

RESIDUI DI INSETTICIDI NELLE OLIVE E NELL'OLIO

P. CABRAS, A. ANGIONI, V.L. GARAU, M. MELIS, F.M. PIRISI, M. KARIM *

G. BANDINO **, P.G. SEDDA**

Dipartimento di Tossicologia, Università di Cagliari, viale Diaz 182, 09126 Cagliari

* Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal

** Consorzio Interprovinciale per la frutticoltura, via Mameli 126/D, Cagliari

RIASSUNTO

E' stata studiata la velocità di scomparsa di sei insetticidi (azinphos methyl, diazinon, dimethoate, methidathion, parathion methyl e quinalphos) utilizzati in olivicoltura per controllare il *Dacus oleae*. Il modello cinetico seguito da tutti i pesticidi è quello di 1° ordine con coefficienti di correlazione compresi tra - 0.936 e - 0.998. I tempi di semivita sono compresi tra 4.3 giorni per il dimethoate e 10.5 per il methidathion. Gli oli ottenuti presentano residui più elevati di quelli presenti nei frutti con fattori di concentrazione fino ad un massimo di 7. Fa eccezione il dimethoate che presenta nell'olio residui inferiori a quelli del frutto.

Parole chiave : residui, insetticidi, olive, olio

SUMMARY

INSECTICIDE RESIDUES IN OLIVES AND OLIVE OIL

The decay rate of six insecticides (azinphos methyl, diazinon, dimethoate, methidathion, parathion methyl e quinalphos) used to control *Dacus oleae* was studied. Degradation of pesticides showed pseudo first-order kinetics with correlation coefficients ranging between - 0.936 and - 0.998, and half-lives between 4.3 days for dimethoate and 10.5 days for methidathion. Residues in olive oil were greater than in olives, with a maximum concentration factor of 7. Dimethoate was the only pesticide whose residues in the oil were lower than in the fruits.

Key words: residues, insecticides, olives, olive oil

INTRODUZIONE

L'olio d'oliva rappresenta uno degli alimenti peculiari della dieta mediterranea. La composizione ottimale degli acidi grassi "essenziali" e la facile digeribilità gli conferiscono un elevato valore biologico e nutrizionale; inoltre le caratteristiche di gusto e profumo lo rendono più appetibile degli altri oli vegetali. Da questi si distingue in quanto è l'unico olio che si ottiene dal frutto per semplice pressione, senza alcun intervento chimico. La riscoperta da parte del consumatore degli alimenti "naturali", quale può essere considerato l'olio d'oliva, ha

contribuito in questi ultimi anni ad incrementarne il consumo, soprattutto dell'extra vergine. Questo rappresenta il meglio della qualità dell'olio d'oliva e può ottenersi solo da drupe mature e sane, perciò il controllo dei parassiti è di notevole importanza. Numerosi sono i parassiti dell'olivo, ma tra essi quello più dannoso è la mosca delle olive, *Dacus oleae*, per il cui controllo si utilizzano numerosi insetticidi. L'utilizzo dei pesticidi determina sulle drupe residui la cui entità è funzione principalmente del numero dei trattamenti, della velocità di degradazione dei principi attivi e dell'intervallo di carenza. Nel processo di produzione dell'olio i residui presenti nel frutto si ripartiscono tra olio, sansa ed acqua di vegetazione in funzione delle caratteristiche chimico fisiche della molecola. In genere, essendo la maggior parte dei pesticidi apolari, i residui tenderanno a ripartirsi preferibilmente nell'olio. Poiché per produrre 1 litro d'olio sono necessari mediamente almeno 5 kg di olive la concentrazione dei residui nell'olio sarà conseguentemente maggiore di quella nei frutti. Recentemente sono state pubblicate alcune review che descrivono i risultati acquisiti dalla ricerca sui residui presenti nelle olive e nell'olio (Farris *et al.* 1992; Lentza-Rizos e Avramides, 1995). Non sempre i risultati ottenuti dai diversi autori erano in accordo tra loro, per cui con questo lavoro abbiamo voluto dare un contributo all'approfondimento del tema, studiando anche alcuni principi attivi per i quali in letteratura non è stato pubblicato alcun dato.

