



Editoriale

In questo numero:

Determinazione dei residui di prodotti fitosanitari in acqua, superficiale e sotterranea, tramite estrazione in fase solida (SPE) e analisi gas cromatografica (parte a) e cromatografia liquida con rivelatore di massa (parte b) **2**

Determinazione di antiparassitari in acque destinate a consumo umano mediante SPME-GC/MS-MS **38**

Determinazione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in acque destinate a consumo umano mediante SPME-GC/MS-MS **48**

News:

Linee guida per la valutazione delle tendenze ascendenti e d'inversione degli inquinanti nelle acque sotterranee (D.M. 6 luglio 2016) **55**

Progetto FRAME—JPI Water dell'UE, sul riutilizzo indiretto delle acque reflue a scopo potabile **57**

In memoriam:

Un ricordo di Valter Tandoi (18 giugno 2018). **60**

Questo primo numero del 2018 del Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News è interamente dedicato a metodi analitici per la determinazione di microinquinanti organici. Nella prima sezione, infatti, sono riportati tre metodiche che fanno uso delle più moderne tecniche analitiche strumentali per l'analisi di alcune categorie di tali inquinanti. La prima metodica riguarda la determinazione dei residui di prodotti fitosanitari in due matrici acquose, superficiale e sotterranea, mediante estrazione in fase solida (SPE) ed analisi sia in gas cromatografia che in cromatografia liquida con rivelatore di massa a triplo quadrupolo e ad alta risoluzione. Il secondo ed il terzo metodo riguardano l'utilizzo di una tecnica di pre-concentrazione, la microestrazione in fase solida (SPME), che si sta sempre più affermando in campo ambientale per la possibilità di essere automatizzata nelle moderne strumentazioni analitiche e per le sue elevate prestazioni analitiche in termini di limiti di rilevabilità. In particolare, la seconda metodica riguarda la determinazione di antiparassitari in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica SPME accoppiata a gas cromatografia con rivelatore di massa a triplo quadrupolo. I primi due metodi analitici, che prevedono l'analisi della stessa categoria di microinquinanti, pertanto, possono essere direttamente confrontati dall'utilizzatore finale in termini di facilità d'uso, di robustezza e di limiti di quantificazione. Il terzo metodo riguarda l'impiego della stessa tecnica analitica della metodica precedente, la SPME/GC-MS-MS, per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici in acque destinate al consumo umano.

Nella seconda sezione (News) trovano spazio la presentazione delle linee guida per la valutazione delle tendenze ascendenti e d'inversione degli inquinanti nelle acque sotterranee (D.M. 6 Luglio 2016) ed una breve panoramica relativa ai risultati ottenuti nell'ambito del Progetto, recentemente concluso, "a novel FRamework to Assess and Manage contaminants of Emerging concern in indirect potable reuse" (FRAME), centrato sul riutilizzo indiretto delle acque reflue a scopo potabile e finanziato dalla Comunità Europea nell'ambito della Water Joint Programming Initiative (JPI) "Water challenges for a changing world".

Giuseppe Mascolo
Direttore del Notiziario

Determinazione dei residui di prodotti fitosanitari in acqua, superficiale e sotterranea, tramite estrazione in fase solida (SPE) e analisi gas cromatografica (parte a) e cromatografia liquida con rivelatore di massa (parte b)

a cura di

Marco Morelli (*), ARPAE - Sede Secondaria Laboratorio Multisito, Sezione di Ferrara

Lucia Antoci, Arpa Sicilia - Struttura territoriale di Ragusa

Giusy Mariotti, ARPAM - Dipartimento di Macerata

Michele Mazzetti, Arpa Toscana - Dipartimento di Livorno

Stefano Della Sala, Tommaso Foccardi, Gruppo Veritas

RIASSUNTO

Il presente metodo di prova è applicabile ai residui di tutte le sostanze attive e relativi metaboliti, analizzabili con tecnica multiresiduale nei campioni di acque superficiali, sotterranee e di scarico.

Dopo che tali sostanze sono state estratte dall'acqua, con tecnica di estrazione in fase solida (SPE) con cartucce (tipo C8 e tipo C18), resine stirene divinilbenzene, con cartucce di carbone grafitato e nel caso della LC per iniezione diretta o per arricchimento on-line (tipo C8 e tipo C18), si può procedere con l'identificazione e la quantificazione tramite tecnica gascromatografica (parte A) accoppiata con i seguenti rivelatori (GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, ecc.), e con la cromatografia liquida (parte B) accoppiata al rivelatore di massa (LC-MS/MS, HRMS; ecc.).

SUMMARY

This method of analysis is applicable to the residues of all active substances and their metabolites, which can be analyzed by multi-residue technique in surface, underground and exhaust water samples.

After these substances have been extracted from water with solid phase extraction technique (SPE) with cartridges (type C8 and type C18), divinylbenzene styrene resins, graphite charcoal cartridges and LC direct injection or on-line enrichment (type C8 and type C18) can be identified and quantified by the chromatographic technique (part A) coupled to the following detectors (GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, etc.), and liquid chromatography (part B) coupled to a mass detector (LC-MS/MS, HRMS, etc.).

INTRODUZIONE

I prodotti fitosanitari (erbicidi, insetticidi, acaricidi, fungicidi ecc.) sono le sostanze attive o i preparati contenenti una o più sostanze utilizzate per la lotta contro i parassiti delle piante e nel controllo delle infestanti nella pratica agronomica.

I residui di questi prodotti (le sostanze attive e i loro eventuali prodotti di degradazione) possono inquinare le acque superficiali e sotterranee in relazione alla loro solubilità, mobilità nel terreno e persistenza.

Alcune sostanze attive presenti nei prodotti fitosanitari, possono essere utilizzate come biocidi ovvero impiegate per eliminare un qualsiasi organismo nocivo per l'uomo, per le sue attività, per i prodotti che l'uomo impiega o produce, per gli animali o per l'ambiente, rendendoli innocui, impedendone l'azione o esercitando un qualsiasi altro effetto, con mezzi chimici o biologici.

La presenza di tali sostanze o loro metaboliti nelle acque può essere dovuta all'utilizzo delle sostanze attive, sia come prodotti fitosanitari, sia come biocidi.

1. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo di prova, applicabile a tutte le sostanze atti-

ve analizzabili con tecnica multiresiduale, si basa sulla determinazione gascromatografia con rivelatori selettivi (GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, ecc.), parte A, e cromatografia liquida con rivelatore di massa (LC-MS/MS, HRMS; ecc.) parte B, delle sostanze attive, dopo che queste sono state estratte dall'acqua con tecnica di estrazione in fase solida (SPE) con cartucce (tipo C8 e tipo C18), resine stirene divinilbenzene, con cartucce di carbone grafitato e nel caso della LC per iniezione diretta o per arricchimento on-line (tipo C8 e tipo C18), delle sostanze attive

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo di prova è applicabile ad un elevato numero di residui di sostanze attive contenute nelle acque di scarico, superficiali e sotterranee.

In funzione delle tecniche strumentali, e quindi della differente sensibilità intrinseca, è possibile monitorare i residui in un ampio intervallo di concentrazione. A partire da una concentrazione di 0,01 µg/L (per molte sostanze attive il valore coincide con il limite di quantificazione), il metodo di prova consente determinazioni quantitative con accuratezza e precisione compatibili con le caratteristiche di prestazione richieste dalla normativa.

In allegato 1 è riportato un elenco indicativo, non

* marcomorelli@arpae.it

esaustivo, di sostanze attive che possono essere determinate, con il presente metodo di prova, sia in gascromatografia (GC), con rivelatori tradizionali (ECD, NPD), che in gascromatografia abbinata alla spettrometria di massa (GC/MS). Il numero CAS (Chemical Abstract Service), la sensibilità ai rivelatori selettivi e gli ioni più significativi per l'analisi in spettrometria di massa completano l'allegato 1.

In allegato 2 è riportato un elenco indicativo, non esaustivo, di sostanze attive con l'indicazione delle transizioni ioniche che possono essere determinate, con il presente metodo di prova, in cromatografia gassosa abbinata alla spettrometria di massa tandem (GC-MS/MS).

In allegato 3 è riportato un elenco indicativo, non esaustivo, di sostanze attive con l'indicazione delle transizioni ioniche che possono essere determinate, con il presente metodo di prova, in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa (LC-MS/MS).

In allegato 11 è riportato un elenco indicativo, non esaustivo, di sostanze attive che possono essere determinate, con il presente metodo di prova, in cromatografia liquida abbinata all'alta risoluzione (HRMS).

3. REAGENTI E MATERIALI DI RIFERIMENTO

- 3.1 Acqua milliQ
- 3.2 Etil acetato
- 3.3 Metanolo
- 3.4 Sodio solfato anidro, preferibilmente granulare
- 3.5 Terra di diatomee
- 3.6 Acetone
- 3.7 Acetonitrile
- 3.8 Isoottano
- 3.9 Acido formico
- 3.10 Acetato d'ammonio
- 3.11 Formiato d'ammonio
- 3.12 Acido cloridrico
- 3.13 Acido acetico
- 3.14 Etanolo
- 3.15 Cloruro di metilene
- 3.16 Toluene

4. ANALITI

4.1 Soluzioni di materiali di riferimento

Il laboratorio deve disporre di materiali di riferimento delle sostanze attive nel loro stato fisico originale o in soluzione, per singolo composto o in miscela, a titolo noto di elevata purezza e certificato.

Per motivi di sicurezza e a causa dell'elevato numero di variabili che entrano in gioco durante la preparazione di una soluzione primaria si ritiene preferibile l'acquisto e l'utilizzo di soluzioni certificate a titolo noto (100-2000 µg/mL).

Tuttavia, le soluzioni dei materiali di riferimento possono essere preparate sciogliendo il composto, adeguatamente conservato, preferibilmente in congelato-

re (T: -20 ± 5 °C) in un solvente organico appropriato (es.: acetone, metanolo, ecc.) tenendo conto della solubilità degli analiti. Per la preparazione delle soluzioni primarie si pesano, in genere, almeno 10 mg di composto.

Le soluzioni primarie concentrate (circa 500-1000 µg/mL) delle sostanze attive sono stabili in linea generale per molti mesi (orientativamente 12-36 mesi) se conservate in congelatore (T: -20 ± 5 °C) se tenute al riparo della luce e in contenitori di vetro ben chiusi per evitare perdite per evaporazione.

Le soluzioni secondarie diluite (circa 10 µg/mL) hanno in genere un periodo di stabilità più breve (orientativamente 3-12 mesi) se conservate a bassa temperatura (solitamente in frigorifero: T: 1 ± 10 °C).

Le soluzioni diluite (di lavoro) dei materiali di riferimento (concentrazione ≤ 1 µg/mL), devono essere indicativamente preparate con frequenza adeguata alla loro stabilità (orientativamente 1-2 mesi) se conservate a bassa temperatura (solitamente in frigorifero, T: 1 ± 10 °C).

Le miscele di più sostanze possono essere meno stabili delle soluzioni dei singoli analiti.

4.2 Standard interno (internal standard)

Lo standard interno è un particolare analita aggiunto all'estratto finale prima della determinazione strumentale; deve avere elevata stabilità, non deve avere reattività con le sostanze attive da determinare, deve essere sensibile ai detector utilizzati, avere un tempo di ritenzione intermedio ai composti da determinare e, nel caso di rivelatori diversi dagli spettrometri di massa, deve essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze attive da determinare.

L'aggiunta di standard interno alla soluzione, prima dell'iniezione nel sistema cromatografico, rende indipendenti dal conoscere esattamente il volume finale e il volume iniettato.

Si riporta, quale esempio, l'indicazione di alcune sostanze da utilizzare come standard interno:

- Trifenilfosfato
- Etion
- Composti isotopicamente arricchiti di adeguata purezza

4.3 Standard di processo

Lo standard di processo è un particolare analita che può essere aggiunto al campione prima dell'estrazione; serve per segnalare la presenza di possibili errori verificatisi durante l'intera procedura analitica. Non deve essere una sostanza attiva presente nei campioni reali, deve avere un comportamento chimico analogo alle sostanze attive da determinare, deve avere elevata stabilità, non deve possedere reattività con le sostanze attive da determinare, deve essere sensibile ai detector utilizzati e, nel caso di rivelatori diversi dai rivelatori a selezione di massa, deve essere risolto gascromatograficamente rispetto alle sostanze attive da quantificare.

Si riporta, quale esempio, l'indicazione di alcune sostanze da utilizzare come surrogato:

- Trifenilfosfato
- Etion
- Composti isotopicamente arricchiti di adeguata purezza

Nel caso di composti non isotopicamente arricchiti, le sostanze impiegate come standard interno devono differire da quelle utilizzate come standard di processo.

4.4 Soluzione per il controllo della performance strumentale

Allo scopo di verificare la performance strumentale, possono essere preparate soluzioni di varie sostanze attive a concentrazione nota, scelte in modo opportuno, ad esempio fra quelle riscontrate più frequentemente e fra quelle analiticamente più critiche.

L'iniezione di questa soluzione consente di verificare il buon funzionamento e il grado di prestazione analitica dell'apparecchiatura come ad esempio: la sensibilità, la risoluzione, la linearità, la reattività (attivazione iniettore o colonna).

5. APPARECCHIATURE

- 5.1 Normale attrezzatura e vetreria di laboratorio.
- 5.2 Dispositivo per l'aspirazione sottovuoto di cartucce SPE (es.: VacElut 20 Manifold)
- 5.3 Dispositivo per l'evaporazione in corrente di azoto (es.: Turbovap LV)
- 5.4 Pompa da vuoto
- 5.5 Evaporatore rotante o centrifugo o equivalente
- 5.6 Bilancia analitica di precisione
- 5.7 Strumenti analitici e accessori:
 - 5.7.1 Gascromatografo interfacciato con rivelatori a selezione di massa
 - 5.7.2 Colonne gascromatografiche: colonne capillari in silice fusa di lunghezza 25-30 m, diametro interno 0,10-0,25 mm, spessore film della fase stazionaria 0,10-0,25 μm , con fasi stazionarie quali ad esempio: metilsilicone con 5% fenilsilicone; altre fasi stazionarie a diversa polarità, impiegabili per la conferma, quali ad esempio: metilsilicone con 50% fenilsilicone
 - 5.7.3 Cromatografo liquido interfacciato a rivelatori a selezione di massa
 - 5.7.4 Colonne per cromatografia liquida idonee per l'utilizzo con rivelatori a selezione di massa
- 5.8 Filtri con porosità di 0,45 μm e 0,2 μm (es.: filtri di vetro o di estere di cellulosa o cellulosa rigenerata)

- 5.9 Cartucce SPE per estrazione in fase solida (esempio: C18 o polimeriche o carbone grafitizzato)
- 5.10 Colonne per arricchimento in linea (SPE on-line)
- 5.11 Micropipette
- 5.12 pH-metro
- 5.13 Sistemi automatici o semiautomatici di estrazione del campioni

6. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni vengono prelevati in recipienti di vetro o bottiglie monouso di materiale plastico (es.: PET, ecc).

Durante il trasporto:

- fra il punto di prelievo ed il laboratorio: si devono adottare accorgimenti (es.: piastre eutettiche, frigorifero portatile, ecc.) atti ad instaurare un ambiente refrigerato.
- per il trasporto anche verso un altro laboratorio: la temperatura deve essere mantenuta fra +1 e +10 °C.

In laboratorio, i campioni vanno conservati in frigorifero ad una temperatura di refrigerazione compresa nell'intervallo tra +1 e +10 °C, fino al momento dell'analisi.

Si consiglia la tracciabilità delle temperature: dal campionamento, durante il trasporto, sino alla consegna in laboratorio ed all'interno della struttura analitica.

Con i contenitori indicati e con le modalità di conservazione riportate la stabilità degli analiti è per almeno 15 giorni. Il valore si riferisce a periodi di conservazione per i quali è stato verificato che l'analita si mantiene sostanzialmente stabile.

7. INTERFERENZE E CAUSE DI ERRORI

Le maggiori fonti di contaminazione ed interferenze possono derivare dai solventi, dai reagenti, dalla vetreria e dai materiali plastici utilizzati, dalle stesse cartucce o dischi di estrazione in fase solida.

Si raccomanda pertanto l'adozione di particolari precauzioni finalizzate a ridurre questi inconvenienti.

Se si fa uso di *vials* per autocampionatore si raccomandano tappi con setto a doppio strato silicone-teflon o con solo teflon; una volta forato il setto, è raccomandata la sua sostituzione, se il campione dovesse essere conservato per successive analisi.

Tutta la vetreria utilizzata per l'analisi ed il prelievo deve essere meticolosamente lavata con detergenti per vetreria, risciacquata con acqua ultrapura esente da tracce dell'analita.

I gas utilizzati per la cromatografia, liquida e gassosa, e l'azoto utilizzato per l'eventuale evaporazione degli estratti, devono essere esenti o a bassissimo tenore di ossigeno, umidità e composti organici volatili.

I solventi e gli altri reagenti devono essere di grado di purezza per l'analisi dei residui.

Deve essere condotta una analisi dei bianchi per avere informazioni sulla presenza di eventuali contaminanti o interferenti.

8. ANALISI

8.1 PARTE A - Estrazione delle sostanze attive e determinazione in gascromatografia (GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, ecc.)

8.1.1 Procedura estrattiva

La procedura di estrazione su cartuccia SPE è la seguente: il campione di acqua (500 mL), eventualmente filtrato con l'ausilio di supporti in linea con il substrato adsorbente quale ad esempio fibra di vetro in polvere, in modo da permettere il passaggio finale dell'eluente, viene addizionato di metanolo (0,5 mL ogni 100 mL di acqua) e dell'eventuale standard di processo (4.3).

La soluzione così ottenuta viene processata attraverso una cartuccia SPE (5.9) precedentemente condizionata ad esempio nel caso di colonne C18: velocità di circa 500 mL/ora, ed in successione, 5 mL di etile acetato (p.to 3.2), 5 mL di metanolo (p.to 3.3), 10 mL di acqua (3.1), lasciando un battente di alcuni mm.

Dopo il completo passaggio del campione (500 mL), il suo contenitore viene lavato con adeguati volumi di acqua (3.1) (ad. es.: 2 volte per 10 mL) e successivamente passati in cartuccia per favorire il recupero quantitativo del campione; l'acqua residua nella cartuccia viene eliminata mediante aspirazione o passaggio di azoto.

La cartuccia viene eluita con 5 mL di etile acetato (3.2). L'eluato può essere anidrificato ponendo in serie alla cartuccia SPE una cartuccia contenente sodio solfato anidro (3.4) o terra di diatomee (3.5); in questo caso sarà necessario un volume di etile acetato (3.2) di circa 10 mL.

L'eluato raccolto viene evaporato cautamente fino a secchezza o portato a piccolo volume con flusso di azoto.

Per evitare la perdita per evaporazione di sostanze attive con elevati valori di tensione di vapore, è consigliabile addizionare all'eluato un piccolo volume di solvente keeper (es.: isotano (3.8)), prima di procedere all'evaporazione.

Il residuo viene ricostituito con un volume minimo di solvente adeguato (es.: 500 µL di isotano, ecc.) per l'analisi strumentale unendo eventualmente lo standard interno (4.2), raggiungendo indicativamente un fattore di concentrazione di almeno mille (1000).

8.1.2 Identificazione in gascromatografia (es.: GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, ecc.)

La tecnica di analisi è la gascromatografia capillare con rivelatori a spettrometria di massa (es.: GC-MS, GC-MS/MS, HRMS, ecc.)

In allegato 5 si riportano, a titolo di esempio, le condizioni strumentali in gas massa per l'analisi delle sostanze riportate in allegato 1.

Negli allegati 1 e 2, per ogni sostanza sono indicati gli ioni più significativi per l'analisi mediante spettrometria di massa.

Prima dell'uso, ogni apparecchiatura deve essere opportunamente tarata o soggetta ad un controllo della taratura.

Particolari accorgimenti consentono di prolungare e mantenere costante l'efficienza analitica degli strumenti: uso di pre-colonne, uso di setti a basso spurgo, periodica pulizia dei rivelatori e delle sorgenti, filtrazione dei gas di trasporto, ecc.

Nell'allegato 9 si riporta, a titolo di esempio, un'applicazione del metodo mediante l'impiego della GC-MS/MS.

8.2 PARTE B - Estrazione delle sostanze attive e determinazione in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa (LC-MS, LC-MS/MS, HRMS, ecc.)

8.2.1 Parte estrattiva con SPE off-line

Nel caso di estrazione con cartuccia: il campione di acqua (500 mL), eventualmente filtrato sotto vuoto su filtro in fibra di vetro e/o in esteri di cellulosa (5.8), viene addizionato di 0,5 mL ogni 100 mL di acqua di metanolo (3.3) ed eventualmente con lo standard di processo (4.3).

In aggiunta, per le sostanze attive acide, quali i diserbanti (es.: Bentazone, 2,4 D, MCPA, MCPP, Dicamba, ecc.) è necessaria una apposita estrazione con preventiva acidificazione del campione fino a pH 2 con acido cloridrico (3.12), diluito 1:1 (ad ogni litro di acqua aggiungere circa 2-3 mL di acido cloridrico).

Il campione preparato viene caricato su una cartuccia SPE (p.to 5.9) precedentemente condizionata per passaggio con velocità di circa 500 mL/ora ed in successione: 5 mL di etile acetato (p.to 3.2), 5 mL di metanolo (p.to 3.3), 10 mL di acqua (p.to 3.1), lasciando un battente di alcuni mm.

Dopo il completo passaggio del campione, la cartuccia viene lavata con acqua (3.1) (ad. es.: 2 volte per 10 mL per favorire il recupero quantitativo del campione; la maggior parte dell'acqua residua viene eliminata mediante aspirazione o meglio per passaggio di azoto.

La cartuccia viene eluita con 5 mL di etile acetato (3.2) o metanolo (3.3).

L'eluato raccolto viene evaporato cautamente a secchezza o a piccolo volume in corrente di azoto.

Il residuo viene ricostituito con un volume minimo (es. 500 µL di fase mobile) eventualmente contenente lo standard interno (4.2) raggiungendo indicativamente un fattore di concentrazione di almeno mille (1000).

8.2.2 Parte estrattiva con SPE on-line

E' possibile utilizzare sistemi automatici on-line che abbinano la tecnica di estrazione SPE alla misura strumentale in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa.

In generale tali sistemi prevedono le seguenti fasi:

- condizionamento della colonna di arricchimento 5.10;
- caricamento sulla colonna di arricchimento di un volume adeguato di campione (orientativamente da 0,5 - 5,0 mL) in relazione alla sensibilità della strumentazione ed alla performance richiesta;
- eluizione nella colonna analitica, in contro flusso, con la fase mobile utilizzata nella analisi cromatografica;
- lavaggio e condizionamento della colonna di arricchimento

8.2.3 Iniezione diretta

E' possibile utilizzare l'iniezione diretta del campione, eventualmente filtrato su filtro di vetro o su esteri di cellulosa, senza estrazione e concentrazione.

Tale tecnica trova applicazione qualora si disponga di una strumentazione (es.: LC-MS/MS o alta risoluzione (HRMS)) che raggiunga i livelli di prestazione richiesti dalla normativa.

A differenza di quanto riportato al punto 8.2.1 l'analisi dei diserbanti acidi (es.: Bentazone, 2,4 D, MCPA, MCPP, Dicamba, ecc.) viene condotta, come per gli altri analiti, senza alcuna acidificazione preventiva del campione.

Negli allegati 7, 8 e 10 si riportano, a titolo di esempio, applicazioni del metodo in iniezione diretta.

8.2.4 Identificazione e dosaggio delle sostanze attive in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa (es.: LC-MS, LC-MS/MS, HRMS)

La soluzione ricostruita dell'estratto di cui al p.to 8.2.1 viene analizzata in cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa.

In allegato 6 si riportano le condizioni strumentali in liquido massa per l'analisi delle sostanze riportate in allegato 3. Nel medesimo allegato per ogni sostanza attiva sono riportate le transizioni ioniche per la MS/MS.

Si fa presente che le transizioni descritte derivano dalle esperienze dirette adottate dai laboratori.

Sul sito internet:

<http://www.eurl-pesticides-test.eu/default.aspx?ziel=html/en/downloads2.htm>

sono riportate le transizioni MS/MS riconosciute a livello europeo.

L'utilizzo del HRMS in modalità "full-scan" totale, è consigliato solo per scopi di "screening", dedi-

cando alla eventuale conferma degli analiti, con tale tecnica, l'utilizzo di materiali di riferimento isotopicamente arricchiti, una attenta valutazione dei tempi di ritenzione e un corretto esame dello spettro di massa.

Prima dell'uso, ogni apparecchiatura deve essere opportunamente tarata o soggetta ad un controllo della taratura.

Negli allegati 7, 10 e 8 si riportano, a titolo di esempio, applicazioni del metodo rispettivamente mediante l'impiego della LC-MS/MS e HRMS.

9. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO

9.1 Analisi qualitativa

L'analisi viene effettuata con gascromatografi dotati dei rivelatori indicati al punto 5.7.1 oppure con cromatografi liquidi indicati al punto 5.7.3.

L'identificazione degli analiti avviene utilizzando diversi approcci, alcuni più immediati ed applicabili con tutti i rivelatori, altri più complessi. In ogni caso viene condotta per confronto con l'iniezione di una miscela di standard di riferimento, utilizzando diversi criteri.

Il Tempo di ritenzione (Tr) costituisce il criterio più semplice di riconoscimento dell'analita nel campione. Infatti il Tr deve corrispondere a quello dello standard di taratura all'interno di una determinata finestra dopo aver preso in considerazione il potere di risoluzione del sistema cromatografico, a parità di condizioni cromatografiche.

Tuttavia poiché il Tr può avere delle piccole variazioni nelle diverse corse cromatografiche, si consiglia di utilizzare il Tempo di ritenzione relativo, cioè il rapporto tra il tempo di ritenzione dell'analita e quello di un opportuno standard interno.

Il tempo di ritenzione corrisponde a quello medio degli standards con una tolleranza di $\pm 0,1$ min.

Con un rivelatore di massa si ha la conferma dell'identificazione dell'analita tramite i seguenti criteri:

- presenza di ioni specifici (es.: almeno 2 con MS/MS e almeno 3 per acquisizione in full-scan a risoluzione unitaria, ecc.);
- verifica del rapporto tra le intensità degli ioni specifici dell'analita riscontrati nel campione e quelle dell'analita nella miscela standard di riferimento (o in un campione addizionato ad una concentrazione comparabile) e misurati nelle stesse condizioni. Le tolleranze per i due rapporti devono essere in accordo con quelle della tabella 1.

Altra tecnica di identificazione è il metodo delle aggiunte: si basa sull'arricchimento del campione con una piccola quantità di sostanza attiva nota, della quale si vuole escludere o meno la presenza, utilizzando lo spettrometro di massa ad alta risoluzione si deve rilevare la presenza degli analiti ed i relativi frammenti con risoluzione di almeno 5 ppm e 4 cifre decimali

Tabella 1. Tolleranze massime consentite per intensità di ioni relative utilizzando una gamma di tecniche di spettrometria di massa (*)

Rapporto ionico Meno intenso/ più intenso	EI-GC-MS (relativa)	CI-GC-MS, GC-MS ⁿ , LC-MS, LC-MS ⁿ (relativa)
0,5-1,0	± 10%	± 30%
0,2-0,5	± 15%	± 30%
0,1-0,2	± 20%	± 30%
≤ 0,10	± 50%	± 30%

(*) *Decisione della Commissione del 12 agosto 2002, paragrafo 2.3.3.2, Rilevazione con tecniche di spettrometria di massa*

9.2 Analisi quantitativa

L'analisi quantitativa si basa sul confronto delle aree dei picchi di un composto presente in un campione con quelle di uno o più standard.

Ogni analita viene dosato quantitativamente in base al valore dell'area o dell'area relativa (rapporto fra quella del picco d'interesse e quella dello standard interno).

Per ogni analita da quantificare vengono preparate delle soluzioni di taratura a concentrazione nota, ottenendo così una relazione che correla le aree con la quantità introdotta.

La taratura può essere effettuata su un unico livello, ad una concentrazione molto vicina a quella degli analiti da determinare quantitativamente oppure costruendo una curva di taratura multilivello (almeno 5 punti).

I campioni in cui la concentrazione eccede il limite superiore della curva devono essere nuovamente analizzati dopo averli riportati entro l'intervallo di taratura, tramite diluizione del campione o per iniezione di un volume inferiore.

