021 – Spazio di Testa

- Vial da 20 ml crimpabile
- 10 ml di campione se liquido
- 2 g di campione se solido + 10 ml H₂O
- modificatore di matrice (3,6 g NaCl)
- aggiunta ISTD e Surrogati (10-20 uL)



EPA 5021 – Spazio di Testa - Campionamento

Campioni Liquidi sul posto

Introdurre il campione in apposito contenitore di vetro scuro, facendo attenzione a non lasciare bolle d'aria

Conservazione a 4°C



EPA 5021 – Spazio di Testa - Campionamento

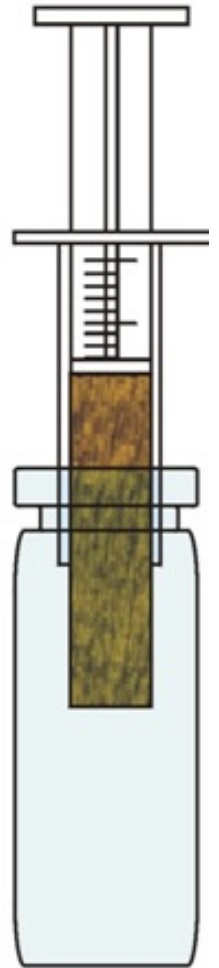
Campioni Solidi sul posto

Mediante mini carotaggio con apposita siringa

Introdurre circa 2 g di campione in vial tarata (2 o 3 cm)

Aggiungere 10 ml di acqua con modificatore di matrice

Crimpaggio con apposito tappo



EPA 5021 – Spazio di Testa - Conservazione

Il campione dovrebbe essere analizzato subito a causa della natura degli analiti.

In caso contrario va conservato a 4°C lontano da fonti di contaminazione con solventi (altri campioni, soluzioni standard, bottiglie solventi ecc.) ed analizzato entro 14 giorni (!!) e tenendo conto della stabilità dei singoli analiti nelle seguenti tabelle EPA:

- EPA 5021, sec. 1.1
- EPA 5035, Appendix A, Tab. A-1

EPA 5021 – Spazio di Testa - Conservazione

Conservazione in **ambiente basico**, causa presenza di eteri o esteri nel campione.

Aggiungere 100 mg di Na_3PO_4 decaidrato

Conservazione in **ambiente acido**, causa presenza di VOC dal carattere basico

Acidificare con 2 o 3 gocce di HCl 6 N

EPA 5021 – Spazio di Testa - Sistema

Volume di iniezione: 1 mL

Incubatore:

50 min a 85°C

Agitatore attivo



Siringa



Loop Pressurizzato

Costo e versatilità

Vs

Economico ma specifico

EPA 5030 e 5035 – Purge & Trap

EPA 5030 per campioni liquidi

EPA 5035 per campioni solidi

L'EPA 5035, per campioni solidi ad alta concentrazione di analiti (> 200 ppb), prevede un'estrazione con metanolo (1:50) e successiva diluizione in acqua dell'estratto metanolico.

