

MODERNÍ TRENDY DLOUHODOBÉHO SKLADOVÁNÍ TŘEŠNÍ A JEJICH Vliv NA DEGRADACI REZIDUÍ PESTICIDŮ

CURRENT TRENDS IN LONG-TERM STORAGE OF SWEET CHERRIES AND THEIR EFFECT ON THE DEGRADATION OF PESTICIDE RESIDUES

Aneta Bílková^{1,2}, Bronislava Hortová¹, Veronika Nekvindová¹, Pavol Suran¹, Lubor Zelený¹, Zora Nývltová³, Jiří Kwiecien³

¹VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.,

508 01 Holovousy

²Karlova univerzita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie

³Výzkumný ústav organických syntéz, Rybitví

e-mail: aneta.bilkova@vsuo.cz

ABSTRACT

A method including liquid chromatography in connection with mass detector was optimized for monitoring of degradation of selected residual substances in cherries stored using several current methods for long-term storage including ULO, MAP, application of 1-MCP (SmartFresh) and ozone. We created a spraying plan which included combinations of pesticides and their application times, and compared with untreated control. The fruits of the sweet cherries were harvested into boxes at the time of harvest maturity and all four types of storages were tested in storage experiments. We found that none of the tested cherries exceeded the maximum residue limit (MRL) for the active substance allowed for the fresh fruit or after removal from storage. In addition, fruits that were treated with ozone and 1-MCP exhibited a slight decrease in the content of residues during the storage.

Keywords: sweet cherries, residues pesticides, storage, minimum residues limits

Byla optimalizována metoda kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostním detektorem pro sledování a monitoring degradace vybraných reziduálních látek v plodech třešně při využití moderních metod pro dlouhodobé skladování jako jsou ULO, MAP, aplikace 1-MCP (přípravek FruitSmart) a ozonu. Byl vytvořen postřikový plán, který zahrnoval kombinace pesticidů a termíny jejich aplikací a výsledky porovnány s neošetřenou kontrolou. V době sklizňové zralosti byly plody třešně sklizeny do boxů a všechny čtyři technologie skladování byly využity pro skladovací pokusy. Bylo zjištěno, že u žádného z testovaných vzorků třešně nebyl překročen maximální limit reziduí (MLR) pro danou účinnou látku u čerstvých plodů i po vyskladnění. U plodů, které byly ošetřeny ozonem a přípravkem 1-MCP dokonce docházelo během skladování ještě i k mírnému poklesu obsahu reziduí.

Klíčová slova: třešně, rezidua pesticidů, skladování, minimální limit reziduí

Třešně jsou považovány za potravinu s relativně nízkým kalorickým obsahem a významným množstvím důležitých živin a bioaktivních složek včetně vlákniny, polyfenolů, karotenoidů, vitamínu C a draslíku (McCune *et al.* 2011). Kromě toho jsou třešně také zdrojem tryptofanu, serotoninu a melatoninu (Garrido *et al.* 2012, Cubero *et al.* 2010).

Toto ovoce je bohaté na polyfenoly (McCune *et al.* 2011; Ferretti *et al.* 2010; Commisso *et al.* 2017). Mnoho faktorů včetně kultivaru, doby zrání, skladování a dalších přispívá ke koncentraci polyfenolů a kvalitativního složení třešně (Commisso *et al.* 2017). Kromě antokyanů jsou třešně také bohaté na hydroxycinamáty a flavin-3-oly. Současné poznatky o přínosu třešně na lidské zdraví pomohly zvýšit jejich konzumaci.

Pro zvýšení konkurenceschopnosti produkce třešně jsou nezbytně nutné moderní nově vyšlechtěné odrůdy s velmi časnou nebo velmi pozdní dobou zrání, vysokým výnosem, dobrým vzhledem, výbornou chutí, s velikými plody, dlouhou skladovatelností a rezistencí k praskání plodů a chorobám. Pěstitelé jsou tak v rámci zvyšování kvality produkce nuceni k intenzivní ochraně sadů proti chorobám a škůdcům.

