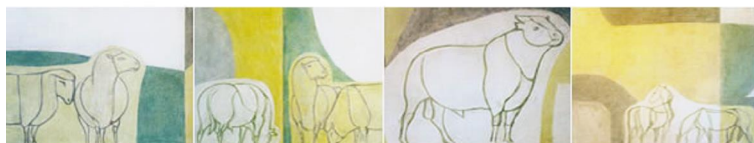


Analisi di Pesticidi negli Alimenti



Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



I prodotti fitosanitari o fitofarmaci hanno un ruolo determinante nell'attuale agricoltura, essendo usati per difendere le colture dai parassiti (soprattutto insetti e acari) e patogeni (batteri, virus, funghi), per controllare lo sviluppo di piante infestanti e per assicurare l'ottenimento di elevati standard di qualità dei prodotti agricoli.



Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



Che cosa sono i fitofarmaci

Per fitofarmaci si intende l'insieme di quei composti, generalmente di natura chimica, destinati a proteggere le colture ed i prodotti dalle avversità biotiche ed abiotiche, prevenendo e controllando gli effetti dannosi dalla loro azione parassitaria o competitiva.

Ai sensi del **D.M. 194/95** sono considerati **"Fitofarmaci"** i preparati pronti all'impiego destinati ai seguenti scopi:

- *proteggere le piante ed i prodotti vegetali dagli organismi nocivi o prevenirne l'azione.*
- favorire o regolare la produzione vegetale.
- *conservare i prodotti vegetali.*
- eliminare le piante indesiderate.
- *distruggere talune parti di pianta o impedirne uno sviluppo indesiderato.*



Essendo i **fitofarmaci** generalmente costituiti da sostanze tossiche (in alcuni casi **cancerogene**), il loro *uso improprio, non sperimentato e non autorizzato*, determina rischi e pericoli per la salute umana e animale oltre che per l'ambiente.

I residui, inoltre, possono contaminare gli alimenti, le acque superficiali e sotterranee, con ulteriori effetti pericolosi sulla salute umana e sull'ambiente.



LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI

Esistono nella comunità internazionale delle norme che fissano la "*dose giornaliera accettabile*" (DGA), di regola tali calcoli vengono effettuati partendo da *dati di tossicità ricavati da sperimentazioni condotte sugli animali* applicando degli appropriati *fattori di sicurezza*



Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI

Senza voler entrare nel merito della utilità di estrapolare all'uomo le informazioni desunte dalla sperimentazione sugli animali, si possono *evidenziare i limiti principali che emergono nella valutazione della DGA*

- *La valutazione della DGA è relativa alla singola sostanza attiva e non tiene conto della sinergia dovuta alla presenza contemporanea di più residui*
- *La DGA è funzionale alla valutazione della tossicità acuta, per la tossicità cronica (effetti cancerogeni, mutageni e teratogeni) non esistono soglie per le quali si possa certificare che non ci siano effetti*



LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI

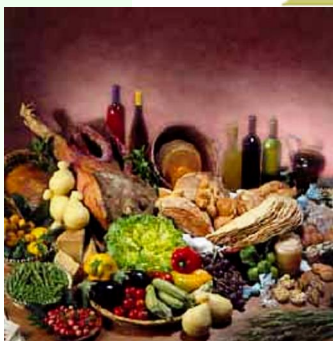
La DGA non ha efficacia nel proteggere i bambini, infatti tutti i parametri utilizzati per il calcolo fanno riferimento ad un adulto medio, di sesso indefinito e non tengono conto delle differenze fisiologiche dei neonati e dei bambini.



Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



Analisi di Pesticidi in Alimenti



Reg.178/2002 art. 3: "operatore del settore alimentare", la persona fisica o giuridica responsabile di garantire il rispetto delle disposizioni della legislazione alimentare nell'impresa alimentare posta sotto il suo controllo;

Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



Analisi di Pesticidi in Alimenti



Processo di armonizzazione
e
semplificazione

In vigore dal
01 settembre 2008

REGOLAMENTO (CE) N. 396/2005

concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale e che modifica la direttiva 91/414/CEE del consiglio

Con l'entrata in vigore:

- **LMR definiti esclusivamente a livello UE**
- **I singoli SM non potranno più emanare propri provvedimenti**
- **Limiti Massimi Residui (LMR) valutati:**
 - dando **priorità alla salute pubblica** rispetto alla **necessità di difesa delle produzioni**
 - e fissati al **valore più basso possibile** compatibilmente con le **buone pratiche agricole**.



Fonte: CSI Food Packaging Materials Division, M. Bergonzi, Milano, 2008

Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



Regolamento 396/05



Nell'UE è possibile utilizzare prodotti fitosanitari soltanto se previamente è stato scientificamente stabilito che:

- ❑ non hanno **effetti nocivi** sui consumatori, gli agricoltori o la popolazione residente;
- ❑ non provocano conseguenze inaccettabili per **l'ambiente**;
- ❑ hanno un adeguato livello di **efficacia**.
- ❑ La quantità di residui riscontrata nel cibo deve essere **sicura per i consumatori** ed essere **la più bassa possibile**.
- ❑ Un limite massimo di residuo (LMR) è il livello più alto di residuo per un pesticida **legalmente tollerato** negli alimenti o nei mangimi.
- ❑ La **Commissione europea stabilisce gli LMR** per tutti gli alimenti e i mangimi.
- ❑ Gli LMR relativi a tutte le colture e a tutti i pesticidi sono disponibili nella **banca dati sugli LMR** nel sito web della Commissione.



