

# Analisi di composti organici semivolatili con idrogeno come gas di trasporto e sorgente HydroInert tramite gascromatografia/spettrometria di massa a triplo quadrupolo (GC/MS/MS)

## Autore

Angela Smith Henry, PhD  
Agilent Technologies, Inc.

## Abstract

La gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) è parte integrante dell'analisi di composti organici semivolatili (SVOC) in matrici ambientali. Alcuni metodi hanno ampliato la strumentazione in modo da includere la gascromatografia/spettrometria di massa a triplo quadrupolo (GC/MS/MS) in parallelo alla tendenza che vede l'abbassamento dei limiti di rivelabilità. La recente carenza di forniture di elio (He) ha costretto le organizzazioni a prendere in seria considerazione l'idrogeno ( $H_2$ ) come gas di trasporto; la maggior parte delle analisi GC/MS e GC/MS/MS con questo gas, tuttavia, presenta una sensibilità ridotta e incorre in reazioni di idrogenazione o declorazione con le attuali configurazioni degli spettrometri di massa. Gli ultimi progressi nella progettazione degli spettrometri di massa hanno consentito di ridurre le reazioni di idrogenazione e declorazione nella sorgente. La sorgente Agilent HydroInert preserva la capacità di eseguire analisi in un ampio intervallo di calibrazione, che per alcuni composti va da 0,02 fino a 100  $\mu\text{g/mL}$ , e soddisfa i criteri di calibrazione del metodo 8270 dell'Agenzia per la protezione dell'ambiente (EPA) degli Stati Uniti con l'uso di  $H_2$  come gas di trasporto.

## Introduzione

L'analisi GC/MS/MS è risultata idonea per l'uso con il metodo 8270 (versione 8270E) dell'EPA degli Stati Uniti su estratti di rifiuti solidi, terreno, aria e acqua.<sup>1,2</sup> In note applicative precedenti si è discusso l'uso dell'He come gas di trasporto con la tecnica GC/MS/MS per ampliare l'intervallo di calibrazione del metodo EPA 8270 fino a 0,02 µg/mL, preservando al tempo stesso l'estremo superiore del metodo ossia 160 µg/mL.<sup>3</sup>

Da molti anni a questa parte la disponibilità di He è motivo di preoccupazione, ma l'interesse nella transizione a gas di trasporto alternativi è cresciuto significativamente negli ultimi anni. I sistemi per spettrometria di massa esistenti, tuttavia, soffrono di problemi quali l'idrogenazione di alcuni gruppi funzionali, per esempio i gruppi nitro, o la dechlorazione dei composti altamente clorurati. Questi problemi altererebbero gli spettri di massa e potrebbero comportare errori di identificazione o mancata identificazione dei composti se il precursore o gli ioni prodotto fossero soggetti a reazioni con l'H<sub>2</sub> nella sorgente. Un esempio riguarda il nitrobenzene: la presenza di gas di trasporto H<sub>2</sub> e l'esposizione del nitrobenzene a metallo e calore, elementi presenti nella sorgente di uno spettrometro di massa, comportano l'idrogenazione di tale composto (*m/z* 123) con formazione di anilina (*m/z* 93). Questo fenomeno si osserva tramite l'identificazione dell'anilina al tempo di ritenzione del nitrobenzene e l'incremento dell'intensità dello ione frammento a *m/z* 93 rispetto allo ione a *m/z* 123. Una sorgente Extractor di nuova concezione, nota come sorgente HydroInert e destinata ai sistemi GC/MS a triplo quadrupolo Agilent 7000C/D/E Inert Plus, risolve questi problemi correlati all'H<sub>2</sub> e aiuta a migliorare le prestazioni delle applicazioni GC/MS e GC/MS/MS che impiegano H<sub>2</sub> come gas di trasporto, incluse le analisi degli SVOC. La sorgente HydroInert con gas di trasporto H<sub>2</sub> preserva la fedeltà spettrale e può consentire agli utilizzatori di continuare a usare le biblioteche spettrali, i metodi quantitativi e le transizioni per il monitoraggio di reazioni multiple (MRM) esistenti basati sull'He.

Questa nota applicativa illustra la capacità della sorgente HydroInert di consentire l'uso di H<sub>2</sub> come gas di trasporto, preservando al tempo stesso i gruppi funzionali critici come i gruppi nitro e gli alogeni. Il mantenimento della fedeltà spettrale è un passo in avanti significativo per l'uso di H<sub>2</sub> come gas di trasporto con i sistemi GC/MS, in particolare per le analisi ambientali, per esempio il metodo EPA 8270. È stato inoltre sviluppato un metodo per EPA 8270 che mantiene una sensibilità simile a un'analisi con He come gas di trasporto; ciò consente di calibrare la maggior parte dei composti tra 0,02 e 100 µg/mL con interpolazioni lineari o quadratiche per meno del 20% dei composti.

## Condizioni sperimentali

È stato selezionato un insieme di soluzioni madre di standard, contenente 120 composti target e surrogati, per ottenere una miscela rappresentativa di composti acidi, basici e neutri, oltre che includere diverse classi di composti, dai nitrofenoli agli IPA. Le concentrazioni delle nove soluzioni madre di standard di analiti target erano pari a 2.000 µg/mL; i relativi codici sono riportati di seguito: SVM-160, SVM-121, SVM-122, SVM-123, SVM-124, SVM-125, SVM-126-1, SVM-127 e US-211. La piridina è stata diluita da uno standard puro fino a 1.000 µg/mL come standard di lavoro. Lo standard di surrogati (codice ISM-332) conteneva sei composti a 2.000 µg/mL, come indicato in Tabella 1. Una miscela di standard interni di sei IPA deuterati è stata impiegata per il recupero e la calibrazione. Le soluzioni madre degli standard sono state combinate e diluite in diclorometano per preparare una soluzione standard di lavoro a una concentrazione di 200 µg/mL. La soluzione standard di lavoro è stata quindi diluita per preparare gli standard di calibrazione alle seguenti concentrazioni nominali per i composti target e i surrogati: 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,8, 1, 2, 5, 10, 20, 35, 50, 75 e 100 µg/mL. Gli standard interni sono stati aggiunti a ogni standard di calibrazione al livello di concentrazione di 40 µg/mL. La Tabella 1 riporta un elenco dei composti utilizzati nello studio. I numeri dei composti indicati in Tabella 1 sono stati assegnati in base all'ordine di ritenzione dei composti target e dei surrogati; gli standard interni sono stati riportati in fondo alla tabella, a prescindere dall'ordine di ritenzione.

Lo standard di tuning (codice GCM-150), contenente una miscela di benzidina, pentaclorofenolo, 4,4'-diclorodifeniltricloroetano (4,4'-DDT) e decafluorotrifetilfosfina (DFTPP), è stato diluito a una concentrazione di 25 µg/mL e utilizzato per verificare l'inerzia del percorso del flusso GC.

È stata preparata una miscela composita di terreni estratti con diclorometano per l'analisi con il metodo EPA 8270. La miscela, un residuo di matrice rappresentativa che si riscontra tipicamente nei laboratori, è stata ottenuta da Pace Analytical (Mt. Juliet, TN).

Tabella 1. Composti target, surrogati e standard interni.

