



## Metodo EPA 8270 SVOC 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 8270

E' il principale metodo strumentale per la ricerca dei SVOC (Composti Organici Semivolatili)

Unitamente ai seguenti metodi di preparativa:

- **EPA 3510** – LLE (*liquidi*)
- **EPA 3535** – SPE (*liquidi*)
- **EPA 3540** – Soxhlet (*solidi*)
- **EPA 3545** – ASE (*solidi*)
- **EPA 3550** – Bagno ad ultrasuoni (*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 Semivolatili

- IPA
- PCB
- Pesticidi
- Fenoli
- Ftalati
- Ammine aromatiche
- Ammine alifatiche
- Idrocarburi aromatici alogenati
- Idrocarburi alifatici alogenati
- ...

135 composti

## ISTD

1,4-Diclorobenzene-D4

Naftalene-D8

Acenaftene-D10

Fenantrene-D10

Crisene-D12

Perilene-D12

## SURROGATI

2-Fluorofenolo

2,4,6-Tribromofenolo

Nitrobenzene-D5

2-Fluorobifenile

p-Terfenile-D14

Fenolo-D6 (\*)

*(\*) Uso sconsigliato, soggetto ad ossidazione in presenza di agenti ossidanti nel campione*

# EPA 3510 – Estrazione Liquido-Liquido

- 1 L di campione
- Basifica con Idrossido di Sodio 10 N
- Acidifica con Ac. Solforico 1:1
- Diclorometano solvente di estrazione (3x60ml)
- aggiunta ISTD e Surrogati (10-20 uL)

## Alcune accortezze:

*Fenoli e Ftalati, estrazione in ambiente acido*

*Ammine, estrazione in ambiente basico*

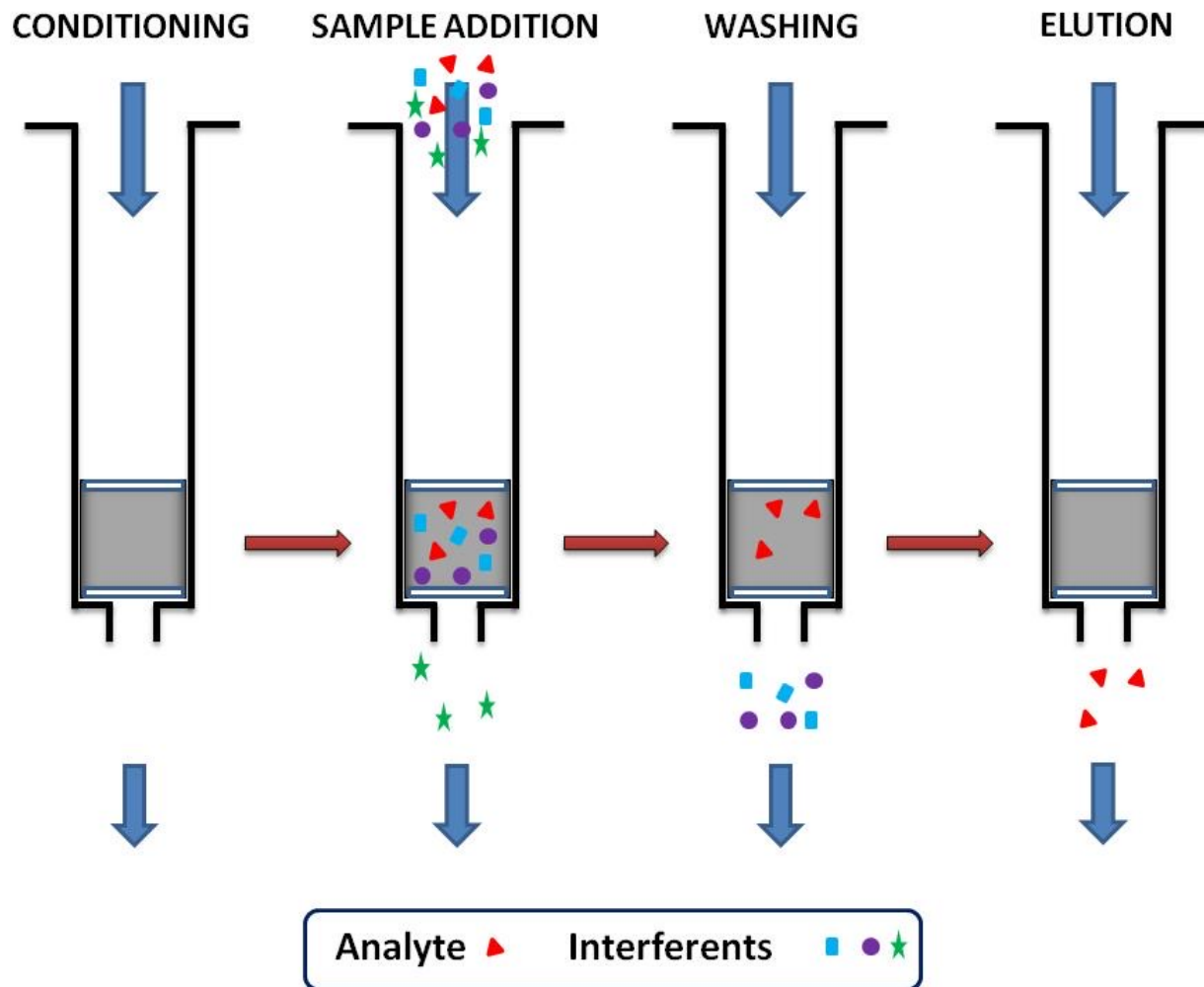
*Carbammati, Endosulfan e HCH ambiente non acido*

