

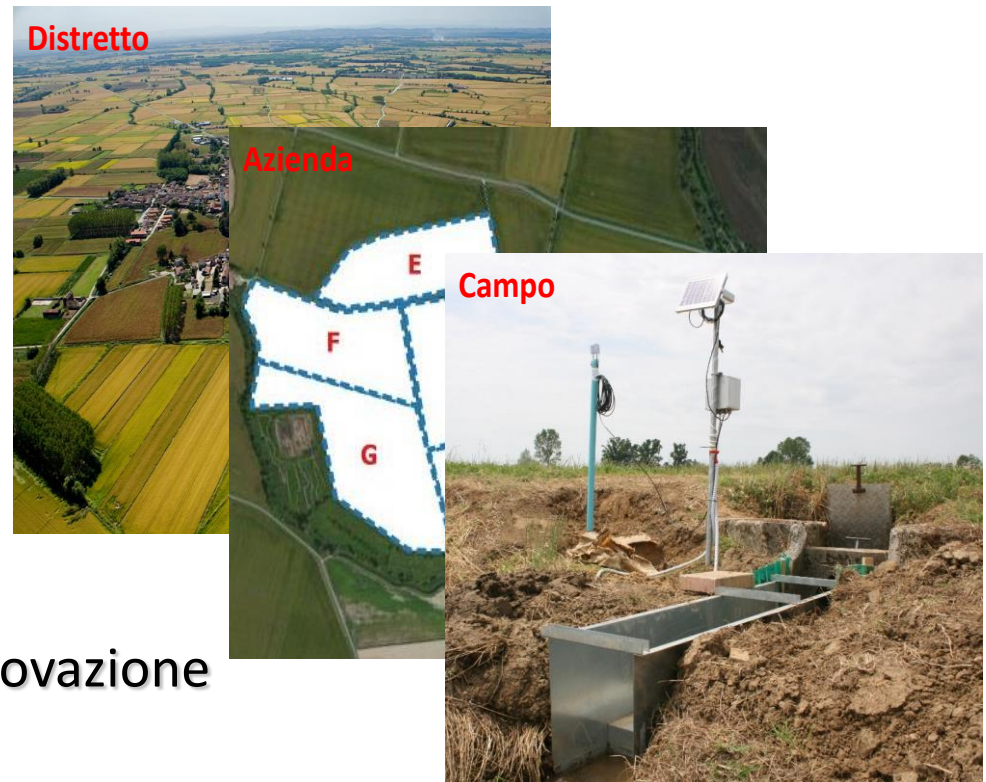


La qualità delle acque in ambiente di risaia: vecchi e nuovi contaminanti

Strategie analitiche per identificare e determinare contaminanti noti e non noti in risaia

Dott. Fabio Gosetti

Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica (DiSIT), UPO



**fondazione
cariplo**



UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

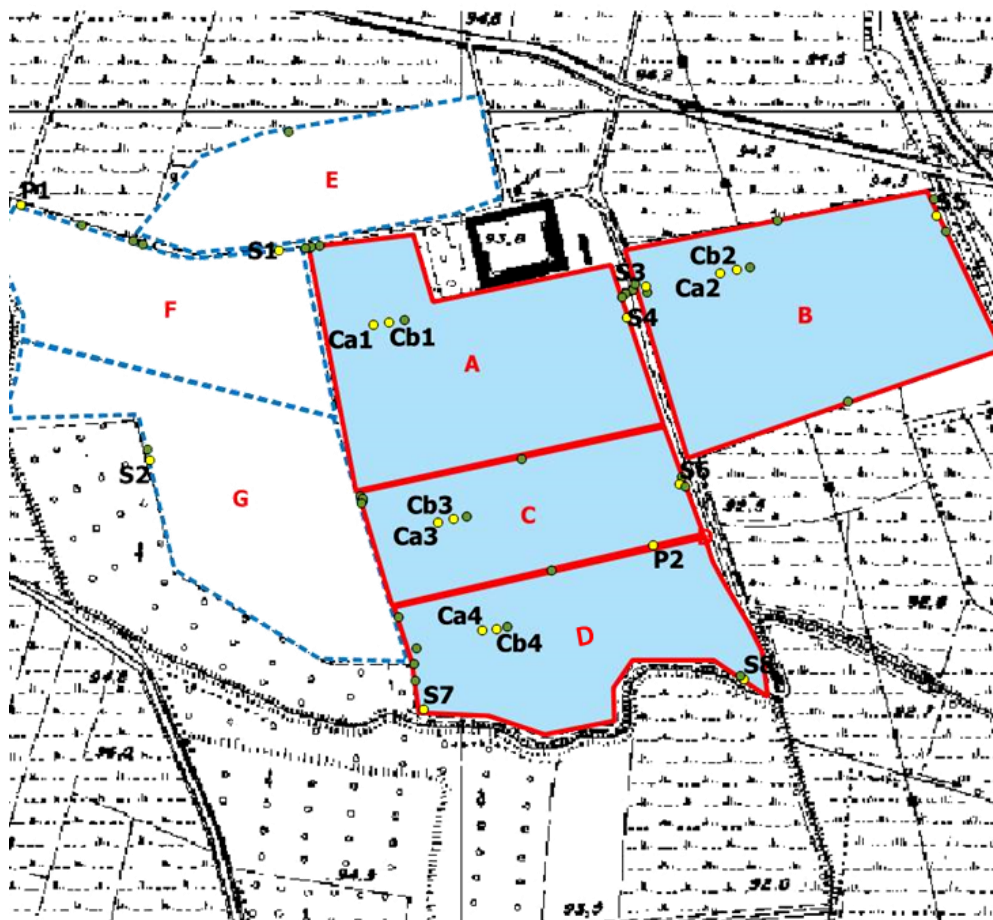
PUNTI DI MONITORAGGIO



22-11-2017

CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE



Monitoraggio di 18 punti di campionamento si:

- ✓ n. 8 acque superficiali;
- ✓ n. 2 acque di falda;
- ✓ n. 8 coppe porose

Il monitoraggio è stato fatto per tutti i parametri di qualità ogni 2 settimane durante la coltivazione del riso e tutti i giorni nel periodo di trattamento.



fondazione
cariplo



UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

- Azoto totale
- BOD₅
- COD (solo il 1° anno)
- Durezza (solo il 1° anno)
- Metalli
- Pesticidi (Target e Non-Target)
- Solidi sospesi totali (SST)
- Tensioattivi anionici (solo 1° anno)



campionamento

30/09/2015
giorno 168

15/04/2016
giorno 0

2o anno

17/10/2016
giorno 185

DETERMINAZIONI ESEGUITE



Parametro	Anno 2015	Anno 2016	Totale
N totale	189	173	362
SST	53	61	114
COD	53	/	53
BOD ₅	53	61	114
Tensioattivi anionici	53	/	53
durezza	53	/	53
Metalli (49 isotopi)	11074	8477	19551
Pesticidi target	2036	2790	4826
Totale determinazioni	13564	11562	25126



Analisi pesticidi non-target su **509** campioni di acqua nel 2015 e **558** campioni nel 2016

Per un totale complessivo di **1067 campioni** analizzati e **25126 determinazioni**

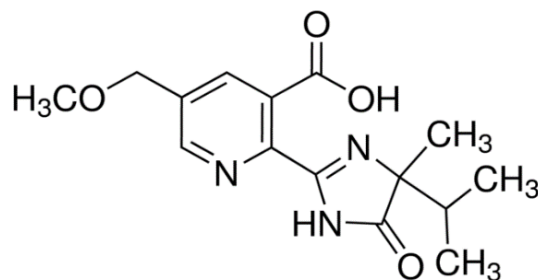


fondazione
cariplo

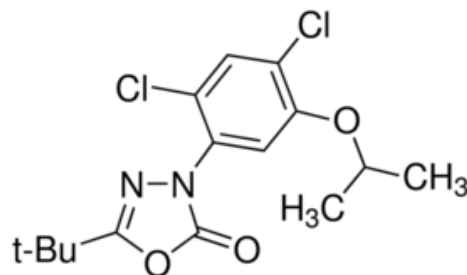


UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

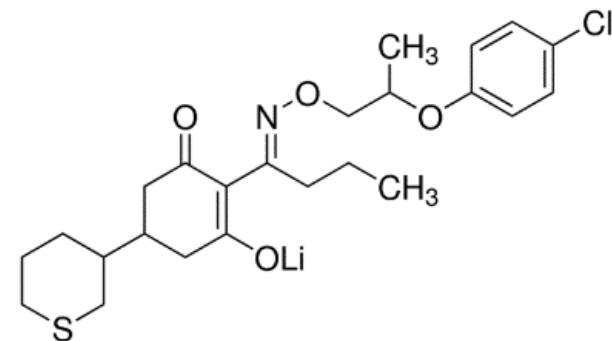
FITOFARMACI OGGETTO DI STUDIO



Imazamox
(Beyond)

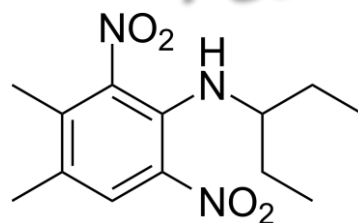


Oxadiazon
(Ronstar)

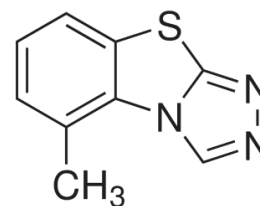


Profoxydim
(Aura)

Aggiunti nel 2016!



