ATTI Giornate Fitopatologiche
1994, 1, 39-46

TRATTAMENTI ALL'OLIVO CON FENTHION E RISCHIO DI RESIDUI IN OLIVE ED OLIO.

G.P. MOLINARI; S. CAVANNA; G. FONTANA

Istituto di Chimica Agraria ed Ambientale - sezione Chimica del Suolo, Facoltà di Agraria
Università Cattolica del S. Cuore. Piacenza.

RIASSUNTO

Il rischio di ingestione di fenthion e suoi metaboliti attraverso il consumo di olive ed olio è stato valutato mediante i dati sui livelli dei residui di queste sostanze prodotti con sperimentazioni su oliveti del centro e sud Italia trattate con il formulato Lebaycid in due annate agrarie. Nelle olive raccolte e nell'olio derivato è stata riscontrata la forte influenza sul livello residuale dell'intervallo intercorso tra ultimo trattamento e raccolta; mentre scarsa influenza hanno dimostrato il numero dei trattamenti e la dose di p.a. distribuito per pianta. I residui nella drupa intera sono in tutti i casi inferiori al limite massimo fissato dalla legge a 0,8 mg/kg per il fenthion. I residui medi nell'olio derivato da olive raccolte a 28 giorni dall'ultimo trattamento, tempo di carenza attualmente previsto, sono intorno a 0,8 mg/kg e si abbassano notevolmente (0,3 mg/kg) nell'olio ottenuto da olive raccolte a 60 giorni dall'ultimo trattamento.
Considerando i consumi italiani di olive ed olio si è riscontrato che la dose giornaliera massima assumibile, nell'ipotesi peggiore di consumo di soli prodotti trattati con fenthion, è inferiore al 50% dell'ADI (Dose giornaliera accettabile = 0,001 mg/kg di peso corporeo giorno) se le olive sono raccolte 28 giorni dopo l'ultimo trattamento, e minore del 10% se la raccolta è effettuata 60 giorni dopo l'ultimo trattamento.

SUMMARY

Treatments to olive-tree with fenthion and risk of residues in olives and olive-oil.

The risk of fenthion and its oxidative metabolites ingestion through consume of olives and olive-oil is estimated. For this aim the residue levels measured in an experiment of two years on olive-groves sited in centre and south Italy and treated with insecticide Lebaycid were used. The residue level in both olives and olive-oil is strongly dependent on time elapsed between last treatment and harvest; while is little on number and rate treatment.
The fenthion residues in olive drupe are always below Maximum Level Residue fixed by Italian law at 0.8 mg/kg. The average residue in olive-oil is 0.8 mg/kg if the olives were harvested at security time (28 days) and decreases to 0.3 mg/kg when the time after the last treatment is 60 days.
The Estimated Daily Intake, evaluated by results obtained and on the base of Italian consumption of olives and olive-oil, is less than 50% of ADI (Accepted Daily Intake) for fenthion if olives were harvested 28 days after last treatment, and less than 10% if the harvest was carried-out 60 days after last treatment.

INTRODUZIONE

La distribuzione di antiparassitari sulla coltura dell'olivo è una pratica necessaria per mantenere un buono stato fitosanitario della coltura al fine di garantire un elevato standard qualitativo del prodotto finale, sia esso olive da tavola che olive destinate all'oleificazione (Del Rio 1978/a, 1978/b). In quest'ultimo caso gli attacchi parassitari possono comportare l'instaurarsi di processi idrolitici ed ossidativi nell'olio con conseguente scadimento delle caratteristiche organolettiche e della qualità del prodotto (Pompi, Leandri 1993).
D'altra parte è importante considerare che i trattamenti antiparassitari eseguiti sull'olivo, possono lasciare sulla drupa residui del principio attivo utilizzato e dei suoi metaboliti, che si ripartiranno fra le diverse componenti del frutto a seconda delle proprie caratteristiche. Di conseguenza il problema sanitario dovuto alla presenza di residui di fitofarmaci riguarda sia il frutto intero, consumato come tale, sia l'olio, dato l'elevato consumo di quest'ultimo in Italia (in media 9,3 kg/anno pro capite) (Turrini et al., 1991).
Lo scopo della ricerca è stato la valutazione del rischio di esposizione al fenthion ed ai suoi principali metaboliti di ossidazione (sulfone e sulfossido del fenthion, fenthion ossido, sulfone e sulfossido del fenthion ossido), conseguente al consumo di olive, ed olio derivato, ottenute da oliveti che hanno subito uno o due trattamenti con l'insetticida nella lotta contro la mosca dell'olivo (*Dacus oleae* Gmel.).
Dato che il consumo delle olive è limitato alla parte edibile, per la valutazione più corretta del rischio, i residui sono stati determinati nella sola polpa (drupa snocciolata).

