

# T~magazine

2° semestre 2020 / Numero 4 - Tentamus Italia



- 1 **Frode alimentare: identificazione del DNA in prodotti alimentari di origine animale**  
*Food Fraud: identifying DNA in food products of animal origin*
- 2 **Fosetil AI: normativa vigente ed interpretazione dei risultati analitici**  
*Fosetyl-AI: current legislation and interpretation of analytical results*
- 3 **Studi di efficacia: strumento per il controllo dell'attività biocida e virucida dei nuovi prodotti disinfettanti**  
*Efficacy studies: a tool for determining the biocidal and virucidal activity of new disinfectant products*
- 4 **La crisi come strumento di rinnovamento**  
*Crisis as a tool for renewal*
- 5 **L'impatto sulle esportazioni di frutta e verdura greca utilizzando LC-HRMS nel flusso di lavoro di routine per l'analisi dei residui di pesticidi**  
*Impact in the exports of Greek Fruits & Vegetables using LC HRMS in routine workflow for analysis pesticides residue*
- 6 **L'esperto risponde**  
*Ask the Expert*

**“Ci sono sempre due scelte nella vita: accettare le condizioni in cui viviamo o assumersi la responsabilità di cambiarle.”**

**“There are two primary choices in life: to accept conditions as they exist, or accept the responsibility for changing them.”**

*(D. Waitley)*

Quando “scorre la normalità”, inconsciamente o meno, accettiamo le condizioni che la vita ci propone, le diamo per scontate ed evitiamo, spesso e volentieri, la responsabilità di spostarne gli equilibri. Da mesi, però, il quotidiano di ognuno è stato inevitabilmente modificato, contro la nostra volontà. Da mesi dobbiamo forzatamente pensare alle condizioni in cui viviamo. Waitley, con una semplice e scomoda frase, ci mette con le spalle al muro. Ci spinge a porsi le seguenti domande: abbiamo fatto o stiamo facendo il possibile per cambiare questa situazione? La responsabilità di un comportamento integerrimo, da “buon padre di famiglia”, è stata davvero sentita come tale da tutti? Dalle istituzioni a noi cittadini, nessuno escluso. Siamo in prima linea quando criticiamo duramente chi prende decisioni dure o impopolari e chi ci chiede sacrifici. Quando però è il “nostro vicino” a non rispettare le regole, lo criticiamo e riprendiamo altrettanto duramente? Quando poi il “nostro vicino” siamo noi? Sarò tacciato di fare semplice populismo forse, ma alla fine, purtroppo, la risposta a queste domande è quasi sempre no! No, perché è più comodo se si evita l'autocritica, no perché è più facile “dare la colpa” a qualcun altro o qualcos'altro. Invece dobbiamo realizzare che è diventata responsabilità di tutti contribuire al cambiamento, aiutando chi ne ha realmente bisogno. È diventata responsabilità di tutti, voler davvero vincere questa “assurda battaglia”, per poter tornare finalmente a quella monotona, fastidiosa, banale, ma mai tanto amata e desiderata, normalità.



Nicola Berruti  
Country Manager Tentamus Italia

*When we “experience” normality, consciously or unconsciously, we accept the conditions that life sends us, we take them for granted and we often and willingly avoid the responsibility to challenge their balanced state. Months ago, the daily life of all of us has inevitably been changed – against our will. The most annoying feeling is that of not being able to do enough. With a simple yet uncomfortable sentence, Waitley leaves us with our back against the wall. He pushes us to ask ourselves the following questions: did we do or are we doing everything possible to change this situation? Did we all choose to have a sensible behaviour and act responsibly? From institutions to us citizens, no one excluded. It is easy to criticise those who take tough or unwelcome decisions, as well as those who ask us to make sacrifice. But are we equally as critical of “our neighbour” if they do not follow the rules? Do we tell them off? What if we are “our neighbour”? Will I be accused of cheap populism? Maybe. But, sadly, the answer to these questions is almost always ‘no’. The answer is ‘no’ because avoiding self-criticism is more convenient and because it is easier to “blame” someone or something else. We should instead realise that it is now everyone’s responsibility to contribute to change, helping those who are really in need. It is now everyone’s responsibility to grow the desire to win this “absurd battle”. Only in this way, we will eventually be able to return to that monotonous, annoying, trivial normality that we have never loved and miss so much before.*

# Frode alimentare: identificazione del DNA in prodotti alimentari di origine animale

di Valeria R. Giancotti, Responsabile Tecnico di Laemmegroup

Nel pensiero comune è ormai condivisa l'opinione che vi sia una **frode alimentare** quando, in fase di produzione e di distribuzione del prodotto alimentare, la normativa vigente viene intenzionalmente violata per trarne beneficio economico a scapito anche del consumatore finale.

Le frodi alimentari possono essere oltre che di tipo sanitario anche di tipo commerciale. Relativamente a quest'ultimo tipo di frode, esistono differenti situazioni ciascuna con proprie definizioni a seconda dell'inganno che si vuole attuare, **adulterazione, contraffazione, sofisticazione, alterazione e falsificazione.**

La frode alimentare non è un problema emergente dell'industria alimentare, ma si verifica già da decenni o addirittura secoli. Basti pensare alle prime leggi in Italia sulla qualità dei prodotti già a partire dal XIX secolo, o le frodi note a tutti su matrici quali latte, pane, olio, pasta, vino nel periodo *pre-post* Guerre. E questo problema arriva fino ai giorni d'oggi. Lo scandalo del latte in polvere e liquido avvelenato con la melamina accadde in Cina nel 2008. Lo scandalo della carne di cavallo aggiunta fraudolentemente a quella bovina accadde nel 2013 e coinvolse più parti d'Europa. Nel 2015 venne sequestrato un caseificio nel sud Italia che produceva mozzarella di bufala utilizzando la cagliata al posto del latte.

In Italia l'**ICQRF** (Ispettorato Centrale della tutela e della Qualità e Repressioni Frodi dei prodotti agroalimentari) è tra le principali **Autorità antifrode nel food a livello mondiale.** I controlli antifrode nel 2019 sono stati 55.539, di cui 41.462 ispettivi e 14.077 analitici. Sono stati sequestrati **72 mln di kg di prodotti alimentari** per un valore di sequestri di oltre 301 mln di euro. Sono stati effettuati 513 interventi fuori dai confini nazionali e sul web a tutela del *Made in Italy* agroalimentare. Con riferimento ai singoli comparti agroalimentari, 18.179 controlli hanno interessato il settore vitivinicolo, 6.875 l'oleario, **5.434 il lattiero caseario**, 4.117 l'ortofrutta, 3.542 le conserve vegetali, 2.831 i cereali e derivati, **2.588 il settore della carne**, 1.180 il miele, 596 uova, 517 bevande spiritose, 391 le sostanze zuccherine e 2.767 altri settori.

(ICQRF: Report attività 2019 <https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/394>)

Il problema delle frodi alimentari è anche un requisito da gestire per tutte le aziende certificate IFS che devono attuare un piano di controllo e mitigazione delle possibili frodi in cui possono incorrere i propri prodotti. Per il settore dei prodotti di origine animale, la presenza di una specie animale diversa da quella dichiarata, ha fatto emergere anche un problema di falsa etichettatura, di qualità degli alimenti e di tracciabilità lungo la filiera alimentare. L'errata etichettatura, punibile penalmente ai sensi della normativa vigente, può avere conseguenze non solo di carattere commerciale o sanitario, come nel caso di consumatori che mostrano sensibilità ad antigeni non dichiarati, ma anche di carattere etico-religioso nel caso dei consumatori di fede ebraica e musulmana il cui credo impone regole stringenti su alcuni cibi (cosiddetti cibi *halal* e *kosher*).

**È possibile difendersi da tutto questo?** La risposta non può non ricadere, ovviamente, in un contesto di **controlli e di analisi. Si parla di identificazione del DNA delle specie animali presenti nel prodotto.** Ciascuna specie presenta un profilo genetico assolutamente tipico, e dunque differente tra specie e specie, che non viene in alcun modo degradato durante i processi termici ed enzimatici che a volta i cibi possono subire, a differenza del profilo proteico. **La tecnica** che permette la determinazione delle sequenze di DNA specie-specifiche nei tessuti animali è la **Real Time Polymerase Chain**

**Reaction (RT-PCR).** La RT-PCR utilizza due primers specifici complementari alle sequenze a monte e a valle della sequenza target ed una sonda TaqMan complementare al DNA bersaglio che inizialmente non emette fluorescenza. Durante l'amplificazione del DNA l'enzima Taq Polimerasi degrada questa sonda e consente l'emissione di fluorescenza. La rivelazione "in tempo reale" della presenza della sequenza target è possibile grazie alla rilevazione della fluorescenza emessa dalla sonda durante i successivi cicli di PCR.

**Da oltre un decennio il laboratorio Laemmegroup applica la RT-PCR a:**

- prodotti alimentari a base di carne, allo scopo di identificare la presenza di carne appartenente alle specie bovino, ovino, caprino, suino, pollo, tacchino ed equino;
- latte e derivati (es. formaggi), allo scopo di identificare la presenza di latte appartenente alle specie animali bovino, ovino e caprino;
- alimenti zootecnici, allo scopo di individuare la presenza di DNA ascrivibile alla specie suina, avicola (*Gallus gallus* e tacchino) per rilevare l'uso di PAT (Proteine Animali Trasformate) nei mangimi.

