



ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Diossine e PCB in alimenti e mangimi

**Presentazione dei risultati della prova interlaboratorio
Diossine – PCB 2010 organizzata dal EU-RL**

Gianfranco Diletti

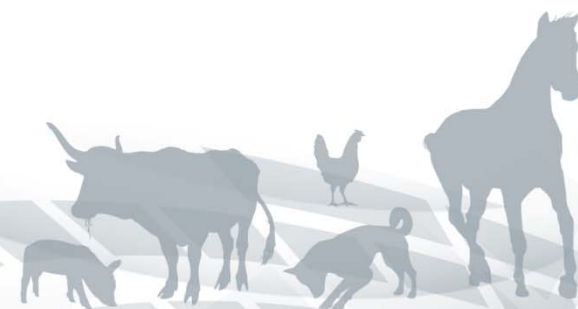
LNR Diossine e PCB nei mangimi e alimenti

Teramo, 10 Dicembre 2010



Argomenti presentati

- Preparazione del materiale
- Limiti legislativi
- Parametri esaminati
- Laboratori Partecipanti
- Valori assegnati
- Presentazione dei risultati
- Valutazione dei risultati
- Conclusioni



Preparazione del materiale

La prova interlaboratorio è stata organizzata dal Laboratorio Europeo di Riferimento (EU-RL) per le diossine e PCB nei mangimi e alimenti.

Due differenti matrici (grasso di latte e grasso di suino) sono stati preparati a partire da campioni non contaminati fortificati con gli analiti di interesse e aliquote da circa 15 grammi sono state inviate ai laboratori partecipanti.



Preparazione del materiale

Test di omogeneità

Il test è stato effettuato in accordo con quanto stabilito nel protocollo IUPAC (Technical Report, Pure Appl. Chem, Vol. 78, N. 1, pp 145-196, 2006) e nella norma ISO 13528:2005.

Sono stati analizzate in duplicato 10 aliquote, l'analisi statistica è stata effettuata per:

- WHO-PCDD/F-TEQ
- WHO-PCB-TEQ
- Somma dei 6 PCB indicatori
- Singoli congeneri di PCDD/F e PCB

I materiali sono risultati essere sufficientemente omogenei



Limiti legislativi

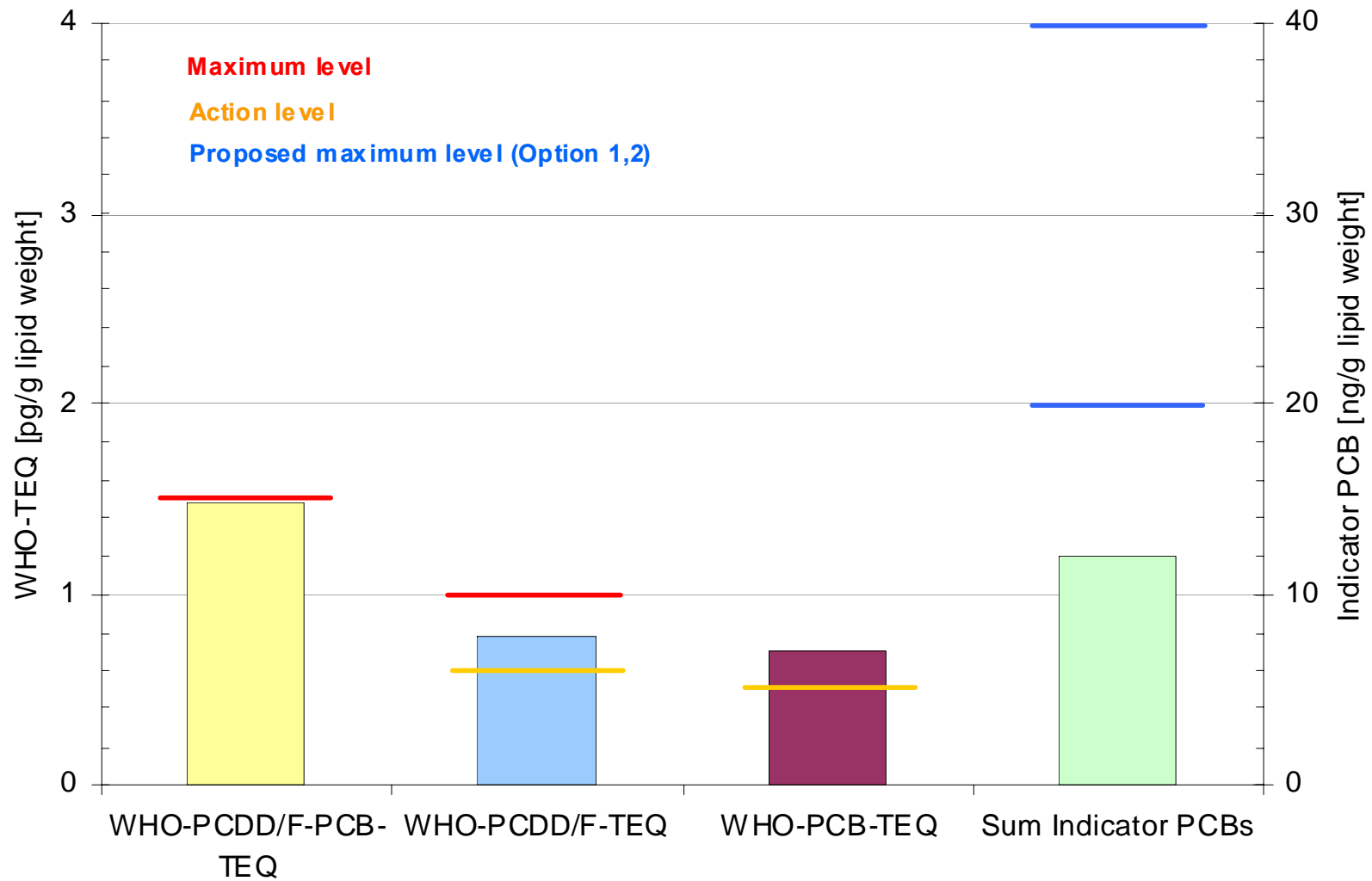
Grasso suino e Burro

Regolamento (CE) 1881/2006 e Raccomandazione 2006/88/CE

	Limite massimo		Limite d'azione	
	Grasso suino	Burro	Grasso suino	Burro
WHO-PCDD/F-PCB-TEQ (pg/g grasso)	1,5	6,0		
WHO-PCDD/F-TEQ (pg/g grasso)	1,0	3,0	0,6	2,0
WHO-PCB-TEQ (pg/g grasso)			0,5	2,0
PCB somma 6 indicatori (ng/g grasso)	40/20	40/25		

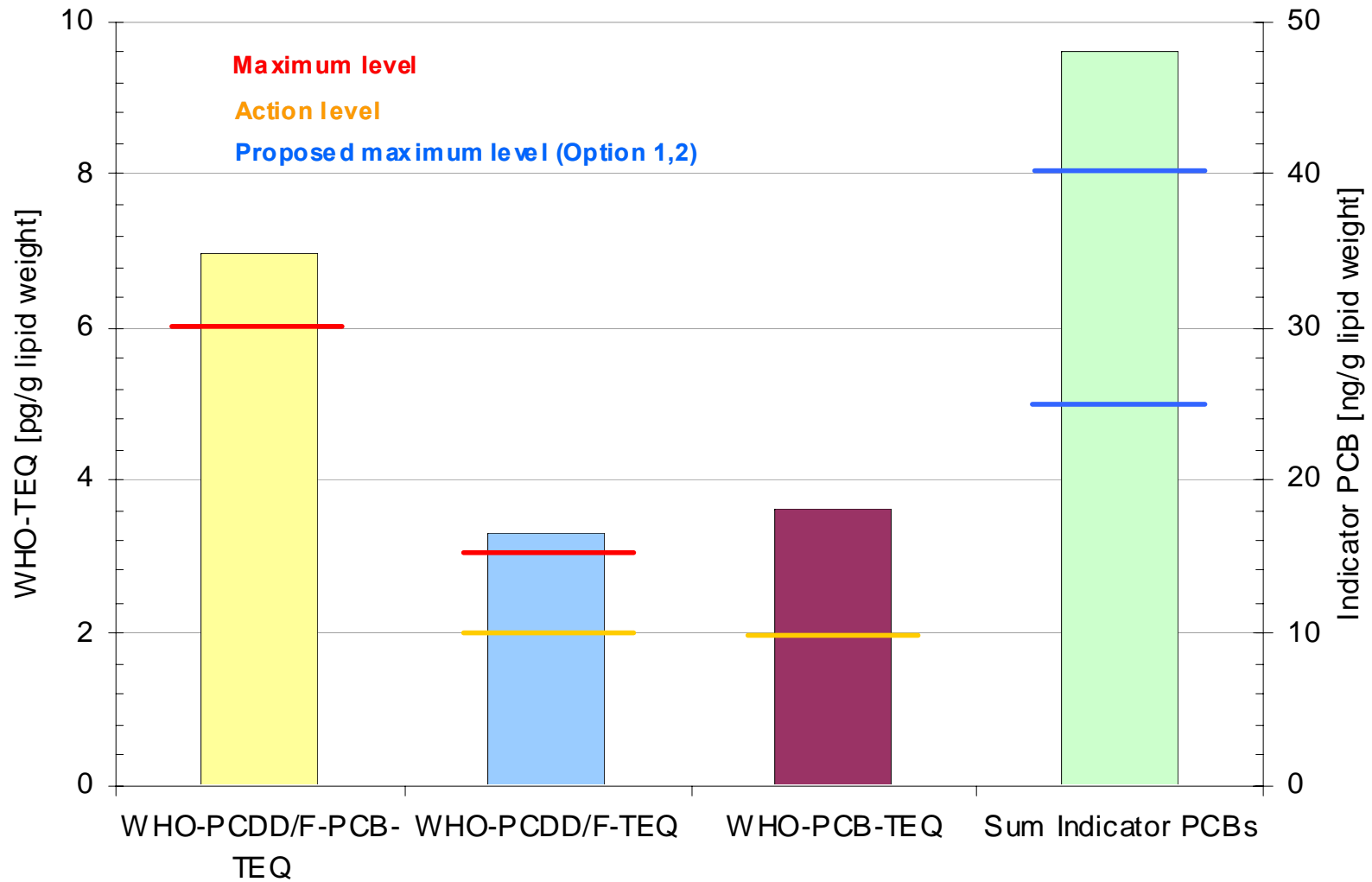
Limiti legislativi

Grasso suino



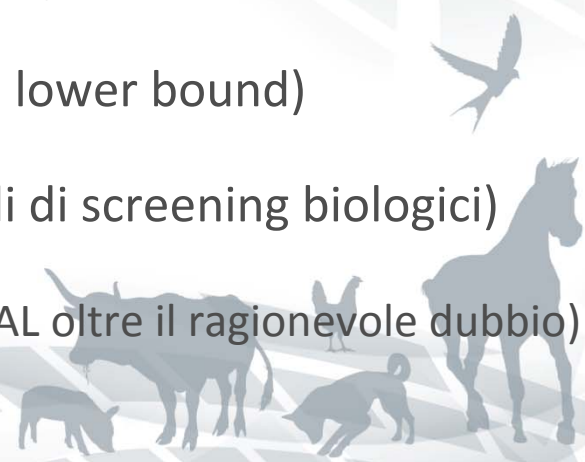
Limiti legislativi

Burro



Parametri esaminati

Ai partecipanti è stato richiesto di determinare i seguenti analiti:

- ∅ 17 PCDD/F 2,3,7,8-clorosostituiti
 - ∅ 12 PCB diossina-simili
 - ∅ 6 PCB indicatori (PCB-28, 52, 101, 138, 153, 180)
 - ∅ WHO-PCDD/F-TEQ (upper, middle e lower bound)
 - ∅ WHO-DL-PCB-TEQ (upper, middle e lower bound)
 - ∅ WHO- PCDD/F- DL-PCB-TEQ (upper, middle e lower bound)
 - ∅ PCDD/F-TEQ, PCB-TEQ e TEQ-totale (metodi di screening biologici)
 - ∅ Valutazione del risultato analitico (> ML e/o AL oltre il ragionevole dubbio)
- 

Laboratori partecipanti

Alla prova interlaboratorio hanno partecipato i Laboratori Nazionali di Riferimento (NRL) e i Laboratori Ufficiali (OFL) che sono deputati al controllo di PCDD/F e PCB in alimenti e mangimi.

In totale **85 laboratori** hanno fornito almeno un risultato;

Metodi chimico-fisici (GC/ECD, GC/MS):

- **49 laboratori** hanno riportato risultati per PCDD/F e DL-PCB
- **73 laboratori** hanno riportato risultati per NDL-PCBs

Metodi bioanalitici:

- **9 laboratori** hanno riportato risultati utilizzando il CALUX



Laboratori partecipanti

Partecipazione NRL:

- **28 NRL** in rappresentanza di 26 stati membri dell'UE

Partecipazione di laboratori ufficiali (OFL):

- **53 OFL** da 8 stati membri

EU-RL for Dioxins and PCBs:

- Gruppo GC/HRMS (CVUA)
- Gruppo Bioanalytical screening methods



Laboratori partecipanti per l'Italia

Partecipazione NRL:

IZS della Sardegna - Sassari

IZS della Sicilia - Palermo

IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino

IZS delle Venezie - Padova

IZS dell'Umbria e delle Marche - Ancona

IZS della Lombardia e dell'Emilia-Romagna - Bologna

IZS della Lombardia e dell'Emilia-Romagna - Brescia

IZS del Lazio e Toscana - Roma

IZS dell'Abruzzo e del Molise - Teramo

Istituto Superiore di Sanità - Roma





Determinazione dei valori assegnati

La determinazione dei valori assegnati è stata effettuata in accordo con quanto stabilito nel protocollo IUPAC (Technical Report, Pure Appl. Chem, Vol. 78, N. 1, pp 145-196, 2006) e nella norma ISO 13528:2005, stimando i valori assegnati come valori di consenso dei risultati forniti da tutti i partecipanti che hanno impiegato metodi GC-MS e GC-ECD.



Determinazione dei valori assegnati

Sono stati considerati “**outlier**” e quindi rimossi, quei valori al di fuori del $\pm 50\%$ della mediana di tutti i risultati riportati;

è stata valutata la **distribuzione** dei risultati rimasti;

è stata calcolata la **media robusta** di Huber e la **deviazione standard**;

per i singoli congeneri, il valore assegnato è stato calcolato solo se 2/3 dei risultati erano superiori al limite di quantificazione.





Determinazione dei valori assegnati

Per il campione di **burro** sono stati calcolati i valori assegnati per **tutti i parametri** considerati.

Per il campione di **grasso suino** non sono stati calcolati i valori assegnati per:

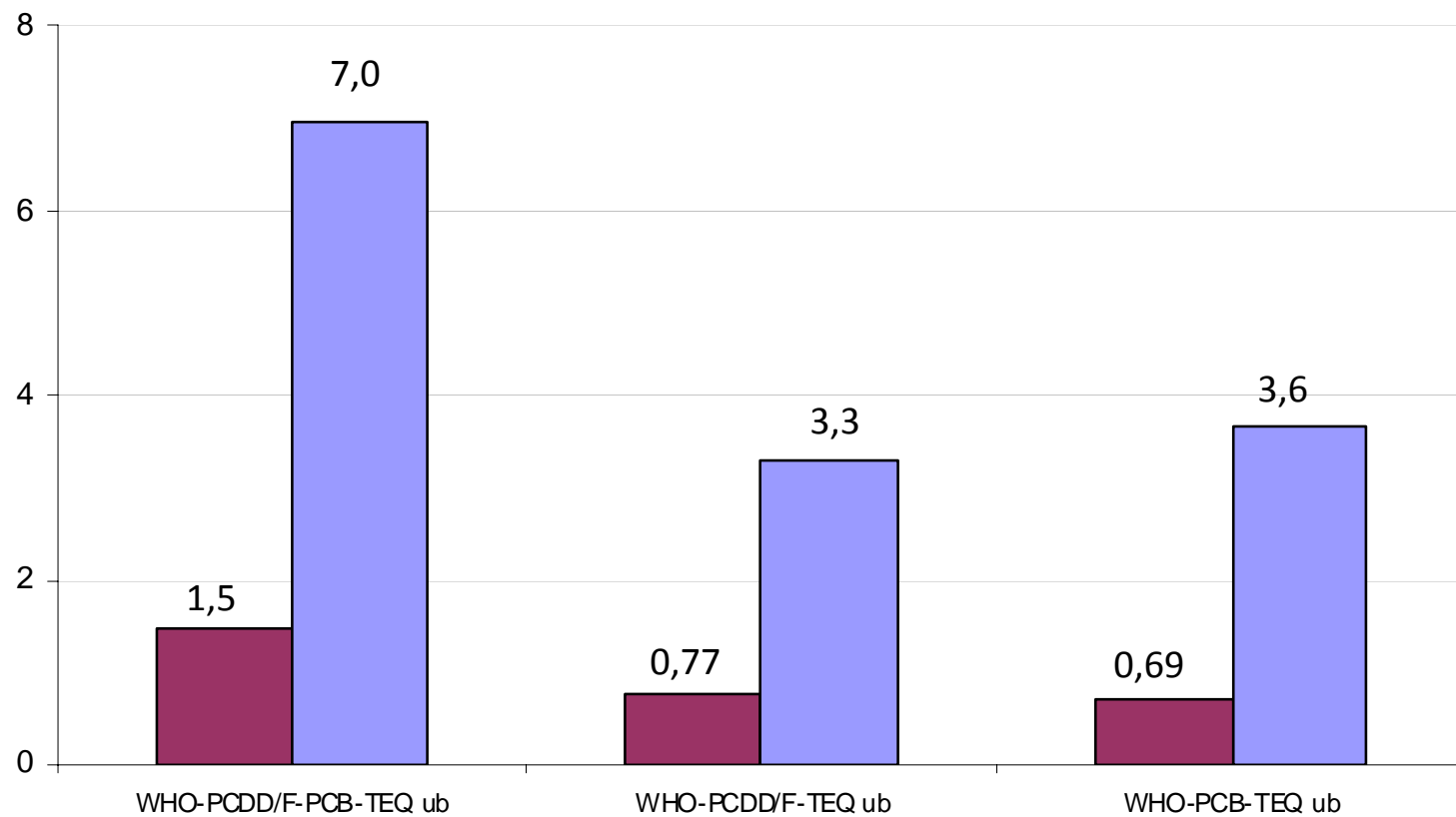
- **PCB-169**
- **2,3,7,8-TCDD**
- **1,2,3,7,8,9-HxCDF**



Valori assegnati

- Burro
- Grasso suino

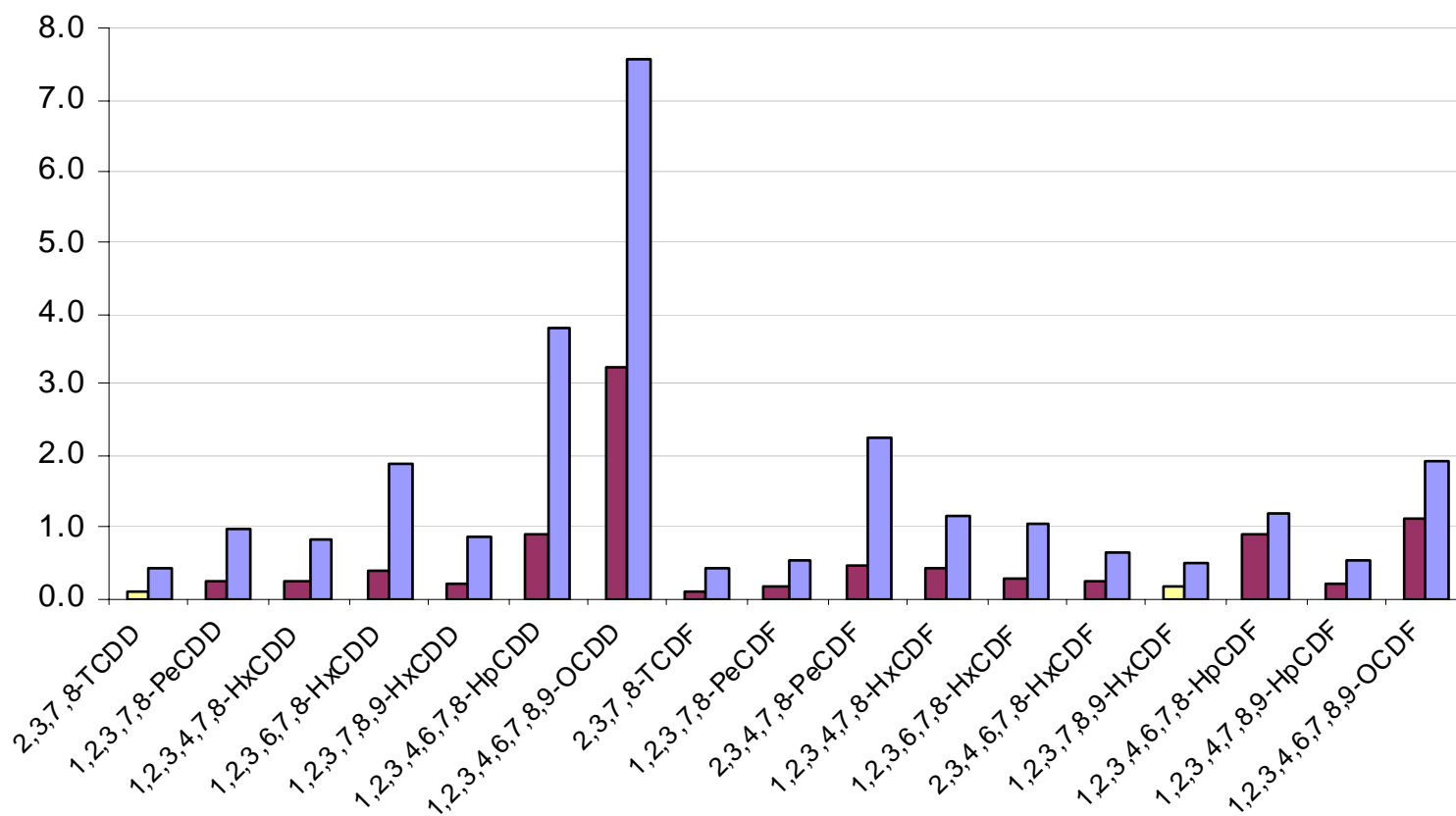
WHO-TEQ (upper bound)