MATERIALI E METODI

Sono state effettuate due sperimentazioni agronomiche: la prima nell'annata agraria 1990-1991 e la seconda nell'annata 1992-1993.

PROVA ANNATA 1990-1991

La prova è stata condotta su due oliveti ubicati a S. Maria del Belice (AG) e a Fondi (LT) con olivi delle cv Nocellara del Belice e Leccino. Per ognuna delle cultivar sono state preparate due tesi entrambe trattate con l'insetticida Lebaycid al 24,2% di fenthion, la prima con un solo trattamento (2 l/ha di formulato), la seconda con due trattamenti (2 l/ha di formulato) distanziati 28 giorni l'uno dall'altro. Ad ogni tesi trattata ne corrispondeva una non trattata come controllo.
I campioni di olive sono stati raccolti rispettivamente a 0, 14, e 28 giorni dal trattamento, raccogliendo 2-3 kg di olive in modo random dagli olivi della parcella, sia all'esterno che all'interno della chioma.

PROVA ANNATA 1992-1993

La prova è stata condotta in oliveti ubicati ad Andria (BA), Alezio (LE) e Molfetta (BA) con olivi rispettivamente delle cv Coratina, Leccino e Cima di Bitonto.
Per ognuna di queste cultivar è stata prevista una tesi trattata con 1 l/ha dell'insetticida Lebaycid al 50% di fenthion. Dato il diverso sesto d'impianto e la dimensione degli alberi la cv Coratina è stata trattata con 2,1 g/pianta di p.a., la cv Leccino con 3,3 g/pianta di p.a. e la cv Cima di Bitonto con 6,1 g/pianta di p.a. Inoltre sulla cv Coratina è stata prevista una seconda tesi con due trattamenti distanziati 60 giorni l'uno dall'altro con 2 l/ha del formulato

Lebaycid al 25% di fenthion (dose di 2,1 g/pianta di p.a.) Ad ogni tesi trattata ne corrispondeva una non trattata di controllo.
I campioni di olive sono stati raccolti rispettivamente a 0, 28, e 60 giorni dal trattamento, raccogliendo 2-3 kg di olive in modo random dagli olivi della parcella, sia all'esterno che all'interno della chioma.

ESTRAZIONE DELL'OLIO

La spremitura delle olive è stata effettuata pressando con una pressa meccanica delle piccole torri di pressatura costituite da diaframmi in tessuto sui quali è stata distribuita la pasta (polpa e noccioli) di olive precedentemente triturate. La fase liquida ottenuta è stata centrifugata per separare la fase oleosa dalla fase acquosa. L'olio è stato conservato in frigorifero fino al momento dell'analisi.

METODO DI ANALISI

Per la determinazione dei residui di fenthion e dei suoi principali metaboliti è stata messa a punto una metodica multiresiduo che si differenzia nella fase di estrazione e di purificazione a seconda che da sottoporre ad analisi siano olive od olio (Molinari et al., 1994).
Drupa: estrazione con acetonitrile; purificazione dell'estratto per partizione con n-esano e per cromatografia su allumina, e sua concentrazione ed analisi mediante GLC.
Olio: diluizione con acetato di etile prima dell'analisi GLC
Prove di recupero fatte utilizzando olive, ed olio non trattati mostrano che i recuperi oscillano fra il 90 ed il 100% per fenthion e fenthion ossido e fra l'80 ed il 100% per gli altri metaboliti. Inoltre il limite di rivelazione della metodica è di 0,005 mg/kg. Tale limite nella prima sperimentazione è stato spinto a 0,001 - 0,002 mg/kg per rilevare la presenza dei metaboliti fenthion ossido e fenthion sulfone.