Pendimethalin
(Stomp)



Tricyclazole
(Beam)



STUDI DI DEGRADAZIONE



Soluzioni dei principi attivi (ed eccezione del triciclazolo¹) preparate in acqua di risaia e poste in celle di quarzo esposte in solar box:

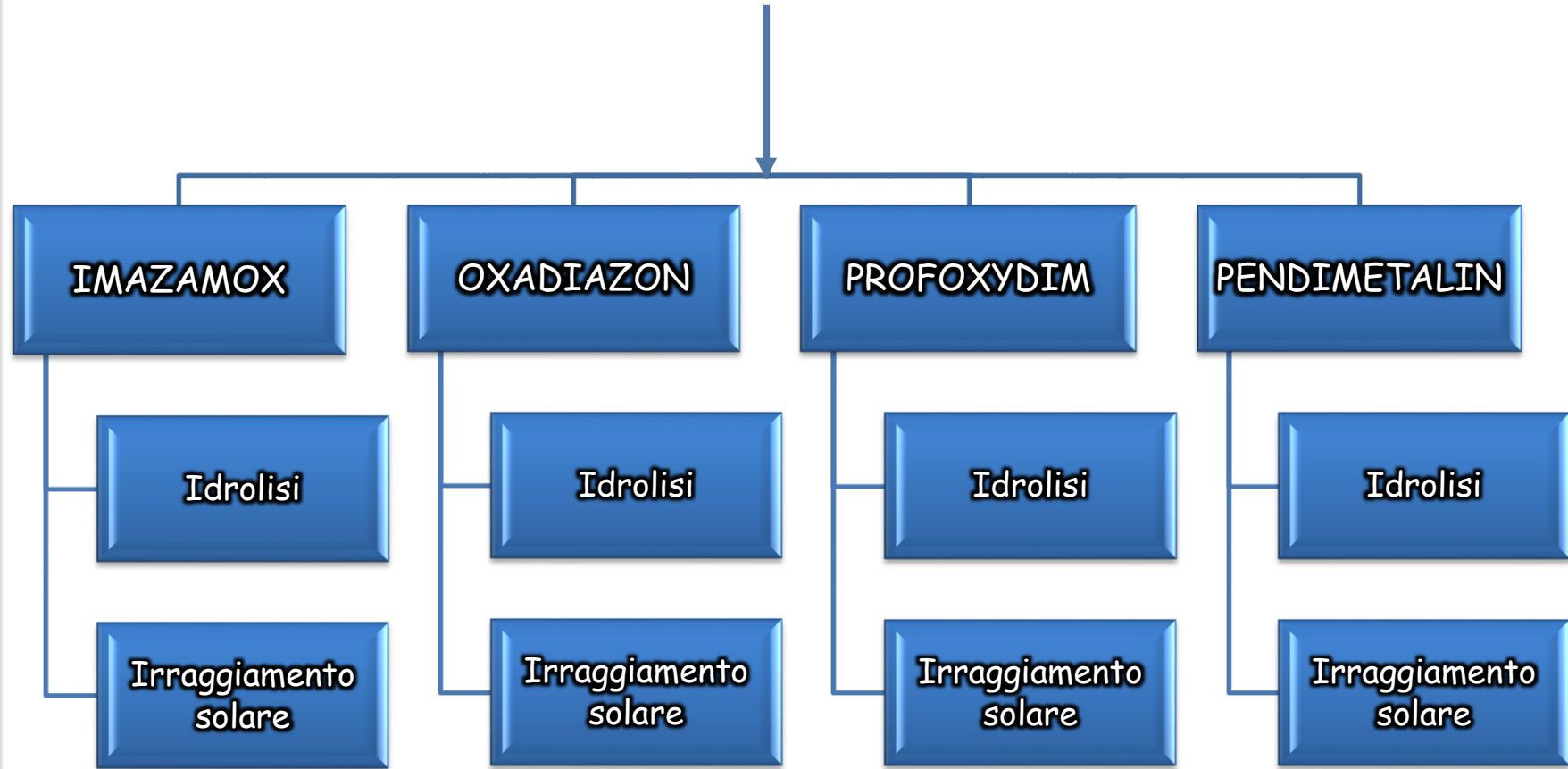
- ✓ Radiazione incidente: 800 W/m²
- ✓ Temperatura: 35 °C
- ✓ Durata exp: 88 ore



Ad intervalli regolari, le soluzioni sono state prelevate e sottoposte ad analisi LC-MS/MS.

¹ F. Gosetti, et. al., Environ Sci Pollut Res (2015) 22:8288-8295.

STUDI DI FOTODEGRADAZIONE IN ACQUA DI RISAIA



Idrolisi → 30 gg al buio

Irraggiamento solare → solarbox

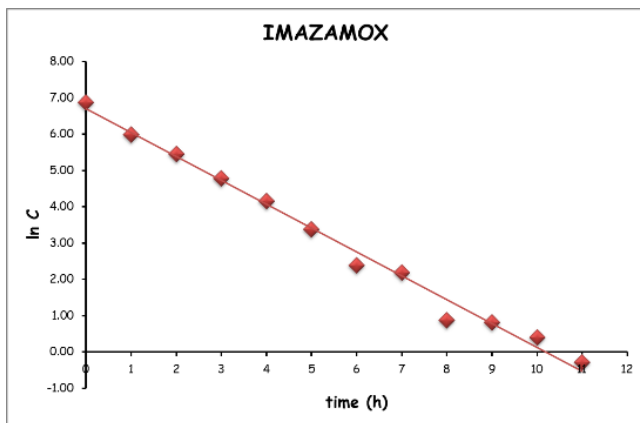


**fondazione
cariplo**

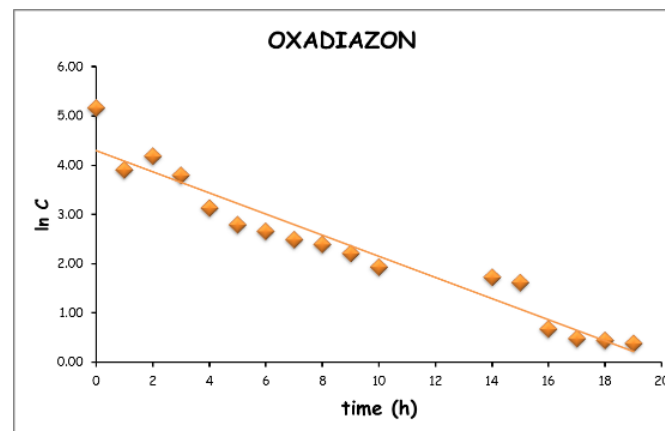


UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

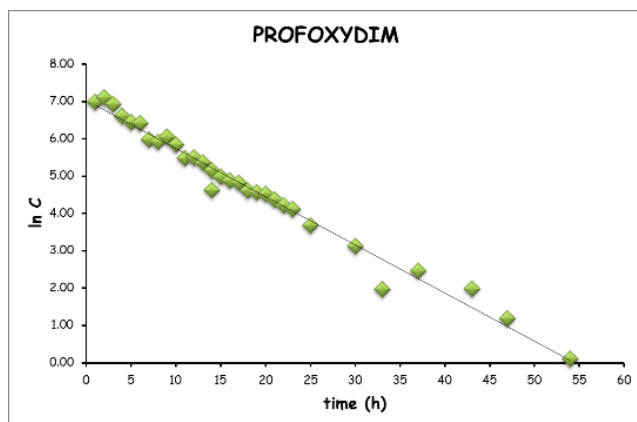
CINETICHE DI FOTODEGRADAZIONE



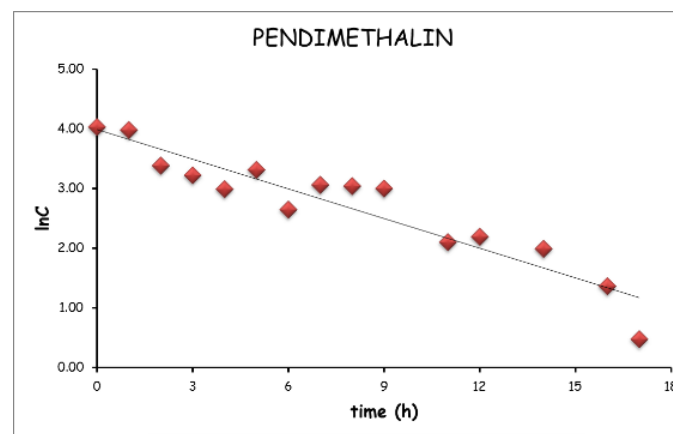
$$t_{1/2} = 1.05 \text{ h} = 63.0 \text{ min}$$



$$t_{1/2} = 3.22 \text{ h} = 193 \text{ min}$$



$$t_{1/2} = 5.37 \text{ h} = 322 \text{ min}$$



$$t_{1/2} = 4.18 \text{ h} = 251 \text{ min}$$



CONDIZIONI MICRO LC-MS/MS



Condizioni micro LC

Fase stazionaria: Halo C18 (0.5 mm × 100 mm, 2,7 μm, Eksigent)

Fase mobile: A = CH₃COONH₄ 1.0 mM + HCOOH 0.1 % (v/v) in H₂O

B = CH₃COONH₄ 1.0 mM + HCOOH 0.1 % (v/v) in CH₃OH

Tempo (min)	A (%)	B (%)
0.0	90	10
0.5	90	10
5.0	5	95
7.0	5	95
7.1	90	10
10.0	90	10

