

VALUTAZIONE DI RESIDUI ED EFFICACIA DI PREPARATI PER IL
CONTROLLO DEL RISCALDO DELLE MELE

F. FOSCHI, F. RAMINI, I. DALL'OLIO
Centro Operativo Ortofrutticolo - Ferrara

INTRODUZIONE

Fra le più gravi fisiopatie che si manifestano durante la conservazione e la successiva commercializzazione delle mele "Granny Smith", il Riscaldamento comune è sicuramente quella che arreca i maggiori danni. Tale alterazione fisiologica si manifesta esclusivamente a carico delle componenti componenti istologiche più superficiali del frutto.

La sintomatologia più frequente è quella di tipo reticolato, (2) con imbrunimenti più o meno diffusi, piuttosto sfumati e che frequentemente rispettano alcune aree periletticellari. Potenzialmente questa alterazione, in condizioni particolari, può compromettere totalmente l'esito commerciale della conservazione.

Dopo la scoperta dei prodotti antiossidanti, e gli studi tecnici sulla loro applicazione, la problematica si è decisamente ridimensionata (2/5/6/7/8/9/10/11).

Il rinnovato interesse per questa fisiopatia deriva non tanto da motivazioni di carattere strettamente fitopatologico, bensì da risoluzioni di ordine legale ed igienico-sanitario.

Infatti specialmente in Italia ed in Europa esistono dei limiti di tolleranza tossicologica che non consentono l'impiego delle sostanze antiossidanti, tradizionalmente utilizzate, (Etossichina e Difenilamina) a dosaggi efficaci specie nelle annate di particolare suscettibilità al Riscaldamento.

Tale situazione, per quanto riguarda la Difenilamina, viene evidenziata dalla verifica della degradazione di tale principio attivo al dosaggio normalmente impiegato, inoltre a questi dosaggi Difenilamina può determinare su alcune importanti cultivars di mele problemi di fitotossicità.

Per quanto concerne l'Etossichina esistono problemi legislativi internazionali, che pongono notevoli limitazioni all'impiego della stessa. Il presente lavoro ha inteso riverificare nell'arco di quattro anni il rapporto tra dose, efficacia e residuo di alcune sostanze antiossidanti quali Etossichina, Difenilamina, Butilidrossianisolo e Piperonil Butossido a diversi livelli di concentrazione.

Si è inoltre posta particolare attenzione all'impiego di miscele delle diverse sostanze per verificare eventuali effetti sinergici o cumulativi; tutto ciò nell'ottica di ottenere la massima prevenzione della fisiopatia impiegando dosi il più possibile basse.

MATERIALI E METODI

Per la ricerca si è operato su mele della cultivar "Granny Smith", che come noto è particolarmente suscettibile al riscaldamento comune.

Nel frutteto utilizzato per la ricerca sono state eseguite le normali pratiche colturali. I frutti destinati alla prova sono stati preventivamente campionati al fine di ottenere la massima uniformità e trattati con diverse sostanze antiriscaldamento, per immersione (per 20"). Il trattamento con le sostanze antiriscaldamento è stato effettuato per immersione in post-raccolta.

Al termine del trattamento i frutti, contenuti in cassette di legno, sono stati asciugati per 24 ore a temperatura ambiente e quindi accatastati nelle celle di conservazione.

La conservazione è avvenuta a 0° C. con U.R. pari al 85-90%.

Mensilmente si è controllato lo sviluppo della alterazione mediante il prelievo di campioni da ogni tesi.

La prova si è articolata in quattro anni: dal 1983 al 1986.

Si ritiene opportuno esaminare ogni anno singolarmente poiché le prove sono state in parte "modificate" in funzione dei risultati dell'anno precedente.

I ANNO

La sperimentazione tendeva a definire l'attività antiriscaldamento di Etossichina, di Difenilamina (DPA) e delle loro miscele in relazione al grado di maturazione dei frutti, ricercando in questo ambito elementi nuovi e chiarificatori.

A tal fine sono state eseguite due identiche prove su frutti raccolti a distanza di 15 gg.; il grado di maturità è stato evidenziato utilizzando diversi indici:

- durezza della polpa
- contenuto di amido
- colore di fondo della buccia
- residuo secco rifrattometrico
- acidità titolabile e rapporto zuccheri-acidità.

