

ATTILIO DEL RE\*, PAOLO FONTANA\*, GIAN PIETRO MOLINARI\*,  
PATRIZIA NATALI\*, EMANUELA RONDELLI\*, AMBROGIO SOZZI‡ e  
SANDRA VERONA\*

\* Istituto di Chimica, sezione di Chimica Agraria Vegetale - Facoltà  
di Agraria - Piacenza

‡ I.V.T.P.A. - Milano

#### RIDUZIONE DEI RESIDUI DI ANTIPARASSITARI IN MELE FRIGOCONSERVATE MEDIANTE LAVAGGIO ACQUOSO IN UN IMPIANTO PILOTA.

Per prolungare nel tempo la commercializzazione delle pomacee è  
necessario imasazzinare i frutti in celle frigorifere. Per migliorare la  
qualità della conservazione, i frutti vengono normalmente trattati prima  
dell'imasazzinamento contro alcune fisiopatie come il riscaldamento e la  
butteratura amara; in questi trattamenti, vengono spesso incluse miscele di  
fungicidi a largo spettro per prevenire la proliferazione di funghi quali  
Penicillium, Botrytis e Gloeosporium (1,2,3,4).

In Italia esiste una legislazione per i prodotti antiscaldamento e  
antibutteratura, ma l'uso dopo la raccolta dei fungicidi non è risolto e  
dovrebbe intendersi proibito. L'Ordinanza Ministeriale del 1979 (5)  
ammetteva l'uso di ethoxyquin contro il riscaldamento, imponendo un intervallo di  
sicurezza di 30 giorni, mentre il massimo residuo accettabile era fissato a  
1,5 ppm. La dose accettabile di ethoxyquin è stata di recente alzata fino a  
3,0 ppm ed il tempo a 90 giorni (6), in accordo con le indicazioni FAO (7).  
Per il cloruro di calcio l'Ordinanza citata (5) non dà indicazioni.

Sono state pubblicate numerose ricerche sui livelli di residui di  
principi attivi lasciati dai trattamenti fatti dopo la raccolta (8,9; 10 e  
bibliografia ivi citata); in diversi casi è noto quale residuo medio è  
prevedibile trovare dopo un tempo specificato da un dato trattamento. Non  
sempre è altrettanto noto con quale probabilità si possano trovare residui  
superiori di una quantità definita alla media; eppure questo problema è  
quello rilevante dal punto di vista legale e sanitario. Data la variabilità

tra ed entro campioni (oltre che tra partite diverse), e' in genere possibile che risulti al di sopra dei limiti legali (oppure potenzialmente pericoloso) un campione casuale, prelevato da una partita in cui il livello medio di residui e' invece accettabile. La probabilita' che cio' avvenga e', in linea di principio, valutabile con adeguate tecniche statistiche.

La possibilita' di abbassare il livello dei residui nelle romacee con lavaggi eseguiti prima della commercializzazione e' stata esplorata (11,12) con risultati variabili, forse perche' ottenuti con campioni poco numerosi; per la medesima ragione, non si hanno informazioni sulla variabilita' dei residui medi prima e dopo i lavaggi. Non si sa quindi se un lavaggio su grande scala diminuisca la variabilita', che e' spesso proporzionale al livello medio dei residui (posto che tale livello diminuisca coi lavaggi) o se le inevitabili disformita' dei trattamenti su grande scala aumentino la variabilita' e quindi il rischio di infrazioni della legge. Le pubblicazioni a nostra conoscenza, inoltre, riferiscono di lavaggi in condizioni molto lontane da quelle di possibili applicazioni pratiche.

In questo lavoro si riferira' su una prova impostata per stabilire se e' possibile abbassare il livello dei residui per mezzo di lavaggi delle mele prima dell'immissione sul mercato. Le prove sono state eseguite con attrezzatura semindustriale allo scopo di ottenere risultati validi per trattamenti su grande scala. Anche il numero dei campioni analizzati e le modalita' di campionamento sono stati studiati in modo da ottenere dati validi. Qui e' descritta solo una parte dei risultati; una relazione piu' completa e' in corso di preparazione.

