Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Ricerca di residui di PFAS in alimenti di origine animale: purificazione dei campioni con tecniche SPE e QuEChERS a confronto

FEDERICA GALLOCCHIO

SCS2 – Chimica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Workshop:

«PFAS e contaminanti emergenti: esperienze e metodiche analitiche a confronto»

Martedì 6 ottobre 2020 – evento online/webinar

Riassunto

- Presentazione IZSVe
- Coinvolgimento SCS-2 Chimica (IZSVe) analisi PFAS in alimenti di origine animale
- Esperienze e criticità rilevate nell'analisi dei PFAS:
  Spe *vs* QuEChERS

Cos'è l'IZSVe?

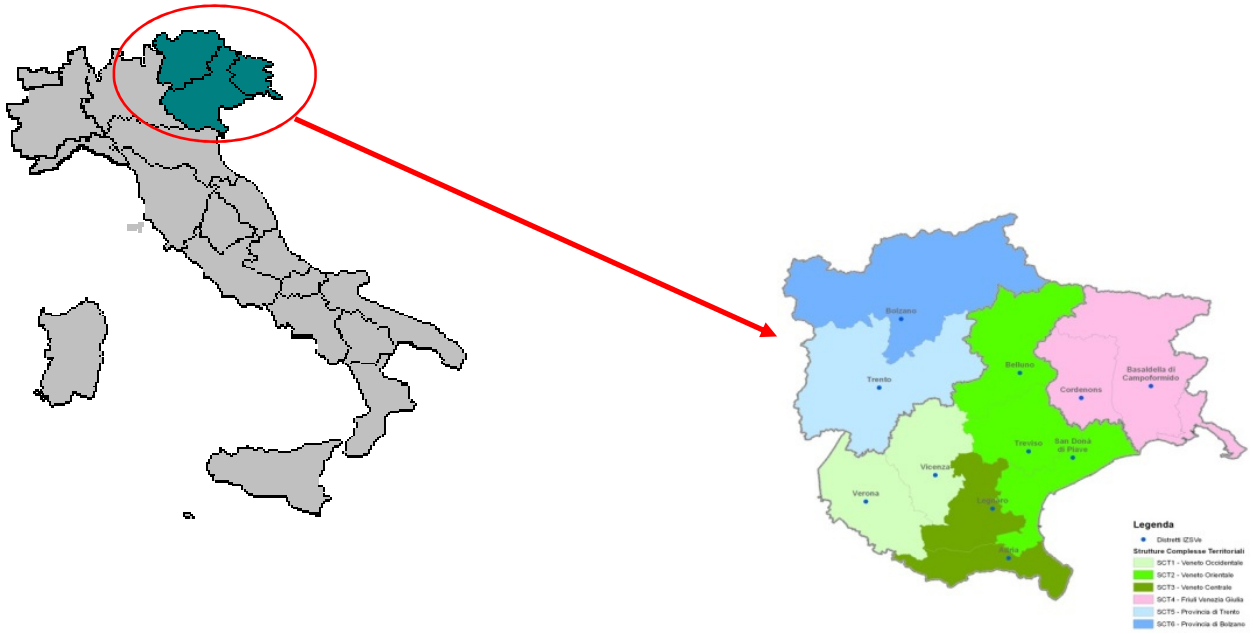
L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) è un ente sanitario di diritto pubblico e fa parte della rete nazionale degli II.ZZ.SS.

I 10 II.ZZ.SS. nazionali operano nel Servizio Sanitario Nazionale (Ministero della Salute), garantendo ai Servizi veterinari prestazioni e collaborazioni tecnico-scientifiche in materia di igiene e sanità pubblica veterinaria.

Gli Istituti Zooprofilattici svolgono attività di prevenzione, di controllo e di ricerca nell'ambito della sanità animale e della sicurezza alimentare.

Cos'è l'IZSVe?

Oltre alla sede centrale di Legnaro, l'IZSVe si avvale di 10 sezioni diagnostiche periferiche, presenti nei territori di **Veneto, Friuli Venezia Giulia e Trentino Alto Adige**



Nel 2019 sono state fatte **1.772.486 analisi**

Attività e compiti dell'IZSVe

- ✓ Servizio diagnostico delle malattie animali e delle zoonosi
- ✓ Accertamenti analitici e supporto tecnico-scientifico e operativo per l'attuazione di piani di profilassi, risanamento ed eradicazione
- ✓ Sorveglianza epidemiologica: sanità animale, igiene delle produzioni zootecniche, igiene degli alimenti di origine animale
- ✓ Esecuzione di esami ed analisi per il controllo su alimenti di origine animale e su alimentazione animale (sicurezza alimentare)
- ✓ Ricerca sperimentale sulle malattie infettive e diffusive degli animali
- ✓ Formazione e aggiornamento di veterinari ed altri operatori e cooperazione tecnico-scientifica

Attività e compiti dell' SCS-2 Chimica

Accertamento della **conformità** dei **prodotti di origine animale** destinati al **consumo umano** rispetto alle prescrizioni contenute nelle normative vigenti.