L'estratto finale viene riconcentrato ed iniettato



# EPA 3535 – SPE - Solid Phase Extraction

## Estrazione in fase solida



# EPA 3535 – SPE - Solid Phase Extraction

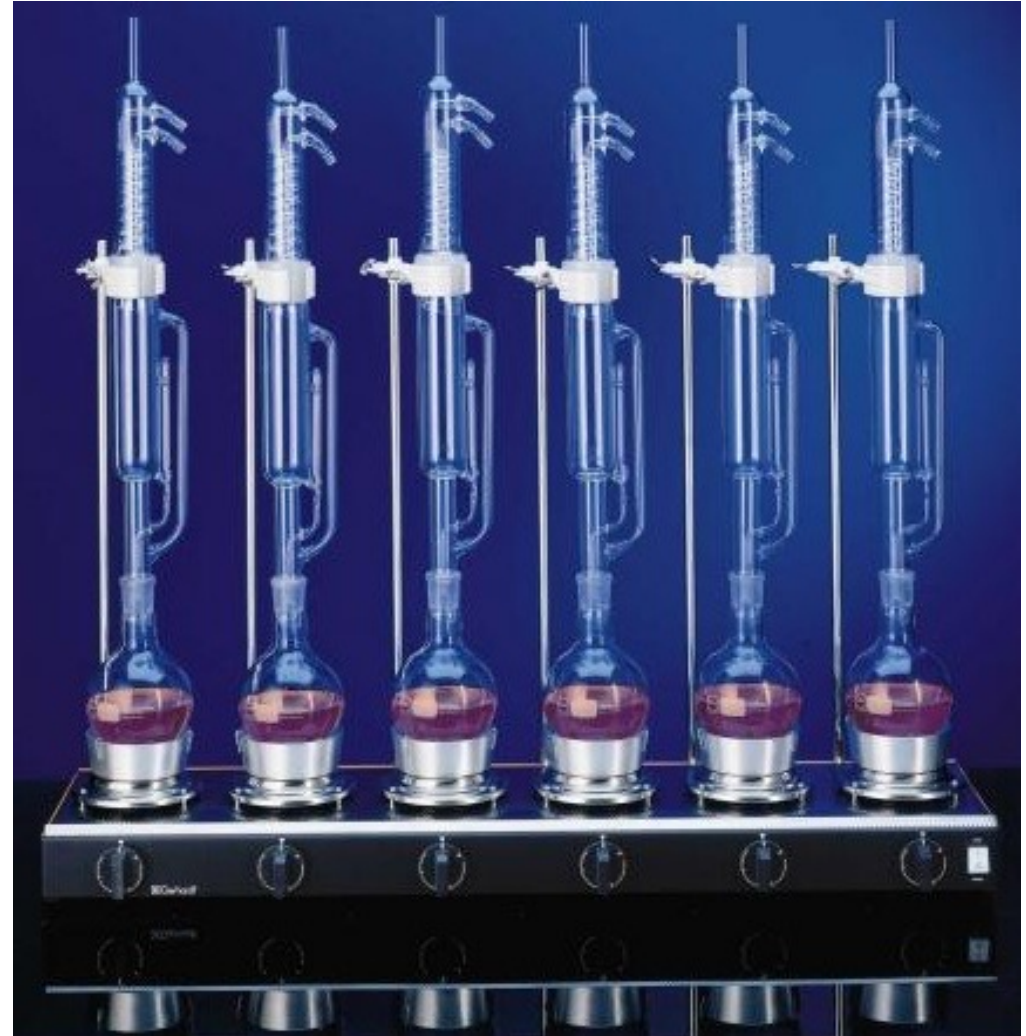
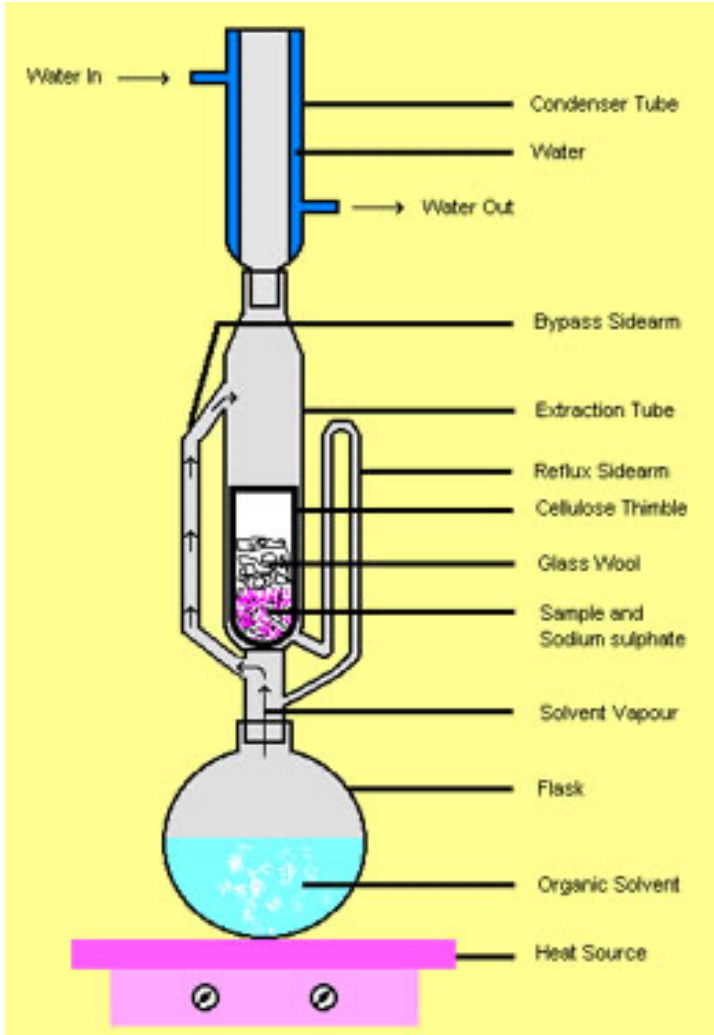


- 1 L di campione
- Basifica con Idrossido di Sodio 10 N
- Acidifica con Ac. Solforico 1:1

L'eluato finale può essere portato a volume noto ed iniettato, oppure riconcentrato ulteriormente.

