

**4° CONVEGNO NAZIONALE  
FITOFARMACI E AMBIENTE  
Ambiente, Alimenti, Salute**

**Paolo Branca, Sara Coluccia e Demelio Loia**

**A.R.P.A. - Agenzia Regionale Protezione Ambientale del Piemonte  
Polo Chimico Regionale Alimenti – Via Nizza 24 – La Loggia (To)**

**ESTRAZIONE IN FASE SOLIDA E DETERMINAZIONE  
ANALITICA DI ALCUNI PESTICIDI DI NUOVA  
CONCEZIONE MEDIANTE GAS CROMATOGRAFIA  
SPETTROMETRIA DI MASSA**

**Napoli 14-15 maggio 2003**

## *Procedura analitica*

Verificata l'assenza degli analiti di interesse analitico, il frullato viene fortificato mediante aggiunta dei principi attivi ai livelli di concentrazione riportati in tabella 2.

50 grammi di campione fortificato vengono addizionati **50 ml di acetone, 50 ml di metanolo e 5 grammi di celite**. Si omogeneizza il tutto tramite turrax e si filtra su buchner con pompa da vuoto lavando il residuo con **50 ml di metanolo** e 25 ml di **H<sub>2</sub>O distillata**.

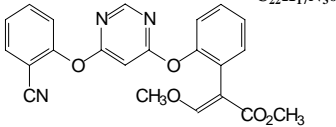
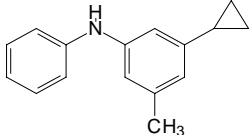
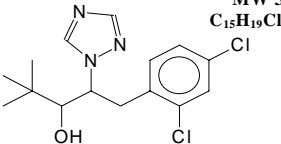
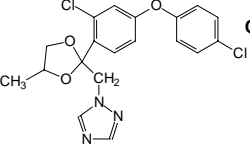
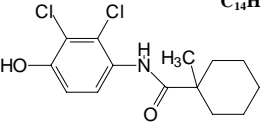
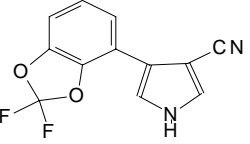
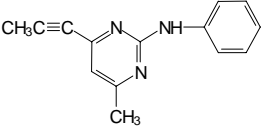
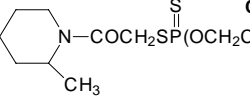
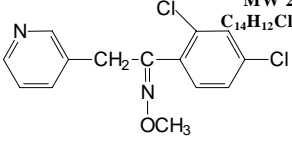
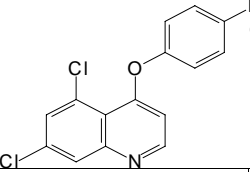
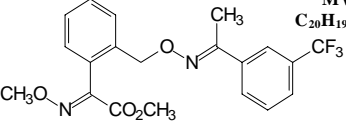
La fase liquida viene quindi portata a volume con **H<sub>2</sub>O distillata** in matraccio tarato da **250 ml**.

Si prelevano quindi **50 ml** di soluzione corrispondenti a **10 grammi di campione** e si trasferiscono in una beuta da 500 ml aggiungendo **450 ml di H<sub>2</sub>O distillata**. In queste condizioni la componente organica risulta inferiore al 5%, **così da permettere l'interazione degli analiti con la fase stazionaria octadecilica della cartuccia SPE**.

Si impacca la cartuccia con 1 grammo di fase stazionaria e la si predispone nel sistema di estrazione lavandola con **5 ml di esano**, successivamente, dopo aver eliminato la fase esanica si attiva la fase stazionaria fluendo **5 ml di metanolo** riprendendo successivamente con **5 ml di H<sub>2</sub>O distillata** avendo cura di mai lasciare andare a secco. Il caricamento del campione pre-estratto viene effettuato facendo fluire la soluzione presente nella beuta da 500 ml. Si lava quindi la cartuccia con 5 ml di H<sub>2</sub>O distillata e **si asciuga per aspirazione fino a completa eliminazione dell'acqua**.