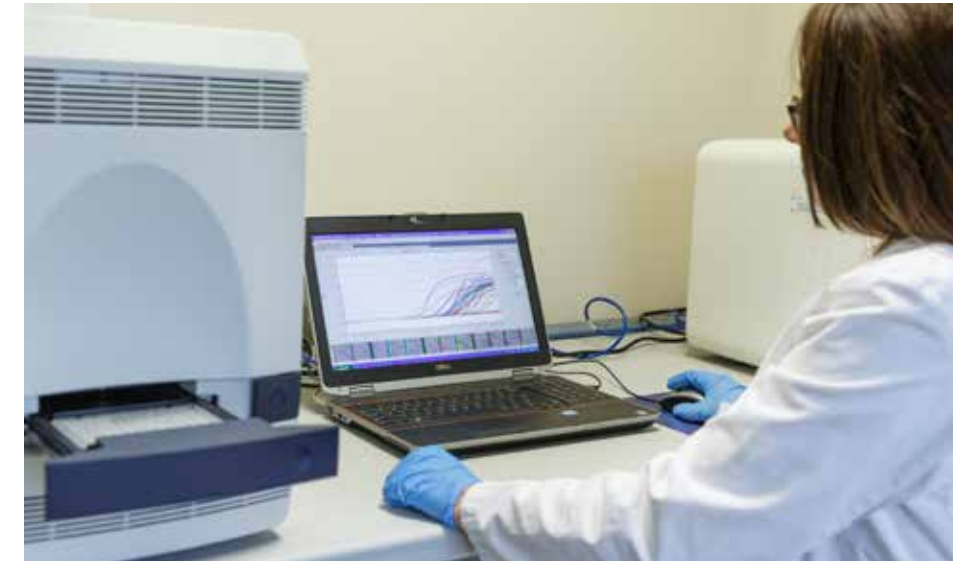
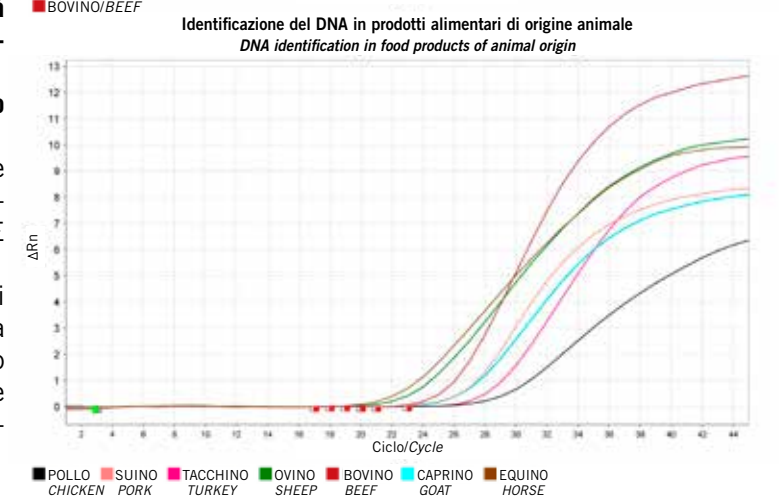
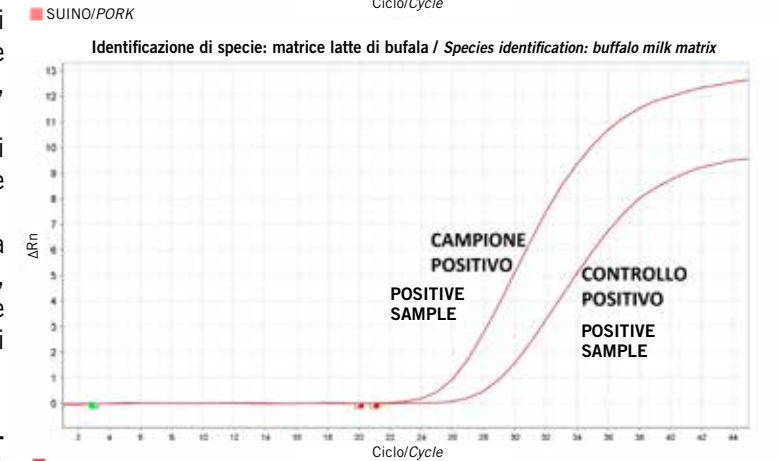
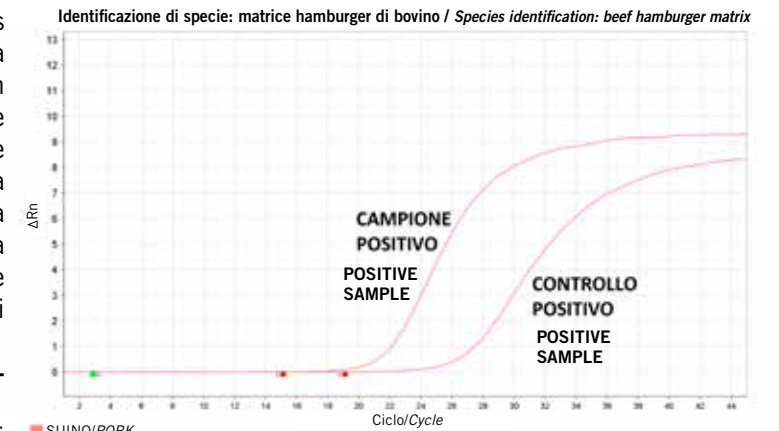
**Il metodo è qualitativo e accreditato ISO 17025.**

**Per le matrici alimentari a base carne e per la matrice latte e derivati (formaggi) il limite di rilevabilità del metodo (LOD) è pari all'1% di DNA per ogni specie target.**

**Per gli alimenti zootecnici l'LOD è stato fissato allo 0.1%.**

Il valore LOD del metodo è stato scelto sulla base della Raccomandazione della Commissione Europea del 19.02.2013 e della Raccomandazione CE del 27 marzo 2014, n. 180.

Nelle figure a lato sono riportati tre grafici, due dei quali mostrano casi reali di frode per la presenza di specie differente, matrici hamburger di bovino e latte di bufala, ed un terzo grafico con le curve amplificate dei controlli target delle 7 specie rilevabili.



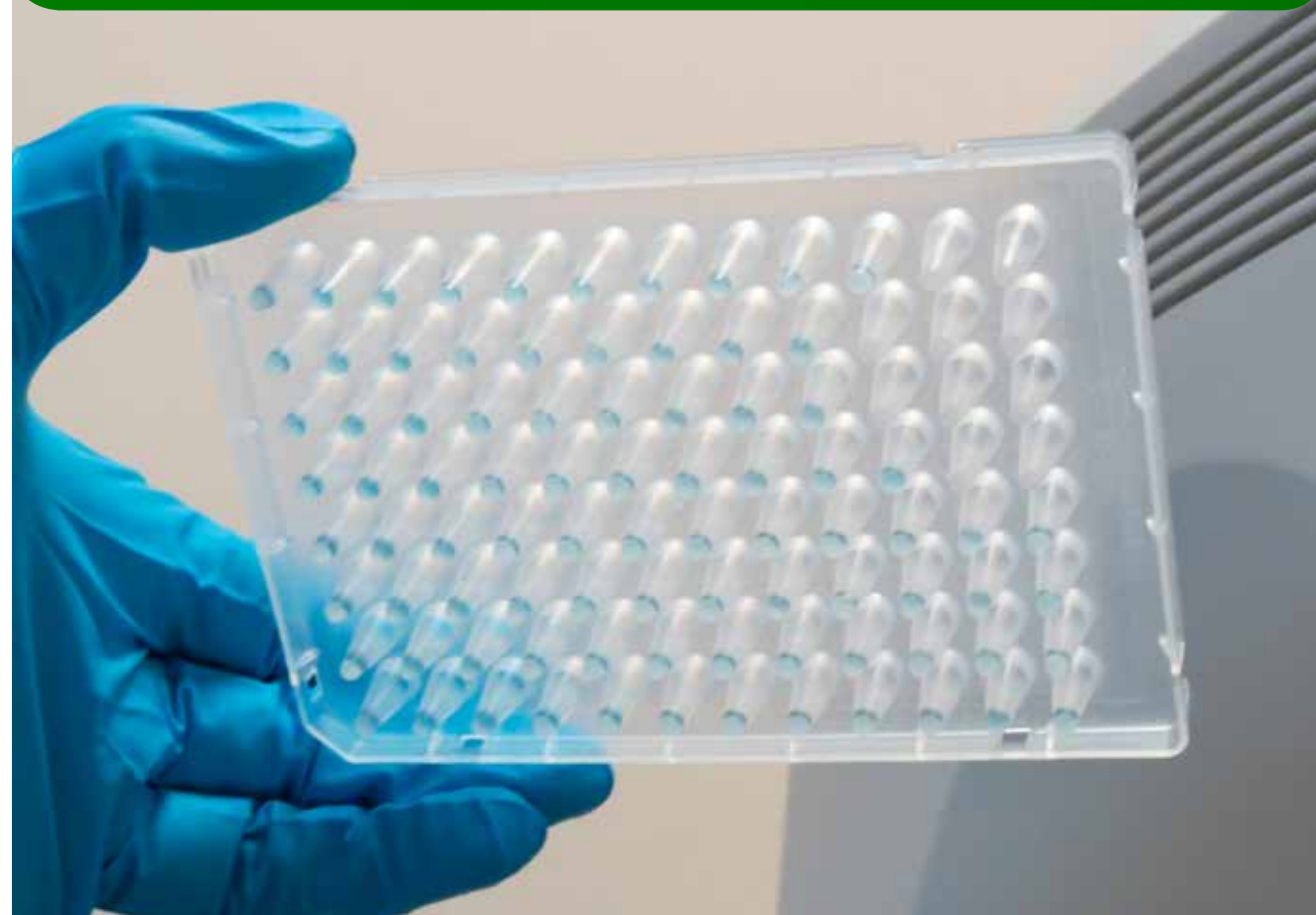
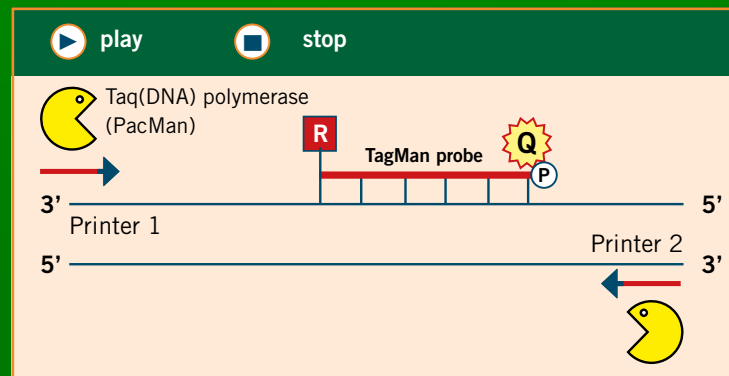
La possibilità di affidarsi ad una tecnica estremamente sensibile e specifica come la RT-PCR dovrebbe scoraggiare eventuali frodi commerciali, tutelare l'autenticità di tanti prodotti alimentari presenti sul mercato ed evidenziare contaminazioni accidentali anche minime che possono rappresentare un rischio per tutti gli attori della filiera alimentare.

## Focus: Da PacMan a TaqMan!

Il processo TaqMan si basa sul principio PacMan, un gioco ideato da Tōru Iwatani e prodotto dalla Namco nel 1980. In PacMan il giocatore fa muovere PacMan attraverso un labirinto. L'obiettivo è quello di mangiare ogni puntino giallo evitando di farsi toccare dai quattro fantasmini. La sonda TaqMan segue lo stesso principio. Continuando l'analogia, PacMan rappresenta la Taq (DNA) polimerase. La sonda interna TaqMan ha due etichette fluorescenti (reporter e quencher) analogo al "target" di PacMan e quindi la sonda TaqMan viene divorata dalla Taq (DNA) polimerase causandone il rilascio della fluorescenza.

## From Pac-Man to TaqMan!

*The TaqMan process is based on the Pac-Man principle. Pac-Man is an arcade video game designed by Tōru Iwatani and made by Namco in 1980. In Pac-Man, the player makes Pac-Man move around a maze. The goal is to eat every yellow pellet (circles) while not getting caught by the four ghosts. The TaqMan probe follows the same principle. Continuing the analogy, Pac-Man represents the Taq (DNA) polymerase. The internal TaqMan probe has two fluorescent labels (reporter and quencher) similar to the Pac-Man's "target" and so the TaqMan probe is devoured by the Taq (DNA) polymerase causing it to release the fluorescence.*



## Food Fraud: identifying DNA in food products of animal origin



by Valeria R. Giancotti, Technical Manager at Laemmegroup

It is commonly known that **food fraud** is when, during the production and distribution of a food product, there are intentional infringements to the current agri-food legislation in order gain economic benefit at the expense of the final consumer.