N.	Composto	N.	Composto	N.	Composto
1	N-nitrosodimetilammina (NDMA)	43	4-cloro-3-metil fenolo	85	Pentacloronitrobenzene
2	Piridina	44	2-metilnaftalene	86	4-amminodifenile
3	2-picolina	45	1,2,4,5-tetraclorobenzene	87	Propizamide
4	N-nitroso-N-metiletilammina	46	Esaclorociclopentadiene	88	Fenantrene
5	Metil-metansolfonato	47	2,4,6-triclorofenolo	89	Dinoseb
6	2-fluorofenolo (surrogato)	48	2,4,5-triclorofenolo	90	Disulfoton
7	N-nitrosodietilammina	49	2-fluorodifenile (surrogato)	91	Antracene
8	Etil-metansolfonato	50	1-cloronaftalene	92	Paration-metile
9	Fenolo-d <sub>5</sub> (surrogato)	51	2-cloronaftalene	93	Di-n-butiltalato
10	Fenolo	52	2-nitroanilina	94	4-nitrochinolina-1-ossido
11	Anilina	53	Dimetiltalato	95	Parathion
12	Bis(2-cloroetil)etere	54	Acenaftilene	96	Fluorantene
13	2-clorofenolo	55	2,6-dinitrotoluene	97	Benzidina
14	1,3-diclorobenzene	56	3-nitroanilina	98	Pirene
15	1,4-diclorobenzene	57	Acenaftene	99	p-terfenile-d <sub>14</sub> (surrogato)
16	Alcool benzilico	58	2,4-dinitrofenolo	100	Aramite I
17	1,2-diclorobenzene	59	Pentaclorobenzene	101	Aramite II
18	2-metilfenolo (o-cresolo)	60	4-nitrofenolo	102	4-dimetilaminoazobenzene
19	Bis(2-cloro-1-metiletil)etere	61	Dibenzofurano	103	Clorobenzilato
20	4-metilfenolo (p-cresolo)	62	2,4-dinitrotoluene	104	3,3'-dimetil benzidina
21	N-nitrosopirrolidina	63	1-naftilammina	105	Famphur
22	Acetofenone	64	2,3,4,6-tetraclorofenolo	106	Butil benzil ftalato
23	4-nitrosomorfolina	65	2-naftilammina	107	Benzo[a]antracene
24	N-nitroso-di-n-propilammina	66	Dietiltalato	108	3,3'-diclorobenzidina
25	o-toluidina	67	Fluorene	109	Crisene
26	Esacloroetano	68	Tionazin	110	Bis(2-etilesil)ftalato
27	Nitrobenzene-d <sub>5</sub> (surrogato)	69	5-nitro-o-toluidina	111	Di-n-ottiltalato
28	Nitrobenzene	70	4-clorofenil-fenil etere	112	Benzo[b]fluorantene
29	N-nitrosopiperidina	71	4-nitroanilina	113	7,12-dimetilbenzo[a]antracene
30	Isoforone	72	2-metil-4,6-dinitrofenolo (DNOC)	114	Benzo[k]fluorantene
31	2-nitrofenolo	73	N-nitrosodifenilammina	115	Benzo[a]pirene
32	2,4-dimetilfenolo (2,4-xilenolo)	74	Difenilammina	116	3-metilcolantrene
33	Acido benzoico	75	Azobenzene	117	Dibenzo[a,j]acridina
34	Bis(2-cloroetossi)metano	76	2,4,6-tribromofenolo (surrogato)	118	Indeno[1,2,3-cd]pirene
35	2,4-diclorofenolo	77	Sulfotep	119	Dibenzo[a,h]antracene
36	1,2,4-triclorobenzene	78	Dimetoato	120	Benzo[g,h,i]perilene
37	Naftalene	79	Diallato I	121	1,4-diclorobenzene-d <sub>4</sub> (standard interno)
38	4-cloroanilina	80	Phorate	122	Naftalene-d <sub>8</sub> (standard interno)
39	2,6-diclorofenolo	81	Fenacetina	123	Acenaftalene-d <sub>10</sub> (standard interno)
40	Esaclorobutadiene	82	4-bromofenil fenil etere	124	Fenantrene-d <sub>10</sub> (standard interno)
41	p-fenilendiammina	83	Esaclorobenzene	125	Crisene-d <sub>12</sub> (standard interno)
42	N-nitrosodi-n-butilammina	84	Pentaclorofenolo	126	Perilene-d <sub>12</sub> (standard interno)

## Metodi strumentali

Il sistema GC Agilent 8890B è stato configurato con un iniettore multimode (MMI) e una colonna per GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert (codice 121-5522UI) interfacciata con un sistema GC/MS a triplo quadrupolo Agilent 7000E Inert Plus e sorgente Agilent HydroInert. La Tabella 2 riassume la strumentazione e i prodotti di consumo per GC/MS utilizzati in questo studio. I parametri dei metodi GC ed MS/MS (Tabella 3) sono stati ottimizzati per creare un metodo di 12 minuti, preservando la risoluzione richiesta per le coppie di isomeri e seguendo le linee guida EPA 8270 per i parametri del metodo. Lo spettrometro di massa è stato utilizzato in ionizzazione elettronica e sottoposto a calibrazione automatica con l'algoritmo etune. Sono state eseguite calibrazioni di controllo periodiche per verificare che i rapporti tra gli ioni e le posizioni delle masse del calibrante perfluorotributilammina (PFTBA) rientrassero nelle tolleranze. Per il metodo analitico è stato utilizzato un liner per iniettore Agilent Ultra Inert a bassa caduta di pressione con iniezione split 20:1 e colonna per GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert, 20 m x 0,18 mm, 0,18 µm; si preferisce questa colonna con il gas di trasporto H<sub>2</sub> per mantenere valori ragionevoli della pressione in ingresso, mentre l'iniezione split permette di evitare il sovraccarico della colonna. L'iniezione split, inoltre, è più indicata per la tecnica GC/MS/MS, che è comunemente impiegata per analisi in tracce in cui la concentrazione degli analiti target è inferiore a 1 µg/mL. Il rapporto di split 20:1 riduce lo standard più alto da 100 µg/mL a 5 µg/mL in colonna. Con la rampa di temperatura dell'iniettore, l'uso di H<sub>2</sub> come gas di trasporto e il solvente diclorometano è essenziale verificare che i campioni estratti non contengano acqua; l'estrazione deve includere un passaggio di rimozione dell'acqua residua per evitare la formazione di acido cloridrico nell'iniettore e danni allo strumento e alle parti di consumo. È stato utilizzato un metodo di acquisizione con blocco del tempo di ritenzione sullo standard interno, acenafte-*d*<sub>10</sub>, per mantenere tempi di ritenzione uniformi in seguito alle sostituzioni della colonna e sui diversi strumenti, un aspetto cruciale dell'analisi. Sono stati testati due valori del tempo di mantenimento della temperatura finale del forno, ossia 2 minuti e 2,7 minuti; l'eluizione del benzo[g,h,i]perilene è avvenuta a 10,13 minuti e il tempo di analisi del metodo con i 2 minuti finali di mantenimento risulterebbe pari a 11,3 minuti, a titolo di riferimento nel caso in cui la durata del ciclo fosse un fattore critico. Con H<sub>2</sub> come gas di trasporto non si utilizza gas di quenching; scollegare il tubo dell'He dal retro del modulo di controllo elettronico della pressione. I dati sono stati raccolti in modalità dynamic MRM (dMRM) per un uso più efficiente del tempo di analisi GC/MS/MS.

Allo scopo di ridurre lo sviluppo di transizioni MRM, per questo lavoro sono state sfruttate le transizioni MRM di note applicative e metodi precedenti; le energie di collisione sono state invece nuovamente ottimizzate con il software MassHunter Optimizer di Agilent. Alcuni composti, inoltre, non erano inclusi nei lavori precedenti; pertanto, è stato utilizzato MassHunter Optimizer per individuare le transizioni MRM e le energie di collisione ottimali per i seguenti composti: 2,6-diclorofenolo, N-nitrosometilettilammina ed N-nitrosomorfolina. Per le acquisizioni con la miscela di tuning GC/MS è stato impiegato un metodo di acquisizione con modalità di scansione in quanto DFTPP, DDT e i prodotti di degradazione del DDT non rientrano nel metodo di acquisizione MRM.

## Strumentazione

Tabella 2. Strumentazione GC e MSD e prodotti di consumo.

Parametro	Valore
GC	Sistema GC Agilent 8890
MS	Sistema GC/MS a triplo quadrupolo Agilent 7000E Inert Plus con sorgente Agilent HydroInert
Lente di estrazione	HydroInert da 9 mm
Siringa	Siringa per autocampionatore Agilent Blue Line, 10 µL, pistone con punta in PTFE (codice G4513-80203)
Colonna	Colonna per GC Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert, 20 m x 0,18 mm, 0,18 µm (codice 121-5522UI)
Liner per iniettore	Liner per iniettore Agilent Ultra Inert, a bassa caduta di pressione, lana di vetro (codice 5190-2295)

## Condizioni strumentali

Tabella 3. Condizioni strumentali di GC e MSD.

Parametro	Valore
Volume di iniezione	1 µL
Iniettore multimode	Split 20:1 250 °C (mantenimento 0,3 min), rampa di 200 °C/min fino a 350 °C (mantenimento per la durata dell'analisi) Post-analisi: 350 °C/min con flusso di split a 100 mL/min
Programma di temperatura della colonna	40 °C (mantenimento 0 min), 30 °C/min fino a 320 °C (mantenimento da 2 a 2,7 min*) Post-analisi: mantenimento a 320 °C per 2 min
Gas di trasporto e flusso	H <sub>2</sub> a 1,2 mL/min**, flusso costante
Temperatura transfer line	320 °C
Temperatura della sorgente ionica	300 °C
Temperatura del quadrupolo	150 °C
Gas di collisione e flusso	Azoto, 1,5 mL/min
Gas di quenching	Con gas di trasporto H <sub>2</sub> non si utilizza gas di quenching
Modalità EMV	Fattore di guadagno
Fattore di guadagno	1 (ottimizzato per ciascun sistema)
Tipo di scansione	Dynamic MRM

\* L'impostazione del tempo di mantenimento del forno su 2 minuti genera un tempo di analisi di 11,3 minuti; l'eluizione del benzo[g,h,i]perilene avviene a 10,13 minuti.

\*\* Il blocco RT può determinare un flusso diverso su strumenti diversi.

## Risultati e discussione

### Miscela di tuning GC/MS

Il sistema GC/MS/MS può essere ed è stato calibrato impiegando la calibrazione consigliata dal produttore, ossia l'algoritmo predefinito etune per i sistemi GC/MS a triplo quadrupolo Agilent serie 7000; ciò nonostante per testare la sorgente HydroInert con gas di trasporto H<sub>2</sub> sono stati utilizzati i criteri del rapporto tra gli ioni DFTPP della Tabella 3 del metodo EPA 8270E.<sup>1,2</sup> La Tabella 4 riassume le abbondanze relative dei rapporti tra gli ioni DFTPP a 25 µg/mL e i criteri del metodo e indica se le abbondanze relative misurate hanno soddisfatto i criteri; tutte le abbondanze relative misurate superano i criteri del rapporto tra gli ioni del metodo 8270E.

