

## COMMISSIONE INTERREGIONALE PER GLI ALIMENTI E LE BEVANDE : RAPPORTO DELL'ATTIVITA DEL GRUPPO ANTIPARASSITARI

P. BRANCA<sup>1</sup>, A. FRANCHI<sup>2</sup>, M. LORENZIN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>L. S. P. - Sezione Chimica - Torino

<sup>2</sup>A.R.P.A.T. - U.O. Chimico Ambientale - Siena

<sup>3</sup>P.M.P. - U.O. Laboratorio Chimico fisico - Trento

### Riassunto

In relazione all'attività del gruppo di lavoro antiparassitari, costituito nell'ambito della Commissione Interregionale per gli alimenti e le bevande, si evidenziano e si sottopongono a riflessione alcuni problemi connessi con il recepimento delle ultime direttive della CEE.

Vengono altresì evidenziati, in rapporto agli aspetti analitici, le linee guida per le buone pratiche di laboratorio.

Parole chiavi: Legislazione, Metodi di analisi, Buona pratica di laboratorio.

### Summary

#### INTERREGIONAL COMMITTEE FOR THE FOODS AND BEVERAGES : ACTIVITY REPORT OF THE GROUP PESTICIDES

In relation to activity of the Interregional Committee for foods and beverages, some problems connected with the acceptance of the last directives are pointed out and submitted to reflection.

Furthermore in relation to analytical aspects the guidelines for good laboratory practices are pointed out.

Key words : Legislation, Analytical methods, Quality control

Nell'ambito dell'attività connessa al gruppo interregionale per gli alimenti e le bevande, circa un anno fa veniva formalizzata la creazione di un sottogruppo operativo con l'obiettivo di intervenire nel campo dell'analisi dei residui di antiparassitari, infatti questa attività negli ultimi anni ha assunto un ruolo predominante tra i compiti istituzionali assegnati ai Presidi Multizonali di Prevenzione.

Il gruppo, costituito prevalentemente da Chimici dei Presidi Multizonali di Prevenzione supportati dai colleghi dell'Istituto Superiore di Sanità si pone come obiettivo:

- a) Evidenziare agli organi competenti alcuni aspetti interpretativi connessi al recepimento delle recenti norme Comunitarie.
- b) Individuazione di metodiche analitiche e loro validazione in rapporto alle buone pratiche di laboratorio.

In relazione al primo punto il gruppo evidenzia che le OO.MM. 3 maggio 1994 in recepimento delle direttive C.E.E. numero 93/57 e 93/58 fissando i limiti massimi dei residui delle sostanze attive dei prodotti fitosanitari nei prodotti di origine vegetale, nei cereali e nei prodotti di origine animale, non né adeguava gli impieghi autorizzati, questo comporta sicuramente una disparità di trattamento tra i prodotti italiani e quelli degli altri paesi comunitari.

In altri termini, l'analista non può rifiutare partite di prodotti comunitari contenenti residui di fitofarmaci entro i limiti previsti, mentre deve contestare partite prodotte in Italia contenenti residui minimi su culture non autorizzate.

Tra i problemi interpretativi posti dalle nuove ordinanze rileviamo:

- 1) Mancata indicazione di alcuni prodotti ortofrutticoli nell'elenco generale.
- 2) La diversità tra il limite della contaminazione indiretta (0,01 mg/kg) ed il limite della determinazione analitica.
- 3) L'assenza dell'indicazione di diversi valori del limite ed il rimando alle precedenti Ordinanze Ministeriali.
- 4) La fissazione del limite di residui per i fungicidi clilen-bis e propilcen-bis ditiocarbammati senza prevedere un metodo analitico per la determinazione specifica di questi principi attivi e la loro differenziazione dai fungicidi ditiocarbammati (Ziram) e dal Tiram; attualmente tutti i principi attivi sopra menzionati vengono determinati come solfuro di carbonio.

Su sollecitazione del gruppo di lavoro e per evitare interpretazioni difformi, il Ministero della Sanità ha ritenuto opportuno riformulare la scrittura delle OO. MM. 3 maggio 1994 in occasione del recepimento di due nuove direttive CEE, la numero 94/29 e la 94/30, con il Decreto Ministeriale 9 agosto 1995.

Il decreto, risolvendo positivamente alcune incertezze interpretative, ha lasciato irrisolti, e non poteva essere altrimenti, i problemi relativi ai residui dei fungicidi ditiocarbammati e alla diversa considerazione dei residui presenti su partite di prodotti italiani e comunitari.

Alcune difformità tra il testo delle OO.MM. 3 maggio 1994 e del D.M. 9 agosto 1995 sono già state segnalate al Ministero della Sanità.

Un'ulteriore problema evidenziato è quello connesso ai limiti massimi di residui presenti nei prodotti derivati.