Food frauds can be health-related as well as commercial. There are different types of commercial food fraud, each with their own definitions depending on the deception to be implemented: **dilution/substitution, counterfeit, unapproved enhancement, concealment, mislabelling.**

Food fraud is not an emerging problem in the food industry; it has been happening for decades or even centuries. For example, the first laws concerning products' quality in Italy were enacted as early as the nineteenth century, or the well-known frauds involving milk, bread, oil, pasta and wine happened during the periods before and after war. And this problem continues nowadays. The Chinese milk scandal in 2008 involved milk and infant formula along with other food materials and components being adulterated with melamine. In 2013 the horsemeat scandal involved parts of Europe in which foods advertised as containing beef were found to contain undeclared or improperly declared horse meat. In 2015 a cheese factory in the South of Italy was found to be producing buffalo mozzarella using curd instead of milk.

In Italy, the **ICQRF** (Central Inspectorate of Quality Protection and Fraud Repression) is one of the leading **food anti-fraud authorities worldwide**. There were 55,539 anti-fraud checks in 2019: 41,462 inspections and 14,077 analytical tests. **72 million kg of food products** were seized for a seizure value of over 301 million euros. 513 interventions were carried out outside the Italian borders and on the WWW, with the aim to protect the "Made in Italy" products.

With reference to the individual agri-food sectors: 18,179 checks were carried out in the wine sector, 6,875 checks in the oil sector, **5,434 checks in the dairy sector**, 4,117 checks for fruit and vegetables, 3,542 checks for vegetable preserves, 2,831 checks for cereals and derivatives, **2,588 checks in the meat sector**, 1,180 checks for honey, 596 checks for eggs, 517 checks for spirits, 391 checks for

sugary substances and 2,767 checks in other sectors.

(ICQRF: 2019 Activity Report <https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/394>)

The food fraud issue is also a requirement to be managed by all IFS certified companies that need to implement a plan to control and mitigate the possible frauds that their products may incur.

For the sector of products of animal origin, the presence of an animal species other than the one declared by the producer has also brought to light a problem of false labelling, food quality and traceability in the food chain. Incorrect labelling is a criminal offence punishable under current law. It can have consequences of commercial or health nature, e.g. consumers who exhibit sensitivity to undeclared antigens, as well as of ethical-religious nature in the case of consumers of faith like Jewish and Muslim, e.g. Halal and Kosher foods.

**Can we protect ourselves from all this? We can certainly rely on inspections and analytical tests. We are talking about identifying the DNA of the animal species present in a given product.**

Each species has a unique genetic profile, and is therefore different between species and species. That is not degraded in any way during the thermal and enzymatic processes that food products undergo sometimes, unlike the protein profile. **The technique** able to determine species-specific DNA sequences in animal tissues is called **Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)**. RT-PCR uses two specific primers which are complementary to the upstream and downstream sequences of the target sequence and a TaqMan probe complementary to the target DNA that initially does not fluoresce. During DNA amplification, the Taq Polymerase enzyme degrades the TaqMan probe and allows the emission of fluorescence. The "real-time" detection of the target sequence presence is possible thanks to the detection of the fluorescence

emitted by the TaqMan probe during subsequent PCR cycles.

**For over a decade, Laemmegroup laboratory has applied RT-PCR** to meat-based food products in order to identify the presence of meat belonging to the bovine, ovine, caprine, swine and equine species, as well as poultry and turkey. The Lab also applies the technique to milk and derivatives (e.g. cheese) – to identify the presence of milk belonging to bovine, ovine and caprine species – and to zootechnical foods, identifying the presence of DNA attributable to the swine species and poultry (*Gallus gallus* and turkey) to detect the use of PAT (Processed Animal Proteins) in feed.

**The method is qualitative and ISO 17025 accredited.**

**For meat-based food matrices and for the milk and derivatives (cheese) matrix, the method's Limit of Detection (LOD) is equal to 1% of DNA for each target species.**

**For zootechnical foods, the LOD is set to 0.1%.**

The method's LOD value was set on the basis of the European Commission Recommendation of 19 February 2013 and 27 March 2014, n. 180.

The figures in the previous pag. show three graphs, two of which show real cases of fraud due to the presence of different species, i.e. beef burger matrices and buffalo milk. The third graph shows the amplified curves of the target checks of the 7 detectable species.

**The possibility to rely on an extremely sensitive and specific technique such as RT-PCR should discourage any commercial fraud, protect the authenticity of many food products on the market and highlight any minimal accidental contamination that may represent a risk for everyone involved in the food chain.**

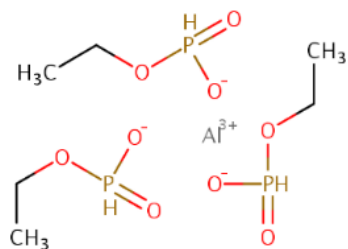
# Fosetil Al: normativa vigente ed interpretazione dei risultati analitici

di Paolo Pucci, Sales Area Manager di Tentamus Agriparadigma

I fosetil Al è un fungicida sistemico con azione protettiva contro lo sviluppo di funghi ed alcuni batteri patogeni vegetali in una vasta gamma di frutta, verdura e colture ornamentali.

Di seguito sono riportate le principali caratteristiche chimiche

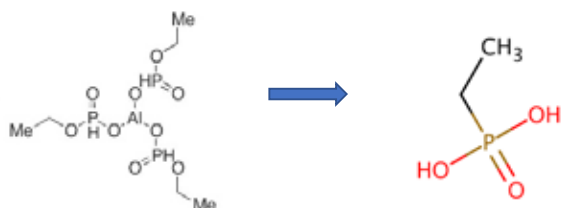
- formula:  $C_6H_{18}AlO_9P_3$  -  $[C_2H_5OP(H)O_2]_3Al$
- peso molecolare: 354,10
- fitofarmaco: fungicida organofosforato
- metabolita: acido fosfonico



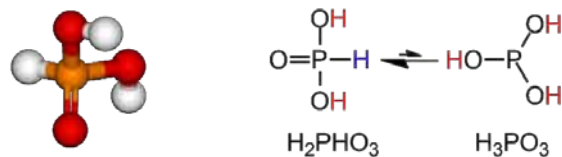
L'impiego del fosetil Al è autorizzato in tutti i paesi appartenenti all'Unione Europea - Regolamento di esecuzione (UE) 2020/421 - e l'autorizzazione all'impiego è valida fino al 30/04/2021.

Il Regolamento (UE) 2019/552 della Commissione del 4 Aprile 2019 che modifica gli allegati II e III del Regolamento (CE) 396/2005 per quanto riguarda i Livelli Massimi di Residui (abbreviato in LMR) riporta i valori per ogni combinazione fosetil Al - prodotto o gruppo di prodotto. Tale Regolamento specifica che i LMR del fosetil Al sono espressi nella seguente forma: Fosetil-Al (somma di fosetil, acido fosfonico e dei loro sali, espressa come fosetil). Il legislatore ha voluto fissare un LMR non solo per il principio attivo fosetil Al ma anche per il suo metabolita principale acido fosfonico. Il meccanismo di degradazione del fosetil Al può essere schematizzato secondo i seguenti step:

- successivamente all'applicazione del fosetil Al questo si degrada velocemente in acido etilfosfonico



- l'acido etilfosfonico nelle condizioni ambientali in cui si viene a trovare è altamente instabile e si degrada velocemente in acido fosfonico, in soluzione l'acido fosfonico è in equilibrio con l'acido fosforoso



Tautomeria della molecola di  $H_3PO_3$ : acido fosfonico (a sinistra) e acido fosforoso (a destra)

In conclusione sia il fosetil Al che il suo metabolita primario acido etilfosfonico si degradano molto velocemente per dare origine a molecole di acido fosfonico (fosforoso).

Il Regolamento (UE) 2019/552 prevede che i LMR siano espressi come fosetil, di conseguenza la concentrazione di acido fosfonico ottenuta analiticamente deve essere convertita in fosetil - attenzione non in fosetil Al-; la conversione viene eseguita semplicemente moltiplicando il valore analitico per il rapporto dei pesi molecolari:

P. M. fosetil Al ( $C_6H_{18}AlO_9P_3$ ) = 354,10

P. M. fosetil ( $C_2H_7O_3P$ ) = 110,05

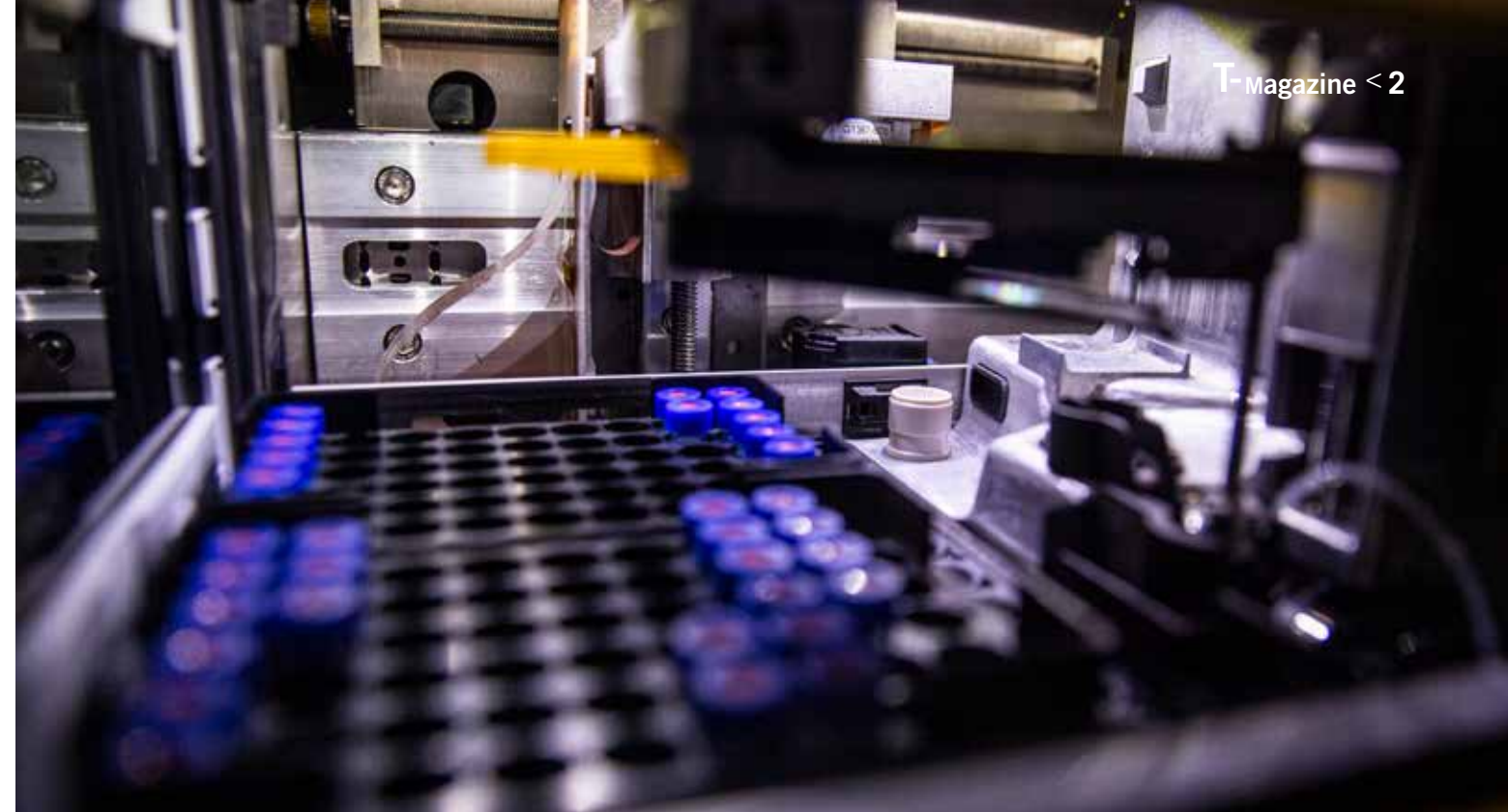
P. M. acido fosfonico ( $H_3PO_3$ ) = 81,99

Fattore di conversione da acido fosfonico a fosetil = 1,34

Per facilitare la comprensione e l'applicazione del fattore di conversione facciamo un semplice esempio:

- valore analitico acido fosfonico = 1,00 mg/Kg
- acido fosfonico espresso come fosetil = 1,34 mg/Kg (1,00 mg/Kg x 1,34)
- il valore numerico 1,34 mg/Kg ottenuto deve essere confrontato con il relativo LMR del prodotto.