Attenzione!

Criticità:

Data di aggiornamento !!!

Fonte: Direzione Generale della Salute & dei consumatori, COMISIÓN EUROPEA, Nuove norme per i residui dei pesticidi negli alimenti, settembre 2008

programma coordinato di controllo pluriennale dell'UE



Reg. 396/05, art. 29: Programma comunitario di controllo

Comma 1

—La Commissione elabora un **programma comunitario coordinato di controllo pluriennale** che:

- **specifica** i campioni da inserire nei **programmi nazionali di controllo**
- tiene conto dei **problemi riscontrati** in relazione **all'osservanza degli LMR** stabiliti nel reg. 396/05
- ... **valuta l'esposizione dei consumatori** ...

Prima del 2008 c'erano
Raccomandazioni emesse
dall'UE



REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) N. 788/2012 DELLA COMMISSIONE

del 31 agosto

relativo a un programma coordinato di controllo pluriennale dell'Unione per il 2013, il 2014 e il 2015, destinato a garantire il rispetto dei livelli massimi di residui di antiparassitari e a valutare l'esposizione dei consumatori ai residui di antiparassitari nei e sui prodotti alimentari di origine vegetale e animale



Cosa fa L'Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana?

Piano Nazionale Residui 2014

**Programma coordinato di controllo
pluriennale dell'Unione per il 2013, il
2014 e il 2015**

**Piano della regione Toscana per la
ricerca di fitosanitari in alimenti
per il triennio 2012-2014**

**Analisi per la ricerca di fitosanitari
su campioni prelevati dall'USMAF
nei Porti e Aeroporti**



Requisiti dei Laboratori

” ***L'autorità competente***⁽¹⁾:

- ***designa i laboratori*** che possono eseguire ***l'analisi dei campioni*** prelevati durante i controlli ufficiali.

- ***possono designare soltanto*** i laboratori che:

” ***operano;***

” sono ***valutati e accreditati*** conformemente alla norma europea ***EN ISO/IEC 17025*** su «Criteri generali sulla competenza dei laboratori di prova e di taratura»



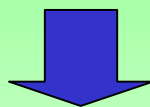
(1) Reg.882/04 art 2 definizioni: ***l'autorità competente***: l'autorità centrale di uno SM competente per l'organizzazione di controlli ufficiali o qualsiasi altra autorità cui è conferita tale competenza o anche, secondo i casi, l'autorità omologa di un paese terzo

Fonte : art. 12 Laboratori ufficiali Reg.(CE) 882/2004

Laboratori di Riferimento

” designazione di ***laboratori di riferimento comunitari e nazionali:***

. ***Scopo:** assicurare un'elevata qualità e uniformità dei risultati analitici*



Obiettivo da raggiungere mediante:

- . utilizzo di metodi analitici convalidati (validazione)
- . disponibilità di materiali di riferimento
- . organizzazione di test comparativi (Proficiency Test)
- . formazione del personale di laboratorio



EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides

EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides



You are here: [Home](#) : Pesticides in Fruits and Vegetables

[EURL Portal](#) [EURL for Fruits and Vegetables](#) [EURL for Cereals and Feeding Stuff](#) [EURL for Food of Animal Origin](#) [EURL for Single Residue Methods](#)

www.eurl-pesticides.eu

Topics

- Proficiency Tests
 - EUPT-FV13
 - EUPT-FV-SM-03
 - EUPT-FV12
 - EUPT-FV-SM-02
 - EUPT-FV11
 - EUPT-FV-SM-01

Latest News

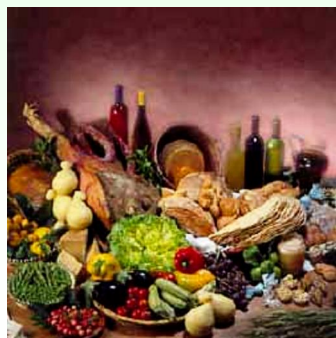
10-11-2010 | EURL-FV
[EURL \(FV-SRM\) Pesticide Residue Workshop 27th-28th October 2010](#)
EURL (FV-SRM) Pesticide Residue Workshop 27-28 October 2010 Almeria, SPAIN

04-11-2010 | EURL-FV
[EUPT-FV \(FV13-SM03\) APPLICATION FORMS](#)
EUPT-FV (FV13-SM03) APPLICATION FORMS

Search

Quicklinks

- [CRL Data Pool](#)
- [EU-MRLs Database](#)




EURL DataPool
EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides

[Login](#) [Registration](#) [Method Validation Data](#) [Commodities](#) [Pesticides](#) [CRL Network](#) [Downloads](#) [Jump to...](#)

■ Welcome to the DataPool of the EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides

- last update of DataPool: 15.10.2010 -

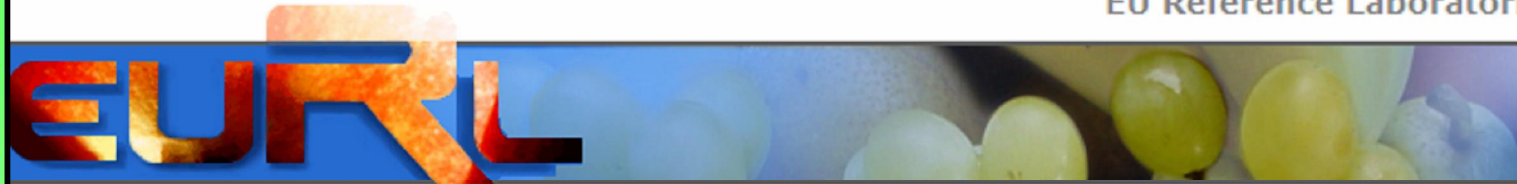


IMPORTANT NOTICE:
Due to essential maintenance work being currently undertaken on the structure of our EURL DataPool databases, some disruption of the functionalities and performance may be experienced in these days.
Please contact the administrators if your USERNAME/PASSWORD-combination is not working: [Click here to contact the administrators](#)
We apologize for any inconvenience.
Your EURL-Team!

www.eurl-pesticides-datapool.eu



EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides



You are here: [Home](#) : [Pesticides in Fruits and Vegetables](#) : [Library](#) | Method information and validation data

EURL Portal
EURL for Fruits and Vegetables
EURL for Cereals and Feeding Stuff
EURL for Food of Animal Origin
EURL for Single Residue Methods

Topics

Proficiency Tests

- EUPT-FV13
- EUPT-FV-SM-03
- EUPT-FV12
- EUPT-FV-SM-02
- EUPT-FV11

Method information and validation data

- **CRL-FV Multiresidue Method using QuEChERS followed by GC-QqQ/MS/MS and LC-QqQ/MS/MS for Fruits and Vegetables**

Search

Quicklinks

[CRL Data Pool](#)



EUROPEAN COMMISSION
HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL

Safety of the food chain
Chemicals, contaminants, pesticides

Linea Guida per la validazione

Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.

SANCO/12571/2013
19 November 2013 rev. 0

SANCO/12571/2013
Supersedes
SANCO/12495/2011
Implemented by 01/01/2014

★ ☆
EUROPA - Plant Health - Plant Protection - Pesticides ...



Food Safety - From the Farm to the Fork

[EUROPA](#) > [European Commission](#) > [DG Health and Consumers](#) > [Overview](#) > [Plant Health](#)

[Plant Protection](#)
[Harmful Organisms](#)
[Property Rights](#)
[Genetic Resources](#)
[Seeds and Plant P...](#)

Plant Protection - Pesticide Residues - Community Legislation

Regulation (EC) No 396/2005 and amendments

- **Regulation (EC) No 299/2008 of the European Parliament and of the Council of 11 March 2008 amending Regulation (EC) No 396/2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin, as regards the implementing powers conferred on the Commission**
- **Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC.**

Consolidated version

Annexes I, II, III, IV and VII

Supporto Normativo

Sanco 12571/2013

- Campione **irregolare**: p.to E15 $X_i - U_e > LMR$
- Incertezza di misura (U_e): p.to E13 50% del valore di X_i in mg/Kg
- Cifre significative e Limite di Quantificazione (LOQ):

p.to E7 uniformità nel riportare i risultati

risultato analitico (X_i) (mg/kg)	Cifre Significativa (CS)		Reporting limit e/o LOQ	
	n. CS	Es. (mg/kg)	n. CS	Es. (mg/kg)
$0.01 < x < 0,1$	1	0.09	1	0,01; 0,05
$0.1 \leq x < 10$	2	0.11; 1.2	1	
≥ 10	3	10.5; 20,3	2	0,11

- **Recupero**: p.to E6 non correggere per il recupero se nel range 70-120%



Legenda

LMR: limite massimo di residuo

U_e: incertezza estesa = dispersione dei valori che potrebbero essere ragionevolmente attribuiti al misurando

LOQ: limite di quantificazione = la più bassa concentrazione dell'analita che sia stata validata con una precisione accettabile $CV\% < 20\%$ - applicando il metodo completo



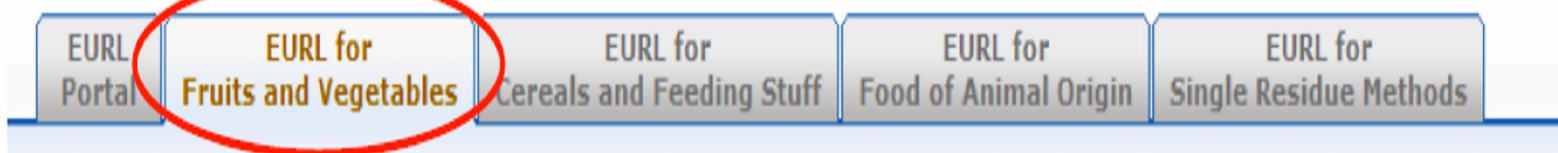
Proficiency Test: un obbligo!!

Reg. 396/2005 art. 28 metodi di analisi

3. Tutti i laboratori incaricati dell'analisi dei campioni ai fini dei controlli ufficiali sui residui di antiparassitari partecipano alle prove interlaboratorio comunitarie per i residui di antiparassitari ed organizzate dalla Commissione.

EUPT-FV: Fruit and vegetable

European Proficiency Test FV 16



EUPT-C: Cereals and Feeding Stuff

EUPT CF 8



EUPT-AO: Food of Animal Origin

EUPT AO 9

Quali metodi di Analisi?