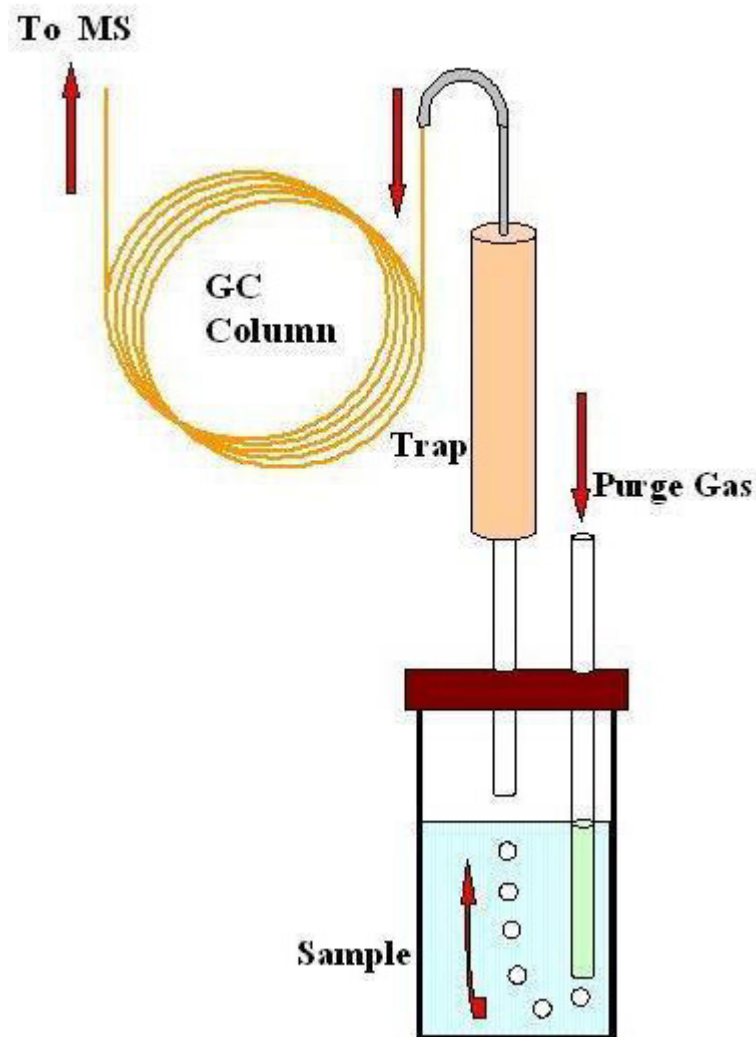
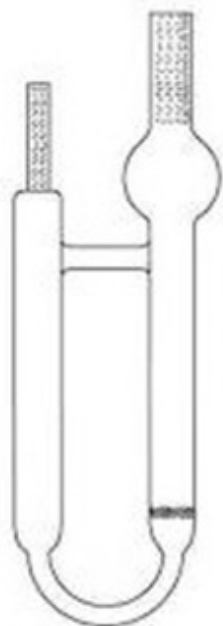
L'entità dell'aliquota da diluire è definita nel metodo stesso, Tab. 1

Approximate Concentration Range (µg/kg)	Volume of Extract ^a
500 - 10,000	100 µL
1,000 - 20,000	50 µL
5,000 - 100,000	10 µL
25,000 - 500,000	100 µL of 1/50 dilution ^b

EPA 5030/35 – Purge & Trap

- 1) Da 5 a 20 ml campione in “Sparger”
- 2) **Estrazione** sotto flusso di gas He o N₂
- 3) **Intrappolamento** in trappola fredda a base carboniosa
- 4) **Desorbimento** termico sotto flusso di gas He o N₂ ed iniezione in GC-MS

Sparger



EPA 5030/35 – Purge & Trap - Sistema

Purge & Trap

Trattamento automatico
del campione



Metodo preinstallato, specifico per vendor

P&T - AtomX Teledyne Tekmar

Specifiche:

Preparazione automatica curva di calibrazione

Aggiunta automatica STD/ISTD/SUR da 3 vial indipendenti

Bianco automatico da contenitore separato

Fino ad 80 vial su supporto rotante

Supporto metodo EPA 5035 (campioni solidi)

Diluizione automatica di campioni solidi

Gestione completa via software



EPA 5030/35 – P&T – Campionamento e Conservazione

Vale quanto già detto per lo spazio di testa, con la differenza:

- Normalmente non si usano modificatori di matrice
(salvo per campioni a bassa concentrazione, si può aggiungere 100 mg di bisolfito di sodio per stabilizzare il pH ad acido)
- Le vial sono da 40 ml

EPA 5030 vs 5035 ossia HS vs P&T

P&T è indicato per l'analisi in tracce su campioni liquidi o terreni poco contaminati (ppt/ppb)

“Fare molta attenzione con campioni a medie ed alte concentrazioni, si rischia di contaminare il sistema in maniera irreversibile (trappola e transferline), i vendor consigliano di non lavorare con campioni con concentrazioni superiori a 200 ppb”.

HS è indicato per terreni e campioni a media ed alta concentrazione (ppb/ppm)

“Solitamente il P&T si utilizza solo per l'analisi delle acque sotterranee secondo D.Lgs 152/2006 o al limite acque destinate al consumo umano secondo D.Lgs 31/2001” o acque minerali.

EPA 8260 – GC-MS

Lo strumento di elezione è il **Singolo Quadrupolo**.

