

STUDIO DEI RESIDUI DI FITOFARMACI PRESENTI NELLE MELE COMMERCIALIZZATE NELLA PROVINCIA DI FERRARA NEGLI ANNI 1987-94.

V. BRANDOLINI¹, E. MENZIANI¹, D. MAZZOTTA¹
I. SCARONI², M.P. PREVIATI², A. BOVOLENTA²

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Via Fossato di Mortara, 17/19 - 44100 Ferrara

²P.H.P. Azienda USL, Corso Giovecca, 169 - 44100 Ferrara

Riassunto

Nel lavoro sono riportati i risultati di una indagine sulla contaminazione da residui di fitofarmaci di campioni di mele commercializzate nella provincia di Ferrara dal 1987 al 1994. Lo studio mette in evidenza l'incidenza percentuale e l'evoluzione del tipo di inquinamento dovuto a 70 principi attivi insetticidi, 34 fungicidi e ai ditiocarbammati anche in relazione alle principali cultivars considerate nella ricerca.

Parole chiave: residui, insetticidi, fungicidi, mele.

Summary

CONTROL OF PESTICIDE RESIDUES IN APPLES COLLECTED IN THE FERRARA COUNTRY IN THE YEARS 1987-1994.

The study has been carried out in Ferrara country to evaluate the risks of exposure to pesticide residues ingested with the apples. The research has pointed out the pollution range of 70 insecticides, 34 fungicides and dithiocarbamates in the apple cultivars collected in the years 1987-1994.

Key-words: residues, insecticides, fungicides, apples.

Introduzione

Negli ultimi anni è stato dato un sensibile impulso ai progetti di monitoraggio al fine di avere una valutazione complessiva del potenziale rischio per lo stato di salute del consumatore e dell'agrosistema (Cabras *et al.* 1990, Cabras *et al.* 1994, Conte e Imbrogliani 1994, Foschi e Flori 1994). Negli Stati Uniti, La Food and Drug Administration (FDA) controlla da molti anni l'esposizione dei consumatori ai residui derivanti da xenobiotici, rivolgendo una particolare attenzione ai residui di fitofarmaci (F.D.A. 1993).

In Europa con l'introduzione di recenti norme comunitarie si vorrebbe creare un più efficace controllo sul commercio e sull'impiego dei fitofarmaci al fine di garantire un elevato livello di protezione per la salute dell'uomo, degli animali e dell'ambiente soprattutto per quanto riguarda la tutela delle risorse idriche (D.L. n. 194, 1995).

L'analisi dei residui di fitofarmaci in campioni prelevati da mercati ha principalmente lo scopo di correlare l'esposizione del consumatore verso gli xenobiotici con la dieta media della popolazione e quindi di valutare su base statistica la reale quantità di residui che vengono assunti attraverso l'alimentazione. In Italia sono state effettuate diverse indagini tese a controllare il livello di inquinamento degli alimenti dovuto a residui di fitofarmaci (Zoli e Amadori 1986, Cabras *et al.* 1995, Govoni *et al.* 1995, Scaroni *et al.* 1995). Con questa indagine si è cercato di stimare il grado di contaminazione delle mele, campionate al momento della commercializzazione, nell'arco degli ultimi otto anni (periodo 1987-1994).

Materiali e metodi

Apparecchiature: Gascromatografi HNU-Nordion (mod. Micromat HRGC 412) muniti di doppio rivelatore NPD e ECD rispettivamente e iniettore splitless. Entrambi gli strumenti erano collegati ad un computer dotato di software Micman che consente di valutare i picchi cromatografici con il metodo degli indici di ritenzione (Software Micromat-Nordion).

Colonne cromatografiche: sono state utilizzate colonne capillari per GC SE 54 (25m x 0,32mm i.d., spessore 0,25 μ m) e OV 1701 (25m x 0,32mm i.d., spessore 0,25 μ m).

Condizioni cromatografiche: il campione (2 μ L) viene iniettato in splitless (60 sec) con la temperatura del forno in programmata: 2' a 50 °C 25°/min fino a 150 °C; 2,5' /min fino a 270 °C; 15' alla temperatura finale. Gas di trasporto elio al flusso di 1,5 mL/min. Gli iniettori erano tenuti a 250 °C mentre i detectors NPD a 280 °C e gli ECD a 300 °C, make-up con argon al 5% di metano.

