

CONFRONTO FRA DIVERSE METODICHE DI CAMPIONAMENTO IN CAMPO SU FRUTTICOLE E LORO INFLUENZA SULLA DETERMINAZIONE DI RESIDUI DI FITOFARMACI (*)

F. RAMINI, F. FOSCHI, M. CESTARO

Centro Operativo Ortofrutticolo, Via Bologna 534 - 44100 Ferrara

Riassunto

E' stata condotta per due anni consecutivi, una specifica attività di ricerca mirata alla verifica ed al confronto di alcune metodologie per il prelievo di campioni di prodotti ortofrutticoli in campo, per la determinazione dei residui di fitofarmaci.

I risultati della ricerca hanno evidenziato come le due metodologie di campionamento a croce e casuale siano quelle in grado di fornire campioni che maggiormente rispondano ai criteri di rappresentatività necessari al fine della determinazione dei residui.

Parole chiave: campioni, residui, fitofarmaci.

Summary

COMPARISON BETWEEN VARIOUS FIELD SAMPLING METHODS ON FRUIT CULTURES AND THEIR EFFECT ON THE ANALYSIS OF PESTICIDES RESIDUES.

A specific activity has been carried out for two years with the purpose of verifying and comparing some methodologies of fruit and vegetable field sampling. The results of this research have highlighted that the two methods of cross sampling and random sampling can provide samples responding to the "representativeness" criteria, which are necessary for the residues' determination.

Key word: samples, residues, pesticides

Introduzione

Il campionamento dei prodotti ortofrutticoli costituisce uno dei punti critici del sistema di controllo dei residui di fitofarmaci, in particolare se questo campionamento viene effettuato in campo dove sono presenti un elevato numero di variabili. Tale tipologia di prelievo dei prodotti ortofrutticoli è per altro ultimamente divenuta necessaria soprattutto in rapporto alle specifiche richieste da parte del settore distributivo che spesso impone precise caratteristiche igienico-sanitarie del prodotto fornito. Inoltre lo stesso settore produttivo necessita di questo tipo di controlli "pre-raccolta" nel momento in cui intende sviluppare una politica promozionale del proprio prodotto. Attualmente i prelievi in campo sono stati per lo più condotti, non esistendo indicazioni ufficiali, integrando le metodiche di campionamento definite dal D.M. del 20/12/1980 (G.U.n. 8 del 9/1/81) con le metodiche di campionamento previste per altri settori, es. terreni.

Per questi motivi è stata condotta una ricerca mirata alla verifica dell'influenza di diversi metodi di prelievo di campioni di prodotti ortofrutticoli in campo al fine di definire una metodologia di prelievo dei campioni rappresentativo caratterizzato da una bassa variabilità e possibilmente standardizzabile. Il lavoro ha riguardato due anni di ricerca e quattro diverse metodologie di prelievo ripetute su aree produttive omogenee per i diversi aspetti agronomici e gestionali.

(*) Ricerca effettuata con il finanziamento della Regione Emilia-Romagna

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto in due anni consecutivi '94 e '95 presso diverse aziende, su mele, pere e percoche, testando alcuni principi attivi fra quelli principalmente impiegati sulle colture, per precisione:

Anno 1994	Mele Imperatore	Azinfos metile
	Pere Conference	Clorpirifos metile
	Percoche Andross	Azinfos metile
Anno 1995	Mele Golden	Azinfos metile e Diazinone
	Mele Stark Spur Red	Azinfos metile
	Pere Conference	Clorpirifos metile e Procimidone
	Pere Abate Fetel	Teflubenzuron e Tebuconazolo

Sono stati individuati nelle diverse aziende appezzamenti omogenei per specie varietà e sesto d'impianto età, ecc.; su questi appezzamenti sono stati effettuati i campionamenti dopo 4-5 giorni dal trattamento seguendo le seguenti metodologie:

1. **Campionamento casuale:** il campione viene prelevato a caso da un numero non definito di piante su una o più file.
2. **Campionamento per blocchi casuali:** il campione viene prelevato da 5 piante adiacenti nella stessa fila (Fig. 1)
3. **Campionamento a croce:** il campione viene prelevato da un numero variabile di piante da 5 a 10 poste su ipotetiche diagonali dell'appezzamento (Fig. 2)
4. **Campionamento a zone:** il campione viene prelevato da un numero variabile di piante da 5 a 10 poste in una delle 8 ipotetiche zone formate dalle diagonali dell'appezzamento e da linee parallele ai bordi poste a circa un quarto della lunghezza del lato (Fig. 3)

Le quattro tipologie di campionamento individuate sono state ripetute ognuna 5 volte per ogni specie prelevando ogni volta un campione di 20 frutti. Per ogni campione, indipendentemente dalla metodologia di campionamento adottata sono state osservate alcune procedure comuni:

- si sono esclusi dal campionamento i filari di bordo dell'appezzamento e le prime due piante di ogni fila;

- si sono prelevati solamente frutti omogenei per grado di maturazione e per pezzatura;

- i frutti sono stati tutti prelevati ad una altezza di circa 150 cm. da terra.

Tutti i campioni consegnati al laboratorio sono stati conservati in cella a 0° C per 24 ore prima di procedere all'analisi dei residui dei fitofarmaci. Al momento dell'analisi, ciascun campione è stato prelevato dalla cella ed omogenato con appositi omogeneizzatori a secco. Su una aliquota è stata applicata la tecnica estrattiva multiresiduale in quanto tutti i principi attivi presi in considerazione, per le loro caratteristiche chimiche e chimico-fisiche, si prestano a tale metodologia validata all'interno del laboratorio in più occasioni.

L'estratto organico derivante dalla procedura estrattiva e purificativa, è stato suddiviso in più aliquote in funzione delle molecole da analizzare e conseguentemente della tecnica analitica da utilizzarsi. I principi attivi azinfos metile, clorpirifos metile, diazinone e tebuconazolo sono stati analizzati con tecnica gascromatografica utilizzando rivelatori selettivi (NPD e FPD) e colonne capillari tipo Quadrex Se 54 ed OV 1701 di lunghezza 52 m e con diametro interno di 0,32 mm. Il procimidone è stato analizzato con la medesima tecnica, confermato su due colonne identiche a quelle precedentemente indicate, usando un rivelatore a cattura di elettroni. Il teflubenzuron invece è stato analizzato con tecnica HPLC usando un rivelatore a diodi a lunghezza d'onda di 210 e 240 nm, colonna tipo ODS, 25 cm x 4,6 mm (5 micron) eluente acetonitrile-acqua (70/30) ed un flusso di 0,8 ml/min. Il limite di rilevabilità analitica per tutti i principi attivi indicati e con le tecniche analitiche evidenziate è di 0,01 mg/Kg, con l'esclusione del procimidone e tebuconazolo (0,02 mg/Kg) e del teflubenzuron (0,05 mg/Kg).