- ✓ Supporto tecnico-scientifico ed operativo all'azione di farmacovigilanza veterinaria.
- ✓ Esecuzione degli **esami** e delle **analisi** necessari all'**attività di controllo** sugli alimenti di origine animale/vegetale e sull'alimentazione animale.
- ✓ Esecuzione di accertamenti analitici per evidenziare casi di avvelenamento nei confronti di animali di affezione e selvatici e/o di intossicazioni in ambito zootecnico.
- ✓ Assolvimento di ogni altro compito di **interesse veterinario e/o sicurezza alimentare** che venga **demandato** dalle **Regioni o dalle Province autonome**, oppure dallo Stato, sentite le Regioni e le Province autonome interessate.

Nel 2019 sono state fatte ≈ **26.000 analisi**

Esperienza SCS-2 Chimica analisi PFAS

DELIBERAZIONI DELLA GIUNTA REGIONALE

(Codice interno: 336975)

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE n. 2133 del 23 dicembre 2016

Approvazione del "Piano di sorveglianza sanitaria sulla popolazione esposta alle sostanze perfluoroalchiliche" e del "Piano di campionamento per il monitoraggio degli alimenti in relazione alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in alcuni ambiti della Regione del Veneto".

[Sanità e igiene pubblica]

ALLEGATO B Dgr n. del pag. 24/37

Protocollo tecnico per le analisi di laboratorio

Nell'ambito delle attività analitiche relative al piano di monitoraggio di sostanze perfluoroalchiliche negli alimenti, al fine di armonizzare le modalità tecniche di esecuzione delle prove tra i laboratori partecipanti, si ritiene necessario definire i seguenti elementi:

a) Molecole da includere necessariamente

Le molecole da determinare nell'ambito del piano di monitoraggio sono:
Acido perfluoro- n- butanoico (PFBA)
Acido perfluoro - n – pentanoico (PFPeA)
Acido perfluoro - n – esanoico (PFHxA)
Acido perfluoro - n - eptanoico (PFHpA)
Acido perfluoro - n - ottanoico (PFOA)
Acido perfluoro - n - nonanoico (PFNA)
Acido perfluoro - n – decanoico (PFDA)
Acido perfluoro - n - undecanoico (PFUdA)
Acido perfluoro - n - dodecanoico (PFDoA)
Perfluoro - 1 – butansolfonato (PFBS)
Perfluoro - 1 – esansolfonato (PFHxS)
Perfluoro - 1 – octansolfonato (PFOS)

b) Metodo di analisi: LC-MS/MS

e) Limiti di prestazione analitica

Per le matrici che verranno analizzate il limite di quantificazione (LoQ) del metodo in LC – MS/MS per la determinazione degli analiti sopraelencati deve soddisfare il seguente requisito: 0.5 µg/kg per PFBA e 0.1 µg/kg per tutte le altre molecole.

f) Incertezza di misura

L'incertezza di misura sarà stimata mediante funzione di Horwitz-Thompson.

Campioni di origine animale IZSVe, ISS
Campioni di origine vegetale ARPAV

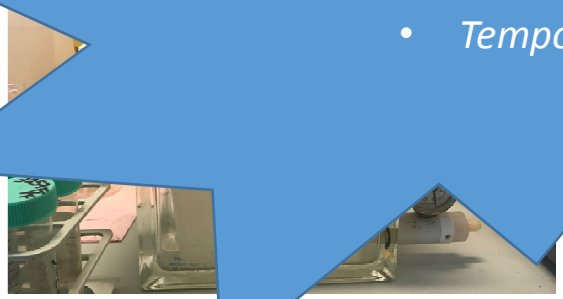
Analisi PFAS in matrici di origine animale: SPE