Flusso: 25 μL min⁻¹

Volume iniezione: 150 nL

Temperatura: 45 °C



Condizioni MS

Source = DuoSpray™

Positive ion mode

CUR = 25 psig

GS1 = 25 psig

GS2 = 35 psig

TEM = 400 °C

IS = +5500 V

DP = +100 V

EP = +10 V



AB SCIEX



fondazione
cariplo



UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

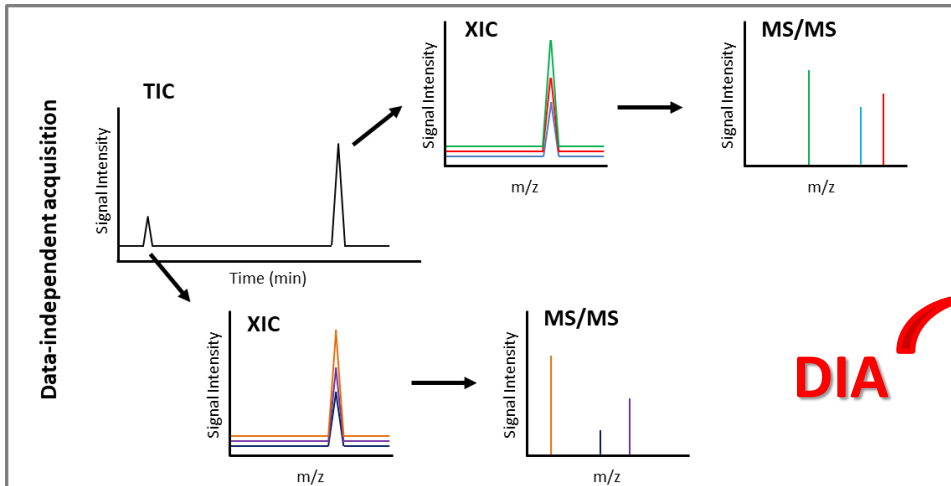
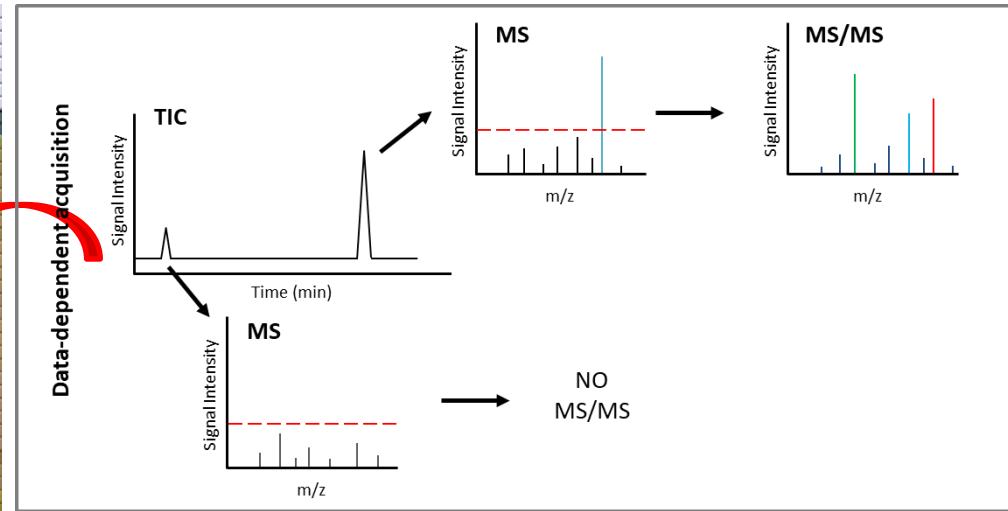
ACQUISIZIONE DEL DATO IN MODALITA' INDIPENDENTE



22-11-2017

CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE



DIA



fondazione
cariplo

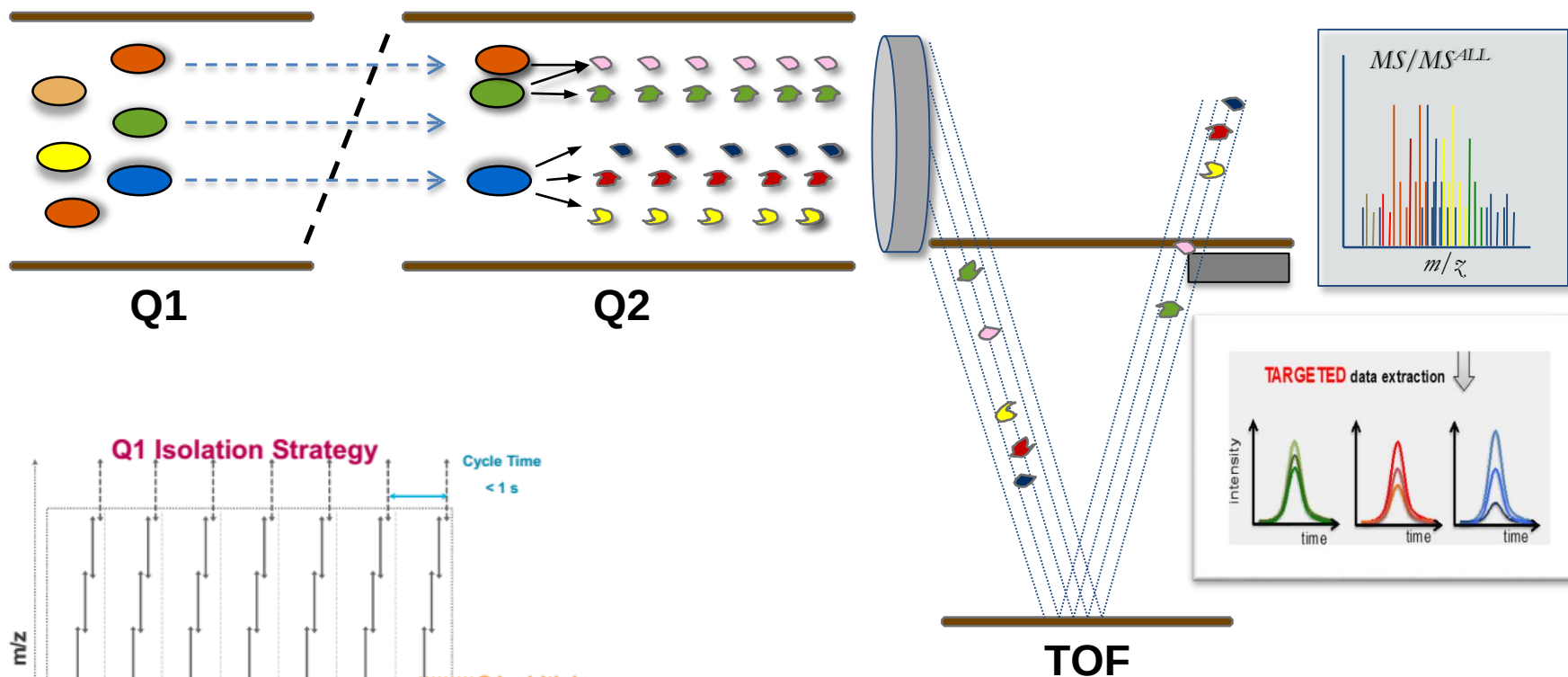


UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE



Sequential Windowed Acquisition of All Theoretical

MS: SWATH – MS/MS^{ALL}



TOF-scan 100-900 Da (a.t. 0.1 sec)

&

MS/MS

32 windows (25 Da) 100-900 Da a.t. 20 ms

Cycle time = 0.79 s



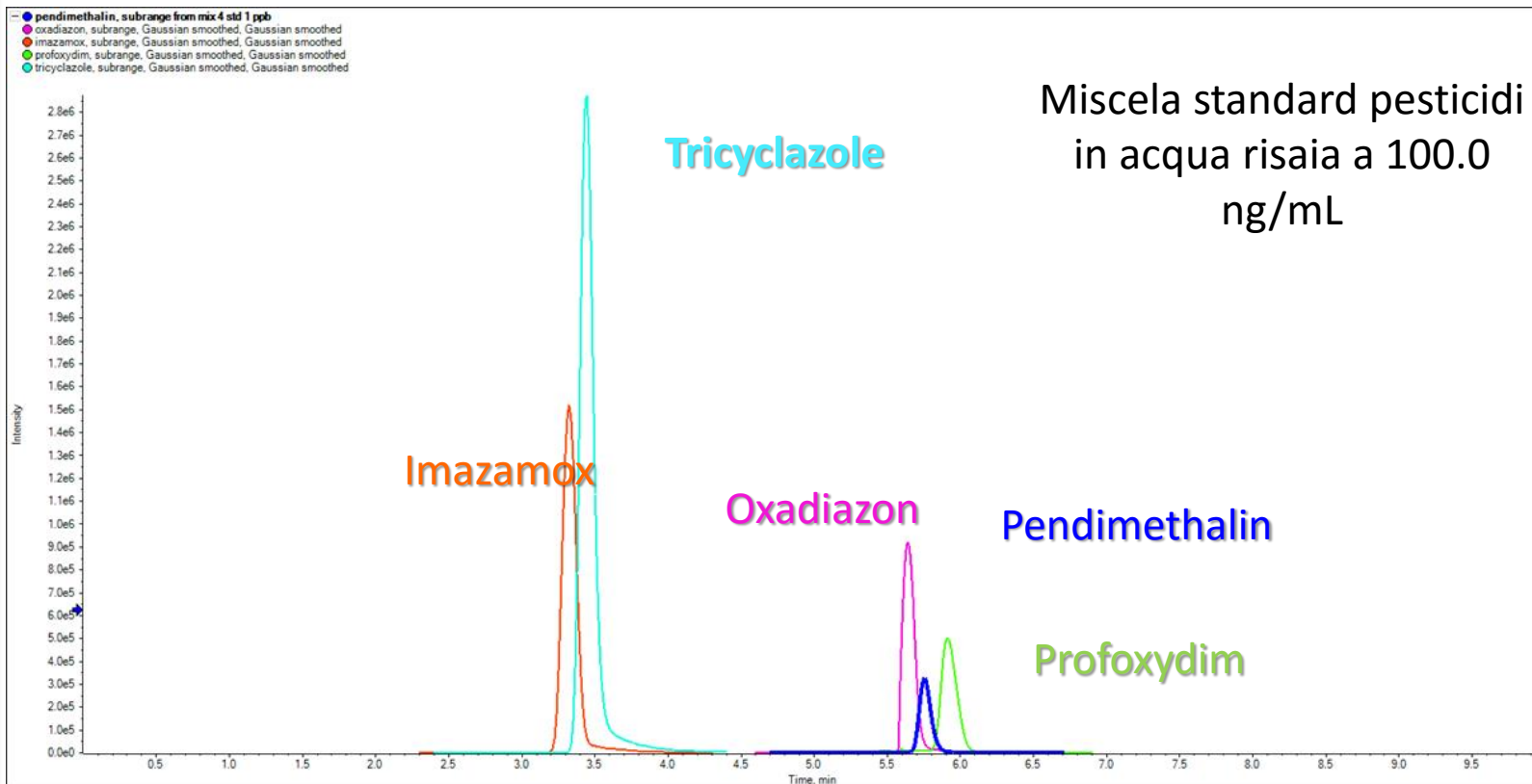
fondazione
cariplo



SEPARAZIONE e IDENTIFICAZIONE MIX PESTICIDI MEDIANTE MICRO LC-MS/MS



Miscela standard pesticidi
in acqua risaia a 100.0
ng/mL



MasterView

New Session

#	Ctrl	Wiff file Name	Sample Name	Number of positive results	Name	Formula	Isotope	Mass (Da)	Adduct	Formula Finder Result	Extraction Mass (Da)	Width (Da)	Expected RT (min)	RT W6 (min)
1	✓	1 ppb	mix 4 std 1	5	oxadiazon	C15H18O3N2C2	0	344.06945	+H	C15H18O2N2O3	345.07672	0.02	5.6	2
2	✓				imazamox	C15H19N3O4	0	305.13756	+H	C15H19N3O4	306.14483	0.02	3.3	2
3	✓				profoxydim	C24H32ClNO4S	0	465.17406	+H	C24H32ClNO4S	466.18133	0.02	5.9	2
4	✓				tricyclazole	C9H7N3S	0	189.03607	+H	C9H7N3S	190.04335	0.02	3.4	2
5	✓				pendimethalin	C13H19N3O4	0	281.13756	+H	C13H19N3O4	282.14483	0.02	5.7	2

