

DETERMINAZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DEI RESIDUI DI TIOMETON E RISULTATI ANALITICI OTTENUTI IN COLTURE DIVERSE

Fra gli insetticidi sistemici posti sul mercato dalla Casa Sandoz, l'Ekatin merita una particolare attenzione.

Questo prodotto contiene, come sostanza attiva, 20 o 25% di tiometon e 80 o 75% di additivi, quali solventi, emulgatori e un colorante bleu aggiunto per differenziarlo dagli altri antiparassitari.

L'Ekatin è impiegato come insetticida, in particolare come aficida e acaricida, con azione di contatto e sistemica in frutticoltura, viticoltura, sulle barbabietole da zucchero, sul luppolo, sul cotone ed in orticoltura.

Questo prodotto merita particolare attenzione per le seguenti ragioni:

1) la sua debole tossicità acuta orale verso i mammiferi (DL 50 su ratti bianchi Ekatin al 20% di s.a. circa 600 mg/kg; tiometon 120 mg/kg);

2) la sua azione sistemica e selettiva;

3) la sua grande efficacia sugli afidi (da 15 a 20 giorni);

4) e soprattutto i minimi residui riscontrabili al momento del raccolto.

Il tiometon (0,0-dimetil-S-2 (etiltio) etilfosforoditioato) è molto sensibile agli ossidanti e si trasforma subito dopo il trattamento in tiometon sulfossido e tiometon sulfone.

Questa ossidazione è così rapida che nelle determinazioni dei residui, non è mai stato possibile ritrovare una traccia di tiometon non ossidato.

Il metodo analitico deve essere quindi impostato sulla ricerca qualitativa e quantitativa di questi metaboliti, fra i quali il sulfossido è il più importante. Il sulfone si trova molto spesso sotto forma di tracce.

Metodo analitico per la determinazione dei residui di tiometon

Estrazione dei metaboliti:

100 gr di materiale vengono introdotti in un miscelatore con 250 ml di cloruro di metilene, 50-250 gr di solfato di sodio anidro secondo il contenuto in acqua del materiale e tritato molto finemente per due minuti. Il contenuto del becher viene filtrato, il residuo viene estratto una seconda volta con 250 ml di cloruro di metilene e filtrato. Il filtrato è evaporato in un «rotavapor» e il residuo dell'evaporazione è ripreso con 50 ml di etere di petrolio e versato in un imbuto separatore. Il pallone è risciacquato con 30 ml di una miscela acetonitrile e etere di petrolio nelle proporzioni 5:1 e questa soluzione viene aggiunta alla soluzione precedente. Si agita energicamente e si lascia decantare. Si recupera l'acetonitrile. Questa operazione è ancora ripetuta tre volte con 30 ml di acetonitrile ed etere di petrolio 5:1. Le sostanze grasse restano nell'etere di petrolio e le sostanze attive passano nell'acetonitrile. Quest'ultimo viene nuovamente evaporato a secco in un «rotavapor», il residuo ripreso con 40 ml di etere di petrolio e versato in un imbuto separatore ove viene agitato con 20 ml di acqua. L'acqua viene recuperata e

l'operazione è ripetuta ancora tre volte con 20 ml di acqua. I metaboliti si trovano nella soluzione acquosa dalla quale essi vengono estratti con 50 ml di cloroformio, ripetendo l'operazione sei volte. Dopo ciascuna estrazione, la soluzione di cloroformio è filtrata su uno strato di solfato di sodio anidro. Si evapora a secco e si riprende il residuo con 20 ml di benzene. Qualora gli estratti non siano sufficientemente idonei per la cromatografia, si può introdurre dopo il trattamento con acetonitrile e etere di petrolio, una colonna contenente 5 gr di ossido d'alluminio acido Woelm. Il residuo è ripreso quantitativamente con 20 ml di acetonitrile, portato sulla colonna ed eluato con tre volte 50 ml di acetonitrile.

Si procede poi come sopra indicato.

Determinazione qualitativa e semi-quantitativa:

Questa determinazione si può fare sia a mezzo cromatografia su carta sia a mezzo cromatografia su strato sottile.

I) Cromatografia su carta:

Fase immobile: 12% di formamide in acetone;

Fase mobile: toluene: isooctano 4:1.

I fogli di carta Whatman N. 1 di 16 × 50 cm vengono impregnati di una soluzione al 12% di formamide in acetone e sospesi all'aria fino ad evaporazione completa dell'acetone (15').