L'eluizione dei principi attivi avviene fluendo **5 ml di miscela n-esano-etero dietilico (1:1 V:V)** e raccogliendo la fase organica, tale frazione viene quindi portata a secco in corrente di azoto ed a temperatura ambiente, **ripresa con 1 ml di n-esano (contenente lo standard interno)** favorendo la dissoluzione in un bagno ad ultrasuoni per 1 minuto ed iniettata in on column (1 µl) sul **GC/MS**.

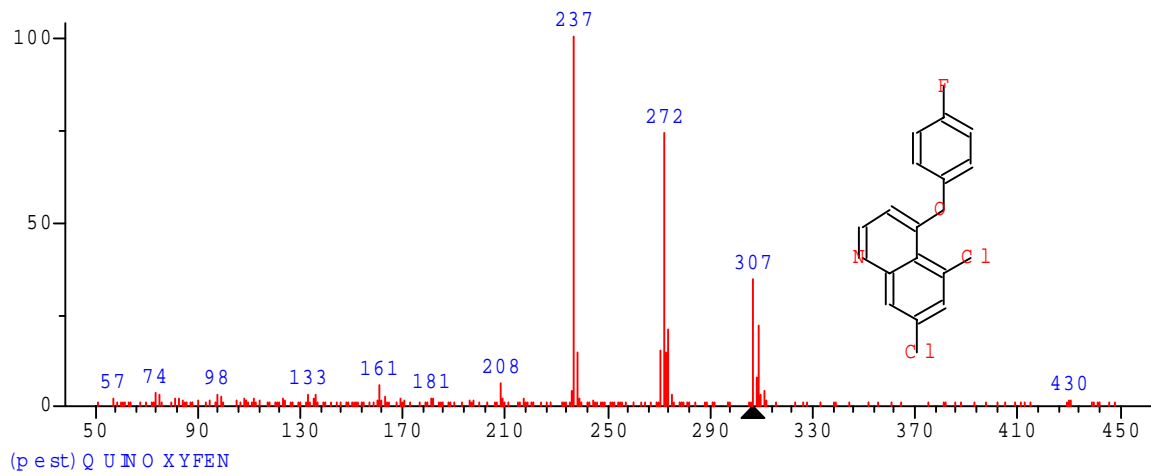
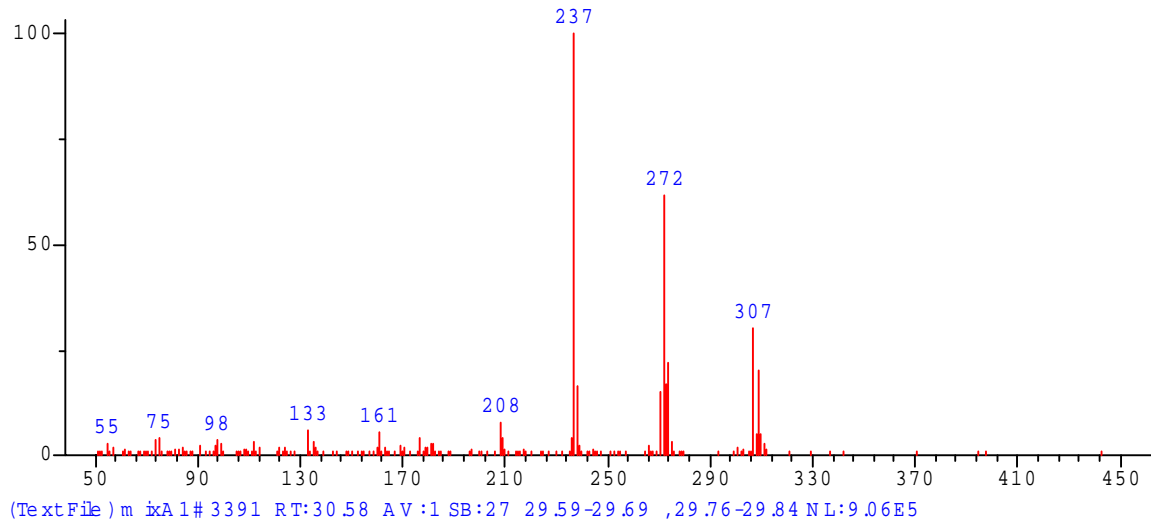
TABELLA 1