Ogni prova era composta da 5 tesi ognuna formata da 6 ripetizioni di 100 frutti.

Il controllo è stato effettuato a metà maggio, cioè dopo 200 giorni di conservazione.

II ANNO

Nel secondo anno si è trascurato l'aspetto legato all'influenza del grado di maturazione focalizzando l'attenzione su altri obiettivi:

- verifica di tre sostanze antiossidanti: Etossichina, Difenilamina e Butilidrossianisolo (BHA), una sostanza quest'ultima già utilizzata dall'industria conserviera;

- verifica dell'eventuale effetto sinergico o cumulativo di miscele binarie o ternarie a diversa concentrazione dei principi attivi sopramenzionati;

La prova è stata articolata in 14 diverse tesi ognuna formata da 8 ripetizioni di circa 100 frutti. Il controllo è stato effettuato a metà del mese di maggio e cioè dopo 200 giorni di conservazione.

Il 1984 è stato un anno con poca predisposizione dei frutti alla comparsa del Riscaldo.

III ANNO

Si è seguita l'impostazione già sperimentata nell'anno precedente, fatta eccezione per BHA che è stato impiegato solo in miscela con Etossichina.

Gli obiettivi sono stati i seguenti:

- verifica dell'efficacia di tre sostanze antiossidanti: Etossichina, Difenilamina e Piperonil Butossido (un antiossidante utilizzato come coformulante di altri fitofarmaci);

- verifica dell'eventuale effetto sinergico o cumulativo di miscele tra i tre prodotti;

- valutazione dell'entità dei residui a fine conservazione.

La prova si è articolata in 10 tesi ognuna formata da 5 ripetizioni di circa 100 frutti. In questa prova il controllo è stato effettuato alla fine del mese di gennaio, cioè dopo tre mesi di conservazione. La scelta è stata motivata dalla particolare suscettibilità al Riscaldo che si è verificata in questo anno per la cultivar "Granny Smith".

IV ANNO

In questo ultimo anno, la prova è stata ridimensionata ed orientata alla verifica di due soli principi attivi antiossidanti: Difenilamina ed Etossichina, trascurando altre sostanze antiriscaldo quali Butilidrossianisolo e Piperonil Butossido.

Gli obiettivi sono stati i seguenti:

- verifica dell'efficacia antiriscaldo di Difenilamina utilizzando dosaggi bassi;

- verifica dell'efficacia e del possibile effetto sinergico delle miscele di Etossichina e Difenilamina, pur diminuendo le dosi di entrambi i principi attivi;

- valutazione dell'entità dei residui a fine conservazione;

- controllo della degradazione di Difenilamina al dosaggio standard durante il periodo della conservazione.

La prova si è articolata in sei tesi, ognuna formata da cinque ripetizioni di 100 frutti. Il controllo è stato effettuato a metà del mese di aprile, dopo 180 giorni di conservazione.

Al termine del periodo di conservazione le mele sono state poste a temperatura ambiente, circa 15° C per 7 giorni;

questo arco di tempo è stato sufficiente per evidenziare completamente l'incidenza del Riscaldo.

Nella quantificazione della fisiopatia si è cercato di limitare al minimo l'errore dovuto all'operatore e di allinearsi ad una classificazione valida sotto il profilo commerciale suddividendo il prodotto in due classi:

- a) frutti con superficie interessata dal Riscaldo maggiore di 1 cmq.
- b) frutti sani o con superficie interessata dal Riscaldo inferiore ad 1 cmq.

La valutazione degli aspetti residuali, come già indicato nella descrizione dei metodi operativi del III e IV anno, ha riguardato da un lato l'entità degli stessi a fine conservazione, relativamente alle tesi di maggior interesse e, dall'altro, la degradazione del residuo di Difenilamina impiegata al dosaggio dello 0.20%, valutata a cadenza mensile, durante tutto il periodo della conservazione.