La pulizia di iniettore e colonna è sempre un fattore critico per il funzionamento del metodo EPA 8270, a prescindere dal gas di trasporto; DDT, pentaclorofenolo e benzidina sono impiegati per tenere traccia della degradazione nell'iniettore e delle condizioni della colonna. Un aumento della degradazione del DDT è indice della necessità di procedere alla manutenzione dell'iniettore, mentre l'incremento dei fattori di scodamento di benzidina e pentaclorofenolo segnala all'operatore che deve accorciare o sostituire la colonna. In seguito all'introduzione di H<sub>2</sub> come gas di trasporto, gli utilizzatori potrebbero nutrire preoccupazioni in merito all'aumento delle reazioni dei composti attivi, come il DDT, nell'iniettore; il consiglio è ridurre la temperatura dell'iniettore tra 230 e 250 °C e usare un iniettore a temperatura programmabile, per esempio il modello MMI, per proteggere i composti attivi mantenendo comunque la capacità di incrementare la temperatura fino a 320 o 350 °C e far fuoriuscire gli IPA. In questa nota applicativa è stato utilizzato l'iniettore MMI.

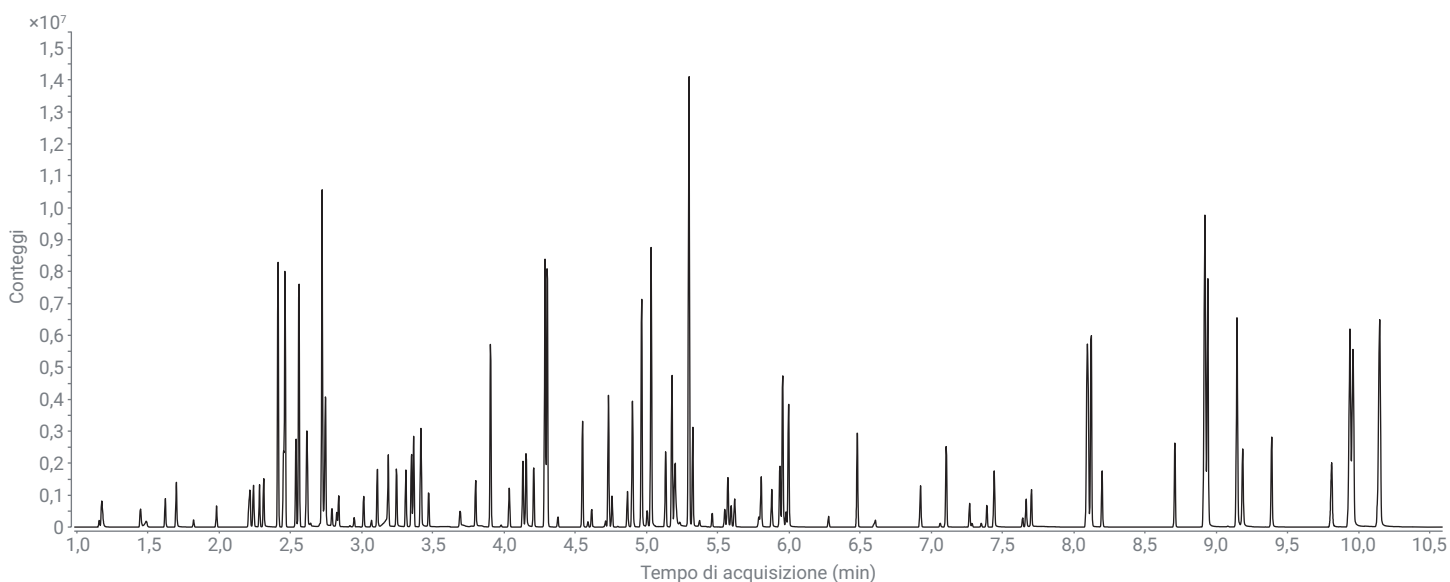
L'esame dei risultati della miscela di tuning GC/MS relativamente alla degradazione del DDT e ai fattori di scodamento dei composti da un'analisi in scansione ha evidenziato una degradazione (%) del DDT pari a 1,4% e fattori di scodamento pari a 1,0 e 1,4 rispettivamente per il pentaclorofenolo e la benzidina. Tutti i valori rientrano nei criteri del metodo EPA 8270, ossia degradazione del DDT <20% e fattori di scodamento <2,0.

### Calibrazione iniziale

In Figura 1 è mostrato un cromatogramma ionico totale (TIC) della separazione di 120 analiti target e sei standard interni. È stata eseguita una calibrazione multi-punto con 15 livelli di concentrazione da 0,02 a 100 µg/mL ed è stato determinato il fattore di risposta (RF) relativa per ciascun composto a ciascun livello di calibrazione. È stato calcolato l'RF medio per la curva di calibrazione di ciascun composto unitamente alla deviazione standard relativa (RSD%). Il criterio di superamento preferito del metodo EPA 8270 è un valore RSD% dell'RF medio inferiore a 20%; qualora non sia raggiungibile con sei o più livelli di calibrazione, un'interpolazione lineare della curva, così come un'interpolazione quadratica, richiede un valore R<sup>2</sup> pari o superiore a 0,990. L'accuratezza del punto più basso di calibrazione deve essere entro il 30% della concentrazione stimata.

**Tabella 4.** Ioni DFTPP, criteri di abbondanza dal metodo EPA 8270E<sup>2</sup>, abbondanza relativa misurata e superamento/non superamento dell'abbondanza relativa per la sorgente Agilent HydroInert in un sistema GC/MS/MS con H<sub>2</sub> come gas di trasporto.

Massa target (m/z)	Criteri di abbondanza degli ioni	Abbondanza relativa misurata	Superato/non superato
68	<2% di m/z 69	0%	Superato
69	Presente	36,4%	Superato
70	<2% di m/z 69	1,1%	Superato
197	<2% di m/z 198	0%	Superato
198	Picco base o presente	100% (picco base)	Superato
199	Da 5 a 9% di m/z 198	7,0%	Superato
365	>1% del picco base	1,8%	Superato
441	<150% di m/z 443	51,8%	Superato
442	Picco base o presente	46,7% (picco base)	Superato
443	Da 15 a 24% di m/z 442	21,9%	Superato



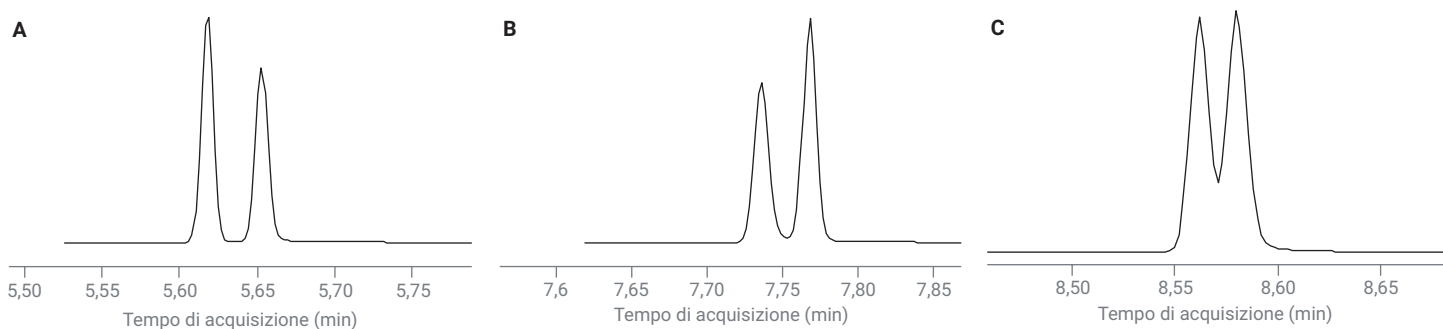
**Figura 1.** Cromatogramma ionico totale dello standard di calibrazione a 50 µg/mL che dimostra l'avvenuta separazione in meno di 10 minuti.

### Risoluzione delle coppie critiche

Con la minore durata del metodo e una colonna differente, è stata verificata una risoluzione delle coppie critiche superiore al 50% per fenantrene e antracene (transizione MRM da  $m/z$  178,1 a 152,1), benzo[a]antracene e crisene (da  $m/z$  228,1 a 226,1) e benzo(b)fluorantene e benzo(k)fluorantene (da  $m/z$  252,1 a 250,1). Le tre coppie di isomeri sono mostrate in Figura 4 alla concentrazione di livello medio di 5 µg/mL; fenantrene e antracene (Figura 2A) sono risolti alla linea di base, benzo[a]antracene e crisene (Figura 2B) sono quasi risolti alla linea di base e benzo(b)fluorantene e benzo(k)fluorantene (Figura 2C) sono risolti per il 70% circa; pertanto, i criteri del metodo EPA 8270 sono soddisfatti.