Sample: 1 ppb [mix 4 std 1 ppb] Control: None Rows 5

Process Cancel



**fondazione
cariplo**



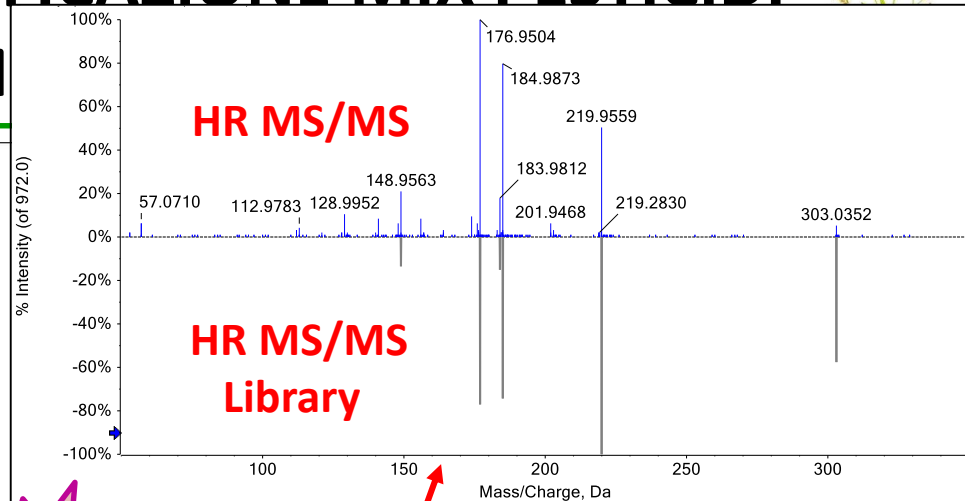
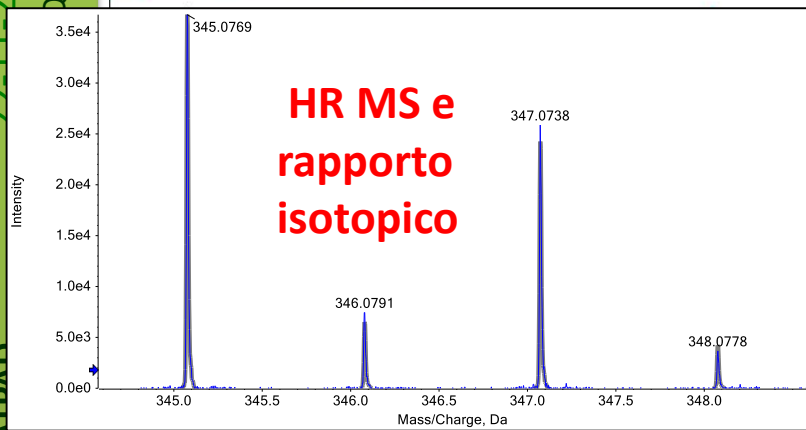
UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

SEPARAZIONE e IDENTIFICAZIONE MIX PESTICIDI MEDIANTE M



WATPAD

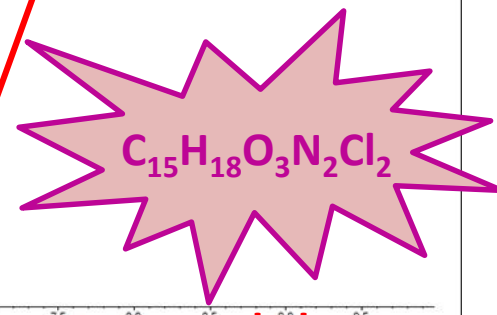
● pendimethalin, subrange from mix 4 std 1 ppb
● oxadiazon, subrange, Gaussian smoothed, Gaussian smoothed
● imazamox, subrange, Gaussian smoothed, Gaussian smoothed
● profloridim, subrange, Gaussian smoothed, Gaussian smoothed
● tricyclazole, subrange, Gaussian smoothed, Gaussian smoothed



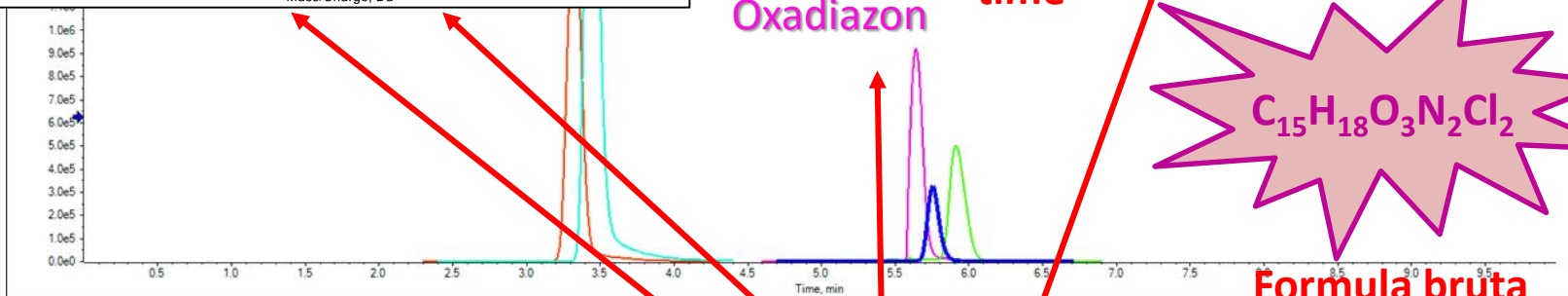
5.59

Retention time

Oxadiazon



Formula bruta



MasterView

Ctrl	Wiff file Name	Sample Name	Number of positive results
✓	1 ppb	mix 4 std 1	5

Positive result: equal or better ✓ ● ● ● ● 0

Sample: 1 ppb [mix 4 std 1 ppb] Control: None

#	Mass	RT	Isotope	Library	Name	Formula
1	✓	✓	✓	✓	oxadiazon	C ₁₅ H ₁₈ O ₃ N ₂ Cl ₂
2	✓	✓	✓	✓	imazamox	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄
3	✓	✓	✓	✓	profloridim	C ₂₄ H ₃₂ Cl ₂ N ₄ O ₄ S
4	✓	✓	✓	✓	tricyclazole	C ₉ H ₇ N ₃ S
5	✓	✓	✓	✓	pendimethalin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄

Name	Formula
oxadiazon	C ₁₅ H ₁₈ O ₃ N ₂ Cl ₂
imazamox	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄
profloridim	C ₂₄ H ₃₂ Cl ₂ N ₄ O ₄ S
tricyclazole	C ₉ H ₇ N ₃ S
pendimethalin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄



**fondazione
cariplo**

VALIDAZIONE METODO



22-11-2017

CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE

Analita	LOD (pg/mL)	LOQ (pg/mL)	Linearity Range (pg/mL)	R ²	RT RSD% intra day (n=5)	RT RSD% inter day (n=35)	Conc. RSD% intra day (n=5)	Conc. RSD% inter day (n=35)
Imazamox	4	13	13-250000.0	0.9998	0.57	0.72	4.7	6.1
Oxadiazon	5	17	17-250000.0	0.9995	0.16	0.25	2.4	2.7
Profoxydim	4	13	13-250000.0	0.9989	0.25	0.46	2.0	2.3
Pendimethlin	8	27	27-250000.0	0.9982	0.31	0.71	4.1	5.8
Tricyclazole	4	13	13-250000.0	0.9991	0.14	0.22	1.8	3.1

Analita	Recovery (%)	ME (%)
Imazamox	99.2 ± 0.9	no
Oxadiazon	98.7 ± 1.0	no
Profoxydim	100.9 ± 1.5	no
Pendimethlin	99.8 ± 0.8	no
Tricyclazole	101.2 ± 1.1	no