9.3 Espressione dei risultati

I risultati sono espressi in µg/L con due cifre significative per concentrazioni ≥ 0,10 µg/L (es.: 0,13; 0,22) e con una cifra significativa per valori < 0,10 µg/L (es.: 0,01; 0,09).

Nel caso in cui si deve esprimere l'incertezza di misura per la concentrazione di 0,01 µg/L le cifre significative da utilizzare sono due per avere un dato espresso con un numero di decimali coerente con l'incertezza di misura (0,010 ± 0,004 µg/L).

9.4 Incertezza di misura

L'incertezza di misura è il parametro che caratterizza la dispersione dei valori che potrebbe essere attribuita ragionevolmente al misurando.

L'incertezza di misura è parte integrante del risultato e si esprime con le stesse unità di misura del risultato.

L'incertezza di misura viene stimata secondo i criteri: ISO/TS 13530:2009, metodo olistico e metodo metrologico.

Per la stima dell'incertezza estesa con il metodo di Horwitz/Thompson, seppur applicabile (4), se ne consiglia un impiego limitato e comunque dopo aver verificato la compatibilità statistica fra gli scarti tipo del metodo di prova e quello di Horwitz/Thompson.

Per le finalità di applicazione del metodo si ritiene che l'incertezza valutata attraverso il metodo olistico o le indicazioni di cui alla ISO 13530:2009 siano da preferirsi.

9.5 Controllo di qualità

9.5.1 Intralaboratorio

Ha lo scopo di valutare il comportamento della precisione e dell'accuratezza, e quindi di valutare l'attendibilità dei risultati analitici di una serie di campioni.

In altre parole, il controllo di qualità intralaboratorio consente il monitoraggio delle prestazioni del metodo di prova nel tempo garantendo il rispetto dei livelli di qualità prestabiliti.

Nell'attuazione di questi controlli di qualità, il laboratorio deve attenersi alle prescrizioni contenute nel sistema di gestione qualità adottato. A titolo di esempio si riportano i seguenti controlli:

- bianco materiali
- bianco di taratura
- campioni di controllo
- analisi in duplicato
- standard di processo
- limite di quantificazione

Ad integrazione dei controlli di qualità riportati, il laboratorio dovrebbe predisporre le carte di controllo e il monitoraggio delle tendenze.

9.5.2 Interlaboratorio

E' opportuno che il laboratorio partecipi ad un programma di controllo di qualità interlaboratorio, in circuiti nazionali o internazionali, per una valutazione dell'efficacia della performance analitica.

Lo scopo è verificare nel tempo la comparabilità dei propri risultati con quelli forniti da laboratori che eseguono lo stesso tipo di prova.

Se i risultati ottenuti non soddisfano i criteri minimi di accettabilità, il laboratorio dovrà adottare le necessarie azioni correttive prima di riprendere il normale ciclo analitico.

Il Laboratorio deve attenersi alla programmazione annuale per i controlli di qualità interlaboratorio prevista dal sistema di qualità.

Si suggerisce infine di raccogliere in carta di controllo e/o monitoraggio delle tendenze i risultati

(4) vedi documenti: Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs, W.Horwitz; A heuristic derivation of the Horwitz curve, R. Albert; W.Horwitz; Recent trends in inter laboratory precision at ppb and sub - ppb concentration in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, M.Thompson; The Horwitz function revisited, M.Thompson, P.J.Lowthian

dei PT, per singola sostanza attiva o attraverso parametri cumulativi.

10. VALIDAZIONE

Negli allegati: 7, 8, 9 e 10 sono riportati esempi di applicazione del metodo di prova in alcuni laboratori con l'impiego di diverse tecnologie di misura. I valori riportati costituiscono indicazione di performance che si possono ottenere applicando il presente metodo di prova.

Prima di eseguire le analisi sui campioni, è necessario che il laboratorio effettui le prove di validazione che attestano l'applicabilità del metodo.

A tale proposito, seguendo le specifiche della ISO/IEC 17025 e del Sistema di Gestione Qualità adottato, il laboratorio dovrà verificare i parametri che caratterizzano le prestazioni del metodo di prova (es.: precisione, esattezza, limite di quantificazione, ecc.).

Relativamente ai dati di precisione ed accuratezza, in allegato 4, si riportano i risultati ottenuti in uno studio collaborativo riguardante l'applicazione del metodo APAT IRSA-CNR 5060 che possiede modalità operative identiche alla Parte A del presente metodo di prova.

11. DEFINIZIONI E ABBREVIAZIONI

GC-MS/MS = *cromatografia gassosa con rivelatore massa/massa*

HPLC = *cromatografia liquida ad alta risoluzione*

HRMS = *rivelazione a spettrometria di massa ad alta risoluzione*

LC-MS = *cromatografia liquida con rivelatore di massa*

LC-MS/MS = *cromatografia liquida con rivelatore massa/massa*

MS = *rivelatore di massa*

MS/MS = *processo di frammentazione ionica sequenziale*

m/z = *rapporto tra la massa molecolare (o atomica) di un dato frammento e la sua carica*

SPE = *estrazione in fase solida*

12. PRECAUZIONI DI SICUREZZA

Negli allegati: 7, 8, 9 e 10 sono riportati esempi di applicazione del metodo di prova in alcuni laboratori con l'impiego di diverse tecnologie di misura. I valori riportati costituiscono indicazione di performance che si può ottenere applicando il presente metodo di prova. Il metodo deve essere preventivamente valutato sotto l'aspetto del rischio di tipo chimico, cancerogeno, fisico e infortunistico.

Le operazioni potenzialmente pericolose dovranno essere segnalate in una procedura interna al laboratorio o in specifiche istruzioni operative.

Il personale addetto alle analisi deve essere messo a conoscenza dei rischi, addestrato e costantemente aggiornato.

Devono essere disponibili e prontamente consultabili le schede di sicurezza di ogni prodotto o reattivo utilizzato in lingua italiana.

I dispositivi individuali di protezione (DPI) come guanti, maschere, occhiali ecc. devono essere presenti sul luogo di lavoro e facilmente accessibili.

Nel metodo qui riportato le operazioni potenzialmente più pericolose per l'operatore riguardano l'uso dei solventi e la manipolazione dei materiali di riferimento o loro soluzioni.

Nella preparazione delle soluzioni primarie devono essere adottate, da parte degli Operatori, tutte le precauzioni previste nei casi di manipolazione di sostanze tossiche o nocive descritte nelle istruzioni operative e nelle schede di sicurezza e indossare, se richiesto, appropriati DPI (guanti, maschere, occhiali).

BIBLIOGRAFIA

ACCREDIA 2014. Guida ACCREDIA - ISS per i laboratori di prova, Il controllo ufficiale e l'autocontrollo dei prodotti alimentari: la scelta dei metodi di prova chimici.

ALBERT R., HORWITZ W. 1997. A heuristic derivation of the Horwitz curve, *Anal. Chem.*, 1997, 69 (4): 89-790

ANPA/ARPA/APPA 2002. Linee Guida per la validazione dei metodi analitici. Gruppo di lavoro ANPA/ARPA/APPA accreditamento e certificazione, 24 giugno 2002.

EURACHEM 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition.

EUROPEAN COMMISSION 2002. Decisione della Commissione del 12 agosto 2002 che attua la direttiva 96/23/CE del Consiglio relativa al rendimento dei metodi analitici e all'interpretazione dei risultati

EUROPEAN COMMISSION 2010. Guidance document on pesticide residue analytical methods, SANCO/825/00 rev. 8.1 del 16/11/2010.

EUROPEAN COMMISSION 2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11945/2015 del 30 novembre 2015.

FEDERAL INSTITUTE FOR RISK ASSESSMENT 2005. Fast multi residue screening of 300 pesticides in drinking water, Study plan. BFR -IX-2005.

HORWITZ W. 1982. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs, *Anal. Chem.*, 1982, 54 (1):67-76

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION 1990. ISO 8466-1:1990 Water quality - Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of per-

formance characteristics -- Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION 2001. ISO 8466-2:2001 Water quality -- Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics -- Part 2: Calibration strategy for non-linear second-order calibration functions

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION 2009. ISO/TS 13530:2009, Water quality - guidance on analytical quality control for chemical and physicochemical water analysis.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION 2013. ISO 7870-2:2013. Control charts -- Part 2: Shewhart control charts

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ 2011. Controllo della qualità interno: manuale per i laboratori di analisi chimiche. Quarta edizione del Nordtest Report TR 569. Traduzione italiana, A cura di M. Patriarca, A. Menditto e P. Stacchini, 2012, x, 46 p., Rapporti ISTISAN 12/29

MENTASTI E., SAINI G. 1990, Analisi chimica cromatografica Piccin Nuova Libreria: Padova.

NORDTEST 2012. Internal Quality Control - Handbook for Chemical laboratories. NT TR 569, Edition 4TH.

THOMPSON M. 2000. Recent trends in inter laboratory precision at ppb and sub-ppb concentration in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, The Analyst 125(3):385-386.

THOMPSON M., LOWTHIAN PJ. 1997. The Horwitz function revisited, Journal of AOAC International 80 (3):676-679.

UNICHIM 2011. Linee guida per la convalida di metodi analitici nei laboratori chimici - Valutazione della precisione (ripetibilità stretta) di un metodo analitico eseguito in un unico laboratorio da un solo operatore su di un unico strumento in un breve intervallo di tempo. Manuale Unichim 179/1, Ed. 2011.

ALLEGATI

Allegato 1, (pag. 10)

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili in GC e GC/MS

Allegato 2, (pag. 13)

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili in GC-MS/MS

Allegato 3, (pag. 19)

Elenco di sostanze attive determinabili in LC-MS/MS

Allegato 4, (pag. 25)

Risultati dello studio collaborativo* - livello di concentrazione 0,1 µg/L - Risultati dello studio collaborativo* - livello di concentrazione 0,5 µg/L

Allegato 5, (pag. 26)

Esempio di condizioni operative in GC-MS

Allegato 6, (pag. 27)

Esempio di condizioni operative in LC-MS/MS

Allegato 7, (pag. 28)

Parte B: LC-MS/MS mod. 5500 ABSciex, iniezione diretta

Allegato 8, (pag. 32)

Parte B: LC-MS/MS mod. Waters Xevo TQ-S iniezione diretta

Allegato 9, (pag. 35)

Parte A: GC-MS-MS, SPE Offline

Allegato 10, (pag. 36)

Parte B: Detector di massa ad alta risoluzione Orbitrap Q-Exactive Focus abbinato al UHPLC Thermo Ultimate 3000, iniezione diretta

Allegato 11, (pag. 37)

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili cromatografia liquida abbinata alla HRMS

Allegato 1

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili in GC e GC/MS

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni MS			
Alaclor	15972-60-8	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	269	X	X	160	188	146	238
Aldrin	309-00-2	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	362	O	X	66	261	263	265
Alfamecina	67375-30-8	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	415	X	X	163	165	181	209
Ametrina	834-12-8	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	227	X	O	227	212	170	185
Atrazina	1912-24-9	C ₈ H ₁₄ CIN ₅	215	X	X	200	202	215	217
Azinfos-Etile	2642-71-9	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS ₂	345	X	X	132	160	77	105
Azinfos-Metile	86-50-0	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317	X	X	77	160	132	105
Benalaxil	71626-11-4	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325	X	O	148	206	204	176
Benfluralin	1861-40-1	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	335	X	X	292	264	145	318
Benzoilprop Etile	22212-55-1	C ₁₈ H ₁₇ Cl ₂ NO ₃	365	X	X	105	77	292	
Bitertanolo	55179-31-2	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	337	X	X	170	168	171	112
Boscalid	188425-85-6	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	343	X	X	140	342	142	344
Bromofos-Etile	4824-78-6	C ₁₀ H ₁₂ BrCl ₂ O ₃ PS	392	X	X	357	359	301	303
Bromofos-Metile	2104-96-3	C ₈ H ₈ BrCl ₂ O ₃ PS	364	X	X	329	331	333	125
Bromopropilato	18181-80-1	C ₁₇ H ₁₆ Br ₂ O ₃	426	O	X	339	341	183	185
Bupirimate	41483-43-6	C ₁₃ H ₂ N ₄ O ₃ S	316	X	X	273	208	316	166
Carbofenotioin	786-19-6	C ₁₁ H ₁₆ ClO ₂ PS ₃	342	X	X	157	159	121	153
Carbofuran	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221	X	X	164	149	122	121
Cianazina	21725-46-2	C ₉ H ₁₃ CIN ₆	240	X	X	225	227	172	198
Cicloate	1134-23-2	C ₁₁ H ₂₁ NOS	215	X	O	83	154	215	
Clorfenson	80-33-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ O ₃ S	302	O	X	175	177	111	113
Clorfenvinfos	470-90-6	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	358	X	X	267	269	323	325
Clorotalonil	1897-45-6	C ₈ Cl ₄ N ₂	264	X	X	264	266	268	133
Clorpirifos	2921-88-2	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	349	X	X	197	199	314	316
Clorpirifos-Metile	5598-13-0	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	321	X	X	286	288	125	109
Clorprofam	101-21-3	C ₁₀ H ₁₂ CINO ₂	213	X	X	127	129	213	215
Clortal Dimetile	1861-32-1	C ₁₀ H ₆ Cl ₄ O ₄	330	O	X	299	301	303	332
Clortoluron	15545-48-9	C ₁₀ H ₁₃ CIN ₂ O	212	X	X	72	212	214	
Cyproconazolo	94361-06-5	C ₁₅ H ₁₈ CIN ₃ O	292	X	X	222	139	224	125
Cyprodinil	121552-61-2	C ₁₄ H ₁₅ N ₃	225	X	O	224	225	210	226
DDD, op	53-19-0	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	318	O	X	235	237	165	199
DDD, pp	72-54-8	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	318	O	X	235	237	165	199
DDE, op	3424-82-6	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	316	O	X	246	248	316	318
DDE, pp	72-55-9	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	316	O	X	246	248	316	318
DDT, op	784-02-6	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	352	O	X	235	237	165	199
DDT, pp	50-29-3	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	352	O	X	235	237	165	199
Diazinone	333-41-5	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304	X	X	179	137	152	304
Diclobenil	1194-65-6	C ₇ H ₃ Cl ₂ N	171	X	X	171	173	100	136
Diclofluanide	1085-98-9	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂	332	X	X	123	167	224	226
Dieldrin	60-57-1	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	378	O	X	79	263	277	237
Difenoconazole	119446-68-3	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	406	X	X	323	265	325	267
Dimetaclor	50563-36-5	C ₁₃ H ₁₈ CINO ₂	255	X	X	134	197	199	
Dimethomorph	110488-70-5	C ₂₁ H ₂₂ CINO ₄	388	X	X	301	387	303	165
Dinitramina	29091-05-2	C ₁₁ H ₁₃ F ₃ N ₄ O ₄	322	X	X	305	307	261	232
Endosulfan Alfa	959-98-7	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	404	O	X	195	237	239	241
Endosulfan Beta	33213-65-3	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	404	O	X	195	237	239	241
Endosulfan Solfato	1031-07-8	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	420	O	X	270	272	274	237
Endrin	72-20-8	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	378	O	X	261	263	265	243
Eptacloro	76-44-8	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	370	O	X	100	270	272	274
Eptenofos	23560-59-0	C ₉ H ₁₂ ClO ₄ P	250	X	X	124	126	89	215
Esaconazolo	79983-71-4	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	313	X	X	83	214	216	231
Etion	563-12-2	C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄	384	X	X	97	231	153	125
Etoprofos	13194-48-4	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	242	X	X	158	97	126	200

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni MS			
Fenamidone	161326-34-7	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	311	X	X	238	268	237	206
Fenamifos	22224-92-6	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	303	X	O	154	303	217	260
Fenarimol	60168-88-9	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	330	X	X	139	141	251	253
Fenclofos	299-84-3	C ₈ H ₈ Cl ₃ O ₃ PS	320	X	X	285	287	125	109
Fenhexamid	126833-17-8	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ NO ₂	302	X	X	97	177	55	179
Fenitroton	122-14-5	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	277	X	X	125	109	277	260
Fenson	80-38-6	C ₁₂ H ₉ ClO ₃ S	268	O	X	77	141	268	270
Fention	55-38-9	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	278	X	O	278	125	109	169
Fentoato	254642	C ₁₂ H ₁₇ O ₄ PS ₂	320	X	X	274	125	121	93
Fipronil	120068-37-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	437	X	X	367	369	213	368
Flamprop Isopropile	52756-22-6	C ₁₉ H ₁₉ ClFNO ₃	363	X	X	105	77	276	
Fludioxonil	131341-86-1	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	248	X	X	248	127	154	182
Fluopicolide	239110-15-7	C ₁₄ H ₈ Cl ₃ F ₃ N ₂ O	384	X	X	347	349	209	173
Fluquinconazole	136426-54-5	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ FN ₅ O	376	X	X	340	207	342	108
Flusilazolo	85509-19-9	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₃ Si	315	X	X	233	206	234	315
Fluvalinate	69409-94-5	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃	502	X	X	250	252	209	181
Forate	298-02-2	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	260	X	X	75	121	97	93
Fosalone	2310-17-0	C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂	367	X	X	182	184	121	97
Fosfamidone	13171-21-6	C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P	299	X	X	127	264	72	138
Fosmet	732-11-6	C ₁₁ H ₁₂ NO ₄ PS ₂	317	X	X	160	161	104	76
Furalaxil	57646-30-7	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301	X	O	95	242	152	
Indoxacarb	144171-61-9	C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇	528	X	X	150	218	59	203
Iprodione	36734-19-7	C ₁₃ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ O ₃	329	X	X	314	316	187	189
Iprovalicarb	140923-17-7	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₃	320	X	O	119	134	116	72
Isofenfos	25311-71-1	C ₁₅ H ₂₄ NO ₄ PS	345	X	X	213	121	185	255
Kresoxim methyl	143390-89-0	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313	X	X	116	206	131	132
Isopropalin	33820-53-0	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄	309	X	X	280	238	264	309
Lindano	58-89-9	C ₆ H ₆ Cl ₆	288	O	X	181	183	217	219
Linuron	330-55-2	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	248	X	X	61	248	250	160
Malation	121-75-5	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330	X	X	127	125	173	158
Mepanipirim	110235-47-7	C ₁₄ H ₁₃ N ₃	223	X	O	222	223	221	224
Metalaxil	57837-19-1	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279	X	O	206	160	192	132
Metazaclor	67129-08-2	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O	277	X	X	81	132	133	134
Metidation	950-37-8	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	302	X	X	145	85	93	125
Metabenzthiazuron	18691-97-9	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	221	X	O	164	135		
Metobromuron	3060-89-7	C ₉ H ₁₁ BrN ₂ O ₂	258	X	X	61	258	260	170
Metolaclor	51218-45-2	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	283	X	X	162	238	240	146
Metoprotina	841-06-5	C ₁₁ H ₂₁ N ₅ OS	271	X	O	256	213	226	271
Miclobutanil	88671-89-0	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	288	X	X	179	181	150	152
Molinate	2212-67-1	C ₉ H ₁₇ NOS	187	X	O	126	55	83	187
Nitrotal Isopropile	10552-74-6	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	295	X	X	236	194	212	254
Nuarimol	63284-71-9	C ₁₇ H ₁₂ ClFN ₂ O	314	X	X	235	237	314	316
Oxadiazon	19666-30-9	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	344	X	X	175	177	258	262
Oxadixil	77732-09-3	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	278	X	X	163	132	233	278
Oxifluorfen	42874-03-3	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	361	X	X	252	361	363	300
Paration	56-38-2	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291	X	X	97	109	291	139
Paration-Metile	298-00-0	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	264	X	X	109	125	263	93
Penconazolo	66246-88-6	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	283	X	X	159	161	248	250
Pendimetalin	40487-42-1	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281	X	X	252	162	192	281
Permetrina	52645-53-1	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	390	O	X	183	163	165	127
Pirazofos	13457-18-6	C ₁₄ H ₂₀ N ₃ O ₅ PS	373	X	X	221	232	237	373
Piridafention	119-12-0	C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	340	X	X	199	340	125	188
Pirimicarb	23103-98-2	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	238	X	O	166	72	238	123
Pirimifos-Metile	29232-93-7	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	305	X	X	290	276	305	233
Procimidone	32809-16-8	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	283	X	X	96	67	283	285
Procloraz	67747-09-5	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	375	X	X	144	130	145	102
Profam	122-42-9	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179	X	O	93	179	137	120

Sostanza attiva	CAS	Formula	PM	NPD	ECD	Ioni MS			
Profenofos	41198-08-7	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	372	X	X	206	208	139	339
Prometon	1610-18-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	210	225	183	168
Prometrina	7287-19-6	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241	X	O	184	241	226	199
Propaclor	1918-16-7	C ₁₁ H ₁₄ ClNO	211	X	X	120	176	211	213
Propazina	139-40-2	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229	X	X	214	216	229	231
Propiconazolo	60207-90-1	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	341	X	X	173	175	259	261
Propizamide	23950-58-5	C ₁₂ H ₁₁ Cl ₂ NO	255	X	X	173	175	255	257
Proquinazid	189278-12-4	C ₁₄ H ₁₇ IN ₂ O ₂	372	O	X	288	372	245	272
Pyraclostrobin	175013-18-0	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	388	X	X	132	325	111	133
Pyrimethanil	53112-28-0	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	199	X	O	198	199	200	77
Quinalfos	13593-03-8	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ PS	298	X	X	146	157	156	298
Quinoxifen	124495-18-7	C ₁₅ H ₈ Cl ₂ FNO	308	X	X	237	272	307	309
Secbumeton	26259-45-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	196	169	225	210
Simazina	122-34-9	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201	X	X	201	203	186	188
Tebuconazole	107534-96-3	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	308	X	X	250	125	70	83
Terbufos	13071-79-9	C ₉ H ₂₁ O ₂ PS ₃	288	X	X	231	153	288	186
Terbumeton	33693-04-8	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225	X	O	169	210	154	225
Terbutilazina	5915-41-3	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229	X	X	214	216	173	175
Terbutilazina Desetil		C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201	X	O	186	188	201	
Terbutrina	886-50-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241	X	O	185	226	170	241
Tetraclorvinfos	22248-79-9	C ₁₀ H ₉ Cl ₄ O ₄ P	364	X	X	329	331	333	109
Tetraconazolo	112281-77-3	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ F ₄ N ₃ O	372	X	X	336	338	337	171
Tetradifon	116-29-0	C ₁₂ H ₆ Cl ₄ O ₂ S	354	O	X	354	356	159	161
Tiocarbazil	36756-79-3	C ₁₆ H ₂₅ NOS	279	X	O	91	100	156	279
Tolclofos Metile	57018-04-9	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ O ₃ PS	300	X	X	265	267	125	93
Tolyfluanid	731-27-1	C ₁₀ H ₁₃ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂	347	X	X	137	238	240	181
Triadimefon	43121-43-3	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	293	X	X	57	208	210	128
Triadimenol	55219-65-3	C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂	295	X	X	112	168	128	130
Triazofos	24017-47-8	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	313	X	O	161	162	172	257
Trifloxistrobin	141517-21-7	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	408	X	X	116	131	222	132
Trifluralin	1582-09-8	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	335	X	X	306	264	307	206
Vinclozolin	50471-44-8	C ₁₂ H ₉ Cl ₂ NO ₃	285	X	X	212	214	285	287

Legenda:**PM:** peso molecolare;**O:** non rivelato dal detector**X:** rivelato dal detector**Ioni MS:** masse di ioni caratteristici per l'analisi in GC-MS

Allegato 2

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili in GC-MS/MS

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni			
++	183,0	Acephate	136>94	136>42		
	222,1	Acetamiprid	152>116	166>139		
	269,1	Acetochlor	223>146	223>132	146>130	
	210,0	Acibenzolar-S-Methyl	135>107	135>63		
	264,0	Aclonifen	264>194	212>182	264>182	
	541,1	Acrinathrin	289>93	289>77	181>152	
	269,1	Alachlor	188>160	188>131		
	361,9	Aldrin	293>257	293>192	263>192	
	302,0	Allethrin	123>81	136>79	123>79	
	415,1	Alphamethrin	181>152	163>91		
	227,1	Amethryn	227>185	227>170	212>94	
	208,1	Aminocarb	151>136	151>77	208>151	
	+	299,1	Amitraz	293>162	293>132	293>106
	+	274,0	Anilazine	239>143	239>177	
	++	215,1	Atrazine	200>122	215>173	215>200
++	187,1	Atrazine, desethyl-	172>69	172>104	187>172	
	345,0	Azinphos-ethyl	160>132	160>77		
	318,0	Azinphos-methyl	160>132	160>77		
+++	403,1	Azoxystrobin	344>329	344>156	403>344	
+++	325,2	Benalaxyl	266>148	325>148	325>207	
	335,1	Benfluralin	292>264	292>160	292>206	
	240,1	Bentazone	198>119	198>92		
+	207,0	Benzthiazuron,	150>123	150>96		
	341,0	Bifenox	341>310	341>189	341>281	
+++	439,2	Bifenthrin	181>166	181>115		
	337,2	Bitertanol	170>141	141>115		
++	342,0	Boscalid	342>112	242>140	140>76	
	363,9	Bromophos	331>316	329>314	331>93	
	391,9	Bromophos-ethyl	359>303	357>301		
	426,0	Bromopropylate	341>183	341>155	341>185	
	+++	305,2	Buprofezin	305>140	305>172	172>57
++	346,9	Captafol	79>51	183>79	313>79	
	298,9	Captan	149>70	149>105	149>79	
	342,0	Carbophenothion	342>157	199>143	199>97	
+++	268,0	Chlorbenside	125>89	268>125	268>127	
	405,8	Chlordane, alpha-	373>266	373>301		
	405,8	Chlordane, gamma-	373>266	373>301		
	358,0	Chlorfenvinphos	267>159	267>81	269>161	
	+	221,0	Chloridazon (Pyrazon)	221>77	221>105	
++	263,9	Chlorothalonil	266>170	266>231		
	213,1	Chlorpropham	213>127	213>127	127>65	
	+++	348,9	Chlorpyrifos	314>258	314>286	316>260
+++	320,9	Chlorpyrifos-methyl	286>93	286>63	288>93	
	329,9	Chlorthal-dimethyl	330>221	330>221	330>299	
	362,0	Coumaphos	362>109	362>334		
	++	240,1	Cyanazine	225>189	198>91	240>225
+++	198,2	Cycluron	127>72	198>89	198>72	
	433,1	Cyfluthrin	226>206	206>151		

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni		
	449,1	Cyhalothrin	181>152	208>181	
	415,1	Cypermethrin	181>152	181>127	
+++	225,1	Cyprodinil	224>208	224>118	225>108
++	279,1	Cyprofuram	211>132	211>167	279>211
++	166,1	Cyromazine	151>109	166>151	151>82
	317,0	DDD, o,p'	235>165	237>165	
	317,0	DDD, p,p'	235>165	235>199	235>200
	315,9	DDE, o,p'	246>176	318>248	
	315,9	DDE, p,p'	246>176	248>176	
	351,9	DDT, o,p'	235>165	237>165	
	351,9	DDT, p,p'	235>165	237>165	
	503,0	Deltamethrin	253>93	253>172	
	258,1	Demeton-O	171>115	171>143	
	230,0	Demeton-S-methyl	142>112	230>88	
	304,1	Diazinon	304>179	199>93	304>137
+++	337,9	Dibromobenzophenone, 4,4' - (metabolita)	340>185	340>261	340>157
	171,0	Dichlobenil	171>100	171>136	
+++	189,0	Dichlorobenzamide, 2,6-	189>173	173>109	173>74
+++	250,0	Dichlorobenzophenone, p,p'	250>139	252>141	250>215
	220,0	Dichlorvos	109>79	185>93	220>185
++	327,1	Diclobutrazol	270>159	270>102	159>123
+++	340,0	Diclofop-methyl	340>253	253>162	281>120
+++	206,0	Dicloran	206>176	206>124	206>148
+	237,1	Dicrotophos	127>109	193>127	237>127
	377,9	Dieldrin	345>263	279>243	
	267,2	Diethofencarb	267>225	267>124	267>168
	405,1	Difenoconazole	323>265	323>202	
+++	275,1	Dimethenamid	230>154	154>111	230>111
	229,0	Dimethoate	125>79	125>47	229>87
++	387,1	Dimethomorph	301>165	301>152	301>199
++	325,1	Diniconazole	268>232	268>136	232>150
+++	239,1	Diphenamid	239>167	239>72	239>116
	169,1	Diphenylamine	169>115	169>77	
+++	274,0	Disulfoton	274>88	186>97	142>81
+	306,0	Disulfoton sulfone	213>97	153>97	213>125
	290,0	Disulfoton sulfoxide	125>97	212>97	153>97
+++	403,8	Endosulfan α	195>159	195>125	241>206
++	403,8	Endosulfan β	195>159	195>125	241>206
++	419,8	Endosulfansulfate	387>289	387>206	
	377,9	Endrin	263>193	263>191	
++	377,9	Endrin, Keto-	317>245	317>281	281>245
	323,0	EPN	157>110	157>77	185>157
++	329,1	Epoxiconazol	192>138	192>75	165>138
++	189,1	EPTC	128>86	189>128	189>58
	419,1	Esfenvalerate	419>125	419>167	419>225
++	327,1	Etaconazole,	245>173	245>191	173>109
+++	333,1	Ethalfuralin	316>276	333>276	276>202
	225,1	Ethiofencarb	107>77	168>107	
	384,0	Ethion	231>185	231>175	231>129
+++	286,1	Ethofumesate	286>207	207>137	207>161
	242,1	Ethoprophos	158>114	200>158	158>97