Identificazione e dosaggio: per l'analisi quali-quantitativa sono stati utilizzati come standard interni i componenti di una miscela costituita da una specifica serie di omologhi denominata serie M, contenente otto molecole differenziate dalla lunghezza della catena alchilica (M6-M20). Il software permette di calcolare automaticamente gli indici di ritenzione di tutti i picchi eluiti in entrambe le colonne usando come riferimento gli indici della serie M e i valori memorizzati nella libreria con la standardizzazione del metodo. Il riconoscimento è positivo solo se il principio attivo incognito è identificabile contemporaneamente nelle due corse cromatografiche. La determinazione quantitativa è effettuata calcolando il fattore di risposta di ciascun principio attivo in rapporto ad una delle molecole della serie M opportunamente prescelta.

Trattamento dei campioni: i campioni analizzati sono stati rispettivamente: 46 nel 1987, 53 nel 1988, 105 nel 1989, 84 nel 1990, 94 nel 1991, 106 nel 1992, 94 nel 1993 e 96 nel 1994. Per ogni analisi, 50 g rappresentativi del campione sono stati preventivamente omogeneizzati e addizionati con 200 mL di acetone; dopo la filtrazione sotto vuoto e il trasferimento in imbuto separatore, sono stati aggiunti al filtrato 50 mL di soluzione acquosa satura di NaCl e si è estratto con 2x100 mL di CH₂Cl₂ disidratando la fase organica con Na₂SO₄ anidro. L'estratto, dopo essere stato portato a secco e ripreso con 10 mL di una miscela cicloesano:etil acetato (1:1), è stato purificato.

Purificazione G.P.C.: Sistema cromatografico a permeazione di gel a bassa pressione DPFC-1 (Lab Service Analytica) con colonna in vetro 30cm x 25mm i.d., impaccata con resina di tipo stirene-divinilbenzene (BIO-BEADS SX3, Biorad). Miscela eluente cicloesano:etil acetato (1:1). L'apparecchiatura è predisposta per il caricamento manuale ed è dotata di raccogliore di frazioni automatico.

Reagenti: tutti i principi attivi erano standard di grado analitico. I solventi erano di grado di purezza per pesticidi (C. Erba).

I metodi per la determinazione dei ditiocarbammati (G.U. 1981) e dei benzimidazolici (Baldi et al. 1991) sono riportati in letteratura.

Le prove di recupero sono state eseguite fortificando con miscele standard contenenti i principi attivi da determinare in concentrazioni variabili da 0,05 a 0,3 ppm, alcuni campioni di mele non contaminate. I valori percentuali medi e le rispettive deviazioni standard sono riportati in tabella 1.

Risultati e discussione

Le metodiche di estrazione e di analisi di tipo multiresiduale utilizzate per questo studio, hanno consentito di controllare l'eventuale presenza di 70 insetticidi, 34 fungicidi e dei ditiocarbammati. In tabella 1 sono riportati i principi attivi che più frequentemente sono stati ritrovati nei campioni esaminati nell'arco degli otto anni di indagine. Complessivamente si può affermare che, con le metodologie adottate, è stato possibile soddisfare tutte le esigenze di affidabilità, ripetibilità e sensibilità analitiche richieste da questo tipo di indagine.

Tab. 1. Principi attivi ritrovati più frequentemente nelle mele analizzate dal 1987 al 1994 e relative percentuali di recupero ($R\% \pm S.D.$), limiti di rivelabilità (L.R.) e limiti di tolleranza (MRL).

Principio attivo	Recupero (%)	S.D. ($\pm$)	L.R. (ppm)	MRL (ppm)
Fungicidi				
Captano	95,3	8,3	0,005	0,50
Carbendazim	82,0	10,4	0,010	1,00
Difenilammina	85,6	6,8	0,004	3,00
Ditiocarbammati	85,0	6,0	0,400	2,00
Etossichina	86,4	7,9	0,003	3,00
Procimidone	80,0	5,0	0,010	N.A.
Tiabendazolo	73,5	10,9	0,003	4,00
Insetticidi				
Azinfos metile	98,0	9,7	0,010	0,50
Clorpirifos	91,0	12,3	0,005	0,02
Fosalone	99,2	10,4	0,009	2,00
Paration	96,2	7,7	0,005	0,50
Pirimicarb	95,2	5,0	0,010	0,20
Quinalfos	92,2	9,3	0,004	0,10

S.D.= Deviazione standard.