MATERIALI e METODI

prove di campo. Le prove sono state condotte in un oliveto sito in agro di Villasor (Ca), del Consorzio Interprovinciale della Frutticoltura sulla cultivar Yacouti. L'oliveto era stato impiantato nel 1982 e il suo sesto di impianto era di 6 x 6 metri. Si è utilizzato uno schema a blocchi randomizzati con tre replicazioni; ogni parcella era costituita da 3 piante in singola fila. I trattamenti sono stati effettuati, utilizzando una irroratrice a spalla (Fox Motori F 320, Reggio Emilia, Italy), con i prodotti commerciali Kition 30 (al 24% di azinphos methyl), Basudin E (al 20% di diazinon), Rogor L 40 (al 38% di dimethoate), Supracaffaro (al 19% di methidathion), Metox 20 (al 18% di parathion methyl), Ekalux (al 25% di quinalphos), alle dosi consigliati dalle Ditte produttrici (pari a 1.5, 2.5, 1.5, 3.0 2.0, 1.5 kg/ha di prodotto commerciale). Diazinon, parathion methyl e quinalphos sono stati irrorati il 22 Novembre 1995, mentre azinphos methyl, dimethoate e methidathion il 4 Dicembre 1995. I campioni, costituiti da circa 3 kg di frutti per ciascuna parcella, sono stati prelevati 1 giorno dopo il

trattamento e successivamente con cadenza settimanale. I dati meteorologici sono stati rilevati con una stazione elettronica SM 3800 (SIAP, Bologna, Italy).

Durante gli esperimenti la piovosità è stata di 102 mm totali e si riferisce in Novembre ai giorni 23, 24 e 26 nei quali sono stati registrati rispettivamente 52.8, 2.6 e 9.4 mm e in Dicembre ai giorni 5, 6 e 9 nei quali sono stati registrati rispettivamente 8.4, 23.4 e 5.4 mm di pioggia. La media delle temperature massima e minima è stata di 17.0 e 4.1°C.

Reagenti. Azinphos methyl, diazinon, dimethoate, methidathion, parathion methyl e quinalphos erano standard di grado analitico acquistati dalla Ditta Ehrenstorfer (Augsburg, Germania). Il trifenilfosfato, utilizzato come standard interno, era anch'esso un reagente per analisi (purezza 99%) della Janssen (Geel, Belgium).

Le soluzioni madri dei pesticidi (500 ppm circa) erano preparate in etanolo.

Le soluzioni di lavoro erano ottenute per diluizione delle soluzioni madri con olio e con un estratto di olive non trattate ed esenti da picchi interferenti.

Cloroformio ed etanolo erano solventi per HPLC e per analisi rispettivamente (Carlo Erba, Milano, Italy).

Determinazione cromatografica. E' stato utilizzato un gascromatografo Carlo Erba HRGC 5160 serie Mega (Milano, Italia), munito di un detector azoto fosforo (NPD-40), di un iniettore split-splitless, di un campionatore automatico AS 550 e collegato ad un integratore HP 3396 A (Hewlett Packard, Avondale, PA, USA). La colonna capillare era una DB 1701 (14% di cynopropilfenil metilsilicone, 30 m x 0.25 mm, film 0.25mm, J & W Scientific, Folsom, CA, USA). L'iniettore ed il detector erano a 270° e 290°C rispettivamente. Il campione (2µl) era iniettato in splitless (60 sec) e la temperatura del forno era programmata come segue: 150°C (1 min), incremento di 20°C x min fino a 290°C (7 min). L'elio era il gas di trasporto e del make-up a 110 e 130 KPa rispettivamente, mentre la fiamma era alimentata a idrogeno (100 KPa) e aria (100 KPa). Le rette di taratura per tutti i principi attivi sono state determinate tra altezze dei picchi e concentrazioni col metodo dello standard interno. Buona linearità è stata ottenuta nel range 0-5 mg/kg con coefficienti di correlazione tra 0.9992 e 0.9995.

Preparazione del campione. 100 olive di ogni campione venivano contate e pesate per determinare il peso medio. L'intero campione veniva trasformato in olio utilizzando un impianto da laboratorio in acciaio inossidabile della capacità di 5 kg di olive, costruito artigianalmente in modo da riprodurre il ciclo di lavorazione industriale. Questo era costituito

da un frangitore a martelli, una gramolatrice e una centrifuga che consentiva di separare la sansa dal mosto. Questi successivamente veniva centrifugato in un'altra centrifuga da laboratorio per separare olio da acque di vegetazione. Le rese in olio ottenuto con questo impianto da laboratorio era in buon accordo con le rese ottenute in un impianto industriale. Dopo la frangitura si prelevava il campione per l'analisi dei residui nel frutto, quindi si sottoponeva per 45 minuti a gramolatura ed infine a centrifugazione.