V technologii produkce ovoce jsou ve stále širší míře uplatňovány nové postupy k prodloužení skladování a posklizňové úpravy. Jedná se např. o využití ošetření systémem blokace účinku ethylenu látkou 1-MCP (1-methylcyklopropen), skladování v kontrolované atmosféře s nízkým obsahem kyslíku ULO, využití ošetření v ozonové atmosféře, využití skladování ve speciálních pro plyny selektivně propustných obalech s modifikovanou atmosférou (MAP = Modified atmosphere packaging), třídění ve vodě dosycené ozonem aj.

Potenciální přítomnost reziduí pesticidů v potravinách je vnímána konzumenty velmi citlivě. Důvodem je zejména to, že některé oblasti možných účinků dlouhodobého chronického příjmu by podlimitních dávek reziduí pesticidů či jejich směsí nejsou dosud dostatečně a uspokojivě vyhodnoceny. Zejména je řešena otázka synergického účinku pesticidů, které se sice mohou v potravině vyskytovat jednotlivě v množství pod stanoveným limitem, ale ve svém součtu mohou tento limit překračovat, nebo se může jejich účinek na lidský organismus při vzájemné interakci zvyšovat.

Vzhledem k neustálému rozvoji přípravků na ochranu rostlin a registraci nových povolených

přípravků s rozdílnou účinnou látkou byla zjištěna zvyšující se poptávka po informacích, které jsou nedostatečné v otázce komplexního řešení problematiky degradace reziduí v plodech ovoce a zaručení detekčních limitů reziduí pesticidů pod MRL.

Rozvíjející technologické možnosti skladování a návazné přípravy posklizňové ochrany a technologie zahrnující 1-MCP, MAP, ULO a ozon pro udržení vysoké kvality plodů jsou přímým důvodem pro studium vlivu těchto technologií a přípravků na degradaci reziduí pesticidů v průběhu dlouhodobého skladování.

MATERIÁL A METODY

Příprava reálných vzorků pro chemické analýzy a skladovací pokusy

Pro testování a monitoring rozpadu reziduí pesticidů v třešních byla vybrána odrůda 'Tamara'. Byly využity technologie skladování v řízené atmosféře – ULO, využití skladovacích sáčků MAP, posklizňové ošetření 1-MCP (přípravek FruitSmart) a jednorázové ošetření po sklizni ozonem. V experimentálních výsadbách VŠÚO Holovousy s.r.o. došlo k aplikaci vybraných pesticidů dle navrženého postřikového plánu (1.–4. varianta kombinace ochranných přípravků, 5. varianta – kontrola bez ošetření, viz Tabulka 1). Byly hodnoceny dané počty stromů od každé varianty. U varianty 1, 2 bylo celkem hodnoceno 15 stromů, u varianty 3 bylo hodnoceno 18 stromů a u varianty 4 celkem 18 stromů. Kontrolní varianta obsahovala 26 stromů. Veškeré plody třešně jednotlivých variant byly v době sklizňové zralosti sklizeny do přepravek, aby byla zaručena homogenita vzorku.

V laboratoři došlo k rozdělení plodů do označených plastových misek pro analýzy při sklizni a pro skladovací pokusy, každý vzorek měl přibližnou hmotnost 1 kg. Vzorky čerstvých plodů pro rozbor byly ihned vypeckovány a uloženy do mrazáku při teplotě -20 °C do doby, než proběhla chemická analýza reziduí pesticidů. Vzorky pro výzkum vlivu skladování na degradaci reziduí pesticidů byly uloženy do výzkumného skladu ULO, vloženy do skladovacích sáčků MAP, ošetřeny látkou 1-MCP a ozonem a pak vloženy do ULO boxu. Vyskladnění vzorků následně proběhlo v pravidelných intervalech po 14, 28, 42 dnech, kdy byly plody ihned zhodnoceny z pomologického hlediska a pro zjištění úbytku hmotnosti připraveny k analytickým rozborům.