N.A.= Non ammesso sulla coltura.

Il monitoraggio è stato eseguito prelevando ogni anno diverse varietà di mele e in particolare sono state analizzate "Golden", "Imperatore" e "Stark"; sotto la voce "Varie" sono state inserite le altre varietà che, nell'intero periodo d'indagine, non presentavano un numero di campioni sufficiente per una singola elaborazione statistica.

In tabella 2 sono riportate le percentuali di contaminazione relative ai campioni positivi per la presenza di residui di fitofarmaci. Dall'esame dei dati emerge che le maggiori percentuali di inquinamento sono state riscontrate nel 1987, nel 1993 e nel 1994, in particolare va rilevato che "Imperatore" e "Stark" sono le varietà che nel 1994 hanno presentato la totalità dei campioni contaminati da residui di fitofarmaci. Inoltre nel 1987, un 6,7% dei campioni presentava quantità di residui superiori al limite di tolleranza mentre il 2,2% conteneva residui di fungicidi non ammessi sulla coltura. A tale proposito vale la pena di ricordare come solo nel 1989 non siano stati trovati principi attivi non ammessi. Negli altri anni tali percentuali erano comprese fra 1,4% (1990) e 15,7% (1994). Il 1992 è risultato l'anno con la più bassa percentuale media di campioni contaminati nonostante un valore superiore al 90% presentato dalla cv Imperatore.

Al fine di considerare meglio il tipo di inquinamento, i dati elementari sono stati elaborati per controllare quale fosse la categoria di fitofarmaci che più contribuiva alla contaminazione.

I risultati complessivi sono riportati nel grafico 1 mentre nei grafici successivi (2-5) sono riportati quelli relativi alle diverse varietà.

Dall'esame delle percentuali di inquinamento riportate nel grafico 1 si può osservare come dal 1987 al 1990 sia nettamente prevalente la contaminazione dovuta ai residui di fungicidi. Negli anni successivi si nota un maggiore equilibrio tra fungicidi e insetticidi mentre la riduzione progressiva dell'inquinamento generale riscontrabile fino al 1992, si interrompe evidenziando nel contempo un sensibile e significativo incremento percentuale dei campioni contaminati nel 1993 e nel 1994.

Tabella 2. Contaminazione (%) da residui di fitofarmaci di campioni di varietà di mele commercializzate nel periodo 1987-1994.

Anno	Campioni positivi (%)					
	Golden	Imperatore	Stark	Varie	Media	>MRL
1987	91,2	100,0	100,0	100,0	97,8	6,7
1988	78,9	99,6	79,4	84,9	83,0	-
1989	83,6	69,0	77,8	67,1	73,3	2,2
1990	99,7	67,5	88,3	92,1	86,7	-
1991	91,5	83,1	73,3	84,8	83,2	2,1
1992	63,8	93,5	52,3	41,5	63,2	-
1993	93,7	91,6	100,0	80,9	91,6	-
1994	100,0	100,0	100,0	75,0	93,7	-

I grafici 2, 3, 4 e 5 sono rappresentativi della tipologia residuale della contaminazione delle varietà e dell'andamento relativo al periodo considerato. Da ciò emerge la preoccupazione legata all'aumento della contaminazione da parte degli insetticidi ma, soprattutto, dalla presenza contemporanea di più residui sullo stesso alimento.

Anche se il numero di campioni analizzati annualmente non è stato particolarmente elevato nel 1987 e 1988, l'indicazione che si può avere, per quanto concerne la provincia di Ferrara, si ritiene sia sufficientemente indicativa dell'evoluzione dello stato igienico-sanitario delle mele commercializzate nel periodo considerato. Una ulteriore osservazione riguarda i residui dei principi attivi più frequentemente ritrovati che sono: captano, carbendazim, difenilammina, ditiocarbammati, etossichina e tiabendazolo fra i fungicidi, azinfos metile, clorpirifos, fosalone, parathion, pirimicarb e quinalfos fra gli insetticidi.