Triturazione/omogeneizzazione
e del campione



Un'aliquota di omogeneizzato vegetale
(15g) viene miscelata con una speciale
con una speciale terra di diatomee (20g)



Analisi
strumentale
GC-MS/MS
e LC-MS/MS



Eventuale purificazione,
mediante cromatografia
a permeazione di gel
(GPC)



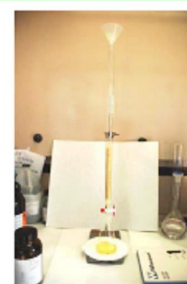
Portare a piccolo volume
con evaporatore rotante
ed a secco con corrente di
azoto



Raccogliere l'eluato ed i lavaggi
in beuta da 200 ml



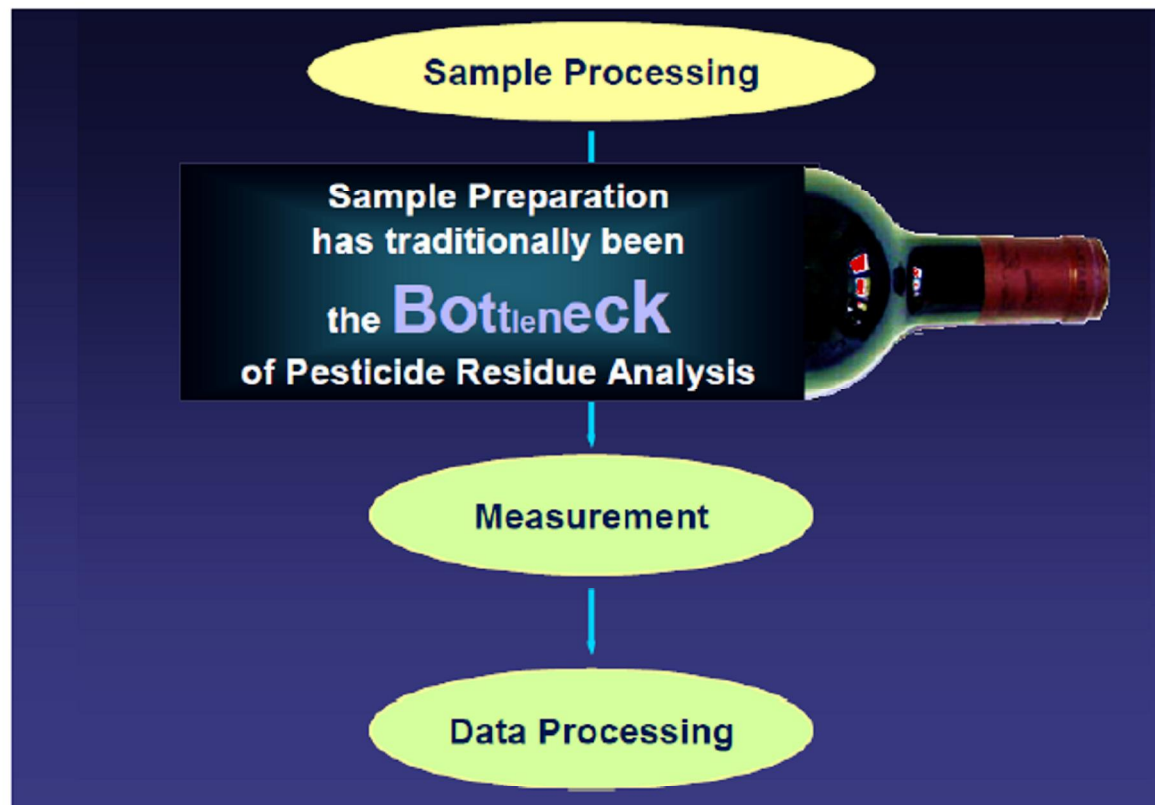
La miscela può essere estratta
mediante sistemi di estrazione
automatici (tipo ASE)



Oppure mediante
cromatografia su
colonna. Eluizione
con circa 150 ml di
diclorometano (100
+ 50)