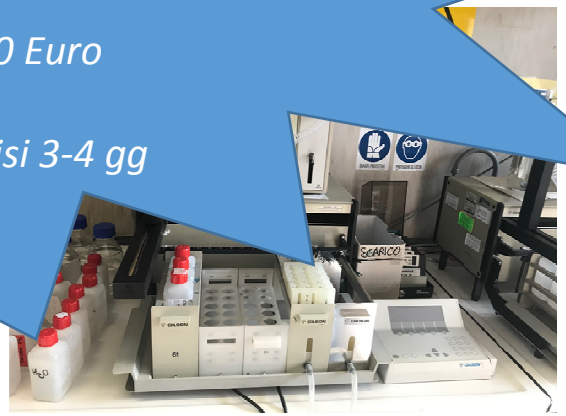
5 g campione
Aggiunta std. Int. Marcato

Estrazione con 20 ml M
Filtrazione dell'estratto (filtro fa
Aggiunta

Purificazione SPE

- Tempo preparazione campioni > 24 h
  (purificazione overnight ≈ 1h/campione)
- Numero massimo campioni: 24
- *Costo SPE ≈ 10 Euro*
- *Tempo TOT analisi 3-4 gg*





5ml di estratto purificato, portato a secco e ripreso con **1ml FM** B (MeOH/ACN 80/20, Acetato d'Ammonio 10 mM).

SPE Validazione: muscolo

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,05 – 1,5 µg/kg)

No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

SPE Validazione: uova

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,05 – 1,5 µg/kg)

No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

SPE Validazione: fegato

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,05 – 1,5 µg/kg)

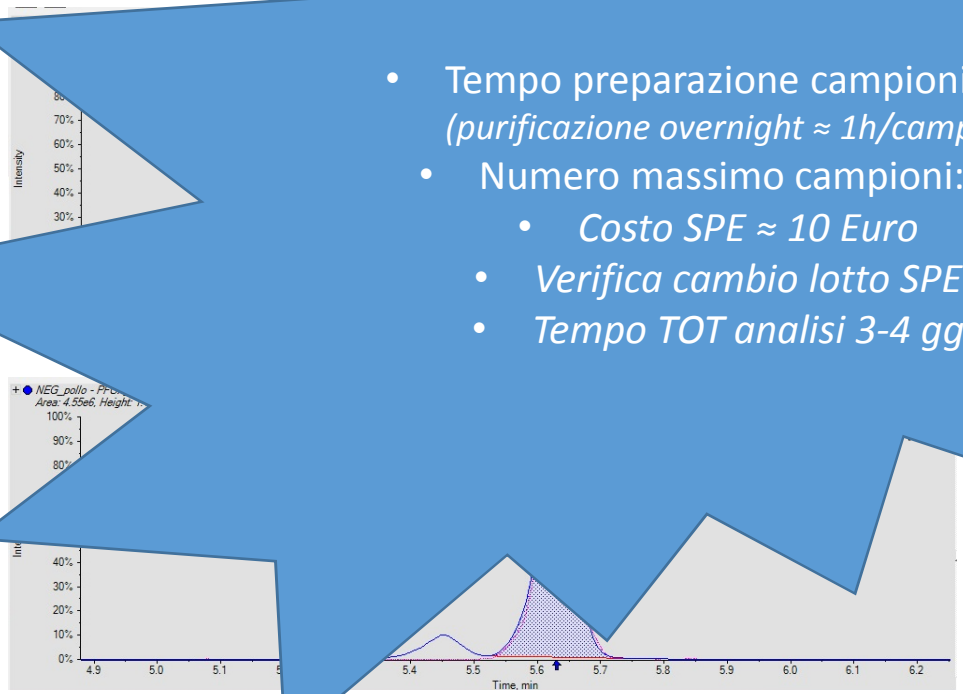
No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

Purificazione SPE: criticità (analisi campioni reali)

- Contaminazione **PFBA** (BR, Neg, Addizionati, Ca ni): comune ai 3 lab IZSVe, ARPAV, ISS **LOQ 0,5 µg/k** artucce S

- Contaminazion **0 µg/kg**

- Tempo preparazione campioni > 1g
  (purificazione overnight ≈ 1h/campione)
- Numero massimo campioni: 24
- *Costo SPE ≈ 10 Euro*
- *Verifica cambio lotto SPE*
- *Tempo TOT analisi 3-4 gg*



SPE

Analisi PFAS in matrici di origine animale: Quechers

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE n. 1494 del 15 ottobre 2019

Azioni regionali conseguenti alla relazione finale trasmessa dall'Istituto Superiore di Sanità avente ad oggetto "Valutazione dell'esposizione alimentare e caratterizza[illegible]one del rischio - Contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche in Veneto".