E' possibile utilizzare anche la **Trappola Ionica**, anche se difficilmente si raggiungeranno i limiti di legge previsti dalle normative più restrittive (D.Lgs 152/06)



EPA 8260 – GC-MS a Singolo Quadrupolo

Sorgente EI+ 70 eV 250°C

Transferline 250°C

Full Scan 35 – 260 uma

Scan time 0,2 sec (> 5 pts / sec)

“ Peak with circa 5 sec (> 25 pts per picco) “

2 segmenti SIM per p.a. da 1 ppt del D.lgs 152

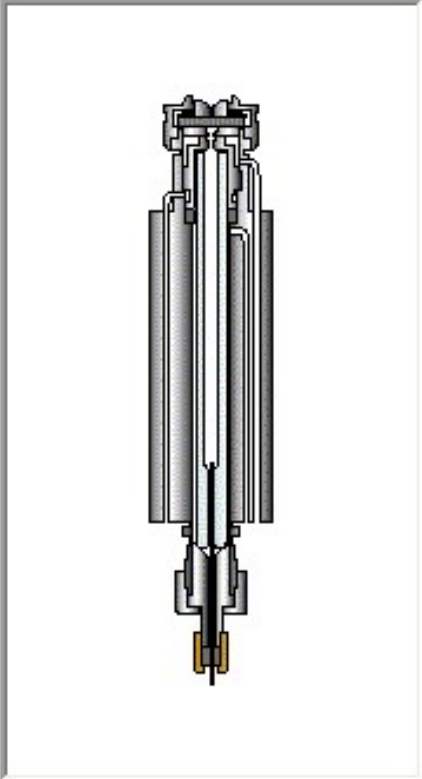
SIM 1: 1,2-dibromoetano – 107 + 109 (90%)

SIM 2: 1,2,3,-tricloropropano - 75 – 110 (70%)

Scan time 0,020 sec



EPA 8260 – Iniettore



Mode: Split

Inlet

- Temperature (°C):
- Split Flow (ml/min):
- Split Ratio:
- Splitless Time (min):

Purge

- Constant Septum Purge
- Stop Purge Time (min):

Surge

- Surge Pressure (kPa):
- Surge Duration (min):

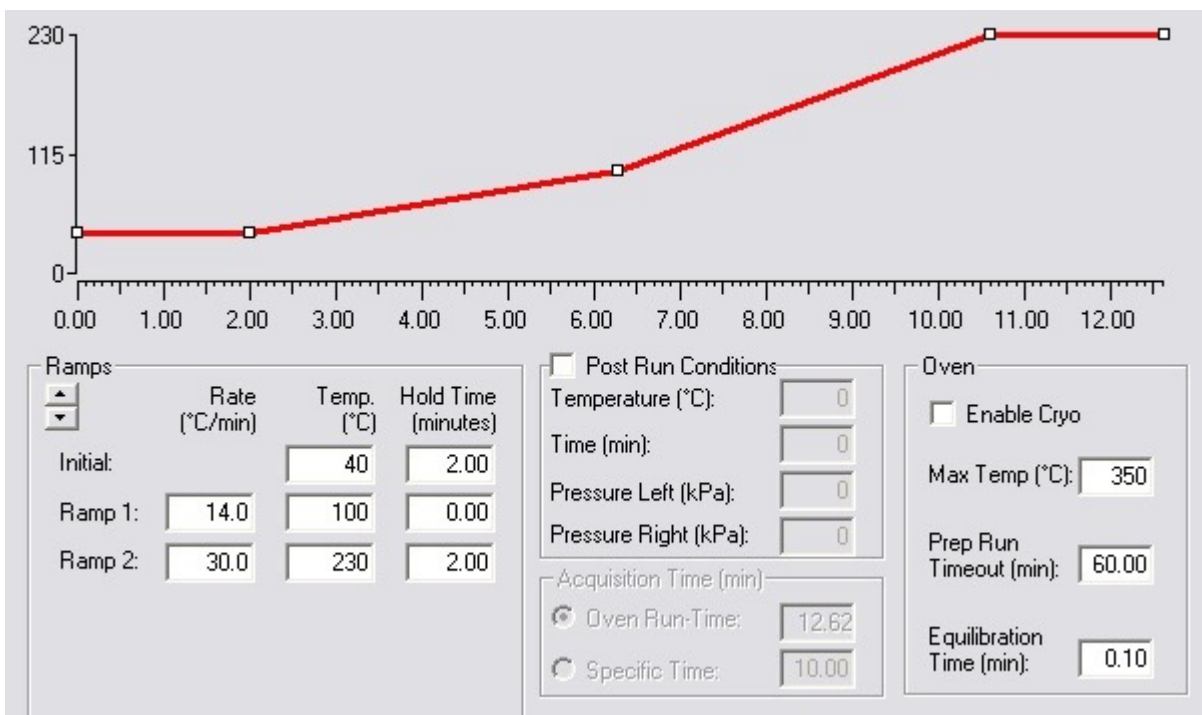
Iniettore:

SSL mode SPLIT – ratio 40:1
Temp. 230°C

Flusso:

Costante in He a 1 ml/min

EPA 8260 – Forno e Colonna



FAST GC !!!

Durata < 13'

RT ultimo composto < 11'

40°C per 2 min

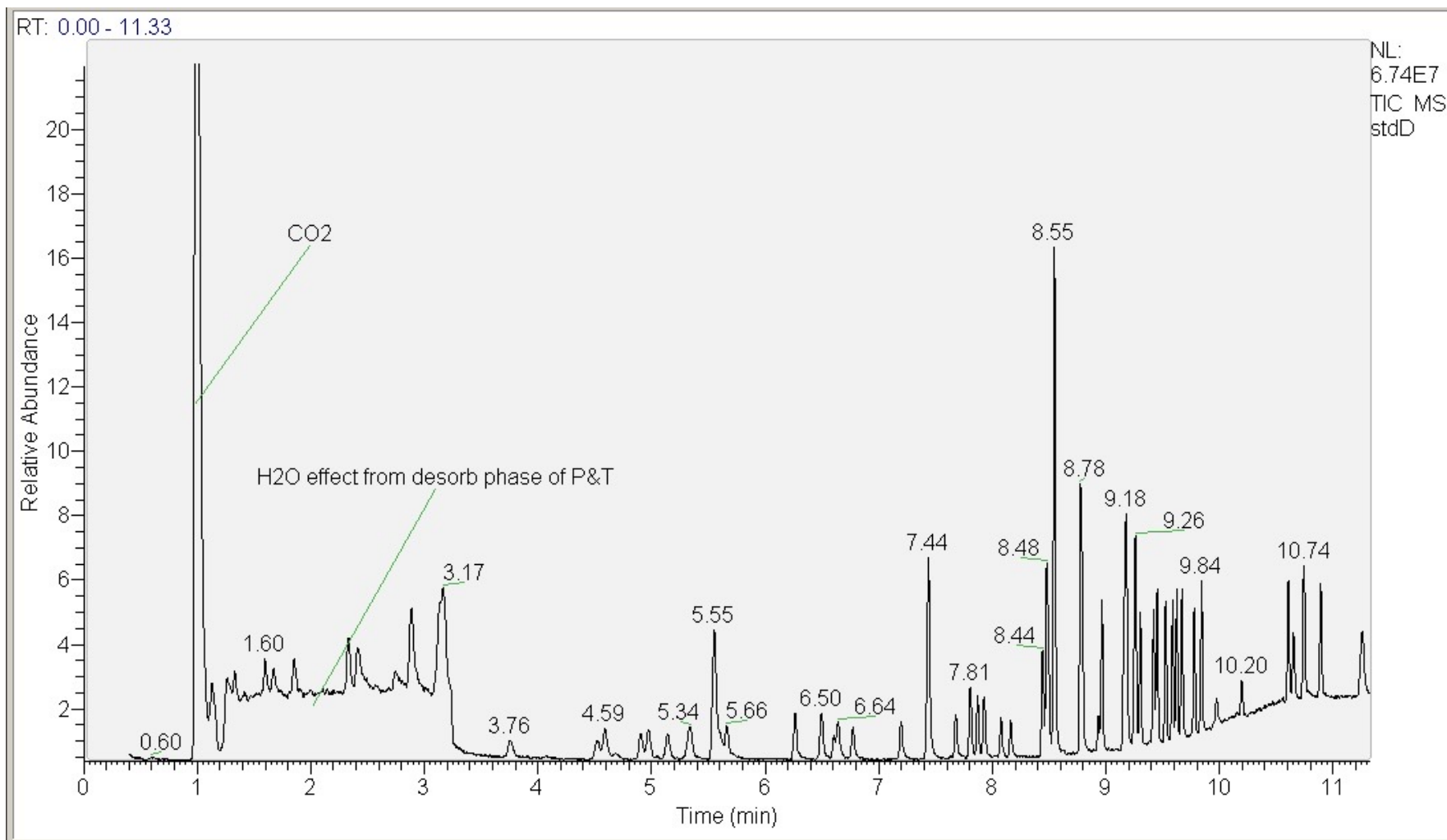
14°C/s > 100°C

30°C/s > 230°C per 2 min

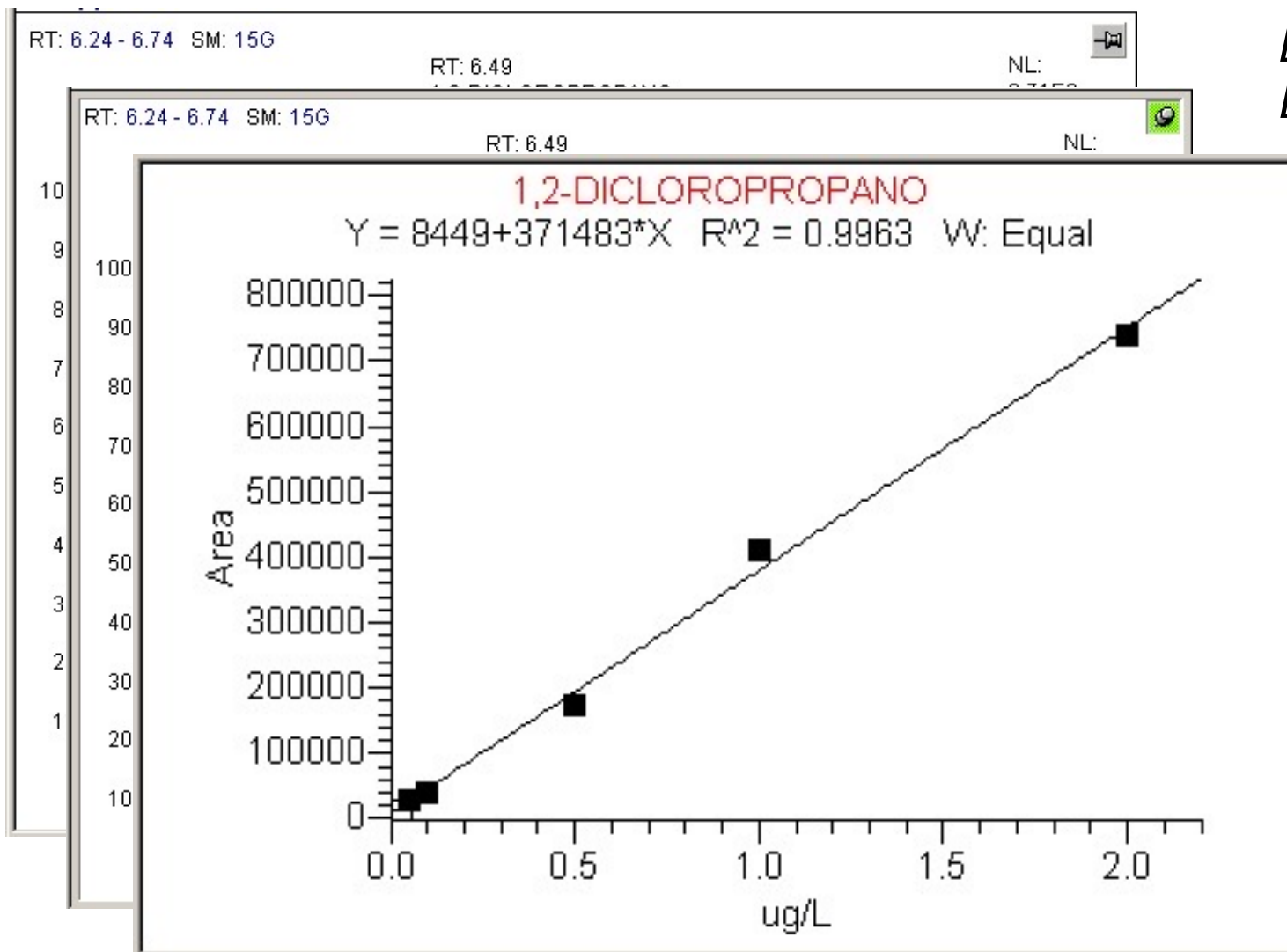
Colonna:

Colonna : 20 m x 0,18 mm x 1 um – cianopropilica (TR-V1)

FULL SCAN [35-260 uma] – 1 ppb in Acqua – P&T



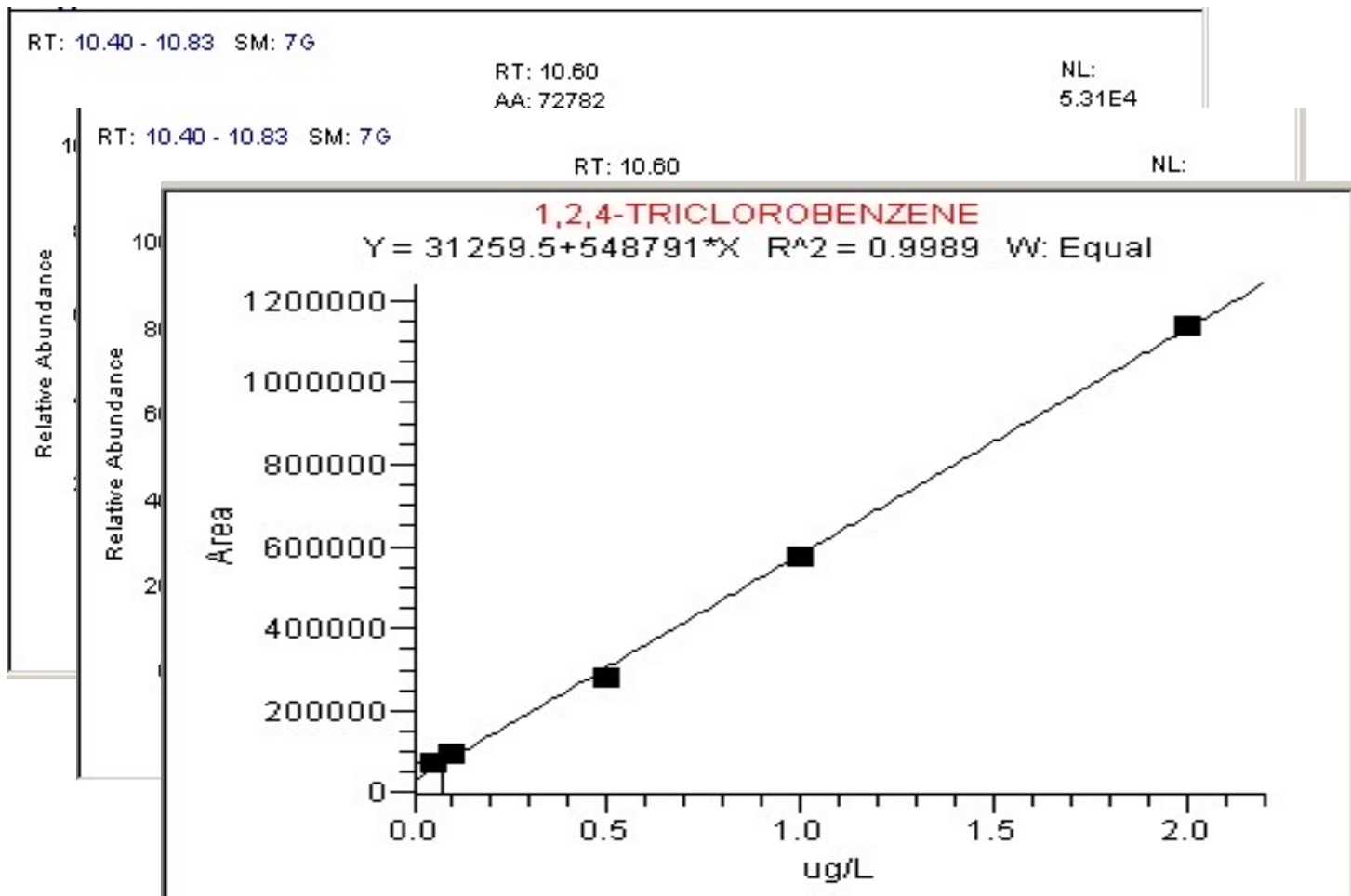
1,2-DICLOROPROPANO – 0,05 ppb in FULL SCAN



LDL 0,15 ppb
D.Lgs 152

1,2,4-TRICHLORO BENZENE – 0,05 ppb in FULL SCAN

*LDL 190 ppb
D.Lgs 152/06*



EPA 8260 - Sommario

Il metodo prevede una calibrazione su almeno 5 livelli e sistema di calcolo con RF medio oppure regressione lineare.

$$RF = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times C_s}$$

$$\overline{RF} = \frac{\sum_{i=1}^n RF_i}{n}$$

where:

A_s = Peak area (or height) of the analyte or surrogate.