Fig. 1

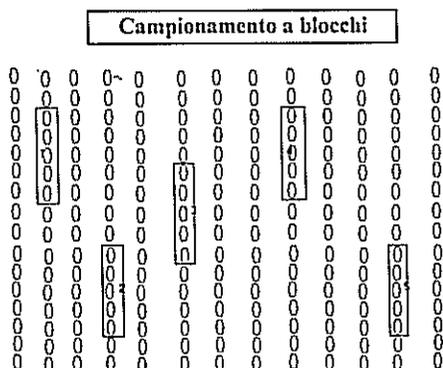


Fig. 2

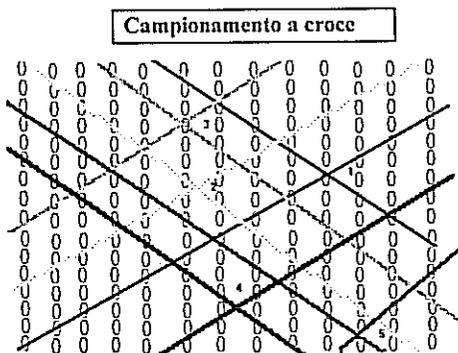
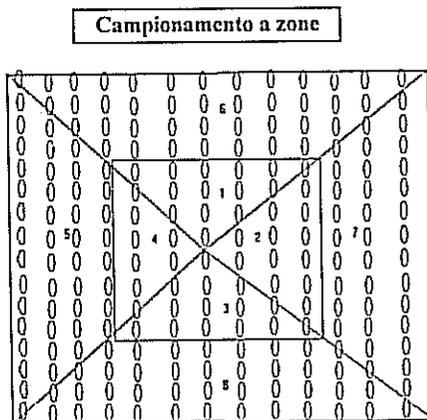


Fig. 3



Risultati

I risultati delle analisi condotte sui diversi campioni di prodotto sono riportati nelle tabelle 1 e 2, con alcune preliminari elaborazioni dei risultati, mentre nella tabella 3 viene riportato, per ogni prova, il

valore in percentuale dello scostamento del valore medio residuale di ciascun metodo di campionamento rispetto alla media generale. Per quanto riguarda le prove condotte nel corso del 1994, (tab. 1) non sono emerse per ognuna di esse, differenze significative (Duncan's Test) fra i diversi metodi di campionamento applicati. Valutando invece lo scostamento percentuale dalla media generale si può invece osservare fra le diverse tesi a confronto una certa variabilità, infatti per esempio il campionamento casuale che nella prova n.1 presenta un valore medio residuale che si discosta del 10% circa (9,79%) rispetto alla media generale, nelle altre due prove ha invece fornito uno scostamento minimo dalla media generale rispettivamente del 2% e 1%, e quindi il miglior risultato. Analogo comportamento hanno presentato le altre metodologie di campionamento che alternativamente hanno fornito risultati positivi e negativi: es. nella prova n. 2 i campionamenti a blocchi casuali e a croce hanno entrambi ottenuto uno scostamento rispetto alla media inferiore al 10%, mentre nella prova n. 3 il campionamento a blocchi casuali ha presentato un valore medio che superava il 10%; e ancora il campionamento a zone che nella prova n.1 ha dato uno scostamento del 18% circa nelle altre due prove tale scarto è del 15% circa. Per quanto riguarda invece l'indagine condotta nel 1995 sono innanzitutto presenti all'interno di ogni prova differenze significative fra i diversi metodi di campionamento ed è comunque rilevabile una certa uniformità di risposta da parte di alcune metodologie rispetto alle diverse prove e cioè alle diverse matrici ed ai diversi principi attivi. In particolare il campionamento a croce cioè seguendo le due diagonali dell'apezzamento è il metodo che ha rivelato (tab. 2) il maggior grado di uniformità fra le diverse ripetizioni nell'ambito delle prove n. 1, 2, 3 e che ha fornito il minor scostamento dalla media generale per le prove n. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 intendendo come minor scostamento, tutti i valori al di sotto del 10%.

Tab. 1 Anno 1994

Prova 1 - Azinfos m. su percoche Andross									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,78	0,96	0,81	0,78	0,47	0,76	a	0,18	-9,79
B. Casuali	0,88	0,86	0,87	0,66	0,56	0,766	a	0,15	-9,08
Croce	1,49	0,56	0,55	0,76	1,3	0,932	a	0,44	10,62
Zone	1,37	0,62	1,25	0,48	0,84	0,912	a	0,39	8,25
Media gen.	0,843								

Prova 2 - Clorpirifos m. su pere Conference									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,2	0,21	0,2	0,17	0,21	0,198	a	0,02	2,33
B. Casuali	0,26	0,19	0,15	0,25	0,17	0,204	a	0,05	5,43
Croce	0,18	0,19	0,23	0,23	0,22	0,21	a	0,02	8,53
Zone	0,18	0,19	0,13	0,15	0,16	0,162	a	0,02	-16,28
Media gen.	0,194								