L'O.M. 6 giugno 1985 (art. 5 comma 2°) stabilisce che il limite massimo di residui nei prodotti derivati dai prodotti agricoli vegetali o animali è valutato considerando sia la percentuale di prodotto contenuto, sia gli effetti dei processi di lavorazione seguiti per la trasformazione.

Per qualche principio attivo esistono codificati i limiti massimi nei prodotti derivati (olio, vino, farina, crusca); per molti altri invece è autorizzato l'impiego su olivo, vite, cereali prevedendone il relativo valore di residuo mentre nulla è detto per i prodotti derivati (olio, farina, vino).

Nonostante le assicurazioni fornite dal Ministero della Sanità anche nell'ultimo decreto (D. M. 12 agosto 1995) quest'ultima tendenza viene rafforzata.

In considerazione di quanto sopra, ci sembra indispensabile per risolvere il problema dei prodotti derivati:

- a) Per i nuovi principi attivi, qualora ne venga richiesta la registrazione su olivo, vite, cereali, semi oleaginosi, stabilire contestualmente il valore di residuo sui prodotti derivati. Le prove sperimentali potranno essere richieste alle ditte che ne richiedono l'autorizzazione.
- b) Definire le rese dei processi di trasformazione più importanti (olive/olio; uva/vino; semi oleaginosi/oli di semi).
- c) Predisporre studi specifici da affidare ad Istituti qualificati, per la verifica del destino dei residui di fitofarmaci nel processo di trasformazione; la precedenza dovrebbe essere accordata ai principi attivi più frequentemente riscontrati.

Un'ultima considerazione in rapporto alla contemporanea vigenza di diverse ordinanze e decreti (e relative rettifiche); si sente la necessità di una "GUIDA" che raccolga, per ogni principio attivo, i limiti massimi di residuo per i diversi prodotti alimentari, le culture e gli impieghi autorizzati in Italia.

Su questo fronte il gruppo di lavoro ha dato la più ampia disponibilità operativa predisponendo delle bozze da sottoporre all'approvazione delle Autorità competenti.

In considerazione all'analisi del secondo punto prezioso è risultato essere il coordinamento dell'Istituto Superiore di Sanità a cui afferiscono le richieste di revisione di analisi dalle strutture preposte al controllo, questo ha permesso di individuare, dall'esame dei referti analitici, le metodiche più comunemente in uso nelle varie strutture operative.

Fondamentalmente è possibile riassumere le varie procedure comunemente adottate per l'analisi dei residui degli antiparassitari nei seguenti punti.

## 1. TECNICHE DI ESTRAZIONE

- 1.1 Estrazione con acetone o acetone/metanolo
- 1.2 Estrazione con etile acetato
- 1.3 Estrazione su terre di diatomee
- 1.4 Estrazione per dispersione su florisil

## 2. TECNICHE DI RIPARTIZIONE

- 2.1 Ripartizione della fase acetonica o acetonica/metanolica con miscela acqua/diclorometano

2.2 Ripartizione della fase acettonica o acettonica/metanolica con miscela etero etilico/etero di petrolio

### 3. TECNICHE DI PURIFICAZIONE

3.1 Purificazione di estratti acettonici o acettonici/metanolici su colonna a fase inversa C<sub>8</sub> o C<sub>18</sub>

3.2 Purificazione su colonna macro o mini a permeazione di geli

### 4. TECNICHE DI DETERMINAZIONE

4.1 Gascromatografia

4.2 HPLC

4.3 GC/MS

Il gruppo di lavoro si prefigge di verificare gli schemi analitici sopra descritti in relazione alla possibilità di estendere al maggior numero di principi attivi determinabili (tecnica multiresiduo) sulla scorta delle esperienze analitiche dei membri ad esso afferenti ed in accordo con i requisiti atti ad assicurare al dato analitico le garanzie previste dalle buone pratiche di laboratorio.

A tale proposito, l'avvio della sperimentazione è stato preceduto dall'individuazione dei requisiti che ogni laboratorio partecipante dovrà garantire e precisamente:

- a) requisiti tecnico organizzativi per la buona pratica di laboratorio
- b) procedure di lavoro e norme di comportamento
- c) procedure di controllo di qualità

Obiettivo di queste procedure è il conseguimento di uno standard di qualità adeguato che, insieme ad una razionalizzazione delle risorse oggi disponibili ed ad un aspetto organizzativo che individui forme di specializzazioni, assicuri affidabilità e uniformità di comportamento dei laboratori sul piano nazionale ed europeo.

#### REQUISITI TECNICO ORGANIZZATIVI PER LA BUONA PRATICA DI LABORATORIO

Il laboratorio deve essere strutturato in modo da garantire la massima sicurezza nei confronti degli operatori, deve essere ridotto al minimo il rischio di contaminazione incrociata dei locali per cui risultano necessarie aree separate per la manipolazione dei campioni e le successive operazioni di determinazione analitica, dovrà essere provvisto di idonea strumentazione analitica ad uso esclusivo.