#### Materiali e metodi

Una partita omogenea di mele Stark Delicious e' stata divisa in casse in plastica e trattata per immersione delle casse nella miscela di prodotti indicata in tab.1. I frutti sono stati conservati a +2 gradi centigradi in atmosfera controllata (1) per 7 mesi. Sono state scelte dosi di trattamento molto alte, superiori a quelle solitamente usate, per facilitare il lavoro analitico e per simulare al tempo stesso condizioni che possono verificarsi anche in pratica per errore o altro. Il livello dei residui di ethoxyquin, captan, vinclozolin, calcio, thiorphanate-methyl, TBZ e carbendazim e' stato controllato subito dopo il trattamento, all'uscita

dal frisorifero e subito prima del lavaggio (tab.2), oltre che dopo il lavaggio stesso.

Tabella 1 - Trattamento, prima della conservazione, di mele Stark Delicious: composizione della miscela.

Formulato	Dose g/hl	Principio attivo	% P.a.
Stop scald	600	ethoxyquin	63
Sorene 83 Pb	150	captan	83
Ronilan	100	vinclozolin	50
Tecto 60	100	TBZ	60
Enovit Metil	60	thiophanate-methyl	73
Stip control	3000	calcio cloruro	28

Le prove sono state effettuate presso l'Istituto per la Valorizzazione Tecnologica dei Prodotti Agricoli (IVTPA) di Milano con una macchina spazzolatrice semindustriale RODA. I frutti, versati in una tramoggia, venivano trasportati da 17 spazzole in crine; le prime 3 erano irrorate dall'alto da un usello fisso con portata di 1 L/min; le 12a e 13a erano irrorate con acqua da 4 uselli, con portata di 10 L/min. Seguivano: 1 rullo in PVC, 2 in gomma rivestita di spugna e 6 spazzole in crine. Prima della prova di lavaggio la macchina e' stata lavata con abbondante acqua; prima di introdurre il campione di mele e' stato fatto passare un certo quantitativo di altre mele della medesima varieta' trattate in precedenza come quelle sperimentali, per saturare le spazzole e compensare un eventuale "effetto memoria". Durante ogni lavaggio sono stati fatti 5 prelievi di 10 mele ciascuno; ogni campione e' stato analizzato separatamente.

I residui di captan e vinclozolin sono stati determinati per via gascromatografica (13); quelli di ethoxyquin per HPLC (14); il calcio e' stato determinato per assorbimento atomico previa mineralizzazione del campione. I residui di TBZ, thiophanate-methyl e carbendazim sono stati determinati contemporaneamente mediante una modifica del metodo HPLC gia' pubblicato (15).

Risultati e discussione

I livelli di residuo misurati subito dopo il trattamento e dopo sette mesi di frigoconservazione (tab.2) sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) a 1 criterio di classificazione. Anche i risultati analitici dei lavaggi sono stati sottoposti ad analisi della varianza a 1

Tabella 2 - Residui (ppm) in mele Stark Delicious determinati su campioni indipendenti. In colonna I i dati subito dopo il trattamento, in colonna II i dati dopo sette mesi di frigoconservazione, in colonna III i dati prima del lavaggio con acqua, in colonna IV i dati dopo il lavaggio.  
- NR indica quantità non rivelabile.

RESIDUO (limite di rivelazione)	-----Prelievi-----				RESIDUO (limite di rivelazione)	-----Prelievi-----			
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
Ethoxyquin (0,2 ppm)	7,63 4,30 2,52	3,45 4,35 3,44	2,13 3,34 2,57 2,93 5,91	3,23 1,37 3,23 2,61 3,14	TBZ (0,05 ppm)	0,98 1,20	1,66 0,61 0,76	2,47 1,56 1,68 2,05 1,89	0,79 0,76 0,63 2,24 1,28
Captan (0,01 ppm)	1,15 2,68	1,38 1,42 2,64	3,32 2,32 2,30 3,83 2,37	1,29 1,03 1,31 3,42 1,85	Thiophanate -methul (0,08 ppm)	NR NR	NR NR NR	0,64 0,70 NR 0,50 0,52	NR NR 0,48 0,46 0,44
Vinclozolin (0,001 ppm)	0,46 0,84	0,31 0,40 0,47	0,77 0,62 0,47 0,91 0,61	0,41 0,39 0,33 0,90 0,58	Carbendazim (0,08 ppm)	0,26 0,37	0,24 0,40	0,32 0,31 0,65 0,39 0,37	0,23 0,29 0,30 NR 0,22
Calcio	157,27 167,12	102,85 97,94 101,64	95,52 105,67 97,66 99,91 92,27	103,38 91,65 90,09 92,45 86,15	*MBC calcolato*	0,26 0,36	0,24 0,40	0,68 0,70 0,65 0,67 0,66	0,23 0,29 0,56 0,34 0,47

criterio di classificazione; confrontando i livelli di residui ottenuti da mele lavate e non lavate (tab.3). Le ANOVA sono state ripetute con risultati simili dopo trasformazione logaritmica dei dati; questa è stata eseguita per stabilizzare la varianza, che è spesso proporzionale alla media del livello dei residui (16,17).