Obdobně tomu bylo i v dalších termínech vyskladnění.

Aplikace postřiků ve výsadbě třešní

Aplikace pesticidů probíhala pomocí traktorového postřikovače NP 400S (AKP), který je vybaven postřikovým rámem v délce 200 cm. Na aplikačním rámu je celkem umístěno

7 trysek typu ALBUZ ATR ve vzdálenosti 25 cm, které zajišťují rovnoměrné pokrytí stromů postřikovou kapalinou. Pojezdová rychlost traktoru při aplikaci přípravků byla 1,5 km/h a probíhala za bezvětřného počasí. Přesný rozpis hektarových dávek, kombinací testovaných přípravků a termíny jejich aplikací jsou detailně popsány v tabulce 1.

Tabulka 1. Postřikový plán a termíny aplikací – třešně (odrůda 'Tamara')

Table 1. Spraying plan and application dates - sweet cherries ('Tamara' variety)

Termín aplikace ¹⁾	28 dní před sklizní 22. 5. 2018	21 dní před sklizní 29. 5. 2018	14 dní před sklizní 5. 6. 2018	7 dní před sklizní 12. 6. 2018	3 dny před sklizní 15. 6. 2018	1 den před sklizní 18. 6. 2018
Varianta²⁾						
V1	ANTRE 70 WG (2,25 kg/ha)		ROVRAL AQUAFLO (1,5 l/ha) MOSPILAN 20 SP (0,25 kg/ha) SWITCH (1 kg/ha) CALYPSO (0,2 l/ha)	LUNA EXPERIENCE (0,6 l/ha) SIGNUM (0,25 kg/ha) ZATO 50 WG (0,45 kg/ha) PIRIMOR 50 WG (0,5 kg/ha)		PROLECTUS (1,2 kg/ha)
V2	DELAN 700 WDG (0,75 kg/ha) CALYPSO (0,2 l/ha) DITHANE DG NEOTEC (2 kg/ha)	ROVRAL AQUAFLO (1,5 l/ha) MOSPILAN 20 SP (0,25 kg/ha) SWITCH (1 kg/ha)	LUNA EXPERIENCE (0,6 l/ha) SIGNUM (0,25 kg/ha) ZATO 50 WG (0,45 kg/ha) PIRIMOR 50 WG (0,5 kg/ha)		PROLECTUS (1,2 kg/ha) TELDOR 500 SC (1 l/ha)	
V3	ROVRAL AQUAFLO (1,5 l/ha) MOSPILAN 20 SP (0,25 kg/ha) ZATO 50 WG (0,45 kg/ha)	LUNA EXPERIENCE (0,6 l/ha) SIGNUM (0,25 kg/ha) PIRIMOR 50 WG (0,5 kg/ha)		PROLECTUS (1,2 kg/ha) TELDOR 500 SC (1 l/ha) HORIZON 250 EW (0,75 l/ha) SWITCH (1 kg/ha)		
V4	SIGNUM (0,25 kg/ha) SWITCH (1 kg/ha) PIRIMO R 50 WG (0,5 kg/ha)	ZATO 50 WG (0,45 kg/ha) DELAN 700 WDG (0,75 kg/ha) CALYPSO (0,2 l/ha)	PROLECTUS (1,2 kg/ha) TELDOR 500 SC (1 l/ha) HORIZON 250 EW (0,75 l/ha)			