RISULTATI

I livelli di residuo di fenthion e suoi metaboliti misurati sono stati sottoposti all'analisi statistica della varianza multifattoriale; le medie di ogni raggruppamento di dati sono state confrontate secondo il test di omogeneità di Tukey ($P \geq 95\%$). Inoltre la correlazione esistente tra i livelli di residuo nella polpa e nell'olio, ed il tempo intercorso fra ultimo trattamento e raccolta è stata studiata mediante la regressione semplice scegliendo il modello più adeguato.
Nelle tabelle 1 e 2 sono riportati i livelli medi di residuo totale (espresso come fenthion), fenthion, fenthion sulfossido, fenthion sulfone, fenthion ossido, sulfossido e sulfone del fenthion ossido in polpa ed olio; in figura 1 sono illustrati i corrispondenti valori percentuali.
Il residuo totale e di fenthion dipende dal tempo fra trattamento e raccolta. A 28 giorni dal trattamento, tempo comune per entrambe le sperimentazioni, non vi sono differenze significative fra i livelli di residui nella drupa nei due anni. Differenze significative si hanno fra i livelli di residui negli oli derivanti da olive raccolte dopo 28 giorni.
Il residuo nella polpa e nell'olio a tutti i tempi di raccolta è presente principalmente come fenthion, che rappresenta dal 70 al 90% del residuo totale, e come fenthion sulfossido, dal 5 al 30% del residuo totale.
Dati i livelli di residui misurati nell'annata 1990-91 a 14 giorni, nel 1992-93 non sono state fatte analisi per questo tempo.

L'analisi statistica ha permesso di constatare che non sono significative le differenze tra le cultivar e le dosi di p.a. impiegato nei trattamenti.
L'olio presenta costantemente i livelli di residui più elevati. Il residuo medio totale risulta 3-5 volte maggiore rispetto alla polpa (nel 1990-91 a 14 gg: olio = 1,292 mg/kg; polpa = 0,390 mg/kg; a 28 gg: olio = 0,475 mg/kg; polpa = 0,142 mg/kg. Nel 1992-93 a 28 gg: olio = 0,928; mg/kg; polpa = 0,180 mg/kg; a 60 gg: olio = 0,258 mg/kg; polpa = 0,077 mg/kg).
I livelli di residuo totale, fenthion e fenthion sulfossido, all'aumentare dell'intervallo tra trattamento e raccolta delle olive, diminuiscono più velocemente nell'olio rispetto alla polpa, pur mantenendosi nel primo a livelli più elevati. Nel 1990-91 la riduzione del residuo totale da 0 a 28 giorni è del 78% per la drupa e dell'87% per l'olio (tempo di dimezzamento di 12,5 giorni e di 9,4 giorni rispettivamente) (fig.2). Nel 1992-93 il calo da 28 a 60 giorni è del 56% per il residuo totale nella drupa e del 72% nell'olio.

Tabella 1: Livelli medi in mg/kg (± errore standard) di residuo totale (espresso come fenthion), fenthion, fenthion sulfossido, fenthion sulfone, fenthion ossido e relativi rapporti rispetto al residuo totale in olio e drupa (polpa); riduzione % di residuo passando da 0 a 28 dopo l'ultimo trattamento. [SPERIMENTAZIONE 1990-91]