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni		
+++	217,1	Ethoxyquin	202>174	217>174	202>130
+++	376,2	Etofenprox	163>135	163>107	163>77
++	359,2	Etoazole	300>270	300>103	359>187
	245,9	Etridiazole	211>183	211>140	
++	311,1	Fenamidone	268>180	311>238	311>103
++	335,1	Fenamiphos sulfone	292>214	292>196	292>134
++	319,1	Fenamiphos sulfoxide	319>292	319>249	303>195
+++	330,0	Fenarimol	219>107	219>79	330>139
	306,2	Fenazaquin	160>145	160>117	160>91
	301,0	Fenhexamid	177>78	177>113	301>97
	277,0	Fenitrothion	277>260	277>109	277>125
++	253,1	Fenothiocarb	160>72	253>160	253>72
	349,2	Fenpropathrin	181>152	349>181	265>210
+++	273,2	Fenpropidin	273>98	98>55	98>70
++	303,3	Fenpropimorph	128>70	303>128	303>70
	308,0	Fensulfothion	156>141	293>97	293>125
+++	324,0	Fensulfothion-sulfon	324>109	324>81	324>170
	278,0	Fenthion	278>109	278>169	
	419,1	Fenvalerate	225>119	419>225	
++	419,1	Fenvalerate / Esfenvalerate	167>125	125>89	419>125
	435,9	Fipronil	367>213	367>255	213>178
++	229,0	Flonicamid	174>146	174>69	146>75
+++	426,1	Fluacrypyrim	145>102	145>115	320>183
++	383,1	Fluazifop-butyl	282>91	383>282	383>91
	451,2	Flucythrinate	199>157	451>199	225>119
+++	248,0	Fludioxonil	248>127	248>154	248>182
++	363,1	Flufenacet	151>136	151>95	211>123
+	458,1	Fluoxastrobin	188>144	188>116	188>89
++	375,0	Fluquinconazole	340>108	340>298	340>286
+	311,0	Flurochloridone	187>159	187>109	311>174
	315,2	Flusilazole	233>165	233>152	206>151
	323,1	Flutolanil	323>173	323>145	323>281
+++	301,1	Flutriafol	219>123	219>95	164>95
	502,1	Fluvalinate	250>55	250>200	
++	246,0	Fonofos	137>109	246>137	246>109
	257,0	Formothion	170>93	170>63	125>79
	283,1	Fosthiazate	195>103	195>139	195>60
+++	184,1	Fuberidazole	184>155	184>129	155>102
+++	301,1	Furalaxyl	242>95	301>225	152>94
++	433,1	Haloxifop-etotyl	433>302	316>91	302>77
	288,0	HCH, alpha-	219>183	219>145	254>183
	288,0	HCH, beta-	219>183	219>145	254>183
	288,0	HCH, delta-	183>147	181>145	254>183
	288,0	HCH, gamma-	219>183	219>145	181>145
	369,8	Heptachlor	272>237	272>143	
	281,8	Hexachlorobenzene	284>249	286>214	
	313,1	Hexaconazole	214>159	214>187	214>123
+++	329,0	Iprodione	314>245	314>271	314>56
+++	289,1	Isocarbophos	136>108	289>136	136>69
	361,9	Isodrin	193>123	263>193	
	345,1	Isofenphos	213>121	213>185	185>121

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni		
	331,1	Isofenphos-methyl	199>65	199>93	199>121
	329,1	Isofenphosoxon	229>201	201>121	229>121
	193,1	Isoprocarb	136>121	121>77	121>103
	290,1	Isoprothiolane	290<118	290>204	189>89
+++	295,1	Isoxadifen-ethyl	294>204	204>176	222>178
+++	313,1	Kresoxim-methyl	206>116	206>131	313>206
+++	449,1	Lambda-Cyhalothrin	197>141	181>77	181>152
	234,1	Lenacil	153>136	153>110	234>153
	248,0	Linuron	248>61	250>61	
+++	330,0	Malathion	173>127	173>99	285>127
+++	214,0	MCPA-methylester	141>77	214>155	155>89
	329,1	Mecarbam	329>159	329>131	329>97
+++	223,1	Mepanipirim	223>207	222>107	222>118
+++	243,1	Mepanipirim, Hydroxypropyl-	199>82	243>199	243>186
+++	279,2	Metalaxyl	206>132	206>105	279>174
+++	277,1	Metazachlor	209>133	277>133	133>117
+++	240,0	Methacrifos	125>79	180>93	180>79
	141,0	Methamidophos	141>95	141>64	
	302,0	Methidathion	145>85	145>58	
	225,1	Methiocarb	168>453	153>109	225>168
	283,1	Metolachlor	162>133	238>162	
+++	238,1	Metolachlor, S-	238>133	238>162	162>133
	214,1	Metribuzin	198>82	198>110	
+	381,1	Metsulfuron-methyl	199>77	199>135	184>120
	224,1	Mevinphos (E)	192>127	192>164	
	224,1	Mevinphos (Z)	192>127	192>164	
	187,1	Molinate	187>126	126>55	126>83
	214,1	Monolinuron	126>99	214>61	
	288,1	Myclobutanil	179>125	288>179	288>152
+++	295,1	Nitrothal-isopropyl	236>194	236>148	236>120
+++	314,1	Nuarimol	235>139	203>107	314>139
	213,0	Omethoate	156>110	156>79	
+++	170,1	Orthophenylphenol	170>41	170>15	
+++	344,1	Oxadiazon	258>175	258>112	344>175
	278,1	Oxadixyl	163>132	163>117	
	293,1	Paclobutrazol	236>125	236>167	236>132
++	275,1	Paraoxon	275>149	247>149	275>99
++	247,0	Paraoxon-methyl	230>136	109>79	230>106
	291,0	Parathion-ethyl	291>109	291>81	
	263,0	Parathion-methyl	263>109	125>79	263>79
	328,1	Pencycuron	180>125	125>89	
+++	281,1	Pendimethalin	252>162	252>191	281>252
+++	239,1	Pentanochlor	141>106	239>141	141>77
	390,1	Permethrin	183>168	183>153	183>155
+++	295,1	Pethoxamid	260>91	260>119	260>147
	320,0	Phenthoate	274>121	274>125	274>246
+++	260,0	Phorate	260>75	231>129	231>65
+++	292,0	Phorate-Sulfone	125>97	153>97	199>143
++	276,0	Phorate-Sulfoxide	125>97	153>97	199>143
	367,0	Phosalone	182>111	182>138	367>182
	317,0	Phosmet	160>133	160>77	317>160

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni		
++	299,1	Phosphamidon	127>109	264>127	127>95
++	376,1	Picolinafen	238>145	238>95	376>238
+++	367,1	Picoxystrobin	335>173	335>115	303>157
	338,2	Piperonyl butoxide	176>131	338>176	176>77
	353,1	Piperophos	320>122	140>98	
+++	238,2	Pirimicarb	238>166	166>96	238>72
+++	224,0	Pirimicarb-desmethyl	152>96	224>152	224>96
+++	305,1	Pirimiphos-methyl	305>180	305>290	305>125
	311,2	Pretilachlor	162>147	162>132	262>202
	223,0	Probenazole	159>130	159>103	
+++	283,0	Procymidone	283>96	283>67	283>255
	283,0	Procymidone	283>96	283>68	283>255
	372,0	Profenofos	337>267	339>269	372>337
+++	347,1	Profluralin	318>199	318>55	
++	207,1	Promecarb	150>135	135>91	150>91
+++	225,2	Prometon	225>183	225>168	210>168
	218,0	Propanil	161>126	217>161	
++	443,1	Propaquizafop	163>100	443>371	443>299
++	350,2	Propargite	173>135	173>107	350>201
+++	229,1	Propazine	229>187	214>172	229>58
+++	281,1	Propetamphos	236>194	236>166	194>166
	341,1	Propiconazole	173>145	259>69	259>173
	255,0	Propyzamide	173>145	173>109	
++	251,1	Prosulfocarb	251>128	251>86	162>91
+	217,1	Pymetrozine	113>98	132>105	217>98
	360,1	Pyraclufos	360>194	360>139	360>97
++	387,1	Pyraclostrobin	132>77	164>132	164>77
++	412,0	Pyraflufen-ethyl	412>349	349>307	303>145
+++	373,1	Pyrazophos	221>193	232>204	373>232
+++	364,1	Pyridaben	147>117	147>132	364>147
	340,1	Pyridaphenthion	340>199	340>125	340>109
++	294,0	Pyrifenoxy,	262>227	294>262	262>192
+++	199,1	Pyrimethanil	198>183	198>118	198>77
+++	321,1	Pyriproxyfen	226>157	226>186	226>77
+++	298,1	Quinalphos	298>156	157>102	157>129
+++	307,0	Quinoxifen	307>272	307>237	309>237
++	372,1	Quizalofop-ethyl	372>299	372>244	299>192
+++	201,1	Simazine	201>173	201>186	201>138
	410,1	Spirodiclofen	312>259	312>109	312>81
++	370,2	Spiromesifen	272>209	370>272	254>209
	373,2	Spirotetramat	286>216	373>286	373>216
++	333,2	Tebufenpyrad	333>171	333>318	333>276
	333,2	Tebufenpyrad	333>171	171>88	333>276
	418,1	Tefluthrin	177>127	197>141	197>161
+	466,0	Temephos	466>109	406>203	203>109
++	277,2	Terbucarb	220>205	220>177	
	288,1	Terbufos	231>175	153>97	288>231
	320,0	Terbufos-Sulfone	264>199	153>97	199<171
+++	225,2	Terbumeton	225>169	225>154	169>154
+	229,1	Terbuthylazine	229>173	214>104	214>71
+	201,1	Terbuthylazine, Desethyl-	201>145	201>110	186>83

Sensibilità	massa mono -isotopica	Nome	Transizioni		
+++	241,1	Terbutryn	241>185	241>170	241>111
+++	363,9	Tetrachlorvinphos	331>109	331>79	240>205
+++	371,0	Tetraconazole	336>204	336>218	336>191
	331,2	Tetramethrin	164>107	164>77	123>81
	257,1	Thiobencarb (Benthiocarb)	100>72	257>100	257>72
+++	300,0	Tolclofos-methyl	265>250	125>79	250>220
	383,1	Tolfenpyrad	383>171	383>211	197>91
++	660,8	Tralomethrin	253>93	253>172	181>152
	295,1	Triadimenol	168>70	128>65	128>100
++	303,0	Tri-Allate	268>184	143>83	128>86
	313,1	Triazophos	257>162	257>119	
	255,9	Trichlorfon	145>109	145>127	
	189,0	Tricyclazole	189>162	189>161	
+++	408,1	Trifloxystrobin	222>190	222>130	222>162
+++	335,1	Trifluralin	335>248	335>264	335>202
++	287,0	Vamidotion	145>87	169>125	169>109
+++	285,0	Vinclozolin	285>198	285>212	287>200

Allegato 3

Elenco di sostanze attive determinabili in LC-MS/MS

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS		
2,4,5-T	[M-H]-			ESI (-)	253>195	255>197	253>159
2,4-D	[M-H]-		+++	ESI (-)	219>161	219>125	221>163
2,4-DB	[M-H]-		+++	ESI (-)		247>161	247>125
2,4-DP (Dichlorprop)	[M-H]-		+++	ESI (-)	233>161	233>125	235>163
Abamectin (B1a)	[M+NH4]+	+++		ESI (+)	890,5>305,2	890,5>145,1	890,5>567
Acefate	[M+H]+	++++		ESI (+)	223>126	223>73	225>128 223>90
Acetamiprid	[M+H]+	++++		ESI (+)	223>126	223>73	225>128 223>90
Acetoclor	[M+H]+			ESI (+)	270>224	270>148	270>133 272>226
Aclonifen	[M+H]+	++		ESI (+)	265>182	265>218	265>248
Acrinatrina	[M+NH4]+	+		ESI (+)	559>208	559>181	
Alaclor	[M+H]+	++++		ESI (+)	270>238	270>162	
Aldicarb	[M+NH4]+	++++		ESI (+)	208>89	208>116	191>116
Aldicarb solfossido	[M+H]+	++++		ESI (+)	207>132	207>89	207>105
Aldicarb sulfone	[M+NH4]+	++++		ESI (+)	240>148	240>86	
Amidosulfuron	[M-H]-		++	ESI (-)		368>259	368>78
Atrazina	[M+H]+	++++		ESI (+)	216>174	216>104	218>176
Azimsulfuron	[M-H]-		++	ESI (-)		423>214	423>135
Azinfos etile	[M+H]+	++++		ESI (+)	346>132	346>160	
Azinfos metile	[M+H]+	++++		ESI (+)	318>132	318>160	318>125
Azoxistrobina	[M+H]+	++++		ESI (+)	404>372	404>344	
Benfuracarb	[M+H]+	++++		ESI (+)	411>195	411>252	
Bensulfuron metile	[M+H]+	+++		ESI (+)	411>149	411>119	
Bentazone	[M-H]-		+++	ESI (-)	239>132	239>197	239>175
Bifenox	[M+NH4]+	++		ESI (+)	359>310	359>189	
Bispyribac sodium	[M+H]+	+++		ESI (+)	453>297	453>421	
Bitertanolo	[M+H]+	+++		ESI (+)	338>70	338>269	338>99
Boscalid	[M+H]+	++++		ESI (+)	343>307	343>140	345>309
Bromacile	[M+H]+	+++		ESI (+)	261>205	261>188	
Bromacile	[M-H]-			ESI (-)	259>203	261>205	261>81
Bupirimate	[M+H]+	++++		ESI (+)	317>166	317>108	
Buprofezin	[M+H]+	++++		ESI (+)	306>201	306>116	306>106
Cadusafos	[M+H]+	+++		ESI (+)	271>159	271>97	271>215
Carbaril	[M+H]+	++++		ESI (+)	202>145	202>127	
Carbendazim	[M+H]+	++++		ESI (+)	192>160	192>132	
Carbofuran	[M+H]+	++++		ESI (+)	222>165	222>123	
Cianazina	[M+H]+	+++		ESI (+)	241>214	241>104	243>216
Cibutrina	[M+H]+			ESI (+)	254>198	254>108	

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS	
Cimoxanil	[M-H]-		++	ESI (-)	197>42	197>69
Cinosulfuron	[M+H]+	+++		ESI (+)	414>183	414>215
Cinosulfuron	[M-H]-			ESI (-)	412>155	412>123 412>66
Cipermetrina	[M+NH4]+	+++		ESI (+)	433>191	433>127 435>193
Ciproconazolo	[M+H]+	+++		ESI (+)	292>70	292>125 294>70
Ciprodinil	[M+H]+	+++		ESI (+)	226>77	226>93
Clodinafop Propargil	[M+H]+	++++		ESI (+)	350>266	350>91
Clomazone	[M+H]+	++++		ESI (+)	240>125	240>89
Clorantranilprole	[M+H]+	+++		ESI (+)	482>284	484>453 486>455
Clorantranilprole	[M-H]-		++++	ESI (-)	480>202	482>202 484>204
Clorfenvinfos	[M+H]+	++++		ESI (+)	359>155	359>99
Cloridazon	[M+H]+	++++		ESI (+)	222>92	222>104 224>104
Clorotoluron	[M+H]+	++++		ESI (+)	213>72	213>140
Clorpirifos	[M+H]+	+++		ESI (+)	350>97	350>198
Clorpirifos metil	[M+H]+	++		ESI (+)	322>125	324>125 324>292
Clotianidin	[M+H]+	+++		ESI (+)	250>169	250>132
Coumafos	[M+H]+	++++		ESI (+)	363>227	363>307
Cycloxydim	[M-H]-		+++	ESI (-)		324>236 324>134
Cyromazine	[M+H]+	+++		ESI (+)	167>125	167>108 167>85
Dazomet	[M+H]+			ESI (+)	163>101	163>107 163>89
Demeton-S-metil	[M+H]+	++++		ESI (+)	231>89	231>61
Demeton-S-metil-sulfone	[M+H]+	++++		ESI (+)	263>109	263>169 263>121
Desetilatrazina	[M+H]+	+++		ESI (+)	188>104	188>146 188>148
Desetilterbutilazina	[M+H]+	++++		ESI (+)	202>146	202>104 204>148
Desisopropilatrazina	[M+H]+	+++		ESI (+)	174>104	174>96 176>106
Diazinone	[M+H]+	++++		ESI (+)	305>169	305>97 305>153
Diclorvos	[M+H]+	+++		ESI (+)	221>127	221>109
Dicofol	[M-H]-		+	ESI (-)	367>117	369>119 371>121
Difenoconazole	[M+H]+	++++		ESI (+)	406>251	406>337 406>188
Dimetenamide	[M+H]+	++++		ESI (+)	276>244	276>168 278>246
Dimetoato	[M+H]+	++++		ESI (+)	230>125	230>199 230>171
Dimetomorf	[M+H]+	++++		ESI (+)	388>301	388>165 390>303
Disulfoton	[M+H]+	+++		ESI (+)	275>89	275>61
Diuron	[M+H]+	++++		ESI (+)	233>72	233>160 235>72
Diuron	[M-H]-			ESI (-)	231>188	231>186 231>150
Dodemorf	[M+H]+	++++		ESI (+)	282>116	282>98 282>55
Dodine	M-C ₂ H ₄ O ₂ +			ESI (+)	228>57	228>60 228>186
Epoxiconazole	[M+H]+			ESI (+)	330>121	330>101 332>121

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS		
Eptenofos	[M+H] ⁺			ESI (+)	251>127	251>109	251>125
Esafalumuron	[M-H] ⁻		+++	ESI (-)	459>439	459>276	
Esazinone	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	253>171	253>71	
Ethoxysulfuron	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	399>261	399>218	
Etofenprox	[M+NH ₄] ⁺	++++		ESI (+)	394>177	394>107	394>359
Etofumesate	[M+NH ₄] ⁺	+++		ESI (+)	304>121	304>161	
Etoprofos	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	243>131	243>97	243>173
Etozazole	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	360>141	360>113	360>177
Exitiazox	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	353>228	353>168	355>230
Fenamidone	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	312>92	312>236	
Fenamifos	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	304>217	304>202	
Fenarimol	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	331>81	331>268	331>139
Fenazaquin	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	307>161	307>147	307>57
Fenbuconazole	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	337>125	337>70	339>127
Fenexamid	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	302>97	302>55	304>97
Fenexamid	[M-H] ⁻			ESI (-)	300>264	302>266	302>264
Fenitrotrion	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	278>125	278>109	
Fenpiroximate	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	422>366	422>135	422>107
Fenpropimorf	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	304>147	304>117	
Fention	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	279>169	279>247	279>205
Flonicamid	[M+H] ⁺			ESI (+)	230>203	230>148	
Florasulam	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	360>129	360>192	360>109
Fluazifop butile	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	384>282	384>328	
Fludioxonil	[M-H] ⁻		+++	ESI (-)	247>126	247>169	
Flufenacet	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	364>194	364>152	364>124
Fluroxypyr	[M-H] ⁻		++	ESI (-)		253>195	253>233
Fosalone	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	368>182	368>111	370>184
Fosmet	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	318>133	318>160	318>77
Fostiazate	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	284>104	284>228	284>200
Furalaxil	[M+H] ⁺			ESI (+)	302>242	302>95	
Imazalil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	297>159	297>201	297>255
Imazamox	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	306>69	306>261	
Imazapyr	[M+H] ⁺			ESI (+)	262>217	262>149	262>220
Imazosulfuron	[M-H] ⁺		+++	ESI (-)		411>230	411>154
Imidacloprid	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	256>175	256>209	258>211
Indoxacarb	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	528>203	528>56	528>249
Iodosulfuron-metl-sodium	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	508>167	508>141	
Ioxynil	[M-H] ⁻		++++	ESI (-)	370>127	370>243	

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS		
Iprodione	[M+H] ⁺			ESI (+)	330>101	330>143	330>245
Iprovalicarb	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	321>119	321>203	
Isoproturon	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	207>165	207>72	
Isoxaflutole	[M-H] ⁻		++	ESI (-)		358>79	358>64
Kresoxim metil	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	314>116	314>206	314>267
Lenacil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	235>153	235>136	
Linuron	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	249>160	249>182	251>162
Malathion	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	331>127	331>99	331>285
Mandipropamid	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	412>356	412>328	414>330
MCPA	[M-H] ⁻		+++	ESI (-)	199>141	201>143	199>155
Mecoprop(MCPP)	[M-H] ⁻		+++	ESI (-)	213>141	215>143	213>71
Mepanipirim	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	224>77	224>106	
Mesosulfuron-metil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	504>182	504>83	504>306
Mesotrione	[M+NH ₄] ⁺	++		ESI (+)	357>340	357>228	
Metalaxil	[M+H] ⁺			ESI (+)	280>220	280>160	280>192
Metalaxil-M	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	280>220	280>160	
Metamitron	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	203>175	203>104	203>77
Metazaclor	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	278>210	278>134	280>212
Metidathion	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	303>145	303>85	
Metiocarb	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	226>121	226>169	226>107
Metobromuron	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	259>170	259>148	260>172
Metolaclor	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	284>252	284>176	286>254
Metomil	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	163>106	163>88	163>122
Metossifenozone	[M-H] ⁻			ESI (-)	367>149		
Metribuzin	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	215>187	215>84	215>74
Metsulfuron metil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	382>199	382>167	382>77
Metsulfuron metile	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	382>167	382>56	
Mevinfos	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	225>127	225>193	
Molinate	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	188>83	188>126	
Monolinuron	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	215>126	215>148	
Myclobutanil	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	289>70	289>125	291>127
Nicosulfuron	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	411>182	411>106	
Ometoato	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	214>109	214>125	214>183
Ossidemeton-metil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	247>169	247>109	247>125
Oxadiazon	[M+NH ₄] ⁺	++++		ESI (+)	362>220	362>177	
Oxadixil	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	279>219	279>133	
Oxamil	[M+NH ₄] ⁺	++++		ESI (+)	237>72	237>90	237>220
Oxyfluorfen	[M+NH ₄] ⁺	+		ESI (+)	379>316	379>237	

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS	
Paration	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	292>236	292>97
Paration Metil	[M+H] ⁺			ESI (+)	264>125	264>232 264>79
Penconazolo	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	284>159	284>70 284>123
Pendimetalin	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	282>212	282>194 282>118
Phetoxamid	[M+H] ⁺			ESI (+)	296>250	296>131 298>252
Phorate	[M+NH ₄] ⁺	++		ESI (+)	278>75	278>171
Picloram	[M-H] ⁻			ESI (-)	239>195	239>123 239>159
Picoxystrobin	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	368>145	368>205
Pimetrozine	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	218>105	218>79 218>78
Pinoxaden	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	401>317	401>57 401>131
Piraclostrobin	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	388>194	388>163 390>194
Pirazofos	[M+H] ⁺			ESI (+)	374>222	374>194
Pirimetanil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	200>82	200>107 200>183
Pirimicarb	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	239>72	239>182
Pirimifos metil	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	306>108	306>164 306>67
Prometrina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	242>158	242>200 242>68
Propaclor	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	212>170	212>94
Propamocarb	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	189>102	189>144 189>74
Propargite	[M+NH ₄] ⁺	++++		ESI (+)	368>175	368>231 351>231
Propazina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	230>146	230>188 230>174
Propiconazolo	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	342>69	342>159 342>123
Propizamide	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	256>173	256>190
Propizamide	[M-H] ⁻			ESI (-)	254>145	254>228 256>230
Propoxur	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	210>111	210>168
Prosulfuron	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	420>141	420>167
Quinclorac	[M+H] ⁺			ESI (+)	242>224	244>226 244>163
Quinoxifen	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	308>162	308>197
Rimsulfuron	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	432>182	432>182
Sebutilazina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	230>174	230>104 232>176
Simazina	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	202>124	202>132 204>134
Spinosin A (Spinosad)	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	732,5>142	732,5>98
Spirotetramat	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	374>216	374>302 374>330
Spiroxamina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	298>144	298>100
Sulcotrione	[M+NH ₄] ⁺	++		ESI (+)	346>329	346>139
Tebuconazolo	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	308>70	308>125 310>70
Tebufenozide	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	353>297	353>133
Tefluthrin	[M+NH ₄] ⁺	+		ESI (+)	436>177	436>127
Terbumeton	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	226>170	226>114 226>142

Sostanze Attive	Ione molecolare	Sensibilità ESI (+)	Sensibilità ESI (-)	ESI (+) / (-)	Transizioni LC-MS-MS		
Terbutilazina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	230>174	230>104	232>176
Terbutrina	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	242>186	242>68	242>96
Tetraconazole	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	372>159	372>70	372>123
Tiabendazolo	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	202>131	202>175	202>65
Tiacloprid	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	253>126	253>186	255>128
Tiametoxam	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	292>211	292>181	294>211
Tiobencarb	[M+H] ⁺			ESI (+)	258>125	258>89	260>127
Tiofanato metile	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	343>151	343>151	
Tolclofos metil	[M+H] ⁺	++		ESI (+)	301>269	301>175	303>271
Tolilfluamide	[M+NH ₄] ⁺	++++		ESI (+)	364>238	364>137	
Tralkoxydim	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	330>138		330>284
Triadimefon	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	294>197	294>225	294>69
Triadimenol	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	296>70	296>227	298>70
Triasulfuron	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	402>167	402>141	402>139 404>167
Triazofos	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	314>162	314>119	
Tribenuron metile	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	396>155	396>181	396>199
Tribenuron metile	[M-H] ⁻			ESI (-)		394>153	394>55
Triciclazolo	[M+H] ⁺	+++		ESI (+)	190>136	190>163	
Triclopyr	[M-H] ⁻		++	ESI (-)			256>198
Triclorfon	[M+NH ₄] ⁺	+++		ESI (+)	274>109	274>221	
Triticonazole	[M+H] ⁺	++++		ESI (+)	318>70	318>125	
Zoxamide	[M+H] ⁺			ESI (+)	336>187	336>159	338>189

Allegato 4

Risultati dello studio collaborativo - livello di concentrazione 0,1 µg/L

Sostanza attiva	Conc. attesa (µg/L)	S _r (µg/L)	S _R (µg/L)	R (%)
ALACLOR	0.099	0.0070	0.0120	87
ATRAZINA	0.100	0.0070	0.0160	86
CLORPIRIFOS	0.103	0.0100	0.0190	73
LINDANO (HCH gamma)	0.103	0.0110	0.0200	75
LINURON	0.101	0.0110	0.0230	82
METALAXIL	0.099	0.0110	0.0250	100
METOLACLOR	0.103	0.0090	0.0160	91
OXADIAZON	0.099	0.0050	0.0140	87
OXADIXIL	0.101	0.0100	0.0320	100
PENDIMETALIN	0.100	0.0070	0.0160	76
PROMETRINA	0.109	0.0070	0.0250	89
PROPIZAMIDE	0.100	0.0060	0.0120	89
SIMAZINA	0.106	0.0060	0.0160	89
TERBUMETON	0.102	0.0090	0.0170	93
TERBUTILAZINA	0.100	0.0050	0.0110	87
TERBUTILAZINA Desetil	0.102	0.0070	0.0150	90

Risultati dello studio collaborativo - livello di concentrazione 0.5 µg/L

Sostanza attiva	Conc. attesa (µg/l)	S _r (µg/l)	S _R (µg/l)	R (%)
ALACLOR	0.495	0.0320	0.0560	87
ATRAZINA	0.500	0.0280	0.0590	86
CLORPIRIFOS	0.513	0.0300	0.0670	73
LINDANO (HCH gamma)	0.516	0.0510	0.0800	75
LINURON	0.504	0.0550	0.1150	82
METALAXIL	0.497	0.0380	0.0810	100
METOLACLOR	0.513	0.0280	0.0650	91
OXADIAZON	0.495	0.0250	0.0730	87
OXADIXIL	0.507	0.0370	0.0890	100
PENDIMETALIN	0.499	0.0320	0.0670	76
PROMETRINA	0.546	0.0410	0.0880	89
PROPIZAMIDE	0.499	0.0350	0.0810	89
SIMAZINA	0.532	0.0340	0.0780	89
TERBUMETON	0.508	0.0280	0.0720	93
TERBUTILAZINA	0.500	0.0270	0.0730	87
TERBUTILAZINA Desetil	0.509	0.0320	0.0750	90

Legenda:

S_r: scarto tipo di ripetibilitàS_R: scarto tipo di riproducibilità

R: accuratezza

Laboratori che hanno partecipato allo studio collaborativo:

ARPA Sicilia Palermo (coordinatore del progetto 4b Legge 93/01), ARPA Sicilia Ragusa, ARPA Sicilia Catania, ARPA Puglia Bari, ARPA Campania Napoli, ARPA Lazio Roma, ARPA Emilia Romagna Ferrara, ARPA Piemonte Asti, ARPA Lombardia Lecco, APPA Trento.