La variazione nel tempo dei livelli di residuo, come noto da un lavoro precedente (10), non è stata molto grande ed ha riassunto la significatività statistica solo per calcio e vinclozolin.

L'azione detergente della sola acqua potabile non è risultata molto efficace nel diminuire i residui di captan, vinclozolin, ethoxyquin e calcio; per questi principi attivi le differenze non sono risultate significative all'ANOVA; solo per il captan le differenze diventano significative dopo trasformazione logaritmica. La variabilità dei dati non aumenta con i lavaggi, come risulta evidente dall'esame delle deviazioni standard riportate in tab.4, con la possibile eccezione di "MBC calcolato" ( $F=13,1$  e  $P<0,5\%$ , assumendo distribuzione log-normale).

Per TBZ e carbendazim risultano differenze significative; il lavaggio acquoso asporta circa il 40% e il 45% del residuo, rispettivamente.

Tabella 3 - ANOVA dei dati di residui dei lavaggi (confronto tra mele non lavate e mele lavate con acqua), Dati non trasformati.

Causa di variazione	GL	Varianza	F	GL	Varianza	F	P
	CAPTAN			TBZ			
trattamenti	1	2,735	3,82	1	1,568	5,50	0,05
errore	8	0,716		8	0,285		
	VINCLOZOLIN			THIOPHANATE-METHYL			
trattamenti	1	0,060	1,46	1	0,082	1,59	
errore	8	0,041		8	0,051		
	ETHOXYQUIN			CARBENDAZIM			
trattamenti	1	1,150	0,81	1	0,087	6,44	0,05
errore	8	1,421		8	0,013		
	CALCIO			"MBC calcolato"			
trattamenti	1	74,556	2,24	1	0,220	23,24	0,005
errore	8	33,287		8	0,009		

I livelli di thiofanate-methyl residuo non vengono abbassati in modo significativo; l'effetto dei lavaggi sui livelli di "MBC calcolato" (somma del carbendazim determinato dall'analisi e di quello equivalente al thiofanate-methyl inalterato) e' maggiore dell'effetto sul carbendazim

Tabella 4 - Medie, deviazioni standard ed intervalli fiduciali dei dati. Intervalli ricavati dalla varianza d'errore dell'ANOVA (eccetto "MBC calcolato"). NL=non lavato, LV=lavato con acqua.

Tiro di residuo (limite legale)		Medie	Deviazione standard	Intervalli fiduciali*	
				assumendo distribuzione: normale	logaritmica
		distribuzione normale			
Captan (15 ppm)	NL	2,83	0,31	1,25 - 4,40	1,38 - 5,52
	LV	1,78	0,43	0,21 - 3,36	0,81 - 3,23
Vinclozolin (1,5 ppm)	NL	0,68	0,68	0,30 - 1,05	0,35 - 1,23
	LV	0,52	0,52	0,14 - 0,90	0,26 - 0,91
TBZ (3,0 ppm***)	NL	1,93	0,16	0,94 - 2,92	0,93 - 3,91
	LV	1,14	0,30	0,15 - 2,13	0,49 - 2,08
Thiofanate -methyl	NL	0,49	0,11	0,07 - 0,91	0,07 - 2,23
	LV	0,31	0,09	-0,11 - 0,73	0,04 - 1,29
Carbendazim	NL	0,41	0,06	0,19 - 0,63	0,18 - 0,89
	LV	0,22	0,04	0,01 - 0,44	0,09 - 0,46
"MBC calcolato" (1,0 ppm)	NL	0,67	0,01	0,49 - 0,86	0,42 - 1,09
				0,63 - 0,71**	0,64 - 0,72**
	LV	0,38	0,06	0,20 - 0,56	0,22 - 0,58
			0,34 - 0,42**	0,34 - 0,38**	
Ethoxyquin (3,0 ppm)	NL	3,40	0,66	1,18 - 5,61	1,57 - 6,43
	LV	2,72	0,36	0,50 - 4,94	1,28 - 5,24
Calcio	NL	98,21	2,25	87 - 109	88 - 110
	LV	92,74	2,87	82 - 103	83 - 103

\* Intervalli fiduciali calcolati ( $t_{10\%} = 1,86$ ) dalla varianza (V, tab.3) dell'errore a 8 GL: media  $\pm (t_{10\%} * \sqrt{V})$ , dove n = 5 e' il numero dei dati per gruppo.