Residuo	0 gg	14 gg	28 gg	Riduzione % da 0 a 28 gg
DRUPA SNOCCIOLATA (polpa):				
Residuo totale	0,653 ± 0,098	0,390 ± 0,075	0,142 ± 0,030	78%
Fenthion	0,430 ± 0,056	0,285 ± 0,058	0,102 ± 0,021	76%
Fenthion sulfossido	0,222 ± 0,041	0,085 ± 0,014	0,037 ± 0,010	83%
Fenthion sulfone	0,000	0,000	0,000	0%
Fenthion ossido	0,013 ± 0,007	0,023 ± 0,009	0,005 ± 0,001	62%
Fenthion/Residuo totale	66%	73%	72%	
Fenthion sulfoss./Residuo totale	32%	21%	25%	
Altri metaboliti/Residuo totale	2%	6%	3%	
OLIO:				
Residuo totale	3,583 ± 0,652	1,292 ± 0,396	0,475 ± 0,124	87%
Fenthion	2,591 ± 0,608	1,008 ± 0,279	0,367 ± 0,099	86%
Fenthion sulfossido	0,990 ±.0,312	0,167 ± 0,062	0,070 ± 0,030	93%
Fenthion sulfone	0,005 ± 0,005	0,097 ± 0,053	0,043 ± 0,026	– 88%
Fenthion ossido	0,048 ± 0,048	0,038 ±0,038	0,008 ± 0,008	83%
Fenthion/Residuo totale	72%	78%	77%	
Fenthion sulfoss./Residuo totale	26%	12%	14%	
Altri metaboliti/Residuo totale	2%	10%	9%	
RAPPORTO TRA LE CONCENTRAZIONE IN OLIO E POLPA				
Residuo totale	5,5	3,3	3,3	40%
Fenthion	6	3,5	3,6	40%
Fenthion sulfossido	4,5	2	1,9	58%
Altri metaboliti	4,1	5,9	10,2	– 60%

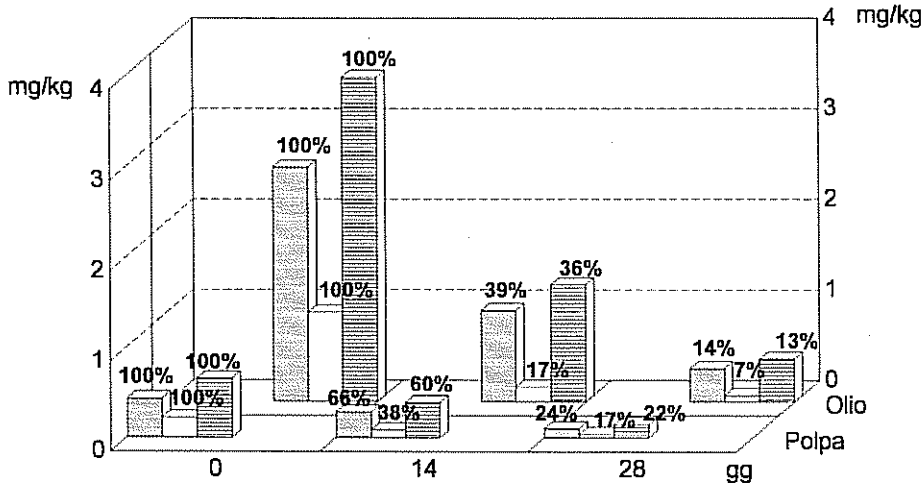
Tabella 2: Livelli medi in mg/kg (± errore standard) di residuo totale (espresso come fenthion), fenthion, fenthion sulfossido, fenthion sulfone, fenthion ossido, fenthion ossido sulfossido, fenthion ossido sulfone e relativi rapporti rispetto al residuo totale in olio e drupa (polpa); riduzione % di residuo passando da 28 a 60 gg dopo l'ultimo trattamento.[SPERIMENTAZIONE 1992-93]