Lo studio collaborativo riguardava all'applicazione del metodo APAT IRSA-CNR 5060 adottando modalità operative identiche alla Parte A del presente metodo.

Allegato 5

Esempio di condizioni operative in GC-MS

	Esempio 1
Colonna	Equity 5- Supelco
Iniettore	Split/splitless
Modalità di iniezione	Pulsed splitless
Carrier gas	elio
Flusso (mL/min)	1,3
Programmata di temperatura	
1 step	70 °C per 3'
Rampa 1	25 °C/min sino a 150 °C
Rampa 2	5 °C/min sino a 280 °C
Step finale	280 °C per 30'
Transfer line	260 °C
Volume iniettato	2 µL

Allegato 6
Esempio di condizioni operative in LC-MS/MS

	Esempio 1	Esempio 2
Colonna	Acquity HSS T3 1.8µm 2.1 x 100 mm o equivalente	Colonna HPLC in fase inversa del tipo C18 da 150 mm x 2,1 mm ID, granulometria 3-5 µm o equivalente.
Temperatura del forno della colonna (°C)	40 °C (±2 °C)	40 °C
Fase mobile:		
Eluente A	Fase mobile acquosa: Acqua con ammonio formiato 5 mM e 0.1% di acido formico.	formiato di ammonio 5 mM in acqua
Eluente B	Fase mobile organica: metanolo con ammonio formiato 5 mM e 0.1% di acido formico.	formiato di ammonio 5 mM in metanolo
Flusso (mL/min)	0.45	175
Programmata di eluizione:	vedi "Esempio1 di gradiente UHPLC	Vedi esempio 2 di gradiente HPLC
Volume iniettato (µl)	100	40

Esempio 1 di gradiente UHPLC

Tempo min	Fase 1 %	Fase 2 %	Flusso mL/min
0.00	80	20	0.45
0.60	80	20	0.45
12.60	0	100	0.45
13.60	0	100	0.45
16.00	80	20	0.45

Esempio 2 di gradiente UHPLC

Tempo min	Solvente A	Solvente B
0	50	50
1	50	50
20	5	95
27	5	95
27,05	50	50
36	50	50

Allegato 7

Parte B: LC-MS/MS mod. 5500 ABSciex, iniezione diretta (1 di 2) – concentrazione 0,1 µg/L

Valore di parametro 0,1 (µg/L)	Esattezza (a) (%)	LdR calc (b) (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	S (c) (µg/L)	CV (c) (%)	Δi (µg/L)	Ue (µg/L)	Ue/U _T *100 (%)
Acetamidrid	104,9	0,0052	0,0067	0,01	0,0034	3,25	0,0052	0,0093	21
Acetoclor (*)	110,1	0,0083	0,0186	0,02	0,0047	4,27	0,0106	0,0180	41
Aclonifen (*)	97,5	0,0098	0,0174	0,02	0,0057	5,83	0,0091	0,0125	28
Atrazine	103,9	0,0048	0,0069	0,01	0,0026	2,53	0,0071	0,0089	20
Azoxystrobin	106,8	0,0064	0,0088	0,01	0,0090	8,44	0,0102	0,0214	48
Bensulfuron-methyl	106,1	0,0057	0,0076	0,01	0,0064	5,98	0,0095	0,0222	52
Bentazone	101,3	0,0228	0,0288	0,05	0,0026	2,55	0,0114	0,0258	59
Bifenazate (*)	72,7	0,0088	0,0150	0,01	0,0103	14,11	0,0135	0,0269	62
Boscalid	95,3	0,0067	0,0126	0,01	0,0046	4,85	0,0100	0,0212	49
Bupirimate	101,0	0,0053	0,0066	0,01	0,0080	7,91	0,0084	0,0143	33
Carbofuran	104,5	0,0050	0,0059	0,01	0,0022	2,14	0,0051	0,0104	24
Chloridazon	99,4	0,0052	0,0071	0,01	0,0032	3,19	0,0071	0,0157	24
Chlorpyrifos	95,6	0,0057	0,0082	0,01	0,0038	3,99	0,0041	0,0076	35
Chlorpyrifos-methyl	97,8	0,0081	0,0149	0,01	0,0042	4,25	0,0058	0,0099	17
Chlortoluron	102,1	0,0050	0,0062	0,01	0,0025	2,42	0,0053	0,0112	23
Clorantraniliprole	102,4	0,0068	0,0096	0,01	0,0065	6,35	0,0096	0,0214	50
Cymoxanil	95,5	0,0051	0,0071	0,01	0,0033	3,44	0,0055	0,0084	19
Cyprodinil	106,6	0,0083	0,0175	0,02	0,0050	4,76	0,0050	0,0103	23
Desetilatrizona	101,2	0,0047	0,0060	0,01	0,0026	2,61	0,0049	0,0093	21
desetilterbutilazina	105,1	0,0047	0,0067	0,01	0,0024	2,26	0,0078	0,0116	26
desisopropilAtrizona (*)	102,6	0,0044	0,0054	0,01	0,0024	2,38	0,0046	0,0068	15
Dichlorvos	104,5	0,0120	0,0231	0,02	0,0043	4,10	0,0109	0,0245	24
Difenoconazole	98,3	0,0058	0,0079	0,05	0,0066	6,75	0,0081	0,0188	43
Dimuethenamide	106,1	0,0123	0,0141	0,01	0,0058	5,51	0,0062	0,0127	29
Dimethoate	102,5	0,0049	0,0061	0,01	0,0035	3,39	0,0055	0,0106	24
Diuron	101,1	0,0062	0,0105	0,01	0,0048	4,79	0,0072	0,0126	28
Epoxiconazole	102,9	0,0069	0,0094	0,01	0,0044	4,26	0,0078	0,0156	36
Ethofumesate	98,9	0,0059	0,0126	0,01	0,0039	3,91	0,0077	0,0155	34
Fenbuconazole	107,0	0,0074	0,0141	0,01	0,0070	6,56	0,0109	0,0244	56
Flufenacet	101,3	0,0053	0,0068	0,01	0,0054	5,33	0,0100	0,0184	43
Fosalone	100,8	0,0041	0,0056	0,01	0,0051	5,03	0,0055	0,0111	25
Imidacloprid	108,2	0,0051	0,0056	0,01	0,0014	1,29	0,0057	0,0085	19
Indoxacarb	84,5	0,0070	0,0116	0,01	0,0086	10,12	0,0103	0,0222	51
Iprovalicarb	105,2	0,0058	0,0081	0,01	0,0034	3,23	0,0044	0,0074	17
isoproturon	103,7	0,0050	0,0066	0,01	0,0038	3,67	0,0049	0,0116	26
Isoxaflutole (*)	106,1	0,0090	0,0167	0,02	0,0053	5,01	0,0105	0,0150	34
Kresoxim-methyl	104,3	0,0068	0,0103	0,01	0,0034	3,24	0,0055	0,0124	28
Lenacyl	105,3	0,0051	0,0081	0,01	0,0036	3,38	0,0070	0,0151	34
Linuron	107,9	0,0061	0,0081	0,01	0,0060	5,51	0,0065	0,0119	27
Malathion	100,8	0,0048	0,0108	0,01	0,0053	5,22	0,0063	0,0115	26
Mandipropamid	109,8	0,0054	0,0085	0,01	0,0048	4,34	0,0066	0,0114	27
MCPA	104,3	0,0245	0,0348	0,05	0,0035	3,39	0,0063	0,0097	22
MCPP (*)	104,4	0,0241	0,0284	0,05	0,0030	2,85	0,0093	0,0168	38
Mepanipyrim	104,3	0,0064	0,0099	0,01	0,0025	2,37	0,0042	0,0067	15
Metalaxyl	103,4	0,0057	0,0081	0,01	0,0026	2,51	0,0052	0,0107	24
Metamitron	95,5	0,0052	0,0078	0,01	0,0015	1,56	0,0065	0,0127	29
Metazachlor	106,9	0,0056	0,0072	0,01	0,0050	4,70	0,0065	0,0134	30

Allegato 7

Parte B: LC-MS/MS mod. 5500 ABSciex, iniezione diretta (2 di 2) – concentrazione 0,1 µg/L

Valore di parametro 0,1 (µg/L)	Esattezza (a) (%)	LdR calc (b) (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	S (c) (µg/L)	CV (c) (%)	Δi (µg/L)	Ue (µg/L)	Ue/U _r *100 (%)
Methidathion (*)	111,7	0,0058	0,0110	0,01	0,0094	8,43	0,0103	0,0257	57
Methoxyfenozide	99,6	0,0072	0,0107	0,01	0,0105	10,50	0,0132	0,0335	77
Metobromuron	101,17	0,0064	0,0097	0,01	0,0019	1,87	0,0050	0,0086	19
Metolachlor	102,45	0,0055	0,0069	0,01	0,0037	3,60	0,0052	0,0108	24
Metribuzin	102,48	0,0064	0,0122	0,01	0,0024	2,31	0,0065	0,0119	27
Paration Etile (*)	112,23	0,0067	0,0124	0,01	0,0100	8,90	0,0103	0,0158	35
Penconazole	100,78	0,0054	0,0076	0,01	0,0042	4,13	0,0056	0,0082	18
Pendimetalin (*)	91,8	0,0057	0,0076	0,01	0,0025	2,74	0,0040	0,0076	17
Phetoxamid	99,63	0,0049	0,0069	0,01	0,0033	3,26	0,0055	0,0127	28
Pirimicarb	104,18	0,0052	0,0061	0,01	0,0035	3,36	0,0055	0,0118	27
Propachlor	102,97	0,0057	0,0073	0,01	0,0039	3,78	0,0062	0,0114	26
Propazine	102,9	0,0052	0,0062	0,01	0,0040	3,87	0,0053	0,0095	22
Propiconazole	103,68	0,0047	0,0078	0,01	0,0060	5,78	0,0066	0,0115	25
Propyzamide	102,5	0,0050	0,0067	0,01	0,0026	2,57	0,0042	0,0102	23
Pyraclostrobin	99,67	0,0039	0,0055	0,01	0,0049	4,90	0,0070	0,0119	27
Pyrimethanil	108,6	0,0074	0,0145	0,01	0,0027	2,45	0,0053	0,0127	29
Simazine	105,2	0,0057	0,0081	0,01	0,0037	3,53	0,0040	0,0091	21
Spirotetramat	95,2	0,0049	0,0070	0,01	0,0070	7,34	0,0071	0,0132	30
Spiroxamine (*)	94,22	0,0041	0,0046	0,01	0,0058	6,18	0,0069	0,0172	39
Tebufenozide	90,10	0,0067	0,0118	0,01	0,0122	13,53	0,0123	0,0233	53
Terbutylazine	102,8	0,0048	0,0065	0,01	0,0060	5,81	0,0065	0,0146	33
Tetraconazole	103,20	0,0073	0,0110	0,01	0,0083	8,06	0,0094	0,0224	51
Thiacloprid	103,07	0,0048	0,0052	0,01	0,0023	2,20	0,0046	0,0091	21
Thiamethoxam	103,58	0,0049	0,0054	0,01	0,0019	1,87	0,0061	0,0085	19
Thiobencarb	103,85	0,0043	0,0058	0,01	0,0016	1,50	0,0047	0,0063	14
Triticonazole (*)	103,65	0,0071	0,0117	0,01	0,0074	7,12	0,0088	0,0193	43
Zoxamide	93,3	0,0107	0,0190	0,02	0,0068	7,24	0,0084	0,0094	21
2,4-D	102,73	0,0275	0,0408	0,05	0,0031	2,97	0,0108	0,0193	43
2,4-DP (Dichlorprop)	109,68	0,0263	0,0417	0,05	0,0066	6,01	0,0076	0,0123	28

Allegato 7

Parte B: LC-MS/MS mod. 5500 ABSciex, iniezione diretta (1 di 2) – concentrazione 0,01 µg/L

Valore di parametro 0,1 (µg/L)	Esattezza (a) (%)	LdR calc (b) (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	S (c) (µg/L)	CV (c) (%)	Δi (µg/L)	Ue (µg/L)	Ue/U _i *100 (%)
Acetamidrid	103,8	0,0052	0,0067	0,01	0,0002	2,31	0,0009	0,0012	27
Acetoclor (*)	112,0	0,0083	0,0186	0,02	0,0014	6,12	///	///	///
Aclonifen (*)	99,2	0,0098	0,0174	0,02	0,0018	8,97	///	///	///
Atrazine	100,3	0,0048	0,0069	0,01	0,0005	4,68	0,0008	0,0012	26
Azoxystrobin	98,8	0,0064	0,0088	0,01	0,0011	10,93	0,0011	0,0024	53
Bensulfuron-methyl	120,0	0,0057	0,0076	0,01	0,0003	2,58	0,0013	0,0020	46
Bentazone	84,5	0,0228	0,0288	0,05	0,0027	6,30	///	///	///
Bifenazate (*)	106,9	0,0088	0,0150	0,01	0,0015	6,92	0,0013	0,0031	78
Boscalid	114,0	0,0067	0,0126	0,01	0,0008	6,58	0,0012	0,0024	54
Bupirimate	112,2	0,0053	0,0066	0,01	0,0007	6,60	0,0010	0,0007	18
Carbofuran	94,7	0,0050	0,0059	0,01	0,0003	2,75	0,0008	0,0013	30
Chloridazon	96,7	0,0052	0,0071	0,01	0,0005	5,59	0,0014	0,0019	46
Chlorpyrifos	90,5	0,0057	0,0082	0,01	0,0003	3,54	0,0011	0,0015	34
Chlorpyrifos-methyl	98,9	0,0081	0,0149	0,01	0,0016	8,04	0,0014	0,0021	48
Chlortoluron	93,3	0,0050	0,0062	0,01	0,0007	7,71	0,0009	0,0013	31
Clorantraniliprole	103,2	0,0068	0,0096	0,01	0,0010	9,31	0,0011	0,0018	41
Cymoxanil	100,3	0,0051	0,0071	0,01	0,0003	2,99	0,0009	0,0015	34
Cyprodinil	102,4	0,0083	0,0175	0,02	0,0013	6,35	///	///	///
Desetilatraxina	94,5	0,0047	0,0060	0,01	0,0003	3,39	0,0008	0,0014	32
desetilterbutilazina	119,5	0,0047	0,0067	0,01	0,0012	10,13	0,0012	0,0020	43
desisopropilAtraxina (*)	92,5	0,0044	0,0054	0,01	0,0007	7,03	0,0012	0,0010	23
Dichlorvos	102,3	0,0120	0,0231	0,02	0,0009	4,50	///	///	///
Difenoconazole	89,5	0,0058	0,0079	0,05	0,0005	5,81	0,0013	0,0011	26
Dimethenamide	109,8	0,0123	0,0141	0,01	0,0010	9,47	0,0010	0,0018	42
Dimethoate	102,7	0,0049	0,0061	0,01	0,0005	4,58	0,0007	0,0012	28
Diuron	85,5	0,0062	0,0105	0,01	0,0011	13,22	0,0013	0,0020	47
Epoxiconazole	92,8	0,0069	0,0094	0,01	0,0006	6,25	0,0010	0,0014	32
Ethofumesate	105,3	0,0059	0,0126	0,01	0,0011	9,97	0,0013	0,0021	48
Fenbuconazole	107,7	0,0074	0,0141	0,01	0,0007	6,32	0,0014	0,0023	54
Flufenacet	87,8	0,0053	0,0068	0,01	0,0004	4,10	0,0012	0,0020	48
Fosalone	96,0	0,0041	0,0056	0,01	0,0004	3,75	0,0010	0,0013	29
Imidacloprid	96,3	0,0051	0,0056	0,01	0,0004	4,26	0,0011	0,0014	32
Indoxacarb	89,7	0,0070	0,0116	0,01	0,0013	14,05	0,0018	0,0029	68
Iprovalicarb	106,3	0,0058	0,0081	0,01	0,0007	6,30	0,0009	0,0013	30
isoproturon	101,7	0,0050	0,0066	0,01	0,0002	2,36	0,0008	0,0014	31
Isoxaflutole (*)	108,8	0,0090	0,0167	0,02	0,0013	12,31	///	///	///
Kresoxim-methyl	95,0	0,0068	0,0103	0,01	0,0003	3,47	0,0013	0,0017	38
Lenacyl	92,7	0,0051	0,0081	0,01	0,0004	4,21	0,0010	0,0018	40
Linuron	94,8	0,0061	0,0081	0,01	0,0006	6,43	0,0010	0,0021	47
Malathion	96,3	0,0048	0,0108	0,01	0,0009	9,65	///	///	///
Mandipropamid	107,2	0,0054	0,0085	0,01	0,0004	4,01	0,0010	0,0020	46
MCPP (*)	97,0	0,0241	0,0284	0,05	0,0063	12,99	///	///	///
Mepanipyrim	99,0	0,0064	0,0099	0,01	0,0010	10,51	0,0010	0,0018	42
Metalaxyl	90,5	0,0057	0,0081	0,01	0,0003	2,98	0,0009	0,0013	29
Metamitron	98,5	0,0052	0,0078	0,01	0,0004	4,37	0,0011	0,0012	28
Metazachlor	93,7	0,0056	0,0072	0,01	0,0003	2,67	0,0008	0,0012	29
Methidathion (*)	105,8	0,0058	0,0110	0,01	0,0013	12,66	///	///	///

Allegato 7

Parte B: LC-MS/MS mod. 5500 ABSciex, iniezione diretta (2 di 2) – concentrazione 0,01 µg/L

Valore di parametro 0,1 (µg/L)	Esattezza (a) (%)	LdR calc (b) (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	S (c) (µg/L)	CV (c) (%)	Δi (µg/L)	Ue (µg/L)	Ue/U _r *100 (%)
Methoxyfenozide	110,3	0,0072	0,0107	0,01	0,0006	5,17	0,0012	0,0018	43
Metobromuron	89,5	0,0064	0,0097	0,01	0,0006	7,04	0,0010	0,0015	34
Metolachlor	99,3	0,0055	0,0069	0,01	0,0002	1,71	0,0008	0,0012	28
Metribuzin	90,0	0,0064	0,0122	0,01	0,0008	9,33	0,0009	0,0019	43
Paration Etile (*)	71,3	0,0067	0,0124	0,01	0,0006	7,71	///	///	///
Penconazole	110,5	0,0054	0,0076	0,01	0,0006	5,61	0,0012	0,0008	19
Pendimetalin (*)	92,3	0,0057	0,0076	0,01	0,0004	4,22	///	///	///
Phetoxamid	106,2	0,0049	0,0069	0,01	0,0007	6,69	0,0009	0,0014	34
Pirimicarb	108,0	0,0052	0,0061	0,01	0,0003	3,15	0,0006	0,0011	25
Propachlor	100,0	0,0057	0,0073	0,01	0,0007	7,20	0,0006	0,0011	25
Propazine	82,7	0,0052	0,0062	0,01	0,0005	6,17	0,0008	0,0016	37
Propiconazole	105,3	0,0047	0,0078	0,01	0,0004	3,99	0,0011	0,0017	39
Propyzamide	98,3	0,0050	0,0067	0,01	0,0005	4,68	0,0009	0,0013	30
Pyraclostrobin	87,8	0,0039	0,0055	0,01	0,0008	9,56	0,0007	0,0015	35
Pyrimethanil	103,8	0,0074	0,0145	0,01	0,0022	10,70	0,0012	0,0020	45
Simazine	98,8	0,0057	0,0081	0,01	0,0004	3,74	0,0009	0,0010	23
Spirotetramat	104,5	0,0049	0,0070	0,01	0,0005	4,31	0,0012	0,0025	58
Spiroxamine (*)	106,0	0,0041	0,0046	0,01	0,0007	6,23	///	///	///
Tebufenozide	104,8	0,0067	0,0118	0,01	0,0011	10,78	0,0014	0,0022	54
Terbutylazine	93,2	0,0048	0,0065	0,01	0,0009	9,12	0,0010	0,0016	37
Tetraconazole	103,7	0,0073	0,0110	0,01	0,0007	7,04	0,0014	0,0022	52
Thiacloprid	104,7	0,0048	0,0052	0,01	0,0007	6,59	0,0007	0,0012	27
Thiamethoxam	110,3	0,0049	0,0054	0,01	0,0010	8,61	0,0009	0,0013	29
Thiobencarb	101,3	0,0043	0,0058	0,01	0,0003	3,36	0,0007	0,0012	27
Triticonazole (*)	97,8	0,0071	0,0117	0,01	0,0008	7,97	///	///	///
Zoxamide	102,5	0,0107	0,0190	0,02	0,0031	14,88	///	///	///
2,4-D	95,9	0,0275	0,0408	0,05	0,0021	4,32	///	///	///
2,4-DP (Dichlorprop)	99,2	0,0263	0,0417	0,05	0,0033	6,69	///	///	///

Allegato 8

Parte B: LC-MS/MS mod. Waters Xevo TQ-S iniezione diretta (1 di 3) – concentrazione 0,1 µg/L

Sostanza attiva	LdR calc. (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	CV Ripetibilità (%)
2,4,5-T	0,0045	0,0159	0,02	6,35
2,4-D	0,0025	0,0089	0,01	7,15
Acephate	0,0042	0,0150	0,02	6,01
Acetamiprid	0,0001	0,0004	0,01	7,47
Aldicarb sulfone	0,0010	0,0034	0,01	6,81
Amidosulfuron	0,0019	0,0067	0,01	5,36
Atrazine	0,0005	0,0017	0,01	6,92
Atrazine-desethyl	0,0002	0,0007	0,01	7,26
Azinphos-ethyl	0,0011	0,0039	0,01	7,82
Azinphos-methyl	0,0037	0,0132	0,02	5,28
Azoxystrobin	0,0009	0,0031	0,01	6,23
Benfuracarb	0,0023	0,0081	0,01	8,13
Bentazone	0,0015	0,0052	0,01	4,16
Bitertanol	0,0067	0,0237	0,05	9,46
Boscalid	0,0006	0,0020	0,01	7,97
Bupirimate	0,0009	0,0031	0,01	6,16
Buprofezin	0,0003	0,0009	0,01	9,16
Cadusafos	0,0006	0,0021	0,01	8,42
Carbaryl	0,0051	0,0179	0,02	7,16
Carbendazim	0,0027	0,0096	0,01	9,55
Carbofuran	0,0002	0,0008	0,01	7,99
Chlorfenvinphos	0,0009	0,0033	0,01	2,61
Chlorpyrifos Ethyl	0,0012	0,0042	0,01	8,34
Cibutrina	0,0013	0,0046	0,01	9,20
Clodinafop-propargyl	0,0005	0,0019	0,01	7,71
Clomazone	0,0023	0,0081	0,01	8,06
Clothianidin	0,0004	0,0014	0,01	5,78
Coumaphos	0,0007	0,0024	0,01	9,71
Cymoxanil	0,0045	0,0160	0,02	6,39
Cyproconazole	0,0026	0,0092	0,01	3,66
Cyprodinil	0,0014	0,0051	0,01	10,17
Demeton-S-methyl-sulfon	0,0002	0,0008	0,01	8,20
Diazinon	0,0016	0,0058	0,01	5,75
Dichlorvos	0,0028	0,0099	0,01	9,91
Dimethoate	0,0002	0,0008	0,01	3,13
Dimethomorph	0,0010	0,0034	0,01	6,71
Diuron	0,0004	0,0012	0,01	4,98
Dodemorph	0,0007	0,0023	0,01	9,32
Etoxazole	0,0015	0,0053	0,01	5,30
Fenamidone	0,0003	0,0009	0,01	9,23
Fenamiphos	0,0002	0,0008	0,01	8,24
Fenarimol	0,0010	0,0037	0,01	7,33
Fenazaquin	0,0027	0,0095	0,01	9,52
Fenhexamid	0,0012	0,0042	0,01	8,34
Fenpropimorph	0,0028	0,0098	0,01	9,76

Allegato 8

Parte B: LC-MS/MS mod. Waters Xevo TQ-S iniezione diretta (2 di 3) – concentrazione 0,1 µg/L

Sostanza attiva	LdR calc. (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	CV Ripetibilità (%)
Fenpyroximat	0,0019	0,0068	0,01	6,82
Fenthion	0,0012	0,0042	0,01	8,48
Flonicamid	0,0011	0,0039	0,01	7,87
Florasulam	0,0001	0,0005	0,01	10,35
Fluazifop-P-butyl	0,0012	0,0042	0,01	8,49
Fludioxonil	0,0022	0,0080	0,01	6,36
Fluroxypyr	0,0024	0,0084	0,01	8,37
Fosthiazate	0,0002	0,0007	0,01	6,56
Furalaxil	0,0003	0,0010	0,01	9,57
Heptenofos	0,0013	0,0046	0,01	9,26
Hexaflumuron	0,0064	0,0228	0,02	9,14
Hexythiazox	0,0020	0,0071	0,01	7,14
Imazamox	0,0007	0,0025	0,01	4,92
Imazapyr	0,0001	0,0005	0,01	9,08
Imidacloprid	0,0009	0,0032	0,01	6,40
Iodosulfuron-methyl-sodium	0,0043	0,0153	0,02	6,13
Ioxynil	0,0056	0,0197	0,02	7,88
Iprovalicarb (a+b)	0,0014	0,0048	0,01	9,61
Isoproturon	0,0002	0,0008	0,01	7,74
Linuron	0,0006	0,0020	0,01	7,89
MCPA	0,0038	0,0133	0,02	5,34
Mepanipyrim	0,0012	0,0041	0,01	8,21
Mesosulfuron-methyl	0,0005	0,0016	0,01	6,57
Metalaxyl	0,0003	0,0010	0,01	3,87
Metazachlor	0,0002	0,0006	0,01	6,02
Methiocarb	0,0010	0,0036	0,01	7,13
Methomyl	0,0028	0,0099	0,01	9,93
Methoxyfenozide	0,0051	0,0179	0,02	7,18
Metolachlor	0,0009	0,0033	0,01	6,58
Metribuzin	0,0028	0,0098	0,01	9,82
Metsulfuron-methyl	0,0001	0,0004	0,01	8,03
Mevinphos	0,0006	0,0021	0,01	4,29
Molinate	0,0070	0,0249	0,05	9,97
Monolinuron	0,0006	0,0022	0,01	8,65
Myclobutanil	0,0014	0,0050	0,01	10,06
Omethoate	0,0002	0,0008	0,01	7,91
Oxadixyl	0,0034	0,0119	0,02	4,75
Oxamyl	0,0023	0,0083	0,01	8,29
Oxydemeton-methyl	0,0001	0,0004	0,01	8,92
Parathion-Methyl	0,0012	0,0044	0,01	8,80
Penconazole	0,0007	0,0024	0,01	4,74
Pendimethalin	0,0070	0,0249	0,05	9,97
Phosmet	0,0009	0,0031	0,01	6,22
Picloram	0,0043	0,0153	0,02	6,11
Picoxystrobin	0,0052	0,0183	0,02	7,32

Allegato 8

Parte B: LC-MS/MS mod. Waters Xevo TQ-S iniezione diretta (3 di 3) – concentrazione 0,1 µg/L