[Sanità e igiene pubblica]

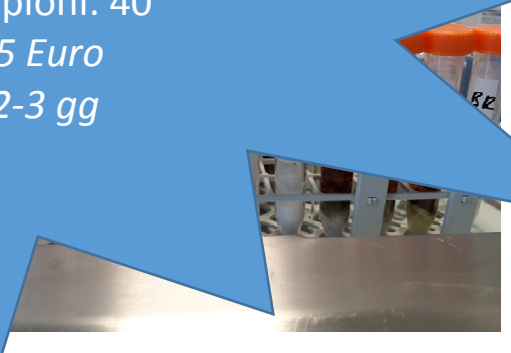
5 g campione

Aggiunta std. Int. Marcato, 10 ml H_2O MQ

Estrazione con 10 ml AC[illegible]

[illegible]arato)

Purificazione d[illegible]



- Tempo preparazione campioni < 24 h
  (estrazione e purificazione < 3h)
- Numero massimo campioni: 40
- *Costo Sali + dSPE ≈ 5 Euro*
- *Tempo TOT analisi 2-3 gg*

3,5 ml di estratto purificato, p[illegible]a secco e ripreso con **0,35 ml FM** B (MeOH/ACN 80/20, Acetato d'Ammonio 10 mM).

QuEChERS validazione: muscolo

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,025 – 1,5 µg/kg)

No effetto matrice
(curva solvente *vs* curva matrice)

QuEChERS validazione: uova

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,025 – 1,5 µg/kg)

No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

QuEChERS validazione: Fegato

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

Linearità (0,025 – 1,5 µg/kg)

No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

QuEChERS validazione: Latte

Recupero 80-110%

Ripetibilità < 20%

Specificità (interferente < 30% LOQ)

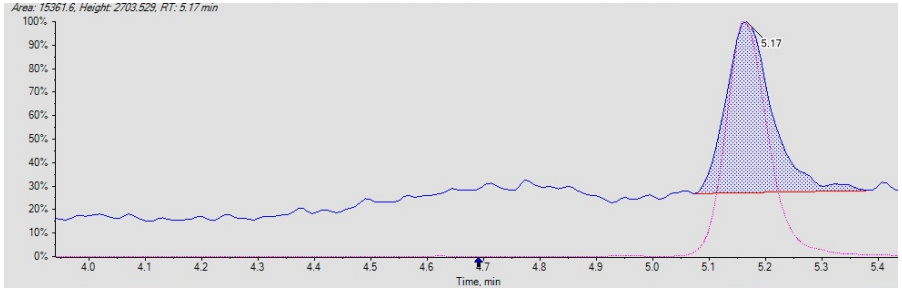
Linearità (0,025 – 1,5 µg/kg)

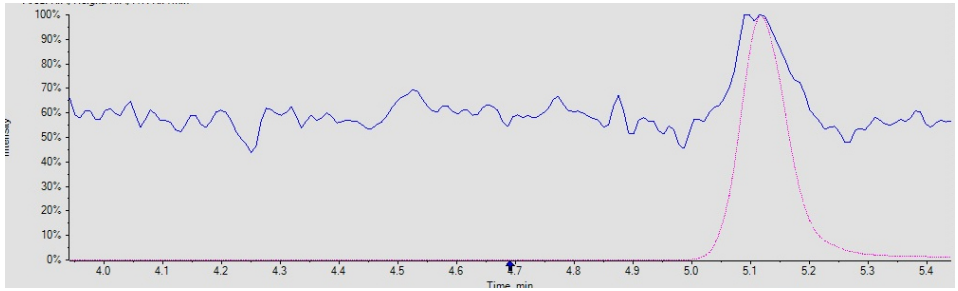
No effetto matrice
(curva solvente vs curva matrice)

QuEChERS : criticità

- Contaminazione **PFBA** (ditta fornitrice dSPE)

Ditta 1 Ditta 2





- Contaminazione **PFHxA, PFHpA, PFNA: LOQ 0,05 µg/Kg** (solventi ultrapuri, lavaggio vetreria con MeOH)

Conclusioni: SPE vs QuEChERS

	SPE	QuEChERS
Recupero 80 -110%	☺	☺
Ripetibilità < 20%	☺	☺
Tempo preparazione (N=24)	> 1 giorno ☹	< 1giorno (5 ore) ☺
Tempo di analisi (N=24)	3 giorni ☹	2 giorni ☺
Costo consumabili (N=1)	SPE ≈ 10 Euro ☹	QuEChERS kit ≈ *5 Euro* ☺
Costo complessivo analisi (N=1)	☹	☺

Grazie per l'attenzione

Federica Gallocchio

e-mail address: ***fgallocchio@izsvenezie.it***

Istituto Zooprofilattico
Sperimentale delle Venezie