

EFFICACIA ANTIGERMOGLIANTE DI L-CARVONE SU PATATE IN CONSERVAZIONE

A. LEANDRI, V. POMPI, A. LA TORRE, G. IMBROGLINI, L. D'AMBROGIO
Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, via C.G. Bertero, 22 - 00156 Roma

Riassunto

In un biennio di prove è stata valutata la possibilità di sostituire le sostanze di sintesi usate come antigermoglianti delle patate in conservazione, con una sostanza naturale, l-carvone, che è il componente principale dell'olio essenziale di varie specie di menta (attualmente ottenuto per ossidazione del d-limonene) ed ha mostrato una notevole efficacia in tal senso. I trattamenti sono stati effettuati, in scala semi industriale e industriale, per mezzo della termonebulizzazione. L'attività antigermogliante di l-carvone è risultata dello stesso ordine di grandezza di clorprofam. Dallo studio effettuato è emersa la necessità di ripetere il trattamento in caso di lunghi periodi di conservazione.

Parole chiave: l-carvone, patate, residui, antigermoglianti.

Summary

L-CARVONE AS SPROUTING INHIBITOR ON STORED POTATOES.

In the course of two-year trial we have evaluated the possibility of replacing the current chemicals used as sprout inhibitors on potatoes with a natural substance: l-carvone. L-carvone, mayor component of essential oil of *Mentha* spp. (currently obtained by oxidation of d-limonene) showed a positive effect in inhibiting sprouts. The treatments have been carried out by thermonebulization both on semi industrial and industrial scale. The antisprouting activity of l-carvone proved to be comparable with that one showed by chlorpropham. This research indicates that, it is necessary to repeat the treatment during long-term storage.

Key words: l-carvone, potatoes, residues, sprout inhibitors.

Introduzione

Il periodo di "dormienza" delle patate, dopo una stasi iniziale, è largamente dipendente dalla temperatura di conservazione: a 3°C l'arresto della germogliazione è totale (Wilson e McKee, 1948), a 5°C la germogliazione avviene solo dopo molti mesi. Il ricorso solo alle basse temperature non si è rivelato utilizzabile in quanto riduce notevolmente le

caratteristiche commerciali delle patate e determina una serie di problemi collaterali, quali la dolciificazione dei tuberi causata dalla elevata percentuale di zuccheri riducenti che si sviluppano in queste condizioni (Perlasca 1956). Il periodo di dormienza è, inoltre, un carattere varietale dipendente solo in modo relativo dalle condizioni colturali (Emilsson, 1949; Wright and Whiteman, 1949).

Già nel 1950 Rhodes *et al.* trovarono che un regolatore di crescita, l'isopropil-N-fenil carbammato (profam, IPC) e il suo cloroderivato (clorprofam, CIPC) evidenziavano una elevata capacità antigermogliante, superiore a quella delle altre sostanze fino ad allora utilizzate, quali l'acido 2-4-5 triclorofenossiacetico (2-4-5 T), l'idrazide maleica (MH) e l'estere metilico dell'acido alfa naftalenacetico.

L'uso di una miscela di IPC e CIPC, in grado di inibire per lunghi periodi (alcuni mesi) la crescita dei germogli nelle patate, a temperature che permettono il mantenimento delle caratteristiche merceologiche dei tuberi, risulta a tutt'oggi il sistema di conservazione più efficace e più diffuso. Le tecniche di distribuzione di tali prodotti si basano sulla polverizzazione per via secca e sulla aerosolizzazione.

Se, sotto un profilo di efficacia, il problema della inibizione del germogliamento delle patate può ritenersi risolto con l'utilizzo di profam e clorprofam, sotto il profilo sanitario permangono problemi connessi ai livelli residui di questi principi attivi sulle patate.

Le preoccupazioni sono sia di carattere igienico-sanitario, per l'assunzione di residui di antiparassitari attraverso il consumo di patate, sia di carattere legale per il possibile superamento dei limiti massimi ammessi.