Sostanza attiva	LdR calc. (µg/L)	LdQ calc. (µg/L)	LdQ appl. (µg/L)	CV Ripetibilità (%)
Pinoxaden	0,0002	0,0007	0,01	7,48
Pirimicarb	0,0001	0,0004	0,01	7,30
Pirimiphos-methyl	0,0008	0,0030	0,01	5,94
Prometryn	0,0003	0,0011	0,01	4,40
Propamocarb	0,0008	0,0028	0,01	5,56
Propargite	0,0058	0,0205	0,05	8,21
Propiconazole	0,0003	0,0010	0,01	9,81
Propoxur	0,0059	0,0210	0,02	8,39
Propyzamide	0,0023	0,0082	0,01	8,21
Pymetrozine	0,0006	0,0023	0,01	9,18
Pyraclostrobin	0,0013	0,0045	0,01	8,93
Pyrazophos	0,0005	0,0018	0,01	7,13
Pyrimethanil	0,0013	0,0048	0,01	9,55
Quinoxifen	0,0013	0,0047	0,01	4,69
Rimsulfuron	0,0005	0,0019	0,01	7,61
Simazine	0,0006	0,0021	0,01	8,36
Sulcotrione	0,0003	0,0009	0,01	9,19
Tebuconazole	0,0005	0,0016	0,01	6,49
Terbutylazine	0,0001	0,0004	0,01	7,72
Terbutylazine-desethyl	0,0003	0,0009	0,01	9,45
Tetraconazole	0,0023	0,0082	0,01	8,18
Thiabendazole	0,0001	0,0005	0,01	10,27
Thiacloprid	0,0001	0,0005	0,01	10,26
Thiamethoxam	0,0001	0,0005	0,01	10,15
Thiophanate Methyl	0,0026	0,0094	0,01	9,38
Triadimefon	0,0006	0,0022	0,01	8,86
Triadimenol	0,0064	0,0227	0,05	9,09
Triasulfuron	0,0002	0,0008	0,01	7,59
Triazophos	0,0013	0,0045	0,01	9,07
Tribenuron methyl	0,0004	0,0016	0,01	6,25
Trichlorfon	0,0006	0,0020	0,01	7,91
Zoxamide	0,0006	0,0020	0,01	7,92

Allegato 9
Parte A: GC-MS-MS, SPE Offline

Valore di parametro (0,1 µg/L)	Esattezza (%)	LdQ appl. (µg/L)	S (µg/L)	CV (%)	Ue (µg/L)	Ue/U _r *100 (%)
Aclonifen	102,8	0,025	0,0076	6,6	0,041	93
Azinfos etil	104,6	0,025	0,0055	4,7	0,039	89
Azinfos metil	111,9	0,025	0,0043	3,5	0,041	93
Boscalid	97,4	0,025	0,0041	3,9	0,035	81
Bupirimate	93,4	0,025	0,0074	6,7	0,039	90
Ciprodinil	81,9	0,025	0,0039	3,8	0,035	79
Difenoconazolo	87,2	0,025	0,0107	10,6	0,040	91
Dimetomorph	96,5	0,025	0,0087	8,6	0,037	85
Endosulfan solfato	98,8	0,025	0,0069	6,1	0,039	89
Epossiconazolo	109,8	0,025	0,0061	5,1	0,041	93
Fenamidone	104,8	0,025	0,0057	4,4	0,044	100
Fenarimol	97,9	0,025	0,0045	3,9	0,039	89
Fenbuconazolo	92,2	0,025	0,0082	8,1	0,037	84
Flusilazolo	92,8	0,025	0,0067	5,7	0,041	92
Fosalone	102,3	0,025	0,0075	7,0	0,038	86
Kresoxim-methyl	98,9	0,025	0,0060	5,5	0,038	85
Metossicloro	80,9	0,025	0,0086	8,5	0,038	85
Myclobutanil	104,7	0,025	0,0057	4,7	0,041	94
p, p DDD	80,1	0,025	0,0084	8,6	0,036	82
Parathion	75,5	0,025	0,0057	6,3	0,032	72
Procloraz	85,1	0,025	0,0113	11,0	0,041	93
Propiconazolo	105,1	0,025	0,0071	6,3	0,040	90
Tebuconazolo	106,2	0,025	0,0067	5,1	0,045	102
Trifloxistrobina	81,9	0,025	0,0085	9,1	0,035	80

Legenda:

LdR: limite di rilevazione

LdQ: limite di quantificazione

S: scarto tipo di ripetibilità

CV: coefficiente di variazione

Ue: incertezza estesa

U_r: incertezza valutata attraverso la relazione di Thompson

Allegato 10

Parte B: Detector di massa ad alta risoluzione Orbitrap Q-Exactive Focus abbinato al UHPLC Thermo Ultimate 3000, iniezione diretta – concentrazione 0,1 µg/L

Valore di parametro	Esattezza	LdR calc.	LdQ calc.	LdQ appl.	S	CV	Δi	Ue	Ue/UT*100
	%	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%	µg/L	µg/L	%
alachlor	0,93	0,00029	0,0014	0,010	0,0013	1,3	0,0027	0,0037	17
ametryn	1,05	0,00017	0,00087	0,010	0,00073	0,7	0,0011	0,0029	13
atrazine	1,40	0,00018	0,00092	0,010	0,00077	0,8	0,0018	0,0033	15
atrazine-desethyl	4,16	0,00040	0,0020	0,010	0,0019	1,9	0,0025	0,0050	23
atrazine-desisopropyl	6,22	0,00044	0,0022	0,010	0,0013	1,4	0,0022	0,0042	19
azinphos-ethyl	2,03	0,00051	0,0026	0,010	0,0013	1,3	0,0019	0,0037	17
azinphos-methyl	0,74	0,00035	0,0017	0,010	0,0014	1,4	0,0019	0,0042	19
chlorpyrifos	1,43	0,00098	0,0049	0,010	0,0026	2,6	0,0047	0,0070	32
DACT	6,22	0,00103	0,0051	0,010	0,0022	2,5	0,0035	0,0059	27
dimethoate	1,20	0,00015	0,00074	0,010	0,0009	0,9	0,0015	0,0031	14
ethoprophos	0,70	0,00017	0,0008	0,010	0,00082	0,8	0,0016	0,0030	14
etrimfos	0,14	0,00025	0,0013	0,010	0,0005	0,5	0,0013	0,0030	14
fonofos	1,56	0,00122	0,0061	0,010	0,0048	4,9	0,0070	0,011	48
heptenophos	1,02	0,00019	0,00097	0,010	0,00075	0,8	0,0016	0,0030	13
isofenphos	5,25	0,00097	0,0048	0,010	0,0045	4,7	0,0047	0,0098	44
malathion	13,08	0,00026	0,0013	0,010	0,0010	1,2	0,0022	0,0037	17
methacrifos	0,76	0,00077	0,0039	0,010	0,00095	1,0	0,0022	0,0039	18
methidathion	0,97	0,00016	0,00078	0,010	0,00097	1,0	0,0013	0,0036	17
metolachlor	0,46	0,00019	0,00097	0,010	0,0008	0,8	0,0014	0,0031	14
metribuzin	0,67	0,00025	0,0013	0,010	0,00038	0,4	0,00083	0,0029	13
mevinphos	0,22	0,00050	0,0025	0,010	0,0011	1,1	0,0021	0,0035	16
molinate	1,73	0,00060	0,0030	0,010	0,0017	1,6	0,0026	0,0043	20
oxadiazon	5,84	0,00135	0,0067	0,010	0,0033	3,5	0,0045	0,0097	44
pendimenthalin	6,64	0,00054	0,0027	0,010	0,0033	3,5	0,0042	0,0121	55
phosalone	0,97	0,00048	0,0024	0,010	0,0022	2,2	0,0028	0,0075	34
phosphamidon	1,04	0,00025	0,0012	0,010	0,0011	1,1	0,0013	0,0034	16
pirimiphos-ethyl	6,19	0,00114	0,0057	0,010	0,0068	7,2	0,0076	0,0166	75
pirimiphos-methyl	1,37	0,00034	0,0017	0,010	0,0021	2,2	0,0026	0,0051	23
prometryn	0,68	0,00019	0,00097	0,010	0,00056	0,7	0,0019	0,0030	14
simazine	2,74	0,00013	0,00063	0,010	0,0013	1,3	0,0016	0,0036	16
terbuthylazine	2,26	0,00034	0,0017	0,010	0,0010	1,0	0,0013	0,0033	15
terbuthylazine-desethyl	3,91	0,00040	0,0020	0,010	0,0014	1,5	0,0021	0,0041	18
terbutryn	1,23	0,00029	0,0014	0,010	0,00094	1,2	0,0022	0,0033	15

Allegato 11

Elenco (non esaustivo) di sostanze attive determinabili in cromatografia liquida abbinata alla HRMS

Sostanza attiva	Formula	massa esatta (monoisotopica)	[M+H] ⁺	Frammento caratteristico
ametryn	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	227,1205	228,1277	186,0808
atrazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215,0938	216,1011	174,0541
atrazine-desethyl	C ₆ H ₁₀ ClN ₅	187,0624	188,0697	146,0228
atrazine-desisopropyl	C ₅ H ₈ ClN ₅	173,0468	174,054	104,001
azinphos-ethyl	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS ₂	345,0371	346,0444	132,0444
azinphos-methyl	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317,0058	318,0131	132,0444
chlorpyrifos	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	348,9263	349,9336	197,9276
DACT	C ₃ H ₄ ClN ₅	145,0155	146,0227	68,0251
dimethoate	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	228,9996	230,0069	198,9647
ethoprophos	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	242,0564	243,0637	172,9854
etrimfos	C ₁₀ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	292,0646	293,0719	265,0413
fonofos	C ₁₀ H ₁₅ OPS ₂	246,0302	247,0375	137,0184
heptenophos	C ₉ H ₁₂ ClO ₄ P	250,0162	251,0235	127,0154
isofenphos	C ₁₅ H ₂₄ NO ₄ PS	345,1163	346,1236	216,9725
malathion	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	347,0626	348,0699	127,0389
methacrifos	C ₇ H ₁₃ O ₅ PS	257,0487	258,056	209,0036
methidathion	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	318,9884	319,9957	145,0066
metolachlor	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	283,1339	284,1412	252,115
metribuzin	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	214,0888	215,0961	187,1012
mevinphos	C ₇ H ₁₃ O ₆ P	241,0715	242,0788	127,0155
molinate	C ₉ H ₁₇ NOS	187,1031	188,1104	126,0913
oxadiazon	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	361,096	362,1033	303,0298
pendimenthalin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281,1375	282,1448	212,0666
phosalone	C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂	384,0134	385,0207	182,0003
phosphamidon	C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P	316,0955	317,1028	127,0155
pirimiphos-ethyl	C ₁₃ H ₂₄ N ₃ O ₃ PS	333,1276	334,1349	198,1058
pirimiphos-methyl	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	305,0963	306,1036	164,1182
prometryn	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241,1361	242,1434	158,0495
simazine	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201,0781	202,0854	132,0323
terbutylazine	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229,1094	230,1167	174,0541
terbutylazine-desethyl	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201,0781	202,0853	146,0228
terbutryn	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241,1361	242,1434	186,0808

Determinazione di antiparassitari in acque destinate a consumo umano mediante SPME-GC/MS-MS

a cura di

Lydia Balest (*), Pier Paolo Abis, *Acquedotto Pugliese SpA - Bari*

RIASSUNTO

E' stato sviluppato un metodo basato sulla microestrazione in fase solida (SPME) accoppiato GC/MS-MS per la determinazione di diverse tipologie di antiparassitari in acque destinate a consumo umano a livelli di nanogrammi per litro. Il metodo, completamente automatizzato, è stato ottimizzato in tutte le sue fasi: dalle condizioni di estrazione mediante SPME alla separazione gascromatografica dei diversi analiti e identificazione mediante spettrometria di massa. Il metodo, sottoposto a controllo di qualità delle prestazioni, consente di determinare simultaneamente 65 analiti in un campo di misura 0,001 – 0,1 µg/L fatta eccezione per gli analiti parathion metil, pirimicarb, propachlor, thionazin, trifluralin, bromacil per i quali il range di misura è 0,025 - 0,1 µg/L. ed è stato applicato al monitoraggio di routine delle acque distribuite, acque superficiali ed sotterranee .

SUMMARY

An analytical method based on solid phase microextraction coupled with gaschromatography in tandem with mass spectrometry (SPME/GC/MS-MS) for the determination of pesticides in drinking waters at sub ng/L concentrations has been optimized. Maximum recoveries and sensitivity were achieved by carefully optimizing both the extraction conditions for SPME and operational conditions for GC/MS-MS analysis. The developed method was applied for the routine monitoring plans of the concentrations of pesticides in drinking waters ranging from 0.001 ng/L to 0.1 µg/L except for parathion metil, pirimicarb, propachlor, thionazin, trifluralin, bromacil (0.025 -0.1 µg/L) and was employed by laboratories responsible of drinking water quality control to obtain in short time an improvement of water quality parameters, analyzing a major number of compounds with respect to what is recommended by Italian legislation for drinking waters .

1. INTRODUZIONE

Con il termine antiparassitari si intende un insieme di prodotti chimici utilizzati in agricoltura per contrastare lo sviluppo di parassiti nelle specie vegetali. In funzione delle caratteristiche chimiche dei principi attivi e del loro utilizzo nel territorio, possono migrare e lasciare residui nell'ambiente, comportando un rischio per l'uomo e per gli ecosistemi.

Il legislatore indica nell'ambito della normativa nazionale (D. Lgs.vo 31/01) per le acque potabili che tra i parametri chimici l'ente gestore deve monitorare, nei controlli interni, il parametro "antiparassitari" con un valore limite di 0,10 µg/L e con particolare restrizione (0,030 µg/L) per i composti Aldrin, Dieldrin, Eptacloro ed Eptacloro epossido ed esprime un valore limite di 0,50 µg/L per il parametro somma "antiparassitari-totale". Appartengono a questa macrocategoria, indicata nel parametro "antiparassitari totali", una serie di principi attivi relativi a differenti categorie di utilizzo: insetticidi, erbicidi, fungicidi, nematocidi, rodenticidi, acaricidi, alghicidi, sostanze antimuffa, e prodotti ad essi connessi ovvero loro metaboliti e prodotti di reazione.

Nell'ambito della DQA (Direttiva Quadro Acque UE 2015/1787) è stato individuato un elenco di sostanze, recepite a livello nazionale nel D.Lgs.vo 172/15, classificate come "pericolose prioritarie" che saranno progressivamente eliminate dal commercio fitosanitario, ed un gruppo di sostanze definite "prioritarie" per le quali si mira alla riduzione dell'utilizzo per ridurre

l'inquinamento. Nella tab. 1 sono indicate come "PP" le sostanze pericolose prioritarie quantificate in questo lavoro, come "P" le sostanze prioritarie, con "ED" le sostanze appartenenti al database redatto dalla Commissione Europea contenente una lista di priorità, modificabile in base agli sviluppi scientifici, con "S" le sostanze candidate alla sostituzione.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente metodo ha l'obiettivo di determinare e quantificare simultaneamente composti appartenenti a differenti categorie di pesticidi (tab. 1) in matrici acquose destinate al consumo umano, ovvero acque di corpi idrici superficiali e acque sottoposte a processo di potabilizzazione, usando una microestrazione in fase solida (SPME) accoppiata alla gascromatografia-spettrometria di massa tandem GC/MS-MS.

Il metodo prevede diverse fasi, dalla estrazione alla determinazione strumentale, tutte automatizzate e gestite da un unico software di gestione. Una volta trasferito in una *vial* in vetro del volume di 20 mL per autocampionatore, il campione viene addizionato di una quantità nota di una miscela di standard interni deuterati. La concentrazione incognita di ciascun analita viene ricavata mediante regressione lineare ottenuta in fase di taratura del metodo con standard interno e con opportune soluzioni di riferimento degli analiti da quantificare. A ciascun analita è stato associato un composto deuterato di riferimento, così come specificato in Tabella 1.

* l.balest@aqp.it

Tabella 1. Analiti quantificati (pagina 1 di 3)

Analita	lone quantificatore m/z (CE)	lone conferma m/z (CE)	Tr	Standard interno di riferimento	+Info
TrimethylPhosphorothionate	93 →63 (14 ev)	156 →93 (10 ev)	6.15	Naftalene-D8	
1,2,3,4-Tetraclorobenzene	214 →143 (20 ev)	216 →181 (35 ev)	9.40	Naftalene-D8	
2,6-Dichlorobenzamide	173 →109 (25 ev)	173 →145 (34 ev)	11.83	Acenaftene D10	
Aldrin	262 →190 (20 ev)	262 →192 (20 ev)	15.78	Fenantrene D10	P/ED
Atrazina	214 →172 (10 ev)	215 →172 (10 ev)	12.35	Acenaftene D10	P/ED
Atrazina desetyl	172 →94 (10 ev)	174 →81 (10 ev)		Acenaftene D10	
Atrazina desisopropyl	153 →125 (10 ev)	153 →145 (15 ev)	11.77	Acenaftene D10	
Benfluralin	264 →160 (15 ev)	173 →145 (15 ev)	11.75	Acenaftene D10	
Bromacil	204→187 (12 ev)	206 →164 (12 ev)	15.15	Fenantrene D10	ED
Bromopropilate	183 →155 (15 ev)	185 →157 (15 ev)	22.85	Pirene D10	
Carbetamide	91 →64 (10 ev)	119 →91 (10 ev)	14.85	Fenantrene D10	
Chlorpyriphos	197 →169 (30 ev)	314 →258 (30 ev)	15.85	Fenantrene D10	P/ED
Chlorpyriphos-methyl	286→93 (15 ev)	286→271 (20 ev)	14.55	Fenantrene D10	
Cyanazina	198 →55 (24 ev)	198 →91 (10 ev)		Fenantrene D10	ED
Diazinon	137 →54 (20 ev)	93 →63 (14 ev)	13.15	Acenaftene D10	ED
Dichlobenil	170 →99 (25 ev)	170 →136 (14 ev)	9.06	Naftalene-D8	
Dicloran	176 →148 (12 ev)	206 →176 (12 ev)	12.41	Acenaftene D10	
Dieldrin	235 →165 (10 ev)	263 →193 (30 ev)	18.85	Pirene D10	P/ED
Dimethenamid	154 →111 (10 ev)	230 →154 (15 ev)	14.35	Fenantrene D10	
Dimethoate	283 →213 (12 ev)	283 →248 (14 ev)	12.50	Acenaftene D10	ED/S
Endosulfan alfa	195 →160 (6 ev)	240 →206 (15 ev)	18.05	Pirene D10	PP/ED
Endosulfan beta	195 →159 (26 ev)	241 →206 (16 ev)	19.75	Pirene D10	ED
Endosulfan Solfato	238 →203 (25 ev)	271 →234 (15 ev)	21.15	Pirene D10	ED
Endrin	245 →173 (22 ev)	263 →193 (30 ev)	19.55	Pirene D10	P/ED
Endrin aldehyde	173→138 (15 ev)	249 →214 (20 ev)	20.40	Pirene D10	
Endrin Ketone	209 →138 (15 ev)	316 →281 (40ev)	22.71	Pirene D10	
Ethofumesate	161 →77 (25ev)	161 →105 (10 ev)	15.20	Fenantrene D10	

Tabella 1. Analiti quantificati (pagina 2 di 3)

Analita	lone quantificatore m/z (CE)	lone conferma m/z (CE)	Tr	Standard interno di riferimento	+Info
Famphur	218 →93 (10 ev)	218 →79 (30 ev)	20.61	Pirene D10	
Fenitrothion	125 →79 (10 ev)	277 →260 (10ev)	15.06	Fenantrene D10	
HCH alfa	181→145 (20 ev)	219 →183 (35 ev)	12.49	Acenaftene D10	PP
HCH Beta	181→145 (15 ev)	219 →183 (20 ev)	12.85	Fenantrene D10	PP
HCH delta	180 →144 (25 ev)	218 →182 (30 ev)	13.55	Fenantrene D10	PP/ED
HCH gamma Lindano	181 →145 (25 ev)	219 →183 (20 ev)	13.05	Fenantrene D10	PP
Heptachlor	99 →65 (10 ev)	272 →237 (25 ev)	14.55	Fenantrene D10	PP/ED
Heptachloro Epox trans	352 →262 (30 ev)	354 →264 (15 ev)	16.92	Fenantrene D10	PP/ED
Hexachlorobenzene	283 →213 (15 ev)	283 →248 (22 ev)	12.47	Acenaftene D10	PP
Isodrin	193 →123 (15 ev)	193 →157 (25 ev)	16.60	Fenantrene D10	P
Linuron	187 →124 (15 ev)	133 →132 (10 ev)	16.65	Fenantrene D10	S
Metazachlor	133→117 (15 ev)	133→ 132 (10 ev)	16.65	Fenantrene D10	
Methoxychlor	227 →141 (15 ev)	227 →169 (15 ev)	23.05	Crisene D12	
Metolachlor	314 →286 (45 ev)	314 →258 (35 ev)		Fenantrene D10	
Mirex	271 →236 (32 ev)	273→238 (30 ev)	24.57	Crisene D12	
Molinate	126 →55 (12 ev)	126 →83 (6 ev)	10.60	Acenaftene D10	ED/S
Oxyfluorfen	252 →146 (20 ev)	252 →169 (15 ev)	18.90	Pirene D10	S
p,p DDD	235→165 (10 ev)	237 →165 (24 ev)	21.29	Pirene D10	P/ED
p,p DDE	246→176 (25 ev)	318 →248 (32ev)	20.06	Pirene D10	P/ED
p,p DDT	235 →165 (10ev)	237→165 (20 ev)	18.75	Pirene D10	P/ED
Parathion ethyl	197→169 (15 ev)	314 →258 (30 ev)	15.88	Fenantrene D10	ED
Parathion methyl	125 →47 (30 ev)	263 →109 (10 ev)	14.51	Fenantrene D10	ED
Penconazole	159 →89 (5 ev)	248→157 (15 ev)	16.75	Fenantrene D10	
Pendimethalin	252 →162 (8 ev)	252 →191 (20 ev)	16.85	Fenantrene D10	ED/S
Pentachlorobenzene	247 →213 (25 ev)	249 →214 (12 ev)	10.55	Acenaftene D10	PP
Pirimicarb	166 →55 (20 ev)	238 →166 (10ev)	13.86	Fenantrene D10	S
Prometryn	226→184 (10 ev)	241 →184 (10 ev)	14.75	Fenantrene D10	ED

Tabella 1. Analiti quantificati (pagina 3 di 3)

Analita	Ione quantificatore m/z (CE)	Ione conferma m/z (CE)	Tr	Standard interno di riferimento	+Info
Propachlor	93 →63 (14 ev)	93 →63 (14 ev)	12.54	Acenaftene D10	
Propazine	214 →172 (10 ev)	229 →58 (10 ev)	12.75	Acenaftene D10	
Simazine	173 →138 (10 ev)	173 →172 (10 ev)	12.45	Acenaftene D10	P/ED
Sulfotep	202 →146 (15 ev)	322 →145 (15 ev)	11.95	Acenaftene D10	
Terbutryn	226 →68 (25 ev)	241 →185 (10 ev)	15.05	Fenantrene D10	P
Terbutylazina	173 →172 (10 ev)	229 →58 (10 ev)	12.66	Acenaftene D10	
Terbutylazina desetyl	186 →83 (15 ev)	188 →83 (15 ev)	11.83	Acenaftene D10	
Tetrachlorvinphos	329 →109 (12 ev)	331 →109 (10 ev)	17.90	Pirene D10	ED
Tetradifon	111 →75 (15 ev)	159 →131 (10 ev)	23.86	Crisene D12	
Thionazin	143 →52 (20 ev)	143 →79 (10 ev)	11.25	Acenaftene D10	
Trifluralin	264 →160 (15 ev)	306 →264 (34 ev)	11.84	Acenaftene D10	PP
Vernolate	146 →86 (20 ev)	146 →128 (20 ev)	9.69	Naftalene-D8	
Vinclozolin	198 →145 (15 ev)	212 →172 (10 ev)	14.50	Fenantrene D10	

3. CAMPO DI APPLICAZIONE

La procedura analitica è applicabile alle acque destinate al consumo umano, superficiali e sotterranee. Il campo di misura del metodo è variabile per degli analiti riportati in Tabella 1; concentrazioni superiori possono essere determinate previa diluizione del campione con acqua di rete esente dagli analiti di interesse. Il limite di quantificazione è stato definito, per ogni analita, pari alla concentrazione del primo livello di taratura. Per tutti i composti il range lineare è 0,001 - 100 µg/L, esclusi gli analiti bromacile, parathion metil, pirimicarb, propachlor, thionazin, trifluralin per i quali il range lineare è 0,025 -100 µg/L.

4. INTERFERENZE

4.1 Interferenze dovute al campionamento

La presenza di cloro libero residuo nelle acque, proveniente da trattamenti di disinfezione, può alterare i risultati analitici a causa della possibile formazione di derivati clorurati; questo effetto può essere minimizzato con l'aggiunta di piccole quantità di un riducente (ad esempio tiosolfato di sodio) al momento del campionamento.

Una sovrastima delle concentrazioni può verificarsi anche a causa di contaminazioni provenienti dall'ambiente di lavoro (cappa di aspirazione, frigorifero, ecc.) se non vengono adottati opportuni accorgimenti.

4.2 Interferenze durante l'analisi

Gli spettri di massa di alcuni analiti riportati in Tabella 1 sono interferiti da quelli di altri analiti che eluiscono con tempo di ritenzione simile o che non sono completamente risolti cromatograficamente. In questi casi, il monitoraggio della seconda transizione, ovvero dello ione di conferma, consente di identificare il composto. Errori in eccesso possono essere indotti anche da effetti memoria dell'autocampionatore o del dispositivo di estrazione. In tal caso la contaminazione deve essere eliminata ottimizzando il tempo e la temperatura di condizionamento della fibra, da effettuarsi prima e dopo le analisi e/o analizzando ripetutamente bianchi fino alla totale scomparsa dei segnali attribuiti all'effetto memoria.

5. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Il prelievo del campione deve essere effettuato, evitando gorgogliamenti, in vial in vetro scuro da 40 mL munito di tappo a vite con setto in teflon, in cui è stata precedentemente aggiunta una punta di spatola di tiosolfato di sodio in polvere, riempiendo il contenitore completamente con la matrice da analizzare evitando la formazione di bolle o sacche d'aria e chiudendo ermeticamente la vial, con la parte teflonata del setto rivolta all'interno. Dopo il prelievo, la vial va agitata per uniformarne il contenuto. I campioni in

arrivo in laboratorio devono essere conservati in frigo (2 ÷ 8 °C) ed analizzati entro 7 giorni dal prelievo.

6. APPARECCHIATURE

- 6.1 Autocampionatore CTC Analitics del tipo RSH pal munito di n. 3 tools per SPME, n.1 tool per siringa per iniezioni di liquidi, n. 1 stazione di condizionamento per SPME, n. 1 agitatore meccanico termostato;
- 6.2 Fibra per SPME (Supelco) del tipo "red" in PDMS , 100 µm alloggiata in apposito holder;
- 6.3 Gascromatografo Trace 1310 (Thermo Fisher) munito di colonna capillare del tipo TG-5MS 30m x 0,25 mm;
- 6.4 Spettrometro di massa con analizzatore a triplo quadrupolo TSQ 8000 Evo (Thermo Fisher);
- 6.5 Vials in vetro con tappo magnetico a vite da 20 mL, muniti di setto monouso in silicone rivestito in teflon;
- 6.6 Piepette tarate a volume variabile Gilson (2-10 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL, 1-5 mL, 1-10 mL).