Le analisi relative ad ognuna delle tesi prese in considerazione e/o ad ogni punto della retta di regressione, sono state effettuate su 5 campioni da 20 frutti ciascuno. Globalmente quindi sono stati analizzati 100 frutti per ogni tesi. Le analisi per la determinazione dei residui sono state svolte con una metodica gascromatografica con rivelazione a fiamma alcalina (1, 3, 4).

RISULTATI

Per una analisi più approfondita dei risultati si ritiene opportuno considerare separatamente le prove effettuate nei diversi anni e di analizzare a parte gli aspetti legati alla valutazione dei residui.

ATTIVITA'

I ANNO

Si può osservare che nei frutti della prima raccolta (tab. 1) è possibile riscontrare differenze significative tra il testimone e tutte le altre tesi. Etossichina allo 0,20% ha manifestato una efficacia inferiore a Difenilamina e all'impiego delle miscele anche a bassi dosaggi. Nei frutti della seconda raccolta (tab.2), si è avuta una differenza significativa tra il testimone e tutte le altre tesi.

La miscela di DPA con Etossichina (entrambe allo 0,20%) ha fornito i migliori risultati.

Tra le tesi 2, 3 e 5 non risulta alcuna differenza significativa.

II ANNO

Analizzando i risultati (Tab.3) è possibile riscontrare differenze significative tra il testimone e tutte le altre tesi. BHA ha ridotto l'incidenza del Riscaldamento in misura insufficiente.

L'efficacia di tutte le miscele sperimentate è stata rilevante. Occorre ricordare che in questa annata la predisposizione al Riscaldamento era notevolmente bassa rispetto alla situazione normale.

III ANNO

Nel terzo anno i risultati (tab.4) hanno evidenziato una differenza non significativa tra il testimone e la tesi trattata con Piperonil Butossido.

Risulta, inoltre, una minore efficacia di Etossichina anche allo 0,20% rispetto a Difenilamina, la quale mostra un effetto antiriscaldamento progressivamente crescente con l'aumentare della dose (0,15%-0,20%-0,25%).

Emerge, infine, un'azione cumulativa piuttosto evidente fra Difenilamina ed Etossichina.

IV ANNO

Nell'ultimo anno di prove si sono evidenziate (Tab.5) differenze significative fra testimone e le altre tesi trattate con Etossichina, Difenilamina, singole o in miscela fra loro.

Non si sono riscontrate differenze significative fra le tesi trattate con Difenilamina allo 0.20% e allo 0.15% e la tesi trattata con Difenilamina in miscela con Etossichina entrambe alla dose dello 0.10%. In questo anno a differenza del precedente, non si è verificata se non in parte, una relazione dose-efficacia, direttamente proporzionale, per quanto concerne Difenilamina.

Si rileva comunque la notevole efficacia delle miscele di Etossichina e Difenilamina.

RESIDUI

Per ciò che concerne questo aspetto esaminiamo anno per anno le varie situazioni.

III ANNO

Sul testimone non sono stati riscontrati (Tab.4) residui di Difenilamina ed Etossichina. Non sussistono differenze significative, per Difenilamina, fra la tesi con DPA allo 0.15% e le tesi 9 e 10 che utilizzavano DPA in miscela con Etossichina. Esistono invece differenze significative fra le tesi 2, 3, 4, dove, all'aumentare del dosaggio corrisponde un aumento dei residui.

Per quanto riguarda Etossichina non si rilevano differenze significative fra le tesi 5 ed 8 rispettivamente Etossichina allo 0.15% ed Etossichina in miscela alla stessa dose con Butilidrossianisolo. Non esistono pure differenze significative nei residui di Etossichina tra le tesi 9 e 10, dove tale prodotto viene usato alla dose dello 0.10% in miscela con DPA rispettivamente allo 0.15% e 0.20%.

Piperonil Butossido e Butilidrossianisolo non sono stati analizzati, in quanto saggiati per la prima volta.

IV ANNO

Sul testimone non sono stati riscontrati (Tab. 5) dosaggi significativi di residuo di DPA ed Etossichina.

Per quanto riguarda Difenilamina, esistono differenze significative fra la tesi 2 e le tesi 3 e 4, con un aumento del residuo in funzione dell'aumento del dosaggio.