A_{is} = Peak area (or height) of the internal standard.

C_s = Concentration of the analyte or surrogate.

C_{is} = Concentration of the internal standard.

\overline{RF} = mean RF for each compound from the initial calibration

n = Number of calibration standards, e.g., 5

RF_i = RF for each of the calibration standards

E' previsto l'uso di ISTD e STD Surrogati e diversi QC.

Controlli Qualità

- MS Tune Check
- CCV (Continuing Calibration Verification)
- Method Blank Check
- MSD (Matrix Spike Duplicate)
- LCS (Lab Control Sample)
- ISTD Recovery
- Surrogates Recovery
- RT e RRT Check
- Calibration (RSD%, minimo RF, R²)

EPA 8260 – QC – MS Tune Check

Prima dell'acquisizione degli standard di taratura e comunque ogni 12h di analisi, è previsto un controllo sullo stato dello spettrometro di massa.

Il controllo, MS Tune Check, prevede l'acquisizione dello spettro di massa di una soluzione standard di BFB (4-Bromofluorobenzene) a conc. < 50 ppm.

Lo spettro di massa va confrontato la tabella 3:

m/z	Required Intensity (relative abundance)
50	15 to 40% of m/z 95
75	30 to 60% of m/z 95
95	Base peak, 100% relative abundance
96	5 to 9% of m/z 95
173	Less than 2% of m/z 174
174	Greater than 50% of m/z 95
175	5 to 9% of m/z 174
176	Greater than 95% but less than 101% of m/z 174
177	5 to 9% of m/z 176

EPA 8260 – QC – MS Tune Check – Tab. 3

BFB

m/z	Required Intensity (relative abundance)
50	15 to 40% of m/z 95
75	30 to 60% of m/z 95
95	Base peak, 100% relative abundance
96	5 to 9% of m/z 95
173	Less than 2% of m/z 174
174	Greater than 50% of m/z 95
175	5 to 9% of m/z 174
176	Greater than 95% but less than 101% of m/z 174
177	5 to 9% of m/z 176

EPA 8260 – QC – Calibration Verification

Subito dopo l'acquisizione degli standard di taratura, è necessario controllare la calibrazione iniettando un soluzione standard di controllo contenente tutti i p.a. della calibrazione.

Il CCV deve essere preparato con un lotto di standard differente da quello utilizzato per la preparazione degli standard di taratura.

La concentrazione deve essere quella del livello intermedio di taratura

Il CCV va riacquisito ogni 12 ore di analisi

E' possibile unirlo al BFB in un unico mix (BFB+CCV)

EPA 8260 – QC – Calibration Verification

Cosa verificare

Controllo RF minimo (opzionale):

- *RF maggiore dei valori riportati nella tabella 4*

Controllo RF vs RF taratura:

- *RF rispetto al RF medio della taratura, Diff. % $\leq 20\%$*

Controllo spostamento RT di ISTD:

- *RT dello ISTD entro ± 10 s rispetto RT riscontrato sul livello intermedio dello standard di calibrazione*

Controllo recupero percentuale:

- *Recupero % = 70 – 130 %*

$$\text{Recovery} = \%R = \frac{C_s - C_t}{C_t} \times 100$$

EPA 8260 – QC – Method Blank Check

E' necessario verificare l'assenza di sostanze interferenti provenienti dalla vetreria, strumentazione o solventi utilizzati durante tutto il processo di analisi, iniettando un bianco strumentale (bianco solvente) prima dell'acquisizione dei campioni.

L'MBC va eseguito anche successivamente all'acquisizione di un campione particolarmente contaminato, la cui concentrazione superi ULOL (Upper Limit Of Linearity)

EPA 8260 – QC – Matrix Spike Duplicate

E' necessario verificare l'effetto matrice mediante l'iniezione di un campione addizionato con uno standard mix ad ogni sequenza di analisi e comunque ogni 20 campioni.