7. REAGENTI

- 7.1 Acetone ultrapuro, utilizzato per la preparazione delle soluzioni intermedie di riferimento;
- 7.2 Acqua di rete esente da composti organici clorurati, utilizzata per il bianco di analisi e per la preparazione delle soluzioni di riferimento;

8. MATERIALI DI RIFERIMENTO

- 8.1 Soluzione di riferimento MIX pesticidi 20 componenti (1 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: 1,2,3,4-Tetraclorobenzene, 2,6-Dichlorobenzamide, Alachlor, Atrazine, Atrazine-desethyl, Bromopropylate, Chlorpyriphos, Chlorpyriphos-methyl, Dimethenamid, Dimethoate, Disulfoton, Hexachlorobenzene, Parathion ethyl, Famphur, Linuron, Isodrin, Metolachlor, Parathion-methyl, Mirex, Benfluralin;
- 8.2 Soluzione di riferimento MIX pesticidi 19 componenti (1 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: Benfluralin, Molinate, Penconazole, Pentachlorobenzene, Pendimethalin, Phorate, Pirimicarb, Prometryn, Propachlor, Propazine, Simazine, Sulfotep, Tetrachlorvinphos, Tetradion, Thionazin, O,O,O-Trimethylphosphorothionate, Trifluralin, Vernolate Vinclozolin;
- 8.3 Soluzione di riferimento MIX pesticidi 5 componenti (100 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: Diclobenil, Dicloran, Fenitrition, Nitrobenzene, Oxyfluorfen;
- 8.4 Soluzione di riferimento MIX pesticidi 18 compo-

nenti (1 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: Aldrin, HCH alfa, HCH beta, HCH delta, HCH gamma lindato, p,p' - DDD, p,p' - DDE, p,p' - DDT, Dieldrin, Endosulfan alfa, Endosulfan beta, Endosulfan solfato. Endrin Aldeide, Endrin ketone, Endrin, Heptaclor, Heptacloro epossido trans, Methoxychlor;

- 8.5 Soluzione di riferimento Triazine & Urea mix Pesticidi 29 componenti (100 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: Atrazine, Atrazine-desethyl. Atrazine-desisopropyl, Metamitron, Chloridazon, Metoxuron, Carbetamide, Bromacil, Simazine, Cyanazie, Terbutyazine-desethyl, Methabenzthiazuron; Chlortoluron, Monolinuron Diuron, Isoproturon, Metazachlor, Metobromuron, Propazine, Dimefuron, Terbutylazine, Linuron, Chloroxuron, Prometryn, Chlorpropham, Terbutryn, Metolachlor, Ethidimuron, Ethofumesate;
- 8.6 Soluzione di riferimento Diazinon (1000 µg/mL): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in cloruro di metilene o solvente compatibile ad analisi GC/MS: Atrazine, Atrazine-desethyl. Atrazine-desisopropyl, Metamitron, Chloridazon, Metoxuron, Carbetamide, Bromacil, Simazine, Cyanazie, Terbutyazine-desethyl, Methabenzthiazuron; Chlortoluron, Monolinuron Diuron, Isoproturon, Metazachlor, Metobromuron, Propazine, Dimefuron, Terbutylazine, Linuron, Chloroxuron, Prometryn, Chlorpropham, Terbutryn, Metolachlor, Ethidimuron, Ethofumesate;
- 8.7 Soluzione di lavoro mix 100 µg/L: miscela di tutti gli analiti contenuti nelle soluzioni 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6 diluite ad una concentrazione finale di 100 µg/L in acetone;
- 8.8 Soluzioni di taratura. Miscela di tutti gli analiti contenuti nella soluzione di lavoro 6.7 diluiti secondo lo schema riportato in Tabella 2;
- 8.9 Soluzioni di controllo ICV (initial calibration verification) e LCS (laboratory control standard): per

Tabella 2. Livelli di concentrazione relativi alle soluzioni di taratura

Livello di taratura	Concentrazione (ng/L)	Volume da prelevare della soluzione intermedia (µL)	Volume finale (mL)
1	1.0	2	200
2	2.5	5	200
3	5.0	1	20
4	10.0	2	20
5	25.0	5	20
6	50.0	10	20
7	75.0	15	20
8	100.0	20	20

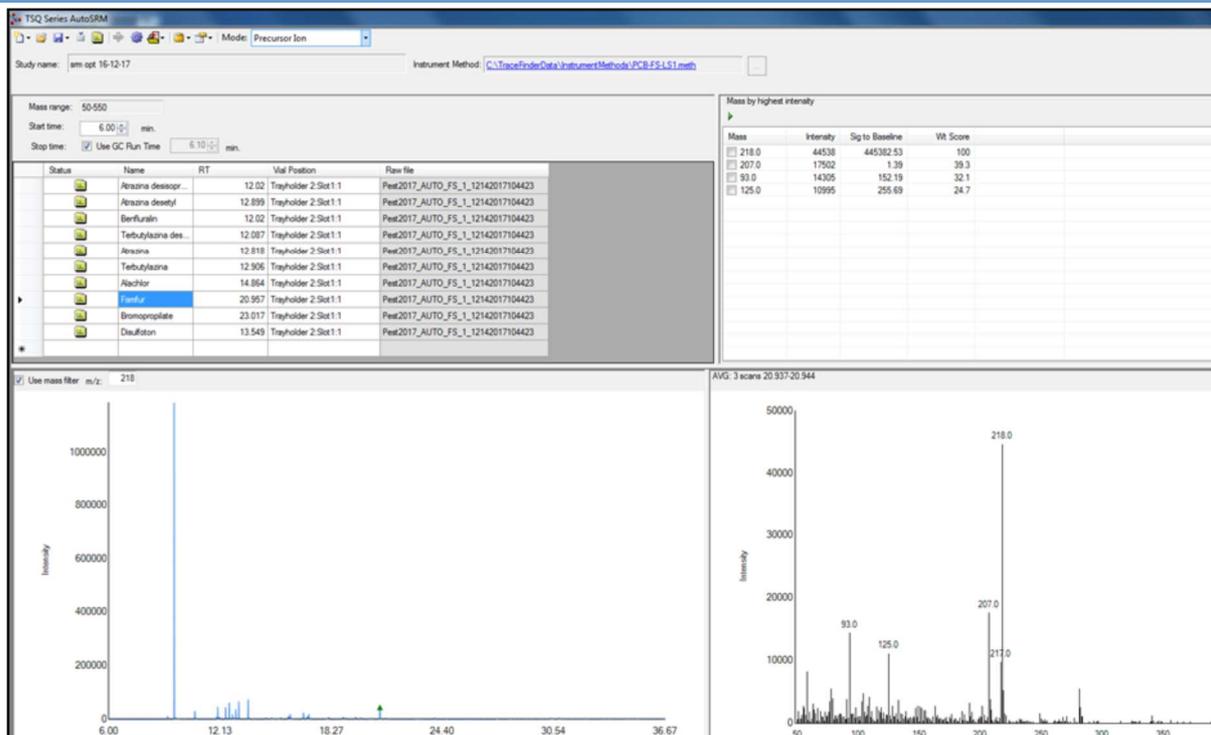


Figura 1. Selezione dei precursor ions per l'analita famfur

la preparazione dei campioni di controllo qualità è preferibile utilizzare un materiale di riferimento contenente almeno tutti gli analiti di interesse, di origine diversa da quello impiegato per la taratura, anche soltanto per numero di lotto e/o fiala utilizzata;

8.10 Soluzione di riferimento IPA deuterati (ISTD): fiala da 1 mL di soluzione commerciale certificata contenente i seguenti composti deuterati: Naftalene-D8, Acenafte-D10, Fenantrene-D10, Pirene-D10, Crisene-D12, Perilene-D12, alla concentrazione di 500 µg/mL in acetone o solvente compatibile ad analisi in GC/MS;

8.11 Soluzione di lavoro IPA deuterati (ISTD) 5 mg/L in acetone: in un matraccio tarato, riempito almeno a metà con acetone ultrapuro, introdurre la soluzione di riferimento IPA deuterati 500 µg/mL (8.10) sotto la superficie del solvente utilizzando una micropipetta tarata, quindi portare a volume con acetone ultrapuro. La soluzione, conservata in frigorifero (2 ÷ 8 °C) al riparo della luce, è stabile per sei mesi. Da tale soluzione vengono prelevati 2 µL mediante pipetta tarata Gilson e addizionati direttamente ad ogni campione sottoposto ad analisi;

Tabella 3. Livelli di concentrazione relativi alle soluzioni di controllo

Soluzione di controllo	Concentrazione (ng/L)	Volume da prelevare della soluzione di lavoro (µL)	Volume finale (mL)
ICV1	2.5	5	200
ICV2	50	10	20
LCS1	10	2	20
LCS1	10	2	20

9. METODO

9.1 Selezione del tipo di fibra per SPME

Al fine di individuare le condizioni ottimali di estrazione mediante SPME, sono state analizzate miscele di riferimento contenenti gli analiti di interesse ad un valore di concentrazione di 50 ng/L, sottoponendo i campioni a stessi tempi di estrazione, stessa modalità di estrazione (immersione) ma con fibre aventi fasi stazionarie differenti. In particolare, sono state valutate le rese di estrazione ottenute impiegando le fibre del tipo riportato in Tabella 3. Nella Figura 1 e nella Figura 2 gli analiti sono stati raggruppati in due serie per semplificare la visualizzazione grafica, raggruppandoli in base all'ordine di grandezza delle area counts dei relativi segnali analitici ottenuti a seguito della estrazione e determinazione in GC/MS-MS. I risultati hanno evidenziato che la fibra "Rossa" in PDMS (100 µm) garantisce una maggiore resa di estrazione per quasi tutti gli analiti considerati.

9.2 Ottimizzazione delle transizioni in SRM

Per i composti che hanno mostrato una sensibilità strumentale inferiore rispetto agli altri o per composti

Tabella 4. Fibre utilizzate per il confronto delle rese di estrazione

Nome fibra	Descrizione	Tipo fase stazionaria	Spessore fase stazionaria
■ Rossa	PDMS	Polidimetilsilossano	100 µm
■ Rosa	PDMS/DVB	Polidimetilsilossano/divinilbenzene	65 µm
■ Bianca	PA	Poliacrilato	85 µm
■ Viola	PEG	Polietilenglicole	60 µm

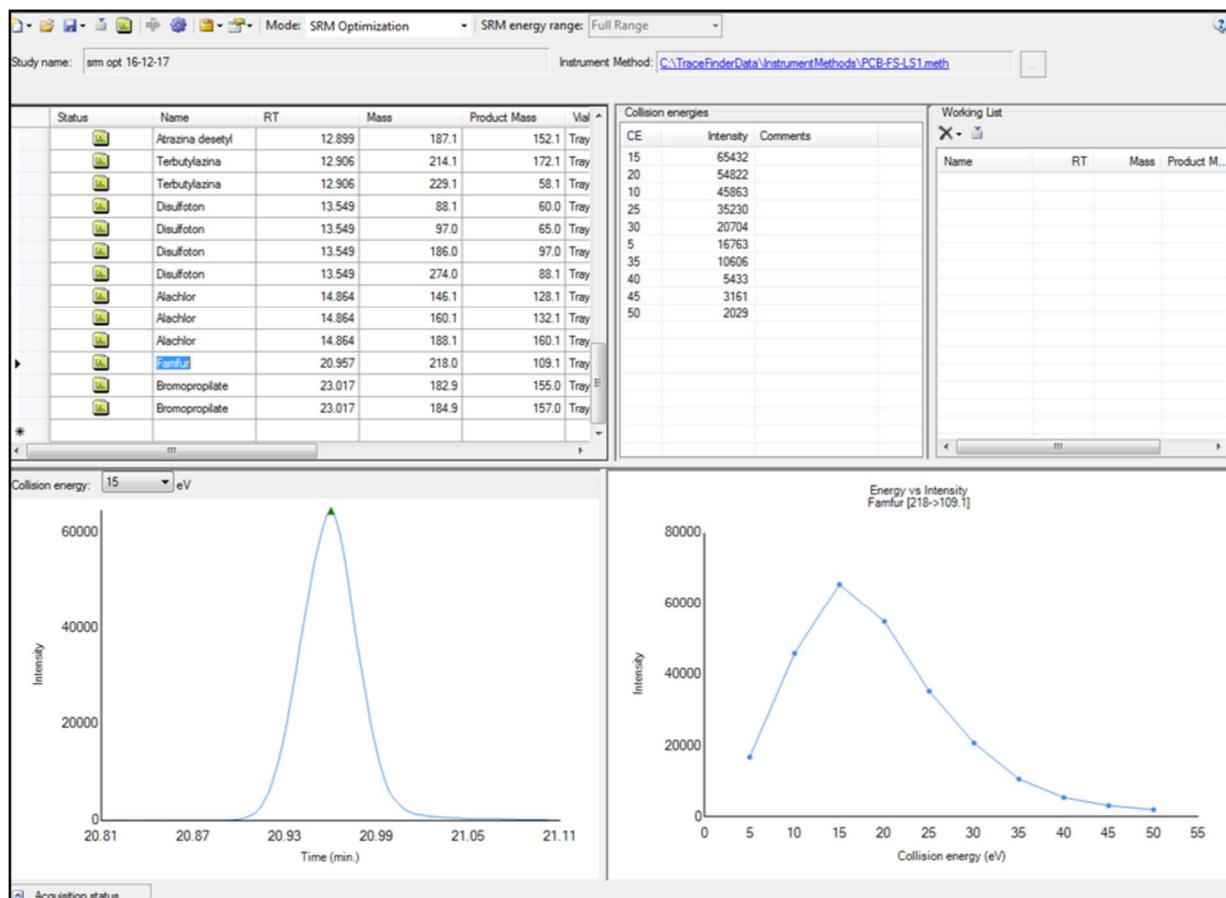


Figura 2. Andamento dell'intensità del segnale ottenuto durante la product ion study per il 218 m/z

che hanno mostrato una coeluzione con altri analiti presenti nelle miscele di lavoro, è stato condotto uno studio specifico per ottimizzare le condizioni di acquisizione in selected reaction monitored al fine di selezionare le transizioni che generano segnali meno interferiti e/o più intensi. A tal fine è stato eseguito uno studio guidato mediante software strumentale (AutoSRMstudy) che si compone di tre fasi: precursor ion study, product ion study, SRM optimization study. In Figura 1 è riportato lo studio di ottimizzazione per individuare il miglior "precursor ion" per l'analita "Famfur". Dopo aver selezionato lo ione 218 m/z nella fase appena descritta, è stata lanciata una rampa di energie di collisione per individuare il valore di energia di collisione che fornisce il segnale più intenso per la transizione considerata.

9.2.1 Precursor ion study

L'obiettivo di questa fase dello studio è quello di selezionare il miglior precursor ion per ciascun analita. A tal fine, attivato il software, partono in automatico delle iniezioni di una soluzione di lavoro in solvente (acetone) ad un livello di concentrazione di circa 500 µg/L, che vengono acquisite in modalità full-scan. Si ottiene un picco cromatografico a cui sono associati i migliori precursori ions. E' possibile quindi scegliere i tre migliori ioni per continuare lo studio nella fase successiva.

9.2.2 Product ion study

Una volta selezionati gli ioni precursori per ciascun analita, il sistema inizia le acquisizioni degli spettri di massa ottenuti andando a frammentarli nella cella di collisione dello spettrometro di massa, a tre differenti valori di energie di collisione. Si ottiene quindi una tabella in cui sono riportati per ciascun precursore gli ioni prodotti con maggiore intensità di segnale a tre differenti energie di collisione, da scegliere e trasferire direttamente nei metodi di acquisizione strumentale ottimizzato per le analisi.

9.2.3 SRM optimization study

La fase finale è quella di ottimizzazione dell'acquisizione SRM, una volta scelti per ciascun composto gli ioni precursori e gli ioni prodotti. Iniziano quindi delle acquisizioni in SRM in cui vengono monitorate le transizioni scelte ai punti 9.2.1 e 9.2.2 su una rampa di energie di collisione. Lo spettrometro di massa impiegato ha una velocità di scansione tale da consentire per ciascuna iniezione una scansione di 10 valori di CE, su tre transizioni per composto. Inoltre, il software quantifica autonomamente il numero di iniezioni da fare per consentire, segmento per segmento, lo studio di tutte le masse coinvolte nelle transizioni.

9.3 Preparazione del campione

Un'aliquota di campione pari a 20 mL viene trasferita in una vial di vetro da 20 mL per autocampionatore del tipo PAL a cui viene addizionata, mediante micropipetta tarata, una aliquota fissa (2 µL) della soluzione di lavoro di standard interni deuterati (8.11). La sequenza da sottoporre per le analisi strumentale di routine è sempre costituita da:

- N.1 Bianco fibra, costituito da acqua di rete all'inizio e alla fine della serie analitica per pulire la fibra;
- N.1 Bianco di processo (10.1), costituito da acquadi rete fortificata con aggiunta di ISTD (8.1.1), all'inizio della serie;
- N.2 ICV sample (10.2): soluzioni di riferimento a concentrazione = 2,5 e 50 ng/L all'inizio della serie analitica ;
- Campioni di prova;
- N.2 LCS sample (10.3): due soluzioni di riferimento in replicato a concentrazione = 10 ng/L alla fine della serie analitica;

9.4 Estrazione automatizzata mediante SPME

Prima di ogni estrazione, la fibra, montata sull'apposito holder alloggiato sull'autocampionatore, viene automaticamente condizionata per 5 min a 270 °C all'interno di un apposito modulo di condizionamento di cui è munito l'autocampionatore RSH PAL. Terminato il condizionamento, la fibra viene automaticamente spostata nel modulo di agitazione del campione, introdotta all'interno della vial contenente il campione e ivi mantenuta sotto costante agitazione meccanica e a temperatura costante di 50 °C, per 30 minuti. La fibra, terminata la fase di estrazione, viene spostata all'interno dell'iniettore del GC ove rimane esposta per 3 minuti, periodo in cui avviene la fase di desorbimento degli analiti dalla fase solida della fibra direttamente all'interno del sistema GC/MS-MS.

9.5 Analisi GC/MS-MS

La separazione degli analiti è effettuata mediante un gascromatografo GC Trace serie 1310 (Thermo Fischer) equipaggiato con una colonna capillare GC del tipo TM-5MS (30m x 0,25 mm) 5% difenildimetilpolisilossano (Thermo Fisher). Il flusso in colonna è settato a 1 mL/min, usando elio come carrier in modalità flusso costante. Il forno GC esegue una rampa di temperatura che partendo da una isoterma per 3 minuti a 50 °C arriva a 180 °C con una velocità di 22 °C/min, successivamente a 270 °C a 5 °C/min e, infine, a 30 °C/min raggiunge 320 °C, temperatura a cui rimane per 10 min.

La temperatura della transfer line è settata a 270 °C. L'iniettore, settato a 270 °C, è del tipo Split Splitless operante in modalità splitless. Gli spettri di massa sono stati acquisiti in modalità SRM (selected reaction monitoring) mediante uno spettrometro di massa del tipo TSQ evo 8000 (Thermo Fisher). E' stato effettuato un tuning della massa mediante perfluorobuti-

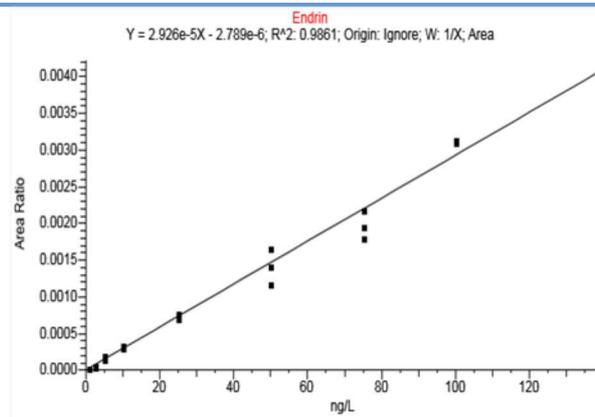


Figura 3. Retta di taratura per il composto "endrin"

lammina (FC-143) settando il parametro energia elettronica a 40 eV, una corrente di emissione pari a 70 µA, con una temperatura di sorgente di 270 °C. Le transizioni di massa utilizzate sono riportate in tabella 1 con relativa energia di collisione (CE) per ciascun analita.

Gli analiti sono stati ritenuti identificati e confermati quando è stato rilevato il picco relativo allo ione di quantificazione ed il picco relativo allo ione di conferma.

9.6 Taratura

La taratura viene eseguita per ciascun analita su otto livelli di concentrazione, in triplice replica per ogni livello. Le concentrazioni degli analiti per ogni livello di taratura sono indicate nella Tabella 2. La retta di taratura è ritenuta accettabile se sono soddisfatti i seguenti criteri di accettabilità:

1. il coefficiente di determinazione r2 deve essere ≥ 0,95;
2. la migliore regressione possibile, calcolata con il metodo dei minimi quadrati, deve essere lineare (y = a + bx); si utilizza la regressione quadratica (y = a + bx + cx²) solo se c/b ≥ 10%;

Inoltre, in caso di nuova taratura, lo scostamento dei valori dei coefficienti angolari della nuova retta di taratura (b') rispetto a quello della precedente (b) deve risultare entro il 20%; il valore sperimentale dell'area dello standard interno Acenaftene - D10 risulta entro i limiti di intervento della apposita carta di controllo. I criteri relativi all'accettabilità del segnale entro i limiti di intervento della carta di controllo e/o dello scostamento del coefficiente angolare non sono applicabili se la taratura avviene a seguito di modifiche della configurazione strumentale dell'apparecchiatura che possano determinare variazioni significative del segnale stesso.

10. MONITORAGGIO DELLE PRESTAZIONI

Le prestazioni del metodo di prova vengono monitorate mediante le apposite carte di controllo utilizzando i campioni di controllo qualità ICV1 ed ICV2 a 2,5 e 50 ng/L. Le carte di controllo di tipo Shewhart sono state sviluppate su due livelli in concentrazione (2,5 e 50 ng/L), scelti all'interno del campo di misura, per quattro analiti selezionati come rappresentativi: eldrin,

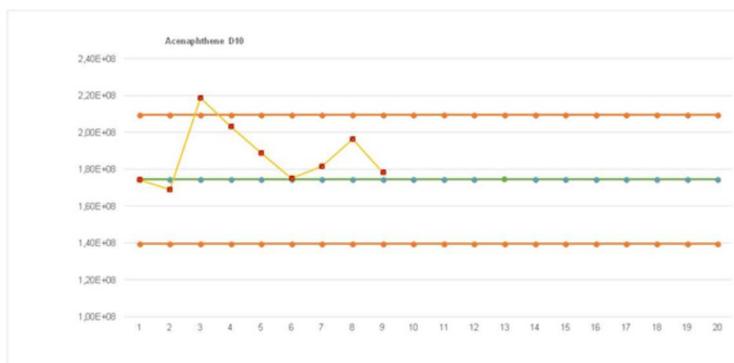


Figura 4. Carta di controllo per lo standard interno (ISTD) dal 30/03/18 al 30/04/18

diedri, eptacloro ed eptacloro epossido.

Per la verifica dell'estrazione e della conformità della fibra all'utilizzo è stata redatta una carta di controllo sul valore medio dell'area dello standard interno Acenaf-tene-D10 ottenuta in sede di taratura. Il limite di intervento per la carta di controllo in concentrazione è definito come lo scostamento massimo percentuale del 25%, stabilito dal laboratorio come criterio di accettabilità per l'esattezza, mentre per il controllo del segnale strumentale (area) si considera una tolleranza pari a ± 50%. Il risultato delle prove effettuate su ciascun campione viene ritenuto accettabile a seguito del controllo con esito positivo riguardanti la conformità della risposta strumentale (area counts) ottenuta sullo standard interno di riferimento indicato e la conformità in termini di concentrazione letta sugli analiti di riferimento indicati nelle prove con gli ICV1 ed ICV2.

10.1 Controllo dello ISTD (Internal standard)

Per ogni analisi si verifica che il valore del segnale letto in "area counts" per lo standard interno Acenaf-tene D-10, ritenuto rappresentativo dell'efficienza di estrazione mediante SPME, rientri nel range di accettabilità definito dalla relativa carta di controllo, redatta a corredo delle rette di taratura. Per il controllo del segnale strumentale (area) si considera una tolleranza pari a ± 50% Il valore medio delle aree lette per gli standard interni vengono registrati sulle relative carte di controllo con frequenza settimanale.

10.2 Controllo degli ICV (initial calibration verification)

Per ogni sequenza di analisi della dimensione massima di 10 campioni vengono analizzati degli standard di controllo: ICV1 e ICV2. Si verifica che le concentrazioni lette per gli analiti aldrin, diedrin, eptacloro ed eptacloro epossido, scelti come rappresentativi delle prestazioni strumentali, rientrino nel range di accettabilità definito dalla relativa carta di controllo, ovvero abbiano uno scostamento massimo definito pari a ± 25% in concentrazione. I risultati ottenuti sono registrati nella apposita carta di controllo del tipo Shewhart.

10.3 Controllo degli LCS (laboratory control standard)

Per ogni sequenza di analisi della dimensione massi-

ma di 10 campioni vengono analizzati due standard di controllo: LCS, alla stessa concentrazione. Si verifica che le concentrazioni ottenute per gli analiti eldrin, diedrin, eptacloro ed eptacloro epossido scelti come rappresentativi delle prestazioni strumentali, rientrino nei criteri di ripetibilità stabiliti, ovvero il rapporto delle concentrazioni determinate deve oscillare per valori non minori di 0,8 e non superiori a 1,2. I risultati

$$R = \frac{A_{STD}}{A_{ISTD}} \times c_{ISTD}; \quad c_{ISTD} = 500 \text{ ng/L}$$

ottenuti sono registrati nella apposita carta di controllo del tipo Shewhart

11. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il risultato finale viene prodotto direttamente dal software di gestione dello strumento. Per singolo analita il risultato viene espresso in µg/L con l'approssimazione ad una cifra decimale; per le prove cumulative (antiparassitari totali) il risultato finale si ottiene dalla somma delle concentrazioni dei composti specifici, come previsto dal D.Lgs. 31/01, e viene espresso in µg/L con l'approssimazione al numero intero più vicino.

L'impiego della miscela di ISTD come standard interni, aggiunti in concentrazione nota al bianco, alle soluzioni di taratura e ai campioni consente al software strumentale di correggere automaticamente le variazioni della risposta strumentale utilizzando il rapporto delle aree analita/standard interno (R, response) per ricavare la concentrazione dell'analita dalla retta di taratura

12. CONCLUSIONI

Il metodo completamente automatizzato consente di determinare simultaneamente 68 analiti in un campo di misura 0,001 - 0,1 µg/L fatta eccezione per gli analiti parathion metil, pirimicarb e propachlor, bromacil, thionazin e trifluralin per i quali il range di misura è 0,025 - 0,1 µg/L. Il metodo è stato applicato al monitoraggio di routine delle acque distribuite, delle acque superficiali e sotterranee e consente di ottenere in tempi brevi un controllo capillare delle acque

distribuite.

RIFERIMENTI

UNI EN 16691: 2015 “Determinazione di alcuni Idrocarburi Policiclici Aromatici in campione di acqua tal quale. Metodo che utilizza estrazione in fase solida (SPE) con dischi SPE e gas cromatografia con spettrometria di massa (GC-MS)”

Rapporti ISTISAN 07/31(Metodo ISS.CAB.015.REV00)

Determinazione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in acque destinate a consumo umano mediante SPME-GC/MS-MS

a cura di

Lydia Balest (*), Pier Paolo Abis, *Acquedotto Pugliese SpA - Bari*

RIASSUNTO

E' stato sviluppato un metodo basato sulla microestrazione in fase solida (SPME) accoppiato GC/MS-MS per la determinazione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in acque destinate a consumo umano a livelli di nanogrammi per litro. Il metodo, completamente automatizzato, è stato ottimizzato in tutte le sue fasi: dalle condizioni di estrazione mediante SPME alla separazione gascromatografica dei diversi analiti e identificazione mediante spettrometria di massa con triplo quadrupolo. Il metodo, sottoposto a controllo di qualità delle prestazioni, consente di determinare simultaneamente 18 analiti in un campo di misura 0,001 - 0,1 µg/L. ed è stato applicato al monitoraggio di routine delle acque distribuite, consentendo un controllo su un numero di analiti di gran lunga superiore a quello richiesto dalla normativa nazionale sulla qualità delle acque destinate al consumo umano (D.L.gs.vo 31/2001), offrendo la possibilità all'ente gestore del servizio idrico di ottenere in tempi brevi un controllo capillare delle acque distribuite.

SUMMARY

An analytical method based on solid phase microextraction coupled with gas-chromatography in tandem with mass spectrometry (SPME/GC/MS-MS) for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in drinking waters at sub ng/L has been optimized. Maximum recoveries and sensitivity were achieved by carefully optimizing the extraction conditions for SPME and operational conditions for GC/MS-MS analysis. The developed method was applied for the routine monitoring plans of PAHs in drinking waters ranging from 0.001 ng/L to 0.1 µg/L and was employed by laboratories responsible of drinking water quality control to obtain in short time an improvement of water quality monitoring parameters, analyzing a major number of compounds with respect to what is recommended by the Italian legislation for drinking water.

1. INTRODUZIONE

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) costituiscono un'ampia classe di composti organici, contenenti due o più anelli aromatici condensati, che si formano durante la combustione incompleta e la pirolisi di materiali organici. La fonte principale di un'eventuale contaminazione da IPA delle acque ad uso potabile è costituita dai rivestimenti a base di catrame delle tubazioni per la distribuzione dell'acqua. La normativa nazionale sulla qualità delle acque destinate al consumo umano (DL.vo 31/2001) prevede la determinazione di cinque IPA per i quali fissa i seguenti "valori di parametro": 0,010 µg/L per il Benzo(a)pirene e 0,10 µg/L per la somma di Benzo(b)fluorantene, Benzo(k)fluorantene, Benzo(ghi)perilene e Indeno(1,2,3 cd)pirene. La normativa precisa anche che il limite di rivelabilità del metodo d'analisi impiegato sia al minimo il 25% del limite di parametro, pari a 0,0025 µg/L per il Benzo(a)Pirene e 0,00625 µg/L per ognuno degli altri quattro IPA. La determinazione degli IPA nelle acque potabili è eseguita in GC/MS-MS, previa estrazione automatizzata mediante SPME (solid phase microextraction). Gli analiti determinati sono riportati in Tabella 1.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente metodo ha l'obiettivo di determinare e quantificare simultaneamente 18 composti appartenenti

alla categoria degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in matrici acquose destinate al consumo umano, ovvero acque di corpi idrici superficiali e acque sottoposte a processo di potabilizzazione, mediante la tecnica della microestrazione in fase solida (SPME) accoppiata alla determinazione mediante gascromatografia-spettrometria di massa tandem GC/MS-MS.