Valori assegnati

■ Burro
■ Grasso suino

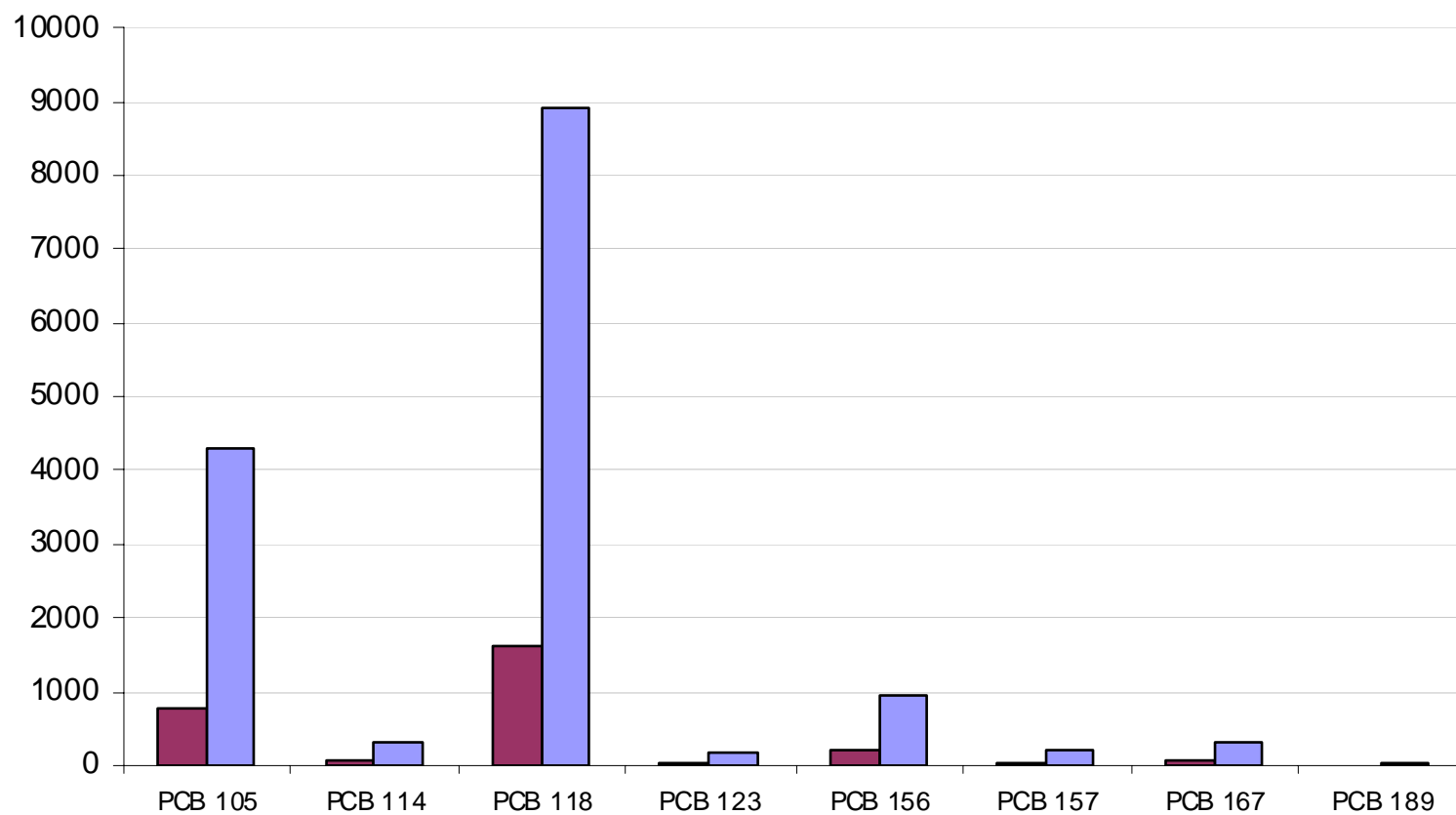
Congeneri PCDD/F



Valori assegnati

■ Burro
■ Grasso suino

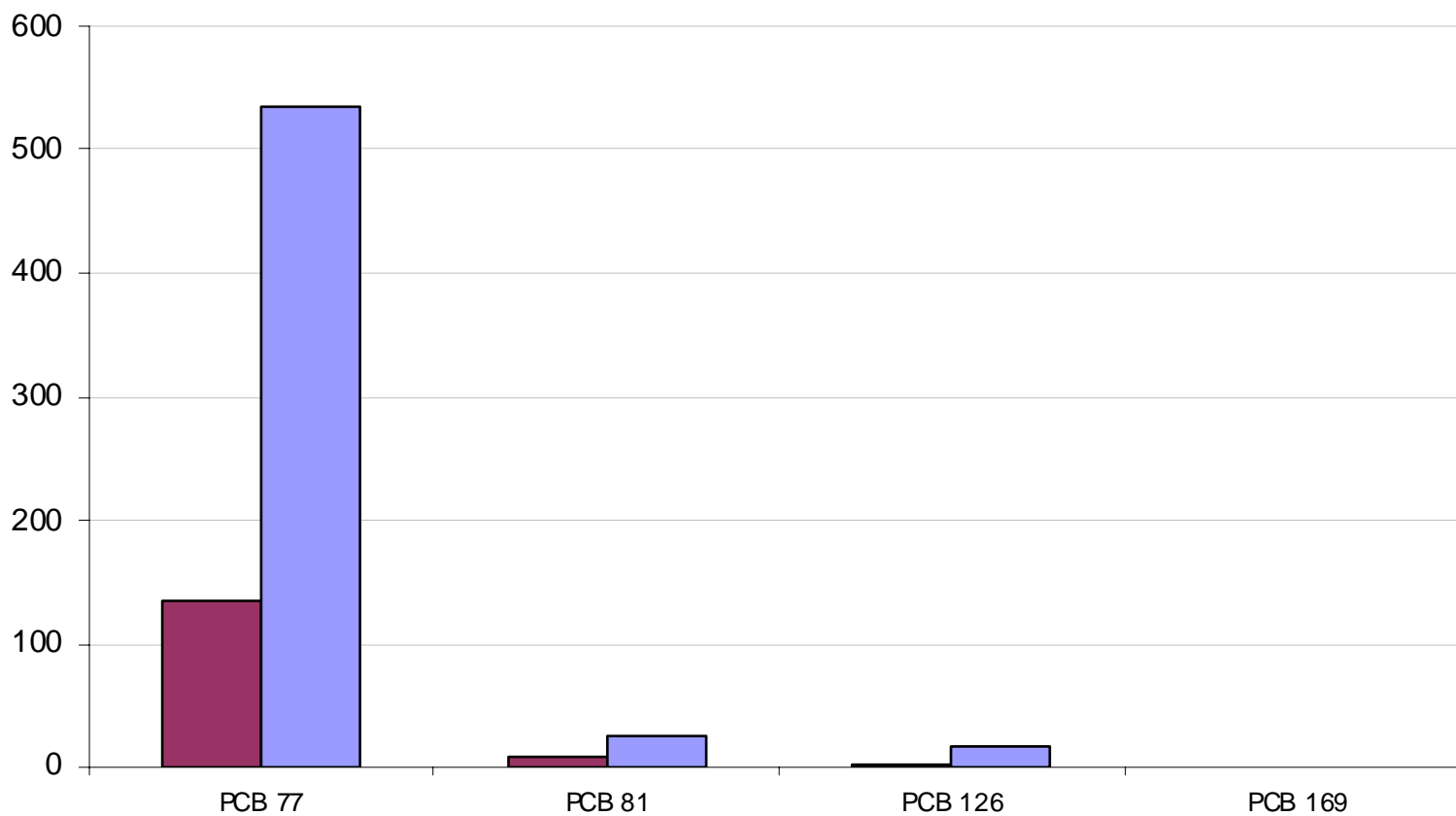
Congeneri mono-orto-PCB



Valori assegnati

■ Burro
■ Grasso suino

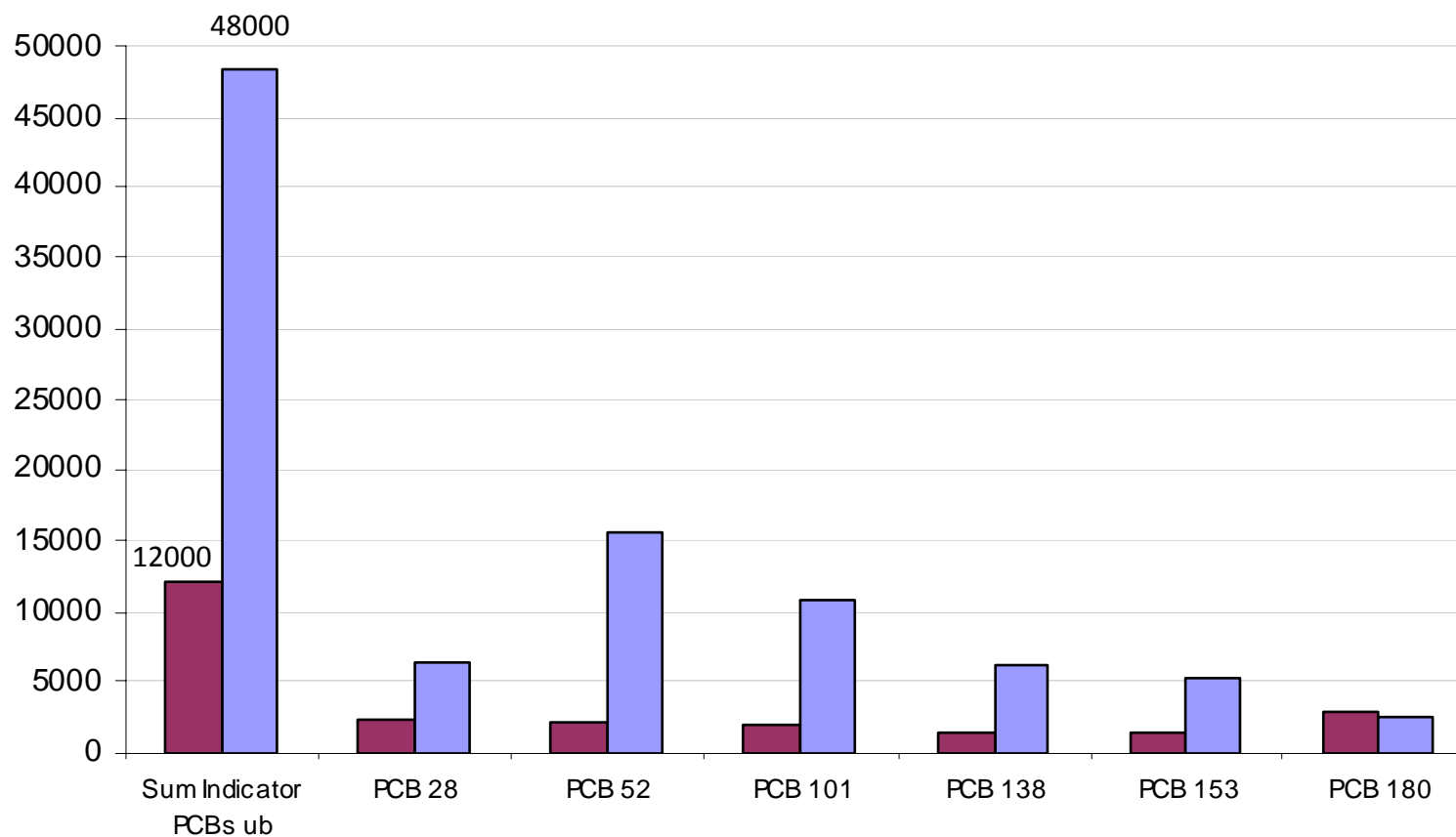
Congeneri non-orto-PCB



Valori assegnati

■ Burro
■ Grasso suino

Congeneri PCB indicatori



Valutazione dei risultati

I risultati dei partecipanti sono stati convertiti in valori di z-score:

$$z = (X_L - X_a) / \sigma_p$$

X_L = risultato analitico del laboratorio partecipante

X_a = valore assegnato

σ_p = deviazione standard target