Inoltre problemi potrebbero sorgere sul limite massimo di profam e clorprofam in fase di recepimento della Direttiva comunitaria in quanto la Direttiva CEE 93/57 prevede che il controllo venga effettuato su patate non sbucciate, mentre la nostra legislazione prevede 0,5 mg/kg sul prodotto sbucciato.

Nasce, quindi, l'esigenza di poter disporre di una sostanza attiva che unisca in sé caratteristiche di efficacia antigermoglio e assenza di problemi dovuti ai residui. La soluzione potrebbe essere rappresentata dall'utilizzo di sostanze naturali di tipo monoterpenco, costituenti di olii essenziali, che presentino tale specificità di azione; la nostra scelta è caduta proprio su una di queste molecole: l-carvone, un monoterpene monociclico.

L-carvone è uno dei principali costituenti dell'olio essenziale ricavato da diverse varietà di menta (*M.spicata*, *M.viridis*, *M.cardiaca*) in cui è contenuto in quantità superiori al 50% (Clark, 1989). L-carvone viene ottenuto puro per distillazione frazionata dell'olio essenziale di dette piante, oppure per ossidazione del d-limonene (dall'olio di arancio). Dalla letteratura disponibile, risulta che dei due stereoisomeri del carvone, la sola forma d è stata utilizzata in funzione antigermogliante (Beveridge, 1981; Meigh, 1969; Vaughn e Spencer, 1991).

Materiali e metodi

Le prove per valutare l'efficacia antigermogliante di l-carvone si sono svolte, durante le annate 1993-94 e 1994-95, in celle frigorifere dell'Emilia-Romagna.

Il primo anno, le prove sono state condotte su una quantità limitata di tuberi, predisponendo due tesi: una su cui è stato effettuato il trattamento a base di l-carvone, l'altra di confronto con clorprofam (CIPC). Un analogo quantitativo di tuberi è stato lasciato come testimone.

La prova è stata effettuata su patate provenienti dalla Germania (cv Monnalisa), raccolte a fine settembre e conservate per tre mesi al buio a 3°C e successivamente a 5-7°C fino al momento del trattamento (8 febbraio 1994). Le patate in questione provenivano da

coltivazioni condotte in lotta integrata. Al momento del trattamento le patate presentavano quasi tutte (oltre il 90%) inizi di germogliamento.

Il secondo anno, le prove sono state effettuate, solo con trattamenti con l-carvone, su una quantità maggiore di tuberi, cioè a cella completamente stipata per la successiva conservazione, per la conferma dei risultati ottenuti l'anno precedente e per una più puntuale verifica dell'esito antigermogliativo causato da l-carvone.

Nel corso del secondo anno, su alcune tesi di entrambe le cultivar, è stato effettuato anche un 2° trattamento con l-carvone (4 gennaio 1995), dopo 50 giorni dal 1° trattamento, per valutare se la diminuzione del p.a. rendesse necessario ripetere la somministrazione per il mantenimento dell'effetto antigermogliante.

Sono stati utilizzati tuberi della cv Bedalin provenienti da Massa Lombarda (Imola), raccolti i primi di agosto e mantenuti fino al 15 novembre (data del 1° trattamento) a 5°C, umidità relativa 85%, in assenza di ventilazione, e tuberi della cv Arsy, raccolti il 28 luglio dalla zona di Corticella (Bologna), e conservati fino al momento del trattamento come gli altri. Dalla data del trattamento in poi, le patate sono state tenute in celle di conservazione alla temperatura di 5-7°C e umidità relativa pari all'80-85%.

Le patate della cv Bedalin presentavano, all'inizio della prova sperimentale, per circa il 50%, germogli appena affioranti; le patate della cv Arsy presentavano al 100% germogliazione anche avanzata (germogli di qualche cm). Le patate in questione provenivano da colture condotte secondo lotta biologica.