Una quota parte dell'estratto finale viene portata in una provetta con fondo appuntito, evaporata sotto vuoto fino a 2-3 gocce e, a mezzo di una pipetta capillare, portata quantitativamente sulla carta per cromatografia.

Si risciacqua tre volte la pipetta con un po' di benzene, si evapora lo stesso e si porta sulla carta.

Al fine di poter determinare qualitativamente e semiquantitativamente i metaboliti ricercati, si porta allo stesso modo 1, 2 e 4 microgrammi di tiometon sulfossido e sulfone sulla stessa carta che viene in seguito sviluppata secondo il metodo discendente in una miscela di toluene e isooctano 8:2.

I valori R_f sono i seguenti: sulfossido 0,50 - sulfone 0,75.

Le sostanze possono essere rese visibili in due modi:

1) Il cromatogramma è asperso con soluzione di K_2PtJ_6 .

Dopo qualche secondo, i metaboliti appaiono sotto forma di macchie bianche su un fondo rosa-rosso.

Il limite di scolorimento è di 0,3 microgrammi per il sulfossido; 1 microgrammo per il sulfone.

2) Il cromatogramma viene immerso nei vapori di bromo poi asperso con una soluzione di 4-metilumbelliferone. Sotto una lampada UV 3640 A° le sostanze attive appariranno sotto forma di macchie scure su fondo fluorescente. Il contrasto è ancora più marcato soffiando con precauzione dei vapori di ammoniacca sul cromatogramma.

Il limite di scolorimento è nell'ordine di 1 a 2 microgrammi.

II) Cromatografia su strato sottile

Fase immobile: gel di silice G;

Fase mobile: acetonitrile e acqua.

Una determinata quantità d'estratto è portata, seguendo la medesima sopraccitata metodologia, su delle placche di silice gel G e sviluppata con una miscela di acetonitrile e acqua (circa 2-5%).

In seguito si passa al metodo per la cromatografia su carta. Questo metodo è ancora più sensibile e il limite di scolorimento per ciascun metabolita è di 0,2 microgrammi. Dal confronto della grandezza e dell'intensità delle macchie dell'estratto con le soluzioni tests, a concentrazione nota, si può valutare con una approssimazione del 20% la quantità di residui contenuti nell'estratto stesso.

Quando i residui superano 5 microgrammi sul cromatogramma diventa più difficile valutarli con grande precisione ed allora si ricorre alla determinazione quantitativa.

Determinazione quantitativa

Questa determinazione è un complemento della precedente e dà, con precisione, le concentrazioni dei diversi metaboliti e si attua mediante cromatografia su carta.

Le macchie sono rese visibili, sia con l'uno che con l'altro dei metodi precedenti,

QUALITA' DEL MATERIALE E PROVENIENZA	EKATIN APPLICAZIONI	GIORNI FRA ULTIMO TRATTAMENTO E LA RACCOLTA DEL CAMPIONE	ANALISI EFFETTUATE DA	RESIDUI DI TIOMETON in ppm=mg/kg
Pere (Klushof)	1 × 0,1%	54	LCS	0,2
		92	LCS	0,05
	2 × 0,1%	33	LCS	0,3
		49	LCS	0,05
Mele (SFE, Wädenswil)	1 × 0,2%	21	LCZ	0,06-0,09
Pesche (Africa del Sud)	1 × 0,1%	7	LCS	0,15
		14	LCS	0,1
		21	LCS	0,1
		28	LCS	0
Uva (SFE, Losanna)	1 × 0,1%	21	LCZ	0,35-0,5
		67	LCZ	0,00-0,1
Uva (Klushof)	2 × 0,1%	51	LCS	0,1
	3 × 0,1%	85	LCS	0,1
		97	LCS	0,08
Lattuga (SFE, Wänderswil)	1 × 0,1%	4	LCZ	2,5-5,0
		9	LCZ	0,3-0,5
		14	LCZ	0,05-0,1
Fagioli (Africa del Sud)	1 × 0,1%	14	LCS	0,25
		21	LCS	0,15
		28	LCS	0,05
Barbabietole da zucchero (SFE, Losanna)				
— Bietole e foglie	2 × 0,1%	7-10	LCZ	0,1
		30	LCZ	0,05
— Bietole	3 × 0,1%	6	LCZ	0
		32	LCZ	0
— Foglie	3 × 0,1%	6	LCZ	0,09-0,14
		32	LCZ	0,04
Patate (SFE, Losanna)				
— Tuberi	1 × 2 l/ha	36	LCZ	0
		79	LCZ	0
	2 × 1 l/ha	36	LCZ	0
Patate (Africa del Sud)				
— Foglie	1 × 0,1%	30	LCS	0,15
— Tuberi	1 × 0,1%	30	LCS	0
Fumento (Africa del Sud)	1 × 0,1%	14	LCS	0,2
		21	LCS	0,05
Aranci (Africa del Sud)				
— Foglie	1 × 0,1%	21	LCS	0,05
— Frutti	1 × 0,1%	21	LCS	0,05
Olive (Ist. Fit. Benaki - Atene)	2 × 0,15%	11	LCS	0,07
Olio di oliva (Bari e Firenze)	1 × 0,3%	21	LCS	0,3