# EPA 3540 – Soxhlet

## Tecnica di estrazione Solido-Liquido





# EPA 3540 – Soxhlet

---

- 10 g di campione + 10 g di Solfato di Sodio anidro
- 300 – 500 ml di solvente di estrazione
- Solvente di estrazione Esano:Acetone 1:1
- Durata dell'estrazione 16-24h con 4-6 cicli all'ora

L'estratto finale viene riconcentro e poi iniettato.

# EPA 3550 – Bagno Ultrasuoni

## Tecnica di estrazione Solido-Liquido

- 30g di campione
- 60g di Solfato di Sodio anidro se il campione è umido
- 100 ml di solvente di estrazione Esano:Acetone 1:1

L'estratto finale viene filtrato, passato su Sodio Solfato anidro e dopo riconcentrazione viene Iniettato.



# EPA 3545 – ASE - Accelerated Solvent Extraction

Tecnica di estrazione Solido-Liquido

- massima efficienza di estrazione
- minima quantità di solvente
- riduzione dei tempi
- sistema automatico

Esempio:

*10 g di campione*  
*15 ml di solvente*  
*15 minuti*



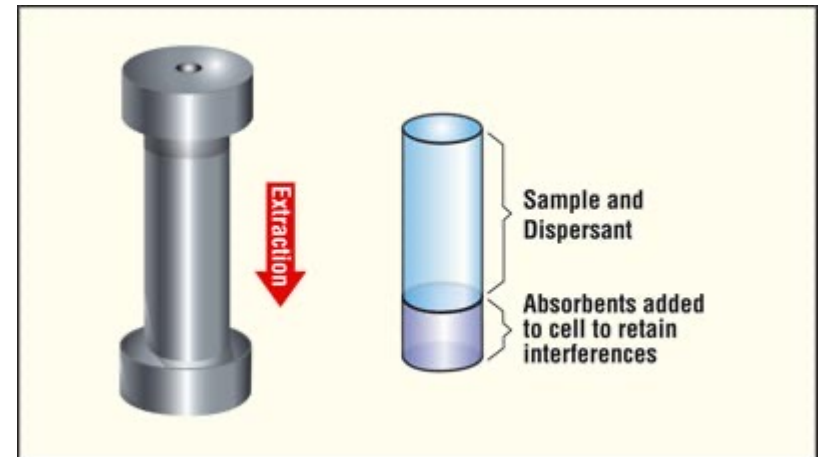
# EPA 3545 – ASE - Accelerated Solvent Extraction

In un cilindro di metallo (cella di estrazione), si introduce una quantità nota di campione, previamente miscelata con un'opportuna quantità di matrice disperdente (polvere di diatomee).

All'interno della cella viene fatto fluire uno o più solventi di estrazione, a caldo e sotto pressione.

L'estratto viene raccolto in un apposito contenitore posto sotto la cella.

L'estratto finale può essere riconcentrato ed iniettato.



# Sistemi per la riconcentrazione degli estratti



Rotavapor



Reacti Therm



SpeedVac

# EPA 8270 – GC-MS

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

E' possibile utilizzare anche la **Trappola Ionica**.