Procedura di estrazione In una provetta con tappo a vite da 30 ml pesare 5g di olive, aggiungere 10 ml di cloroformio contenente lo s.i. a 0.6 ppm ed agitare per 15 min in agitatore rotante. Lasciare sedimentare e travasare la fase organica in una provetta contenente 1 g di sodio solfato anidro. L'estratto organico disidratato veniva iniettato per l'analisi.

Per l'olio basta diluire con cloroformio contenente lo s.i. a 0.6 ppm tra 5 e 10 volte (1g di olio + 4-9 ml di cloroformio).

Prove di recupero. Campioni non trattati del frutto fortificati con 0.1, 1.0 e 3.0 mg/kg di pesticidi sono stati sottoposti a processo di estrazione come sopra descritto. I recuperi ottenuti da quattro replicati erano compresi tra il 92 e 115% con coefficiente di variazione (CV) massimo di 8.

RISULTATI e DISCUSSIONE

Nessun incremento di peso delle drupe è stato riscontrato durante il corso dell'esperimento, per cui la riduzione dei residui dopo il trattamento è da attribuirsi solo a degradazione. Sono stati riportati in tabella 1 i residui di olio e oliva, il loro rapporto e la % di olio ottenuto dalle olive, e in tabella 2 i parametri cinetici, calcolati col modello del pseudo 1° ordine.

Azinphos methyl. Questo insetticida si degrada secondo una cinetica del pseudo 1° ordine ($r = -0.998$) con un tempo di semivita ($t_{1/2}$) di 9.3 giorni. L'andamento cinetico indica che al tempo di sicurezza (20 giorni) il residuo potrebbe essere inferiore al limite legale fissato in Italia (0.5 ppm). Il residuo presente nell'olio era mediamente 2.6 volte superiore a quello delle olive. Poiché 1 litro d'olio era ottenuto da più di 6 kg di olive, ciò indica che poco meno della metà dei residui presenti nel frutto passava nell'olio.

Diazinon. La cinetica di questo composto è simile a quella dell'azinphos methyl. All'intervallo di sicurezza (15 gg) i residui potrebbero essere superiori al limite legale di 0.5 ppm. Il fattore di concentrazione nella trasformazione delle olive in olio è mediamente di 3.3 per

concentrazioni nelle olive tra 0.68 e 1.34, mentre è di 5.6 per la concentrazione più bassa (0.35 ppm).

Questi dati sono in accordo con quelli ottenuti in Portogallo da Ferreira e Tainha (1983).

Dimethoate. Tra gli insetticidi studiati il dimethoate è quello che si degrada più velocemente con un $t_{1/2}$ di 4.3 giorni. Risultati ottenuti da altri autori in Italia (Lanza *et al.*, 1986) e Portogallo (Ferreira e Tainha, 1983) mostrano cinetiche più lente con 8.7 e 10.2 giorni di semivita rispettivamente, mentre in Spagna (Albi *et al.*, 1970) sono state riscontrate velocità di scomparsa simili. Un altro aspetto che differenzia il dimethoate dagli altri fitofarmaci studiati è il fatto che è l'unico che presenta nell'olio residui inferiori rispetto alle olive. Come diminuisce la concentrazione dei residui nelle olive diminuisce la percentuale dei residui che passano nell'olio e alla concentrazione più bassa nelle olive (0.17 ppm) non passa alcun residuo nell'olio. Questo comportamento peculiare è unanimemente attribuito all'elevata solubilità del dimethoate in acqua (23.8 g/l) che determina una ripartizione preferenziale del residuo nelle acque di vegetazione. Residui nell'olio sono stati riscontrati in Italia sia da Leone *et al.* (1990) che da Gambacorta *et al.* (1993) ed in Spagna da Albi e Navas (1985) come pure in Grecia da Lentza-Rizos e Avramides (1995). Al contrario Ferreira e Tainha (1983) in Portogallo non hanno riscontrato nell'olio alcun residuo anche quando veniva ottenuto da olive con residui elevati (5.30 ppm). Questa differenza nei risultati potrebbe essere spiegata ipotizzando che il dimethoate si degrada nell'olio e che l'analisi sia stata effettuata molto tempo dopo la sua produzione.

