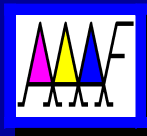


APAT



ARPAC

4° Convegno nazionale

FITOFARMACI E AMBIENTE
Ambiente Alimenti Salute

Napoli, 14 e 15 maggio 2003

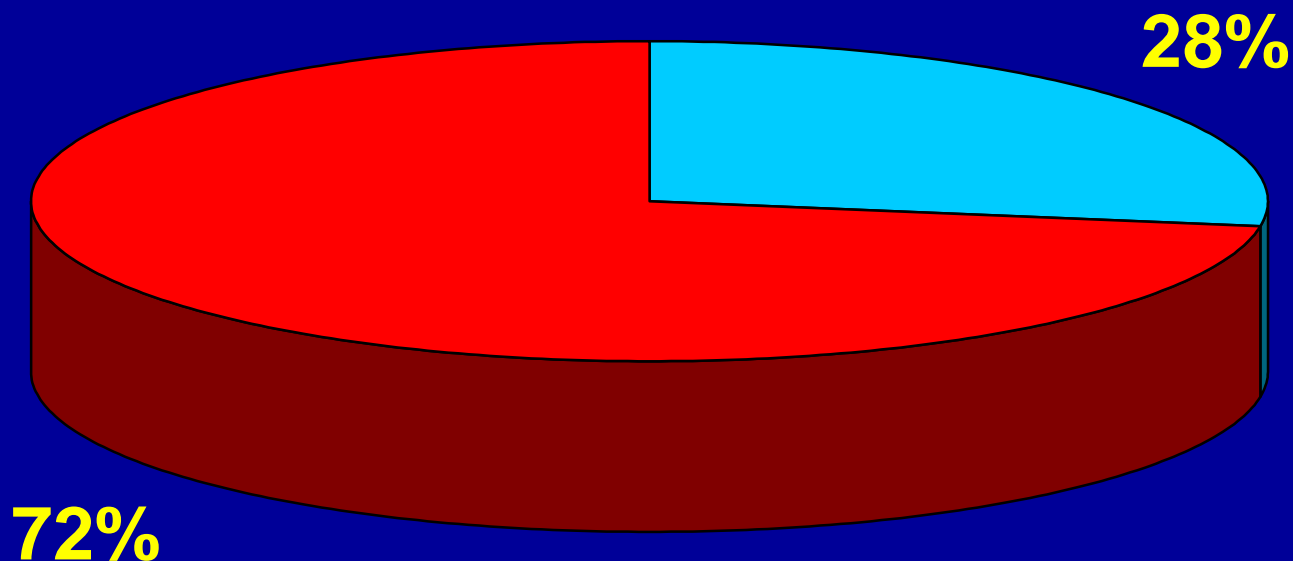
**Linee guida per un approccio semplificato
alla validazione dei metodi multiresiduo.
Applicazione al metodo per la ricerca dei
residui di fitofarmaci in matrici ambientali**

Alessandro Franchi

ARPA Toscana

Tecniche di analisi utilizzate nei laboratori delle agenzie (dati 1997)

Tecniche di estrazione liquido-liquido



Tecniche di estrazione liquido-solido



COMBINAZIONI DI TECNICHE

GC-NPD GC-ECD	21
GC-NPD GC-ECD GC-MS	18
GC-NPD GC-MS	5

TECNICHE SINGOLE

GC-NPD	13
GC-MS (FULL SCAN)	10
GC-ECD	9
GC-MS (SIM)	7
HPLC-DAD	6



Metodi "ufficiali" italiani per l'analisi di residui nelle acque

1. Determinazione di residui di prodotti fitosanitari.
Metodo per estrazione in fase solida C-18 e analisi gascromatografica con rivelatori selettivi.
In "Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano" Volume 2
Rapporti Istisan 00/14 Pt. 1 (2000).
2. Prodotti fitosanitari (antiparassitari, pesticidi)
Metodo IRSA 5060 (2003?).



Validazione metodo

APPROCCIO TEORICO

Tiene in considerazione tutte le possibili combinazioni fra:

- MATRICE
- RESIDUO
- LIVELLO DI CONCENTRAZIONE



Validazione metodo

APPROCCIO SEMPLIFICATO

Scelta di *target* di:

- MATRICE
- SOSTANZA ATTIVA
- LIVELLO DI CONCENTRAZIONE



Scelta di sostanze attive rappresentative (target)

- Sostanze attive riscontrate più comunemente
- Sostanze attive rappresentative di classi chimiche e gruppi funzionali
- Sostanze attive imposte da normativa
- Sostanze attive potenzialmente pericolose per la salute o per l'ambiente
- Sostanze attive rappresentative per S, Pv, Kow, pKa ecc.
- Sostanze attive selezionate per tecnica di analisi (GC, HPLC)

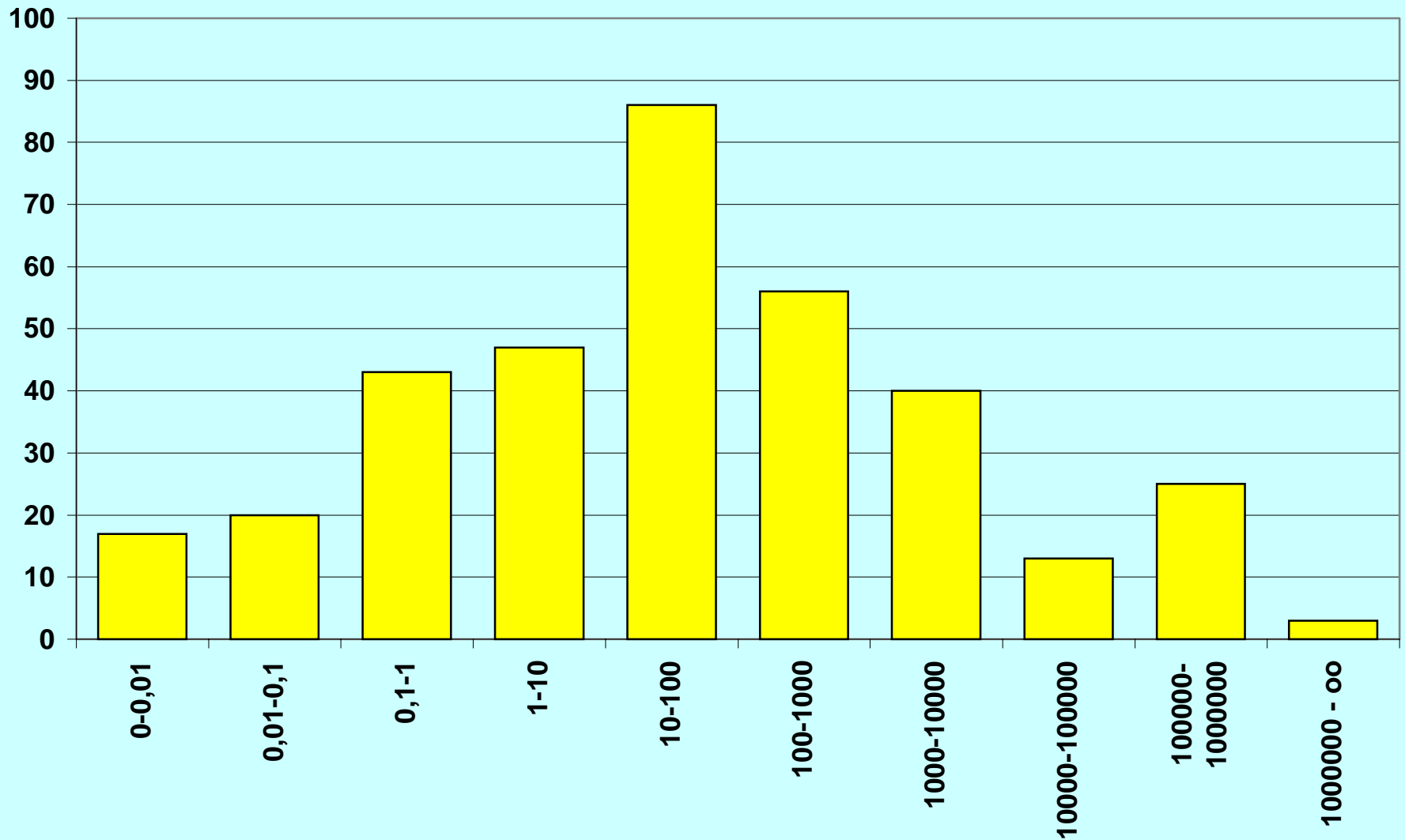


SS.AA. COMUNEMENTE RISCOstrate (Italia, 2000)