La ricerca del fosetil Al come residuo è particolarmente importante anche per quanto riguarda gli alimenti che derivano da agricoltura biologica, ovvero tutti quei prodotti alimentari ottenuti nel rispetto del Regolamento (CE) n. 834/2007 relativo alla produzione biologica e



all'etichettatura dei prodotti biologici. Tale normativa all'art. 16 - Prodotti e sostanze usati in agricoltura e criteri per l'autorizzazione - riporta che deve essere individuato un elenco ristretto di prodotti fitosanitari che possono essere utilizzati in agricoltura biologica. Nello specifico il Regolamento (CE) 889/2008 riporta nell'allegato II l'elenco dei prodotti il cui impiego è consentito nell'ambito della produzione biologica, il fosetil Al non è presente nell'allegato sopra indicato e di conseguenza il suo impiego non è autorizzato in agricoltura biologica.

Nel mese di Settembre 2020 è stato pubblicato in Gazzetta Ufficiale il Decreto 10 Luglio 2020 Modifica del decreto 13 gennaio 2011, recante «Contaminazioni accidentali e tecnicamente inevitabili di prodotti fitosanitari in agricoltura biologica», i punti principali dell'allegato 2 per la corretta interpretazione dei dati analitici sono di seguito riportati:

1. in caso di rilevazione di acido fosfonico, in assenza di contemporanea rilevazione di acido etilfosfonico, ai prodotti biologici trasformati, non trasformati e composti si applica il seguente limite inferiore inteso come "soglia numerica" al di sopra della quale il lotto di prodotto risultato contaminato non può essere in nessun caso commercializzato con la certificazione di produzione biologica: acido fosfonico  $\geq 0,05$  mg/kg

Il limite inferiore indicato dal decreto è stato fissato considerando che il recente aggiornamento del metodo di analisi CVUA EU-RL-SRM «Quick Method for the Analysis of Numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS/MS Involving Simultaneous Extraction with Methanol (QuPPE-Method) - I. Food of Plant Origin (QuPPE-PO-Method)», Versione 10 (09.01.2019), Metodo 1.3 - permette di raggiungere per l'acido fosfonico il limite di quantificazione (LOQ) di 0,05 mg/kg.



2. in deroga al punto 1 e fino al 31 dicembre 2022 si applica il seguente limite inferiore:

- a. acido fosfonico  $\geq 0,5$  mg/kg per le colture erbacee;
- b. acido fosfonico  $\geq 1,0$  mg/kg per le colture arboree;

Il decreto ha ritenuto opportuno di prevedere un passaggio graduale alle nuove norme stabilendo un periodo durante il quale sono applicate soglie transitorie, comunque sensibilmente inferiori ai limiti massimi residuali ammessi nella produzione convenzionale, al fine di consentire agli operatori biologici e agli organismi di controllo l'adeguamento delle misure precauzionali e delle procedure attualmente esistenti. Le soglie transitorie applicate sono state differenziate fra colture arboree ed erbacee, le colture arboree infatti hanno un valore numerico del limite più alto in quanto è stata dimostrata un'elevata persistenza dell'acido fosfonico nelle parti legnose della pianta a seguito dei trattamenti effettuati in tempi precedenti alla conversione al metodo biologico.

5. in caso di rilevazione di acido etilfosfonico si applica il limite di 0,01 mg/kg. Per i prodotti biologici trasformati, tale limite si applica tenendo conto delle variazioni del tenore di residui determinato dalle operazioni di trasformazione, trasformazione e miscelazione o dalle operazioni di miscelazione, fatti salvi i limiti inferiori previsti dalla legislazione vigente per particolari categorie di prodotto

Nel caso in cui nei prodotti alimentari sia rilevata la presenza dell'acido etilfosfonico, questo può ragionevolmente derivare solo ed esclusivamente da trattamento con il principio attivo fosetil AI, come evidenziato nel processo di degradazione precedentemente riportato, di conseguenza il limite che deve essere applicato è uguale a 0,01 mg/Kg. Anche il regolamento tecnico RT-16 «Prescrizioni per l'accreditamento degli organismi che rilasciano dichiarazioni di conformità di processi e prodotti agricoli e derrate alimentari biologici ai sensi del regolamento CE n. 834/2007 e sue successive integrazioni e modifiche», nella versione in vigore fino al 31 dicembre 2018, considerava la presenza di acido etilfosfonico derivante esclusivamente da trattamento con fosetil AI, mentre interpretava la rilevazione del solo acido fosfonico nei prodotti biologici come un falso positivo delle determinazioni analitiche. Per i prodotti trasformati viene ribadito il concetto che la conformità del prodotto deve essere verificata considerando il fattore di concentrazione oppure di diluizione derivante dal processo di trasformazione della materia prima.

6. in deroga al punto 5, per i prodotti biologici vitivinicoli trasformati, fino al 31 dicembre 2022, in caso di rilevazione di acido etilfosfonico si ap-

plica il limite di 0,05 mg/kg tenuto conto della possibile trasformazione dell'acido fosfonico in etilfosfonico a causa della presenza di etanolo nei trasformati enologici.

Allo stato attuale delle conoscenze, per i prodotti vitivinicoli, non è possibile escludere che alcune operazioni di trasformazione possano determinare la produzione di acido etilfosfonico anche laddove tra le materie prime sia presente il solo acido fosfonico.

Il laboratorio Tentamus Agriparadigma srl sede di Ravenna ha accreditato ACCREDIA il metodo di analisi per la determinazione del fosetil AI che soddisfa i requisiti dei documenti precedentemente citati. Il limite di quantificazione (LOQ) è uguale a 0,010 mg/Kg per ciascun analita ed una particolare attenzione è stata dedicata all'espressione dei risultati nel rapporto di prova:

- a) acido etilfosfonico
- b) acido fosfonico
- c) fosetil AI (somma di fosetil, acido fosforoso e dei loro sali espressa in fosetil)

L'espressione del risultato nelle tre diverse forme permette una facile lettura ed interpretazione del dato analitico sia nel caso di prodotto convenzionale - espressione del risultato nella forma c - che nel caso di prodotto derivante da agricoltura biologica - espressione del risultato nelle forme a e b.

Il metodo è accreditato ACCREDIA nelle seguenti matrici: *Alimenti di origine vegetale ad alto contenuto di acqua, alimenti di origine vegetale ad alto contenuto di acido e acqua (agrumi, pomacee, drupacee, bacche e piccola frutta, frutta varia, ortaggi a radice e tubero, ortaggi a bulbo, ortaggi a frutto, cavoli, ortaggi a foglia, erbe fresche e fiori commestibili, foglie, legumi freschi, ortaggi a stelo, funghi) freschi e loro trasformati - Alimenti di origine vegetale ad alto contenuto di olio (frutta a guscio, avocado, semi e frutti oleaginosi) e loro trasformati. Alimenti di origine vegetale ad alto contenuto di zucchero e a basso contenuto di acqua (frutta disidratata, marmellata di frutta), miele - Alimenti di origine vegetale ad alto contenuto di amido e/o proteine, a basso contenuto di acqua e grasso e loro trasformati (Cereali, legumi secchi, mangimi, pane, pasta, prodotti da forno).*

Il metodo di analisi per la determinazione del fosetil AI è il CVUA EURL-SRM Polar pesticides\_Version 10.1 Method 1.3 2019, la rivelazione finale è eseguita tramite cromatografia liquida con rivelatore triplo quadripolo (LC/MS/MS) che permette di ottenere il LOQ necessario a soddisfare le normative attualmente esistenti.



## Fosetyl-Al: current legislation and interpretation of analytical results

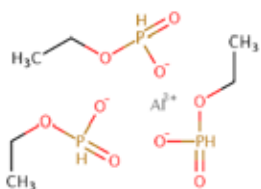
by Paolo Pucci, Sales Area Manager at Tentamus Agriparadigma



**F**osetyl-Al is a systemic fungicide with protective action against the development of fungi and some plant pathogenic bacteria in a wide range of fruit, vegetables and ornamental crops.

The main chemical characteristics are shown below:

- formula:  $C_6H_{18}AlO_9P_3$  -  $[C_2H_5OP(H)O_2]_3Al$
- molecular weight: 354.10
- pesticide: organophosphorus fungicide
- metabolite: phosphonic acid

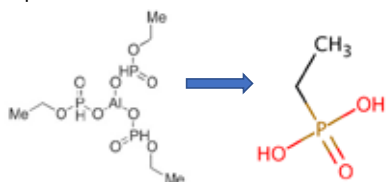


The use of fosetyl-Al is authorised in all EU countries – Commission Implementing Regulation (EU) 2020/421 – and the authorisation for use is valid until 30/04/2021.

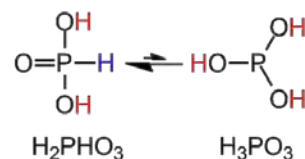
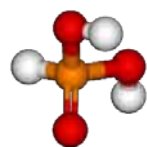
Commission Regulation (EU) 2019/552 of 4 April 2019 amending Annexes II and III of Regulation (EC) 396/2005 on Maximum Residue Levels (MRLs) indicates the values for each fosetyl-Al combination – i.e. product or product group. This Regulation specifies that the MRLs of fosetyl-Al are expressed in the following form: *fosetyl-Al (sum of fosetyl, phosphonic acid and their salts, expressed as fosetyl)*. The legislator set an MRL not only for the active substance fosetyl-Al but also for its main metabolite, the phosphonic acid.

The degradation mechanism of fosetyl-Al can be schematised according to the following steps:

- as soon as fosetyl-Al is applied, it rapidly degrades into ethylphosphonic acid



- in the environmental conditions in which it is found, ethylphosphonic acid is highly unstable and rapidly degrades into phosphonic acid. In solution, the phosphonic acid is balanced with phosphorous acid



*Tautomerism of the  $H_3PO_3$  molecule: phosphonic acid (left) and phosphorous acid (right)*

In conclusion, both fosetyl-Al and its primary metabolite ethylphosphonic acid degrade very quickly to then generate phosphonic (phosphorous) acid molecules.