Prova 3 - Azinfos m. su mele Imperatore									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,37	0,36	0,39	0,54		0,415	a	0,08	-0,82
B. Casuali	0,37	0,36	0,52	0,35	0,26	0,372	a	0,09	-11,09
Croce	0,44	0,38	0,55	0,37	0,27	0,402	a	0,10	-3,92
Zone	0,65	0,37	0,51	0,36	0,53	0,484	a	0,12	15,67
Media gen.	0,418								

(*) Duncan's Test $p=0,05$

Tab. 2 Anno 1995

Prova 1 - Azinfos m. su mele Stark Spur Red									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,99	1	0,94	1,65	1,1	1,136	a	0,29	26,79
B. Casuali	0,56	0,8	0,92	0,96	0,69	0,786	b	0,16	-12,28
Croce	0,9	0,96	0,97	0,66	1,11	0,92	ab	0,16	2,68
Zone	0,49	1	0,52	0,87	0,83	0,742	b	0,23	-17,19
Media gen.	0,896								

Prova 2 - Clorpirifos m. su pere Conference									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,21	0,21	0,23	0,22	0,25	0,224	a	0,02	16,06
B. Casuali	0,18	0,11	0,18	0,18	0,23	0,176	ab	0,04	-8,81
Croce	0,2	0,23	0,21	0,22	0,19	0,21	ab	0,02	8,81
Zone	0,19	0,18	0,21	0,12	0,11	0,162	b	0,04	-16,06
Media gen.	0,193								

Prova 3 - Procimidone su pere Conference									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,5	0,44	0,49	0,59	0,49	0,502	a	0,05	11,56
B. Casuali	0,32	0,32	0,44	0,37	0,47	0,384	b	0,07	-14,67
Croce	0,45	0,55	0,51	0,48	0,47	0,492	a	0,04	9,33
Zone	0,45	0,48	0,48	0,34	0,36	0,422	ab	0,07	-6,22
Media gen.	0,45								

Prova 4 - Teflubenzuron su pere Abate Fétel									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,1	0,1	0,11	0,09	0,1	0,1	b	0,01	-0,99
B. Casuali	0,13	0,15	0,12	0,12	0,09	0,122	a	0,02	20,79
Croce	0,08	0,1	0,11	0,1	0,07	0,092	b	0,02	-8,91
Zone	0,07	0,08	0,1	0,1	0,1	0,09	b	0,01	-10,89
Media gen.	0,101								

Prova 5 - Tebuconazolo su pere Abate Fétel									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,26	0,33	0,28	0,24	0,29	0,28	ab	0,03	5,07
B. Casuali	0,39	0,29	0,24	0,29	0,31	0,304	a	0,05	14,07
Croce	0,3	0,27	0,27	0,29	0,18	0,262	ab	0,05	-1,69
Zone	0,2	0,21	0,27	0,25	0,17	0,22	b	0,04	-17,45
Media gen.	0,267								

Prova 6 - Diazinone su mele Golden Delicious									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,15	0,15	0,21	0,11	0,13	0,15	a	0,04	1,35
B. Casuali	0,15	0,08	0,17	0,24	0,2	0,168	a	0,06	13,51
Croce	0,1	0,1	0,17	0,22	0,12	0,142	a	0,05	-4,05
Zone	0,14	0,09	0,13	0,16	0,14	0,132	a	0,03	-10,81
Media gen.	0,148								

Prova 7 - Azinfos m. su mele Golden Delicious									
	Rip. 1	Rip. 2	Rip. 3	Rip. 4	Rip.5	Media tesi	Duncan's Test (*)	D.M.S.	+/- % Media generale
Casuale	0,31	0,42	0,62	0,34	0,38	0,414	a	0,12	6,56
B. Casuali	0,33	0,34	0,45	0,47	0,42	0,402	a	0,06	3,47
Croce	0,27	0,29	0,34	0,54	0,36	0,36	a	0,11	-7,34
Zone	0,44	0,27	0,33	0,4	0,45	0,378	a	0,08	-2,70
Media gen.	0,389								