Methidathion. Dei pesticidi studiati questo è il più lento nel degradarsi nel frutto ($t_{1/2} = 10.5$ gg). Appare curioso l'intervallo di sicurezza fissato in Italia (120 giorni), in quanto, poichè comunemente le olive si raccolgono a Novembre, potrebbe essere somministrato solo a Luglio, per cui la possibilità di utilizzarlo sarebbe limitata. Il fattore di concentrazione dei residui dall'oliva all'olio è simile a quello dell'azinphos methyl (mediamente 2.8). In sperimentazioni condotte in Portogallo (Ferreira e Tainha, 1983) la velocità di scomparsa dei residui nelle olive era simile ($t_{1/2} = 12.9$ gg), mentre i fattori di concentrazione erano superiori (mediamente 4.8).

Parathion methyl. Nelle olive il tempo di semivita del parathion methyl, calcolato come cinetica del pseudo 1° ordine ($r = -0.997$), è di 6.6 giorni. Al tempo di sicurezza (20 gg) i residui sono mediamente appena inferiori al limite legale (0.2 ppm), ma non tutti i campioni sono al di sotto di questo limite. I risultati di questa sperimentazione indicano come anche l'agricoltore che opera secondo i criteri di buona pratica agricola non sia sicuro di avere produzioni in

Tabella 1. Residui (ppm \pm ds) di alcuni insetticidi nelle olive dopo il trattamento e nell'olio da esse prodotto

PESTICIDA	Giorni dal trattam.	residuo oliva	resa in olio %	residuo olio	rapporto residui olio/oliva
Azinphos methyl (0.5 ppm/20gg)	1	1.82 \pm 0.63	15 \pm 3	4.57 \pm 0.88	2.5
	8	1.03 \pm 0.13	16 \pm 1	3.10 \pm 0.578	3.0
	14	0.69 \pm 0.18	16 \pm 1	1.62 \pm 0.32	2.3
Diazinon (0.5 ppm/15gg)	1	1.34 \pm 0.11	17 \pm 3	4.43 \pm 1.26	3.3
	8	1.11 \pm 0.47	16 \pm 2	3.78 \pm 0.32	3.4
	13	0.68 \pm 0.36	14 \pm 2	2.15 \pm 0.46	3.2
	20	0.35 \pm 0.10	14 \pm 1	1.95 \pm 0.80	5.6
Dimethoate (1.0 ppm/20gg)	1	1.60 \pm 0.11	15 \pm 3	0.53 \pm 0.18	0.33
	8	1.08 \pm 0.01	16 \pm 1	0.24 \pm 0.01	0.22
	14	0.17 \pm 0.00	16 \pm 1	n.d	0
Methidathion (0.2 ppm/120gg)	1	3.01 \pm 0.60	15 \pm 3	6.78 \pm 2.83	2.3
	8	1.68 \pm 0.79	16 \pm 1	5.69 \pm 1.78	3.4
	14	1.28 \pm 0.43	16 \pm 1	3.37 \pm 0.33	2.6
Parathion methyl (0.2 ppm/20gg)	1	1.40 \pm 0.12	17 \pm 3	4.00 \pm 1.02	2.9
	8	0.61 \pm 0.16	16 \pm 2	2.91 \pm 0.23	4.8
	13	0.35 \pm 0.16	14 \pm 2	1.77 \pm 0.36	5.1
	20	0.19 \pm 0.06	14 \pm 1	1.33 \pm 0.33	7.0
Quinalphos (0.1 ppm/14gg)	1	1.84 \pm 0.10	17 \pm 3	2.63 \pm 0.60	1.4
	8	0.68 \pm 0.15	16 \pm 2	2.13 \pm 0.22	3.1
	13	0.36 \pm 0.14	14 \pm 2	0.50 \pm 0.40	1.4
	20	0.20 \pm 0.04	14 \pm 1	0.80 \pm 0.14	4.0

Tabella 2. Tempi di semivita (espresso in giorni) e relativi coefficienti di correlazione (r) dei residui nelle olive

	azinphos methyl	diazinon	dimethoate	methidathion	parathion methyl	quinalphos
$t_{1/2}$	9.3	9.6	4.3	10.5	6.6	6.0
r	-0.998	-0.969	-0.936	-0.987	-0.997	-0.996

regola con la normativa italiana sui residui. Ferrerira e Tainha (1983) in Portogallo hanno riscontrato velocità di degradazione minori ($t_{1/2} = 21.3$ gg). Un'altra differenza di comportamento di questo pesticida riscontrata dagli autori portoghesi è nei residui presenti nell'olio che nelle loro sperimentazioni presenta un fattore di concentrazione di 2.6 ± 0.2 . Nei nostri campioni un valore simile è stato riscontrato solamente alla concentrazione maggiore dei residui nel frutto, mentre man mano che questa diminuisce aumenta la quantità di residuo che si ripartisce nell'olio, fino ad un fattore di concentrazione massimo di 7 per la concentrazione minima. In questo caso poiché per ottenere un litro d'olio sono stati necessari 7 kg di olive significa che tutto il residuo presente nelle olive è passato nell'olio.