According to the Commission Regulation (EU) 2019/552, MRLs should be expressed as fosetyl. Consequently, the concentration of phosphonic acid obtained analytically should be converted into fosetyl – not to fosetyl-Al; the conversion is performed simply by multiplying the analytical value by the molecular weight ratio:

M.W. fosetyl-Al ( $C_6H_{18}AlO_9P_3$ ) = 354.10  
M.W. fosetyl ( $C_2H_7O_3P$ ) = 110.05  
M.W. phosphonic acid ( $H_3PO_3$ ) = 81.99  
Phosphonic acid to fosetyl conversion factor = 1.34

To facilitate understanding and application of the conversion factor, please see the example below:

- phosphonic acid analytical value = 1.00 mg/kg

- phosphonic acid expressed as fosetyl = 1.34 mg/kg (1.00 mg/kg x 1.34)
- the numerical value 1.34 mg/kg obtained should be compared with the relative MRL of the product

Detecting fosetyl-Al as a residue is also particularly important when it comes to foods produced in organic farming, i.e. all those food products complying with the Council Regulation (EC) No 834/2007 in relation to organic production and labelling of organic products. The Art. 16 of this Regulation, which is titled *Products and substances used in farming and criteria for their authorisation*, states that a restricted list of plant protection products can be used in organic farming. Specifically, Annex II of the Commission Regulation (EC) No 889/2008 includes the list of products whose use is permitted in organic production. Fosetyl-Al is not indicated in that list and its use is consequently not authorised in organic farming.

In September 2020, the Ministerial Decree (MD) of 10 July 2020 'Amendment of the MD of 13 January 2011, including "Accidental and technically unavoidable contamination of plant protection products in organic farming"' was published in the Italian Official Gazette. The main points of its Annex II for the correct interpretation of analytical data are shown below:

1. if phosphonic acid and ethylphosphonic acid are not detected together, the following lower limit is applied to processed, unprocessed and composite organic products, intended as a "numerical threshold" above which the resulting batch of product contaminated can in no case be marketed with the certification of organic production: phosphonic acid  $\geq 0.05$  mg/kg.

The lower limit indicated by the MD was set considering that the recent update of the analysis method CVUA EU-RL-SRM "Quick Method for the Analysis of Numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS / MS Involving Simultaneous Extraction with Methanol (QuPPE-Method) - I. Food of Plant Origin (QuPPE-PO-Method)", Version 10 (09.01.2019), Method 1.3 - allows phosphonic acid to reach the Limit of Quantification (LOQ) of 0.05 mg/kg.

2. by way of derogation of point No 1, and until 31 December 2022, the following lower limit shall apply:

- a. phosphonic acid  $\geq 0.5$  mg / kg for herbaceous crops;
- b. phosphonic acid  $\geq 1.0$  mg / kg for tree crops.

The MD also states that a gradual shift to the new standards is necessary, establishing a period during which transition thresholds are applied although significantly lower than the MRLs allowed in conventional production. This is applied in order to allow organic operators and control bodies to adapt to the precautionary measures and procedures currently in place.

The transition thresholds applied have been differentiated between tree and herbaceous crops. In fact, tree crops have a higher limit as a high persistence of phosphonic acid has been showed in the woody parts of the plant following treatments carried out prior to conversion to the organic method.

5. if ethylphosphonic acid is detected, the limit of 0.01 mg/kg is applied. For processed organic products, this limit is applied taking into account the variations in the residue content determined by the processing, transformation and blending operations, except for the lower limits provided for by the legislation in force for particular product categories.

Ethylphosphonic acid is detected in food products only when they are treated with the active ingredient fosetyl-Al – as per the degradation process reported above in this text. Consequently, the limit that should be applied is equal to 0.01 mg/Kg. Also the Accredia technical regulation RT-16 "Requirements for the accreditation of bodies that issue declarations of conformity of processes and organic agricultural products and foodstuffs pursuant to Council Regulation (EC) No 834/2007 and its subsequent additions and amendments", in the version in force until 31 December 2018, considered the presence of ethylphosphonic acid deriving exclusively from treatment with fosetyl-Al. And instead interpreted the detection of phosphonic acid only in organic products as a false positive in analytical determinations. For processed products, it is stressed that the conformity of the product must be verified by considering the concentration or dilution factor deriving from the transformation process of the raw material.

6. by way of derogation of point 5, for processed organic wine products, until 31 December 2022, if ethylphosphonic acid is detected, the limit of 0.05 mg/kg is applied, taking into account the possible transformation of phosphonic acid into ethylphosphonic acid due to the presence of ethanol in winemaking processes.

In the current state of knowledge, for vitivincultural products, it is not possible to exclude that some processing operations may lead to the production of ethylphosphonic acid even where only phosphonic acid is present in the raw materials.

The Tentamus Agriparadigma srl laboratory in Ravenna has accredited (according to ISO/IEC 17025) the method of analysis for the determination of fosetyl-Al which satisfies the requirements indicated in the documents mentioned above.

The limit of quantification (LOQ)

is equal to 0.010 mg/kg for each analyte and particular attention was paid to the expression of results in the test report:

- a) ethylphosphonic acid
- b) phosphonic acid
- c) fosetyl-Al (sum of fosetyl, phosphonic acid and their salts expressed as fosetyl)

The expression of results in three different forms allows easy reading and interpretation of the analytical data both in the case of a conventional product (expression of results in form c) and in the case of a product from organic farming (expression of results in forms a and b).

The method is accredited by ACCREDIA in the following matrices: - *Foods of plant origin with a high content of water, foods of plant origin with a high content of acid and water (citrus fruits, pome fruit, stone fruit, berries and small fruit, various fruit, root and tuber vegetables, bulb vegetables, fruit vegetables, cabbage, leaf vegetables, fresh herbs and edible flowers, fresh leaves, legumes, stem vegetables, mushrooms) both fresh and their processed derivatives - Foods of plant origin with a high oil content (nuts, avocado, seeds and oleaginous fruits) and their processed derivatives. - Foods of plant origin with a high sugar content and low water content (dehydrated fruit, fruit jam), honey. - Foods of plant origin with a high content of starch and/or protein, low in water and fat and their processed products (Cereals, legumes, feed, bread, pasta, baked goods).*

The analysis method for the detection of fosetyl-Al is the CVUA EURL-SRM Polar pesticides\_Version 10.1 Method 1.3 2019. The final detection is performed by liquid chromatography with triple quadrupole detector (LC-MS/MS) which allows to obtain the necessary LOQ to comply with the current regulations.

## Studi di efficacia: strumento per il controllo dell'attività biocida e virucida dei nuovi prodotti disinfettanti

di Matteo Calassanzio, Analista specializzato nel settore microbiologico di Renolab

Il mercato dei prodotti disinfettanti in ambito clinico, lavorativo e domestico è in continua crescita soprattutto a causa della pandemia provocata dal virus SARS-CoV-2, che ha favorito di fatto lo sviluppo di nuove tecnologie, la riconversione industriale di molte aziende e la consapevolezza del pubblico nei confronti di una più attenta igiene collettiva.

Infatti, ultimamente, viene richiesto di condurre protocolli di pulizia e sanificazione più rigorosi, atti a proteggere le opere comuni ed il pubblico dal SARS-CoV-2, con l'auspicio di estendere l'utilizzo di questi prodotti nelle nostre case.

La maggior parte dei prodotti recentemente più utilizzati per la disinfezione degli agenti microbiologici patogeni, come nel caso dei virus, contengono sostanze con principio attivo a base di:

- isopropanolo, etanolo, ipoclorito di sodio, ammonio quaternario, miscele di perossido di idrogeno, acido perossiacetico, acido ottanoico, sostanze a base fenolica, glicole trietilenico, acido L-lattico, acido glicolico o discolorisocianurato diidrato, ecc.

Inoltre, tutti i disinfettanti ed i prodotti antisettici sono soggetti al regolamento europeo sui biocidi (BPR) 528/2012, che ha come obiettivo quello di armonizzare il mercato a livello dell'Unione Europea, di semplificare

l'approvazione dei principi attivi e l'autorizzazione dei biocidi, mantenendo allo stesso tempo un livello di tutela alto sia nei confronti dell'uomo che dell'ambiente. Secondo le autorità delle nazioni europee, tutti i disinfettanti devono avere un effetto antimicrobico documentato in conformità con le attuali norme europee e quindi devono essere testati ed approvati secondo gli standard europei.

I test microbiologici, soprattutto nel caso degli studi di efficacia, consentono di verificare o confermare oggettivamente le prestazioni di un determinato prodotto con strumenti e tecniche scientifiche specifiche.

L'obiettivo principale di questo tipo di studi è determinare le prestazioni di un prodotto sviluppato da uno sponsor per un determinato "claim".

Al fine di ottenere valori quantitativi affidabili, lo sviluppo dello studio valuta l'efficacia di un prodotto, utilizzando metodi standard validati a livello europeo.

### Matteo Calassanzio

Analista specializzato in campo microbiologico. Laureato nel 2015 in biotecnologie agro-alimentari e biotrasformazioni industriali. Ottiene un PhD nel 2020, presso l'Università di Bologna, in scienze e tecnologie agrarie, ambientali ed alimentari, dove sviluppa competenze trasversali anche in microscopia (TEM e SEM), colture microbiche e cellulari, nonché sullo sviluppo di tecniche molecolari e di sequenziamento di nuova generazione (NGS). Attualmente in Renolab, si occupa di studi in GLP e studi di efficacia nel settore della microbiologia.



Matteo Calassanzio is an analyst specialised in the field of Microbiology. In 2015 he graduated in agro-food biotechnology and industrial biotransformation. In 2020 he obtained his PhD in Agricultural, Environmental and Food Sciences and Technologies at the University of Bologna, growing transversal skills also in microscopy (TEM and SEM), microbial and cell cultures, as well as in the development of molecular and next generation sequencing (NGS) techniques. In Renolab, he is currently involved in GLP studies and efficacy studies in the Microbiology sector.

Renolab è un laboratorio che opera secondo le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL), equipaggiato con strumentazioni e personale specializzato nella manipolazione di materiale infettivo di rischio moderato ed è, quindi, in grado di processare tali test. In generale, vengono richiesti test in sospensione e test di disinfezione delle superfici per la valutazione dell'effetto battericida, fungicida, levuricida, sporicida e virucida di disinfettanti chimici e antisettici secondo differenti norme EN (come ad esempio quelle impiegate in campo medico, EN 13727, EN 13624, EN 16615, 14476, 16777, quindi nel settore sanitario, ospedali, case di cura, centri odontoiatrici oppure ad esempio le EN 1656 e EN 1657 per il settore veterinario).

I prodotti per la disinfezione delle mani devono superare i test in accordo con le EN 1500, EN 1499, mentre le EN 1276, EN 1650, EN 13697 sono necessarie per dimostrare l'efficacia di prodotti utilizzati in campo alimentare, industriale, domestico ed istituzionale.

Il personale di Renolab si impegna, inoltre, a supportare la scelta dello sponsor verso il "claim" da analizzare, personalizzando le condizioni del test di efficacia in funzione delle caratteristiche del prodotto affinché siano soddisfatte tutte le prove indicate dalle linee guida EU.

**RENOLAB**  
GLP  
A Tentamus Company



## Efficacy studies: a tool for determining the biocidal and virucidal activity of new disinfectant products



by Matteo Calassanzio, Microbiology Specialist at Renolab

**T**he market for disinfectant products (in clinical, work and home settings) is constantly growing mainly due to the SARS-CoV-2 virus pandemic, which has actually favoured the development of new technologies, the industrial reconversion for many companies and the public's awareness towards more careful hygiene practices.