Sono riscontrabili invece differenze significative fra la tesi con DPA allo 0.15% e DPA allo 0.10% entrambe in miscela con Etossichina allo 0.10%. Sussistono inoltre differenze significative fra la tesi 7 e le tesi 3 e 4.

Per ciò che concerne lo studio sulla degradazione di Difenilamina allo 0.20%, (Graf. 1) la retta di regressione ha un coefficiente di correlazione pari allo 0.829, con un livello di significatività del 5%.

Tab.1 - I Anno - Attività antiriscaldamento di Etossichina e di Difenilamina.

Tesi	Principi Attivi e Dose%	% Riscaldamento
1	Testimone	98.09 a
2	Ettox 0.20	29.76 b
3	DPA 0.20	20.93 c
4	Ettox 0.20 + DPA 0.20	2.86 d
5	Ettox 0.15 + DPA 0.15	9.86 d

Duncan Test P 0.05.

Tab.2 - I Anno - Attività antiriscaldamento di Etossichina e Difenilamina su mele con grado di maturazione avanzata.

Tesi	Principi Attivi e Dose%	% Riscaldamento
1	Testimone	98.80 a
2	Ettox 0.20	10.41 b
3	DPA 0.20	11.21 b
4	Ettox 0.20 + DPA 0.20	1.01 c
5	Ettox 0.15 + DPA 0.15	7.60 b

Duncan Test P 0.05.

Tab.3 - II Anno - Attività antiriscaldamento di Etossichina, Difetilamina e Butilidrossianisolo.

Tesi	Principi Attivi e Dose%	% Riscaldamento
1	Testimone	94.88 a
2	DPA	0.15 0.19 d
3	DPA	0.20 0.00 d
4	DPA	0.25 0.00 d
5	Etox	0.10 6.97 c
6	Etox	0.15 2.39 cd
7	Etox	0.20 1.56 d
8	BHA	0.15 58.87 b
9	DPA 0.15 + Etox	0.10 0.00 d
10	DPA 0.15 + Etox	0.15 0.00 d
11	DPA 0.20 + Etox	0.15 0.00 d
12	DPA 0.25 + Etox	0.15 0.00 d
13	BHA 0.15 + Etox	0.15 2.24 cd
14	DPA 0.15 + Etox 0.10 + BHA 0.15	1.04 d

Duncan Test P 0.05.

Tab.4 - III Anno - Attività antiriscaldamento di Etossichina, Difetilamina e Piperonil Butossido e valore medio dei residui (espressi in p.p.m.) a fine conservazione.

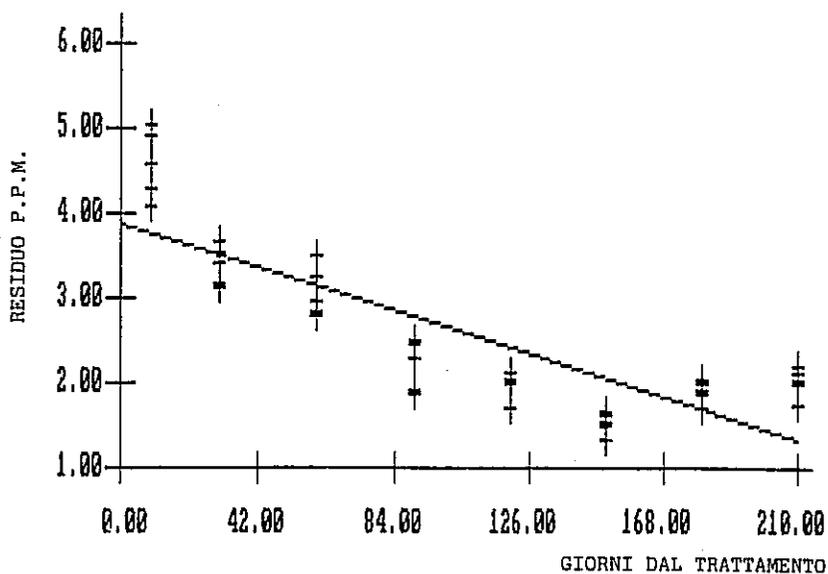
Tesi	Principi Attivi e %Dose	% Riscaldamento	Residuo DPA	Residuo Etox
1	Testimone	98.69 a	0.00 d	0.00 d
2	DPA	0.15 22.00 d	0.60 c	
3	DPA	0.20 6.51 e	0.86 b	
4	DPA	0.25 1.87 f	1.07 a	
5	Etox	0.15 63.62 b		1.13 b
6	Etox	0.20 38.23 c		1.58 a
7	Piperonil Butos.	0.40 98.61 a		
8	BHA 0.15 + Etox	0.15 58.12 b		1.16 b
9	DPA 0.15 + Etox	0.10 9.69 e	0.54 c	0.41 c
10	DPA 0.20 + Etox	0.10 0.63 f	0.56 c	0.40 c