### Fedeltà spettrale

Un aspetto che spesso desta preoccupazione riguardo l'uso di  $H_2$  come gas di trasporto è la reattività dell' $H_2$  sui siti attivi, per esempio la superficie metallica ad alta temperatura all'interno della sorgente, che può dar luogo a reazioni di idrogenazione e dechlorazione. Le trasformazioni dei composti, come l'idrogenazione dei gruppi funzionali nitro in gruppi amminici, potrebbero generare una risposta bassa o assente per le transizioni MRM identificate con l'He come gas di trasporto e comportare errori di identificazione o mancata identificazione di un composto in un campione. Per ridurre il lavoro per lo sviluppo del metodo, si preferisce preservare le transizioni MRM del metodo esistenti. La sorgente HydroInert



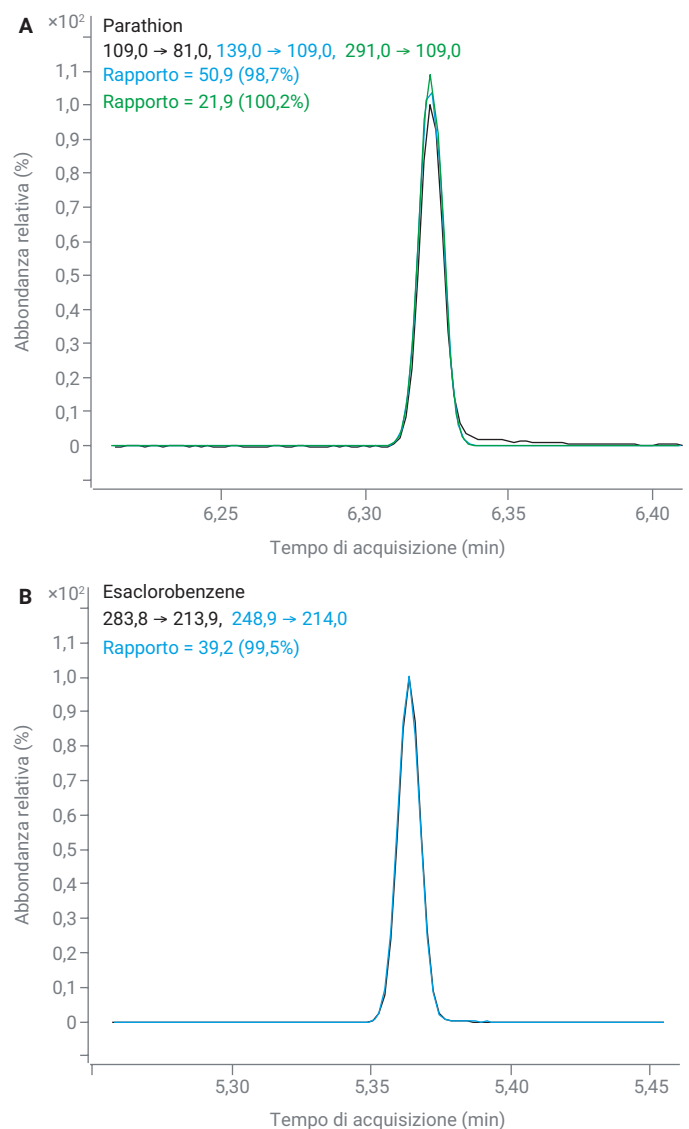
**Figura 2.** Cromatogrammi degli ioni estratti (EIC) delle transizioni MRM dello standard di livello medio (5 µg/mL) per coppie critiche di isomeri: (A) fenantrene e antracene (transizione MRM da  $m/z$  178,1 a 152,1); (B) benzo[a]antracene e crisene (da  $m/z$  228,1 a 226,1); (C) benzo(b)fluorantene e benzo(k)fluorantene ( $m/z$  da 252,1 a 250,1).

con gas di trasporto  $H_2$  permette agli utilizzatori di mantenere le stesse transizioni MRM che hanno sviluppato sui sistemi a He. Tempi di ritenzione ed energie di collisione devono essere nuovamente valutati, in particolare per quanto riguarda i tempi di ritenzione se si alterano le dimensioni delle colonne e le rampe di temperatura del forno. L'elenco di composti precedente include svariati nitrocomposti e composti altamente clorurati, tra cui nitrobenzene, pentaclorofenolo, esaclorobenzene e pentacloronitrobenzene, che nella normale sorgente Extractor sarebbero suscettibili a reazioni con  $H_2$ . È possibile osservare la ritenzione dei gruppi funzionali verificando l'esistenza degli EIC delle transizioni MRM e i rapporti attesi tra le transizioni MRM di quantificatore e qualificatore. Se i rapporti per le transizioni del qualificatore (rispetto alla transizione del quantificatore) sono prossimi a 100% ciò significa che non si verificano reazioni con  $H_2$ . Rapporti mancanti, molto bassi o molto alti per le transizioni MRM sono indice di reazione con  $H_2$ . In Figura 3 è mostrato un insieme di sovrapposizioni delle transizioni MRM per il parathion (Figura 3A), un composto con un gruppo nitro, e l'esaclorobenzene (Figura 3B), un composto altamente clorurato. Nell'angolo in alto a sinistra di Figura 3A e 3B sono elencate le percentuali dei rapporti delle transizioni. Per il parathion, se il gruppo funzionale nitro venisse idrogenato con formazione di un gruppo amminico, la transizione da 291 a 109 presenterebbe un'abbondanza e un rapporto inferiori rispetto alla transizione del quantificatore, in quanto il PM sarebbe  $m/z$  259 anziché  $m/z$  291. Come mostrato in Figura 3A, i rapporti delle transizioni sono risultati pari a 100%, a indicare ritenzione del gruppo funzionale nitro. Per l'esaclorobenzene, la dechlorazione determinerebbe una maggiore abbondanza della transizione da 249 a 214 e una minore abbondanza della transizione da 284 a 214; in Figura 3B è tuttavia visibile la ritenzione del rapporto atteso tra queste due transizioni al 100%, senza che si sia verificata una dechlorazione significativa.

### Dati di calibrazione

Dei 120 composti, sei hanno richiesto interpolazioni lineari e 10 interpolazione quadratiche. In Tabella 5 sono riassunti i risultati della calibrazione dei 120 composti target e surrogati con i valori RSD% dei fattori di risposta (RF) medi, l'interpolazione della curva e il valore  $R^2$  se necessario, oltre che i livelli di concentrazione più basso e più alto qualora differiscano dall'intervallo di calibrazione esteso, ossia 0,02-100  $\mu\text{g/mL}$ . Oltre l'86% dei 120 composti supera i criteri di calibrazione con un valore RSD% dell'RF medio inferiore a 20%. Dei 120 composti, 13 (<11%) presentavano un intervallo di calibrazione più stretto dell'intervallo normale del metodo EPA 8270 tra 0,1 e 100  $\mu\text{g/mL}$ , ma hanno comunque superato i criteri del metodo EPA 8270E con almeno sette o più livelli di calibrazione. Esaminando il lavoro precedente con il metodo EPA 8270E e GC/MS/MS con gas di trasporto He si nota che per otto composti è stata necessaria un'interpolazione della curva allo scopo di superare i criteri di calibrazione.<sup>3</sup> Un aumento nel numero di interpolazioni lineari e quadratiche è prevedibile in quanto  $H_2$  è più reattivo dell'He. L'iniettore, inoltre, è impostato su una

temperatura iniziale più bassa per evitare la formazione di acido cloridrico in presenza di temperature più alte e di acqua nell'iniettore, derivante dal gas di trasporto o dalla procedura di estrazione del campione. I risultati ottenuti sia con He che con  $H_2$  come gas di trasporto hanno richiesto l'uso di interpolazioni quadratiche per il bis(2-etilesil)ftalato e il di-n-ottilftalato per superare i criteri di calibrazione. Alcuni dei composti che hanno richiesto interpolazioni differivano tuttavia tra i due set di dati. Per esempio, la N-nitrosodipropilammina ha superato i criteri con un RSD% dell'RF medio di 12,3% per i dati con He ma ha richiesto un'interpolazione lineare per il gas di trasporto  $H_2$  con sorgente HydroInert. La N-nitrosodimetilammina (NDMA) ha richiesto un'interpolazione lineare da 0,2 a 100  $\mu\text{g/mL}$  per i dati generati con He, ma ha superato i criteri di calibrazione sull'intero intervallo predefinito da 0,02 a 100  $\mu\text{g/mL}$ , con un RSD% dell'RF



**Figura 3.** Sovrapposizioni degli EIC delle transizioni MRM per (A) parathion e (B) esaclorobenzene con l'utilizzo di  $H_2$  come gas di trasporto e sorgente Agilent HydroInert su un sistema GC/MS/MS; è dimostrata la ritenzione dei gruppi funzionali chiave in presenza di  $H_2$ .

**Tabella 5.** Risultati della calibrazione iniziale per i 120 composti target e surrogati con gas di trasporto H<sub>2</sub> e sorgente Agilent HydroInert nell'analisi GC/MS/MS per il metodo EPA 8270.