In fact, to protect common spaces and the public from SARS-CoV-2, it is currently required to perform stricter cleaning and sanitisation protocols, hoping to extend the use of disinfectant products in our homes. Most of the products which have been recently used for disinfecting pathogenic microbiological agents, such as in the case of viruses, contain substances with an active ingredient based on:

- isopropanol, ethanol, sodium hypochlorite, quaternary ammonium salts, mixtures of hydrogen peroxide, peroxyacetic acid, octanoic acid, phenolic based substances, triethylene glycol, L-lactic acid, glycolic acid or dichloroisocyanurate dihydrate, etc.

Furthermore, all disinfectants and antiseptic products are subject to the Biocidal Products Regulation (BPR, Regulation (EU) 528/2012), which goal is to harmonise the market at the European Union level, to simplify the approval of active ingredients and the authorisation of biocides, as well as maintaining a high level of protection both towards humans and the environment.

According to the authorities of the European nations, all disinfectants must have an antimicrobial effect certified in accordance with the current European norms. Therefore, they must be tested and approved according to the European standards. Especially in the case of efficacy studies, microbiological tests allow to objectively verify or confirm the performance of a given product using specific scientific tools and techniques. The main goal of this type of study is to determine the performance of a product developed by a sponsor for a specific "claim". In order to obtain reliable quantitative values, the development of the study evaluates the efficacy of a product, using standard methods validated at the European level.

Renolab is a laboratory which operates according to the Good Laboratory Practices (GLP) and is able to perform microbiological tests thanks to its equipment and its personnel specialised in the handling of infectious material of moderate risk. Suspension tests and surface tests are those generally used to evaluate the bactericidal, fungicidal,

levuricidal, sporicidal and virucidal effect of chemical disinfectants and antiseptics according to different EN standards – such as those applied in the medical field (i.e. in the health sector, hospitals, nursing homes, dental centres) e.g. EN 13727, EN 13624, EN 16615, EN 14476, EN 16777, or in the veterinary sector (e.g. EN 1656 and EN 1657).

Hand disinfectants must comply with EN 1500 and EN 1499 standards. Tests to verify the compliance with EN 1276, EN 1650 and EN 13697 standards are necessary to demonstrate the efficacy of products used in the food, industrial, domestic and institutional fields.

Renolab's personnel is also committed to support the choice of the sponsor towards the "claim" to be analysed, customising the efficacy test's criteria according to the characteristics of the product so that all tests indicated by the EU guidelines are met.

**RENOLAB**  
GLP  
A Tentamus Company



## La crisi come strumento di rinnovamento

di Mirko Magnani, Purchase Manager di Tentamus Italia

**“ Non possiamo pretendere che le cose cambino se continuiamo a fare le stesse cose. La crisi è la più grande benedizione per le persone e le nazioni, perché la crisi porta progressi ”**  
(Albert Einstein)

Le parole di Albert Einstein ci aiutano a capire come affrontare in maniera propositiva il momento difficile che ha colpito il mondo intero.

Possiamo scegliere di vivere questo periodo di incertezza verso il futuro in maniera passiva oppure affrontare la crisi come una sfida, un'opportunità di crescita non solo personale ma anche aziendale.

Le imprese cercano di dare nuova forma al proprio business, per allinearsi all'evoluzione della domanda ed individuare nuovi percorsi di sviluppo.

Tutto questo, impone un programma di rinnovamento e revisione delle strategie. I piani devono essere adatti per l'oggi ma anche capaci di evolversi con il modificarsi delle condizioni sanitarie ed economiche a livello globale.

La riorganizzazione dei processi aziendali è, quindi, necessaria per superare l'attuale fase di incertezza: *l'attesa non è una soluzione.*

Il Gruppo Tentamus in Italia, in questo momento storico, ha scelto di continuare ad investire, non solo nella parte strumentale ma anche nelle proprie strutture, prevedendo ampliamenti ed ammodernamenti nei building di Tentamus Agriparadigma a Ravenna (RA) e Laemmegroup a Moncalieri (TO). Il Gruppo, notoriamente attento ad adeguare la propria area tecnica con la strumentazione all'avanguardia necessaria per adeguarsi alle esigenze di mercato, ha deciso, contestualmente, di destinare risorse all'ampliamento degli spazi e all'ammodernamento di quelli esistenti con la volontà di migliorare i flussi operativi, di aumentare la capacità produttiva e, non ultimo, di rendere gli ambienti di lavoro sempre più worker friendly.

Entrando nel dettaglio, in Tentamus Agriparadigma, oltre ad aver acquisito ulteriori 300 mq destinati al raddoppio della capacità produttiva del settore diossine, sono stati effettuati diversi interventi di ammodernamento ed efficientamento energetico.

La sostituzione degli infissi con elementi di ultima generazione, la nuova coibentazione del tetto, la tinteggiatura di tutte le superfici esterne e la prossima sostituzione dei corpi illuminanti interni con soluzioni led a basso impatto energetico, donano allo storico building, nato negli anni 70, un aspetto moderno e lo rilanciano a struttura contemporanea pronta per gestire un aumento del carico di lavoro.



## Mirko Magnani

Purchase Manager di Tentamus Italia

Con oltre 15 anni di esperienza nel settore acquisti, nel 2016 entra in Tentamus Agriparadigma con l'obiettivo di razionalizzare l'intero processo degli approvvigionamenti. Dal 2018, a seguito del processo di espansione che ha portato il Gruppo Tentamus in Italia ad avere 5 laboratori, dislocati su tutto il territorio nazionale, è il Purchase Manager di Tentamus Italia.

**“Gli stimoli e gli obiettivi sono il motore delle mie giornate e mi permettono di approcciare con energia e passione le sfide quotidiane che, ogni giorno, offre un settore così sfidante”.**



Purchase Manager in Tentamus Italy

With over 15 years of experience in the purchasing sector, he joined Tentamus Agriparadigma in 2016 with the aim of rationalising the entire procurement process.

Following the expansion process that has led Tentamus Group in Italy to have 5 laboratories located throughout the Country, he became Purchase Manager in Tentamus Italy in 2018.

**“My goals and motivations are what keeps me going. They allow me to approach, with energy and passion, the daily challenges that this demanding sector offers every day.”**

In Laemmegroup, l'intervento è stato diverso; si è scelto di creare una nuova area di oltre 400mq interamente dedicata agli uffici, andando a liberare pari spazi nella

struttura attuale di cui parte sarà destinata alla creazione di un nuovo e veloce flusso interno dei campioni e parte all'aumento della capacità produttiva.



La nuova area, dotata di tecnologie di ultima generazione, agevolerà la condivisione delle informazioni tra gli operatori e consentirà, di conseguenza, una riduzione dei tempi di risposta ai clienti; inoltre, la nuova disposizione velocizzerà la processazione dei campioni diminuendo tempi di latenza ed incrementando le performance aziendali. Quanto fatto è l'espressione della progressiva e continua crescita del Gruppo sul territorio e dell'attenzione che viene data, non solo all'impatto ambientale ed al comfort dei propri dipendenti, ma all'aumento della capacità produttiva, per soddisfare, in modo più ampio e puntuale, ogni richiesta dei nostri clienti.

**Tentamus®**  
Labs for Life



## Crisis as a tool for renewal

by Mirko Magnani, Purchase Manager in Tentamus Italy



**“ We can't expect things to change, if we continue doing the same things. Crisis is the greatest blessing for people and nations, because crisis brings on progress”**

(Albert Einstein)

Albert Einstein's words help us understand how to face, in a proactive way, the difficult times the whole world is going through.

We can choose to experience this period of uncertainty towards the future in a passive way or to face crisis as a challenge and as an opportunity for personal and business growth. Companies are trying to give a new shape to their business in order to align with changing demand and to identify new development paths. All of this requires a renewal programme and a revision of strategies.

The plans should be suitable for today's needs but also flexible enough to evolve as health and economic conditions change globally.

The reorganisation of business processes is therefore necessary to overcome this current phase of uncertainty – waiting is not a solution. In this historic moment, the Tentamus Group in Italy has chosen to continue to invest not only in laboratory equipment but also in its own facilities, expanding and modernising the buildings of Tentamus Agriparadigma in Ravenna and Laemmegroup in Moncalieri.

In order to adapt to the market's needs, the Group has always provided its technical department with the necessary cutting-edge equipment.

At the same time, it has decided to allocate resources to the expansion of spaces and the modernisation of existing ones – with the aim to improve operational flows, to increase production capacity and, last but not least, to make work environments increasingly worker-friendly.

Going into detail, in addition to having acquired an additional 300 square metres for doubling the production capacity of the dioxin sector, various modernisation and energy-efficiency

interventions were carried out in Tentamus Agriparadigma.

The replacement of fixtures with the latest generation elements, the new insulation of the roof, the newly painted external surfaces, as well as the forthcoming replacement of the internal lighting bodies with low-energy impact LED solutions, give the Tentamus Agriparadigma's building from the 70s a modern appearance as it fully becomes a contemporary facility ready to handle an increased workload.

In Laemmegroup the intervention was different. We decided to create a new area of over 400 square metres entirely dedicated to offices, freeing up equal space in the current facility. This space will be used to create a new and fast internal flow of samples and to increase production capacity.

The new area, equipped with the latest generation technologies, will facilitate the sharing of information between operators and will consequently allow a reduction in customer response times.

In addition, the new arrangement will speed up sample processing by decreasing latency times and increasing the company's performance.

The work that has been done recently shows the progressive and continuous growth of the Group on the Italian territory and the attention given not only to the environmental impact and to the comfort of its employees but also to the increase in production capacity.

In this way, every request from our Clients can be satisfied in full and on time.

## TENTAMUS NEL MONDO

## L'impatto sulle esportazioni di frutta e verdura greca utilizzando LC-HRMS nel flusso di lavoro di routine per l'analisi dei residui di pesticidi

di Ioannis Kaidatzis, Technical Manager di AGROLAB RDS e George Stratakis, Commercial Manager di AGROLAB RDS



La Grecia è uno dei paesi più importanti per la produzione di frutta e verdura in Europa, e la maggior parte delle coltivazioni è destinata all'esportazione negli altri paesi europei.

Le rigide normative europee, così come i requisiti interni richiesti dai dettaglianti europei in materia di residui di pesticidi, obbligano i produttori greci ad analizzare i prodotti prima della loro esportazione in laboratori accreditati e qualificati.