Duncan Test P 0.05. Elaborazione per colonne verticali.

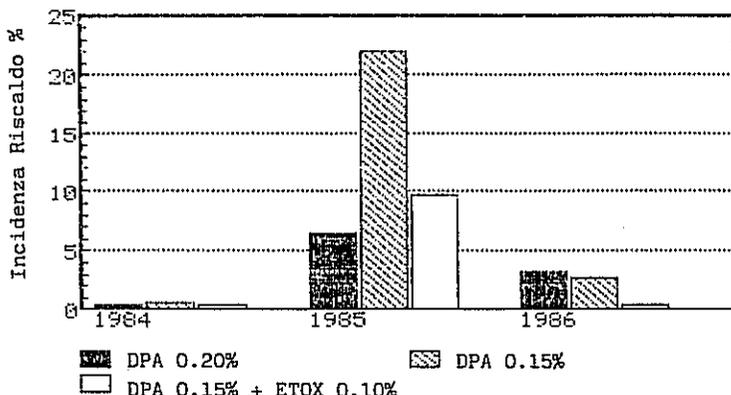
Tab.5 - IV Anno - Attività antiriscaldamento di Difenilamina ed Etoossichina e valore medio dei residui (espressi in p.p.m.) a fine conservazione.

Tesi	Principi Attivi e %Dose	% Riscaldamento	Residuo DPA	Residuo Etox
1	Testimone	96.03 a	0.00 d	0.00 b
2	DPA 0.10	8.88 b	1.09 bc	
3	DPA 0.15	2.68 c	1.82 a	
4	DPA 0.20	3.22 c	1.92 a	
5	DPA 0.15 + Etox 0.10	0.00 d	1.42 ab	0.91 a
6	DPA 0.10 + Etox 0.10	3.73 c	0.84 c	0.71 a

Duncan Test P 0.05. Elaborazione per colonne verticali.



Graf.1 - IV ANNO Retta di regressione, Difenilamina 0.20%.



Graf.2 - Grafico di comparazione dell'attività antiriscaldamento di Difenilamina ed Etossichina singole ed in miscela dal 1984 al 1986.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI

Per quanto riguarda l'efficacia delle sostanze considerate si è innanzitutto evidenziato che Piperonil Butossido risulta assolutamente inefficace come antiossidante nella prevenzione del Riscaldamento (tab.4).

Analoga situazione si è verificata per Butilidrossianisolo, (BHA) sia usato singolarmente (tab.3), sia in miscela con Etossichina (tabb.3,4).

Etossichina ha dimostrato, in annate con forte suscettibilità dei frutti al Riscaldamento, scarsa efficacia anche a dosi dello 0,20% di principio attivo.

Occorre per altro ricordare che a queste dosi Etossichina determina sul prodotto destinato al consumo, residui spesso prossimi al limite di tolleranza tossicologica accettato a livello nazionale.

Il DPA risulta senza dubbio il p.a. più efficace nella prevenzione del Riscaldamento.

Però, in situazioni di particolare suscettibilità a questa alterazione, dosi dello 0,15% (tab.4) e 0,20% di p.a. (tab.1) possono determinare una riduzione del Riscaldamento insoddisfacente (graf. 2).

E' inoltre opportuno ricordare che con dosi di DPA superiori allo 0,20% di p.a. si possono determinare problemi di carattere igienico-sanitario; cioè si possono riscontrare residui superiori al limite di tolleranza tossicologica, che in Europa è di 3,00 p.p.m., anche dopo lo scadere del tempo di carenza, come risulta dalla verifica della degradazione riportata nel grafico n. 1.