1) Dates of application, 2) Variation of spraying plan

Chemická analýza reziduí pesticidů v plodech třešní

Vlastní analýza reziduí pesticidů byla provedena ve VUOS a.s. Byla využita vyvinutá metoda kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. Zmražené vypeckované plody třešní byly homogenizovány pomocí suchého ledu. K analýze bylo odvažováno 10 g homogenizovaného vzorku a extrakce probíhala podle modifikovaného extrakčního postupu QuEChERS EN 15662 : 2008. Vzorky byly analyzovány s použitím LC/MS systémem zahrnujícím kapalinový chromatograf Agilent HP Series 1260 Infinity a hmotnostní detektor Agilent 6490 Triple Q MS měřícím v režimu MRM. Pro screening reziduí pesticidů bylo vybráno 13 účinných látek.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Rezidua pesticidů byla detekována v čerstvých a skladovaných plodech třešní. Byly využity 4 typy moderních způsobů pro dlouhodobé skladování – skladování v sáčcích s modifikovanou atmosférou (MAP), sklady s řízenou atmosférou (ULO) a 2 typy posklizňového ošetření plodů (1-MCP a ozon). Teplota skladování byla stejná pro každou variantu pokusu, její hodnota se pohybovala v rozmezí 1,2–1,6 °C. Použitá koncentrace přípravku FruitSmart (účinná látka 1MCP) byla 0,00158 g/m³ skladovacího prostoru. Posklizňové ošetření proběhlo první den po naskladnění. Pro ošetření plodů před naskladněním u varianty s ozonem byla zvolena koncentrace ozonu 0,15–0,18 ppm po dobu 8 hodin.

U sledovaných pesticidů nebyl v žádné z testovaných variant postřikového plánu překročen maximální limit reziduí. K degradaci účinných látek v plodech třešní docházelo již v předsklizňovém období, a to v závislosti na počtu dní od aplikace jednotlivých přípravků. U plodů, které byly ošetřeny ozonem

a přípravkem 1-MCP dokonce docházelo během skladování ještě i k mírnému poklesu obsahu reziduí.

Z dosažených výsledků je patrné, že koncentrace účinné látky daného pesticidu v průběhu skladování klesá a zároveň jsou vidět rozdíly podle typu skladování. Rozdíly mezi jednotlivými typy skladování nejsou výrazné, nicméně při 3. vyskladnění u použití posklizňového ošetření 1-MCP jsou na poloviční hodnotě oproti hodnotám u čerstvých plodů. V grafu 1 je vidět degradace účinné látky acetamidrid přípravku Mospilan, kde koncentrace účinné látky u čerstvých plodů je již pod limitem MRL. Maximální limit reziduí pro tuto látku je 1,5 mg/kg. Koncentrační hladiny pro použití 1-MCP a skladovací technologie ULO jsou podobné u 2. vyskladnění po 28 dnech, obdobně tomu je i u použití ozonu a technologie MAP. U varianty 3 dochází také k poklesu obsahu, jak ukazuje graf 2 kde počáteční hodnota koncentrace je již hluboko pod limitem MRL (10x nižší hodnota oproti variantě 1) u čerstvých plodů. Hodnoty koncentrace u skladovaných plodů pro všechny využití metody skladování jsou velice podobné i s ohledem na dobu vyskladnění.

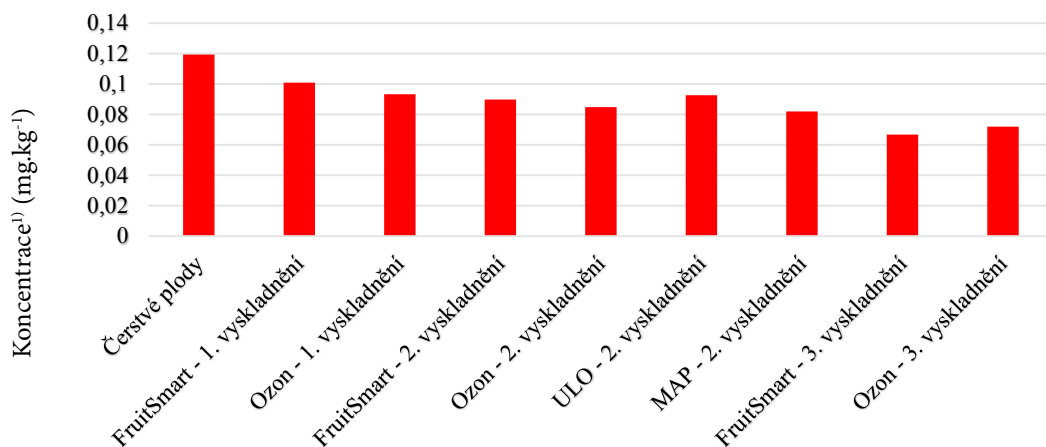
Graf 3 dokumentuje obdobný klesající trend u varianty postřiku 1 a přípravku Signum s účinnou látkou pyraklostrobin. Výraznější změny koncentrací jsou patrné u 2. a 3. vyskladnění při posklizňovém ošetření ozonem. Koncentrační hladina je na poloviční hodnotě oproti hodnotě u čerstvých plodů obdobně jako u posklizňového ošetření přípravkem FruitSmart. Graf 4 znázorňuje variantu 3, kde jsou již koncentrace rezidua účinné látky hluboko pod maximálním limitem. Hodnota MRL pro pyraklostrobin je 3 mg/kg. Z dosažených výsledků jsou viditelné změny koncentrací zejména pak postupný klesající trend oproti čerstvým plodům u posklizňového ošetření ozonem a přípravkem FruitSmart.