In entrambi gli anni, i trattamenti sia a base di l-carvone che di CIPC sono stati condotti in aerosol con un termonebulizzatore della Xeda International da 10 kw/h; CIPC è stato utilizzato nel formulato Xedamate aerosol della Xeda International, mentre l-carvone era contenuto in un formulato sperimentale della stessa casa, sospeso in solventi e disperdenti organici.

Nella tabella 1, sono riassunte le dosi e le modalità di trattamento e le caratteristiche tecniche delle celle utilizzate.

I rilievi per la valutazione dell'efficacia antigermoglio dei prodotti sono cominciati, in entrambi gli anni, 1 mese dopo il trattamento e sono stati effettuati su 400 tuberi/tesi. I dati ottenuti sono stati elaborati statisticamente secondo il test di Duncan.

In ambedue gli anni sono stati eseguiti prelievi dei campioni trattati, per la determinazione dei residui dei principi attivi somministrati.

Tali prelievi dei tuberi sono stati effettuati a varie profondità nei bin (fino a 20, a 40 ed a 65 cm) per determinare il grado di penetrazione dei principi attivi nella massa dei tuberi, e il conseguente grado di uniformità di distribuzione dei prodotti somministrati per aerosol. Le analisi sono state condotte sia su tuberi interi, leggermente spazzolati e lavati, sia su tuberi sbucciati.

La preparazione dei campioni per l'analisi è stata effettuata il giorno seguente il prelievo. Per la determinazione di clorprofam sui tuberi si è eseguita la metodica indicata da Bertolini *et al.*, 1990. Per la determinazione di l-carvone si è proceduto come segue: 100 g di patate omogeneizzate sono state introdotte, insieme con 100 ml di acqua bidistillata, in un pallone sferico a tre colli; su di esso è stato adattato un separatore modificato secondo Cleavenger. Dopo l'aggiunta di poche gocce di antischiuma nel pallone, sono stati posti nella trappola 25 ml di H₂O e 10 ml di esano; la miscela è stata distillata per un'ora. La fase esanica è stata poi filtrata su Na₂SO₄ anidro ed iniettata in un gascromatografo Carlo Erba HRGC, equipaggiato con rivelatore FID e con colonna Wide Bore OV 101 da 30 metri. E' stata utilizzata una programmata da 80°C (5 min.) a 180°C (5 min.) con una rampa termica di 5°C/min (la sensibilità del metodo è stata 0,05 mg/kg). Quando è stata necessaria una maggiore sensibilità (per la polpa delle patate) è stata iniettata la fase esanica in un GC-MS della HP equipaggiato

con colonna HP 5MS (Crosslinked 5% fenil-metil silicone) da 30 m (d.i. 0,25 mm) con temperature programmate da 75°C (2 min.) a 200°C (5 min.) ed una rampa termica di 5°C/min. L'acquisizione è stata effettuata in SIM (Single Ion Monitoring) a M/e=82 (la sensibilità del metodo è stata 0,01 mg/kg).

Risultati e discussione

Dall'esame della tabella 2, relativa alla prova effettuata nel corso del 1° anno, si evidenzia una efficacia antigermogliante di l-carbone dello stesso ordine di grandezza di quella di clorprofam. Entrambi i principi attivi in esame, oltre a prevenire la formazione di nuovi germogli, hanno determinato il disseccamento dei germogli già presenti al momento del trattamento con conseguente riduzione della percentuale di germogliazione.