Recupero e effetto matrice sono stati calcolati a 3 livelli di concentrazione (LOQ, 1000.0, 200000.0 pg/mL)



fondazione
cariplo



QUANTIFICAZIONE ANALITI



22-11-2017

CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE

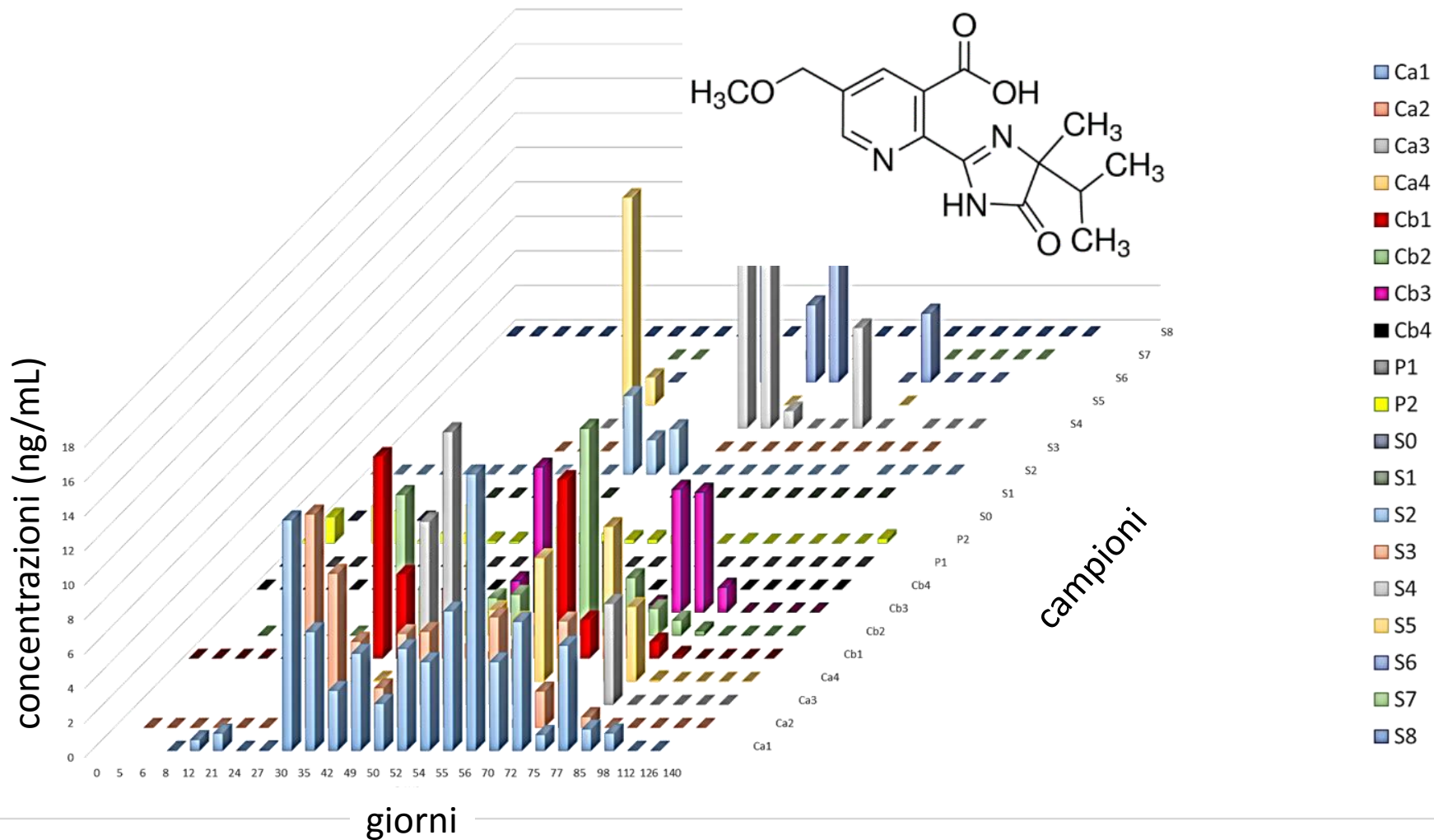
Analita	[M+H] ⁺	Product ions (<i>m/z</i>)	Ion Ratio
Imazamox	306.1	193.0612 163.0497	✓
Oxadiazon	345.1	176.9504 184.9873	✓
Profoxydim	466.2	180.1025 280.1381	✓
Pendimethlin	282.2	194.062 212.0644	✓
Tricyclazole	190.0	163.0332 136.0214	✓



fondazione
cariplo



IMAZAMOX (anno 2015)



ANALISI NON-TARGET



WATPAD

22-11-2017

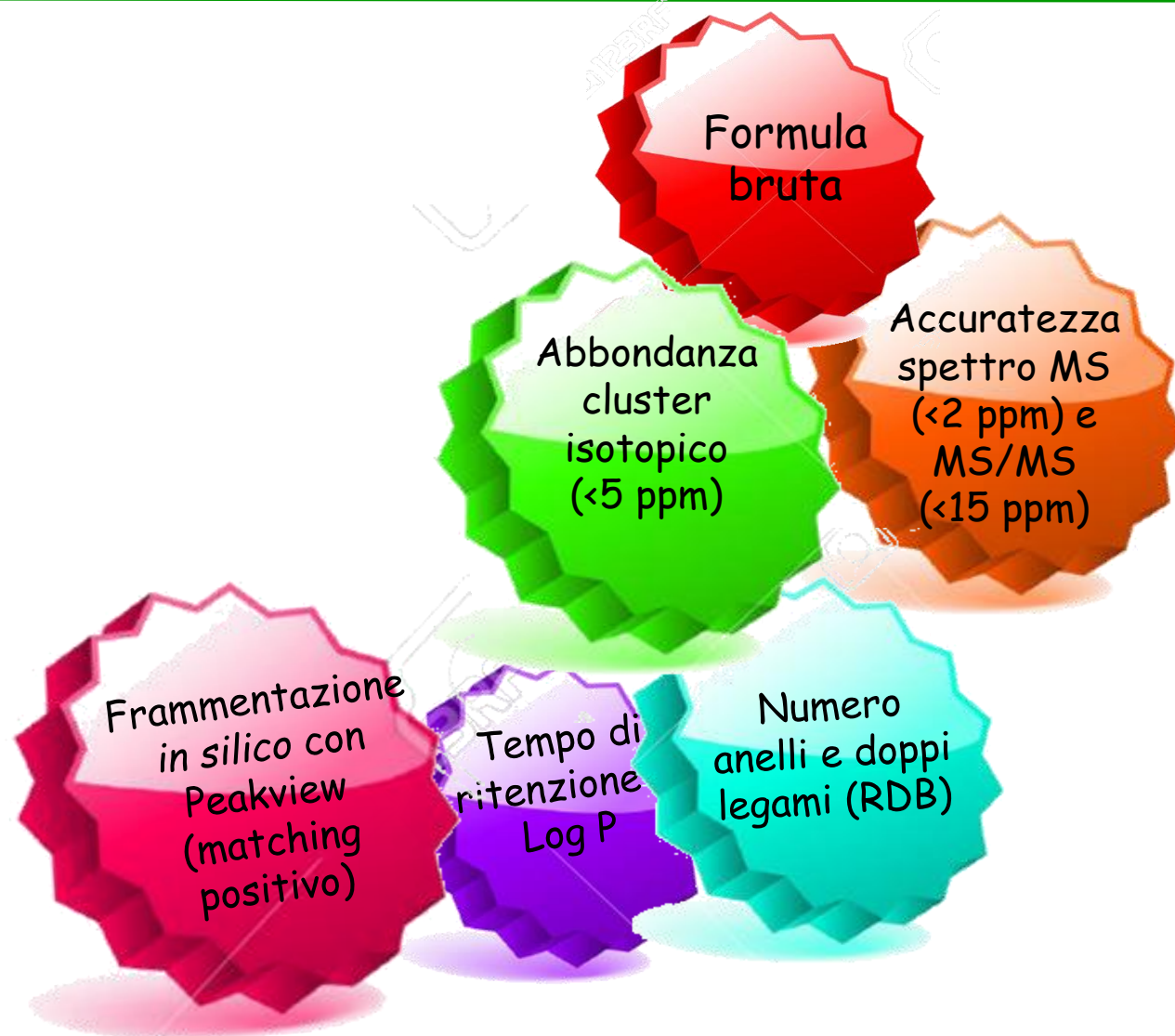
CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD
IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE



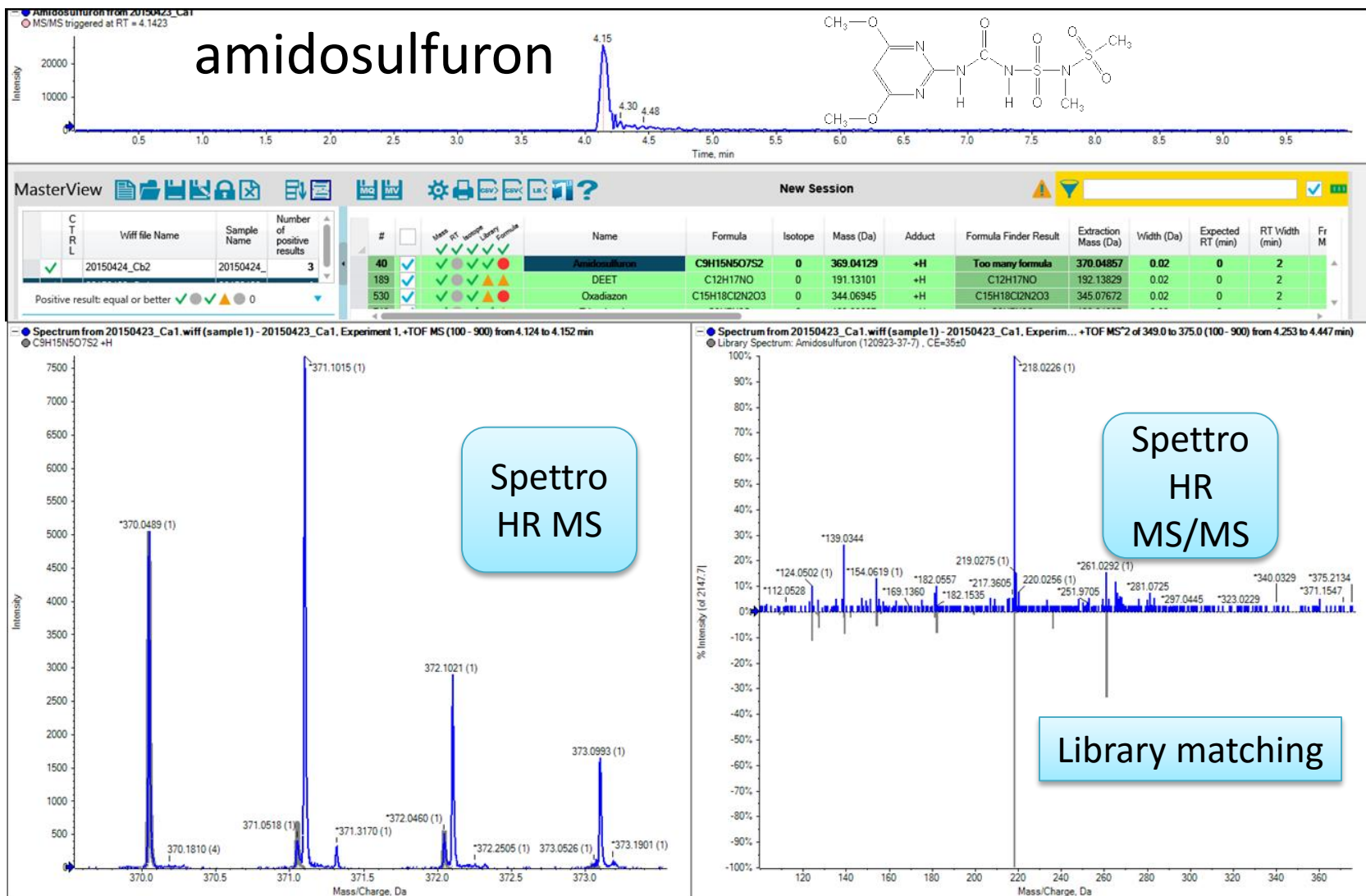
**fondazione
cariplo**



DELUCIDAZIONE DELLE STRUTTURE INCOGNITE DEI CONTAMINANTI



ANALISI NON-TARGET

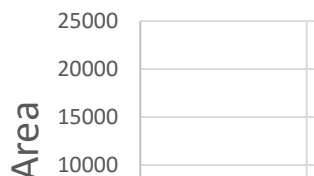




ANALISI NON-TARGET

Andamento $C_{12}H_{17}NO$ in C_a1

Andamento
 $C_{12}H_{17}NO$



Andamento $C_{12}H_{17}NO$



Andamento $C_{12}H_{17}NO$



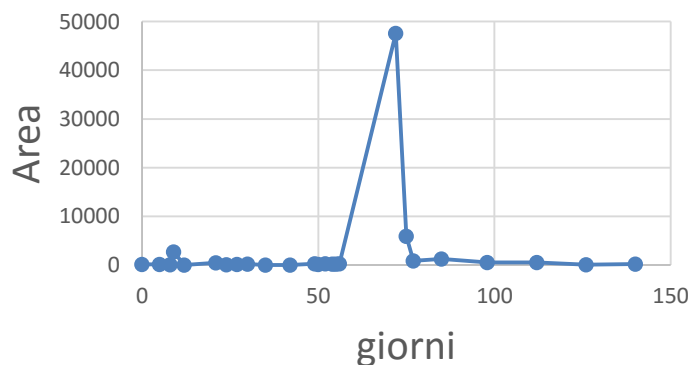
Andamento
 $C_{12}H_{17}NO$ in C_a3

Andamento
 $C_{12}H_{17}NO$ in C_b3

Andamento
in C_a4

ento
in C_b4

Andamento $C_{12}H_{17}NO$
in P2



giorni

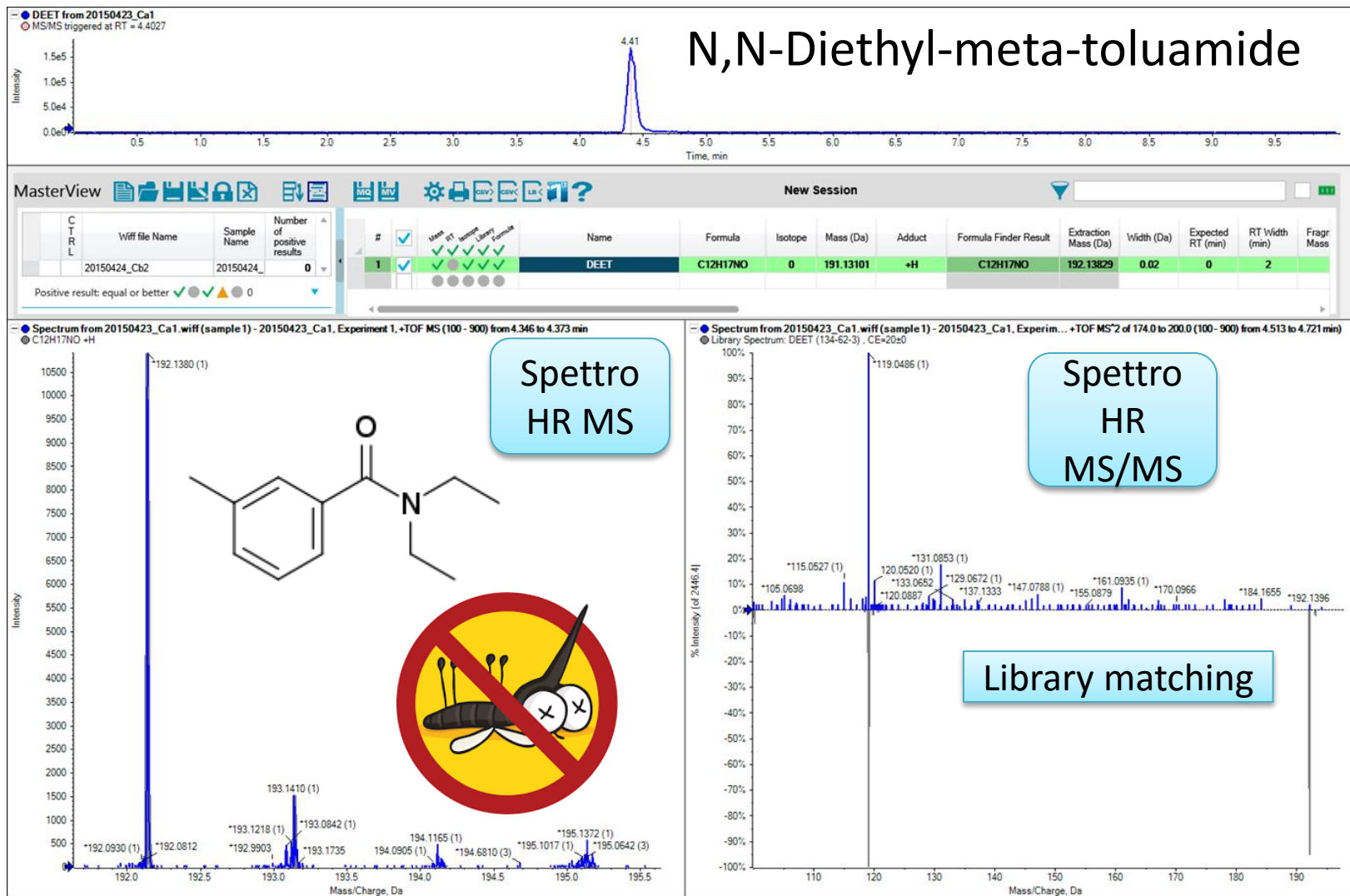
giorni

giorni



capitolo

ANALISI NON-TARGET



fondazione
cariplo



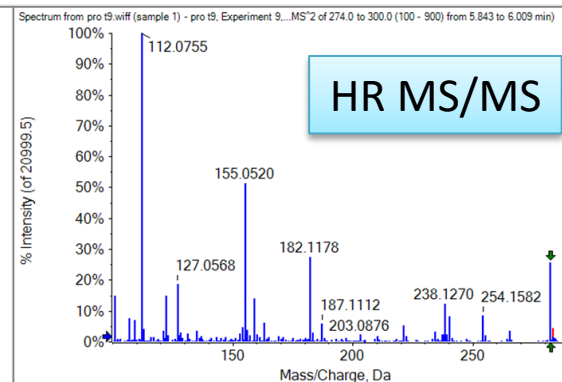
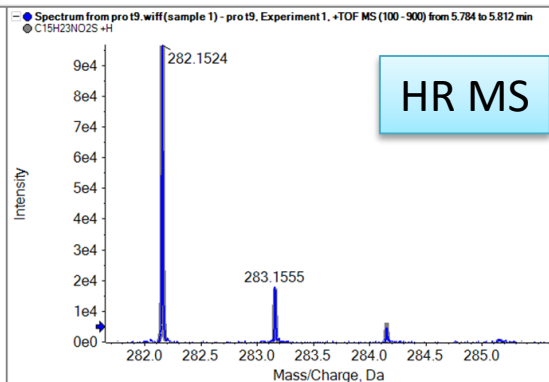
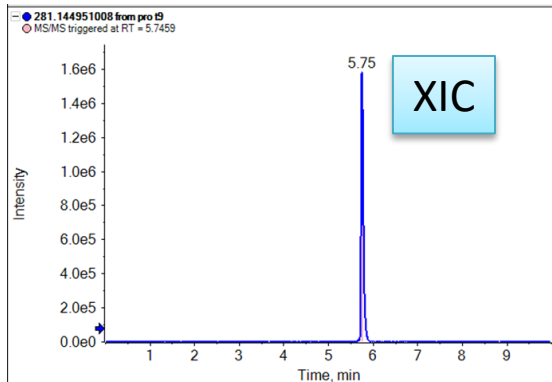
IDENTIFICAZIONE PRODOTTI FOTODEGRADAZIONE



22-11-2017

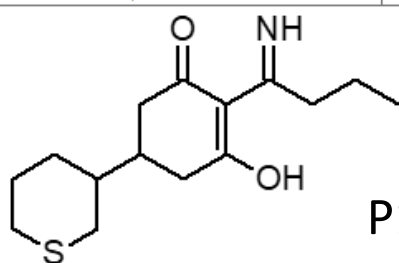
CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE



C	N
O	P
S	F
Cl	Br
I	Na
K	Ca

profoxydim P1

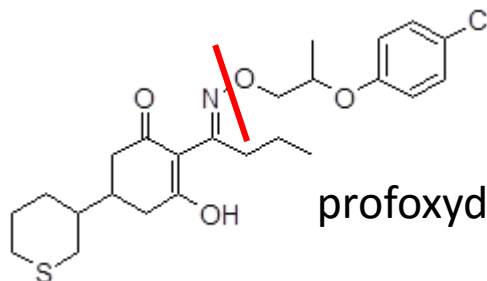


P1 profoxydim

Mass/Charge	Intensity (%)	Assigned	Error (Da)	Radical
117.0687	1.69	☒	0.005	☐
121.0650	3.57	☒	0.000	☐
122.0965	14.92	☒	0.000	☐
123.0783	2.03	☒	0.002	☐
123.0997	2.26	☒	0.019	☐
127.0220	1.87	☒	0.001	☐
127.0568	18.73	☒	0.001	☐
128.0627	2.17	☒	0.008	☐
128.1069	3.09	☒	0.000	☐
131.0860	2.70	☒	0.003	☐
135.0803	3.68	☒	0.000	☐

Matched 46 of 47 peaks 98.9% of total intensity

98.9%



profoxydim



fondazione
cariplo



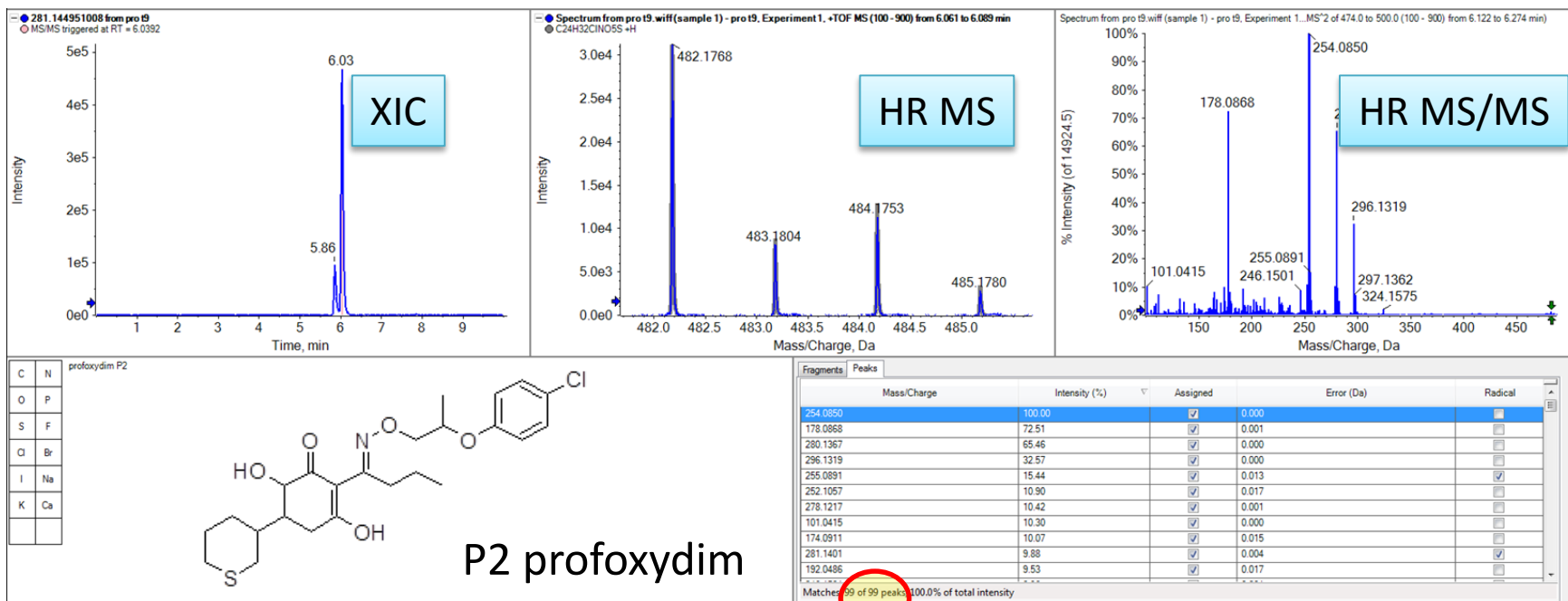
IDENTIFICAZIONE PRODOTTI FOTODEGRADAZIONE



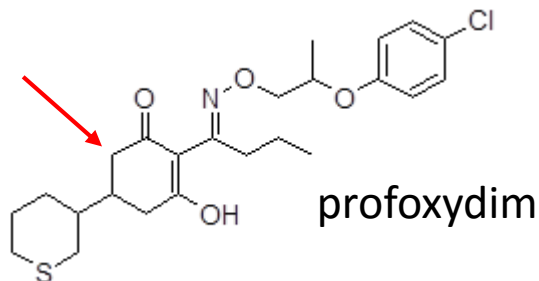
22-11-2017

CONVEGNO DI CHIUSURA DEL PROGETTO WATPAD

IMPATTO DELLA RISICOLTURA SUI CONSUMI IDRICI E SULLA QUALITA' DELLE ACQUE



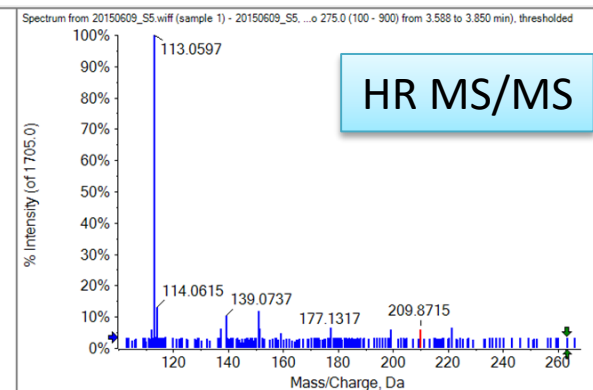
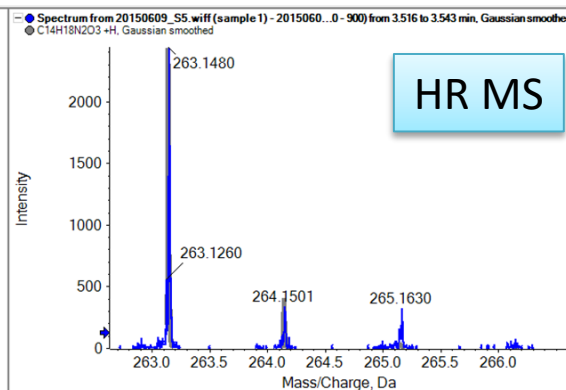
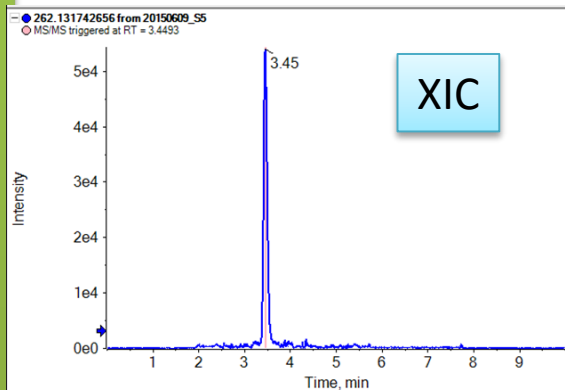
100%



fondazione
cariplo

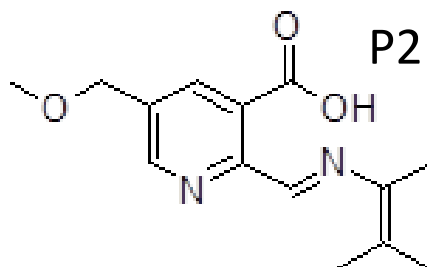


IDENTIFICAZIONE PRODOTTI FOTODEGRADAZIONE



C	N
O	P
S	F
Cl	Br
I	Na
K	Ca

imazamox P2

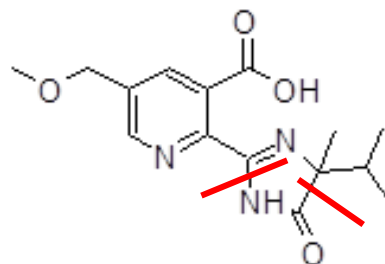


P2 imazamox

Mass/Charge	Intensity (%)	Assigned	Error (Da)	Radical
109.0694	3.42	☒	0.007	☐
113.0111	7.04	☒	0.012	☐
113.0597	100.00	☒	0.000	☐
114.0615	13.19	☒	0.007	☐
117.0687	3.69	☒	0.014	☐
139.0737	10.46	☒	0.002	☐
139.0844	8.76	☒	0.009	☐
159.1182	4.86	☒	0.017	☐
177.0881	5.98	☒	0.014	☐
177.1317	6.53	☒	0.007	☐
209.8715	6.09	☐		☒