Deviazione standard target:

σ_p per WHO-TEQ = 10%

σ_p per somma di 6 PCB indicatori = 15%

σ_p per i singoli congeneri = 20%

Z-score accettabile tra - 2 e + 2

Z-score non accettabile al di fuori dell'intervallo compreso tra - 3 e + 3





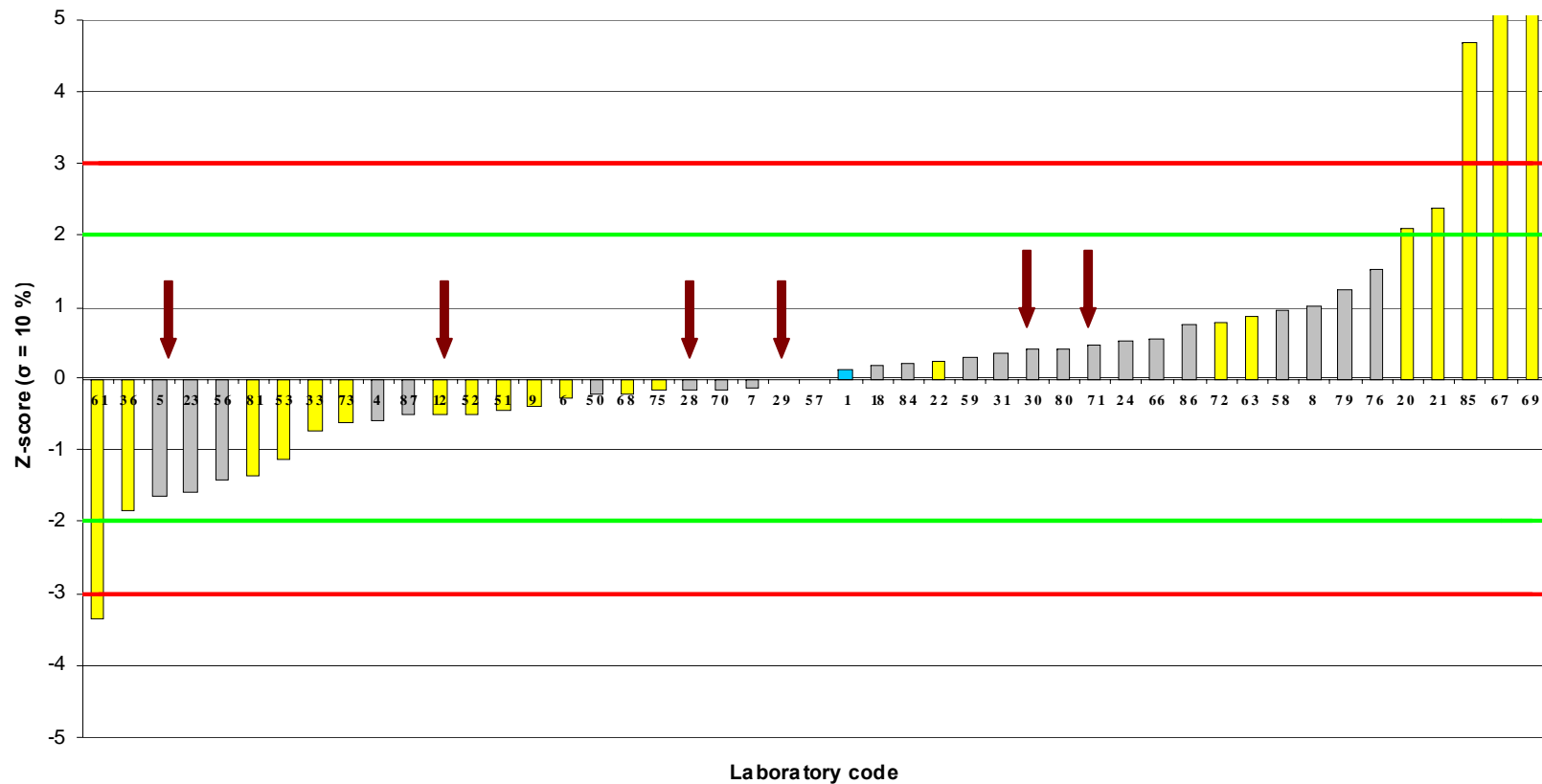
ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-PCB-TEQ

Grasso suino

WHO-PCDD/F-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 1,5 pg/g grasso

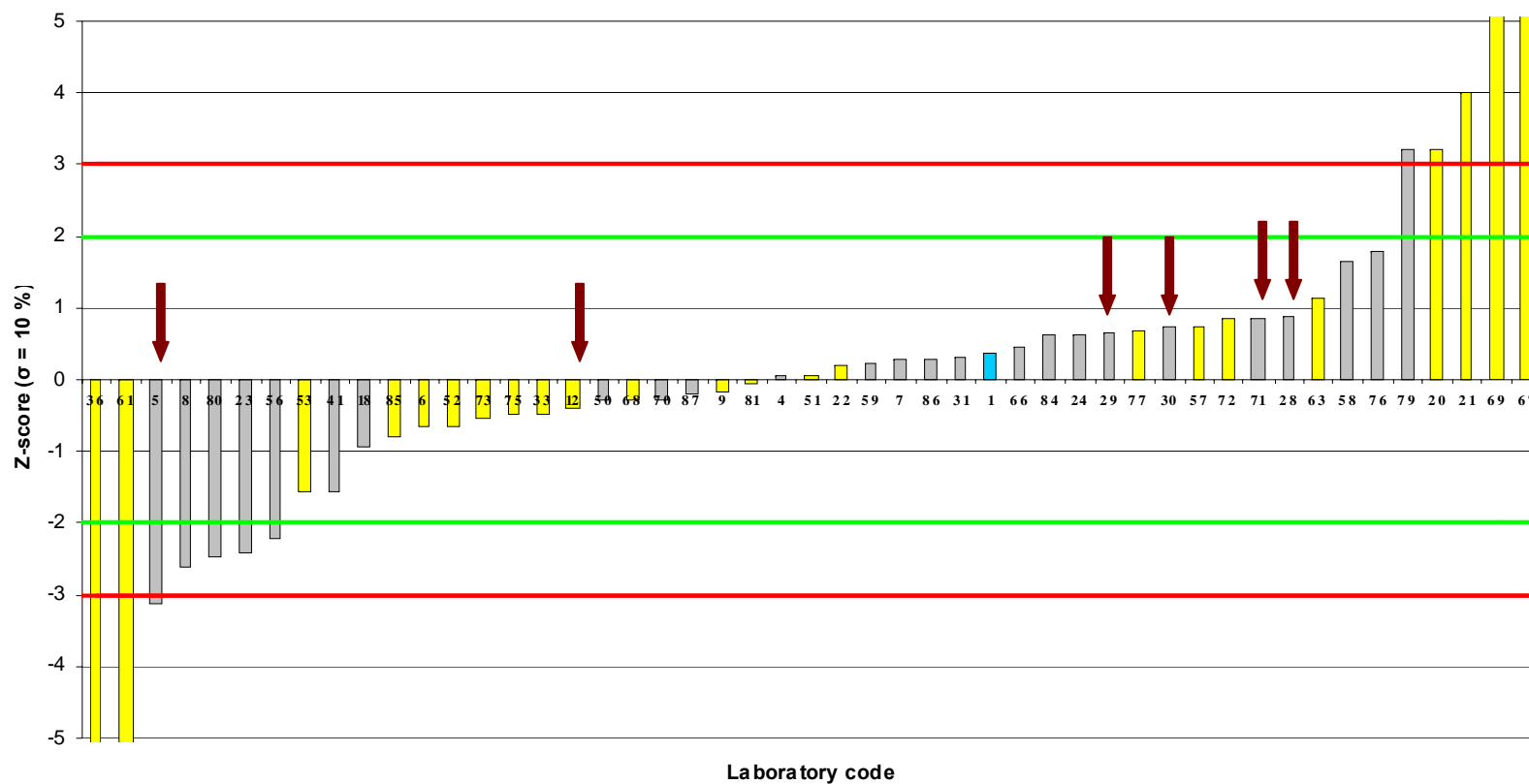


Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-TEQ

Grasso suino

WHO-PCDD/F-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 0,77 pg/g grasso