# EPA 8270 – GC-MS a Singolo Quadrupolo

Sorgente EI+ 70 eV 250-280°C

Transferline 250-280°C

**Full Scan** 35 – 500 uma

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

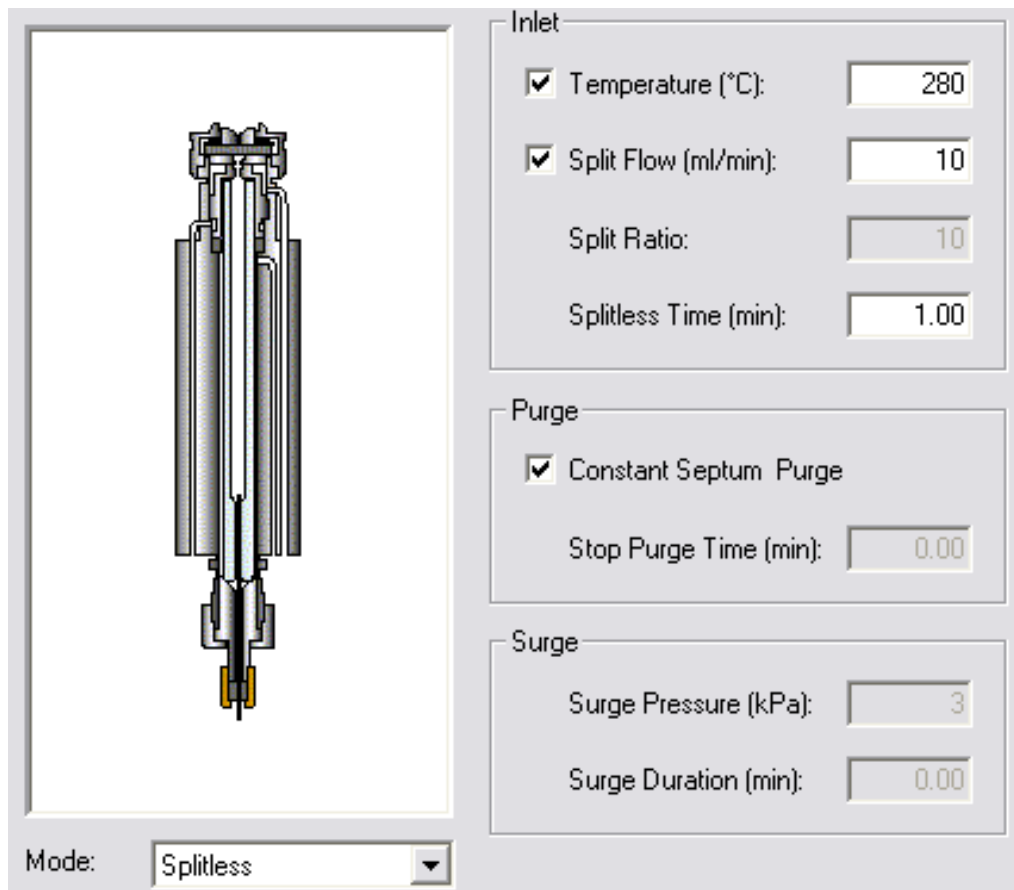
*“ Peak with circa 5 sec ( > 25 pts per picco ) “*

**SIM** almeno 2 ioni per principio attivo

Scan time 0,1 sec o meno ( circa 5 pts / sec )