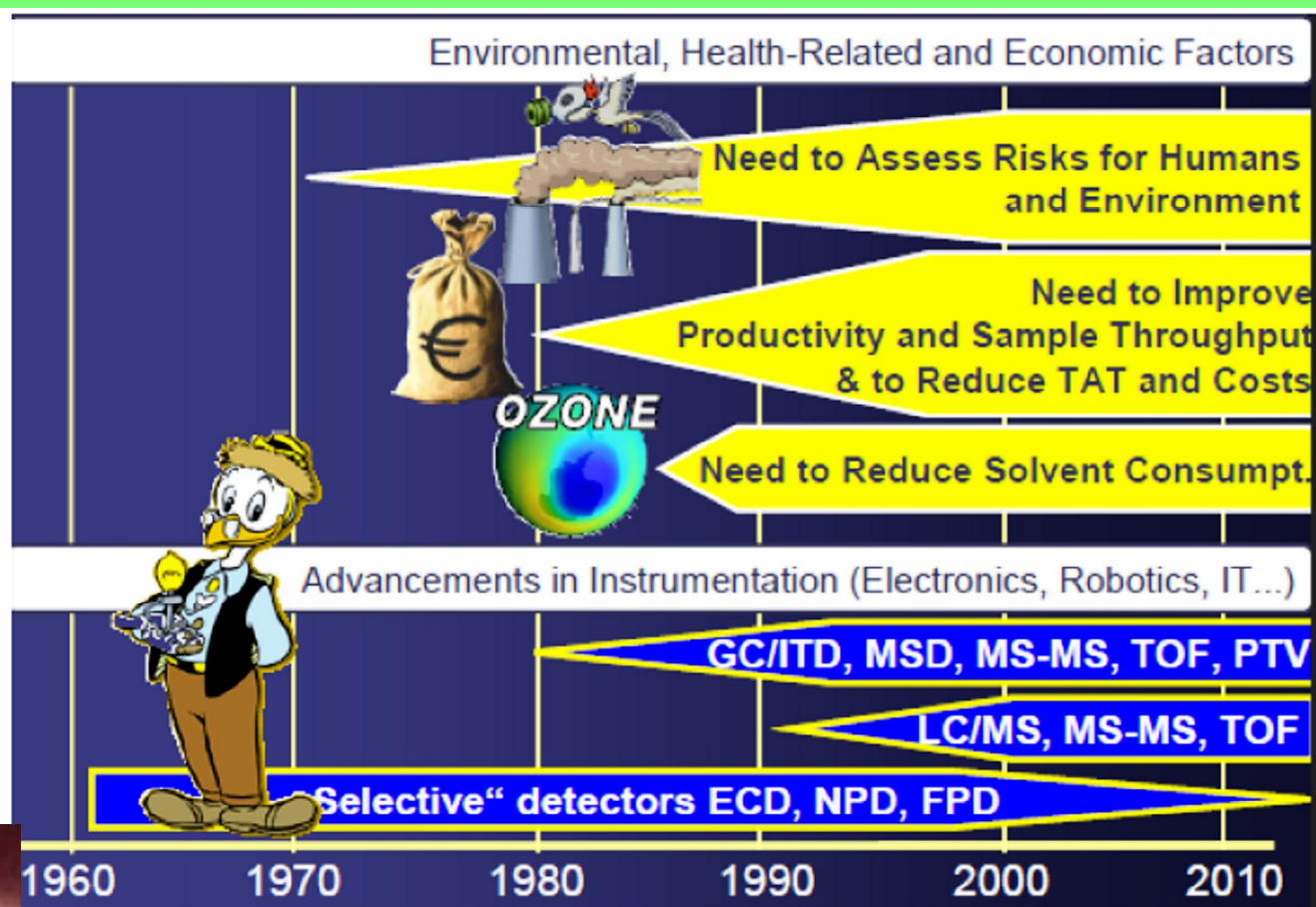
Analisi di Pesticidi: collo di bottiglia



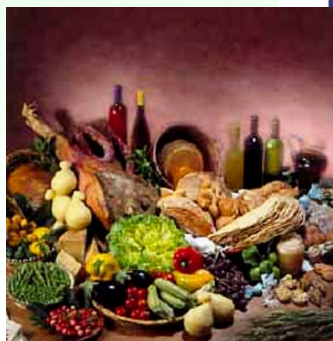
Fonte: The QuEChERS Method –Background Information and Recent Developments, M. Anastassiades CVUA Stuttgart