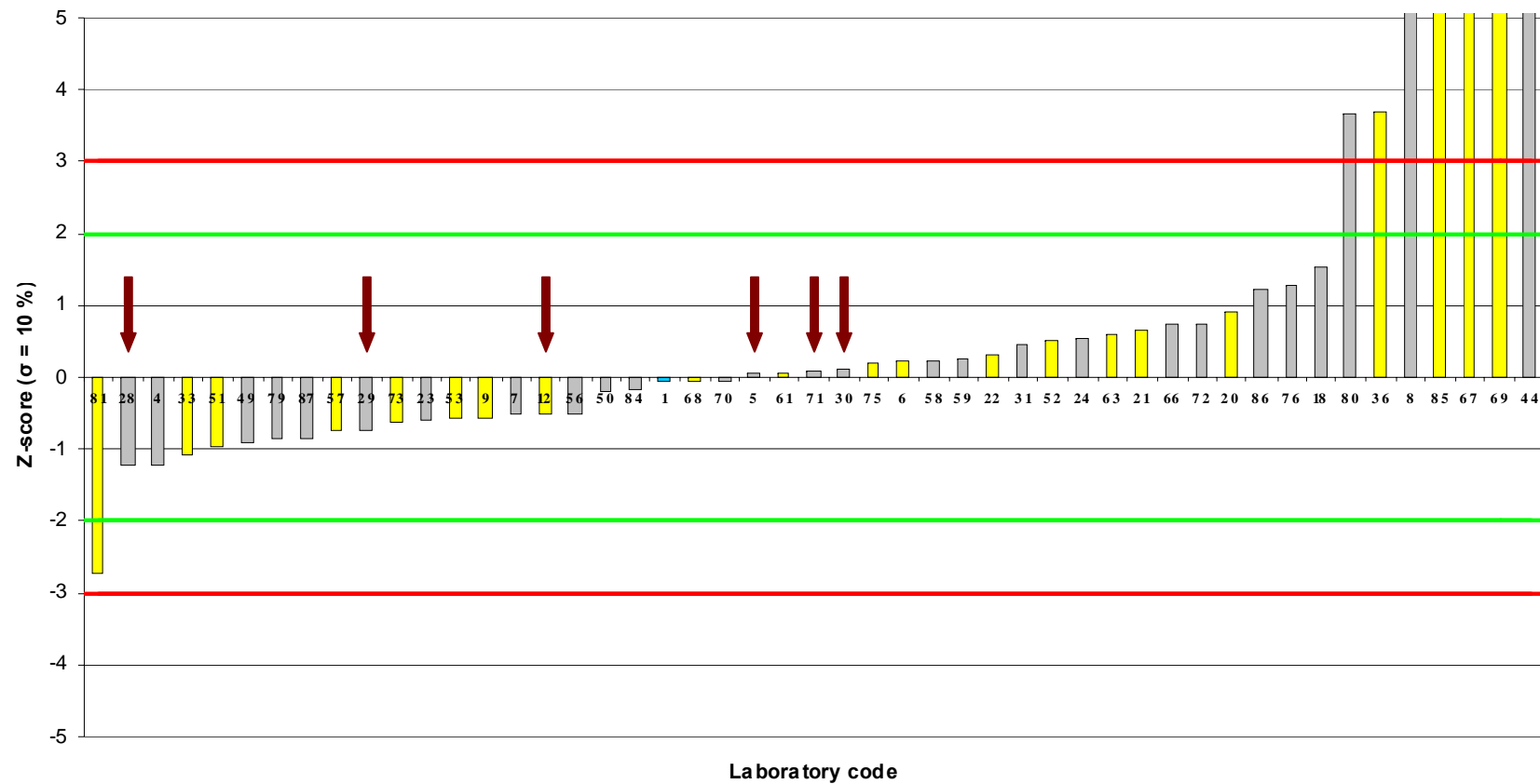


Valori di z-scores per WHO-PCB-TEQ

Grasso suino

WHO-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 0,69 pg/g grasso

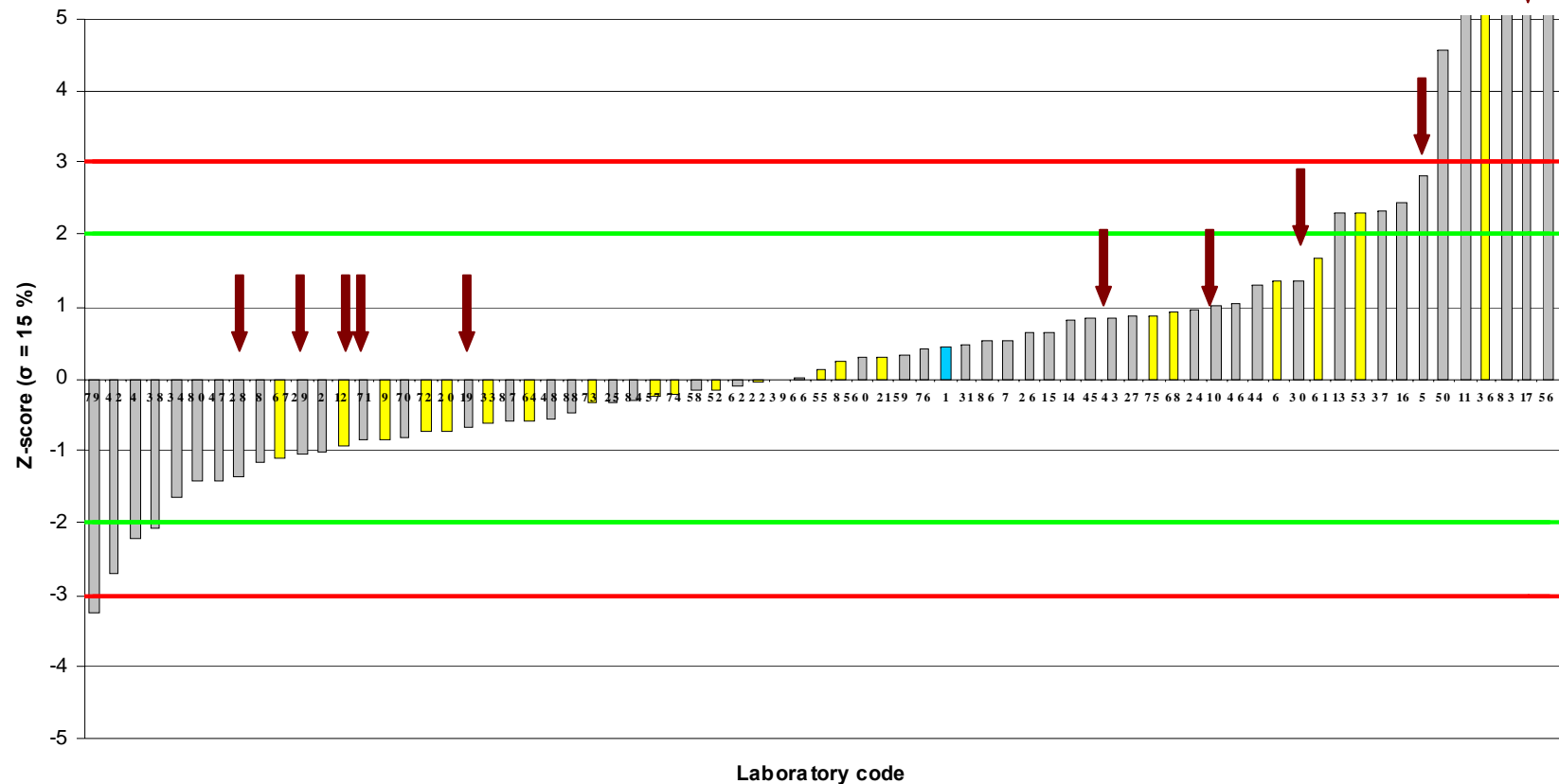




Valori di z-scores per PCB-indicatori (somma 6 congeneri)