Ogni strumento di analisi dovrà essere periodicamente verificato e tarato secondo procedure normalizzate; ogni tipo di intervento, di verifica tecnica o analitica dovrà essere documentato.

Tutto il materiale utilizzato (solventi, reagenti, standard ecc.) dovranno essere certificati e di grado analitico adeguato.

La vetreria in uso e tutto il materiale necessario per la preparazione dei campioni dovrà essere trattata in modo da garantire l'assenza di eventuali cessioni e contaminazioni.

Il personale addetto alle analisi dei residui deve essere qualificato e costantemente aggiornato. Deve seguire le procedure previste dal programma di qualità e non ultimo, deve rispettare le norme di sicurezza.

## PROCEDURE DI LAVORO E NORME DI COMPORTAMENTO

Esse riguardano fondamentalmente il prelievo e la registrazione del campione, le analisi, la documentazione della prova e la trasmissione degli atti.

### Prelievo e registrazione del campione

Le modalità di campionamento devono tener conto della uniformità di distribuzione dei residui sul materiale oggetto della prova e delle dimensioni del lotto.

Il campione finale, da cui vengono ottenute le aliquote destinate alle analisi, deve essere rappresentativo dell'intero lotto.

Per il prelievo di prodotti ortofrutticoli si fa riferimento al D.M. 20.12.80. Ogni aliquota deve essere adeguatamente conservata durante e dopo il trasporto fino all'esecuzione delle analisi ed anche successivamente in caso di accertata irregolarità.

I contenitori devono garantire inerzia chimica, buona tenuta ed integrità dell'aliquota.

Ogni campione è accompagnato dal relativo verbale di campionamento o scheda di prelievo.

Al momento della registrazione viene assegnato un numero o codice di ingresso, che in caso di eventuale completa riservatezza sul campione rimane l'unico riferimento per l'addetto alle analisi.

### Analisi

I metodi utilizzati devono essere sperimentati, sono preferibili metodi multiresiduo applicabili a più gruppi di sostanze. I metodi devono essere conformi ai criteri contenuti nell'allegato 2 del D.M. 23.12.92 e testati da prove collettive condotte in più laboratori per verificarne la riproducibilità, l'accuratezza, la sensibilità, la specificità, le interferenze e l'effetto matrice secondo procedure normalizzate. Le valutazioni del metodo vengono effettuate valutandone i recuperi sulle matrici con i principi attivi che si intendono dosare a diversi livelli di concentrazione, utilizzando standard ad elevato grado di purezza o, se esistente, materiale certificato.

Particolare attenzione deve essere riservata alla preparazione degli standard di riferimento per le calibrazioni: uso di dispensatori ad elevata riproducibilità, verifica e rispetto dei tempi di stabilità delle soluzioni, compatibilità dei solventi usati.

Il metodo scelto deve essere disponibile in laboratorio e descritto dettagliatamente in ogni sua procedura: trattamento preliminare, estrazione e purificazione, analisi strumentale, conferma qualitativa ed analisi quantitativa.

Nel caso in cui il risultato analitico indichi un probabile superamento del valore limite od un valore ad esso prossimo, sarà opportuno ripetere l'analisi su una successiva porzione di campione onde poter valutare l'incertezza del dato analitico.

### Documentazione della prova e trasmissione dei referti

Ogni analisi eseguita deve essere documentata: su una scheda di lavoro devono essere riportati gli estremi identificativi del campione, le ricerche effettuate, gli esiti analitici sul campione in esame e sull'eventuale campione di controllo, i calcoli, le curve di calibrazione ecc. Devono essere allegati i cromatogrammi, gli spettri e quanto analiticamente risulterà rilevante.

Il rapporto di prova, firmato dai responsabili tecnici, deve contenere tutte le informazioni relative al campione, l'esito della analisi, i metodi utilizzati ed i relativi limiti di determinazione analitica per ogni principio attivo, la data di inizio e di termine delle procedure analitiche e le modalità di conservazione delle aliquote e dei dati grezzi.

### PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio segue una procedura di controllo qualità interno con lo scopo di valutare l'accettabilità dei risultati e di evidenziare variazioni della precisione, della accuratezza e della sensibilità del metodo. La procedura prevede l'aggiunta di opportuni standard interni su ogni campione in esame e, a scadenze predeterminate, l'analisi di un campione di controllo.

Ogni laboratorio partecipa inoltre ad un programma di controllo qualità interlaboratorio con lo scopo di verificare e migliorare la propria accuratezza. Il test viene eseguito periodicamente su matrici preferibilmente certificate, seguito da un ente accreditato in grado di valutare ed elaborare il risultato collettivo.

Dall'esito dei controlli di qualità ne discende l'attendibilità dei risultati del ciclo analitico.