Graf 1. Degradace účinné látky acetamidrid přípravku Mospilan u varianty 1 pro vybrané typy dlouhodobého skladování

Figure 1. Degradation of the active substance acetamidride of Mospilan for variation1 and selected types of long term storage

MOSPILAN	Koncentrace (mg.kg ⁻¹)
Čerstvé plody	0,119286
FruitSmart - 1. vyskladnění	0,100821
Ozon - 1. vyskladnění	0,093309
FruitSmart - 2. vyskladnění	0,089702
Ozon - 2. vyskladnění	0,084741
ULO - 2. vyskladnění	0,092559
MAP - 2. vyskladnění	0,082039
FruitSmart - 3. vyskladnění	0,066782
Ozon - 3. vyskladnění	0,07208

1) Concentration, 2) Type of long term storage and time of removal



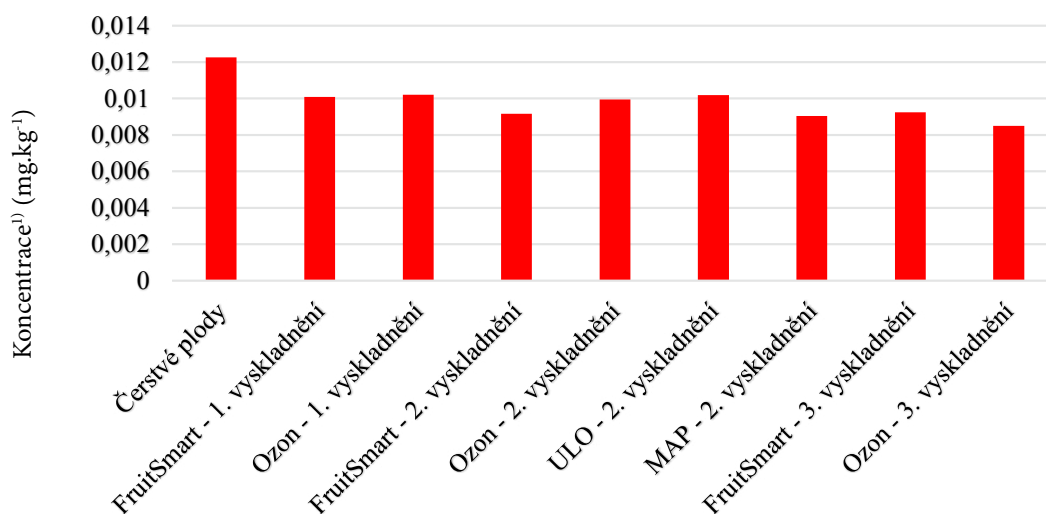
Typy dlouhodobého skladování a doby vyskladnění²⁾

Graf 2. Degradace účinné látky acetamidrid přípravku Mospilan u varianty 3 pro vybrané typy dlouhodobého skladování

Figure 2. Degradation of the active substance acetamidride of Mospilan for variation 3 and selected types of long term storage