Residuo	0 gg	28 gg	60 gg	Riduzione % da 28 a 60 gg
DRUPA SNOCCIOLATA (polpa):				
Residuo totale	1,776 ± 0,441	0,180 ± 0,071	0,077 ± 0,030	56%
Fenthion	1,509 ± 0,052	0,105 ± 0,052	0,029 ± 0,011	73%
Fenthion sulfossido	0,029 ± 0,011	0,035 ± 0,018	0,021 ± 0,014	40%
Fenthion sulfone	0	0,005 ± 0,001	0,003 ± 0,001	40%
Fenthion ossido	0,005 ± 0,001	0,008 ± 0,001	0,004 ± 0,001	50%
Fenthion ossido sulfossido	0,010 ± 0,004	0,029 ± 0,008	0,015 ± 0,008	48%
Fenthion ossido sulfone	0,001 ± 0,001	0	0	
Fenthion/Residuo totale	84%	58%	38%	
Fenthion sulfoss./Residuo totale	15%	19%	26%	
Altri metaboliti/Residuo totale	1%	23%	29%	
OLIO:				
Residuo totale		0,928 ± 0,193	0,258 ± 0,092	72%
Fenthion		0,870 ± 0,052	0,235 ± 0,083	73%
Fenthion sulfossido		0,048 ± 0,010	0,019 ± 0,006	60%
Fenthion sulfone		0,015 ± 0,007	0,007 ± 0,005	53%
Fenthion ossido		0	0	0%
Fenthion ossido sulfossido		0	0	0%
Fenthion ossido sulfone		0	0	0%
Fenthion/Residuo totale		94%	91%	
Fenthion sulfoss./Residuo totale		5%	7%	
Altri metaboliti/Residuo totale		1%	2%	
RAPPORTO TRA LE CONCENTRAZIONI IN OLIO E POLPA				
Residuo totale		5,2	3,2	38%
Fenthion		7,9	8,0	- 1%
Fenthion sulfossido		1,2	1,0	17%
Altri metaboliti		0,4	0,3	25%

Considerando i risultati relativi ai residui nelle olive, raccolte dopo 28 giorni dall'ultimo trattamento, corrispondenti al tempo di carenza stabilito dalla legge per il fenthion, si può rilevare che se nell'oliveto sono stati eseguiti due trattamenti distanziati di 28 giorni nel prodotto finale si ritrovano residui circa doppi di quelli rilevabili nel caso di un unico trattamento. Al contrario non è stata riscontrata una differenza significativa fra i livelli di residui rilevabili in olive ed olio provenienti da tesi che hanno subito 1 o 2 trattamenti distanziati 60 giorni l'uno dall'altro.

Figura 1: Livelli medi (mg/kg) e valori percentuali di residuo totale (espresso come fenthion), fenthion e fenthion sulfossido in polpa di olive ed olio.