Quinalphos. Il comportamento degradativo del quinalphos nelle olive è quasi uguale a quello del parathion methyl con un $t_{1/2}$ di 6.0 gg. Al tempo di sicurezza i residui nelle olive sono abbondantemente superiori al limite legale italiano di 0.1 ppm. Anche su agrumi all'intervallo di sicurezza i residui di questo principio attivo non erano sempre al di sotto del limite legale (Cabras *et al.*, 1995). Ciò indica che il limite italiano è troppo restrittivo e comunque non in linea con le risultanze di sperimentazioni condotte secondo i criteri di buona pratica agricola.

I residui presenti nell'olio presentano fattori di concentrazione di 1.4 in due campioni e mediamente di 3.5 negli altri due. Poiché i due gruppi di campioni sono stati analizzati in tempi diversi dal giorno in cui è stato prodotto l'olio, questa differenza di comportamento potrebbe essere giustificata ammettendo che il p.a. si degrada nell'olio.

CONCLUSIONI

Azinphos methyl e quinalphos sono due principi attivi dei quali nella letteratura scientifica non è stato riportato ancora alcuno studio. Il modello cinetico del 1° ordine si è dimostrato idoneo a descrivere la velocità di scomparsa di tutti i pesticidi studiati. L'uso di alcuni di essi (parathion methyl e quinalphos) può essere considerato a "rischio" in quanto anche il rispetto delle norme di buona pratica agricola non garantisce l'ottenimento di produzioni a norma con i residui. I residui presenti nell'olio sono sempre maggiori di quelli delle olive da cui sono stati ottenuti. Fa eccezione il dimethoate i cui residui sono inferiori a quelli delle olive di 2/3 alla concentrazione maggiore fino alla completa assenza alla concentrazione minore. Alcuni dati dei residui nell'olio indicano come alcuni di essi possano diminuire durante la conservazione.

LAVORI CITATI

ALBI T., VIOQUE A., ALBI M.A. (1970) Permanencia de residuos de Dimetoato, Endotion y Dimetilan ec aceitunas. Grasas y Aceites 21, 147-153

ALBI T., NAVAS M.A. (1985) Insecticides residues in edible fats.III. Analysis of phosphorus insecticides. Grasas y aceites 36, 373-375

CABRAS P., GARAU V.L., MELIS M., PIRISI F.M., SPANEDDA L., CABITZA F., CUBEDDU M. (1995) Persistence of some organophosphorous insecticides in orange fruit. Ital. J. Food Sci. 7, 291-298

FARRIS G.A., CABRAS P., SPANEDDA L. (1992) Pesticide residues in food processing. Ital. J. Food Sci. 3, 149-169

FERREIRA J.R., TAINHA A.M. (1983) Organophosphorous insecticide residues in olives and olive oil. Pestic. Sci. 14, 167-172

GAMBACORTA G., PIZZA M., LA NOTTE E. (1993) Sull'impiego del dimetoato nel controllo di *Dacus oleae* (Gmel): il problema del residuo dell'olio di oliva. Riv. Ital. Sostanze Grasse 70, 289-294

LANZA C.M., TOMASELLI F., RUSSO C., NICOLOSI ASMUNDO C. (1986) Residui deivanti da trattamenti antidacici. Nota 1: decadimento di due insetticidi su olive. Industrie Alimentari 25, 122--124

LENTZA-RIZOS C., AVRAMIDES E.J. (1995) Pesticide residues in olive oil Rev. Environm. Contam. Toxicol. 141, 111-134

LEONE A.M., LIUZZI V.A., GAMBACORTA G., LA NOTTE E., SANTORO M., ALVITI F., LACCONE G., GUARIO A. (1990) Residui di insetticidi fosfororganici e piretroidi in oli d'oliva provenienti da esperienze di lotta guidata contro il *Dacus oleae*. Riv. Ital. Sostanze Grasse 67, 17-28