<p><b>AZOXYSTROBINA - CAS 131860-33-8</b> MW 403.4 C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub></p> 	<p><b>CYPRODINIL - CAS 121552-61-2</b> MW 225.3 C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub></p> 
<p><b>DICLOBUTRAZOL - CAS 75736-33-3</b> MW 328.2 C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O</p> 	<p><b>DIFENOCONAZOLE - CAS 119446-68-3</b> MW 406.3 C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub></p> 
<p><b>FENHEXAMID - CAS 126833-7-8</b> MW 302.2 C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O</p> 	<p><b>FLUDIOXONIL - CAS 131341-86-1</b> MW 248.2 C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub></p> 
<p><b>MEPANIPYRIM - CAS 110235-47-7</b> MW 223.3 C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub></p> 	<p><b>PIPEROPHOS - CAS 24151-93-7</b> MW 353.5 C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>PS<sub>2</sub></p> 
<p><b>PYRIFENOX - CAS 88283-41-4</b> MW 295.2 C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O</p> 	<p><b>QUINOXYFEN - CAS 124495-18-7</b> MW 308.1 C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>FNO</p> 
<p><b>TRIFLOXYSTROBIN - CAS 14151-21-7</b> MW 408.4 C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub></p> 	

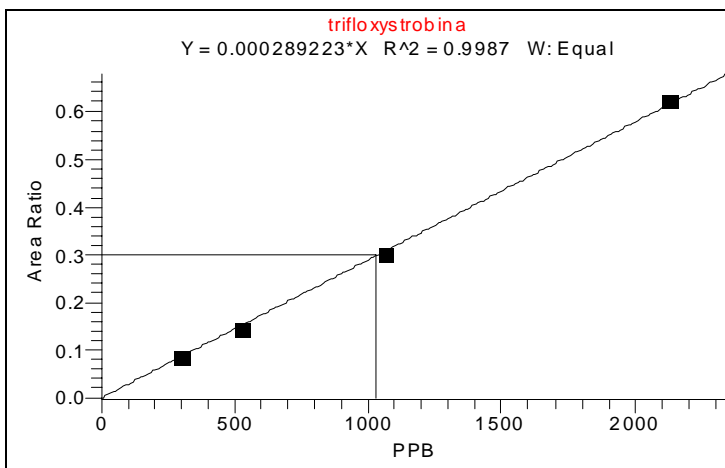


<b>PRINCIPI ATTIVI</b>	<b>FRAMMENTI SIGNIFICATIVI</b>		
	<b>uma</b>		
<b>Azoxystrobina</b>	<b>344</b>	<b>388</b>	<b>329</b>
<b>Cyprodinil</b>	<b>224</b>	<b>210</b>	<b>77</b>
<b>Diclobutrazol</b>	<b>270</b>	<b>272</b>	<b>159</b>
<b>Difenoconazole</b>	<b>323</b>	<b>265</b>	<b>267</b>
<b>Fenhexamid</b>	<b>266</b>	<b>177</b>	<b>301</b>
<b>Fludioxonil</b>	<b>248</b>	<b>182</b>	<b>154</b>
<b>Mepanipyrim</b>	<b>222</b>	<b>207</b>	<b>223</b>
<b>Piperophos</b>	<b>320</b>	<b>140</b>	<b>122</b>
<b>Pyrifenox</b>	<b>262</b>	<b>187</b>	<b>227</b>
<b>Quinoxyfen</b>	<b>237</b>	<b>272</b>	<b>307</b>
<b>Trifloxystrobin</b>	<b>190</b>	<b>116</b>	<b>131</b>