MOSPILAN	Koncentrace (mg.kg ⁻¹)
Čerstvé plody	0,012269
FruitSmart - 1. vyskladnění	0,010084
Ozon - 1. vyskladnění	0,010217
FruitSmart - 2. vyskladnění	0,00916
Ozon - 2. vyskladnění	0,009956
ULO - 2. vyskladnění	0,010185
MAP - 2. vyskladnění	0,009052
FruitSmart - 3. vyskladnění	0,009236
Ozon - 3. vyskladnění	0,00851

1) Concentration, 2) Type of long term storage and time of removal



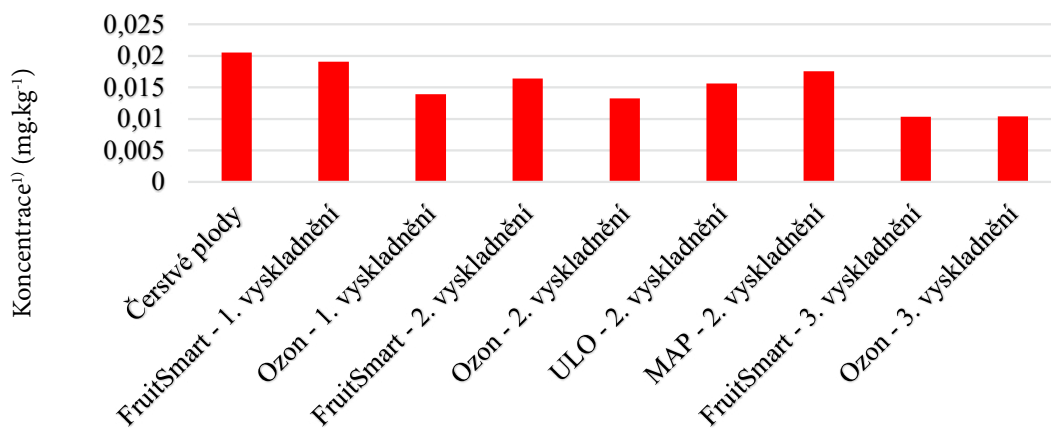
Typy dlouhodobého skladování a doby vyskladnění²⁾

Graf 3. Degradace účinné látky pyraclostrobin přípravku Signum u varianty 1 pro vybrané typy dlouhodobého skladování

Figure 3. Degradation of the active substance pyraclostrobine of Signum for variation 1 and selected types of long term storage

SIGNUM	Koncentrace (mg.kg ⁻¹)
Čerstvé plody	0,020549
FruitSmart - 1. vyskladnění	0,01908
Ozon - 1. vyskladnění	0,013909
FruitSmart - 2. vyskladnění	0,016403
Ozon - 2. vyskladnění	0,013218
ULO - 2. vyskladnění	0,01559
MAP - 2. vyskladnění	0,017524
FruitSmart - 3. vyskladnění	0,010336
Ozon - 3. vyskladnění	0,010386