Agrolab RDS è un laboratorio accreditato ISO 17025, QS (*Qualität und Sicherheit GmbH*) e BNN (*Bundesverband Naturkost Naturwaren*) e vanta una grande esperienza nel campo dell'analisi e valutazione dei risultati analitici di pesticidi su frutta e verdura. L'azienda analizza più di 15.000 campioni l'anno appartenenti a tutte le categorie vegetali (ad alto contenuto di acqua, ad alto contenuto di grassi, ecc.) per circa 2.000 clienti, quali dettaglianti, esportatori e produttori agricoli. Per ottenere risultati rapidi, precisi e affidabili, Agrolab RDS utilizza la tecnica della spettrometria di massa ad alta risoluzione LC-Q-TOF-MS, nuovo e potente strumento per un controllo più rapido e completo dei residui di pesticidi in frutta e verdura. Il vantaggio principale della suddetta tecnica è la raccolta dei dati degli spettri di massa con caratteristiche di alta risoluzione, sensibilità, velocità, ed elevata precisione di massa. La tecnica può essere

utilizzata per analisi mirate e screening. Il laboratorio ha elaborato un programma LC di venti minuti, con scansione completa MS ed MS2. La banca dati dei pesticidi utilizzata, la quale contiene circa 800 pesticidi e metaboliti, consente un ampio campo di screening. Il campione viene preparato tramite metodica QuEChERS. Per quanto riguarda l'analisi target per la quantificazione dei pesticidi, il metodo è stato accreditato per 411 pesticidi secondo i requisiti di SANTE 11945/2015 e rispetta tutte le specifiche richieste. I criteri di identificazione sono: il tempo di ritenzione, la massa esatta del precursore, la presenza di un frammento qualificatore con massa esatta, il pattern isotopico e fino a 3 transizioni con una ratiocompatibile.

Il metodo, essendo preciso, veloce, affidabile ed economico, può essere utilizzato routinariamente per la rilevazione dei residui di pesticidi risultando uno strumento molto efficace nel mercato sempre crescente delle analisi agroalimentari finalizzate all'esportazione. Se confrontiamo i dati di produzione ed esportazione di frutta e verdura di origine Greca degli ultimi due anni è evidente che il settore è in crescita significativa. (Vedi Tab. 1 e Tab. 2)

Nel favorire questa crescita, siamo certi che Agrolab abbia avuto un ruolo importante fornendo ai propri clienti le informazioni, basate sull'analisi degli esiti analitici, delle possibili destinazioni di esportazione. Per fornire questo servizio, Agrolab RDS indica nei propri certificati di analisi la conformità alla normativa europea e alle specifiche interne dei vari retailer.

In ogni rapporto di prova emesso, è possibile infatti verificare le seguenti informazioni:

- Conformità al LMR legale
  - Conformità a xx% del LMR applicabile
  - Conformità a xx% della somma dei LMR applicabili
  - Conformità al numero massimo di residui rilevabili
  - Conformità alla dose acuta di riferimento (ARfD)
  - Conformità alla Blacklist delle sostanze attive rilevate
  - Conformità alle linee guida BNN per i prodotti da Agricoltura Biologica
- In questo modo, i rapporti di prova forniscono una panoramica della commerciabilità dei prodotti analizzati, diventando veri e propri passaporti dei prodotti ortofrutticoli Greci destinati all'esportazione.

**Il servizio di analisi multiresiduale dei residui di pesticidi e valutazione della conformità al mercato Europeo ed agli standard dei vari retailer è fornito anche da Tentamus Agriparadigma, ed è richiesto ed apprezzato da molti clienti sia nell'ambito della produzione primaria, GDO e alimenti derivanti da agricoltura biologica.**

**Tabella 1:** Esportazioni ortofr. Gen-Apr 2020 vs 2019. / **Table 1:** Fruit and vegetable exports – Jan-Apr 2020 versus 2019.  
**Fonte/Source:** Incofruit Hellas based on data from Elstat 10.6.20, published on Ethnos Newspaper.

A/A	Prodotto/Product	2020		2019		Variazione/Variation %	
		Valore/Value (€)	Quantità/Quantity (in tons.)	Valore/Value (€)	Quantità/Quantity (in tons.)	in €	in tons.
1	Patate/Potatoes	7.761.449	23.986	10.952.074	23.950	-29%	0,1%
2	Pomodori/Tomatoes	5.530.200	18.260	5.984.454	16.258	-7,6%	12,3%
3	Cetrioli/Cucumbers	17.057.300	21.252	13.198.055	20.435	29,2%	4,0%
4	Peperoni/Peppers	12.965.492	7.601	9.944.833	5.712	30,4%	33,1%
5	Arance/Oranges	96.204.169	202.150	61.912.285	160.204	55,4%	26,2%
6	Mandarini/Mandarins	15.956.136	27.966	12.657.651	29.610	26,1%	-5,6%
7	Limoni/Lemons	7.700.190	10.206	4.178.691	8.073	84,3%	26,4%
8	Mele/Apples	13.139.040	25.705	12.244.728	28.450	7,3%	-9,6%
9	Fragole/Strawberries	41.658.275	32.330	34.815.128	28.209	19,7%	14,6%
10	Kiwi/Kiwis	87.256.067	84.299	65.378.965	75.417	33,5%	11,8%

## TENTAMUS IN THE WORLD

## Impact in the exports of Greek Fruits & Vegetables using LC HRMS in routine workflow for analysis pesticides residue

by Ioannis Kaidatzis, Technical Manager at AGROLAB RDS and George Stratakis, Commercial Manager at AGROLAB RDS



Greece is one of the most important producing countries of fruit and vegetables in Europe, and most of the production is exported to the other European countries.

The strict European rules as well as the internal requirements of the European retailers concerning the pesticides residues, obliges the Greek producers to analyse the products prior to their export, in accredited and qualified labs.

Agrolab RDS is an ISO 17025 accredited, QS and BNN approved lab and has extensive experience in the field of analysis and in the evaluation of the analytical results of pesticide residues on fruit and vegetables. Each year, the company analyses more than 15.000 individual samples of all categories of vegetables (high water content, high fat content etc) for around 2.000 clients, such as retailers, exporters and agricultural producers.

In order for Agrolab RDS to achieve prompt, accurate and reliable results, it uses the technique of high-resolution mass spectrometry LC-Q-TOF-MS, which is a new powerful tool for faster and more complete control of pesticide residues in fruits and vegetables. The main advantage of the technique is the spectral data collection with high resolution ability, high mass accuracy, high sensitivity and high speed. The technique can be used for targeted analysis and screening.

The laboratory has developed a twenty

minutes LC program, with full scan MS and MS2. The pesticides data base currently used, containing about 800 pesticides and metabolites, allows a large screening scope. Sample preparation is based on the QuEChERS method. Regarding the target analysis for the quantification of pesticides, the method has been accredited for 411 pesticides in accordance with the requirements of SANTE 11945/2015 and fulfills all the required specifications. The identification criteria are: the retention time, the precursor accurate mass, presence of a qualification fragment with accurate mass, isotopic pattern and up to 3 transitions with a suitable ratio. The method is quick, reliable, cheap and sensitive, and can be therefore used for routine analysis for the determination of pesticide residues, resulting in a very effective tool in the ever-growing market of agri-food analysis aimed at export.

If we compare the production and export data of fruit and vegetables of Greek origin from the last two years, it is evident that the sector is growing significantly. (Tab. 1 and Tab. 2)

Whilst encouraging this growth, we are confident that Agrolab RDS has played

an important role by providing its clients with information on possible export destinations on the basis of the analysis of analytical results. Agrolab RDS offers this service by releasing certificates of analysis which are compliant with European legislations and internal specifications of the various retailers.

In each test report issued by the laboratory, it is possible to verify the following information:

- Compliance with the legal MRL
  - Compliance with xx% of the applicable MRL
  - Compliance with xx% of the sum of the applicable MRLs
  - Compliance with the maximum number of detectable residues
  - Compliance with Acute Reference Dose (ARfD)
  - Compliance with the Blacklist of any detected active substance
  - Compliance with BNN guidelines for products from organic farming
- In this way, the test reports provide an overview of the marketability of the analysed products, becoming real 'passports' for Greek fruit and vegetables for export.

**The service of multiresidue analysis of pesticide residues and assessment of compliance with the European market and with the standards of the various retailers is also provided by Tentamus Agriparadigma. And it is requested and highly appreciated by many clients in the primary production, large-scale retailing and food from organic farming.**

**Tabella 2:** Esportazioni di frutta dalla Grecia alla Germania, Gen-Apr 2020 vs 2019.

**Table 2:** Fruit exports from Greece to Germany – Jan-Apr 2020 versus 2019.

**Fonte/Source:** Financial & Commercial Service of Greek Embassy in Berlin based on data from German Federal Statistics Bureau.

	2019	2020	Variazione/Variation %
Quantità/Quantity (in tons.)	55.677	58.340	4,78
Valore/Value (in K€)	50.935	80.769	58,57



## L'esperto **RISPONDE** Ask the Expert



**Cari Lettori, all'interno di questo spazio, abbiamo voluto racchiudere alcune, fra le tante, domande che ci avete inviato in questi mesi. Continuate a scrivere al vostro Laboratorio di riferimento; i nostri tecnici saranno a vostra disposizione per rispondere alle vostre domande. Le più frequenti e significative, verranno riprese nel prossimo numero in uscita a giugno 2021.**

*Dear readers, in this column, we wanted to include some of the many questions you have sent us in the past few months. Please continue to send queries to your reference laboratory; our technicians will be at your disposal to answer your questions. The most frequent and important questions will be featured in the next issue coming out in June 2021.*

### **Il Regolamento (UE) 749/2020 ha aggiornato i livelli massimi di residui di Clorato negli alimenti. Come comportarsi con l'acqua presente nel ciclo produttivo degli alimenti?**

Il periodo nel quale stiamo vivendo comporta l'utilizzo di disinfettanti a base di cloro, sempre più imponente sia durante la lavorazione degli alimenti sia nella rete idrica. Il clorato si forma come sottoprodotto quando si usano cloro, biossido di cloro o ipoclorito per la disinfezione dell'acqua.

L'acqua, oltre ad essere impiegata nel lavaggio di frutta e verdura, entra nel processo produttivo e risulta essere contenuta in alimenti quali: ortofrutta di IV gamme, puree, zuppe, verdure in scatola, formaggi, gelati, macedonie, frutta sciropata, succhi e bevande.

I livelli massimi di residui (LMR) fissati per alcuni alimenti sono del tenore di 0,05 mg/kg (esempio: agrumi, pomacee, drupacee, cereali, semi oleaginosi); nel caso di alimenti in cui viene aggiunta acqua nella fase di lavorazione, i residui riscontrati nei campioni analizzati superano i limiti di legge per le materie prime.

Il Regolamento 749/2020, oltre a fissare LMR sulle materie prime, norma gli alimenti trasformati: *"In considerazione della specifica situazione dei residui di clorato negli alimenti trasformati (...) che sono entrati in contatto con prodotti che contengono residui di clorato, o che contengono ingredienti con tali residui, quali coadiuvanti tecnologici o acqua potabile, (...), è opportuno tenere conto di questi apporti aggiuntivi di residui di clorato quando si determina il tenore consentito di detti residui nei o sui prodotti alimentari trasformati, (...). L'onere di dimostrare il livello di tali apporti aggiuntivi spetta all'operatore del settore degli alimenti e dei mangimi."*

Di qui, la necessità di procedere all'analisi di clorati negli alimenti, soprattutto in quelli trasformati, e parallelamente all'analisi periodica di clorati nell'acqua utilizzata durante il ciclo di lavorazione.