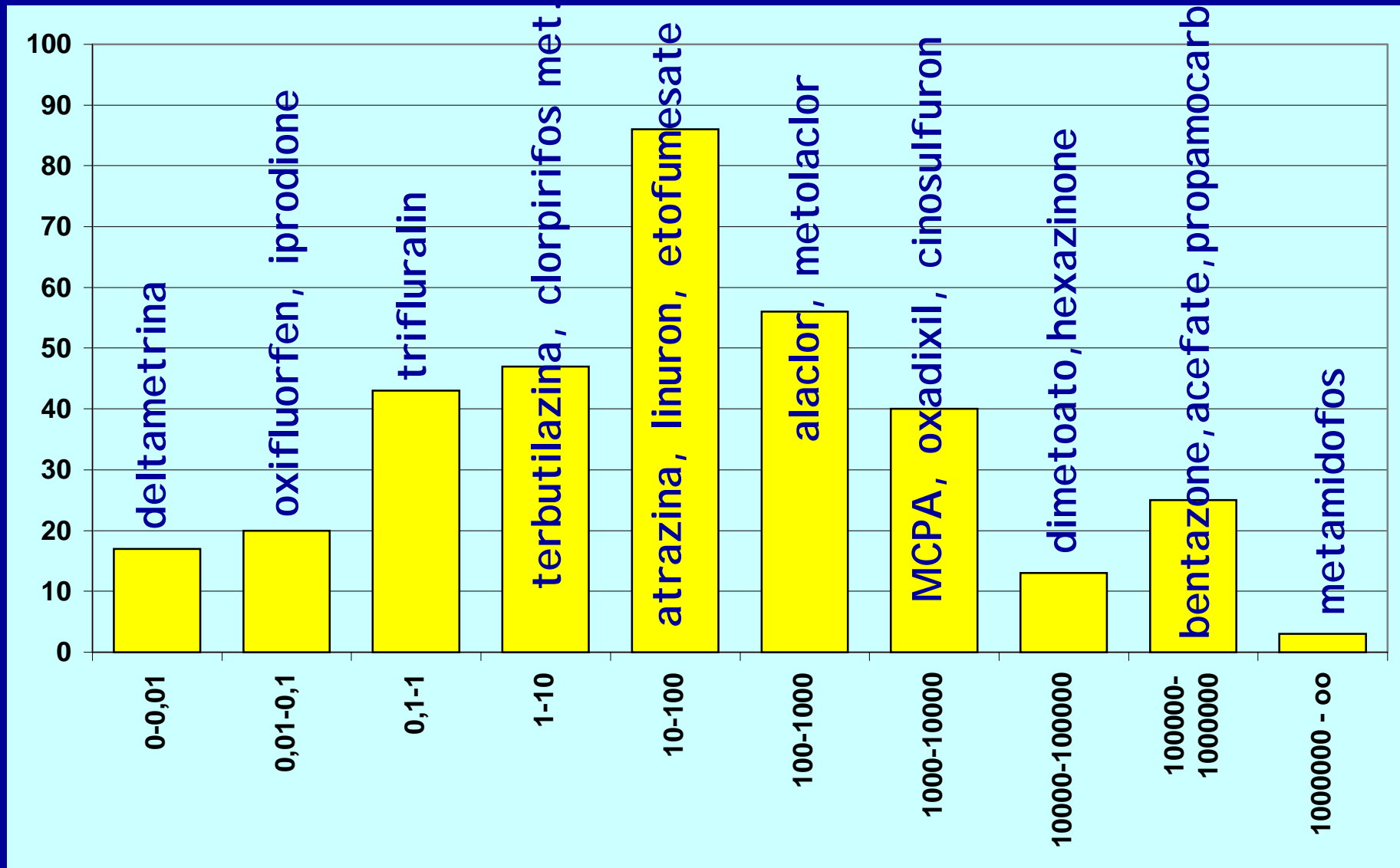
ERBICIDI		
TRIAZINICI	11	ATRAZINA, TERBUTILAZINA, SIMAZINA
TRIAZINICI METABOLITI	4	ATRAZ. DESETIL, TERBUT. DESETIL
TIOCARBAMMATI	5	MOLINATE
CLOROACETANILIDICI	4	ALACLOR, METOLACLOR
NITROANILINICI	3	PENDIMETALIN
UREICI	3	METOBROMURON, LINURON
AMIDICI	2	PROPIZAMIDE
ARILOSSIALCANOICI	2	MCPA
SULFONILUREE	2	CINOSULFURON
TRIAZINONICI	2	HESAZINONE
CHINOLINCARBOSSILICI	1	QUINCLORAC
DIFENILETERI	1	OXIFLUORFEN
URACILICI	1	BROMACILE
FUNGICIDI		
AZOLICI	5	PENCONAZOLO, TEBUCONAZOLO, MICLOBUTANIL
ACILANILINICI	4	METALAXIL, OXADIXIL
DICARBOSSIMIDICI	3	PROCIMIDONE
INSETTICIDI		
FOSFORGANICI	8	CLORPIRIFOS, DIMETOATO
CLORORGANICI	8	DIELDRIN, ENDOSULFAN
CARBAMMATI	2	PROPOXUR
PIRETROIDI	1	DELTAMETRINA



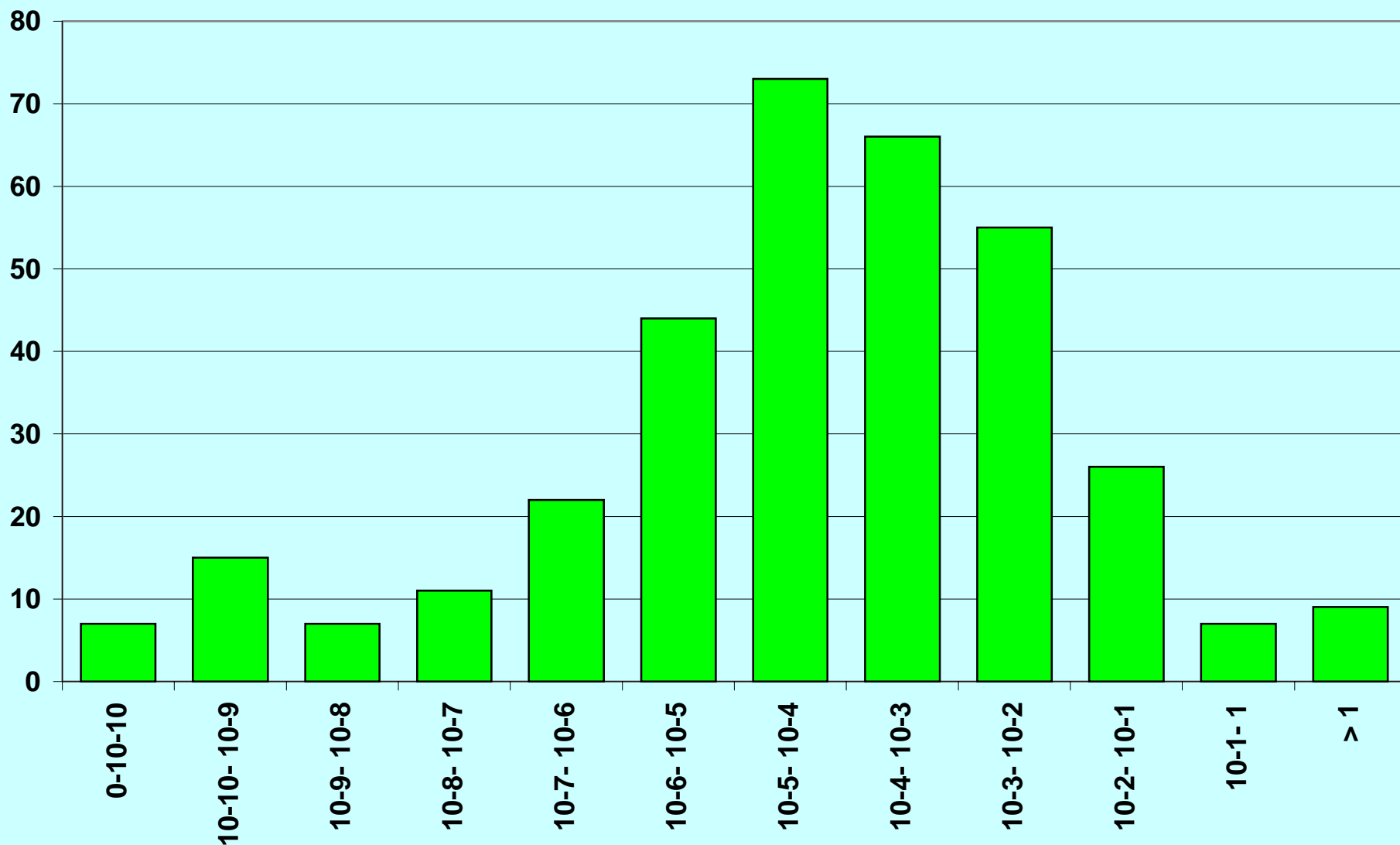
DI DISTRIBUZIONE SOLUBILITA' SS.AA.



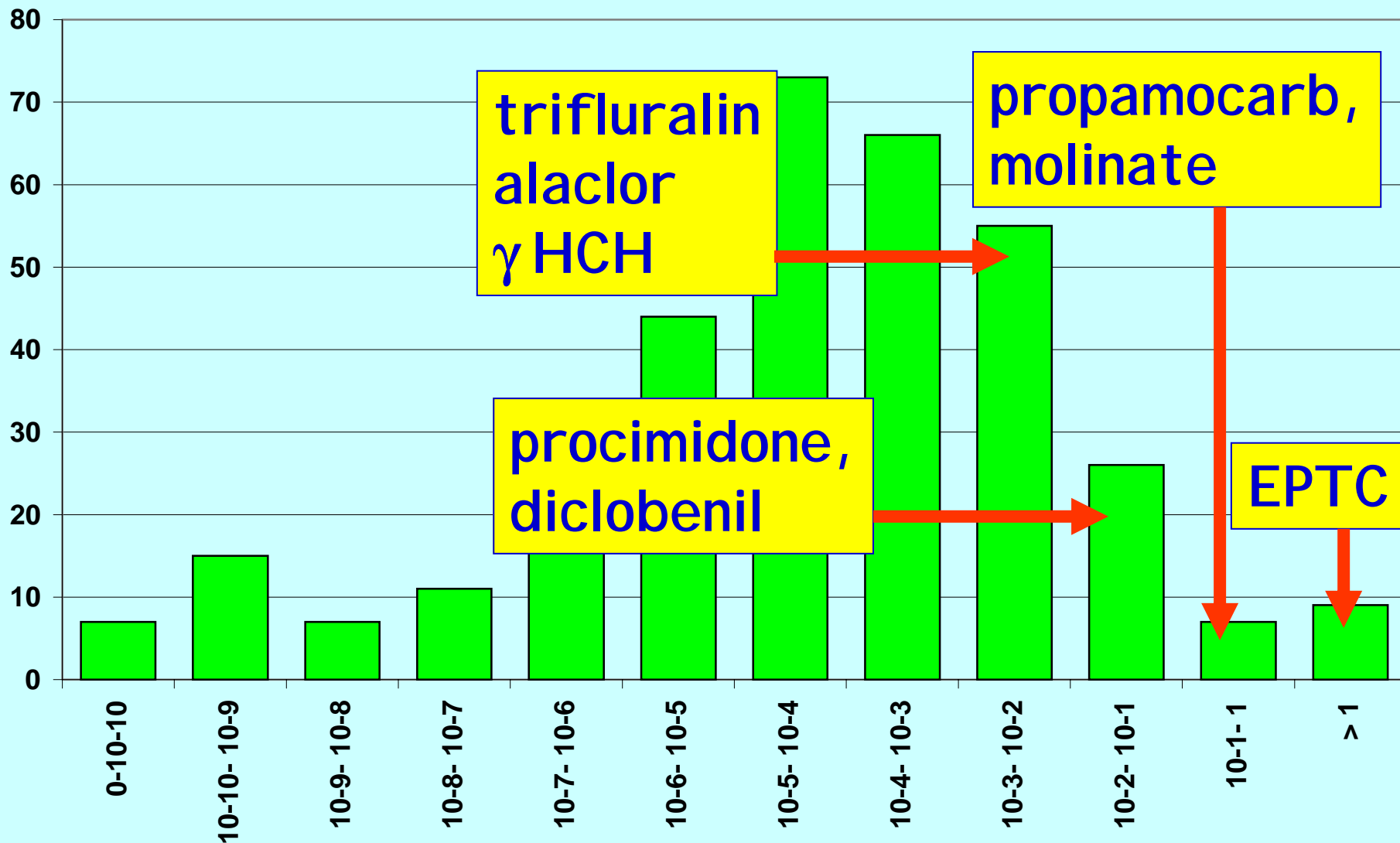
DI DISTRIBUZIONE SOLUBILITA' SS.AA.