1) Concentration, 2) Type of long term storage and time of removal



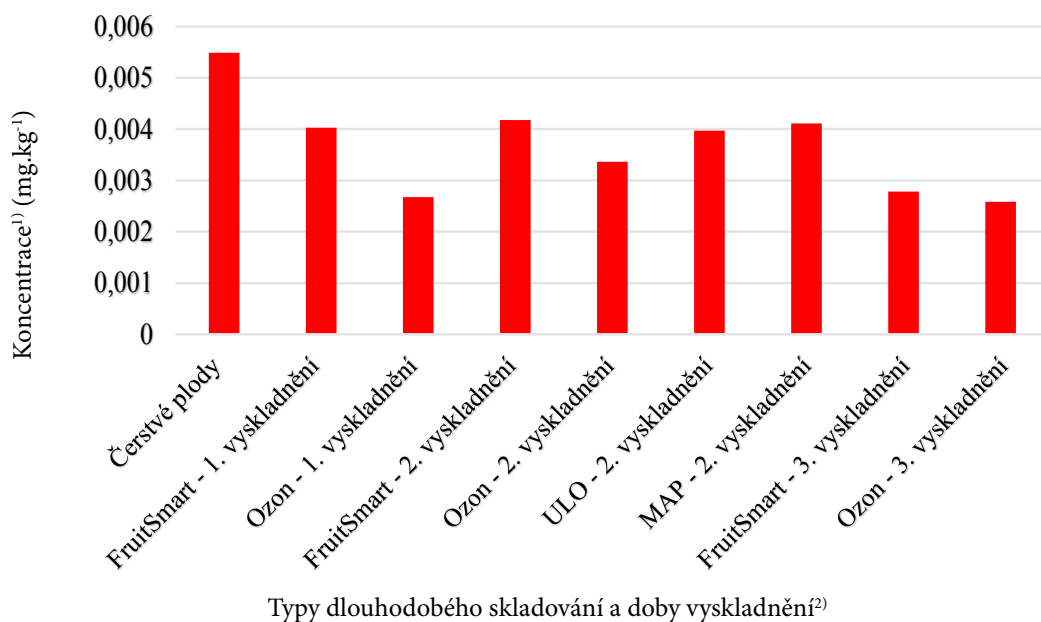
Typy dlouhodobého skladování a doby vyskladnění²⁾

Graf 4. Degradace účinné látky pyraclostrobin přípravku Signum u varianty 3 pro vybrané typy dlouhodobého skladování

Figure 4. Degradation of the active substance pyraclostrobine of Signum for variation3 and selected types of long term storage

SIGNUM	Koncentrace (mg.kg ⁻¹)
Čerstvé plody	0,005487
FruitSmart - 1. vyskladnění	0,004029
Ozon - 1. vyskladnění	0,002674
FruitSmart - 2. vyskladnění	0,00418
Ozon - 2. vyskladnění	0,003365
ULO - 2. vyskladnění	0,003969
MAP - 2. vyskladnění	0,00411
FruitSmart - 3. vyskladnění	0,002785
Ozon - 3. vyskladnění	0,002583