La concentrazione dell'aggiunta, deve ricadere entro i livelli di taratura e i principi attivi dello standard mix devono essere scelti in base alla loro rilevanza nei campioni reali.

L'aggiunta va fatta in doppio ad un campione (MS/MSD) e si verifica che:

- *Rec % = 70 – 130%*
- *RPD ≤ 20 % (Differenza Percentuale Relativa)*

$$RPD = \frac{| \text{Sample} - \text{Duplicate Conc} | \times 100}{(\text{Sample} + \text{Duplicate Conc})/2}$$

EPA 8260 – QC – Lab Control Sample

E' simile al Matrix Spike Duplicate, con la differenza che l'aggiunta viene fatta su una matrice già controllata e priva di interferenti.

- *Rec % = 70 – 130%*
- *RPD ≤ 20 % (Differenza Percentuale Relativa)*

$$RPD = \frac{|Sample - Duplicate Conc| \times 100}{(Sample + Duplicate Conc)/2}$$

Per campioni di acqua, LCS di fatto equivale al CVV, per cui il controllo è opzionale

EPA 8260 – QC – Surrogates Recovery

Ad ogni campione va addizionato (spike) un mix di standard surrogati per il calcolo del recupero percentuale, al fine di controllare la corretta esecuzione del processo di analisi fin dall'inizio.

La concentrazione degli standard surrogati deve essere pari al livello intermedio degli standard di taratura

Cosa verificare:

- *Rec % = 70 – 120%*

Surrogati e ISTD possono essere addizionati mediante un unico mix

EPA 8260 – QC – ISTD Recovery

Lo Standard Interno viene aggiunto ad ogni campione, soluzione standard e QC.

La scelta va fatta in modo tale che , l'RRT di ogni analita cadi entro una finestra compresa tra 0,8 ed 1.2 rispetto allo ISTD.

La concentrazione dello ISTD , deve essere tale che la sua area sia compresa tra 50% e il 200% dello standard intermedio dell'analita a cui è associato.

Cosa verificare:

L'Area del ISTD di ogni campione, sia compresa tra il 50% - 100% rispetto all'ultimo CCV acquisito oppure all'area media del ISTD misurata negli standard di calibrazione.

EPA 8260 – QC – Calibration

Metodo di calibrazione mediante calcolo del RF medio su almeno 5 livelli di taratura.

Cosa verificare:

Controllo RF minimo (opzionale):

- *RF maggiore dei valori riportati nella tabella 4*

Controllo $R^2 \geq 0,99$

Controllo RSD di ogni RF su tutti i livelli di taratura:

- *RSD $\leq 20\%$*

$$RSD = \frac{SD}{\overline{RF}} \times 100$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (RF_i - \overline{RF})^2}{n-1}}$$

Quando si ritiene la taratura fallita ?

Si ritiene la taratura fallita se oltre il 10% dei RF misurati non rispettano i QC della taratura (RSD e R^2).

Il sistema va verificato prima di procedere con l'analisi ed eventualmente va rifatta la taratura.

In caso contrario, PASSED, ossia più del 90% degli RF misurati rispettano i QC della taratura, è possibile utilizzare la taratura.

Anche se alcuni RF non rispettano i criteri qualitativi (frazione di analiti $\leq 10\%$ not passed), per questi ultimi, bisognerà esprimere il risultato in termini di “conc. stimata”.

EPA 8260 – QC – CCV **NOT PASSED**

Quando si ritiene il CCV fallito ?

Si ritiene il CCV fallito se oltre il 20% dei RF misurati non rispettano i QC del CCV (*diff. % rispetto RF medio della taratura e recupero %*).

Il sistema va verificato prima di acquisire i campioni.

Per gli altri analiti, che non rientrano nei criteri qualitativi (frazione di analiti $\leq 20\%$ not passed), bisognerà esprimere il risultato in termini di “conc. stimata”.

EPA 8260 – Sequenza analitica

1. MS Tune
2. Calibration
3. CCV
4. Method Blank
5. Campioni
6. LCS/MSD ogni 20 campioni

Ogni 12h è necessario ripetere un MS Tune e CCV

FINE

Grazie per l'attenzione