# EPA 8270 – Iniettore



## Iniettore:

SSL mode SPLITLESS

Temp. 250 - 280°C

PTV mode SPLITLESS

Temp. 250 - 300°C

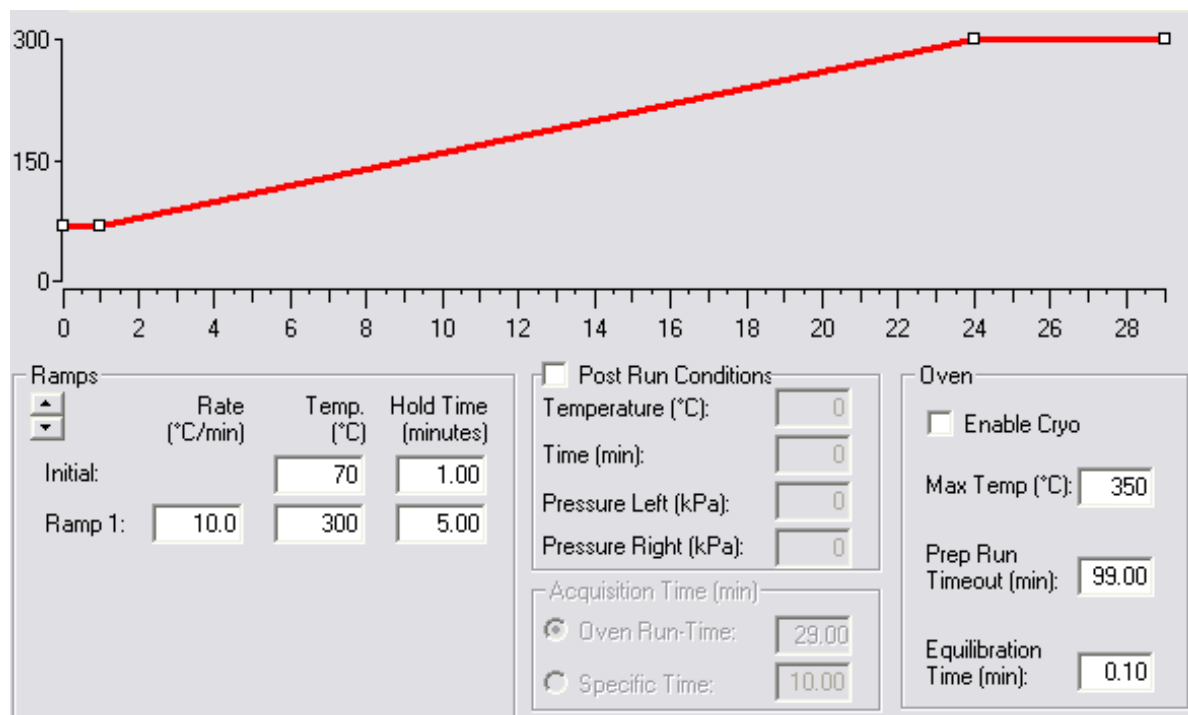
Splitless Time di 1 – 2 min

## Flusso:

Costante in He a 1 ml/min



# EPA 8270 – Forno e Colonna



Durata < 30'