Durante il 2° anno di prove, è stata confermata l'azione antigermogliante di l-carbone, che si è rivelato in grado di bloccare la crescita dei germogli già sviluppati al momento del trattamento. Risultati, probabilmente migliori, sarebbero stati ottenuti se i trattamenti antigermoglianti fossero stati effettuati subito dopo la raccolta dei tuberi. La tabella 4 mette in evidenza la necessità di ripetere il trattamento con l-carbone, per sopperire alla rapida diminuzione dei valori residuali del terpene sui tuberi in conservazione. Si osserva, infatti, una maggiore efficacia antigermogliante, per entrambe le cultivar studiate, quando viene effettuata una seconda somministrazione del p.a.. Dall'esame della Tab. 4 si rileva, inoltre, una maggiore efficacia antigermogliante di l-carbone sui tuberi della cv Bedalin rispetto alle patate della cv Arsy, probabilmente attribuibile alla diversa suscettibilità delle due cultivar ma soprattutto alla differente situazione iniziale di germogliazione. Infatti, la presenza di germogli ormai sviluppati sui tuberi della cv Arsy, non avrebbe reso possibile il "blocco" del germogliamento da parte del p.a. erogato. In entrambi gli anni, si è notato che l'aerosolizzazione mediante termonebulizzazione non ha garantito l'uniforme distribuzione dei p.a. sui tuberi. E' stata infatti rilevata una germogliazione più alta, dell'ordine del 20%, negli strati sottostanti rispetto agli strati superficiali, attribuibile al minore quantitativo di p.a. che si è depositato negli strati sottostanti, anche se questa differenza di deposito assume valore statisticamente significativo solo per clorprofam, come si evince dai risultati delle analisi dei residui riportati in tabella 3. Il maggior deposito di p. a. sugli strati superficiali ha comportato, nei tuberi posti in superficie una minore percentuale di germogliazione ed anche una riduzione media del numero di germogli/tubero.

Per quanto concerne l'aspetto residuale, dai dati di tabella 3, relativi alle prove effettuate nel corso del 1° anno, si può osservare come, ad 1 mese dal trattamento, i valori dei residui di clorprofam siano più alti di quelli di l-carbone: mediamente, per l'intero tubero, 13,1 mg/kg per clorprofam contro 1,5 mg/kg per l-carbone.

Se si esaminano i dati, per quel che attiene la distribuzione dei due principi attivi sulla patata non sbucciata, nelle diverse zone del cassone, scendendo dallo strato superficiale a quelli sottostanti, si nota, per entrambi i p.a., una diminuzione del livello residuale, che per l-carbone è più contenuta (circa l'88% per la zona centrale e circa il 71% per la zona di fondo rispetto alla zona di superficie) in confronto a quella del clorprofam (rispettivamente 71% e 44% rispetto allo strato superficiale). La distribuzione di l-carbone all'interno del bin risulta meno disuniforme di quanto non sia per il CIPC.

Se si passa a valutare, per i due antigermoglianti, il rapporto tra l'entità di residui riscontrati sul tubero sbucciato (S) rispetto all'intero (I), calcolando le correlazioni mediante regressione potenziale sui dati, si ottiene per l-carbone: $S=0,06xI^{1,61}$, e per clorprofam: $S=0,007xI^{1,66}$. Da ciò si può evidenziare un maggior grado di penetrazione nel tubero di l-

carvone rispetto al clorprofam; il residuo del monoterpene, nel tubero sbucciato, si presenta, comunque, sempre con valori assoluti decisamente bassi.

Dall'esame della tabella 5, relativa alla prova effettuata il 2° anno, si osserva che i residui di l-carvone a 30 gg dal trattamento hanno un valore medio di $0,99 \pm 0,20$ che è inferiore di circa il 50% all'analogo valore medio a 30 gg, riscontrato nel corso della prova dell'anno precedente (tab. 3). Tale differenza trova una sua giustificazione nel diverso tipo di impianto utilizzato (dimensioni delle celle, quantità di prodotto in conservazione e del relativo dosaggio utilizzato). Le diminuzioni nel tempo del principio attivo sui tuberi interi (considerando per le tesi sottoposte ad un solo trattamento, i valori di residuo a 1, 30, 50, e 60 gg dal trattamento; per le tesi sottoposte a due trattamenti, quelli alle prime tre epoche) seguono una cinetica di pseudo 1° ordine. Per tutte le tesi sono stati calcolati i tempi di dimezzamento, che risultano nell'ordine in cui sono elencati in tabella 5: 44,3 gg, 48,3 gg, 43,8 gg e 47,2 gg. Questi valori per l-carvone non risultano significativamente diversi, per cui si può calcolare un tempo medio di dimezzamento, nelle condizioni di conservazione delle frigocelle, di 46 giorni.