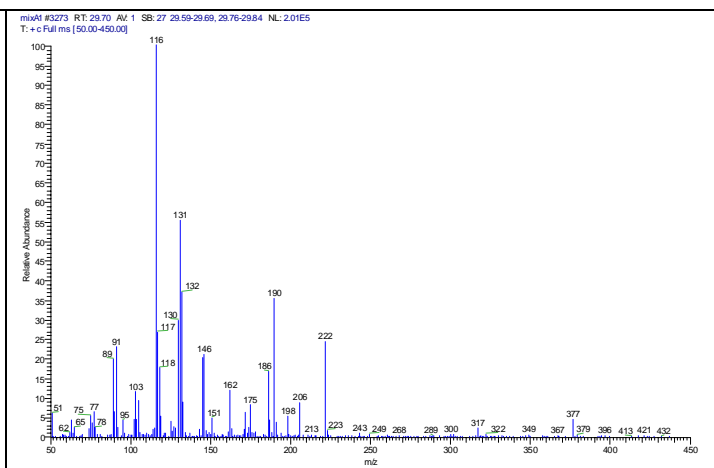
# Esempio di P.A. identificato



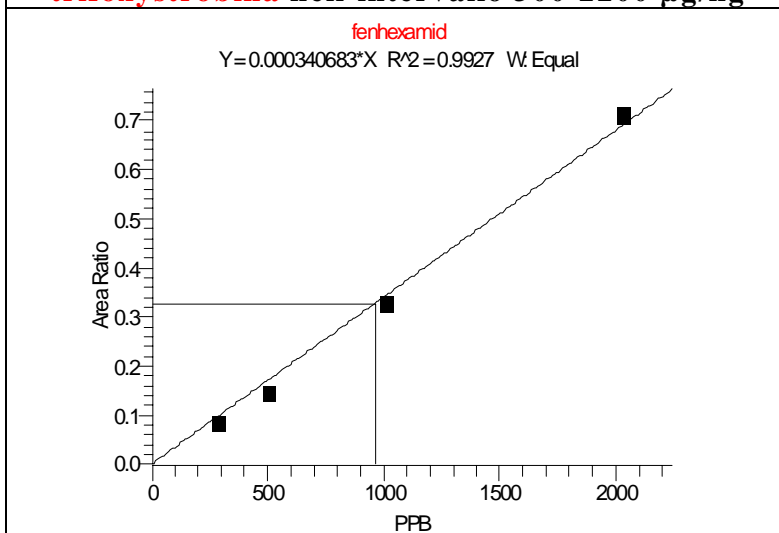
# Determinazione quantitativa



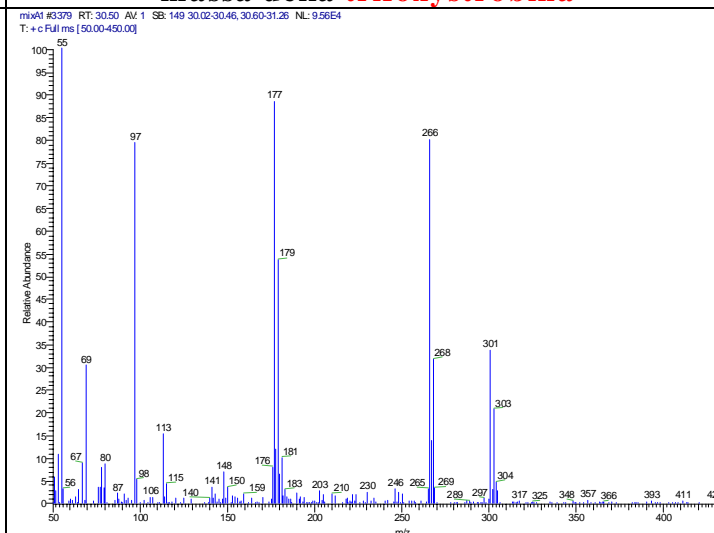
**Figura 2) Curva di calibrazione della trifloxystrobina nell'intervallo 300-2200  $\mu\text{g}/\text{kg}$**