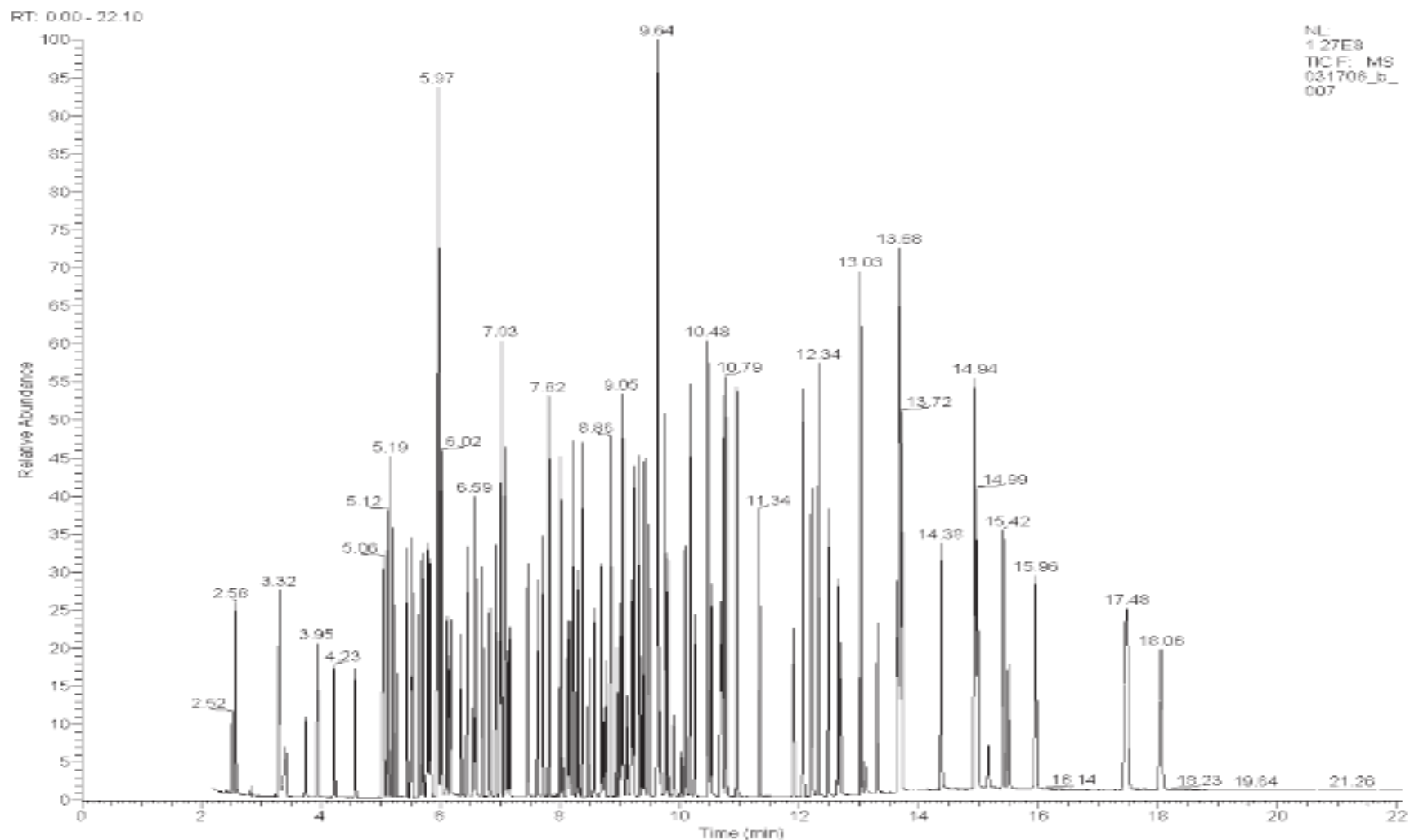
70°C per 1 min

10°C/min > 300 per 5 min

## Colonna:

Colonna : 30 m x 0,25 mm x 0,25 um – 5% ( TR-5ms)

# FULL SCAN [35-500 uma] – STD 4 ppm



# EPA 8270 - Sommario

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

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

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

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
- GC Performance (Inlet & Column)
- 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, R<sup>2</sup>)

# EPA 8270 – 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 DFTPP (Decafluoro Trifenilfosfato) a conc. < 50 ppm.

Lo spettro di massa va confrontato la tabella 3:

Mass	Ion Abundance Criteria
51	10-80% of Base Peak
68	< 2% of mass 69
70	< 2% of mass 69
127	10-80% of Base Peak
197	< 2% of mass 198
198	Base peak, or > 50% of Mass 442
199	5-9% of mass 198
275	10-60% of Base Peak
365	> 1% of mass 198