Per quanto attiene ai valori dei residui di l-carvone sul prodotto, questi non risultano dipendere dalla cultivar considerata. Se si esaminano, inoltre, per le due varietà, i valori dei rapporti residuo su polpa e residuo su intero, essi non risultano significativamente diversi; tali valori sono confrontabili con quelli ottenuti nella prova dell'anno precedente.

In conclusione, possiamo affermare che da tale studio emerge l'efficacia di questo nuovo p.a. col quale è possibile conseguire analogo effetto antigermogliante rispetto a CIPC, di cui presenta paragonabile livello di tossicità, ma un valore residuale decisamente più basso.

Tabella 1 - Caratteristiche delle celle frigorifere, dosi e modalità di applicazione dei p.a. usati nelle prove.

	1993-94		1994-95
	l-carvone	clorprofam	l-carvone
Dimensioni cella	4x18x6 m	4x18x6 m	5x12x10 m
Temperatura cella	5°-7°C	5°-7°C	5°-7°C
Umidità relativa cella	80-85%	80-85%	80-85%
tuberi per tesi	12q	12q	500q
Dimensioni bins	110x120x65 cm	110x120x65 cm	110x120x65 cm
Dosi	l-carvone 20% 4,5 litri	CIPC 20% 3 litri	l-carvone 25% 10 litri
Modalità trattamento	termonebulizzazione	termonebulizzazione	termonebulizzazione
Date trattamenti	8.2.94	8.2.94	15.11.94 e 4.1.95
°C resistenza erogatore	185°C	185°C	185°C
Durata trattamento	20'	15'	40'
cv e % germogliaz. al trattamento	Monnalisa (90%)	Monnalisa (90%)	Arsy (100%) Bedalin (50%)

Tabella 2 - 1993-94. Rilievi effettuati per la determinazione dell'attività antigermogliante di l-carvone e di clorprofam su patate cv Monnalisa dopo 30 e 45 giorni dal trattamento.

principio attivo	% germogliazione		media n° germogli/tubero	
	30 gg	45 gg	30 gg	45 gg
l-carvone	25 a A	17 a A	0,6 a A	0,3 a A
clorprofam	29 a A	21 a A	0,8 a A	0,2 a A
testimone	100 b B	100 b B	5,9 b B	5,8 b B

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Duncan per $P \leq 0,05$ (lettere minuscole) e per $P \leq 0,01$ (lettere maiuscole).

Tabella 3 - 1993-94. Residui in mg/kg di clorprofam e l-carvone su cv Monnalisa a 30 gg dal trattamento.

principio attivo	campioni	zona di prelievo all'interno del bin		
		zona superiore 0-20 cm	zona intermedia 20-40 cm	zona inferiore 40-65 cm
l-carvone	tubero intero	1,70 ± 0,40	1,50 ± 0,40	1,20 ± 0,30
	tubero sbucciato	0,16 ± 0,05	0,10 ± 0,04	0,08 ± 0,03
clorprofam	tubero intero	18,20 ± 2,20	12,90 ± 2,80	8,10 ± 1,40
	tubero sbucciato	0,96 ± 0,21	0,48 ± 0,14	0,30 ± 0,11

Tabella 4 - 1994-95. Rilievi effettuati per la determinazione dell'attività antigermogliante di l-carvone su patate delle cv Bedalin e Arsy a diverse epoche dal 1° trattamento.