SPERIMENTAZIONE 1990-91



SPERIMENTAZIONE 1992-93

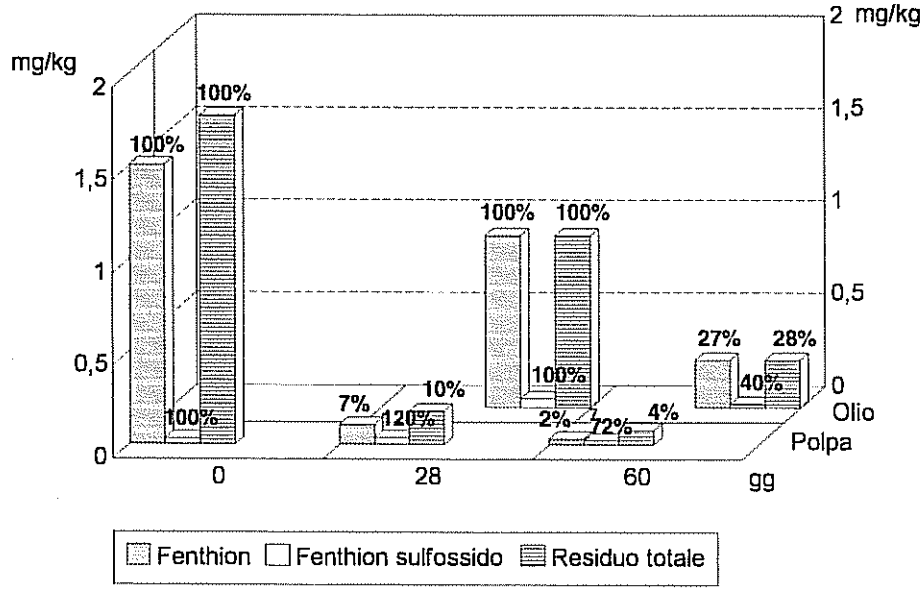
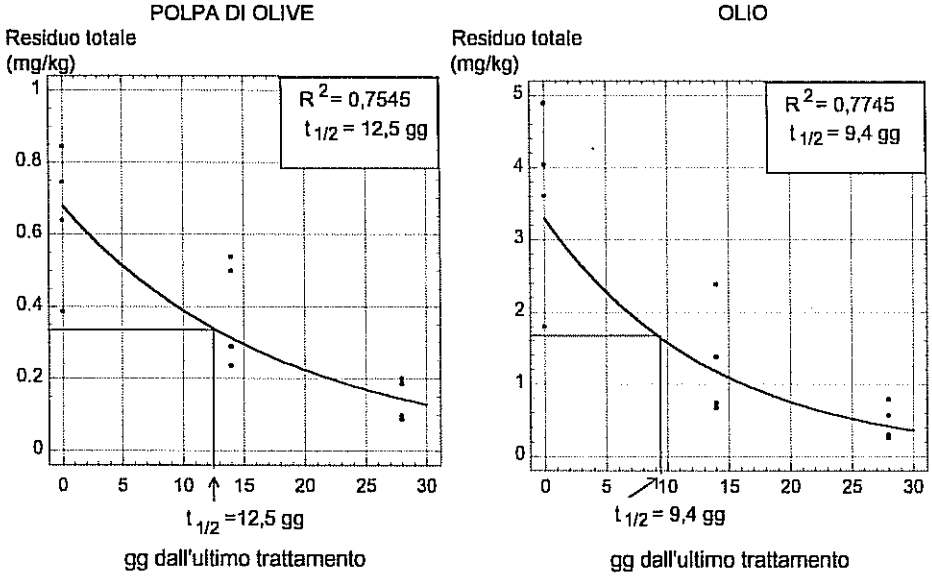


Figura 2: Residuo totale (fenthion + metaboliti) in polpa di olive ed olio in funzione del tempo intercorso tra l'ultimo trattamento e la raccolta: curva di interpolazione semilogaritmica e tempo di dimezzamento.



CONCLUSIONI

I residui di fenthion e dei metaboliti ritrovati nella drupa sono diversamente ripartiti tra le componenti oleose ed acquose del frutto. I residui più elevati sono stati misurati nell'olio data la lipofilia delle molecole studiate, però in questa matrice, dove i processi ossidativi sono di maggiore entità, tali residui diminuiscono più velocemente rispetto alla polpa.

Due trattamenti distanziati 28 giorni lasciano nelle olive raccolte dopo 28 giorni dall'ultimo trattamento, tempo di carenza stabilito dalla legge per il fenthion, un residuo doppio rispetto a quello rilevabile in seguito ad un unico trattamento. Mentre se l'intervallo intercorso fra due trattamenti è di 60 giorni non c'è differenza significativa tra i residui rilevabili nelle olive che hanno subito uno o due trattamenti.

I livelli di residuo totale (fenthion + suoi metaboliti) riscontrati nella parte edibile dell'oliva a 28 giorni (0,142 ± 0,030 mg/kg e 0,180 ± 0,071 mg/kg rispettivamente nelle annate 1990-91 e 1992-93) ed a 60 giorni (e 0,077 ± 0,030 mg/kg nell'annata 1992-93) sono ampiamente inferiori al limite massimo (LMR) stabilito dalla legge (O.M. del 18/07/90) fissato a 0,8 ppm nelle olive per il fenthion. I livelli di residuo totale riscontrati nell'olio sono vicini o superano tale limite a 28 giorni (0,475 ± 0,124 mg/kg e 0,928 ± 0,193 mg/kg rispettivamente nelle annate 1990-91 e 1992-93) ed a 60 giorni (0,258 ± 0,092 mg/kg nell'annata 1992-93).