Il metodo prevede diverse fasi, dalla estrazione alla determinazione strumentale, tutte automatizzate e gestite da un unico software di gestione. Il campione, una volta trasferito in una vial in vetro del volume di 20 mL per autocampionatore, viene addizionato con una quantità nota di una miscela di standard interni deuterati. La concentrazione di ciascun analita nei campioni viene ricavata mediante regressione lineare ottenuta in fase di taratura del metodo con standard interno e con opportune soluzioni di riferimento degli analiti da quantificare. A ciascun analita è stato associato un composto deuterato di riferimento, così come specificato in tabella 1.

3. CAMPO DI APPLICAZIONE

La procedura analitica è applicabile alle acque destinate al consumo umano, superficiali e sotterranee. Il campo di misura del metodo è 0,001 ÷ 0,1 µg/L per ognuno degli analiti riportati in Tabella 1; concentrazioni superiori possono essere determinate previa diluizione del campione con acqua di rete esente dagli analiti di interesse. Il limite di quantificazione è

* l.balest@aqp.it

Tabella 1. Ione quantificatore e ione di conferma utilizzato per ciascun composto e quantificato mediante lo standard interno deuterato associato

Analita	Ione quantificatore m/z (CE)	Ione di conferma m/z (CE)	t ritenz. (min)	Standard interno di riferimento
Acenaphthylene	152→126 (25 eV)	152→151 (40 eV)	10.09	Naftalene - D8
Acenaphthene	154→151 (40eV)	154→153 (35 eV)	10.36	Acenaftene - D10
Anthracene	178→176 (25 eV)	178→177 (15 eV)	13.41	Fenantrene-D10
Benz[a]pyrene	252→226 (30 eV)	252→250 (35 eV)	28.10	Perilene -D12
Benz[g,h,i]perylene	276→250 (40 eV)	276→274 (50 eV)	30.87	Perilene -D12
Benzo(a)anthracene	228→202 (25 eV)	228→226 (30 eV)	22.92	Pirene-D10
Benzo(b)fluoranthene	252→226 (30 eV)	252→250 (35 eV)	27.25	Crisene-D12
Benzo(k)fluoranthene	252→226 (30 eV)	252→250 (35 eV)	27.33	Crisene-D12
Crisene	226→202 (25 eV)	228→226 (30 eV)	22.92	Crisene-D12
Fluoranthene	202→176 (30 eV)	202→200 (35 eV)	17.01	Fenantrene-D10
Fluorene	165→139 (25 eV)	165→163 (30 eV)	11.20	Acenaftene - D10
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene	276→250 (30 eV)	276→274 (40 eV)	30.34	Perilene -D12
Naphthalene	128→77 (30 eV)	128→127 (35 eV)	8.14	Naftalene - D8
Perylene	252→226 (30 eV)	252→250 (35 eV)	22.97	Perilene -D12
Phenanthrene	178→152 (20 eV)	178→176 (25 eV)	13.31	Fenantrene-D10
Pyrene	202→176 (30 eV)	202→200 (35 eV)	17.80	Pirene-D10
Benz[e]pyrene	252→226 (30 eV)	252→250 (35 eV)	27.90	Crisene-D12
Dibenz[a,h]anthracene	278→274 (50 eV)	278→276 (40 eV)	30.45	Perilene -D12

stato definito, per ogni analita, pari alla concentrazione del primo livello di taratura (0,001 µg/L). Il metodo, basato sulla microestrazione in fase solida (SPME) accoppiata alla determinazione mediante gascromatografia-spettrometria di massa tandem (GC/MS-MS) si applica ad acque destinate a consumo umano, ovvero acque di corpi idrici superficiali, acque sottoposte a processo di potabilizzazione ed acque sotterranee.

4. CAMPIONAMENTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Il prelievo del campione deve essere effettuato, evitando gorgogliamenti, in vial in vetro scuro da 40 mL munito di tappo a vite con setto in teflon, in cui è stata precedentemente aggiunta una punta di spatola di tiosolfato di sodio in polvere, riempiendo il contenitore completamente con la matrice da analizzare evitando la formazione di bolle o sacche d'aria e chiudendo ermeticamente la vial, con la parte teflonata del setto rivolta all'interno. Dopo il prelievo, la vial va agitata per uniformarne il contenuto. I campioni in arrivo in laboratorio devono essere conservati in frigo (2 ÷ 8 °C) ed analizzati entro 7 giorni dal prelievo.

5. INTERFERENZE

5.1 Interferenze dovute al campionamento

La presenza di cloro libero residuo nelle acque, proveniente da trattamenti di disinfezione, può alterare i risultati analitici a causa della possibile formazione di derivati clorurati di alcuni IPA; questo effetto può essere minimizzato con l'aggiunta di piccole quantità di un riducente (ad esempio tiosolfato di sodio) al momento del campionamento.

Una sovrastima delle concentrazioni può verificarsi anche a causa di contaminazioni provenienti dall'am-

biente di lavoro (cappa di aspirazione, frigorifero, ecc.) se non vengono adottati gli opportuni accorgimenti.

5.2 Interferenze durante l'analisi

Gli spettri di massa di alcuni IPA riportati in Tabella 1 sono difficilmente distinguibili da quelli di altri IPA che eluiscono con tempo di ritenzione simile o che non sono completamente risolti cromatograficamente: in particolare, l'Indeno(1,2,3-c,d)pyrene è confondibile con il Benzo(g,h,i)perilene; il Benzo(a)pirene con i tre Benzofluoranteni (Rapporti ISTISAN 07/31); il Benzo(a)pirene, inoltre, lo si può anche confondere con il perilene. Gli IPA interferenti sopra menzionati sono comunemente presenti nelle matrici ambientali.

Errori in eccesso possono essere indotti anche da effetti memoria dell'autocampionatore o del dispositivo di estrazione. In tal caso la contaminazione deve essere eliminata ottimizzando il tempo e la temperatura di condizionamento della fibra, da effettuarsi prima e dopo le analisi e/o analizzando ripetutamente bianchi fino alla totale scomparsa dei segnali attribuiti all'effetto memoria.

6. APPARECCHIATURE

- Autocampionatore CTC Analitics del tipo Triplus RSH pal munito di n. 3 tools per SPME, n.1 tool per siringa per iniezioni di liquidi, n. 1 stazione di condizionamento per SPME, n. 1 agitatore meccanico termostato per il campione;
- Fibra per SPME (Supelco) del tipo "red" in PDMS, (100 µm) alloggiata in apposito holder;
- Gascromatografo Trace 1310 (Thermo Fisher) munito di colonna capillare del tipo TG-5MS 30m x 0,25 mm;
- Spettrometro di massa con analizzatore a triplo

Tabella 2. Livelli di concentrazione relativi alle soluzioni di taratura

Livello di taratura	Concentrazione (ng/L)	Volume da prelevare della soluzione intermedia (μL)	Volume finale (mL)
1	1.0	2	200
2	2.5	5	200
3	5.0	1	20
4	10.0	2	20
5	25.0	5	20
6	50.0	10	20
7	75.0	15	20
8	100.0	20	20

quadrupolo TSQ 8000 Evo (Thermo Fisher);

6.5 Vials in vetro con tappo magnetico a vite da 20 mL, muniti di setto monouso in silicone rivestito in teflon;

6.6 Piepette tarate a volume variabile Gilson (2-10 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 1-5 mL, 1-10 mL)

7. REAGENTI

7.1 Acetone ultrapuro, utilizzato per la preparazione delle soluzioni intermedie di riferimento ;

7.2 Acqua di rete esente da composti organici clorurati, utilizzata per il bianco di analisi e per la preparazione delle soluzioni di riferimento ;

7.3 Tiosolfato di sodio puro per analisi, conservato in essiccatore a temperatura ambiente per almeno 48 h

8. MATERIALI DI RIFERIMENTO

8.1 Soluzione di riferimento PAH mixture 22 componenti (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$): fiala di soluzione commerciale certificata contenente tutti gli analiti di interesse in solvente compatibile ad analisi GC/MS ;

8.2 Soluzione di riferimento PAH mixture 16 componenti (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$): fiala della soluzione commerciale certificata contenente parte degli analiti di interesse in solvente compatibile con analisi GC/MS ;

8.3 Soluzione di lavoro IPA 16 componenti (IPA16 100 $\mu\text{g}/\text{L}$): in un matraccio tarato da 10 mL, riempito almeno a metà con acetone ultrapuro, introdurre 10 μL della soluzione di riferimento (8.2) sotto la superficie del solvente utilizzando una micropipetta tarata. Portare a volume con acetone. La soluzione, conservata in frigorifero (8°C) al riparo della luce, è stabile per sei mesi ;

8.4 Soluzione di lavoro IPA 22 componenti (IPA16 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ in acetone): in un matraccio tarato da 10 mL, riempito almeno a metà con acetone ultrapuro, introdurre 10 μL della soluzione di riferimento IPA22 analiti (8.1) sotto la superficie

del solvente utilizzando una micropipetta tarata. Portare a volume con acetone ultrapuro. La soluzione, conservata in frigorifero ($2 \pm 8^\circ\text{C}$) al riparo della luce, è stabile per sei mesi ;

8.5 Soluzioni di taratura IPA 22 componenti: in un matraccio tarato, riempito almeno per metà con acqua di rete (7.2), introdurre la soluzione di lavoro sotto la superficie del solvente utilizzando una micropipetta tarata quindi portare a volume finale con acqua di rete secondo lo schema sottostante (Tabella 2). Tali soluzioni, impiegate per la costruzione delle rette di taratura, vanno preparate al momento dell'uso;

8.6 Soluzione di riferimento IPA deuterati: fiala da 1 mL di soluzione commerciale certificata contenente i seguenti composti deuterati: Naftalene-D8, Acenaftene-D10, Fenantrene-D10, Pirene-D10, Crisene-D12, Perilene-D12, alla concentrazione di 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in solvente compatibile ad analisi in GC/MS;

8.7 Soluzione di lavoro IPA deuterati (5 mg/L in acetone): in un matraccio tarato, riempito almeno a metà con acetone ultrapuro, introdurre la soluzione di riferimento IPA deuterati 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (8.6) sotto la superficie del solvente utilizzando una microsiringa, quindi portare a volume con acetone ultrapuro. La soluzione, conservata in frigorifero ($2 \pm 8^\circ\text{C}$) al riparo della luce, è stabile per sei mesi. Da tale soluzione vengono prelevati 2 μL mediante pipetta tarata Gilson e addizionati direttamente ad ogni campione sottoposto ad analisi strumentale ;

8.8 Soluzioni di controllo ICV (initial calibration verification) (Tabella 3) ed LCS (laboratory control standard): per la preparazione dei campioni di controllo qualità è preferibile utilizzare una soluzione di riferimento contenente almeno tutti gli analiti di interesse, di origine diversa da quello impiegato per la taratura, anche soltanto per numero di lotto e/o fiala utilizzata.

9. METODO

9.1 Selezione del tipo di fibra per SPME

Al fine di individuare le condizioni ottimali di estrazione mediante SPME, sono state analizzate miscele di riferimento contenenti gli analiti di interesse ad un valore di concentrazione di 50 ng/L, sottoponendo i campioni a stessi tempi di estrazione, stessa modalità di estrazione (immersione) ma con fibre aventi fasi stazionarie differenti. In particolare, sono state valutate le rese di estrazione ottenute impiegando le fibre del tipo riportato in tabella 4. Nella Figura 1 e nella Figura 2 gli analiti sono stati raggruppati in due serie per semplificare la visualizzazione grafica, raggruppandoli in base all'ordine di grandezza delle area counts dei relativi segnali analitici ottenuti a seguito della estrazione e determinazione in GC/MS-MS. I risultati hanno evidenziato che la fibra "Rossa" in PDMS (100 μm) garantisce una maggiore resa di estrazione per quasi tutti gli analiti considerati.

Tabella 3. Livelli di concentrazione relativi alle soluzioni di controllo

Soluzione di controllo	Concentrazione (ng/L)	Volume da prelevare della soluzione di lavoro (µL)	Volume finale (mL)
ICV1	2.5	5	200
ICV2	50	10	20
LCS1	10	2	20
LCS1	10	2	20

9.2 Ottimizzazione delle transizioni in SRM

Sono state analizzate miscele di riferimento allo stesso valore di concentrazione degli analiti (50 ng/L) sottoponendo il campione stessa modalità di estrazione (immersione), utilizzando la fibra selezionata (Rossa), testando differenti tempi di estrazione. In particolare, sono state condotte estrazioni a 30 min, 1 ora, 2 ore. Gli analiti sono stati raggruppati in due serie per semplificare la visualizzazione grafica, in base all'ordine di grandezza delle "area counts" dei relativi segnali analitici ottenuti a seguito della estrazione e determinazione in GC/MS-MS (Figura 3 e 4). I risultati mostrano come un tempo di estrazione in immersione di 2 ore comporta per tutti gli analiti dei risultati, in termini di area counts, più alti in valore assoluto. Tuttavia, per quasi la metà dei composti di interesse con soli 30 min di estrazione si ottengono risultati paragonabili in termini di resa di estrazione a quelli ottenuti dopo 2 ore. Inoltre, con 30 min di estrazione, il segnale rilevato è tale da consentire raggiungere i valori di limite di rilevabilità necessari per questa applicazione. Alla luce di quanto osservato, si è scelto di utilizzare i 30 min come tempo di estrazione ottimale, che garantisca allo stesso tempo dei tempi di analisi ragionevolmente rapidi, considerando il fatto che per ciascuna analisi il metodo prevede anche nell'ordine: 5 min di preconditionamento della fibra, 30 min di estrazione, e a seguire altri circa 35 minuti di analisi GC/MS-MS.

Tabella 4. Fibre utilizzate per il confronto delle rese di estrazione

Nome fibra	Descrizione	Tipo fase stazionaria	Spessore fase stazionaria
Rossa	PDMS	Polidimetilsilossano	100 µm
Rosa	PDMS/DVB	Polidimetilsilossano/divinilbenzene	65 µm
Bianca	PA	Poliacrilato	85 µm
Viola	PEG	Polietilenglicole	60 µm

9.3 Preparazione del campione

Una aliquota di campione pari a 20 mL viene trasferita in una vial di vetro da 20 mL per autocampionatore del tipo PAL e qui addizionata mediante micropipetta tarata di una aliquota fissa (2 µL) della soluzione di lavoro di standard interni deuterati (8.7). La sequenza da sottoporre per le analisi strumentale di routine è sempre costituita da:

- N.1 Bianco fibra, costituito da acqua di rete all'inizio e alla fine della serie analitica per pulire la fibra;
- N.1 Bianco di processo (10.1), costituito da acqua di rete fortificata con aggiunta di ISTD (8.6), all'inizio della serie
- N.2 ICV sample (10.2): soluzioni di riferimento a concentrazione = 2,5 e 50 ng/L all'inizio della serie analitica;
- N.n Campioni di prova
- N.2 LCS sample (10.3): due soluzioni di riferimento in replicato a concentrazione = 10 ng/L alla fine della serie analitica;

9.4 Estrazione automatizzata mediante SPME

Prima di ogni estrazione, la fibra, montata sull'apposito holder alloggiato sull'autocampionatore, viene automaticamente condizionata per 5 min a 270 °C

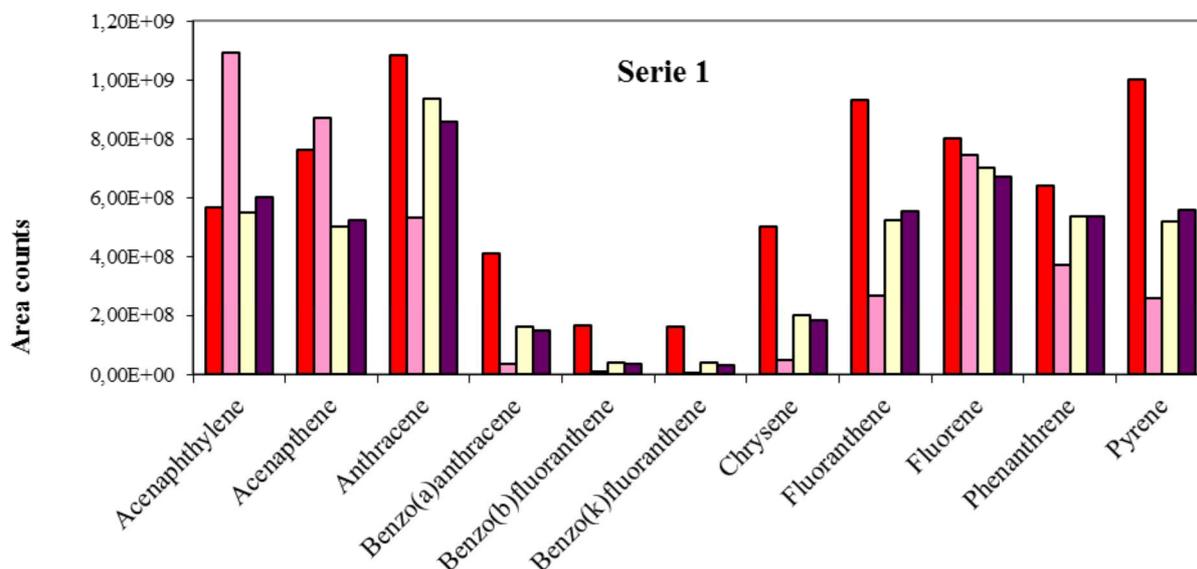


Figura 1. Confronto dei segnali ottenuti dalle diverse tipologie di fibre su soluzioni a concentrazione pari a 50 ng/L per gli analiti della serie 1

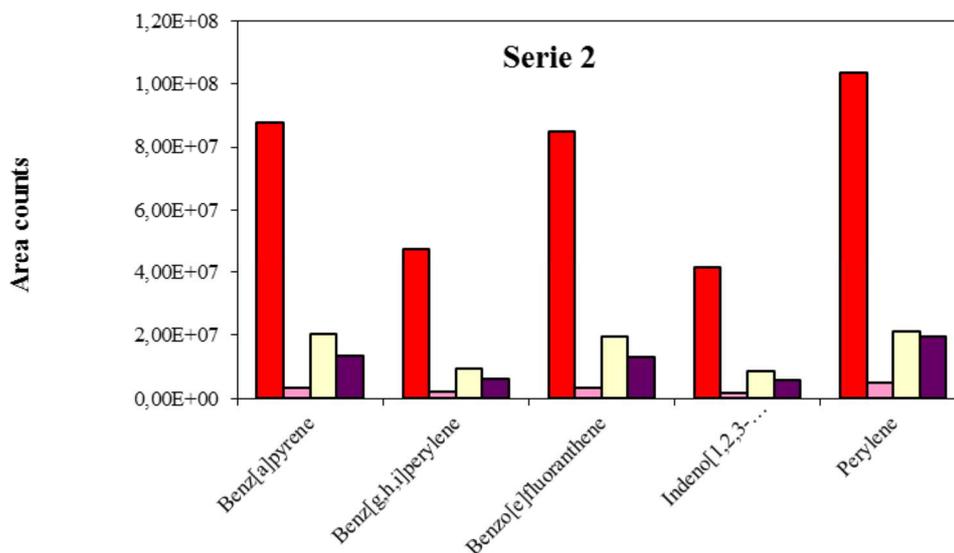


Figura 2. Confronto dei segnali ottenuti dalle diverse tipologie di fibre su soluzioni a concentrazione pari a 50 ng/L per gli analiti della serie 2

all'interno di un apposito modulo di condizionamento di cui è munito l'autocampionatore RSH PAL. Terminato il condizionamento, la fibra viene automaticamente spostata nel modulo di agitazione del campione, introdotta all'interno della vial contenente il campione e ivi mantenuta sotto costante agitazione meccanica e a temperatura costante di 50 °C, per 30 minuti. La fibra, terminata la fase di estrazione, viene spostata all'interno dell'iniettore del GC ove rimane esposta per 3 minuti, periodo in cui avviene la fase di desorbimento degli analiti dalla fase solida della fibra direttamente all'interno del sistema GC/MS-MS .

9.5 Analisi GC/MS-MS

La separazione degli analiti è effettuata mediante un gascromatografo GC Trace serie 1310 (Thermo Fischer) equipaggiato con una colonna capillare GC del tipo TM-5MS (30m x 0,25 mm) 5% difenildimetilpolisio-

lossano (Thermo Fisher). Il flusso in colonna è settato a 1 mL/min, usando elio come carrier, in modalità flusso costante. Il forno GC esegue una rampa di temperatura che partendo da una isoterma per 3 minuti a 50 °C arriva a 180 °C con una velocità di 22 °C/min, successivamente a 270 °C a 5 °C/min e, infine, a 30 °C/min raggiunge 320 °C, temperatura a cui rimane per 10 min.

La temperatura della transfer line è settata a 270 °C. L'iniettore, settato a 270 °C, è del tipo Split Splitless operante in modalità splitless. Gli spettri di massa sono stati acquisiti in modalità SRM (selected reaction monitoring) mediante uno spettrometro di massa del tipo TSQ evo 8000 (Thermo Fisher). E' stato effettuato un tuning della massa mediante perfluorobutilamina (FC-143) settando il parametro energia elettronica a 40 eV, una corrente di emissione pari a 70 µA, con una temperatura di sorgente di 270 °C. Le

IPA serie 1 - Fibra PDMS

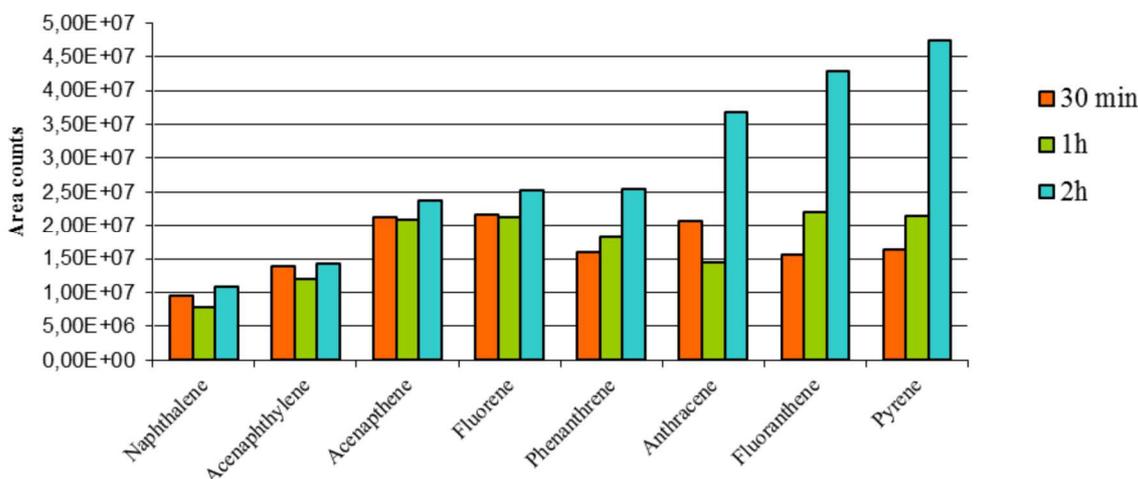


Figura 3. Confronto dei segnali ottenuti dalle diverse tipologie di fibre su soluzioni a concentrazione pari a 50 ng/L per gli analiti della serie1

IPA set2 - Fibra PDMS

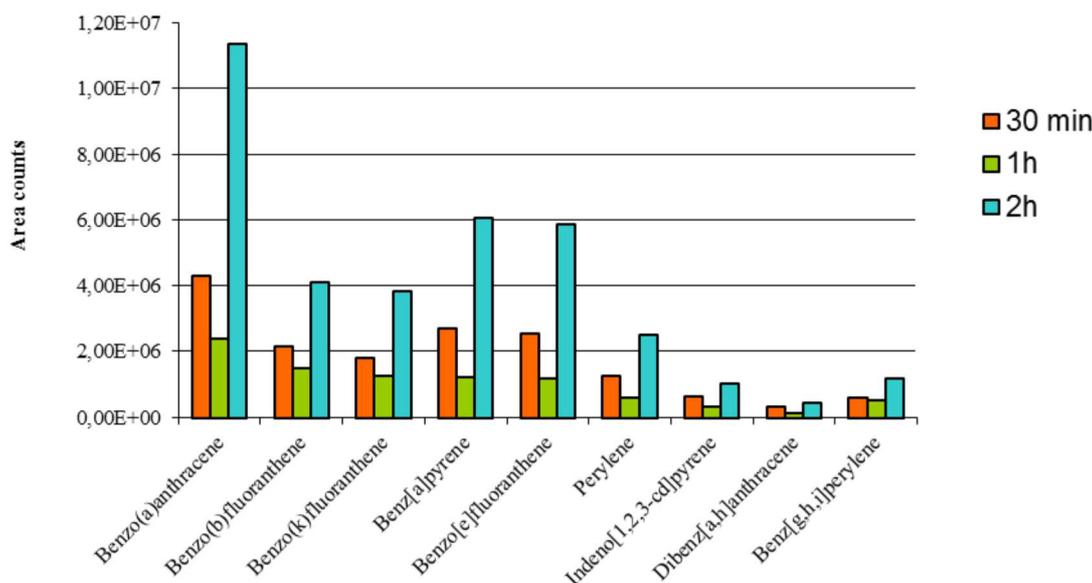


Figura 4. Confronto dei segnali ottenuti dalle diverse tipologie di fibre su soluzioni a concentrazione pari a 50 ng/L per gli analiti della serie 2

transizioni di massa utilizzate sono riportate in tabella 1 con relativa energia di collisione (CE) per ciascun analita.

Gli analiti sono stati ritenuti identificati e confermati quando è stato rilevato il picco relativo allo ione di quantificazione ed il picco relativo allo ione di conferma.

9.6 Taratura

La taratura viene eseguita per ciascun analita su otto livelli di concentrazione, in triplice replica per ogni livello. Le concentrazioni degli analiti per ogni livello di taratura sono indicate nella tabella 2. La retta di taratura è ritenuta accettabile se sono soddisfatti i seguenti criteri di accettabilità:

1. il coefficiente di determinazione r2 deve essere $\geq 0,95$;
2. la migliore regressione possibile, calcolata con il metodo dei minimi quadrati, deve essere lineare ($y = a + bx$); si utilizza la regressione quadratica ($y = a + bx + cx^2$) solo se $c/b \geq 10\%$;

Inoltre, in caso di nuova taratura: lo scostamento dei valori dei coefficienti angolari della nuova retta di taratura (b') rispetto a quello della precedente (b) deve risultare entro il 20%; il valore sperimentale dell'area dello standard interno Acenafte - D10 risulta entro i limiti di intervento della apposita carta di controllo. I criteri relativi all'accettabilità del segnale entro i limiti di intervento della carta di controllo e/o dello scostamento del coefficiente angolare non sono applicabili se la taratura avviene a seguito di modifiche della configurazione strumentale dell'apparecchiatura che possano determinare variazioni significative del segnale stesso.

10. MONITORAGGIO DELLE PRESTAZIONI

Le prestazioni del metodo di prova vengono monitorate mediante le apposite carte di controllo utilizzando i campioni di controllo qualità ICV1 ed ICV2 a 2,5 e 50 ng/L. Le carte di controllo di tipo Stewart sono state

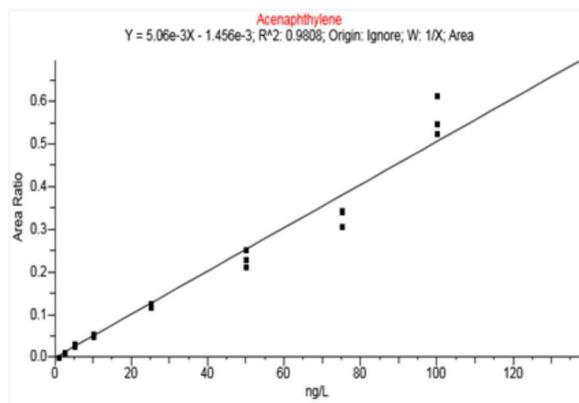


Figura 5. Retta di taratura per l'analita acenafte

sviluppate su due livelli in concentrazione (2,5 e 50 ng/L), scelti all'interno del campo di misura, per due analiti scelti come rappresentativi: fluorene e fenantrene.