cultivar	principio attivo	numero trattamenti	% germogliazione		media n° germogli/tubero	
			30 gg	60 gg	30 gg	60 gg
Arsy	l-carvone	1	89,1 a A	90,1 a A	4,4 a A	5,5 a A
	l-carvone	2*	87,8 a A	85,2 a A	4,2 a A	4,1 a A
	testimone		97,3 a A	100,0 a A	9,4 b B	9,8 b B
Bedalin	l-carvone	1	23,6 a A	57,3 b B	0,6 a A	2,1 b B
	l-carvone	2*	22,7 a A	38,6 a A	0,5 a A	1,0 a A
	testimone		70,0 b B	91,2 c C	2,5 b B	5,0 c C

* il secondo trattamento è stato effettuato 50 giorni dopo il primo.

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Duncan per $P \leq 0,05$ (lettere minuscole) e per $P \leq 0,01$ (lettere maiuscole).

Tabella 5 - Prove 1994-1995. Residui in mg/kg di l-carvone a diverse epoche dal 1° trattamento.

cultivar	principio attivo	n° tratt.	tubero	1° giorno	30 gg	50 gg	60 gg
Arsy	l-carvone	1	i	2,65 ± 0,23	1,07 ± 0,06	0,72 ± 0,13	0,43 ± 0,15
			s	0,33 ± 0,13	0,07 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Arsy	l-carvone	2*	i	1,95 ± 0,24	0,68 ± 0,10	0,46 ± 0,11**	1,06 ± 0,07
			s	0,22 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,02 ± 0,01**	0,07 ± 0,02
Bedalin	l-carvone	1	i	2,85 ± 0,21	1,24 ± 0,17	0,58 ± 0,12	0,45 ± 0,05
			s	0,41 ± 0,12	0,06 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Bedalin	l-carvone	2*	i	2,74 ± 0,44	0,98 ± 0,18	0,57 ± 0,09**	1,69 ± 0,06
			s	0,44 ± 0,11	0,06 ± 0,02	0,03 ± 0,01**	0,11 ± 0,04

i = tubero intero s = tubero sbucciato

* il secondo trattamento è stato effettuato 50 giorni dopo il primo.

** le analisi sono state eseguite su campioni prelevati prima dell'effettuazione del secondo trattamento.

Lavori citati

BERTOLINI P., CAMONI I., IMBROGLINI G., GRAZIANI R. (1990). Alcuni parametri influenti sui residui nel trattamento antigermgoglio delle patate. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 3, 407-416.

BEVERIDGE J.L., DALZIEL J. and DUNCAN H.J. (1981). The assessment of some volatile organic compounds as sprout suppressants for ware and seed potatoes. *Potato Res.*, 24, 61-76.

CLARK G.S. (1989). A profile: an aroma chemical: Carvone. *Perfumer and Flavorist*, 14, 35-40.

EMILSSON B. (1949). Studies on the rest period and dormant period in the potato tuber. *Acta Agriculturae, Suecana* III, 3, 189-284.

MEIGH D.F. (1969). Suppression of sprouting in stored potatoes by volatile organic compounds. *J. Sc. Food Agric.*, 20, 159-164.

PERLASCA G. (1956). Chemical control of sprouting in white potatoes. *American Potato Journal*, 33, 113-133.

RHODES A., SEXTON A., SPENCER L.G. and TEMPLEMAN W.G. (1950). Use of isopropyl phenyl carbamate to reduce sprouting of potato tubers in storage. *Research*, 3, 189-190.

VAUGH S.F. and SPENCER G.F. (1991). Volatile monoterpenes inhibit potato tuber sprouting. *American Potato Journal*, 68, 821-831.

WILSON A.R. and McKEE R.K. (1948). Prevention of excessive sprouting in late stored ware potatoes. *Great. Brit. Jour. Min. Agr.*, 55, 296-299.

WRIGHT R.C. and WHITEMAN T.M. (1949). The comparative length of dormant periods of thirtyfive varieties of potatoes at different storage temperatures. *American Potato Journal*, 26, 330-335.