Nome	RT (min)	Media RF	RSD% RF medio	R <sup>2</sup> dell'interpolazione della curva	Interpolazione della curva	Standard basso (µg/mL)	Standard alto (µg/mL)
						L'intervallo predefinito è 0,02-100 µg/mL	
NDMA	1,1613	0,074	17,28			0,02	100
Piridina	1,1832	0,487	16,17			0,05	100
2-picolina	1,4508	0,154	11,23			0,05	100
N-nitroso-N-metiletilammina	1,4893	0,101	13,58			0,02	100
Metil-metansolfonato	1,6215	0,385	6,18			0,02	100
2-fluorofenolo (surrogato)	1,6962	0,515	12,02			0,02	100
N-nitrosodietilammina	1,8184	0,069	15,15			0,02	100
Etil-metansolfonato	1,9794	0,307	7,28			0,02	100
Fenolo-d <sub>6</sub> (surrogato)	2,2064	0,287	9,81			0,02	100
Fenolo	2,2135	0,278	12,45			0,05	100
Anilina	2,2394	0,638	11,65			0,02	100
Bis(2-cloroetil)etere	2,2817	0,538	4,95			0,02	100
2-clorofenolo	2,3106	0,536	11,28			0,02	100
1,3-diclorobenzene	2,413	0,922	2,68			0,02	100
1,4-diclorobenzidina-d <sub>4</sub> (ISTD)	2,450		3,46			0,02	100
1,4-diclorobenzene	2,461	0,917	3,36			0,02	100
Alcool benzilico	2,5379	0,388	14,57			0,02	100
1,2-diclorobenzene	2,5582	0,879	2,65			0,02	100
2-metilfenolo (o-cresolo)	2,6123	0,524	7,24			0,02	100
Bis(2-cloro-1-metiletil)etere	2,639	0,031	7,60			0,02	100
N-nitrosopirrolidina	2,7006	0,029	14,89			0,05	100
4-metilfenolo (p-cresolo)	2,7173	0,738	8,05			0,02	100
Acetofenone	2,7202	0,971	7,46			0,05	100
N-nitrosodi-n-propilammina	2,722	0,027		0,9951	Lineare	0,1	100
4-nitrosomorfolina	2,7331	0,097	16,61			0,02	100
o-toluidina	2,741	0,735	9,62			0,02	100
Esacloroetano	2,7897	0,150	6,42			0,02	100
Nitrobenzene-d <sub>5</sub> (surrogato)	2,8228	0,074	11,46			0,02	100
Nitrobenzene	2,837	0,259	12,83			0,05	100
N-nitrosopiperidina	2,9445	0,049	15,16			0,1	100
Isoforone	3,0114	0,251	9,29			0,02	100
2-nitrofenolo	3,0661	0,067	16,02			0,02	100
2,4-dimetilfenolo (2,4-xilenolo)	3,107	0,441	7,45			0,02	100
Acido benzoico	3,1093	0,202		0,9965	Lineare	2	100
bis(2-cloroetossi)metano	3,186	0,741	6,02			0,02	100
2,4-diclorofenolo	3,2418	0,420	17,51			0,02	100
1,2,4-triclorobenzene	3,3073	0,577	7,97			0,02	100
Naftalene-d <sub>8</sub> (ISTD)	3,348		3,25			0,02	100
Naftalene	3,3634	0,902	3,21			0,02	100
4-cloroanilina	3,4127	0,558	5,69			0,02	100
2,6-diclorofenolo	3,4162	0,353	15,57			0,02	100
Esaclorobutadiene	3,4689	0,410	4,92			0,02	100

Nome	RT (min)	Media RF	RSD% RF medio	R <sup>2</sup> dell'interpolazione della curva	Interpolazione della curva	Standard basso (µg/mL)	Standard alto (µg/mL)
						L'intervallo predefinito è 0,02-100 µg/mL	
p-fenilendiammina	3,6874	0,232	11,54			0,1	100
N-nitroso-di-n-butilammina	3,6903	0,069	8,48			0,02	100
4-cloro-3-metilfenolo	3,7999	0,372	11,05			0,02	100
2-metilnaftalene	3,9022	1,689	4,44			0,02	100
Esaclorociclopentadiene	4,0322	0,034	18,12			0,02	100
1,2,4,5-tetraclorobenzene	4,0348	0,230	6,13			0,02	100
2,4,6-triclorofenolo	4,1305	0,171	19,08			0,02	100
2,4,5-triclorofenolo	4,1537	0,255	15,58			0,02	100
2-fluorodifenile (surrogato)	4,2061	0,364	3,16			0,02	100
1-cloronaftalene	4,2848	0,810	4,80			0,02	100
2-cloronaftalene	4,2998	0,784	4,74			0,02	100
2-nitroanilina	4,3763	0,060	15,70			0,02	100
Dimetilftalato	4,5458	0,799	10,18			0,02	100
2,6-dinitrotoluene	4,5829	0,034	9,97			0,02	100
Acenaftilene	4,6136	0,146	7,06			0,02	100
3-nitroanilina	4,7069	0,034	16,75			0,1	100
Acenaftene-d <sub>10</sub> (ISTD)	4,731		3,03			0,02	100
Acenaftene	4,7548	0,184	2,87			0,02	100
2,4-dinitrofenolo	4,801	0,006		0,9988	Lineare	1	100
Pentaclorobenzene	4,8623	0,149	4,46			0,02	100
4-nitrofenolo	4,8639	0,055	15,34			0,1	100
Dibenzofurano	4,8969	1,389	4,27			0,02	100
2,4-dinitrotoluene	4,9036	0,030	17,05			0,1	100
1-naftilammina	4,9616	0,746	10,88			0,02	100
2,3,4,6-tetraclorofenolo	5,0024	0,066	18,19			0,1	75
2-naftilammina	5,0276	0,906	7,70			0,02	100
Dietilftalato	5,1254	0,583	12,91			0,1	100
Fluorene	5,1741	1,433	4,42			0,02	100
Tionazin	5,1855	0,037		0,9992	Quadratica	0,05	100
5-nitro-o-toluidina	5,1925	0,052	17,22			0,2	100
4-clorofenil-fenil etere	5,1941	0,363	8,62			0,02	100
4-nitroanilina	5,1986	0,111	15,16			0,1	100
2-metil-4,6-dinitrofenolo (DNOC)	5,2271	0,009		0,9992	Lineare	0,2	75
N-nitrosodifenilammina	5,2922	2,207	5,19			0,02	100
Difenilammina	5,2923	2,697	5,23			0,02	100
Azobenzene	5,3216	0,966	19,48			0,1	100
2,4,6-tribromofenolo (surrogato)	5,3661	0,048	18,64			0,05	100
Sulfotep	5,4547	0,046		1,0000	Quadratica	0,1	100
Dimetoato	5,4556	0,004		0,9996	Quadratica	0,1	100
Diallato I	5,5446	0,056		0,9995	Quadratica	0,2	100
Phorate	5,5454	0,112	19,23			0,05	50
Fenacetina	5,5584	0,395		0,9926	Lineare	0,2	100
4-bromofenil fenil etere	5,591	0,214	4,60			0,02	100

Nome	RT (min)	Media RF	RSD% RF medio	R <sup>2</sup> dell'interpolazione della curva	Interpolazione della curva	Standard basso (µg/mL)	Standard alto (µg/mL)
						L'intervallo predefinito è 0,02-100 µg/mL	
Esaclorobenzene	5,6139	0,411	3,63			0,02	100
Pentaclorofenolo	5,785	0,106		0,9996	Quadratica	0,5	100
Pentacloronitrobenzene	5,7933	0,053	17,34			0,02	100
4-amminodifenile	5,8011	0,415	7,12			0,02	100
Propizamide	5,8731	0,228	18,96			0,1	75
Fenantrene-d <sub>10</sub> (ISTD)	5,936		2,96			0,02	100
Fenantrene	5,9516	1,117	6,24			0,02	100
Dinoseb	5,9596	0,046	16,84			0,2	100
Disulfoton	5,9761	0,189		0,9999	Quadratica	0,05	100
Antracene	5,9921	0,857	3,53			0,02	100
Paration-metile	6,2746	0,068	18,32			0,02	100
Di- <i>n</i> -butilftalato	6,4745	0,567	19,97			0,05	100
4-nitrochinolina-1-ossido	6,5908	0,011	19,12			0,2	75
Parathion	6,6037	0,032	16,40			0,05	100
Fluorantene	6,9204	0,344	4,85			0,02	100
Benzidina	7,0591	0,029	17,04			0,1	100
Pirene	7,1006	0,361	4,52			0,02	100
<i>p</i> -terfenile-d <sub>14</sub> (surrogato)	7,2656	0,141	3,33			0,02	100
Aramite I	7,2822	0,014	12,68			0,02	100
Aramite II	7,3467	0,013	11,52			0,02	100
4-dimetilaminoazobenzene	7,3855	0,053		0,9989	Quadratica	0,05	100
Clorobenzilato	7,4376	0,171	19,35			0,02	75
Famphur	7,6348	0,061	11,33			0,02	50
3,3'-dimetil benzidina	7,6608	0,097	11,45			0,05	100
Butil benzil ftalato	7,6991	0,155		0,9986	Quadratica	0,05	100
Benzo[a]antracene	8,0875	1,018	9,47			0,05	100
3,3'-diclorobenzidina	8,0933	0,075	16,78			0,1	100
Crisene-d <sub>12</sub> (ISTD)	8,100		3,61			0,02	100
Crisene	8,1151	0,437	6,10			0,02	100
bis(2-etilesil)ftalato	8,1936	0,250		0,9992	Quadratica	0,05	100
Di- <i>n</i> -ottilftalato	8,7044	0,470		0,9991	Quadratica	0,05	100
Benzo[b]fluorantene	8,9096	1,258	3,89			0,02	100
7,12-dimetilbenzo[a]antracene	8,9135	0,603	14,52			0,02	100
Benzo[k]fluorantene	8,9307	1,258	4,48			0,02	100
Benzo[a]pirene	9,1396	0,922	11,99			0,02	100
Perilene-d <sub>12</sub> (ISTD)	9,183		5,97			0,02	100
3-metilcolantrene	9,3835	0,455	19,13			0,02	100
Dibenzo[a,j]acridina	9,7986	0,375		0,9923	Lineare	0,2	100
Indeno[1,2,3-cd]pirene	9,9277	0,961	12,31			0,02	100
Dibenzo[a,h]antracene	9,9494	0,140	10,41			0,02	100
Benzo[g,h,i]perilene	10,133	1,265	4,92			0,02	100

medio di 17,3% con gas di trasporto H<sub>2</sub> e sorgente Hydrolnert.<sup>3</sup> Singole differenze tra specifici composti sono attese in quanto il metodo è stato trasferito da un gas inerte a uno più reattivo e sono state apportate modifiche ai parametri di iniettore e forno.