I risultati sono espressi nei grafici 6 e 7. Complessivamente i valori riportati evidenziano come il carbendazim fra i fungicidi e l'azinfos metile fra gli insetticidi siano i principali responsabili dell'inquinamento delle mele. Infine si può auspicare che l'aumento della contaminazione riscontrato nel 1994 sia solo episodico e che, pertanto la diminuzione riscontrata nei periodi precedenti possa nuovamente evidenziare una reale e costante tendenza verso la riduzione delle contaminazioni dovute ai residui di antiparassitari presenti nella frutta all'atto della commercializzazione.

Ricerca svolta con parziale contributo MURST (40%).

Lavori citati

- BALDI M., BAZZANI L., SCARONI I., COPPI S., DAVI' M.L., BENEDETTI S., BOVOLENTA A., PENAZZI L., PREVIATI M.P. (1991). Considerazioni sui risultati delle analisi effettuate nel triennio 1987-89, per la determinazione dei residui di fitofarmaci utilizzati in post-raccolta su mele e pere. *Boll. Chim. Igien.*, 42, 1-8.
- CABRAS P., GARAU V.L., MELIS M., MELONI M., PIRISI F.P. (1994). Residui di fitofarmaci su ortaggi, frutta e prodotti di trasformazione. Atti del Convegno: "Innovazione e prospettive nella difesa fitoiatrica" 24-25 ottobre, Ferrara, 487-490.
- CABRAS P., GARAU V.L., MELIS M., PIRISI F.P., SPANEDDA L. (1995). Residui di antiparassitari nei vini italiani. Atti del "2° Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti", 24-27 maggio, Giardini Naxos, 2, 885-889.

CABRAS P., SPANEDDA L., CABITZA F., CUBEDDU M., MARTINI M.G., BRANDOLINI V. (1990). Pirimicarb and its metabolites residues in lettuce. Influence of cultural environment. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 879-882.

CONTE E., IMBROGLINI G. (1994). Trattamenti in serra: persistenza dei fitofarmaci nell'ambiente. Atti del Convegno: "Innovazione e prospettive nella difesa fitoiatrica" 24-25 ottobre, Ferrara, 529-531.

D.L. 17 Marzo 1995 n. 194. (1995). "Attuazione delle direttive 91/414/CEE in materia di immissione in commercio di prodotti fitosanitari" G.U. n. 122 del 27 maggio 1995.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (1993). Monitoring Program, *J. A.O.A.C. Internat.*, 76(5), 127A.

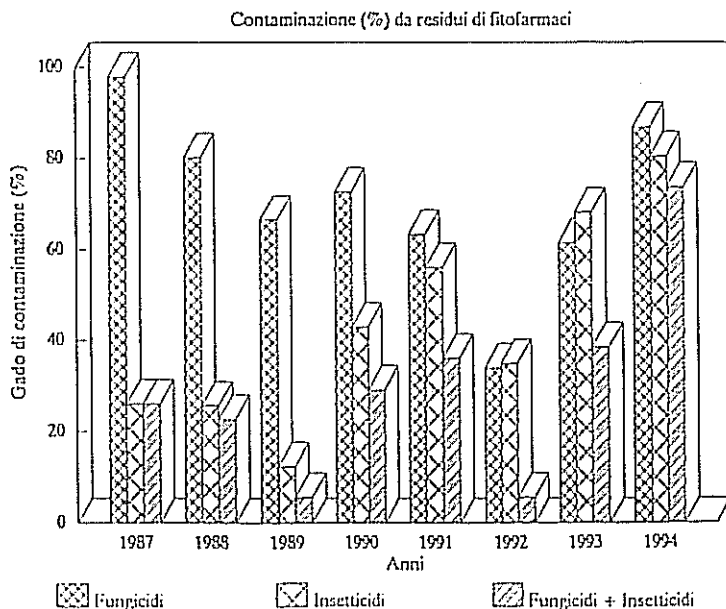
FOSCHI S., FLORI P. (1994). I residui dei fitofarmaci nei prodotti ortofrutticoli e nel vino: effetti delle modalità di intervento fitoiatrico e delle tecnologie di trasformazione. Atti del Convegno: "Innovazione e prospettive nella difesa fitoiatrica" 24-25 ottobre, Ferrara, 529-531.

GOVONI C., LAZZARETTI G., PRETI C., CAROFOLI C., ZAVATTI A. (1995). Valutazione del residuo di fitofarmaci nelle foglie e nei frutti di due varietà culturali del pero. Atti del "2° Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti", 24-27 maggio, Giardini Naxos, 2, 891-895.