Matches: 10 **11 peaks, 96.4%** of total intensity

96%



imazamox



**fondazione
cariplo**



TABELLA RIASSUNTIVA PRODOTTI FOTODEGRADAZIONE IDENTIFICATI



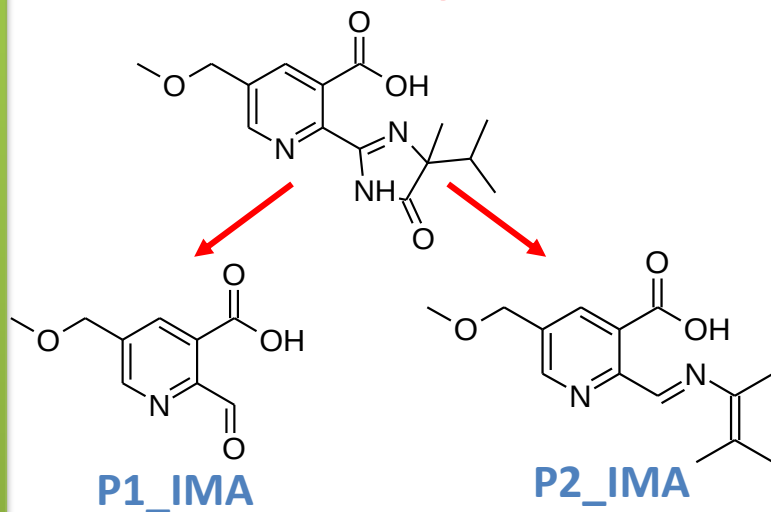
[M+H] ⁺ specie	Formula bruta	<i>m/z</i> accurata	<i>t_R</i> (min)	RDB	Errore MS (ppm)	Errore MS/MS (ppm)
P1_IMAZAMOX	C ₉ H ₉ NO ₄	196.0604	4.5	6	-0.2	15.1 (7)
P2_IMAMAZOX	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₃	263.1390	3.4	7	1.1	2.1 (12)
P1_PROFOXIDIM	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂ S	282.1522	5.7	5	0.6	5.7 (7)
P2_PROFOXIDIM	C ₂₄ H ₃₂ ClNO ₅ S	482.1762	6.0	9	1.1	2.0 (6)
P3_PROFOXIDIM	C ₁₅ H ₂₁ NO ₂ S	280.1366	5.8	6	0.4	3.7 (16)



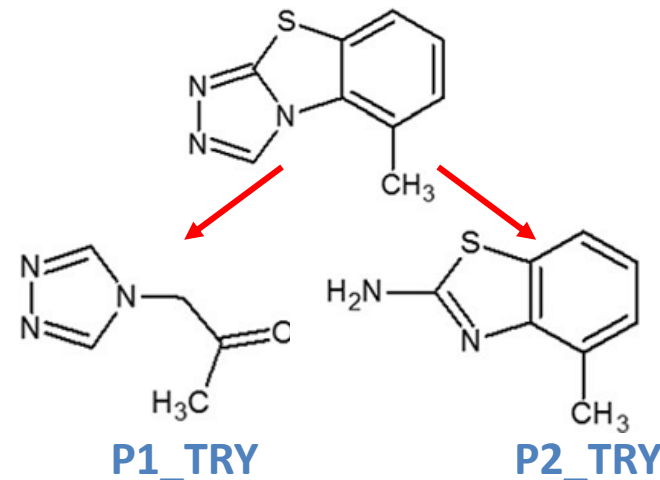
PRODOTTI FOTODEGRADAZIONE IDENTIFICATI



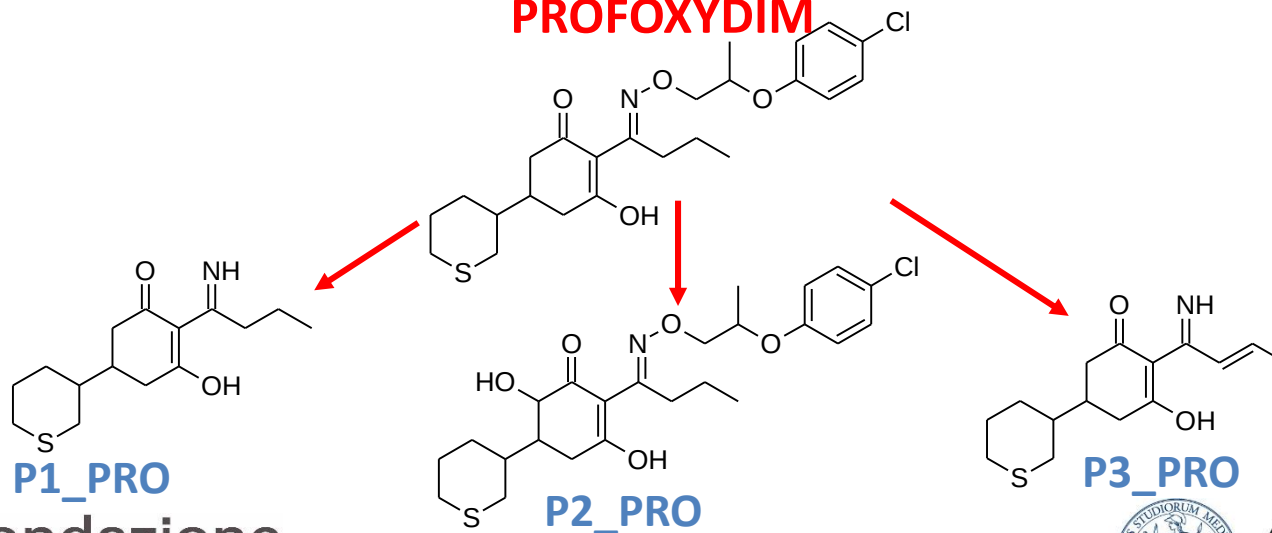
IMAZAMOX



TRICICLAZOLO



PROFOXYDIM

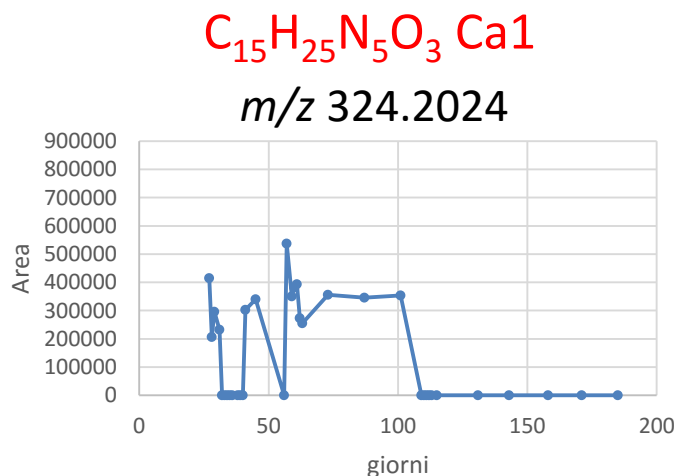
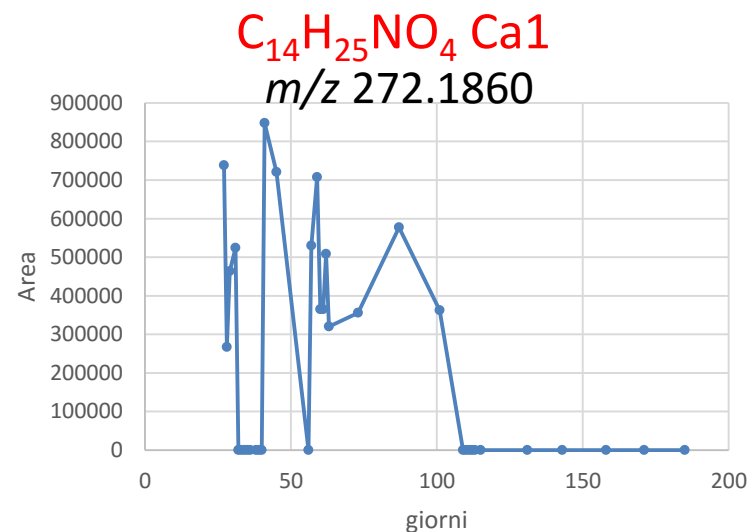
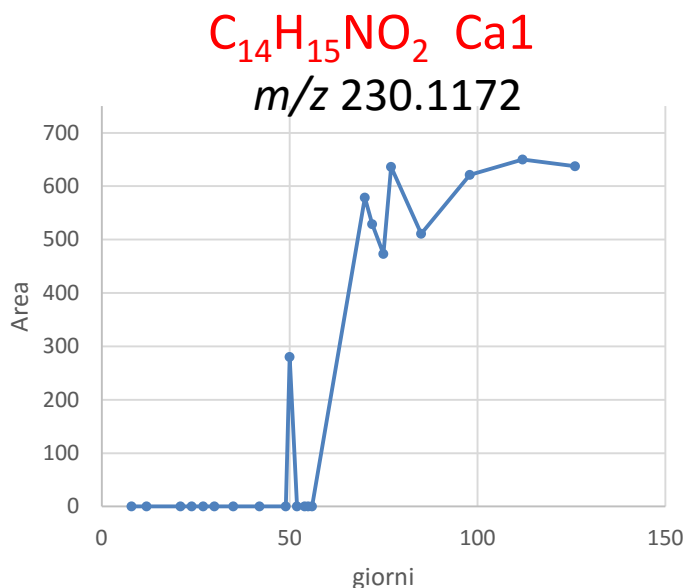


**fondazione
cariplo**



UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

IDENTIFICAZIONE DI 3 SPECIE INCOGNITE



E' in corso
l'elucidazione
strutturale di queste
specie.



fondazione
cariplo



CONCLUSIONI



- E' stato eseguito il monitoraggio, secondo i parametri di qualità prestabiliti nei 18 punti di campionamento.
- Sono stati analizzati 1067 campioni per un totale di più 25000 determinazioni nell'arco dei 2 anni del progetto.
- E' stato sviluppato un metodo per analisi di contaminanti nelle acque target e non-target, includendo i pesticidi oggetto dello studio e i loro prodotti di fotodegradazione.
- I tempi di semivita dei pesticidi studiati nelle acque di risaia sono dell'ordine di 1 - 5 ore.
- Si sono identificate le strutture di 2 prodotti di fotodegradazione dell'imazamox, e di 3 del profoxydim.
- L'analisi non-target ha permesso l'identificazione dell'azimsulfuron e del DEET.
- Sono state identificate di 3 nuove specie a cui sono state attribuite le formule brute: $C_{14}H_{15}NO_2$, $C_{14}H_{25}NO_4$ e $C_{15}H_{25}N_5O_3$





RINGRAZIAMENTI

Tutto il gruppo di Chimica Analitica del DISIT (UPO), che ha partecipato al progetto:

- Prof. Marengo Emilio
- Prof.ssa Robotti Elisa
- Dott.ssa Eleonora Mazzucco
- Dott.ssa Bianca Bolfi
- Dott. Fabio Quasso

...e tutti voi per l'attenzione!



fondazione
cariplo