**Figura 3) Spettro di frammentazione di massa della trifloxystrobina**



**Figura 4) Curva di calibrazione della fenexamide nell'intervallo 300-2100  $\mu\text{g}/\text{kg}$**



**Figura 5) Spettro di frammentazione di massa della fenexamide**

Livello I						
Principio	Spiking level	Valore trovato*	ricupero %	Scarto tipo	CV %	limite
Attivo	µg/kg	µg/kg				ripetibilità
Azossistrobina	5,1	4,3	84,31	0,32	7,53	1,27
Ciprodinil	5,3	4,5	85,28	0,73	16,21	2,87
Diclobutrazolo	5,3	5,8	109,81	0,36	6,18	1,41
Difenoconazolo	5,1	5,7	111,37	0,13	2,29	0,51
Fenexamide	5,1	4,4	86,27	0,21	4,82	0,83
Fludioxonil	5,4	5,8	107,22	0,41	7,05	1,61
Mepaniprim	5,0	4,6	92,80	0,37	8,14	1,48
Piperofos	5,0	5,2	103,60	0,63	12,10	2,47
<b>Pirifenox</b>	<b>5,0</b>	<b>1,0</b>	<b>19,20</b>	<b>0,12</b>	<b>12,95</b>	<b>0,49</b>
Quinoxifen	5,5	4,1	74,55	0,58	14,30	2,30
Trifloxystrobina	5,0	5,4	108,40	0,59	10,94	2,32
Livello II						

Livello II						
Principio	Spiking level	Valore trovato*	ricupero %	Scarto tipo	CV %	limite
Attivo	µg/kg	µg/kg				ripetibilità
Azossistrobina	51	38,24	74,98	8,86	23,18	34,81
Ciprodinil	53,0	48,3	91,13	2,47	5,13	9,72
Diclobutrazolo	53,0	48,1	90,68	4,54	9,45	17,83
Difenoconazolo	51,0	35,4	69,45	8,19	23,12	32,16
Fenexamide	51,0	45,3	88,75	5,88	12,99	23,09
<b>Fludioxonil</b>	<b>54,0</b>	<b>26,2</b>	<b>48,46</b>	<b>5,14</b>	<b>19,64</b>	<b>20,21</b>
Mepaniprim	52,0	46,1	88,65	2,14	4,63	8,40
Piperofos	18,0	14,5	80,56	1,72	11,90	6,77
<b>Pirifenox</b>	<b>50,0</b>	<b>1,9</b>	<b>3,76</b>	<b>2,49</b>	<b>132,00</b>	<b>9,79</b>
Quinoxifen	55,0	43,7	79,45	2,90	6,70	11,50
Trifloxystrobina	20,0	20,5	102,50	0,38	1,87	1,51
* Valore medio di 5 determinazioni						



<b>Livello III</b>						
<b>Principio</b>	<b>Spiking level</b>	<b>Valore trovato*</b>	<b>ricupero %</b>	<b>Scarto tipo</b>	<b>CV %</b>	<b>limite</b>
<b>Attivo</b>	<b>µg/kg</b>	<b>µg/kg</b>				<b>ripetibilità</b>
<b>Azossistrobina</b>	1088	1035	95,13	33,11	3,19	130,01
<b>Ciprodinil</b>	1020,0	1211,0	118,73	139,90	11,54	549,00
<b>Diclobutrazolo</b>	264,0	259,0	98,11	2,79	1,07	12,58
<b>Difenoconazolo</b>	998,0	800,7	80,23	65,02	8,12	255,30
<b>Fenexamide</b>	1059,0	1007,1	95,10	30,35	3,01	119,10
<b>Fludioxonil</b>	952,0	623,0	65,44	32,07	5,15	126,05
<b>Mepanipyrim</b>	1046,0	943,0	90,15	33,26	3,52	130,60
<b>Piperofos</b>	50,0	46,4	92,84	5,68	12,23	22,30
<b>Pirifenox</b>	224,0	28,7	12,80	8,17	28,55	36,74
<b>Quinoxifen</b>	549,0	411,7	74,99	11,10	2,70	43,66
<b>Trifloxystrobina</b>	50,0	49,1	98,12	2,98	6,08	11,72
* Valore medio di 5 determinazioni						

## ***CONCLUSIONI***

**L'esame delle procedure analitiche e dei dati riportati nelle tabelle dimostra in modo inequivocabile l'applicabilità della metodica alle molecole oggetto dell'indagine (ad eccezione del **pirifenox** per il quale sono in corso prove atte a verificare i motivi del suo anomalo comportamento) quali siano i vantaggi offerti dalla tecnica SPE rispetto alle tecniche tradizionali; tempi di analisi contenuti, minor dispendio di solventi con conseguente riduzione dei costi analitici e, per i laboratori addetti ai controlli, la possibilità di effettuare la preparazione contemporanea di più campioni.**