Utilizzando i dati provenienti dalle due sperimentazioni ed interpolandoli con i dati relativi ai consumi italiani procapite di olio ed olive (25,4 e 2,0 g/giorno rispettivamente) si può constatare che l'assunzione giornaliera di fenthion è ampiamente al di sotto della ADI di 0,001 mg/kg, consumando sia olive raccolte a 28 che a 60 giorni dopo il trattamento con il p.a. fenthion.

Nella tabella 3, utilizzando i dati della sperimentazione 1992-93 sono calcolate le assunzioni giornaliere di fenthion e metaboliti ed il rapporto di questi con l'ADI. Per questo calcolo si è ipotizzato che tutti i prodotti consumati (olive ed oli) contengano il residuo medio misurato, utilizzando quindi un criterio di massima sicurezza.

Tabella 3: Confronto fra assunzione giornaliera di fenthion calcolata e ADI mediante il consumo di olive ed olio.

Alimento	Consumo pro capite (g/giorno)	Residui medi misurati (mg/kg)	Assunzione giornaliera calcolata (mg/kg)	ADI (mg/kg)	% ADI
OLIVE a 28 gg	2,0	0,18	0,000006	0,001	0,6 %
OLIVE a 60 gg	2,0	0,08	0,000003	0,001	0,3 %
OLIO a 28 gg	25,4	0,93	0,0004	0,001	40 %
OLIO a 60 gg	25,4	0,26	0,0001	0,001	10 %
TOTALE OLIO + OLIVE					
a 28 gg dal trattamento			0,000406	0,001	40,6 %
a 60 gg dal trattamento			0,000103	0,001	10,3 %

Dal momento che l'uso del fenthion è ammesso per legge anche su agrumi, pesche e ciliegie, nella tabella 4 è stata calcolata anche l'assunzione giornaliera derivante dal consumo procapite di 52,9 g/giorno di agrumi, 23,8 g/giorno di pesche e 8,8 g/giorno di ciliege (Turrini et al., 1991), assumendo un residuo pari al limite massimo ammesso per legge. Quindi anche assumendo che la dieta giornaliera comprenda tutti i suddetti alimenti contaminati al livello massimo di residuo ammesso, la somma dei residui ingeriti rappresenterebbe l'84,6% dell'ADI: valore comunque tranquillizzante.

Tabella 4: Confronto fra assunzione giornaliera di fenthion calcolata e ADI mediante il consumo di agrumi, ciliegie e pesche.

Alimento	Consumo pro capite (g/giorno)	LMR (mg/kg)	Assunzione giornaliera calcolata (mg/kg)	ADI (mg/kg)	% ADI
AGRUMI	52,9	0,3	0,0003	0,001	30%
PESCHE	23,8	0,3	0,0001	0,001	10%
CILIEGIE	8,8	0,3	0,00004	0,001	4%

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Del Rio G. (1978/a). Lotta guidata alla mosca delle olive. Notiz. Malattie delle Piante, 100, 18-23.

Del Rio G. (1978/b). Perdita di produzione e deprezzamento dell'olio dovuta ad infestazione della mosca dell'olivo (*Dacus oleae* Gmel) nella Sardegna Nord Occidentale.Atti del Convegno OILB di Sassari, 157-158.

Molinari G.P., Cavanna S., Fontana G. (1994). Determination of fenthion and its oxidative metabolites in olives and olive-oil.(in corso di pubblicazione)

Pompi V., Leandri A. (1993). I residui di fitofarmaci e la qualità dell'olio di oliva. Atti del Convegno Nazionale "Qualità degli alimenti e antiparassitari" GRIFA Cagliari 1993, 63-69.

Turrini A., Saba A., Lintas C. (1991). Study of the Italian reference diet for monitoring food constituents and contaminants. Nutrition Research, 11, 861-873.