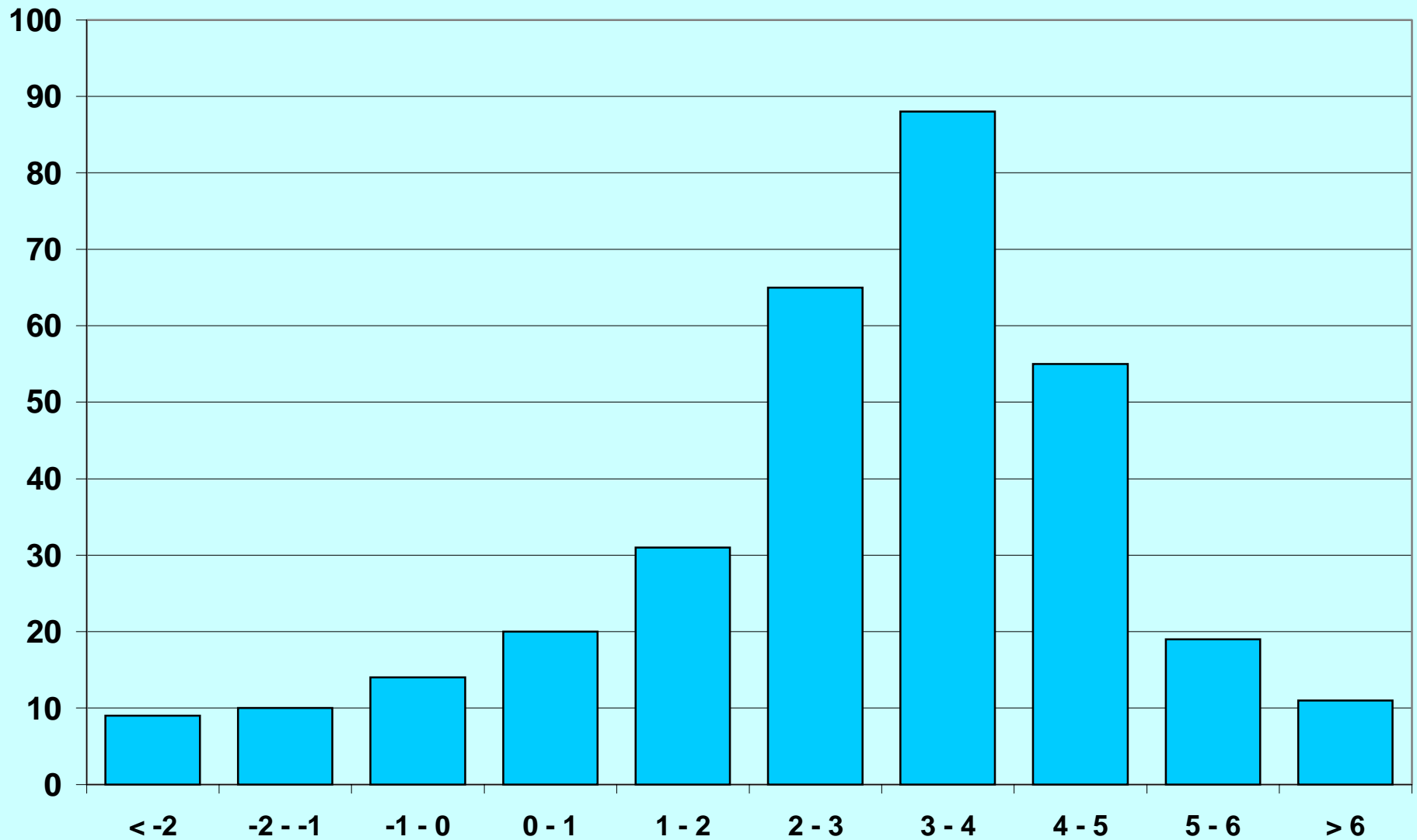
DISTRIBUZIONE PRESSIONE DI VAPORE SS.AA.



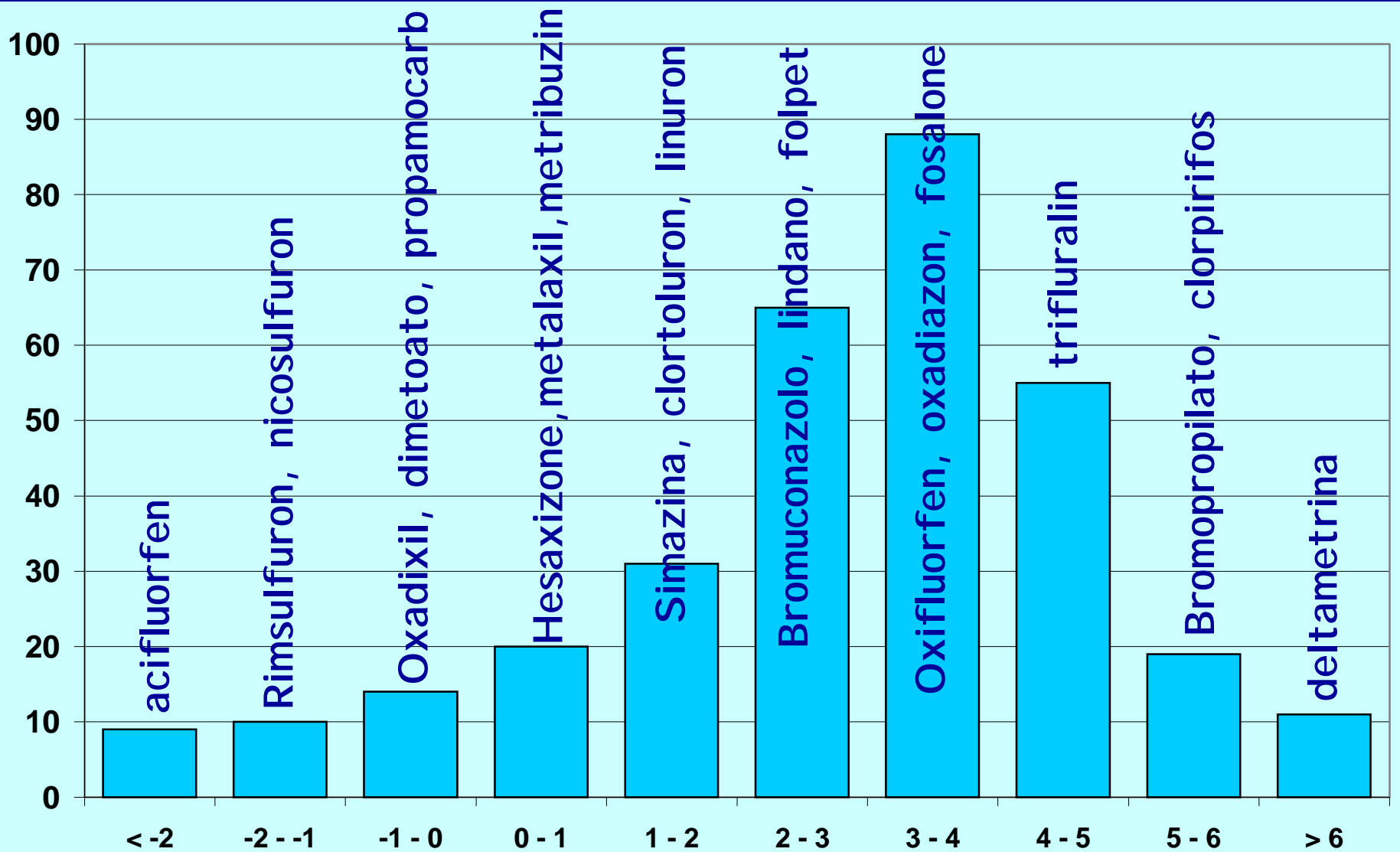
DISTRIBUZIONE PRESSIONE DI VAPORE SS.AA.



DISTRIBUZIONE Log Kow SS.AA.



DISTRIBUZIONE Log Kow SS.AA.