Perché la necessità di un nuovo approccio

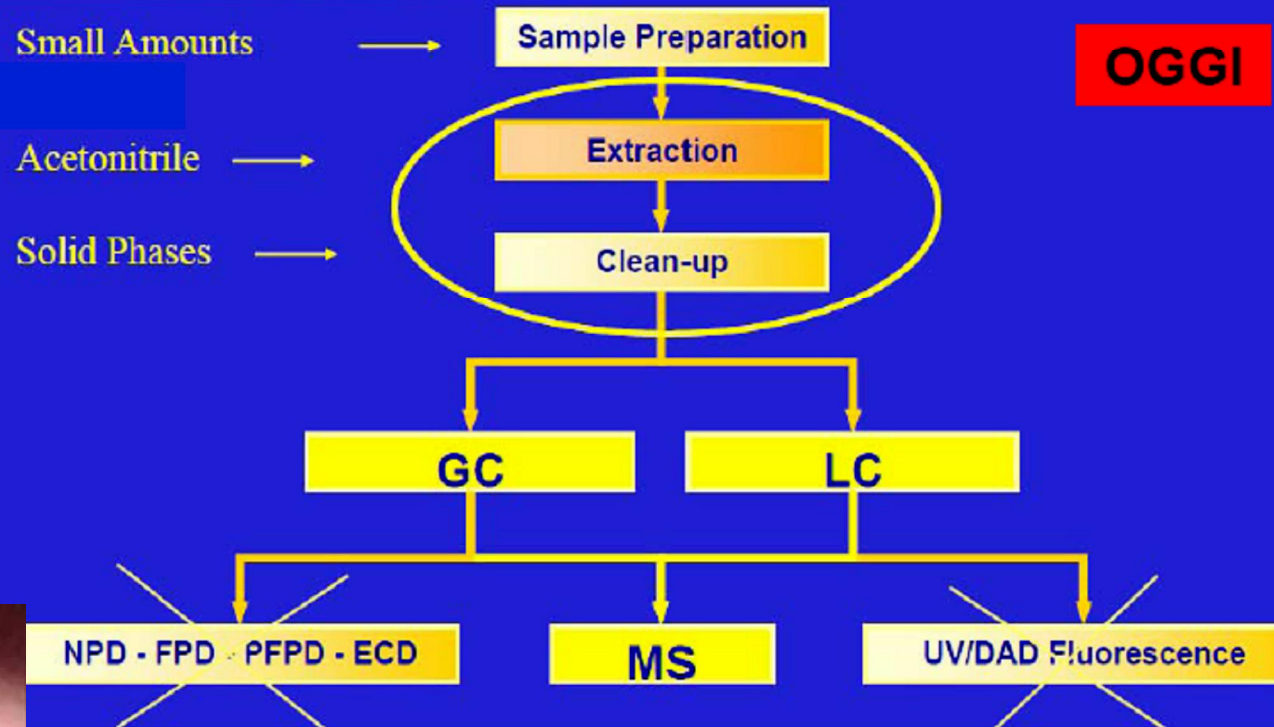


Fonte: The QuEChERS Method -Background Information and Recent Developments, M. Anastassiades CVUA Stuttgart

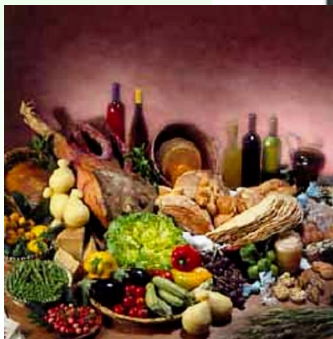
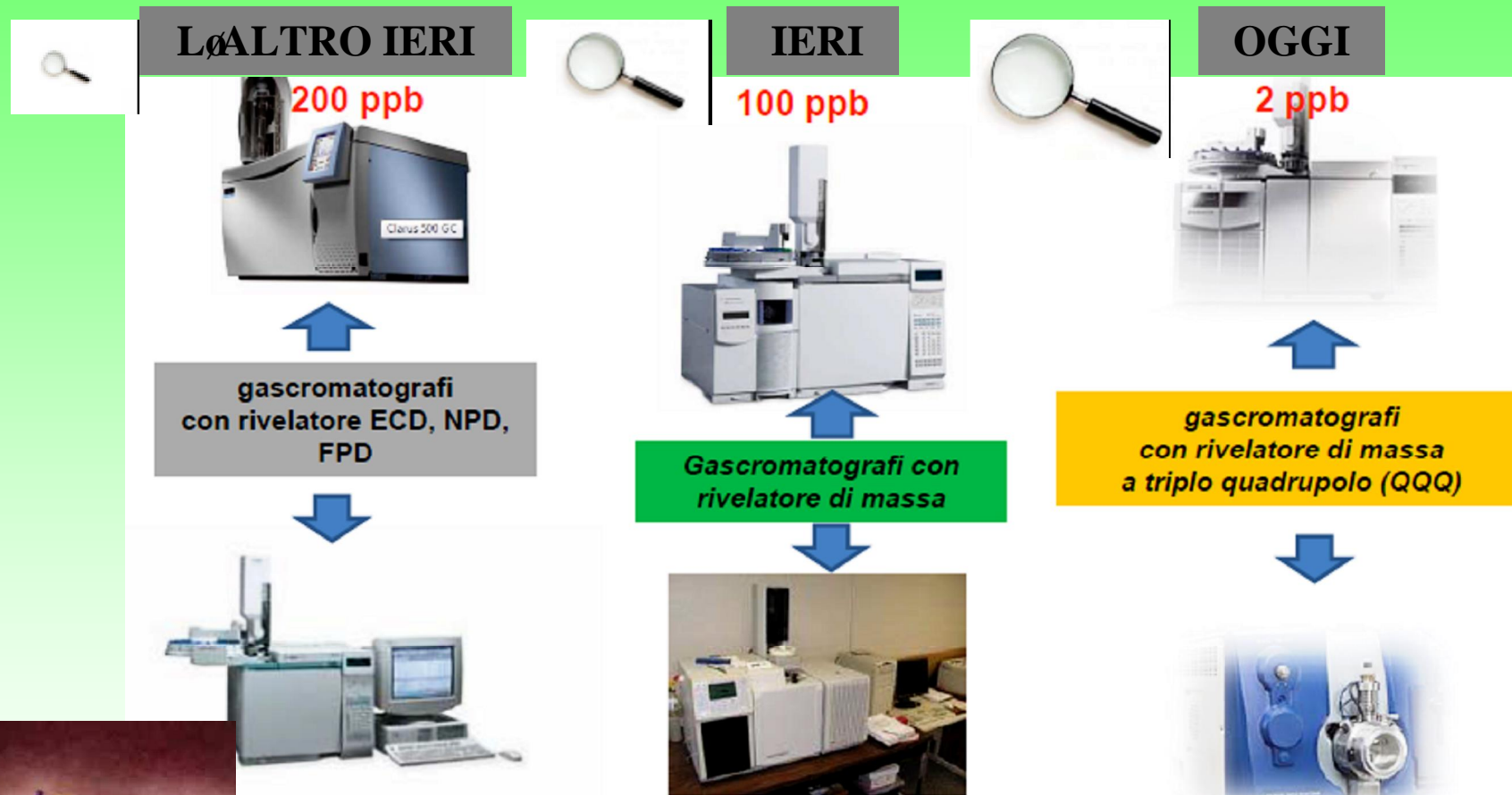