Nel corso dello sviluppo di questo metodo, la temperatura iniziale dell'iniettore multimode è stata variata per individuare i risultati migliori per l'intero tempo di analisi. In questo metodo si sono ottenuti i migliori risultati sottoponendo l'iniettore multimode a una rampa da 250 a 350 °C. L'iniettore è stato testato anche alla temperatura iniziale più bassa di 230 °C, ottenendo risultati migliori per alcuni dei composti sensibili a eluizione precoce, come l'acido benzoico; le prestazioni per gli IPA a eluizione tardiva, tuttavia, non erano altrettanto valide relativamente agli intervalli lineari e sussisteva inoltre un certo rischio di effetto memoria. Gli specifici parametri dell'iniettore dovrebbero essere ottimizzati dall'utilizzatore in base alle rispettive esigenze di analisi.

La perdita di sensibilità con H<sub>2</sub> come gas di trasporto e gli spettrometri di massa esistenti è ben documentata. In considerazione di questo aspetto, è stata dedicata particolare attenzione all'intervallo di calibrazione e a verificare che la maggior parte dei composti potesse raggiungere lo stesso intervallo di calibrazione delle precedenti analisi con He. Per quanto riguarda la sensibilità, 77 composti erano stati analizzati in una precedente applicazione per il metodo EPA 8270 con gas di trasporto He su un sistema GC/MS/MS.<sup>3</sup> Confrontando questi composti con lo stesso insieme con sorgente Hydrolnert e gas di trasporto H<sub>2</sub> (ancora GC/MS/MS), si rileva che solo 8 composti in più hanno richiesto interpolazioni lineari o quadratiche rispetto ai dati ottenuti con He. Come è normale, l'acido benzoico ha richiesto un'interpolazione lineare con un intervallo di calibrazione da 2 a 100 µg/mL, mentre l'interpolazione della curva e l'intervallo di calibrazione sono gli stessi tra i dati generati con He e H<sub>2</sub>. Nel caso del 2,4-dinitrofenolo, entrambe le analisi hanno richiesto interpolazioni lineari ma i dati H<sub>2</sub> presentavano un intervallo

più stretto, con inizio a 1 µg/mL anziché a 0,5 µg/mL come nel caso dell'He. Con una temperatura iniziale dell'iniettore di 230 °C, l'intervallo di calibrazione del 2,4-dinitrofenolo iniziava a 0,5 µg/mL; se la rivelazione del 2,4-dinitrofenolo è fondamentale, il metodo deve essere sviluppato per questo composto sensibile. Il pentaclorofenolo presentava la stessa interpolazione della curva, ossia quadratica, e un intervallo di calibrazione compreso tra 0,5 e 100 µg/mL sia per i risultati ottenuti con H<sub>2</sub> e sorgente Hydrolnert che per quelli con l'He. D'altro canto, il 4-nitrofenolo superava i criteri di calibrazione con un valore RSD% dell'RF medio pari a 15,34% e un intervallo 0,1-100 µg/mL per l'analisi con H<sub>2</sub>, mentre i risultati ottenuti con l'He richiedevano un'interpolazione lineare da 5 a 160 µg/mL. L'identificazione di routine della benzidina, inoltre, è stata possibile in tutte le analisi GC/MS/MS con H<sub>2</sub> e sorgente Hydrolnert; in questo specifico metodo, il valore RSD% dell'RF medio era pari a 17,5% per l'intervallo di calibrazione esteso completo da 0,02 a 100 µg/mL, mentre i risultati ottenuti con l'He non includevano dati per la benzidina. Altri due esempi di intervallo di calibrazione esteso con i dati H<sub>2</sub> e Hydrolnert sono il bis(2-etilesil)ftalato e il di-*n*-ottilftalato. Entrambi questi ftalati presentano un intervallo di calibrazione più ampio compreso tra 0,05 e 100 µg/mL con un'interpolazione quadratica per i dati ottenuti con H<sub>2</sub> rispetto all'interpolazione quadratica da 0,5 a 100 µg/mL per l'He. Dall'esame degli standard interni si evince che tutti i valori RSD% degli RF medi sono inferiori a 6%, a indicare prestazioni omogenee per il gas di trasporto H<sub>2</sub>, la sorgente Hydrolnert e l'analisi GC/MS/MS, senza alcun problema di idrogenazione dei composti deuterati. I composti surrogati deuterati nitrobenzene-d<sub>5</sub>, fenolo-d<sub>6</sub> e *p*-terfenile-d<sub>14</sub> sono un'ulteriore conferma della ritenzione dei legami con deuterio con valori RSD% degli RF medi inferiori a 12% per le curve di calibrazione estese. Dei 77 composti confrontabili tra i dati con H<sub>2</sub> ed He, l'80% (60 composti) presentava intervalli di calibrazione simili o più ampi nel caso dei risultati ottenuti con H<sub>2</sub> e sorgente Hydrolnert. Il gas di trasporto H<sub>2</sub> con la sorgente Hydrolnert preserva la sensibilità per la maggior parte dei composti nel confronto con i dati ottenuti con l'He.

## Confronto dei fattori di risposta (RF)

La sensibilità e il mantenimento dei fattori di risposta (RF), sia per i sistemi a singolo quadrupolo che a triplo quadrupolo, sono sempre motivo di preoccupazione quando si trasferisce un'analisi dall'He all'H<sub>2</sub> come gas di trasporto. In Tabella 6 sono elencati gli RF secondo i criteri di riferimento del metodo EPA 8270E (Tabella 4), gli RF di un'analisi GC/MS con gas di trasporto He e, infine, gli RF per l'analisi GC/MS/MS con la sorgente HydroInert e gas di trasporto H<sub>2</sub>. In tutti questi sistemi di test sono state utilizzate lenti di estrazione da 9 mm, indipendentemente dal tipo di sorgente (per esempio, la sorgente HydroInert era dotata di lenti di estrazione HydroInert da 9 mm). Gli RF del metodo EPA 8270E di Tabella 4 sono criteri di riferimento piuttosto che requisiti di successo del metodo ma, idealmente, gli RF dovrebbero

essere simili a tali valori di riferimento. Nel caso dell'analisi GC/MS con He, due composti possiedono valori RF inferiori ai criteri di riferimento: esacloroetano ed N-nitroso-di-*n*-propilammina. Nel caso dell'analisi GC/MS/MS con H<sub>2</sub> e HydroInert, 14 composti in più rispetto al sistema GC/MS con He presentavano valori RF inferiori ai criteri di riferimento; il metodo GC/MS/MS offre però anche la possibilità di analizzare livelli di concentrazione più bassi, fino a 20 ng/mL, quando invece l'intervallo di calibrazione normale varia tra 100 ng/mL e 100 µg/mL. Per sette di questi composti a RF basso, il valore si trova entro 0,2 unità dal valore RF suggerito. È difficile stabilire il significato di questa differenza, poiché i valori RF di riferimento sono dati generati su sistemi GC/MS a singolo quadrupolo con He come gas di trasporto.

**Tabella 6.** Valori RF di composti specifici (in ordine alfabetico in inglese) dal metodo EPA 8270E (Tabella 4)<sup>4</sup>; analisi GC/MS a singolo quadrupolo con gas di trasporto He e analisi GC/MS/MS a triplo quadrupolo con sorgente Agilent HydroInert e gas di trasporto H<sub>2</sub>.