Abbreviazioni:
SFE: stazione federale di sperimentazioni agricole;
LCZ: laboratorio chimico della città di Zurigo;

LCS: laboratorio chimico della Sandoz S.p.A. - Basilea;
Klushof: Sandoz, centro di sperimentazione agricola in Aesch, Basilea.

sono tagliate e bruciate in una atmosfera di ossigeno secondo Schöniger in presenza di 20 ml di una soluzione 0,4 N. di acido solforico.

Il fosforo viene in seguito trasformato per riscaldamento in acido fosforico e determinato con una soluzione di molibdato di ammonio in presenza di acido ascorbico come riducente.

L'intensità della colorazione delle soluzioni è quindi misurata al fotometro a 820 m μ . Basandosi su una curva di taratura, l'estinzione ottenuta per ciascuna soluzione, dà direttamente la concentrazione delle sostanze attive con una precisione di $\pm 3\%$.

Questo metodo generale permette di determinare delle quantità che vanno fino a 0,03 ppm di tiometon sulfossido e 0,05 ppm di tiometon sulfone; detti valori sono stati ottenuti con l'aggiunta di queste quantità minime al materiale da analizzare non trattato.

I risultati sulla ricerca dei residui di tiometon nelle differenti colture sono riassunti nella tabella che precede.

Nelle ricerche di residui nelle arance, sono state ritrovate al massimo delle tracce di tiometon sulfossido nella polpa del frutto. I residui restano nella buccia in quanto l'insetticida viene trattenuto da quest'ultima.

CONCLUSIONE

L'Ekatin, grazie alla sua alta facoltà di penetrazione nei tessuti vivi e la sua rapidità di passare nel sistema vascolare, esercita la sua azione già una o due ore dopo il trattamento senza provocare alcuna fitotossicità nei vegetali trattati secondo le prescrizioni.

La sua azione antiparassitaria permane per, all'incirca, due settimane. La velocità di decomposizione dei suoi metaboliti nelle piante e nei frutti permette di ritrovare, dopo 21 giorni dal trattamento, dei residui in quantità così deboli che essi non rappresentano alcun pericolo per l'organismo umano.

Questi residui sono ritrovati secondo un metodo analitico relativamente semplice e molto sensibile che può essere adattato alla maggior parte dei campioni da analizzare. Questi vantaggi sono molto significativi e confermano l'interesse per il tiometon, quale antiparassitario ad azione sistemica.

BIBLIOGRAFIA

- JUCKER O. (1958), *Thiometon, Verhalten in der Pflanze, Bestimmung von Spritzrückständen*. «Mitt. Lebensmittelunters Hygiene», Nr. 5, 1-24.
- EICHENBERGER J. (1960), *Ueber neuere Ergebnisse und Methoden der Rückstandsanalyse*. «Med. Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations Gent», XXV, Nr. 3-4.
- FADERL N. (1962), *Methode zur Bestimmung von Mikromengen organischer Phosphorinsektizide*. «Mitt. Lebensmittelunters Hygiene», Nr. 2.

RIASSUNTO

L'autore, dopo aver illustrato la bassa tossicità del tiometon, la sua azione sistemica e la velocità di decomposizione dei suoi metaboliti nei vegetali trattati, descrive il metodo analitico (qualitativo e quantitativo) per la determinazione dei residui di tiometon.

Riporta dati sui residui di tiometon riscontrati in colture diverse.