441	present but < 24% of mass 442
442	Base Peak, or > 50% of mass 198
443	15-24% of mass 442

# EPA 8270 – QC – MS Tune Check – Tab. 3

## DFTPP

Mass	Ion Abundance Criteria
51	10-80% of Base Peak
68	< 2% of mass 69
70	< 2% of mass 69
127	10-80% of Base Peak
197	< 2% of mass 198
198	Base peak, or > 50% of Mass 442
199	5-9% of mass 198
275	10-60% of Base Peak
365	> 1% of mass 198
441	present but < 24% of mass 442
442	Base Peak, or > 50% of mass 198
443	15-24% of mass 442

# EPA 8270 – QC – GC Performance

Prima dell'acquisizione degli standard di taratura, è previsto un controllo sullo stato dell'iniettore e della colonna.

## Controllo dell'iniettore (Breakdown Check)

Si acquisisce uno standard di 4,4,-DDT e si verifica la formazione dei suoi composti di degradazione, 4,4-DDE e 4,4-DDD.

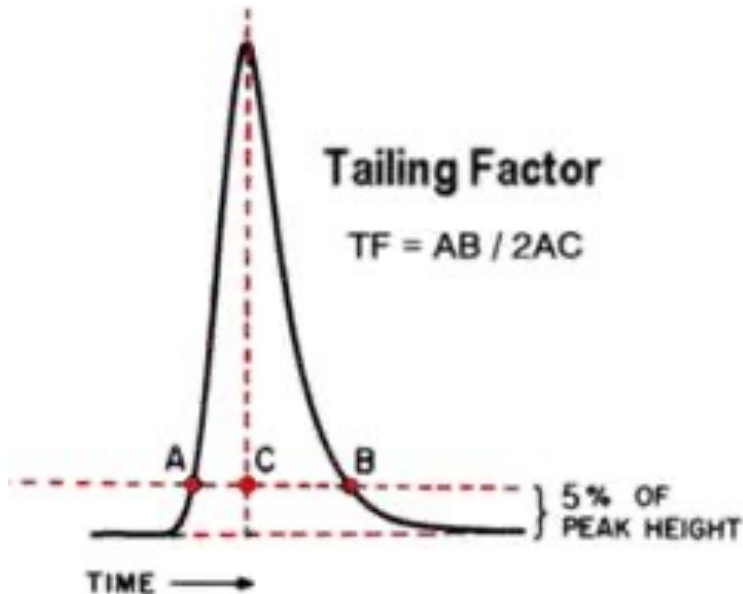
La quantità di composti di degradazione, non deve superare il 20% calcolato come segue