Evoluzione dei metodi di prova

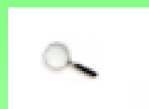
Multiresidue Methods (New Trends: QuEChERS)



Esempio di strumentazione per analisi in GC



Esempio di strumentazione per analisi in LC



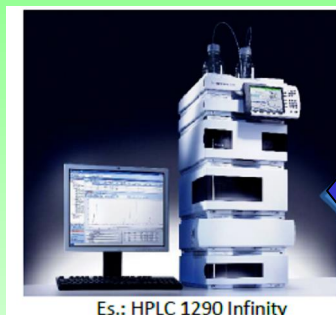
~~LA~~ ALTRO IERI



Es.: HPLC 1100 con rivelatore a diodi



IERI



Es.: HPLC 1290 Infinity



LC-MS serie 6100



OGGI



MS/MS (QQQ)



EU Reference

EURL

You are here: [Home](#) : [Pesticides in Fruits and Vegetables](#) : [About us](#) | [Instrumentation](#)

[EURL Portal](#) [EURL for Fruits and Vegetables](#) [EURL for Cereals and Feeding Stuff](#) [EURL for Food of Animal Origin](#)

Topics

- ☒ **Proficiency Tests**
 - EUPT-FV13
 - EUPT-FV-SM-03
 - EUPT-FV12
 - EUPT-FV-SM-02
 - EUPT-FV11
 - EUPT-FV-SM-01
 - EUPT Scientific Committee
 - Workshop
 - Quality Control
 - Group Workshop
 - EUPT-FV Archive
- ☐ **Workshops**
 - 2010 Workshop
 - Workshop
 - Overview
 - CODEX
 - Contributions
- ☐ **Services**
 - Blank Service
 - Standard Solutions
- ☒ **QC Panel**
 - NEW EU Guideline
 - EU Guideline Help
 - AQC Documents
 - Revision
 - SANCO/2007/3131
- ☐ **Library**
 - Last Publications

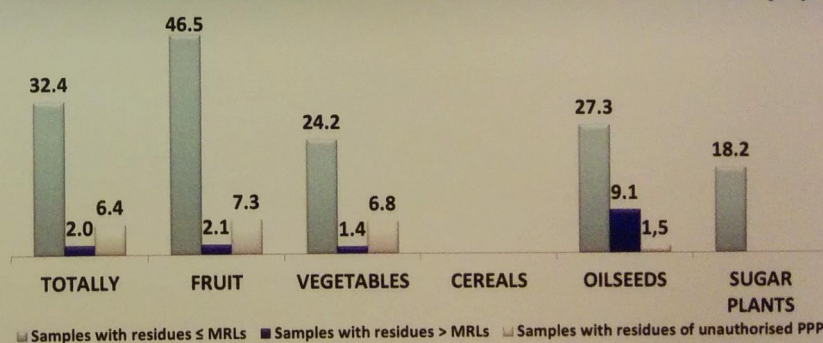
Chromatographic equipment:

- ÉGC-MS/MS(IT) 4000 (Varian)
- ÉGC-MS/MS(IT) 3800 (Varian)
- ÉGC-MS(Q) 5973 (Agilent Technologies)
- ÉGC-MS(Q) 5975C (Agilent Technologies)
- ÉGC-MS/MS (QQQ) 7000 (Agilent Technologies)
- ÉGC-MS (QTOF) 7200 (Agilent Technologies)
- ÉGC-MS/MS (QQQ) 450GC (Bruker)
- ÉGC-MS (Q) 5975C (Agilent Technologies)
- ÉLC-MS/MS(QLIT) (Applied Biosystems)
- ÉLC-MS (QTOF) 6530 (Agilent Technologies)
- ÉLC-MS/MS (QQQ) 6490 (Agilent Technologies)
- ÉLC-MS/MS (QLIT) 3200 (ABSciex)
- ÉLC-MS/MS (QLIT) 5500 (ABSciex)
- ÉLC-MS/MS (QQQ) 6410 (Agilent Technologies)



Fitofarmaci rivelati negli alimenti

MRLs VIOLATIONS AND UNAUTHORISED PPP USES (%)