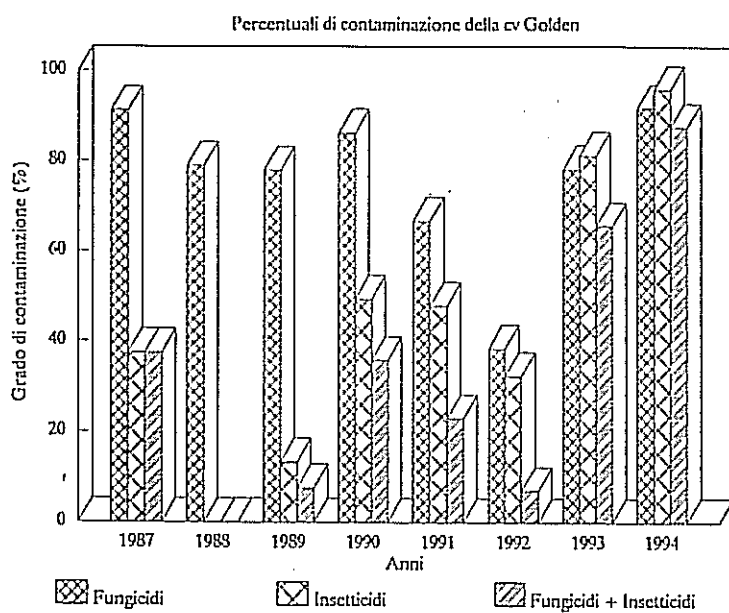
SCARONI I., PREVIATI M.P., BOVOLenta A. (1995). Applicazione della G.P.C. in bassa pressione, con colonna ϕ 10 mm e rivelatore U.V. in coda, nella purificazione di estratti di origine vegetale, per la determinazione di residui di pesticidi. Atti del "2° Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti", 24-27 maggio, Giardini Naxos, 2, 885-889.

ZOLI W., AMADORI D. (1986). "Biotossicità da fitofarmaci", Ed. Gamma, Bologna, 254 pp.

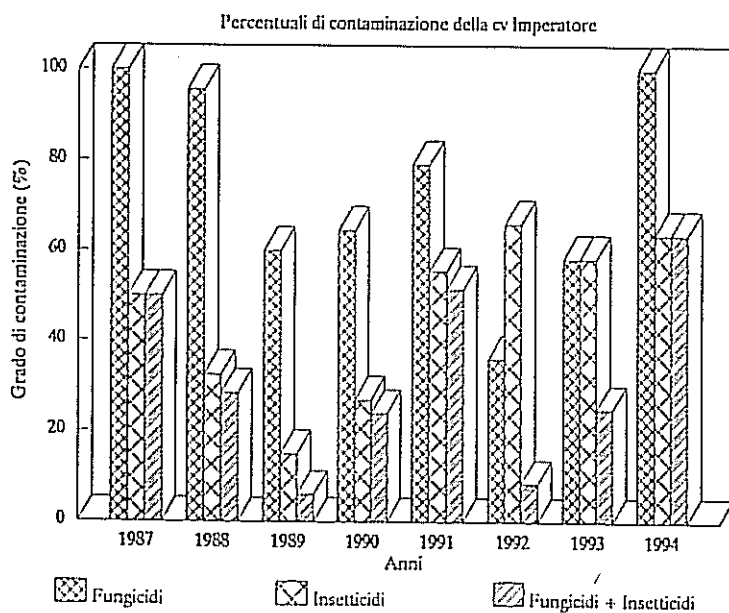
Graf. 1. Contaminazione (%) da residui di fitofarmaci.