Composto	RF da EPA 8270E <sup>4</sup>	RF da GC/MS con He	RF da GC/MS/MS con H <sub>2</sub> e sorgente HydroInert
Acenaftene	0,9	1,3	0,2
Acenaftilene	0,9	1,9	0,1
Acetofenone	0,01	1,2	1,0
Antracene	0,7	1,1	0,9
Benzo(a)antracene	0,8	1,4	1,0
Benzo[a]pirene	0,7	1,2	1,0
Benzo[b]fluorantene	0,7	1,4	1,2
Benzo(g,h,i)perilene	0,5	1,1	1,3
Benzo[k]fluorantene	0,7	1,2	1,3
Bis(2-cloroetossi)metano	0,3	0,4	0,7
Bis(2-cloroetil)etere	0,7	0,8	0,5
Bis-(2-etilesil)ftalato	0,01	0,8	0,2
4-bromofenil-fenil etere	0,1	0,3	0,2
Butil benzil ftalato	0,01	0,6	0,1
4-cloroanilina	0,01	0,4	0,6
4-cloro-3-metilfenolo	0,2	0,3	0,4
2-cloronaftalene	0,8	2,4	0,7
2-clorofenolo	0,8	0,8	0,5
4-clorofenil-fenil etere	0,4	0,7	0,3
Crisene	0,7	1,2	0,4
Dibenzo[a,h]antracene	0,4	1,1	0,2
Dibenzofurano	0,8	1,7	1,4
Di- <i>n</i> -butilftalato	0,01	1,3	0,5
3,3'-diclorobenzidina	0,01	0,5	0,1
2,4-diclorofenolo	0,2	0,3	0,4
Dietilftalato	0,01	1,4	0,6
Dimetilftalato	0,01	1,4	0,8
2,4-dimetilfenolo	0,2	0,3	0,4
4,6-dinitro-2-metilfenolo	0,01	0,2	0,01
2,4-dinitrofenolo	0,01	0,2	0,01
2,4-dinitrotoluene	0,2	0,4	0,02

Composto	RF da EPA 8270E <sup>4</sup>	RF da GC/MS con He	RF da GC/MS/MS con H <sub>2</sub> e sorgente HydroInert
2,6-dinitrotoluene	0,2	0,3	0,03
Di- <i>n</i> -ottilftalato	0,01	1,3	0,4
Fluorantene	0,6	1,2	0,4
Fluorene	0,9	1,3	1,4
Esaclorobenzene	0,1	0,3	0,4
Esaclorobutadiene	0,01	0,2	0,4
Esaclorociclopentadiene	0,05	0,3	0,03
Esacloroetano	0,3	0,2	0,1
Indeno(1,2,3-cd)pirene	0,5	1,2	1,1
Isoforone	0,4	0,6	0,3
2-metilnaftalene	0,4	0,7	1,7
2-metilfenolo	0,7	0,7	0,6
4-metilfenolo	0,6	1,0	0,7
Naftalene	0,7	1,1	0,9
2-nitroanilina	0,01	0,4	0,05
3-nitroanilina	0,01	0,3	0,02
4-nitroanilina	0,01	0,3	0,1
Nitrobenzene	0,2	0,3	0,3
2-nitrofenolo	0,1	0,2	0,1
4-nitrofenolo	0,01	0,2	0,05
N-nitroso-di- <i>n</i> -propilammina	0,5	0,4	0,03
N-nitrosodifenilammina	0,01	2,1	2,9
2,2'-ossibis-(1-cloropropano)	0,01	0,5	0,03
Pentaclorofenolo	0,05	0,2	0,1
Fenantrene	0,7	1,2	1,1
Fenolo	0,8	0,9	0,3
Pirene	0,6	1,3	0,3
1,2,4,5-tetraclorobenzene	0,01	0,4	0,2
2,3,4,6-tetraclorofenolo	0,01	0,4	0,07
2,4,5-triclorofenolo	0,2	0,3	0,2
2,4,6-triclorofenolo	0,2	0,3	0,2

## Ripetibilità in matrice

L'ampia miscela di composti del metodo EPA 8270 è stata diluita anche a una concentrazione di 0,4 µg/mL per fungere da standard di verifica della calibrazione in quanto 0,4 µg/mL non era uno specifico punto di calibrazione. Per testare la ripetibilità della sorgente Hydrolnert nell'analisi GC/MS/MS con H<sub>2</sub> come gas di trasporto, è stata eseguita un'iniezione "a sandwich" dello standard con 1 µL di una matrice composita di terreno per simulare un campione di matrice arricchito. Questa iniezione è stata ripetuta 10 volte per valutare la robustezza del metodo e individuare eventuali fenomeni di incremento di segnale, soppressione o potenziale contaminazione dalla matrice di terreno. In Tabella 7 sono riportati i seguenti dati per ciascun composto: concentrazione calcolata su uno standard di verifica di calibrazione a 0,4 µg/mL in solvente, concentrazione media dei 10 replicati di verifica di calibrazione a 0,4 µg/mL in matrice di terreno, RSD% delle 10 iniezioni replicate in matrice di terreno e percentuale di recupero nel confronto tra concentrazione in matrice e concentrazione nel solvente.

Nella tabella non sono stati riportati i composti i cui intervalli di calibrazione non includevano valori 0,2 µg/mL o inferiori. Per lo standard in solvente a 0,4 µg/mL, solo cinque composti non rientravano nella finestra di verifica della calibrazione ±20%: sulfotep, dimetoato, diallato I, aramite I e 7,12-dimetilbenzo[a] antracene. I primi tre composti sono stati calibrati con interpolazioni quadratiche e la concentrazione di verifica è bassa, cosa che potrebbe giustificare i valori elevati. In genere lo standard di verifica della calibrazione è più vicino al punto intermedio della curva di calibrazione, ma questo studio tendeva a limiti più bassi con una concentrazione in colonna di 0,02 µg/mL. L'aramite I è appena al di sopra del limite del

20% a 0,481 µg/mL, mentre il 7,12-dimetilbenzo[a]antracene è a circa metà della concentrazione attesa con un valore pari a 0,22 µg/mL. Tutti gli altri composti vicini al 7,12-benzo[a] antracene rientrano nel limite del 20%; non è chiaro, pertanto, perché questo risultato sia così basso. Nel caso delle iniezioni replicate in terreno, tutti i composti tranne due possiedono un valore RSD% inferiore a 10%, a indicare che il metodo è affidabile anche quando si acquisiscono campioni in matrice.

Per quanto riguarda le concentrazioni medie in matrice, 17 composti non rientrano nel limite ±20%; 5 di questi superano appena il valore 0,48 µg/mL (meno di 0,49 µg/mL), cosa che potrebbe corrispondere a lievi incrementi del segnale dalla matrice. Dieci di questi composti rientrano nel 140% della concentrazione attesa pari a 0,4 µg/mL; inoltre, quando la percentuale di recupero viene calcolata confrontando la concentrazione nel terreno alla concentrazione nel solvente, solo sei composti non rientrano in un intervallo di recupero ±20%, cosa che suggerisce nuovamente l'incremento del segnale. La concentrazione media segnalata per il bis(2-etilesil) ftalato è pari a 0,89 µg/mL, il che suggerisce la presenza di bis(2-etilesil)ftalato nella matrice di terreno. Al contrario, il famphur sembra essere soppresso dalla matrice, in quanto la concentrazione media in matrice è risultata pari a 0,272 µg/mL, contro un valore di 0,402 µg/mL nel solvente. In sintesi, per quanto riguarda i test in matrice di terreno, è possibile rivelare facilmente lo standard di verifica della calibrazione a 0,4 µg/mL in maniera coerente nella matrice, con oltre l'85% dei composti che rispetta il requisito del ±20% dell'intervallo di calibrazione. In genere, la verifica della calibrazione viene eseguita in solvente, condizione in cui oltre il 95% dei composti rientra nel ±20% dell'intervallo di calibrazione.

**Tabella 7.** Confronto tra la concentrazione calcolata in solvente dello standard di verifica della calibrazione a 0,4 µg/mL e la concentrazione media (10 iniezioni replicate) dello standard a 0,4 µg/mL in matrice di terreno; sono inoltre riportati i valori RSD% delle 10 iniezioni replicate e la percentuale di recupero dello standard a 0,4 µg/mL in matrice rispetto al solvente.

N.	Nome	Concentrazione calcolata (0,4 µg/mL in solvente)	Concentrazione media in matrice dell'aggiunta a 0,4 µg/mL	RSD% di 10 replicati	Recupero in matrice
1	NDMA	0,45	0,47	1,95%	104%
2	Piridina	0,46	0,45	2,68%	97%
3	2-picolina	0,45	0,45	2,54%	100%
4	N-nitroso-N-metiletilammina	0,44	0,46	1,75%	106%
5	Metil-metansolfonato	0,47	0,46	0,31%	99%
6	2-fluorofenolo	0,46	0,45	0,94%	99%
7	N-nitroso-N-dietilammina	0,46	0,46	1,37%	100%
8	Etil-metansolfonato	0,45	0,45	0,68%	99%
9	Fenolo-d <sub>6</sub>	0,46	0,45	0,67%	99%
10	Fenolo	0,46	0,44	1,73%	96%
11	Anilina	0,46	0,46	1,51%	100%
12	bis(2-cloroetil)etere	0,46	0,45	0,87%	99%
13	2-clorofenolo	0,44	0,45	1,28%	101%