Grasso suino

Somma PCB indicatori (upper bound)
Valore di consenso: 12000 pg/g grasso





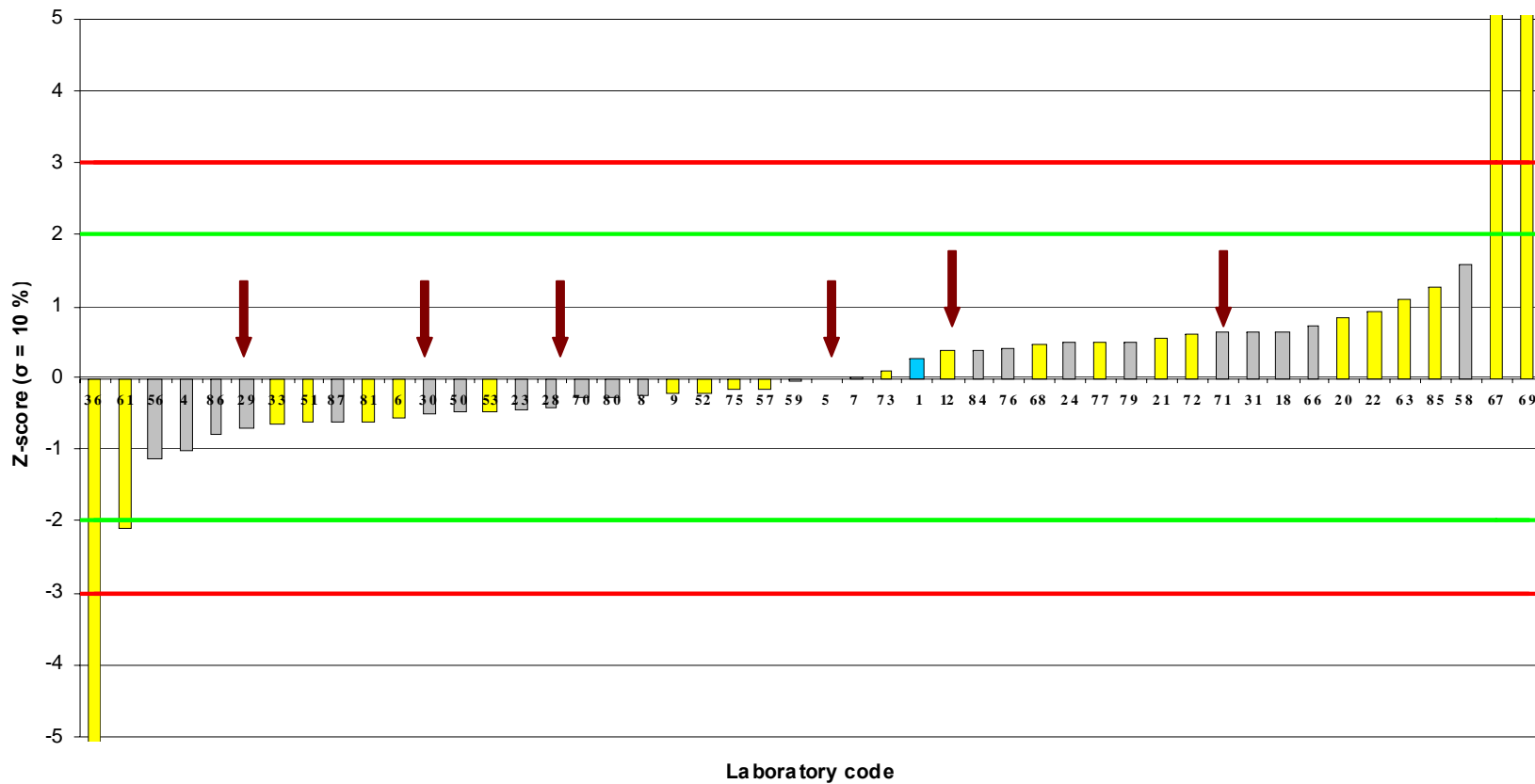
ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-PCB-TEQ

Burro

WHO-PCDD/F-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 7,0 pg/g grasso

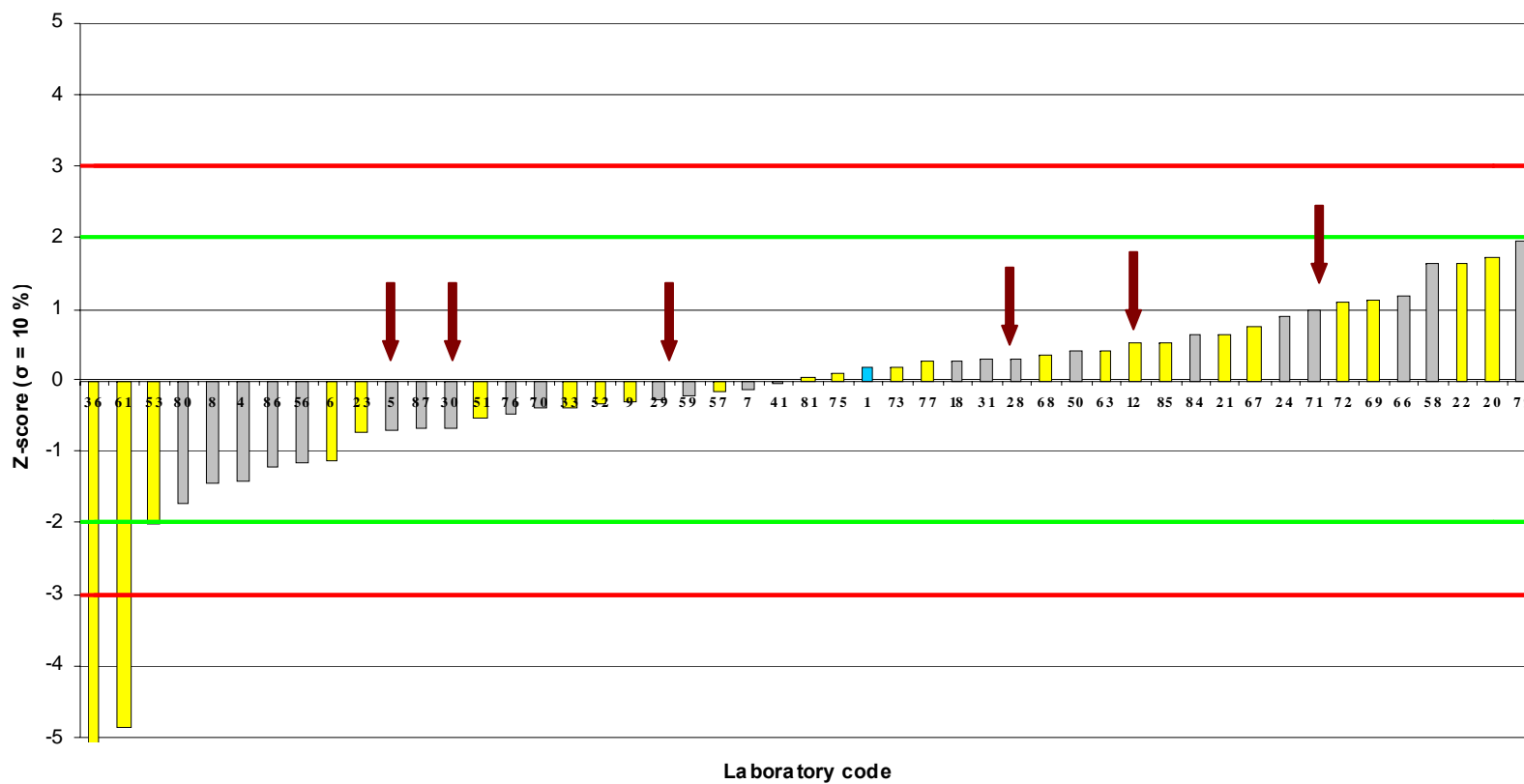


Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-TEQ

Burro

WHO-PCDD/F-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 3,3 pg/g grasso

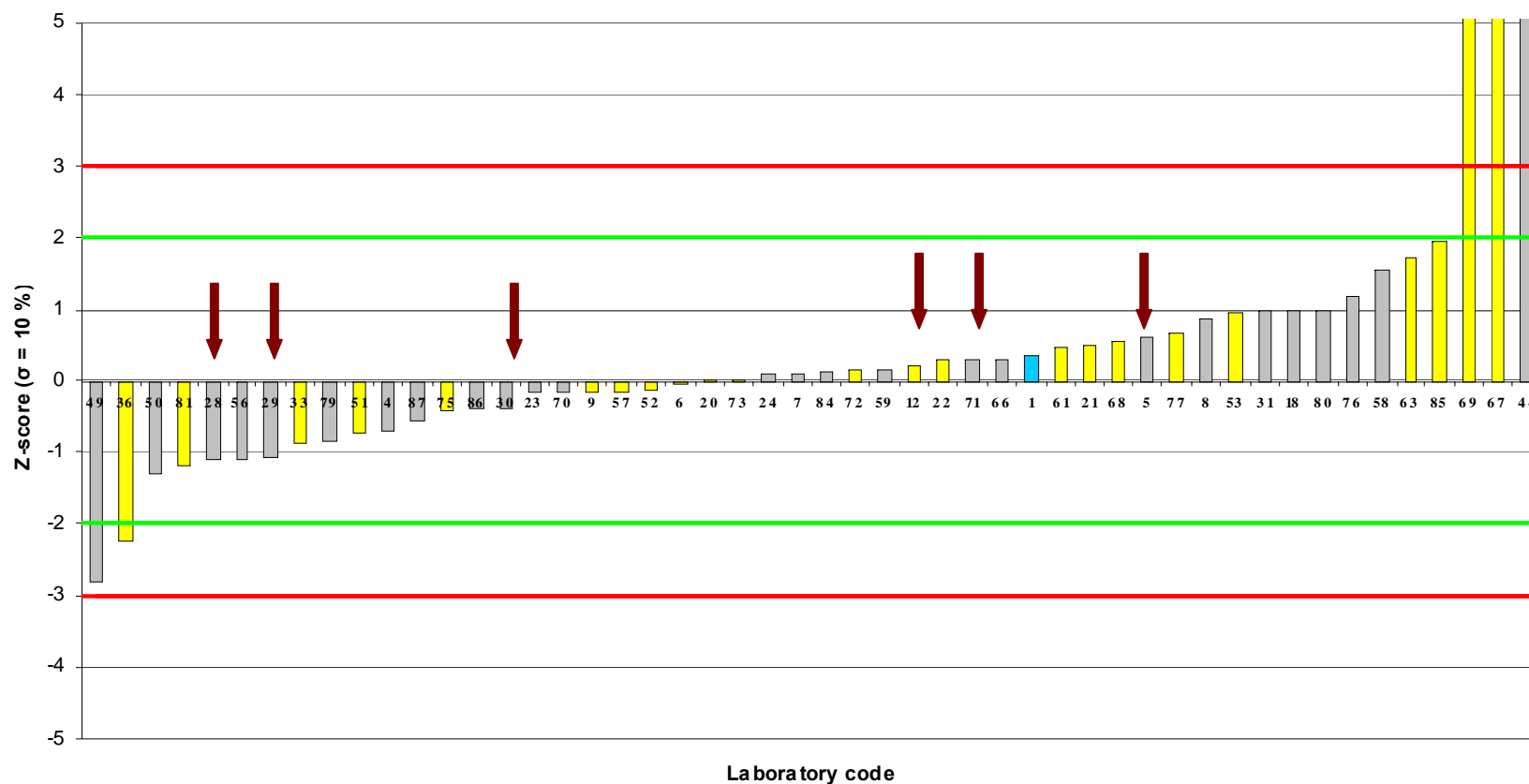


Valori di z-scores per WHO-PCB-TEQ

Burro

WHO-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 3,6 $\mu\text{g/g}$ grasso