SS.AA. IMPOSTE DA NORMATIVA (D.Lgs 152/99)

ALDRIN, DIELDRIN, ENDRIN, ISODRIN

DDT

HCB, HCH

EPTACLORO

PARATION



SS.AA. IMPOSTE DA NORMATIVA

Sostanze pericolose prioritarie

Direttiva 2000/60/CE

Direttiva 76/464/CEE

133 sostanze

fra cui

33 fitofarmaci



33 sostanze pericolose prioritarie ad attività fitosanitaria

Alachlor	E	Foxim	I
Atrazina	E	Isoproturon	E
Bentazone	E	Linuron	E
Clorfenvinphos	I	MCPA	E
Cloridazon	E	Mecoprop	E
Clorpirifos	I	Metamidofos	I
Cumafos	I	Mevinfos	I
D, 2,4-	E	Monolinuron	E
Demeton	I	Ometoato	I
Diclorprop	E	Oxidemeton-metile	I
Dimetoato	I	Propanil	E
Disulfoton	I	Simazina	E
Diuron	E	T, 2,4,5-	E
Endosulfan	I	Triazophos	I
Eptacloro	I	Triclorfon	I
Esaclorobenzene	F	Trifluralin	E
Esaclorocicloesano (α , β , γ)	I		

A. Franchi



Scelta di livelli di concentrazione rappresentativi (target)

Range di concentrazioni valori medi nelle acque (2000)

Superficiali 0,00 – 0,75 (95°) ; Xm 0,14 µg/l

Sotterranee 0,00 – 0,35 (95°) ; Xm 0,06 µg/l

Livelli significativi 0,03 – 0,05 µg/l (LCL)

 0,10 µg/l (LMR)

Su quanti e quali livelli eseguire le prove ?

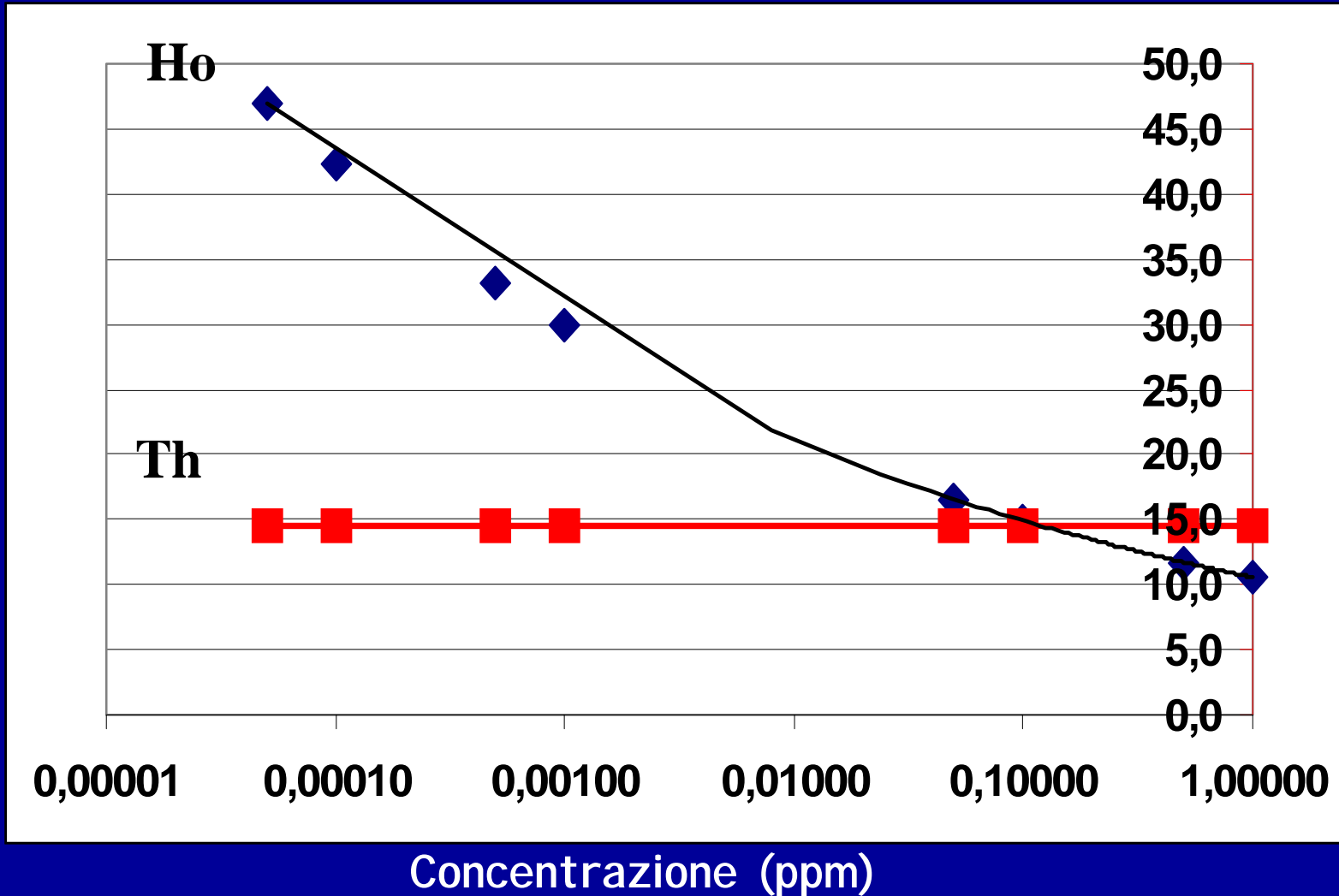
Quante prove condurre per livello ?

Validazione *in house* o validazione *interlaboratorio* ?



Valori target di precisione intralaboratorio

Funzione di Horwitz e di Thompson ($CV_r \% = 0,66 CV_R \%$)



CV_r %



Criteri di accettabilità della precisione

Horrat non significativamente > 1

$$\text{Horrat}_r = \frac{S_r}{\sigma_r}$$

Condizioni di
ripetibilità

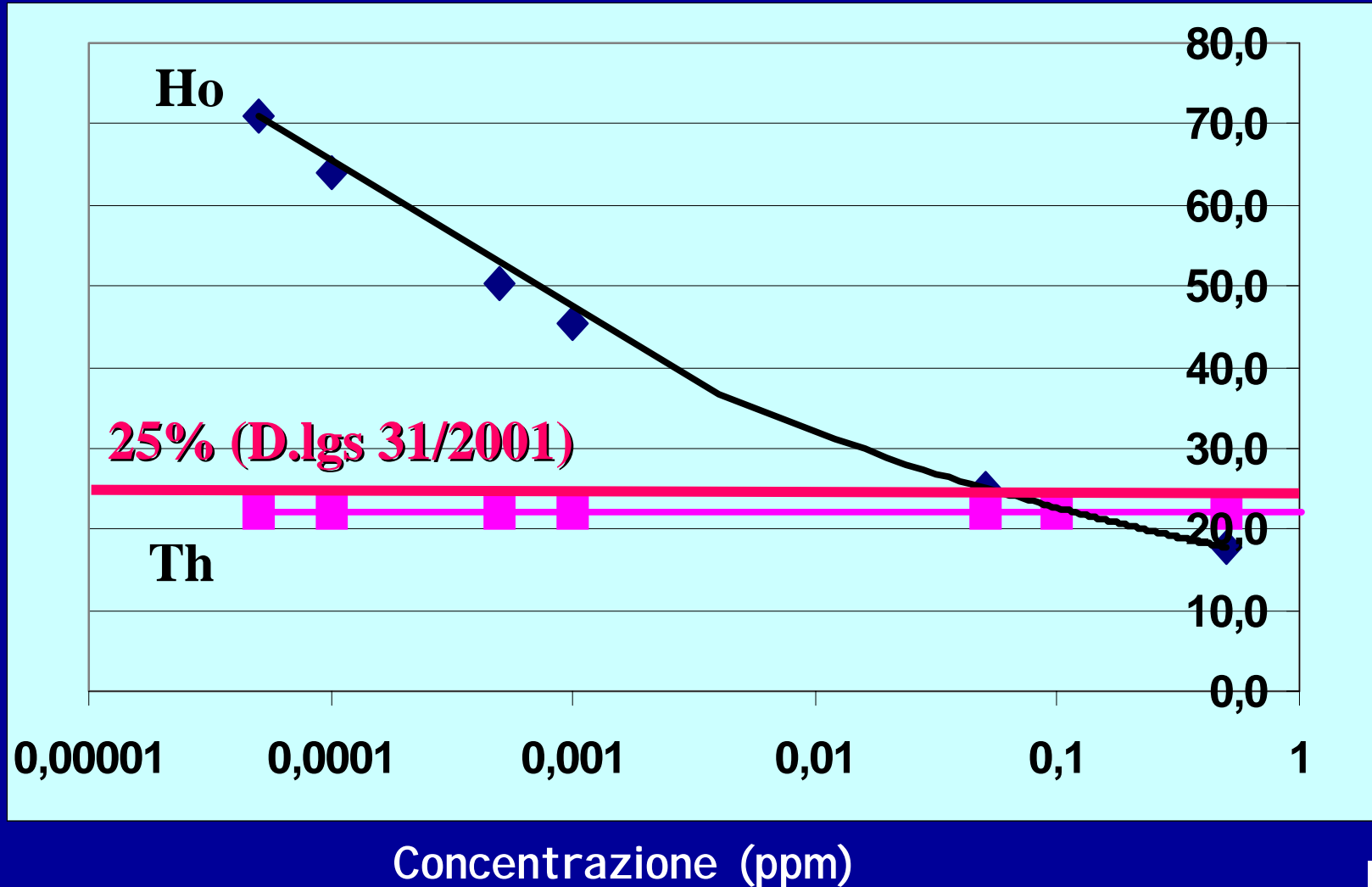
$$\text{Horrat}_R = \frac{S_R}{\sigma_R}$$

Condizioni di
riproducibilità



Valori target di precisione interlaboratorio

Funzione di Horwitz e di Thompson (CV_R %)