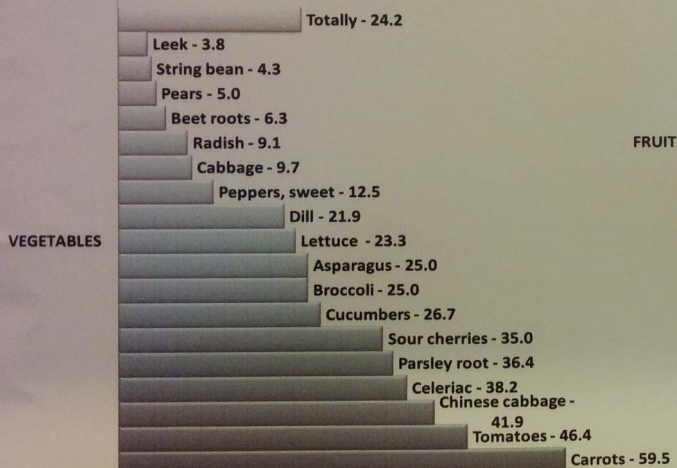


Fitofarmaci
rivelati e loro
ricorrenza

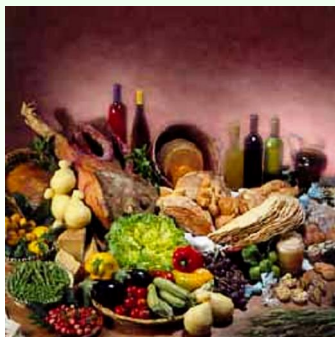
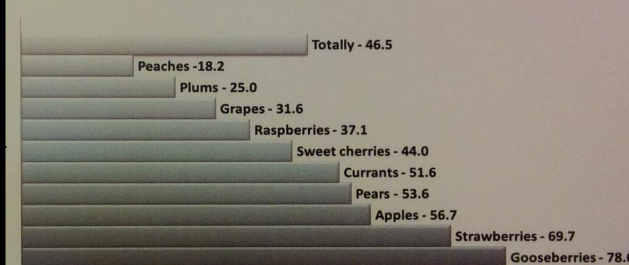
FREQUENT PESTICIDE / PRODUCT COMBINATION

PRODUCT	COMPOUND	% OF SAMPLES
RASPBERRIES	bupirymate	57.1
GOOSEBERRIES	difenoconazole	50.0
PEARS	captan	39.3
CARROTS	chlorpyrifos	38.1
CURRENTS	dithiocarbamates	35.2
STRAWBERRIES	boscalid	30.3
GOOSEBERRIES	dithiocarbamates	28.6
APPLES	captan	27.5
CHINESE CABBAGE	chlorpyrifos	27.4
ASPARAGUS	dithiocarbamates	25.0
CELERIAC	linuron	23.5
CURRENTS	thiacloprid	23.1
CARROTS	boscalid	21.4
PLUMS	tebuconazole	21.4
APPLES	dithiocarbamates	20.8
RASPBERRIES	pyrimethanil	20.6
LETTUCE	azoxystrobin	20.0
SWEET CHERRIES	carbendazim	18.0
PEARS	dithiocarbamates	17.9
CURRENTS	lambda-cyhalothrin	17.6
CUCUMBER	dithiocarbamates	16.7
SWEET CHERRIES	acetamiprid	16.0
SWEET CHERRIES	thiacloprid	16.0
TOMATOES	azoxystrobin	15.9

Presenza di
fitofarmaci in vari
tipi di alimenti

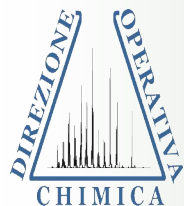


PESTICIDE RESIDUE OCCURRENCE (%)



The Official Control of Pesticides Residues in Food of Plant Origin in
Cyprus

Christodoulou D.L. et al. EPRW, Dublino, 30 giugno-3 luglio 2014



Typical Italian PGI Product: Pesticide Residues Evaluation of "Romanesco artichoke" by LC-MS/MS and GC-MS/MS



¹Katia Russo, ²Angela Paoloni, ¹Paolo Di Giustino, ¹Dario Lucchetti, ¹Marta Mancuso, ¹Daniela Triolone, ²Alessandro Pelliccia, ²Ivan Pecorelli, and ¹Bruno Neri.

¹Direzione Operativa Chimica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri", Via Appia Nuova 1411, 00178 Rome, Italy; email: katia.russo@izslt.it

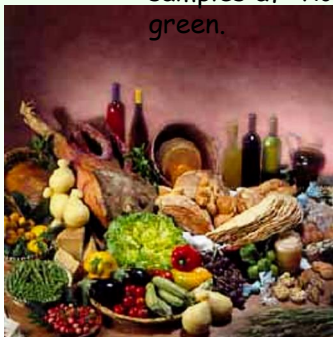
²Laboratorio Contaminanti Ambientali, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, via Salvemini 1, 06124 Perugia Italy; email: i.pecorelli@izsum.it

Introduction

The aim of this work was to verify whether the high standard of product quality fulfilled highest standards of safety for the consumer in terms of low levels of pesticide residues.

The artichoke, *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.), is a multi-annual herbaceous plant belonging to the Asteraceae family. "Romanesco Artichoke" is the flagship of Lazio (Central Italy) territory and its cuisine. It was the first Roman agricultural product to be protected with PGI designation - Protected Geographical Indication¹.

The most important pest species harmful to the cultivation of artichokes are aphids (*Brachycaudus cardui*, *Aphis fabae*, *Dysaphis cynarae*) and moths (*Depressaria erinaceella* Stgr., *Gortyna xanthenes* Germ.) while the most effective pesticides against them are: Chlorpyrifos, Cypermethrin, Deltamethrin, Ethoprophos, Imidacloprid, Indoxacarb and Spinosad. About 20 samples of "Romanesco Artichoke" were collected from the main areas of production in the Lazio Region reported in Figure 1 in green.



Katia Russo - IZSLT - Roma - 17 Settembre 2014



Conclusioni

Quale futuro?

-Norme

Superare la vacanza normativa che ha determinato regole dettate dal commercio sulla presenza multiresiduale su un prodotto

Disporre di studi sugli effetti sinergici e cumulativi

-Metodi e Tecnologie

Disporre di idonea tecnologia, con sensibilità adeguata



GRAZIE PER
L'ATTENZIONE