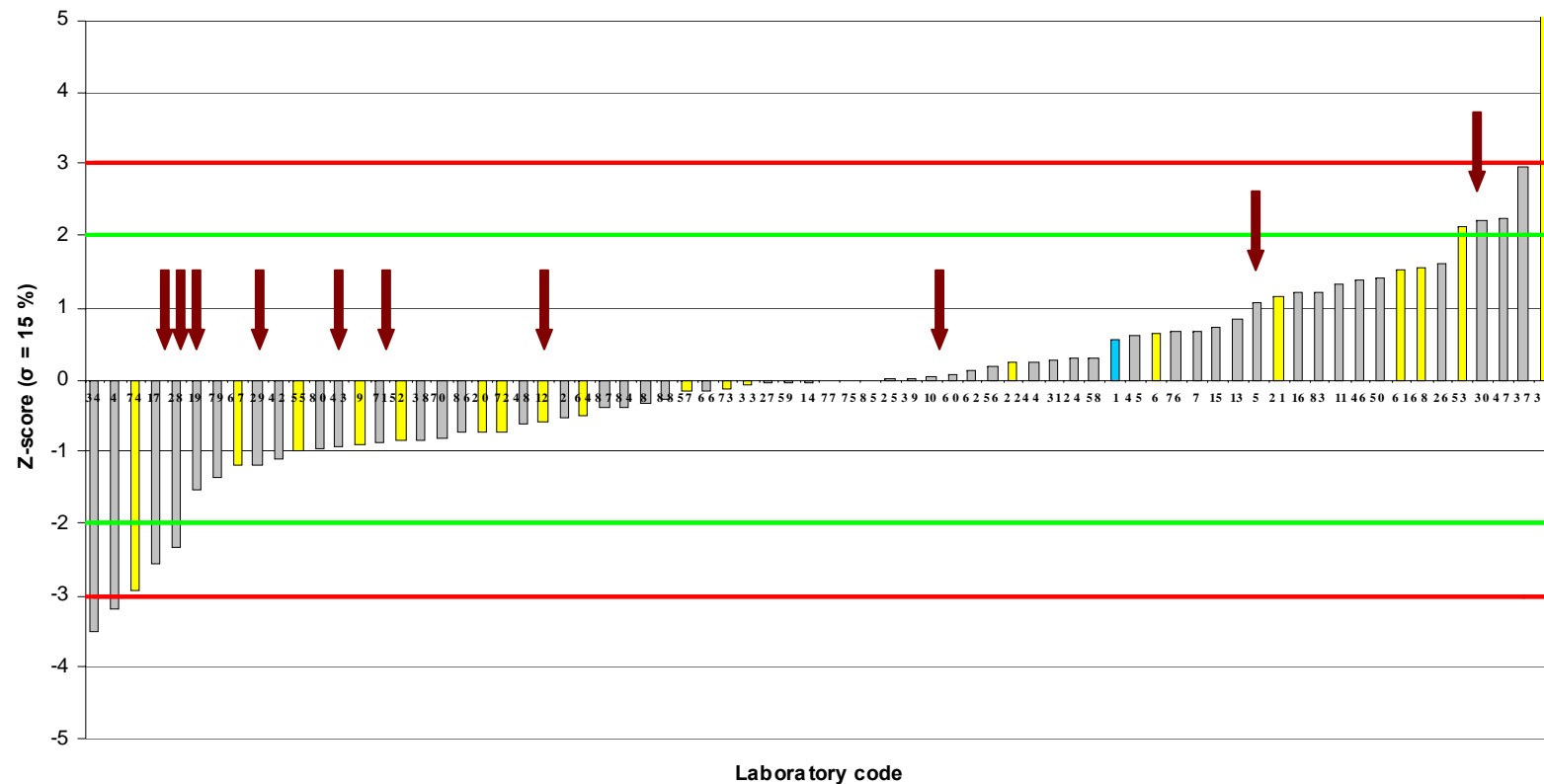


Valori di z-scores per PCB-indicatori (somma 6 congeneri)

Burro

Somma PCB indicatori (upper bound)

Valore di consenso: 48000 pg/g grasso





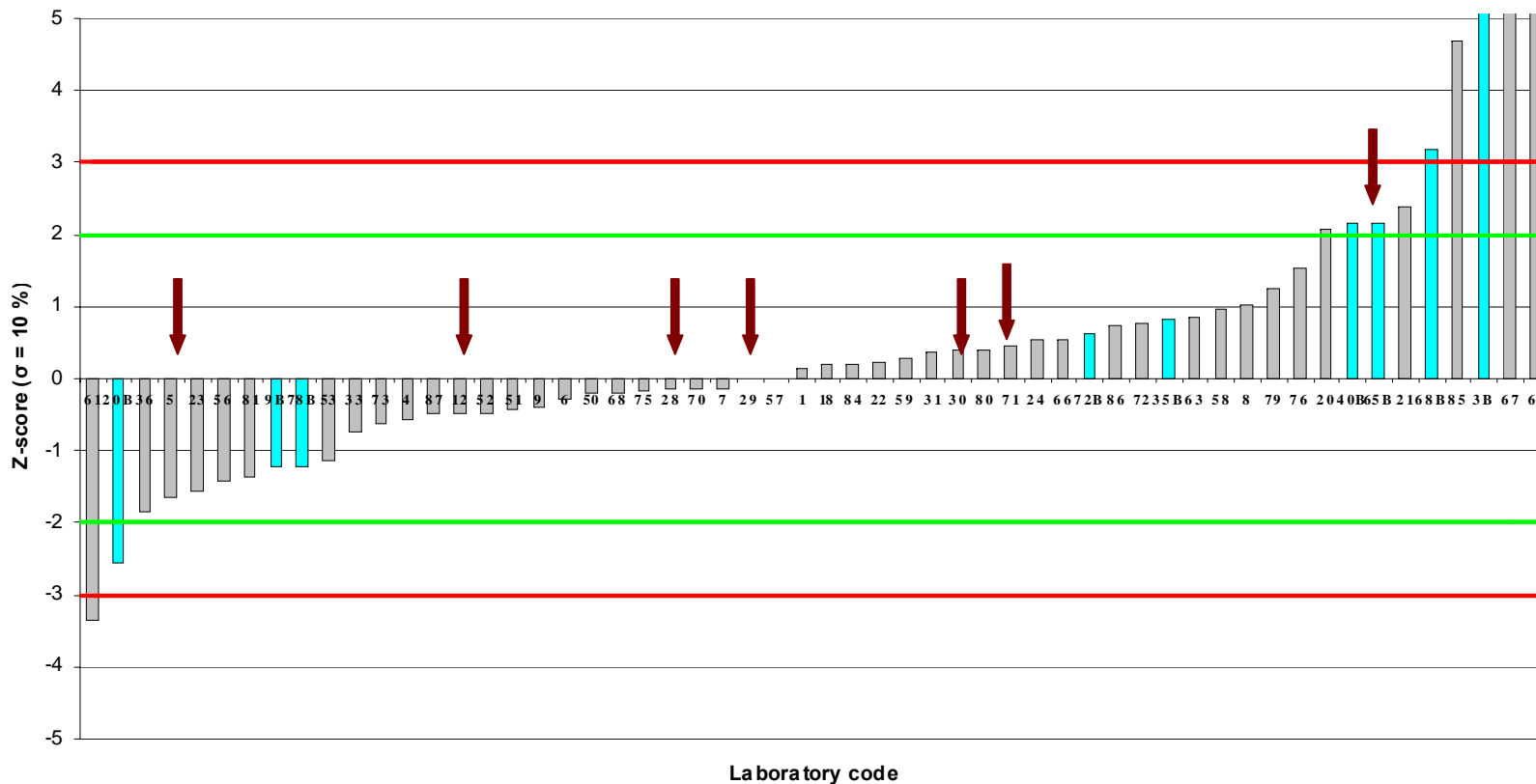
Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-PCB-TEQ

Grasso suino

Inclusi i laboratori che hanno utilizzato metodi di screening biologico

WHO-PCDD/F-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 1,5 pg/g grasso





ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

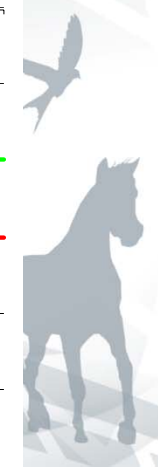
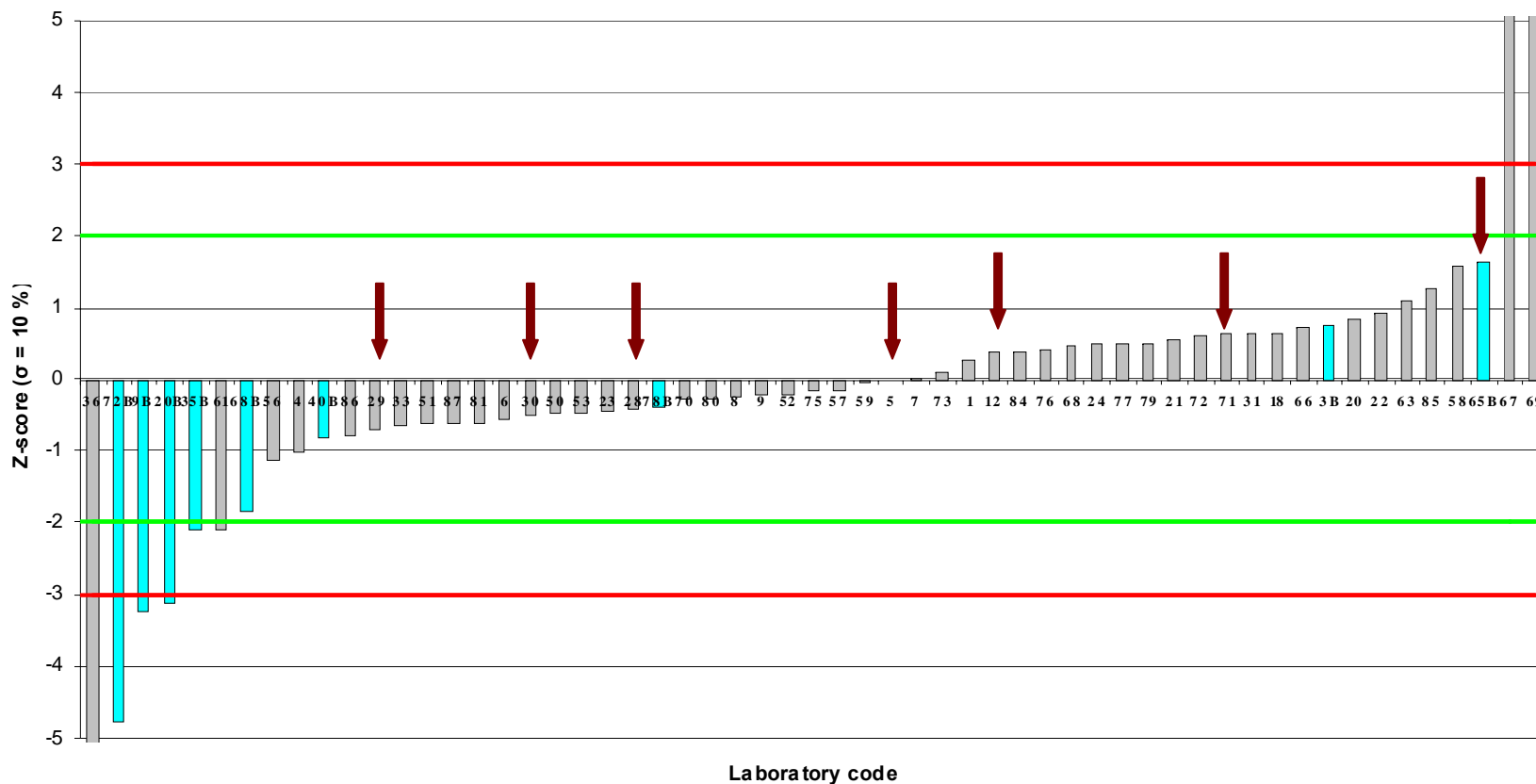
Valori di z-scores per WHO-PCDD/F-PCB-TEQ