Per la verifica dell'estrazione e della conformità della fibra all'utilizzo è stata redatta una carta di controllo sul valore medio dell'area dello standard interno Acenafte-D10 ottenuta in sede di taratura. Il limite di intervento per la carta di controllo in concentrazione è definito come lo scostamento massimo percentuale del 25%, stabilito dal laboratorio come criterio di accettabilità per l'esattezza, mentre per il controllo del segnale strumentale (area) si considera una tolleranza pari a $\pm 50\%$. Il risultato delle prove effettuate su ciascun campione viene ritenuto accettabile a seguito del controllo con esito positivo riguardanti la conformità della risposta strumentale (area counts) ottenu-

ta sullo standard interno di riferimento indicato e la conformità in termini di concentrazione letta sugli analiti di riferimento indicati nelle prove con gli ICV1 ed ICV2.

10.1 Controllo dello ISTD (Internal standard)

Per ogni analisi si verifica che il valore del segnale letto in "area counts" per lo standard interno Acenaf-tene D-10, ritenuto rappresentativo dell'efficienza di estrazione mediante SPME, rientri nel range di accettabilità definito dalla relativa carta di controllo, redatta a corredo delle rette di taratura. Per il controllo del segnale strumentale (area) si considera una tolleranza pari a $\pm 50\%$ Il valore medio delle aree lette per gli standard interni vengono registrati sulle relative carte di controllo con frequenza settimanale.

10.2 Controllo degli ICV (initial calibration verification)

Per ogni sequenza di analisi della dimensione massima di 10 campioni vengono analizzati degli standard di controllo: ICV1 e ICV2. Si verifica che le concentrazioni lette per gli analiti fluorene e fenantrene, scelti come rappresentativi delle prestazioni strumentali, rientrino nel range di accettabilità definito dalla relativa carta di controllo, ovvero abbiano uno scostamento massimo definito pari a $\pm 20\%$ per la concentrazione attesa per IPA a 2-3 anelli (fluorene) e $\pm 25\%$ per IPA a 4 o più anelli (fenantrene). I risultati ottenuti sono registrati nella apposita carta di controllo del tipo Shewhart.

10.3 Controllo degli LCS (laboratory control standard)

Per ogni sequenza di analisi della dimensione massima di 10 campioni vengono analizzati due standard di controllo: LCS, alla stessa concentrazione Si verifica che le concentrazioni lette per gli analiti fluorene e fenantrene, scelti come rappresentativi delle prestazioni strumentali, rientrino nei criteri di ripetibilità stabiliti, ovvero il rapporto delle concentrazioni ottenute deve oscillare per valori non minori di 0,8 e non superiori a 1,2. I risultati ottenuti per il sono registrati nella apposita carta di controllo del tipo Shewhart.

11. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il risultato finale viene prodotto direttamente dal software di gestione dello strumento. Per singolo analita il risultato viene espresso in $\mu\text{g/L}$ con l'approssimazione ad una cifra decimale; per le prove cumulative (IPA totali e IPA totali normati) il risultato finale si ottiene dalla somma delle concentrazioni dei composti specifici, come previsto dal D.Lgs. 31/01, e viene espresso in $\mu\text{g/L}$ con l'approssimazione al numero intero più vicino.

L'impiego della miscela di ISTD come standard interni, aggiunti in concentrazione nota al bianco, alle soluzioni di taratura e ai campioni consente al software strumentale di correggere automaticamente le variazioni della risposta strumentale utilizzando il rapporto delle aree analita/standard interno (R, response) per ricavare la concentrazione dell'analita dalla retta di taratura.

$$R = \frac{A_{STD}}{A_{ISTD}} \times C_{ISTD}; \quad C_{ISTD} = 500 \text{ ng/L}$$

12. CONCLUSIONI

Il metodo è completamente automatizzato e consente di determinare simultaneamente 18 analiti in un campo di misura 0,001 – 0,1 $\mu\text{g/L}$. ed è stato applicato al monitoraggio di routine delle acque distribuite, consentendo un controllo su un numero di analiti di gran lunga superiore a quello richiesto dalla normativa nazionale sulla qualità delle acque destinate al consumo umano (D.L.gs.vo 31/2001), offrendo la possibilità all'ente gestore del servizio idrico di ottenere in tempi brevi di analisi un controllo capillare delle acque distribuite .

RIFERIMENTI

UNI EN 16691: 2015 "Determinazione di alcuni Idrocarburi Policiclici Aromatici in campione di acqua tal quale. Metodo che utilizza estrazione in fase solida (SPE) con dischi SPE r gas cromatografia con spettrometria di massa (GC-MS)"

Rapporti ISTISAN 07/31(Metodo ISS.CAB.039.REV00)



Linee guida per la valutazione delle tendenze ascendenti e d'inversione degli inquinanti nelle acque sotterranee (D.M. 6 luglio 2016)

Nel corso del mese di agosto 2017 è stato pubblicato, nella collana dei manuali e linee guida dell'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, un documento elaborato da personale dell'IRSA in collaborazione con il Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente ed ISPRA.

Il DM del 6 luglio 2016 modifica l'allegato 1 del D.lgs n. 152/2006. Esso richiede delle linee guida per valutare le tendenze ascendenti e l'inversione delle tendenze relative agli inquinanti nelle acque sotterranee.

Relativamente ai corpi sotterranei ritenuti "a rischio", è proposto l'utilizzo del test non-parametrico di *Mann-Kendall* per lo studio delle tendenze ascendenti di una serie temporale, quindi attraverso il metodo di *Sen* è stimato il valore della tendenza (coefficiente angolare) utile a determinare la significatività ambientale di tale trend.

Per la verifica dell'esistenza di un punto di inversione all'interno della serie temporale è proposto il test di *Pettitt*. Una volta adottata questa procedura alle singole stazioni di campionamento, sono indicati i criteri per attribuire lo status di tendenza significativa e duratura all'aumento, oppure lo status di inversione di tendenza, all'intero corpo idrico. Da ultimo è proposta una procedura semplificata da adottare per i corpi idrici definiti non a rischio.

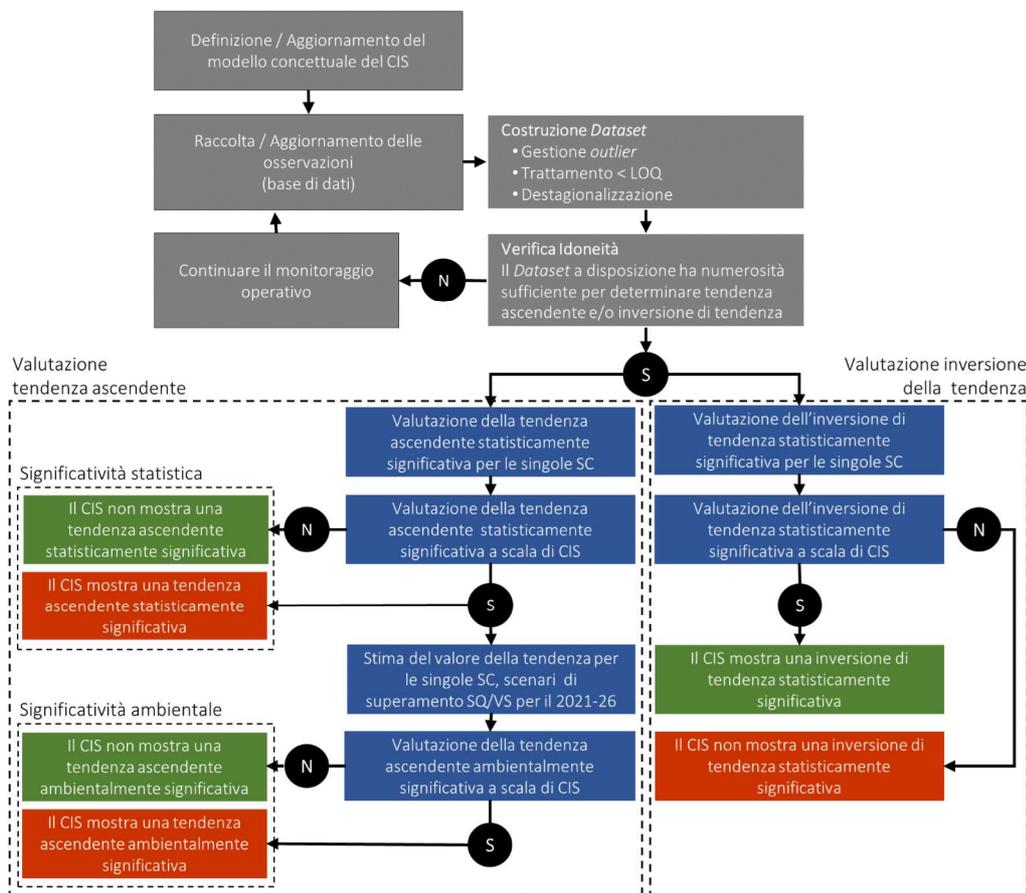


Figura 1. Schema delle procedure di valutazione per i corpi idrici sotterranei (CIS) classificati come "a rischio".

News

Elaborato dai membri del gruppo tecnico di lavoro
(D.D. 4898/TRI/DI/N):
Maurizio Guerra (ISPRA - SNPA)
Elisabetta Preziosi (IRSA-CNR)
Stefano Ghergo (IRSA-CNR)

con la collaborazione degli esperti:
Nicoletta Calace (ISPRA - SNPA)
Nicolas Guyennon (IRSA-CNR)
Marco Marcaccio (ARPAE Emilia-Romagna - SNPA)
Stefano Menichetti (ARPA Toscana - SNPA)
Emanuele Romano (IRSA-CNR)

ISPRA, Manuali e Linee Guida 161/2017
ISBN 978-88-448-0844-0.
http://www.isprambiente.gov.it/files2017/pubblicazioni/manuali-linee-guida/MLG_161_17.pdf



TENDENZA ASCENDENTE:

il D.lgs. 30/2009, art.2, comma 1 lett. e, indica «qualsiasi aumento significativo, dal punto di vista statistico e ambientale, della concentrazione di un inquinante, di un gruppo di inquinanti o di un indicatore»

TARGET:

i corpi idrici sotterranei (CIS) classificati a rischio

SOGGETTI INCARICATI:

il D.lgs. 30/2009, allegato 6 parte A, indica «le autorità di bacino, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano»

PARAMETRI:

quelli che in base al modello concettuale e agli esiti del monitoraggio mostrano criticità al fine del mantenimento / raggiungimento del buono stato chimico

DATI:

monitoraggio operativo (MO) e di sorveglianza (MS) delle singole stazioni di campionamento (SC)

ORIZZONTE TEMPORALE:

verifica alla fine della prima e/o della seconda scadenza sessennale del Piano di Gestione (ad esempio: 2021 e 2027).

SCALA DI VALUTAZIONE:

prima a scala di stazione di campionamento (SC) e quindi di corpo idrico sotterraneo (CIS)

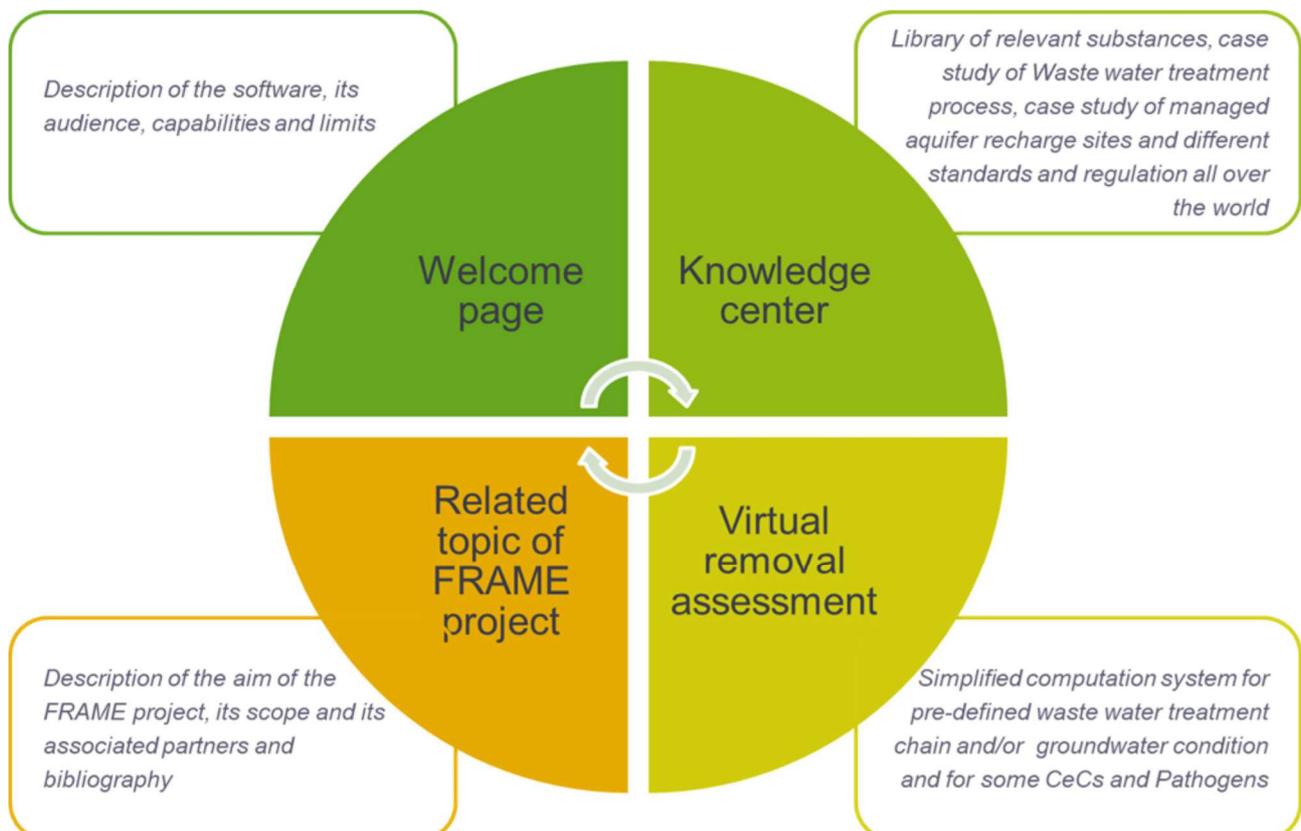
Figura 2. Schema delle modalità generali di applicazione delle linee guida



Progetto "FRAME" JPI Water dell'UE, sul riutilizzo indiretto delle acque reflue a scopo potabile

Sotto l'egida dell'iniziativa di ricerca europea Water Joint Programming Initiative (JPI) "Water challenges for a changing world", <http://www.waterjpi.eu>, è stato finanziato, per la durata di 3 anni a partire dall'1 Marzo 2015, il progetto „A novel Framework to Assess and Manage contaminants of Emerging concern in indirect potable reuse“ (FRAME), coordinato dall'Istituto federale tedesco di Idrologia (BfG) e al quale hanno partecipato come partner italiani l'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR e l'Istituto Superiore di Sanità. Il Ministero tedesco per la Ricerca BMBF, l'Agenzia francese per l'Acqua ONEMA, il Consiglio delle Ricerche norvegese RCN e il Ministero italiano dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca MIUR hanno sostenuto finanziariamente i rispettivi ricercatori nazionali che partecipano alle attività del progetto. Autorevoli scienziati, ingegneri e professionisti provenienti da sette istituti di quattro paesi europei (Germania, Italia, Francia e Norvegia) hanno lavorato in stretta collaborazione per sviluppare nuove strategie per ridurre al minimo l'impatto di una vasta gamma di contaminanti chimici e biologici quando si vogliono riutilizzare le acque reflue trattate di origine domestica, allo scopo di aumentare le risorse di acqua potabile mediante ravvenamento di falde o incremento delle portate fluviali, metodologia definita anche come "riutilizzo potabile indiretto". L'obiettivo principale del progetto è stato quello di garantire una quantità sufficiente di acqua potabile sicura, proteggendo ecosistemi e salute umana, partendo dal riciclo delle acque reflue trattate di effluenti domestici.

Figura 1. I diversi elementi di cui è composto il Sistema di supporto decisionale di FRAME .



News

Il progetto FRAME ha affrontato i seguenti aspetti della produzione di acqua di alta qualità da acqua riciclata:

- efficienza dei diversi processi di trattamento nella rimozione di contaminanti emergenti
- determinazione e rimozione dei prodotti di trasformazione di sostanze emergenti formati da reazioni microbiologiche e chimiche
- inattivazione dei virus e altri agenti patogeni,
- rimozione di batteri resistenti agli antibiotici,
- uso di saggi biologici in vitro ed in vivo e biomarker per rilevare gli effetti causati da specifici agenti inquinanti e da miscele di sostanze inquinanti,
- stima della riduzione dei rischi ambientali e per la salute umana,
- analisi dei costi, benefici non monetari e potenziali svantaggi delle diverse strategie di trattamento.

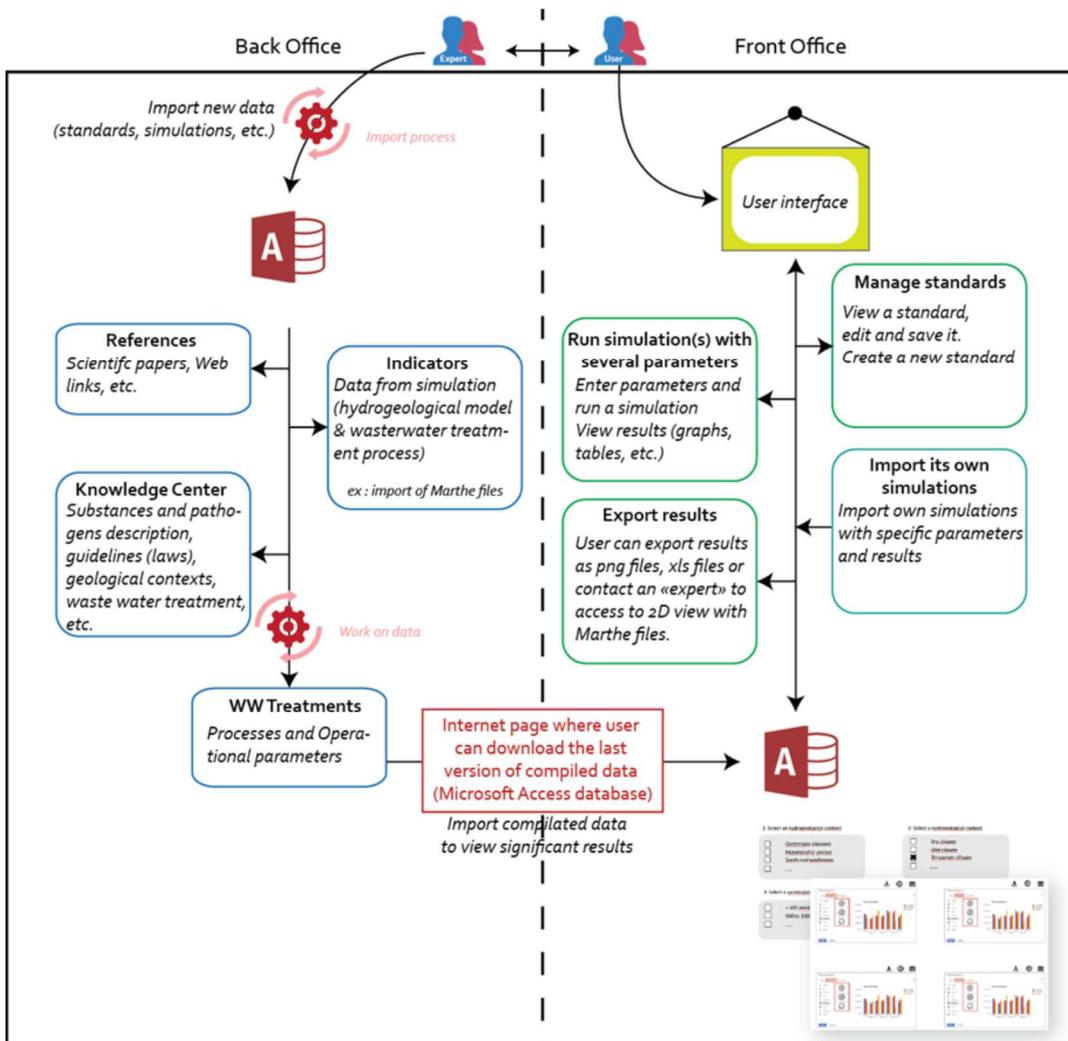


Figura 2. Architettura funzionale del sistema di supporto decisionale .

News

Durante il progetto JPI-FRAME sono stati sperimentate diverse combinazioni di trattamenti, tra cui ozonizzazione e processi di ossidazione avanzata accoppiati con un nuovo processo di filtrazione sequenziale biologicamente attiva. La modellazione del trasporto e destino dei contaminanti emergenti e dei loro prodotti di trasformazione attraverso le varie combinazioni di trattamenti ha permesso di valutare l'efficacia globale delle strategie di mitigazione. Il concetto sviluppato da FRAME è stato testato e validato in impianti reali di trattamento e ravvenamento in Germania (Braunschweig) e in Spagna (Costa Brava), e i risultati hanno fornito utili informazioni per lo sviluppo di nuove normative europee in materia di riutilizzo delle acque reflue.

Il prodotto finale è un manuale di gestione del processo di monitoraggio, valutazione e gestione del rischio (*Handbook for end-users*). Questo strumento si basa su un approccio pratico per l'implementazione reale di quanto sviluppato nel progetto, incluso un'applicazione software per il supporto decisionale in fase di programmazione ed esecuzione dell'intervento di ricarica delle falde a scopo potabile indiretto (*Decision Support System, DSS*).

La relazione finale e i deliverable prodotti nell'ambito delle attività progettuali, l'*Handbook for end-users* e l'applicativo DSS sono disponibili pubblicamente sul sito del progetto:

<http://www.frame-project.eu/project/index.html>

Per informazioni:

Stefano Polesello (IRSA-CNR), polesello@irsa.cnr.it;

Sara Valsecchi (IRSA-CNR), valsecchi@irsa.cnr.it;

Giuseppe Mascolo (IRSA-CNR), mascolo@irsa.cnr.it

In memoriam

Un ricordo di Valter Tandoi

Il 18 giugno scorso è venuto a mancare il nostro amico e collega Valter Tandoi, un eccellente ricercatore, con una straordinaria passione e curiosità per la ricerca ed un'incredibile gentilezza all'insegnamento ed alla condivisione, qualità professionali che hanno le loro radici in una rigorosa etica del lavoro e nel suo atteggiamento positivo e calmo con la vita.

Valter Tandoi ha iniziato la sua carriera nel 1973 all'IRSA come tecnico di laboratorio, ha poi seguito con caparbia le sue passioni fino a diventare ricercatore ed infine dirigente di ricerca. A partire dal 1990 ha trascorso due anni negli Stati Uniti svolgendo attività di ricerca presso diverse università americane, University of California, Davis e Berkeley, e la Cornell University dove, come amava raccontare, ha lavorato con Stephen Zinder e James Gossett contribuendo alla comprensione del processo di dechlorazione riduttiva di eteni clorurati e all'isolamento di *Dehalococcoides mccartyi*, l'unico microrganismo in grado di trasformare completamente tale classe di contaminanti in composti innocui. Tornato in Italia, ha lavorato incessantemente e con successo per più di 30 anni fino a 15 giorni prima di lasciarci.



Grazie alla sua disponibilità e caparbia visione positiva della vita, ha sempre avuto una grande capacità di sviluppare, anche nell'ambiente di lavoro, rapporti umani ed amicizie che, coltivate negli anni in tutto il mondo, sono state parte integrante del suo lavoro e della sua vita di ricercatore.

Valter è stato un grande scienziato con una chiara visione del futuro e sempre aperto ad affrontare nuove sfide. Non ha mai smesso di approfondire e ricercare, con lungimiranza, nuove soluzioni utili per rispondere alle domande scientifiche che lo appassionavano e non ha mai abbandonato il suo laboratorio, che ha frequentato anche negli ultimi anni della sua carriera e che ha contribuito ad arricchire ed implementare con nuove strumentazioni all'avanguardia.

La sua ricerca ha portato ad avanzamenti sostanziali nel settore della microbiologia ambientale, come descritto in più di 100 pubblicazioni, libri/capitoli di libri riguardanti la microbiologia applicata alla depurazione delle acque di scarico, ed al biorisanamento di siti contaminati.

Attraverso lo studio pluriennale delle comunità microbiche dei fanghi attivi ha svelato e chiarito l'identità, le interazioni microbiche ed il ruolo svolto dai maggiori gruppi batterici presenti nei fanghi attivi. Il controllo dei batteri filamentosi responsabili di problemi di bulking e foaming negli impianti di depurazione è stato tra i suoi principali argomenti di studio ed ha portato, tra l'altro, alla descrizione ed isolamento dei principali batteri filamentosi comunemente riscontrati in impianti di trattamento di reflui urbani ed industriali.

Il ruolo leader di Valter Tandoi nella microbiologia dei fanghi attivi a



livello internazionale è testimoniato dai riconoscimenti ricevuti e ruoli ricoperti. Dal 1997 al 2005 è stato presidente dello *Specialist Group* dell'International Water Association (IWA) (ASPD, "Activated Sludge Population Dynamics", ora MEWE "Microbial Ecology and Water Engineering") e, nel 2001, ha organizzato a Roma la 3° Conferenza Internazionale ASPD. Nel 2012 è stato insignito del titolo *IWA Fellow* e nel 2013 ha ricevuto il prestigioso "*Arden-Lockett Award*" per il suo contributo dato alla microbiologia dei processi di trattamento delle acque di rifiuto. Valter ha inoltre dedicato larga parte del suo operato alla formazione di giovani; è stato un'insegnante straordinario e relatore di innumerevoli tesi di laurea e di dottorato. Con un'ammirabile gentilezza e capacità di confrontarsi con gli studenti, ha trasmesso il suo entusiasmo e le sue conoscenze a diverse generazioni di ricercatori. Negli anni, ha creato un gruppo di ricerca, riconosciuto a livello internazionale che comprende oltre a ricercatori, numerosi dottorandi e borsisti.

I suoi sforzi di divulgazione non si sono però limitati al settore scientifico, ha sempre sostenuto con fermezza la necessità di trasferire le competenze acquisite, ad ingegneri e professionisti del settore ambientale. In tale ambito rientra la sua attività di Direzione del corso sul riconoscimento dei batteri filamentosi mediante osservazione microscopica (IWA International Specialized Course on Bulking and Foaming Control by Microscopic Observation) che è giunto lo scorso anno alla 27° edizione e che ha attirato negli anni centinaia di operatori di impianti, ingegneri ambientali, scienziati, dottorandi e studenti da tutto il mondo.

Durante i 5 giorni di corso, tra una lezione ed un'occasione conviviale, creava un dialogo e un legame fondamentale tra l'eccellenza del mondo della ricerca nel settore della depurazione biologica e coloro che avrebbero in seguito applicato le nuove conoscenze acquisite. Questo ha permesso di costruire negli anni una classe di professionisti e gestori di impianti che svolgono il proprio lavoro con estrema competenza e consapevolezza.

Ma soprattutto, Valter era un caro e prezioso amico e tutti noi sentiremo profondamente la sua mancanza. Ci mancherà il suo sorriso e la sua grande passione per la Scienza e per la Vita.

Caterina Levantesi e Simona Rossetti



Consiglio Nazionale delle Ricerche

Notiziario dei Metodi Analitici & IRSA News

**Pubblicazione quadrimestrale telematica dell'Istituto di Ricerca sulle Acque
del Consiglio Nazionale delle Ricerche**

ISSN 2465-017X

Autorizzazione Tribunale di Tivoli n°5/2015

Direzione e Redazione

Istituto di Ricerca sulle Acque, Area della Ricerca RM1, Montelibretti, via Salaria km 29+300.

C.P. 10 - 00015 Monterotondo (RM)

Telefono: 06 90672 850

Fax: 06 90672 787

e-mail: notiziario@irsa.cnr.it

Direttore responsabile

Giuseppe Mascolo

Comitato di Redazione

L. Campanella, L. Guzzella, S. Polesello, L. Patrolecco, S. Valsecchi

Segreteria di Redazione

S. Ghergo



<http://www.irsa.cnr.it/Notiziario>