(*) Duncan's Test =0,05

Per quanto riguarda invece il metodo del campionamento zone nella maggior parte delle prove questa metodologia ha presentato valori percentuali di scostamento dalla media generale nettamente superiore al 10%; il metodo del campionamento casuale ha fornito risultati contrastanti, infatti sulle prove n. 4, 5, 6, il metodo ha presentato una buona uniformità di risposta fra le diverse ripetizioni ed anche il minor scarto dalla media generale, mentre per le altre prove soprattutto per quanto attiene quest'ultimo parametro, i valori di scostamento dalla media aumentano vistosamente. Il metodo del campionamento a blocchi casuali ha invece fornito risultati positivi solo nell'ambito della prova n. 7 dove ha presentato la miglior uniformità fra le ripetizioni ed il minor scostamento dalla media generale.

Tab.3 Scostamento percentuale dalla media generale

Tesi	1994			1995							Media
	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5	Prova 6	Prova 7	
Casuale	9,79	2,33	0,82	26,79	16,06	11,56	0,99	5,07	1,35	6,56	8,1
Blocchi	9,08	5,43	11,09	12,28	8,81	14,67	20,79	14,07	13,51	3,47	11,31
Croce	10,62	8,53	3,92	2,68	8,81	9,33	8,91	1,69	1,05	7,34	6,6
Zone	8,25	16,28	15,67	17,19	16,06	6,22	10,89	17,45	10,81	2,70	12,1

Conclusioni

Le diverse prove condotte nei vari anni hanno evidenziato come la risposta residuale sia estremamente variabile in funzione non solo del sistema di campionamento, ma anche in funzione della matrice e del principio attivo ricercato. Tale dato risulta volutamente accentuato anche dal limitato numero di giorni intercorsi fra il trattamento ed il campionamento. Complessivamente, nell'ambito di queste prove si è comunque evidenziato che, il metodo di campionamento a croce risulta essere la metodologia più affidabile considerando i parametri di uniformità fra le diverse ripetizioni e di scostamento percentuale dalla media generale. Questo metodo di campionamento ha sempre fornito,

fatta eccezione per un unico caso, risultati residuali (considerando il valore medio) il cui scostamento percentuale dalla media generale era al di sotto del 10%. L'altro metodo di campionamento che ha dato risultati positivi, considerando sempre i due suddetti parametri è il metodo del campionamento casuale. A quest'ultimo proposito preme comunque sottolineare una condizione prettamente operativa: tale ultimo sistema è stato condotto per tutte le prove effettuate prelevando i singoli frutti seguendo un percorso certamente non prefissato, ma che inevitabilmente portava a "tagliare" diagonalmente l'appezzamento di prova. Per quanto attiene gli altri due metodi di campionamento applicati: a blocchi casuali e a zone, questi non hanno fornito, sulle 10 prove svolte, sufficienti garanzie di affidabilità. Pertanto come già anticipato e facendo espresso riferimento alle prove condotte, i due metodi di campionamento a croce e "casuale" sono quelli che meglio si prestano a fornire un campione rappresentativo ed idoneo per l'analisi dei residui di fitofarmaci.

Bibliografia

1. BRANCA P., QUAGLINO P., NAVONE P. (1994) Il controllo degli antiparassitari: incidenza del campionamento sulla riproducibilità del dato analitico. Boll. Chim. Igien. vol. 45.
2. FOSCHI F. ed altri (1989). La presenza dei residui di fitofarmaci sui prodotti ortofrutticoli. Atti del Convegno "La qualità dei prodotti ortofrutticoli" 81-94.
3. TACCHEO BARBINA M. ed altri (1989). Problematiche dei residui in relazione alla valorizzazione qualitativa degli ortofrutticoli: "Gli aspetti che influenzano la determinazione analitica" Atti del Convegno "La qualità dei prodotti ortofrutticoli" 95-109.
4. Guide to codex recommendations concerning pesticide residues. Part 5 Recommended method of sampling for the determination of pesticide residues. F.A.O. Codex Alimentarius Commission CAC/PR 5-1984.
5. Decreto Ministeriale 20 dicembre 1980 - G.U. n. 8 del 9 gennaio 1981