Rilevante risulta pure l'interesse sull'impiego di miscele di Etossichina e Difenilamina.

Si è infatti constatato che impiegando una miscela dei due prodotti anche a concentrazioni basse si ottiene un buon effetto cumulativo e talvolta un effetto sinergico (graf. 2).

Si è inoltre evidenziato che sotto il profilo igienico e sanitario, l'impiego di miscele con dosi più basse dei due principi attivi riduce notevolmente il livello di contaminazione dei frutti.

RIASSUNTO

E' stata condotta una ricerca, per verificare l'applicabilità sotto il profilo dell'efficacia e degli effetti igienico-sanitari, di alcuni prodotti antiossidanti nel controllo del Riscaldo comune sulla mela "Granny Smith".

Fra i principi attivi sperimentati Difenilamina ha dimostrato di esercitare una soddisfacente efficacia a dosaggi che possono creare problemi di ordine igienico e sanitario. L'impiego di miscele di Etossichina e Difenilamina, anche a bassa concentrazione ha dimostrato di contenere l'alterazione, senza creare problemi a livello di residui tossici sui frutti.

SUMMARY

RESIDUE DETERMINATION AND EFFECTIVENESS OF SOME ANTIOXIDANT SUBSTANCES FOR SCALD CONTROL ON APPLES

A research has been carried out to check both the effectiveness and the hygienic and sanitary effects of some antioxydant products to control common scald on "Granny Smith" apples.

Among the tested active ingredients Diphenylamine proved to be sufficiently effective at dosages which can cause problems of hygienic and sanitary nature.

At the same time, it was found that using mixtures of Ethoxyquin and Diphenylamine, also at low concentrations, the alteration can be controlled without causing problems of pesticide contamination on fruit.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ANSELMETTI, M.P., CARELLO, M., TORAZZO, P., VIETTI, L. 1982. Dosaggio della Etossichina su mele per via gascromatografica e conferma in spettrometria di massa. Boll. Lab. Chim. Prov. 33, S4/35.
- (2) BIONDI, G., CIMINO, A., BRIGATI, S. 1978. Influenza dei trattamenti post-raccolta e del grado di maturazione fisiologica sul Riscaldo Comune della cv. Granny Smith. Not. Criof 1-2.
- (3) CAMONI, I., DI MUCCIO, A., DOMMARCO, R., GATTORTA, G. 1984. Indagini sulla entità dei residui di prodotti antiriscaldo su pomacee in relazione ai sistemi di lotta contro il riscaldo comune. Nota I - impiego della Etossichina. ISSN-0391-1675. ISTISAN 84/25.
- (4) CHOY, T.K., QUATTRONE, J.J., ALICINO, N.J. 1963. A Gas-Chromatographic method for the determination of the antioxidants BHA, BHT and Ethoxyquin in aqueous and in hydrocarbonsoluble samples. J.Chrom.12.
- (5) HALL, E.G., SCOTT, K.J., RILEY, T.J. 1961. Effects of ventilation on the development of superficial scald on cool stored Granny Smith apples. Tech. Pap. C.S.I.R.O. Div. Fd. Pres., 25
- (6) HARDEMBURG, R.E., ANDERSON, R.E. 1962. Chemical control of scald on apples grown on Eastern U.S.. Mktg. Res. Rep. U.S. Depart. Agric., 538.
- (7) MATTUS, G.E. Apple Scald Recommendations for the 1982 Crop. Pack Out, Decco Tilt, XII,1
- (8) MEZZETTI, A. 1961. Alterazioni di mercato della frutta e degli ortaggi. Ed. Agricole Bologna.
- (9) PADFIELD, C.A.S. 1959. The use of diphenylamine and other chemical to control superficial scald of apples. N.Z.I. agric. Res.
- (10) PRATELLA, G.C. 1983. Il riscaldo comune delle mele. Inf. Fit., 17-25
- (11) SCOTT, K.J. ROBERTS, E.A. 1966. The relative effectiveness of diphenylamine and etoxyquin in inhibiting superficial scald on Granny Smith apples. Aust. J. exp. Agr. Anim. Husb., 6.