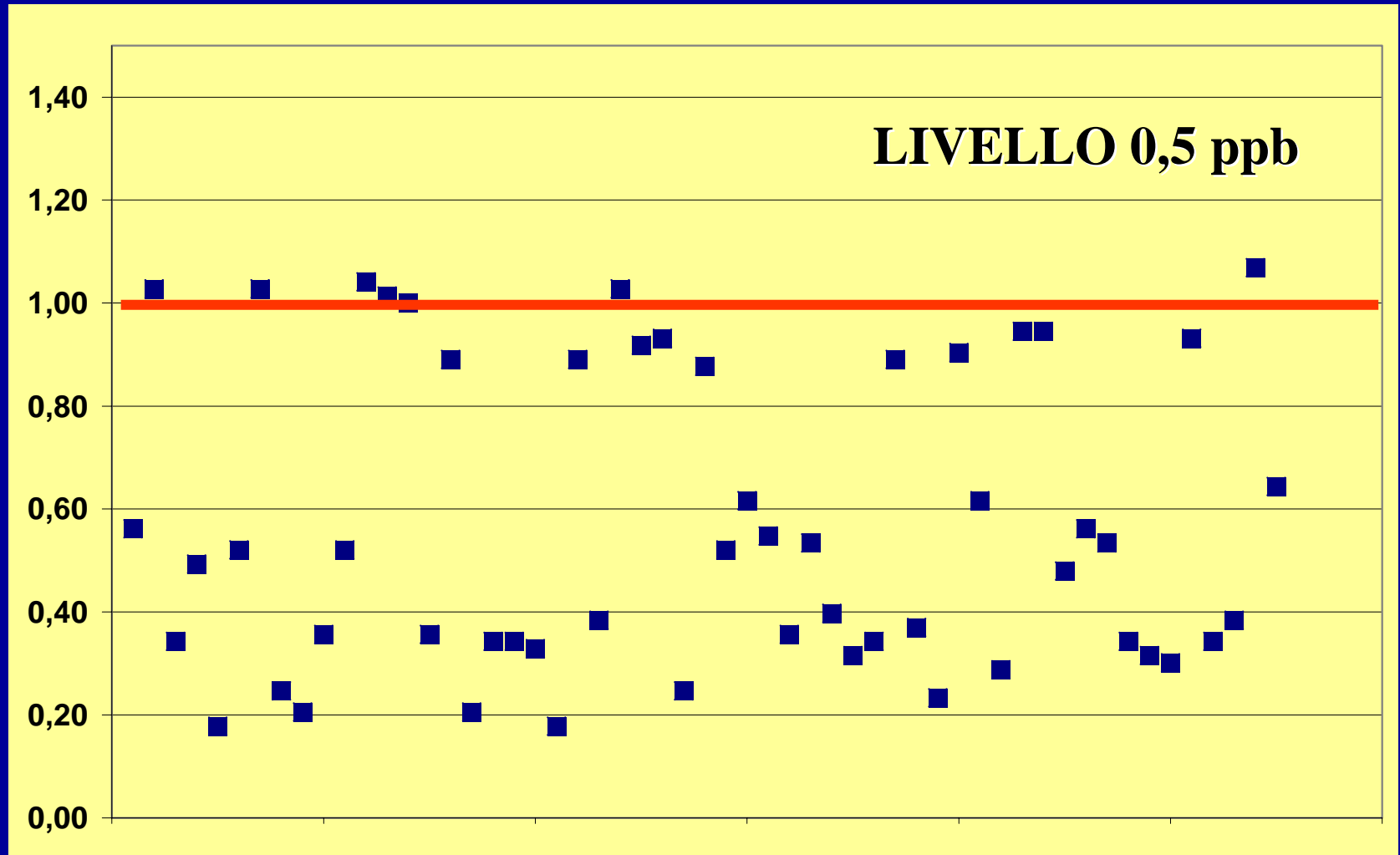


CVR %



Dati validazione ARPAT Firenze - precisione

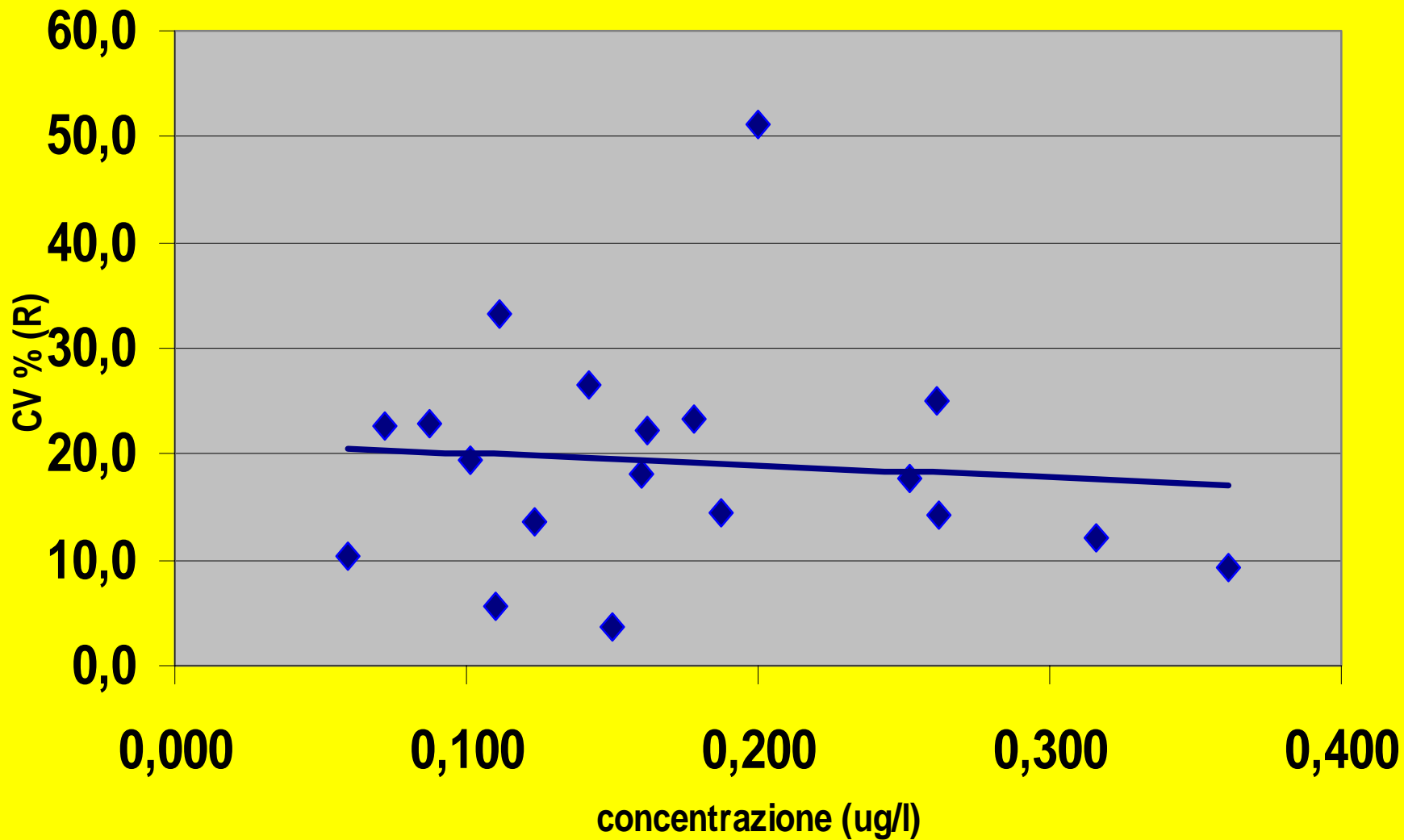
Horrat_r



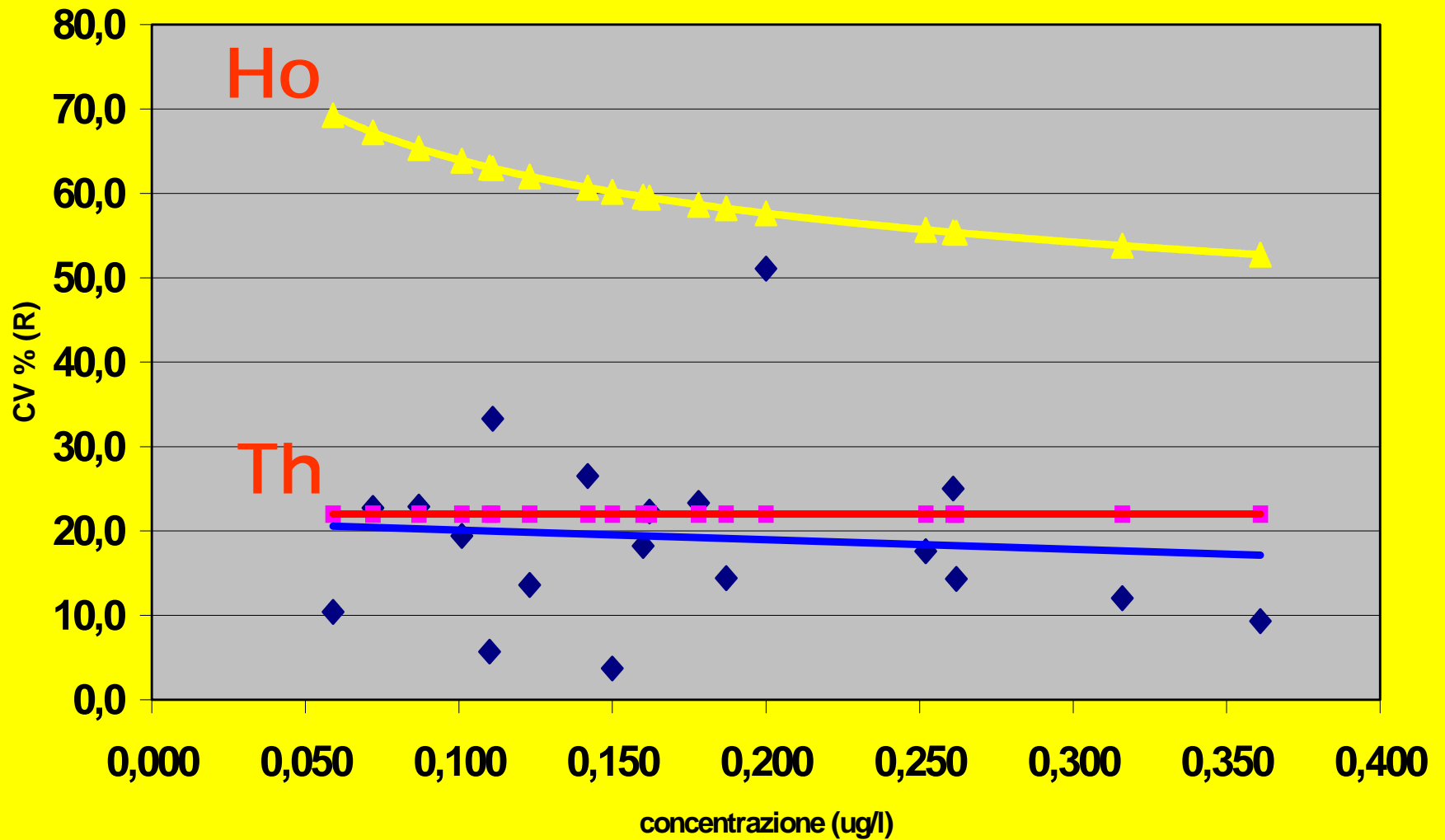
(dati F. Cioni e coll. 1999)