\*\* Valori calcolati dalla varianza entro il gruppo.

\*\*\* Valore proposto

residuo: circa il 40% di 'MBC calcolato' risulta asportato dal lavaggio acquoso.

Dai dati di tab.2 e' possibile calcolare i probabili campi di variazione dei residui (intervalli fiduciali) (tab.4). Per il calcolo e' stata usata la varianza ricavata dall'ANOVA, dato che non si aveva ragione di credere che la variabilita' cambiasse col lavaggio, viste le deviazioni standard di tab.4. Per 'MBC calcolato', data l'eterogeneita' della varianza, sono riportati in tab.4 anche gli intervalli fiduciali calcolati dalle varianze delle medie.

Tutti gli intervalli fiduciali sono stati calcolati in modo da comprendere il 90% dei dati; si ha cosi' una probabilita' del 5% di avere dati al di sopra del limite superiore. Per confronto, sono riportati anche gli intervalli calcolati assumendo una distribuzione normale.

Dopo i trattamenti descritti, solo il livello medio di ethoxyquin e' sopra il valore legalmente accettabile (3,0 ppm) prima del lavaggio e scende al di sotto solo dopo di esso. Invece per TBZ e per 'MBC calcolato', anche se la media e' sempre minore dei valori accettabili, il limite fiduciale superiore, calcolato assumendo distribuzione log-normale, e' maggiore e scende al di sotto solo dopo lavaggio.

In generale i lavaggi con acqua hanno diminuito il livello di residuo senza aumento della variabilita'. Fa eccezione il caso di 'MBC calcolato', in cui alla diminuzione del residuo si accompagna un aumento significativo di variabilita'.

### Conclusioni

I livelli dei residui (tab.2) nelle mele, dopo trattamenti a dosi piu' alte delle consuete (tab.1), sono entro i limiti legali, ad eccezione dell'ethoxyquin che supera tanto il limite di 1,5 quanto quello attuale di 3,0 ppm.

Tuttavia la variabilita' dei dati entro le medie lascia prevedere la possibilita' che singoli campioni casuali di frutta presentino livelli di residui inaccettabili anche per TBZ e 'MBC calcolato'; la probabilita' che cio' avvenga e' maggiore di 1/20. Se i trattamenti da noi eseguiti sono rappresentativi di quanto avviene su grande scala nella realta', cio' espone gli operatori agricoli e, forse, i consumatori a rischi occasionali, anche se i livelli medi dei residui sono accettabili.

I lavaggi acquosi con l'impianto pilota da noi usato, oltre a ridurre il livello medio di ethoxyquin al di sotto del limite di 3,0 ppm, contribuiscono a ridurre tali rischi occasionali, dato che abbassano il residuo medio senza aumentarne la variabilità.

#### Riassunto

Mele Stark Delicious sono state trattate dopo la raccolta con una miscela di ethoxyquin, cloruro di calcio, captan, vinclozolin, TBZ e thiofanate-methyl, e frisoconservate in atmosfera controllata per 7 mesi. I residui sui frutti sono stati in parte asportati con lavaggi acquosi in un impianto pilota. TBZ e carbendazim (prodotto di trasformazione del thiofanate-methyl) sono stati asportati per circa il 40%, mentre gli altri residui non hanno subito cali significativi. Le concentrazioni trovate per i residui sono entro i limiti legali italiani, prima e dopo il lavaggio; fa eccezione l'ethoxyquin, il cui residuo solo col lavaggio e' rientrato sotto il limite di 3,0 ppm.

#### REDUCTION OF RESIDUAL PESTICIDE LEVELS ON STORED APPLES BY MEANS OF WATER WASHINGS IN A PILOT PLANT.

#### Summary

Stark Delicious apples have been post-harvest treated with a mixture of ethoxyquin, calcium chloride, captan, vinclozolin, TBZ, and thiofanate-methyl, and cold-stored for 7 months in a controlled atmosphere. Residues on the fruits have been washed away with water in a pilot plant. A 40% of TBZ and of carbendazim (a metabolite of thiofanate-methyl) were removed, while the other residues did not decrease significantly. Residue concentrations were under the maximum levels allowed in Italy, either before or after the washings; ethoxyquin stands aloof as its residue fell under the 3.0 ppm limit after the washings only.