N.	Nome	Concentrazione calcolata (0,4 µg/mL in solvente)	Concentrazione media in matrice dell'aggiunta a 0,4 µg/mL	RSD% di 10 replicati	Recupero in matrice
14	1,3-diclorobenzene	0,46	0,46	0,56%	100%
15	1,4-diclorobenzene	0,47	0,46	0,57%	98%
16	Alcool benzilico	0,42	0,45	2,08%	108%
17	1,2-diclorobenzene	0,47	0,46	0,87%	99%
18	2-metilfenolo (o-cresolo)	0,44	0,44	1,50%	99%
19	bis(2-cloro-1-metiletil)etere	0,47	0,46	4,86%	97%
20	N-nitrosopirrolidina	0,45	0,47	3,45%	103%
21	4-metilfenolo (p-cresolo)	0,40	0,42	1,65%	104%
22	Acetofenone	0,45	0,45	1,71%	100%
23	N-nitroso-di-n-propilammina	0,42	0,43	5,84%	103%
24	4-nitrosomorfolina	0,42	0,45	3,11%	107%
25	o-toluidina	0,47	0,47	1,44%	99%
26	Esacloroetano	0,44	0,48	2,32%	109%
27	Nitrobenzene-d <sub>5</sub>	0,43	0,49	2,66%	112%
28	Nitrobenzene	0,43	0,48	3,02%	110%
29	N-nitrosopiperidina	0,42	0,43	2,72%	104%
30	Isoforone	0,43	0,44	1,53%	103%
31	2-nitrofenolo	0,46	0,49	2,06%	106%
32	2,4-dimetilfenolo	0,43	0,43	1,30%	100%
33	bis(2-cloroetossi)metano	0,44	0,44	0,54%	101%
34	2,4-diclorofenolo	0,40	0,43	0,92%	106%
35	1,2,4-triclorobenzene	0,46	0,46	0,56%	100%
37	Naftalene	0,47	0,46	0,66%	98%
38	4-cloroanilina	0,45	0,46	1,13%	102%
39	2,6-diclorofenolo	0,41	0,44	1,32%	106%
40	Esaclorobutadiene	0,46	0,46	0,52%	100%
41	p-fenilendiammina	0,45	0,44	3,75%	97%
42	N-nitroso-di-n-butilammina	0,42	0,44	1,67%	104%
43	4-cloro-3-metilfenolo	0,43	0,43	1,45%	101%
44	2-metilnaftalene	0,47	0,47	0,60%	99%
45	Esaclorociclopentadiene	0,41	0,40	3,72%	96%
46	1,2,4,5-tetraclorobenzene	0,47	0,47	1,39%	99%
47	2,4,6-triclorofenolo	0,42	0,43	1,47%	103%
48	2,4,5-triclorofenolo	0,41	0,39	4,58%	97%
49	2-fluorobifenile	0,47	0,46	0,74%	99%
50	1-cloronaftalene	0,47	0,46	0,78%	98%
51	2-cloronaftalene	0,47	0,46	1,55%	98%
52	2-nitroanilina	0,44	0,53	0,90%	120%
53	Dimetilftalato	0,42	0,44	0,92%	106%
54	2,6-dinitrotoluene	0,44	0,47	2,90%	106%
55	Acenaftilene	0,44	0,43	2,28%	99%
56	m-nitroanilina	0,39	0,43	4,35%	112%
57	Acenaftene	0,48	0,46	1,14%	95%
59	Pentaclorobenzene	0,46	0,45	1,85%	98%
60	4-nitrofenolo	0,37	0,44	3,35%	120%

N.	Nome	Concentrazione calcolata (0,4 µg/mL in solvente)	Concentrazione media in matrice dell'aggiunta a 0,4 µg/mL	RSD% di 10 replicati	Recupero in matrice
61	Dibenzofurano	0,47	0,46	0,58%	99%
62	2,4-dinitrotoluene	0,42	0,44	3,98%	105%
63	1-naftilammina	0,37	0,47	1,19%	126%
64	2,3,4,6-tetraclorofenolo	0,40	0,42	1,79%	106%
65	2-naftilammina	0,40	0,44	1,66%	110%
66	Dietilftalato	0,41	0,45	1,02%	111%
67	Fluorene	0,47	0,47	0,82%	101%
68	Tionazin	0,42	0,46	2,38%	109%
69	5-nitro- <i>o</i> -toluidina	0,40	0,45	8,22%	114%
70	4-clorofenil-fenil etere	0,48	0,46	1,00%	96%
71	4-nitroanilina	0,43	0,38	7,92%	88%
72	2-metil-4,6-dinitrofenolo (DNOC)	0,46	0,52	5,22%	112%
73	N-nitrosodifenilammina	0,46	0,46	0,97%	101%
74	Difenilammina	0,45	0,47	0,94%	104%
75	Azobenzene	0,47	0,50	2,62%	107%
76	2,4,6-tribromofenolo	0,42	0,43	3,11%	104%
77	Sulfotep	0,53	0,52	4,03%	97%
78	Dimetoato	0,64	0,52	12,70%	81%
79	Diallato I	2,70	0,53	2,91%	102%
80	Phorate	0,47	0,53	2,47%	111%
81	Fenacetina	0,42	0,44	1,40%	105%
82	4-bromofenil fenil etere	0,45	0,44	2,94%	98%
83	Esaclorobenzene	0,46	0,46	1,43%	100%
85	Pentacloronitrobenzene	0,41	0,46	3,62%	111%
86	4-amminodifenile	0,44	0,45	1,56%	103%
87	Propizamide	0,40	0,43	1,92%	107%
88	Fenantrene	0,48	0,48	0,67%	101%
89	Dinoseb	0,42	0,43	3,59%	103%
90	Disulfoton	0,43	0,48	2,15%	111%
91	Antracene	0,44	0,46	1,26%	104%
92	Paration-metile	0,42	0,40	1,25%	94%
93	Di- <i>n</i> -butilftalato	0,38	0,41	1,25%	106%
94	4-nitrochinolina-1-ossido	0,42	0,41	11,49%	97%
95	Parathion	0,41	0,45	2,50%	112%
96	Fluorantene	0,47	0,47	0,79%	100%
97	Benzidina	0,42	0,45	7,96%	105%
98	Pirene	0,47	0,48	0,38%	101%
99	<i>p</i> -terfenile- <i>d</i> <sub>14</sub>	0,46	0,46	0,82%	101%
100	Aramite I	0,48	0,51	2,28%	106%
101	Aramite II	0,48	0,50	2,85%	105%
102	<i>p</i> -(dimetilammino)azobenzene	0,47	0,51	2,10%	108%
103	Clorobenzilato	0,41	0,45	1,07%	108%
104	Famphur	0,40	0,27	3,75%	68%
105	3,3'-dimetilbenzidina	0,46	0,47	2,96%	101%
106	Butil benzil ftalato	0,40	0,43	1,32%	109%

N.	Nome	Concentrazione calcolata (0,4 µg/mL in solvente)	Concentrazione media in matrice dell'aggiunta a 0,4 µg/mL	RSD% di 10 replicati	Recupero in matrice
107	Benzo[a]antracene	0,44	0,45	0,31%	101%
108	3,3'-diclorobenzidina	0,41	0,43	2,23%	105%
109	Crisene	0,47	0,47	0,62%	99%
110	bis(2-etilesil)ftalato	0,44	0,89	1,80%	205%
111	Di- <i>n</i> -ottilftalato	0,43	0,45	1,37%	104%
112	Benzo[b]fluorantene	0,44	0,46	1,25%	105%
113	7,12-dimetilbenzo[a]antracene	0,22	0,40	1,83%	182%
114	Benzo[k]fluorantene	0,46	0,43	2,74%	94%
115	Benzo[a]pirene	0,41	0,42	2,09%	103%
116	3-metilcolantrene	0,40	0,41	1,34%	104%
117	Dibenzo[a,j]acridina	0,44	0,46	1,56%	104%
118	Indeno[1,2,3-cd]pirene	0,41	0,42	1,01%	104%
119	Dibenzo[a,h]antracene	0,43	0,44	3,11%	103%
120	Benzo[g,h,i]perilene	0,43	0,44	1,87%	104%

## Conclusioni

Grazie all'alta sensibilità ottenuta con la modalità MRM e l'inerzia della sorgente Agilent HydroInert con H<sub>2</sub> come gas di trasporto, il 92,5% dei 120 composti testati è stato rivelato e calibrato nell'intervallo di calibrazione normale del metodo EPA 8270E, ossia 0,1-100 µg/mL; per 77 composti è stato raggiunto l'intervallo di calibrazione esteso tra 0,02 e 100 µg/mL. Inoltre, solo 16 composti hanno richiesto l'interpolazione della curva per superare i criteri di calibrazione del metodo EPA 8270E. I criteri del metodo EPA 8270E sono stati soddisfatti per la calibrazione iniziale su un intervallo operativo da 0,02 a 100 µg/mL in una singola analisi di 12 minuti utilizzando H<sub>2</sub> come gas di trasporto e la sorgente HydroInert, preservando contemporaneamente la fedeltà spettrale e le transizioni MRM esistenti per i composti suscettibili di reattività con H<sub>2</sub>.

## Bibliografia

1. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270D. *United States Environmental Protection Agency*, Revision 4, February **2007**.
2. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS); Method 8270E. *United States Environmental Protection Agency*, Revision 4, June **2018**.
3. Churley, M.; Quimby, B.; Andrianova, A. A Fast Method for EPA 8270 in MRM Mode Using the 7000 Series Triple Quadrupole GC/MS, *nota applicativa Agilent Technologies*, codice pubblicazione 5994-0691EN, **2019**.

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE73549906

Le informazioni fornite potrebbero variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
Stampato negli Stati Uniti, 27 maggio 2022  
5994-4891ITE