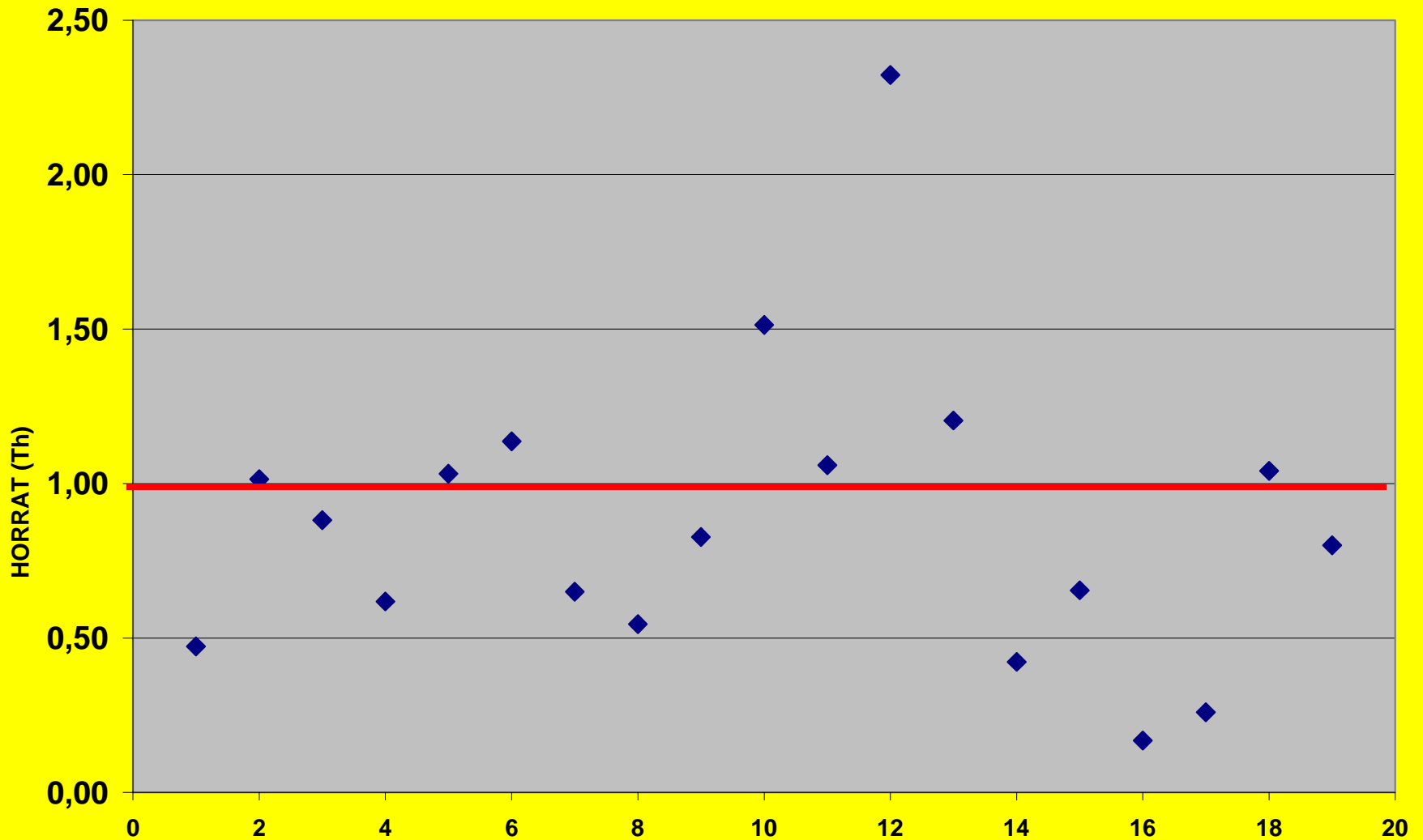
Risultati proficiency test sulle acque



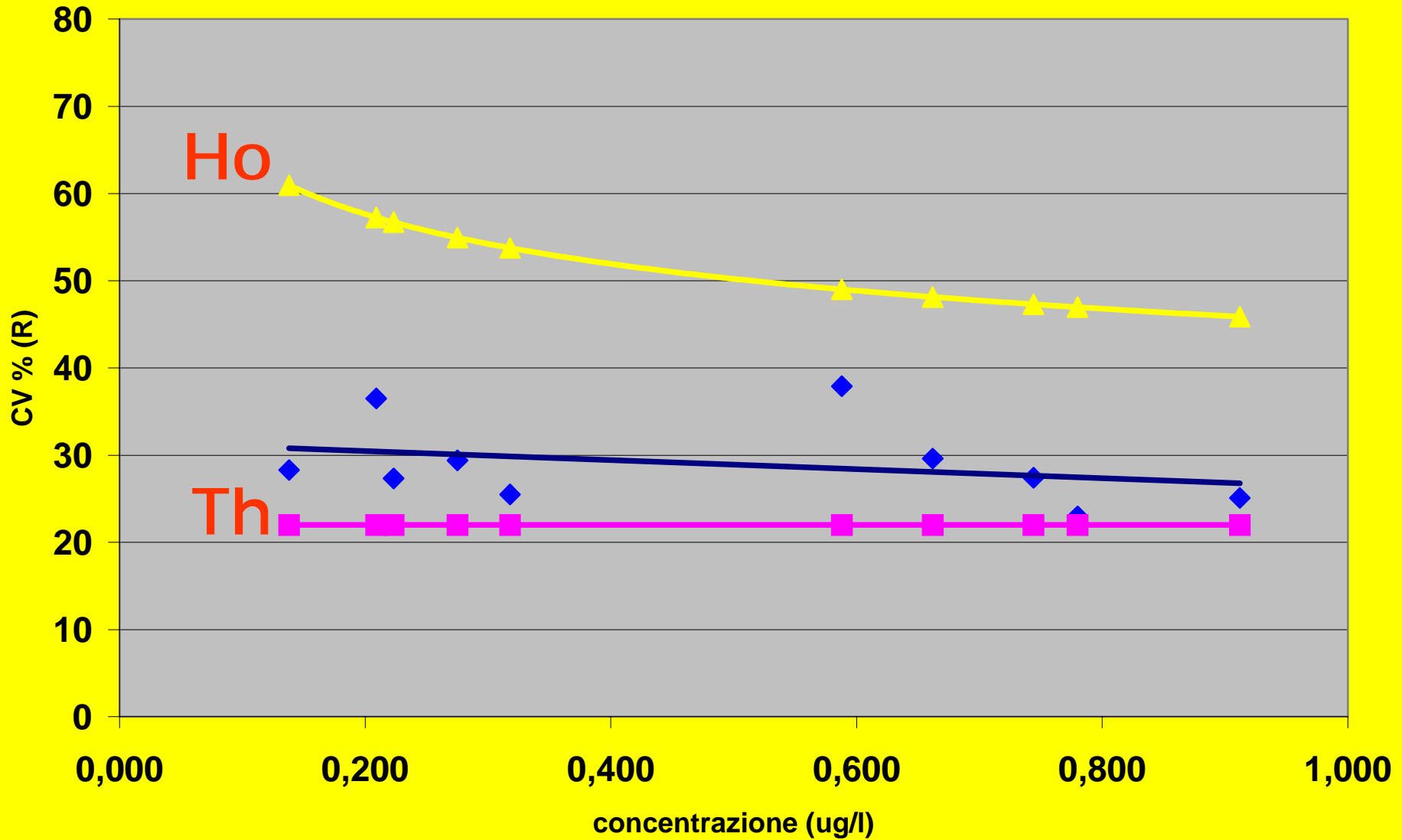
Risultati proficiency test sulle acque



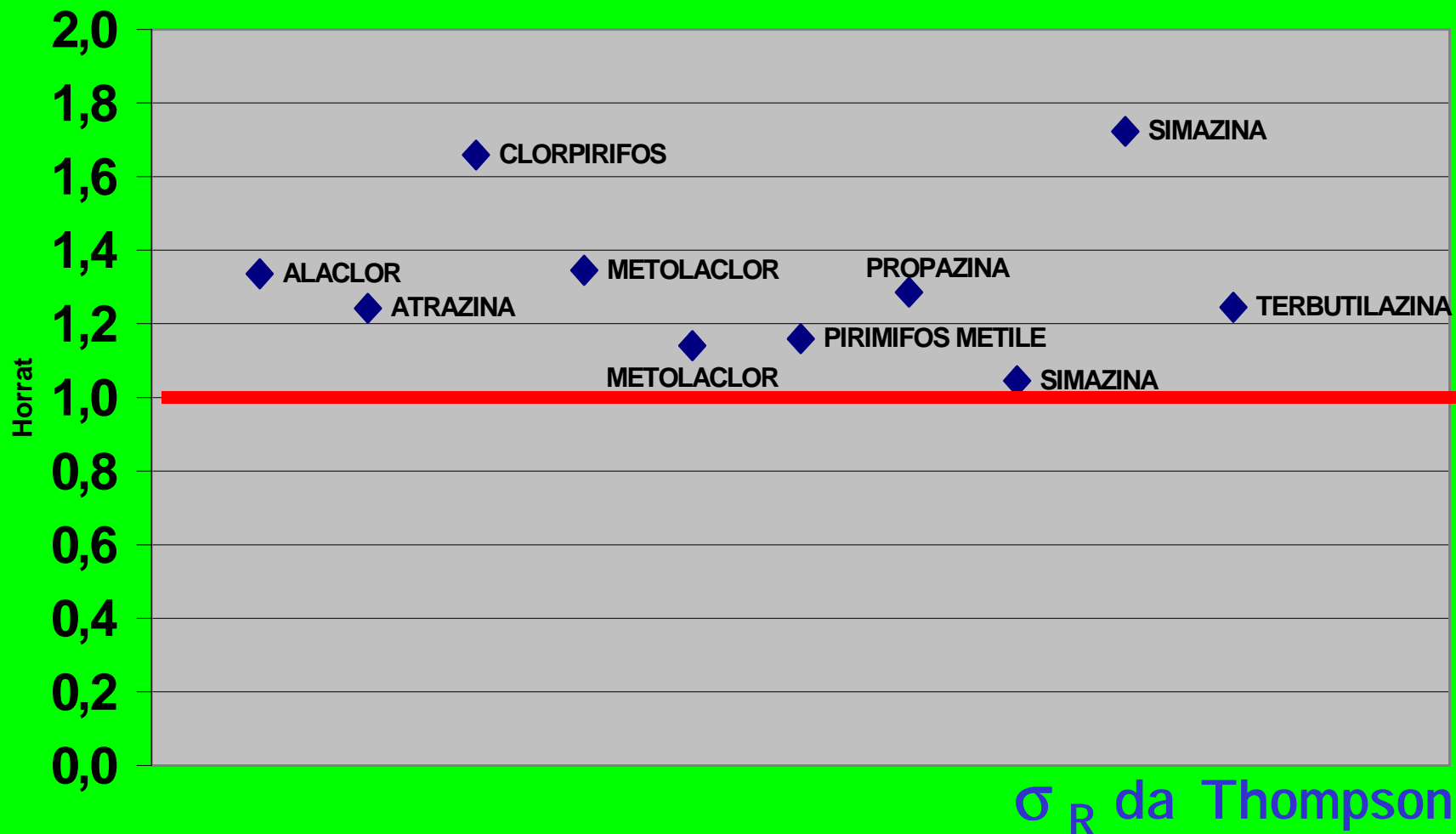
Risultati proficiency test sulle acque



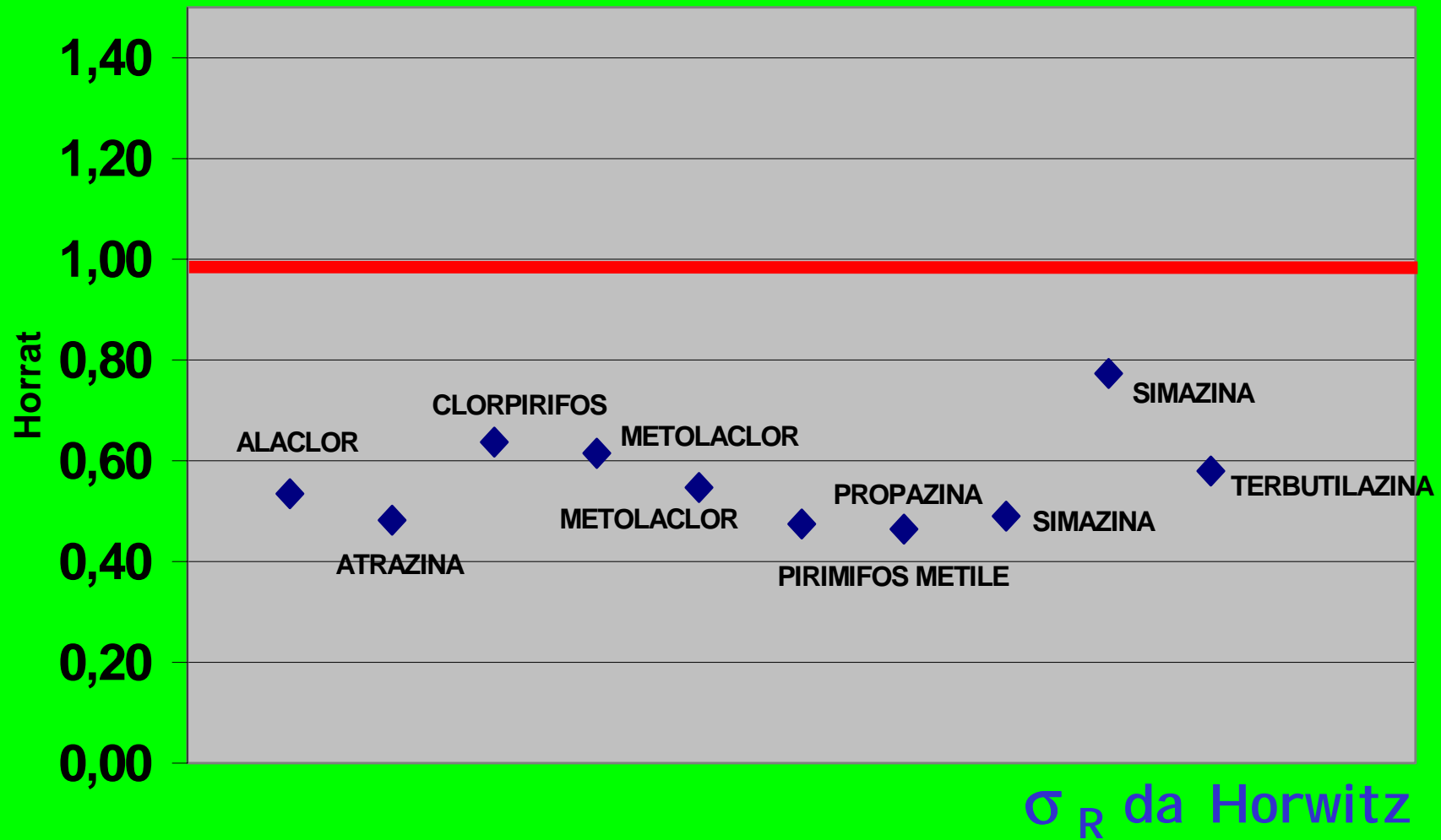
Risultati proficiency test sulle acque (2)



Risultati proficiency test sulle acque (2)



Risultati proficiency test sulle acque (2)



Risultati proficiency test sulle acque

sostanza attiva	Aus 1		Aus 2		Unichim		AAAF	
	livello	CV _R %	livello	CV _R %	livello	CV _R %	livello	CV _R %
ATRAZINA	0,059	10,4	0,387	7,9	0,223	27,3		
ATRAZINA-DESETIL	0,101	19,4	0,240	4,5				
BENTAZONE	0,162	22,3	0,096	49,0				
SIMAZINA	0,262	14,3	0,143	13,4	0,588	37,9	0,780	23,0
TERBUTILAZINA	0,160	18,2	0,072	17,8	0,744	27,4		
METOLACLOR	0,111	33,3			0,912	25,1	0,662	29,6
ALACLOR	0,178	23,3	0,199	13,7	0,275	29,4		
MECOPROP	0,361	9,3	0,194	27,7				
D, 2,4-	0,187	14,4	0,187	14,4				
LINURON	0,110	5,7	0,110	5,7				
HEXAZINONE	0,087	22,9	0,249	22,0				
METALAXIL	0,252	17,6	0,161	15,3				
n° laboratori (ca)	20		20		40		25	



Punti critici

- Esattezza (recupero)
- LOD - LOQ - LCL - DL
- Stima dell'incertezza
- Verifica performance del metodo (carte di controllo)
- Proficiency test (circuiti interlaboratorio)



Criteri di accettabilità dell'esattezza (recupero)