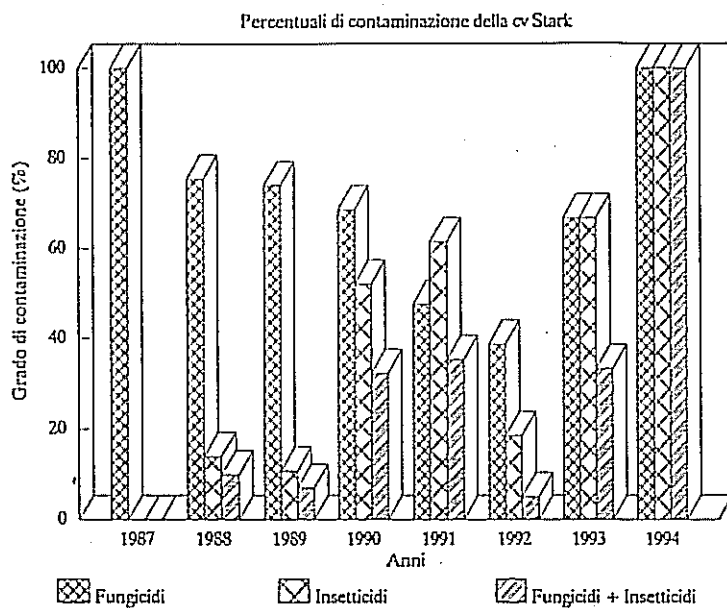
Graf. 2. Percentuali di contaminazione della cv Golden.



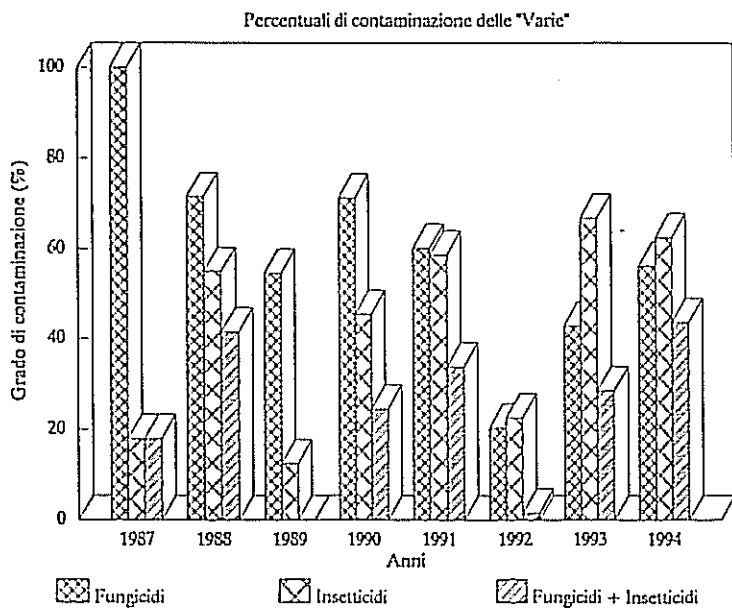
Graf. 3. Percentuali di contaminazione della cv Imperatore.



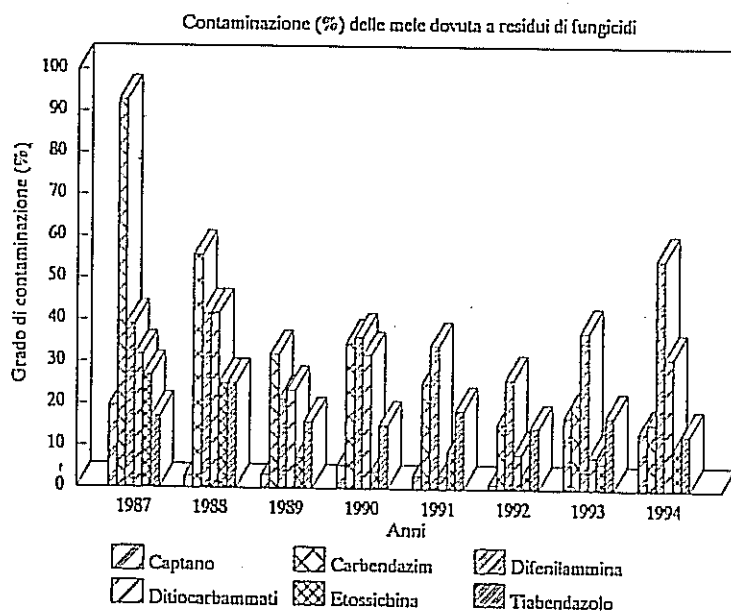
Graf. 4. Percentuali di contaminazione della cv Stark.



Graf. 5. Percentuali di contaminazione delle "Varie".



Graf. 6. Contaminazione (%) dovuta a residui di fungicidi.



Graf. 7. Contaminazione (%) dovuta a residui di insetticidi.