Burro

Inclusi i laboratori che hanno utilizzato metodi di screening biologico

WHO-PCDD/F-PCB-TEQ (upper bound)

Valore di consenso: 7,0 pg/g grasso

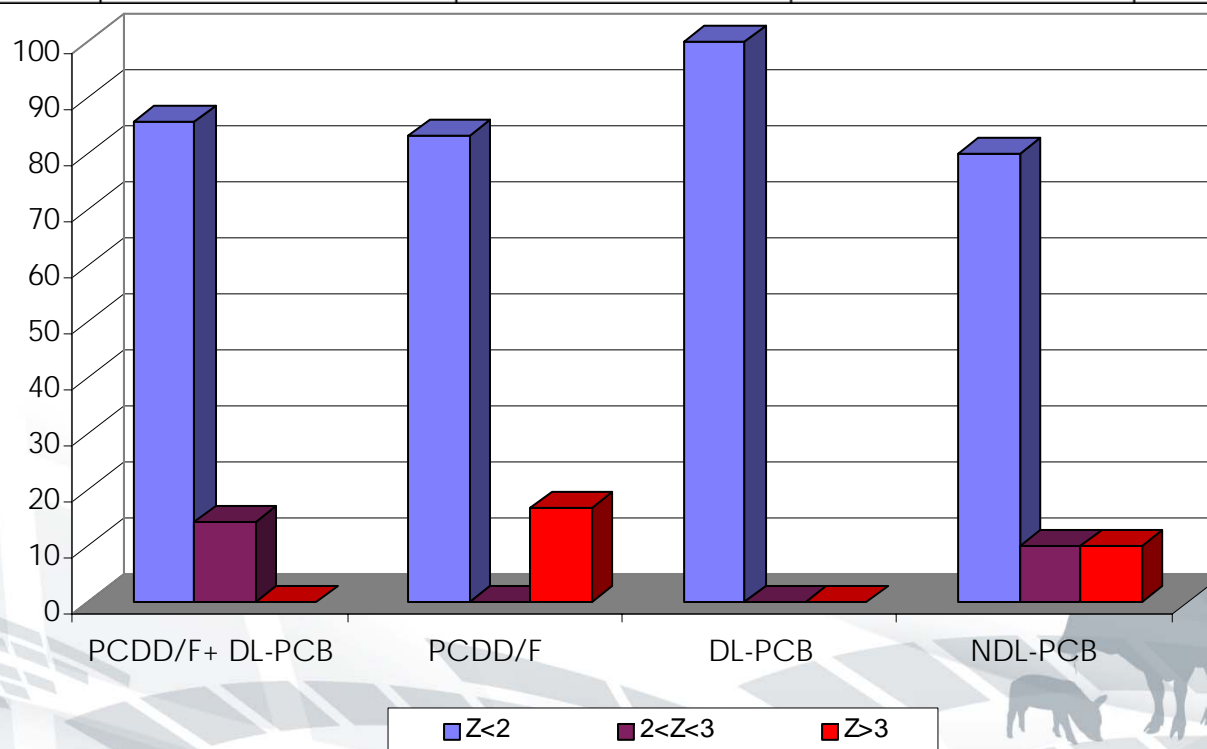


Valutazione dei risultati

Laboratori italiani

Grasso suino

	PCDD/F+DL-PCB	PCDD/F	DL-PCB	NDL-PCB
LAB	7	6	6	10
Z<2	6	5	6	8
2<Z<3	1	0	0	1
Z>3	0	1	0	1

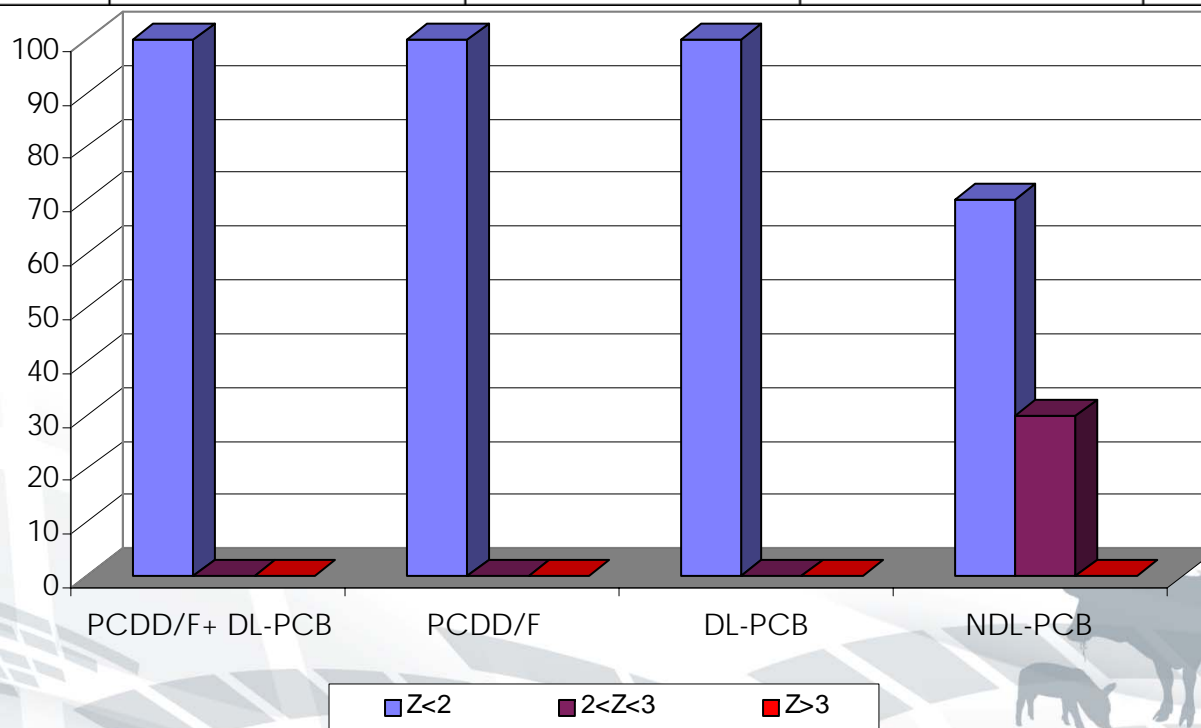


Valutazione dei risultati

Laboratori italiani

Burro

	PCDD/F+DL-PCB	PCDD/F	DL-PCB	NDL-PCB
LAB	7	6	6	10
Z<2	7	6	6	7
2<Z<3	0	0	0	3
Z>3	0	0	0	0



Metodi analitici

Separazioni cromatografiche e rivelatori

Colonne cromatografiche utilizzate:

DB-5 (MS), DB-Dioxin, DB-XLB, RTX CL, DB-1701, MR-1, RTX-Dioxin2, CPSil 8, DB-17, ZB Multiresidue, BPX-Dioxin, BPX-DXN, HT-8 (PCB)...

Rivelatori:

Tutti i laboratori

HRMS, MS/MS, LRMS, ECD

I laboratori che hanno analizzato PCDD/F e DL-PCB

HRMS, MS/MS

I laboratori che hanno analizzato solo NDL-PCB

MS/MS, LRMS, ECD



Tutti i partecipanti

71-87% di tutti i risultati per le somme dei parametri, hanno fornito $|z\text{-score}| \leq 2$;

79-91% di tutti i risultati per le somme dei parametri, hanno fornito $|z\text{-score}| \leq 3$;

La percentuale più bassa spetta al campione di grasso suino.



Confronto degli z-scores

Il confronto degli z-scores per WHO-PCDD/F-PCB-TEQ, WHO-PCDD/F-TEQ, WHO-PCB-TEQ e PCB indicatori, ha mostrato una distribuzione simmetrica e comparabile ma, per i **DL-PCB e PCB indicatori**, si sono avuti valori di **z-scores significativamente più elevati** in particolare per il grasso suino.

Gli alti valori di z-scores sono, con molta probabilità, imputabili ai bassi livelli di concentrazione riscontrati nel campione di grasso suino.



Metodi di rivelazione

36 (grasso suino) e 37 (burro) laboratori hanno utilizzato rivelatori quali ECD, LRMS e MS/MS, 36 laboratori hanno utilizzato come rivelatore l'HRMS.

La valutazione degli z-scores per la somma dei PCB indicatori mostra una comparabile distribuzione dei risultati in funzione del metodo di rivelazione utilizzato.

Per entrambi i campioni non si osservano differenze significative tra i metodi impiegati.

La qualità del risultato sembra dipendere più dall'applicazione corretta del metodo all'interno del proprio laboratorio piuttosto che dal metodo di rivelazione utilizzato.



Modalità di calcolo

La differenza di risultati tra modalità di calcolo “**upper bound**” e “**lower bound**” è stata generalmente **inferiore al 10%**.

In alcuni casi differenze maggiori (>20%) sono state osservate per WHO-PCDD/F-TEQ e PCB indicatori nel campione di grasso di suino.



Metodi di screening

Più di 2/3 dei laboratori che hanno utilizzato metodi di screening biologico hanno ottenuto dei valori di z-scores inferiori a ± 3 , rispetto al valore assegnato derivato da tecniche chimico-fisiche.

La maggior parte dei laboratori (78% per il grasso suino e 89% per il burro) dichiarano che i campioni **non sono conformi** rispetto ai limiti massimi o d'azione stabiliti dalle normative UE.



Incertezza di misura e conformità del campione

In funzione dell'incertezza di misura applicata si può osservare come **concentrazioni comparabili** possono dar luogo a **differenti giudizi di conformità** o non conformità del campione in esame.

Una incertezza di misura espansa standardizzata (es. 20%) potrebbe migliorare la comparabilità delle valutazioni "legali"?



**GRAZIE PER LA
PAZIENZA CHE AVETE
AVUTO
NELL'ASCOLTARMI!!**