Recuperi accettabili

70 - 110 %

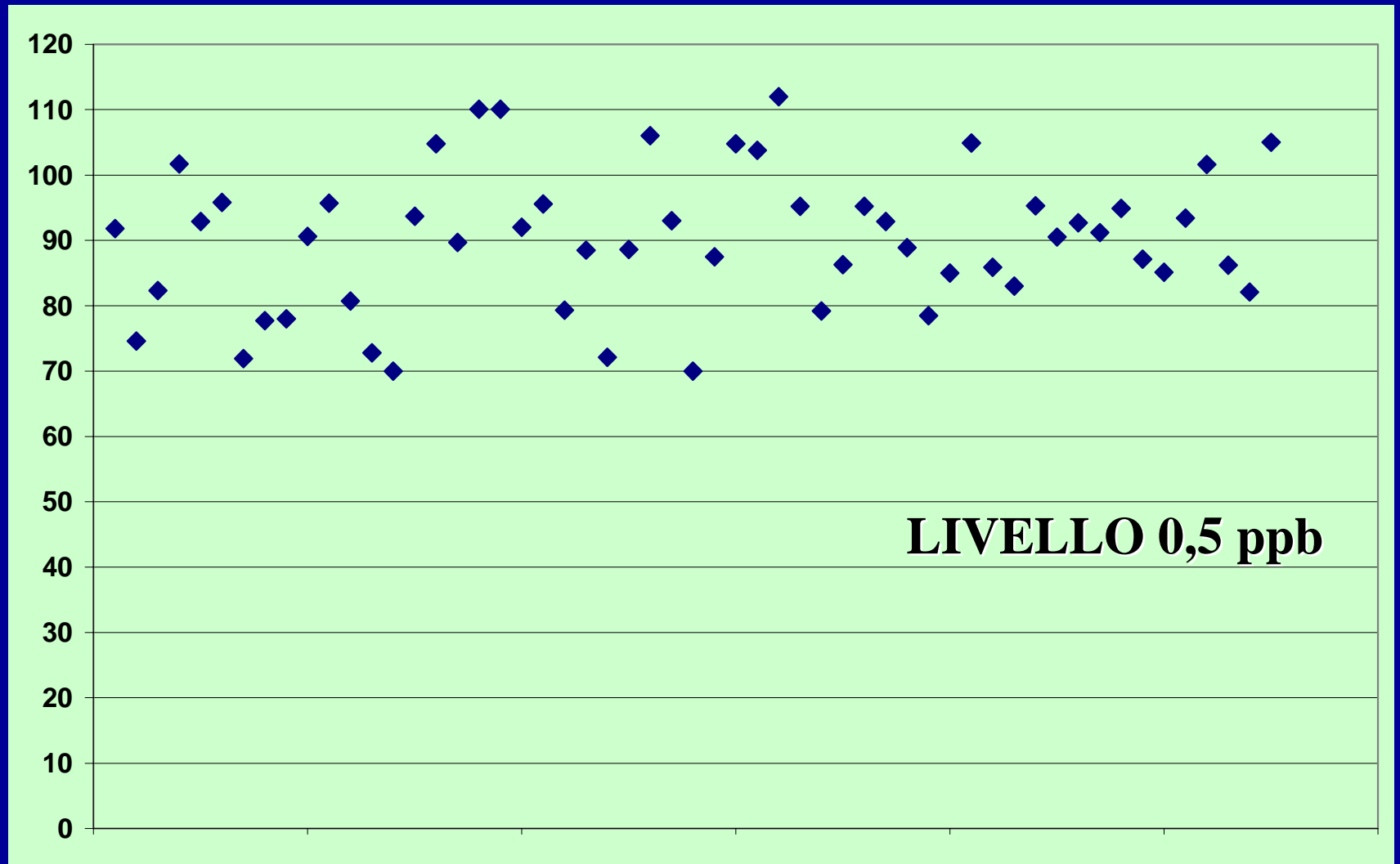
(75 - 125 % D.lgs 31/2001)

CORREGGERE O NON CORREGGERE IL RISULTATO
PER IL GRADO DI RECUPERO ?

?

Dati validazione ARPAT Firenze – esattezza

Recupero %



(dati F. Cioni e coll. 1999)



LOD – LOQ – LCL – DL

LOD	limite di rivelabilità
LOQ	limite di quantificazione (determinazione)
LCL	primo livello di calibrazione
DL	limite di decisione

Quale espressione del risultato per indicare l' "assenza" ?

< LOD < LOQ < LCL

Target LOQ / LCL = da $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ LMR / LR

(0,025 $\mu\text{g/l}$ D.lgs 31/2001)



Proposte standard di qualità per le s.p.p.

	2008	2015
Bentazone	1	0,1
D, 2,4-	1	0,1
Diclorprop	1	0,1
MCPA	1	0,1
Mecoprop	1	0,1
T, 2,4,5-	1	0,1

Diuron	0,2	0,02
Isoproturon	0,2	0,02
Linuron	0,2	0,02
Monolinuron	0,2	0,02
Simazina	0,2	0,02
Alachlor	0,1	0,03
Cloridazon	0,1	
Demeton	0,1	0,01
Dimetoato	0,1	0,01
Disulfoton	0,1	0,01
Foxim	0,1	0,01
Metamidofos	0,1	0,01

	2008	2015
Atrazina	0,05	0,01
Oxidemeton-metile	0,03	
Triazophos	0,03	0,005
Trifluralin	0,03	0,003
Cumafos	0,01	0,001
Esaclorocicloesano	0,01	0,001
Mevinfos	0,01	0,001
Ometoato	0,01	0,001
paration	0,01	0,001

Esaclorobenzene	0,003	
Clorfenvinphos	0,002	0,0003
Clorpirifos	0,001	0,0001
DDT	0,0002	2E-05
aldrin	0,0001	5E-05
dieldrin	0,0001	5E-05
Endosulfan	0,0001	1E-05
Eptacloro	0,0001	1E-05



INCERTEZZA DI MISURA

Approccio metrologico

INCERTEZZA DI CATEGORIA A

- misurata dai dati sperimentali

INCERTEZZA DI CATEGORIA B

- ricavata da dati e informazioni esterne alla sperimentazione
 - pesata
 - tolleranze strumenti
 - curva di taratura
 - incertezza materiale di riferim.
 - recupero

Approccio chimico classico

USO di $S_R =$ Scarto tipo di riproducibilità

- del metodo normato
- del circuito interlab
- del materiale di riferimento

- dedotta dalla funzione di Horwitz / Thompson



INCERTEZZA DI MISURA

INCERTEZZA COMBINATA $u = \sigma_{R Th}$

INCERTEZZA ESTESA $U = 2 * \sigma_{R Th}$

$$U = \pm 2 * 22\% C$$

C = concentrazione misurata



Confronto fra vari approcci di incertezza

tipo	sostanza	U%	conc. (ppb)
metrologico	atrazina	10-28	0,05-0,2
metrologico	atrazina	22	0,09
Thompson	tutte	44	< 120
proficiency test	≈ 25	9-88	0,05-1,0
proficiency test	atrazina	16-54	0,06-0,4



Limite di decisione (DL)

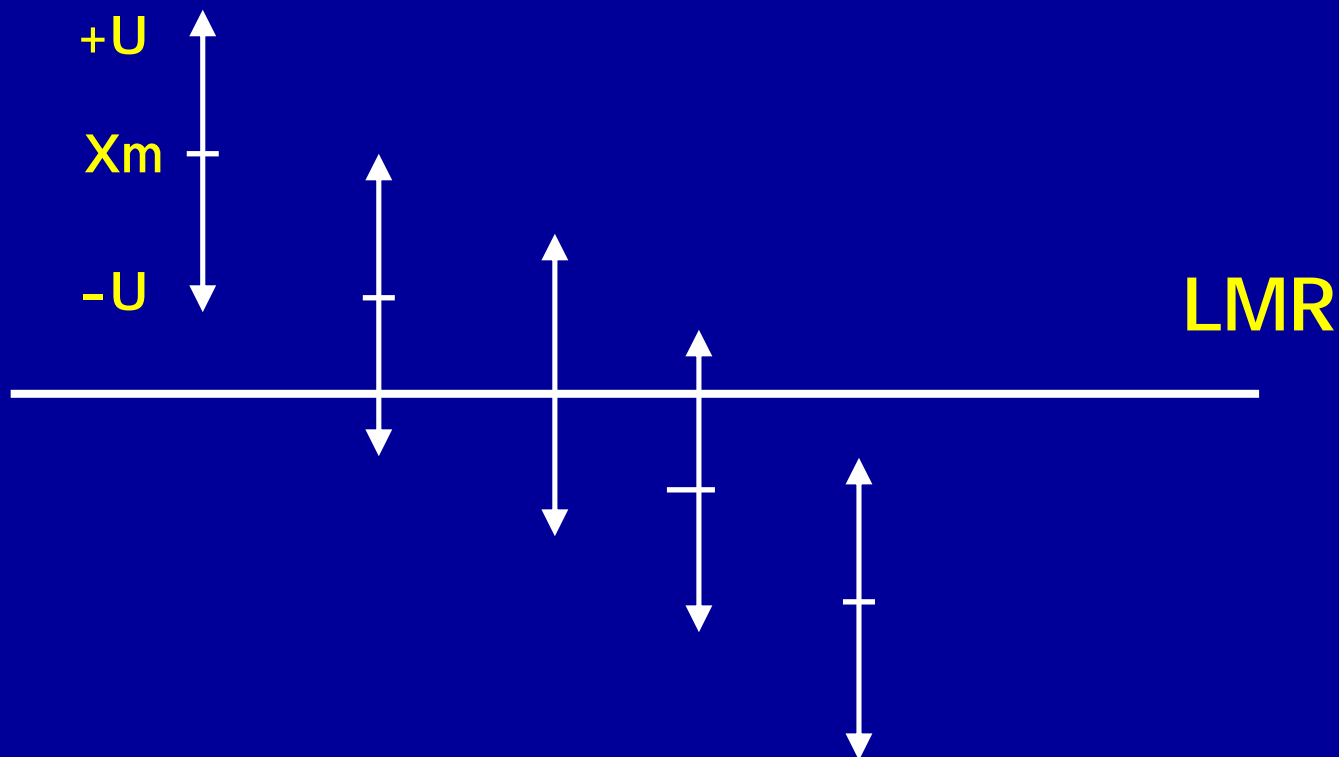
Definizione : limite oltre il quale è possibile concludere, con una probabilità di errore stabilita, che il campione è non conforme.

$$DL = LMR + 2 S_R$$

$$DL = LMR + 1,64 S_R$$



Criteri per l'interpretazione dei risultati ai fini della verifica di conformità



Alessandro Franchi

ARPAT Dipartimento di Firenze

Telefono 055-3206211

Fax 055-3206218

e-mail a.franchi@arpat.toscana.it