$$\% \text{ breakdown of DDT} = \frac{\text{sum of degradation peak areas (DDD + DDE)}}{\text{sum of all peak areas (DDT + DDE + DDD)}} \times 100$$

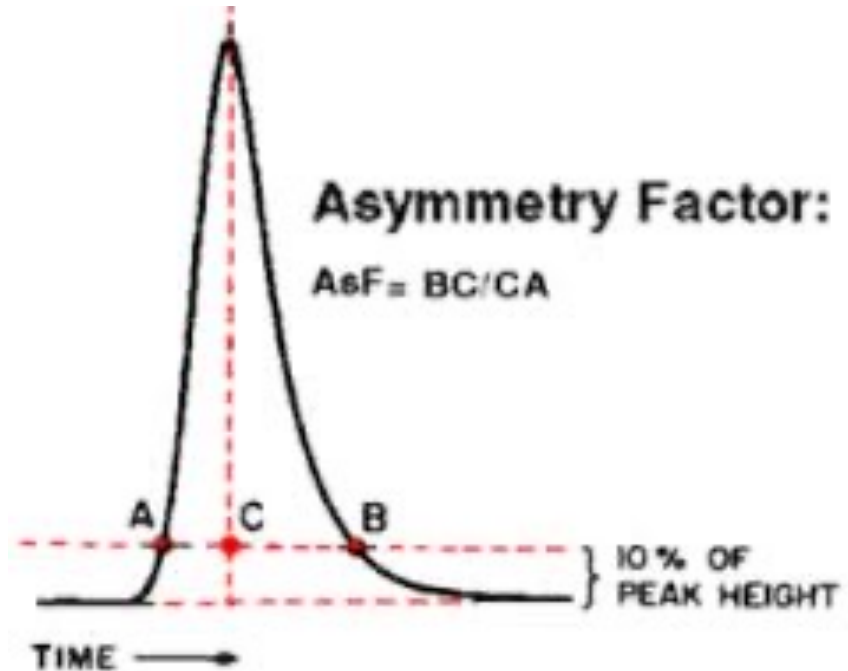
# EPA 8270 – QC – GC Performance

## Controllo della colonna

Si acquisisce uno standard di Pentaclorofenolo e Benzidina e si misura il Tailing Factor (TF) che deve essere minore di 2.



Definizione di USP



Calcolo secondo EPA !!!

Definizione di ASTM e IUPAC



# EPA 8270 – 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 DFTPP in un unico mix (DFTPP+CCV)*

# EPA 8270 – 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  $\pm 10$  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 8270 – 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 8270 – 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 8270 – 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 8270 – 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 8270 – 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 8270 – 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  $R^2 > 0,99$

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

- *RSD < 20%*

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

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



# EPA 8270 – QC – Calibration **NOT PASSED**

## 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 < 10% not passed), per questi ultimi, bisognerà esprimere il risultato in termini di “conc. stimata”.

# EPA 8270 – 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 < 20% not passed), bisognerà esprimere il risultato in termini di “conc. stimata”.

# EPA 8270 – Sequenza analitica

---

1. MS Tune
2. GC Performance (Iniettore + colonna)
3. Calibration
4. CCV
5. Method Blank
6. Campioni
7. LCS/MSD ogni 20 campioni

Ogni 12h è necessario ripetere un MS Tune e CCV

FINE

*Grazie per l'attenzione*