**Maria Cristina Gottarelli**

Responsabile Business Unit Pesticidi / Business Manager - Pesticides Unit

• [agriparadigma@agriparadigma.it](mailto:agriparadigma@agriparadigma.it) •

### **Regulation (EU) 749/2020 updated the maximum residue levels of chlorate in food. How to deal with the water present in the cycle of food production?**

*In today's time we utilise chlorine-based disinfectants. And chlorine is indeed extensively used both during food processing and in the water supply. Chlorate is formed as a by-product when chlorine, chlorine dioxide or hypochlorite are used for disinfecting water.*

*In addition to being used to wash fruit and vegetables, water enters the production process and is contained in foods such as: fruit and vegetables (IV range), purees, soups, canned vegetables, cheeses, ice cream, fruit salads, tinned fruit, juices and drinks.*

*The maximum residue levels (MRLs) set for some foods are as low as 0.05 mg/kg (e.g. citrus fruit, pome fruit, stone fruit, cereals, oilseeds). In the case of foods in which water is added during the processing phase, the residues found in the analysed samples exceed the legal limits for raw materials.*

*In addition to setting MRLs on raw materials, Regulation (EU) 749/2020 regulates processed foods: "To take into account the specific situation of chlorate residues, in processed food [...] that has come in contact with products containing chlorate residues, or that contains ingredients with such residues, such as processing aids or drinking water, [...] these additional contributions of chlorate residues should be taken into account when determining the permitted content of chlorate residues in or on the processed food products [...]. The burden of proof regarding the level of those additional contributions lies with the food and feed business operator."*

*Hence, it is necessary to perform the analysis of chlorates in foods, especially in processed ones, and in parallel with the periodic analysis of chlorates in the water used during the processing cycle.*



### **Challenge test vs shelf life. Quali sono le differenze?**

Un **challenge test** è una prova microbiologica sperimentale eseguita per valutare se un prodotto è in grado di permettere la proliferazione di uno o più microrganismi patogeni alteranti. Questo test viene eseguito contaminando artificialmente il prodotto e permette di valutare cosa potrebbe accadere se tale prodotto venisse contaminato durante le fasi del suo processo produttivo. Nel settore alimentare, nell'ambito dell'applicazione del Regolamento CE 2073/2005, **sono molto diffusi i challenge test per *Listeria monocytogenes*** su alimenti pronti al consumo. Questa informazione costituisce un importante strumento per poter assicurare che un alimento, pronto al consumo, soddisfi i requisiti richiesti fino al termine del proprio periodo di conservabilità (*shelf life*).

Una **shelf life**, che letteralmente significa "vita da scaffale", è una valutazione di tipo microbiologico e/o sensoriale e/o chimico, a seconda che si tratti di alimenti deperibili e non, che viene fatta sull'alimento tal quale appena prodotto, la cui finalità è valutare **per quanto tempo quel dato alimento mantenga accettabile la sua qualità igienico-sanitaria**. Tali alterazioni sono fisiologiche per sistemi complessi, da un punto di vista chimico e biologico, e la principale difficoltà nella determinazione di una shelf life è valutare fino a che punto queste alterazioni possano essere accettate. Non esiste una normativa che indichi quali studi debbano essere condotti per la valutazione della *shelf life* di un alimento: questi devono essere personalizzati sulla base della tipologia di alimento e ripetuti in tempi successivi conservando l'alimento nelle stesse condizioni in cui verrà conservato durante il suo periodo di vendita. **Si tratta, quindi, di due prove differenti, sia in termine di esecuzione che in termini di finalità**. Prima si esegue la valutazione della *shelf life* e solo successivamente si può procedere con l'esecuzione del *challenge test*, in quanto l'evoluzione del microorganismo di interesse deve essere valutata nel corso di tutta la vita commerciale dell'alimento.

**di Alessandro Pessione**

Responsabile Polo Biologico / Head of Biology Department

• [info@laemmegroup.it](mailto:info@laemmegroup.it) •

### **Challenge test vs shelf life. What are the differences?**

A **challenge test** is an experimental microbiological test, which is performed to assess whether a product is able to allow the proliferation of one or more altering pathogenic microorganisms. This test is performed by artificially contaminating the product, and allows to evaluate what could happen if this product were contaminated during the phases of its production process. In the food sector, when complying with the Commission Regulation (EC) No 2073/2005, **challenge tests for *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat foods are very widespread**. This information constitutes an important tool to ensure that a food ready for consumption meets the set requirements until the end of its shelf life.

Depending on whether a food is perishable or non-perishable, **shelf life is a microbiological and/or sensory and/or chemical evaluation** which is made on the food as it is just produced. Its purpose is **to evaluate how long that given food maintains its hygienic-sanitary quality acceptable**. These alterations are physiological for complex systems from a chemical and biological point of view and the main difficulty in determining a shelf life is to evaluate the extent to which these alterations can be accepted. There is no legislation that indicates which studies should be carried out for the evaluation of a food's shelf life: these should be customised on the basis of the type of food and repeated at a later time, keeping the food in the same conditions in which it will be stored during its period of sale.

**Therefore, these are two different tests, both in terms of execution and in terms of purpose**. The shelf life is evaluated first and only then can the challenge test be carried out as the evolution of the microorganism of interest should be evaluated over the entire commercial life of the food.

### **Sulla base di quali indicazioni l'autorità competente valuta se un prodotto disinfettante è realmente efficace per l'uso dichiarato in etichetta?**

L'efficacia viene definita come la capacità del prodotto di soddisfare il "claim" proposto in etichetta. Attraverso i test di efficacia condotti in laboratorio, utilizzando specifiche condizioni sperimentali riportate nelle linee guida europee (EN), viene valutata la capacità disinfettante di un determinato prodotto nei confronti dei microrganismi per i quali è stato formulato. A seguito dei risultati ottenuti l'autorità nazionale è in grado di verificare il "label claim" proposto dallo sponsor.

### **What are the criteria according to which a competent authority assesses whether a disinfectant product is really effective for the use indicated on the label?**

Efficacy is defined as the product's ability to meet the "claim" indicated on the label. Through the efficacy tests carried out in the laboratory, using specific experimental conditions reported in the European guidelines (EN), we can evaluate the disinfectant capacity of a given product against the microorganisms for which it was formulated. Following the tests results, the national authority is able to verify the "label claim" proposed by the sponsor.

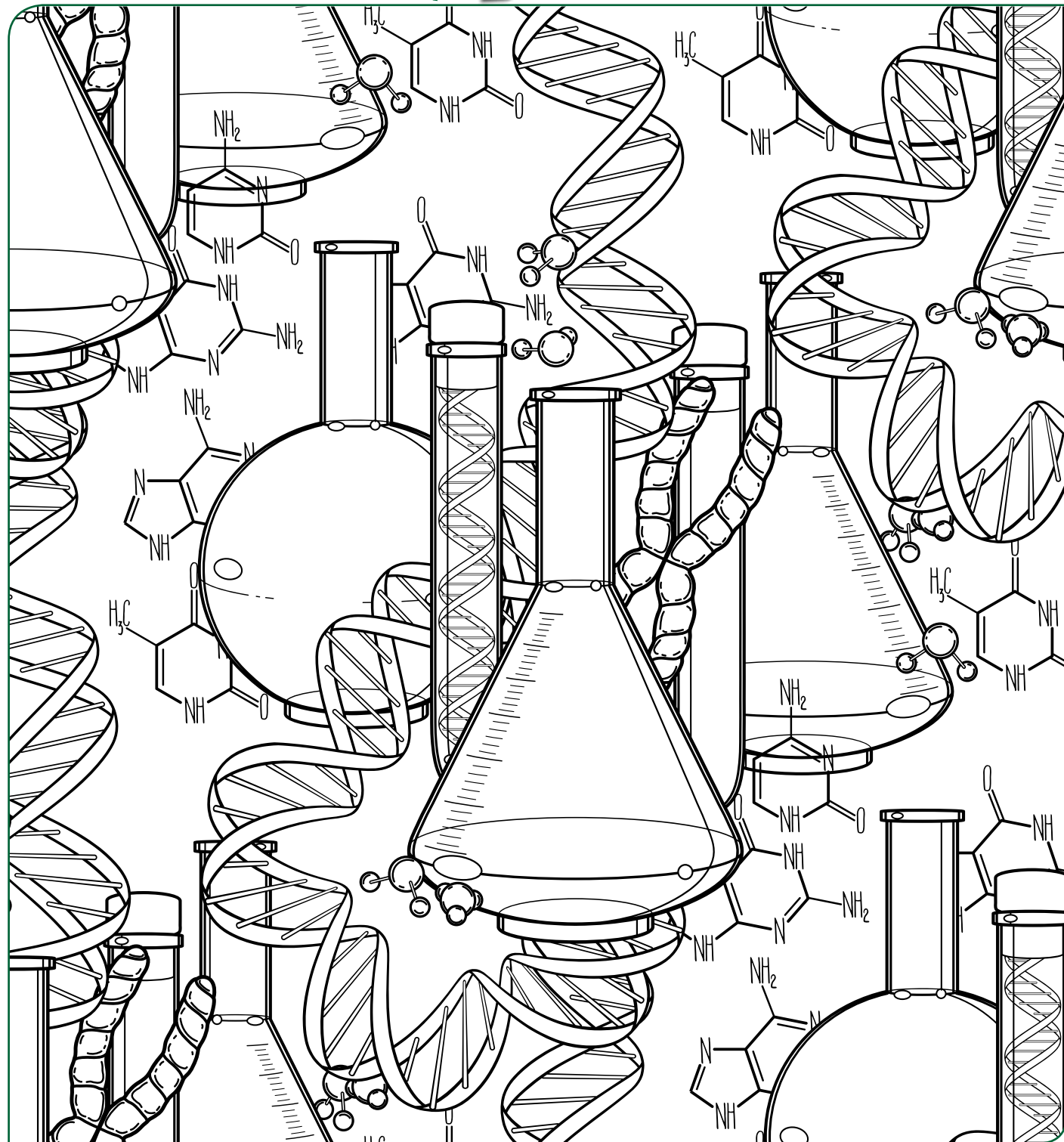
**Matteo Calassanzio**

Analista specializzato nel settore microbiologico / Microbiology Specialist

• [info@renolab-glp.com](mailto:info@renolab-glp.com) •



Time to relax 



## Tentamus Locations Network 2020: Service Excellence Worldwide



### Credits

Progetto: Tentamus Italia  
Coordinamento editoriale: Giuseppe Calvi di Coenzo  
Copyediting: Redazione e Laboratori Tentamus Italia  
Grafic design e stampa: Tipografia Commerciale Ravenna  
Traduzioni: Francesca Mura

# T~magazine

2° semestre 2020 / Numero 4 - Tentamus Italia

È vietata la riproduzione anche parziale di questo catalogo.  
Reproduction of any part of this catalogue is not allowed.





**Tentamus Agriparadigma S.r.l.**

**Sede legale e operativa:**

Via Faentina, 224 - 48124 Ravenna

**Sede operativa Siracusa:**

Strada Benali-Tivoli - 96100 Siracusa

**Sede operativa Signa (FI):**

Via Giorgio La Pira, 24/26 - 50058 Signa



**Laemmegroup S.r.l.**

**Sede legale e operativa:**

Via Vittime del Vajont 18- 10024 Moncalieri (TO)



**Tentamus Italia S.r.l.**

Via Faentina 224  
48124 Ravenna



**Renolab S.r.l.**

**Sede legale e operativa:**

Via XXV Aprile 19 - 40016 San Giorgio di Piano (BO)