Bibliografia

- 1) GORINI F. (1979). La frigoconservazione dei prodotti ortofrutticoli, REDA, Roma, 1979.
- 2) PRATELLA G. C. (1979). Le fisiopatie da raffreddamento degli ortofrutticoli refrigerati, Frutticoltura, 41, 53-67.
- 3) VYAS S.C., SINGH D., SHARMA N.D. (1977). Some new fungi causing post-harvest diseases of apple, Plant Dis. Repr., 60, 988-90.
- 4) GASPARETTI L., GORINI F., TERZI A. (1972). La difesa contro i marciumi da conservazione delle pere "Passa crassana", Frutticoltura, 5, 29-36.
- 5) Ordinanza Ministeriale del 6 gennaio 1979 (Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana dell'8.2.1979, No 39): Quantita' massime di residui di antiparassitari consentite negli alimenti.
- 6) Ordinanza Ministeriale del 26 luglio 1983 (Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana del 30.7.1983, No 208): Aggiornamento dell'allegato I all'ordinanza ministeriale del 6 gennaio 1979, concernente: "Quantita' massime di residui consentite negli alimenti".
- 7) FAO/OMS: Residus de pesticides dans les produits alimentaires. Index et Resume 1965-1978.
- 8) PONTI I., FLORI P. (1974). Residui di fungicidi benzimidazolici su mele conservate in frigorifero, Informatore Fitoripatologico, 24, 15-21.
- 9) GORINI F., CALEFFI A., DEL RE A., LAZZARINI C., MOLINARI G.P., NATALI P., SOZZI A. (1981). Trattamenti alle mele dopo la raccolta e loro residui, Atti del 3o Simposio Chimica degli Antiparassitari, Editrice Humanitas, Piacenza, 1981, 140-147.
- 10) DEL RE A., LAZZARINI C., MOLINARI G. P., NATALI P., GORINI F., SOZZI A. (1983). Post-harvest applicated mixtures of fungistatics tailored for residue level reduction in apples, Atti del XVI Congres International du Froid, Institut International du Froid, Paris, 1983, 361-365.
- 11) OLMO E., GUIATI B., STANZANI R. (1967). Controllo della resistenza al lavaggio di diversi antiparassitari su mele e su uva, Atti Giornate Fitoripatologiche 1967, CLUEB, Bologna, 59-65.
- 12) LAZZARINI C., NATALI P., MOLINARI G. P., DEL RE A., CALEFFI A., BOCCELLI R. (1982). Trattamenti alle mele dopo la raccolta e prima della frigoconservazione. II. Effetto dei lavaggi sui residui di antiparassitari,

Atti Giornate Fitoratologiche 1982, CLUEB, Bologna, 63-70.

- 13) MOLINARI G.P., DEL RE A. (1978). Residui di antibiotritici in uve, mosti e vini. I. Determinazione gascromatografica di Vinclozolin in presenza di Dichlofluand, Folpet, Captan e Captafol; Chim. Ind. Mil., 60, 705-8.
- 14) VERONA S., LAZZARINI C., DEL RE A. (1983). - Determinazione mediante cromatografia liquida ad alta efficienza (HPLC) dell'Etossichina nelle mele; Chim. Ind. Mil., in corso di stampa.
- 15) LAZZARINI C., CALEFFI A., DEL RE A. (1982). Determinazione contemporanea di residui di thiorphanate-methyl ed MBC in campioni di mele, mediante cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC); Chim. Ind. Mil., 64, 315-19.
- 16) DEL RE A., FONTANA P., MOLINARI G.P., NATALI P. (1980). Residues of vinclozolin in grapevine musts after gray mold control; Ann. Fac. Agr. (Piacenza) U.C.S.C., 20, 171-181.
- 17) MOLINARI G.P., DEL RE A., NATALI P., BATTINI G. (1981). Determinazione dei residui di antibiotritici in uve e mosti; La Difesa delle Piante, 3, 135-142.

Lavoro eseguito con il parziale contributo del Ministero dell'Agricoltura e Foreste.