1) Concentration, 2) Type of long term storage and time of removal

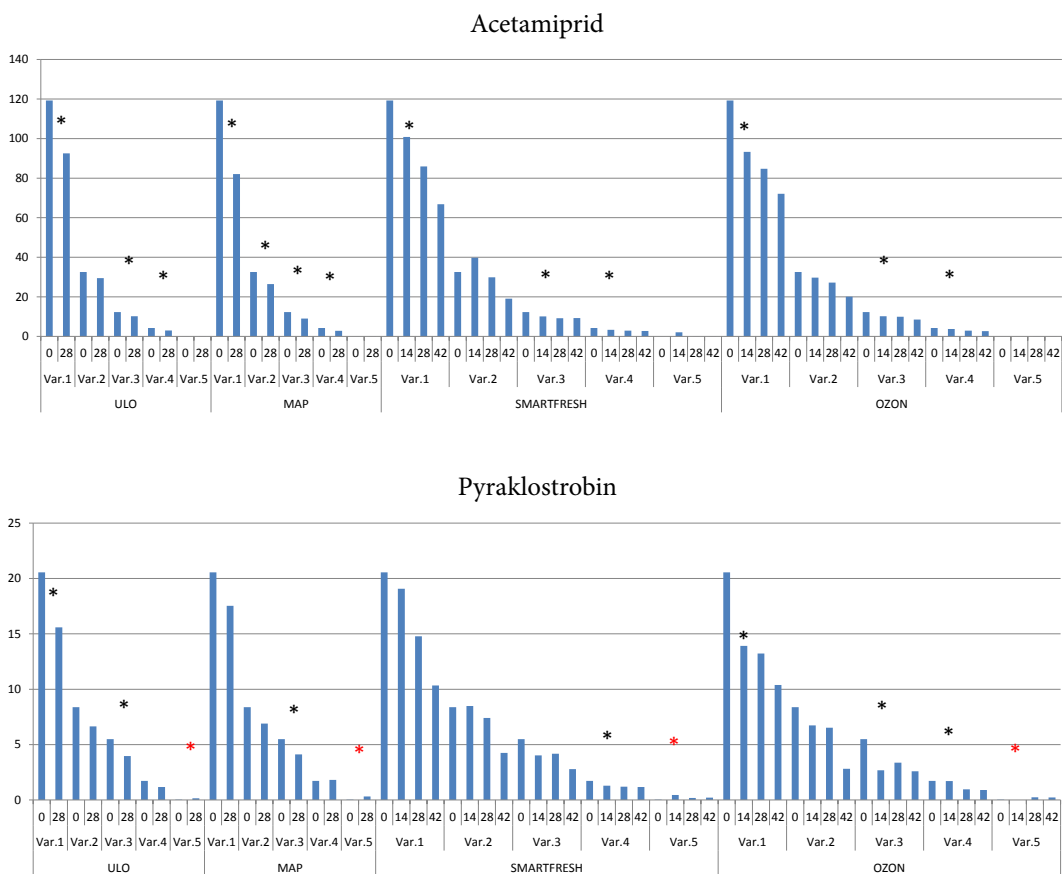


Výsledky měření obsahu reziduí kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí byly zároveň statisticky zpracovány a zodpovězení otázek jaký je obsah reziduí ve vztahu k termínu

postřiku před sklizní a jak se mění obsah reziduí v čase po sklizni v souvislosti se skladováním je znázorněno v grafu 5.

Graf 5. Degradace vybraných účinných látek acetamidridu a pyraclostrobinu (ng/g) v čase (dny) pro jednotlivé kombinace variant postřiku a skladování

Figure 5. Degradation of selected active substances acetamidrid and pyraclostrobin (ng/g) in time (days) for individual combinations of spraying and storage variants



Černá hvězdička označuje statisticky významný pokles obsahu rezidua mezi nultým a 28. dnem skladování, vždy pro danou kombinaci variant postřiku a skladování.

The black sign indicates a statistically significant decrease in residual content between zero and 28 days of storage, always for a given combination of spraying and storage variants.

V grafu 5 je na příkladu účinných látek acetamidridu (přípravek Mospilan 20 SP, postřik ve variantě 1–4 a 5. varianta kontrola bez postřiku) a pyraclostrobinu (přípravek Signum, postřik ve variantě 1–4 a 5. varianta kontrola bez

postřiku) v různých časových termínech před sklizní (viz Tabulka 1) vidět, jak se odráží doba postřiku na konečném obsahu rezidua.

Obsahy reziduí již při sklizni byly hluboko pod maximálním limitem (MLR) u všech variant

postřiku pro všechny sledované účinné látky a při skladování jejich obsah zůstává většinou zachován nebo ještě dochází k mírnému poklesu.

ZÁVĚR

Plody určené pro přímý prodej by měly v období sklizňové zralosti obsahovat minimum reziduí pesticidů. V našich experimentech se rezidua použitých pesticidů pohybovala hluboko pod hranicí MLR u všech sledovaných

variant, a to už v období sklizně. Navržený postřikový plán zajišťuje důslednou ochranu před chorobami a škůdci zatímco jsou zároveň dodrženy požadované legislativní limity. Patrný pozitivní vliv z hlediska degradace těchto látek byl pozorován zejména u plodů skladovaných v MAP obalech a po posklizňovém ošetření za použití ozonu. Článek dokumentuje pouze částečné výsledky výzkumu, kompletní výsledky budou zdokumentovány v impaktovaném článku, týkající se dané problematiky.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum vznikl za podpory projektu TAČR TH02030223 „Inovace integrované ochrany peckovin ve vztahu ke způsobu skladování a obsahu reziduí pesticidů“. Při řešení byla využita infrastruktura projektu LO1608 a MZe ČR RO1519.

LITERATURA

- MCCUNE, L.M., C. KUBOTA, N.R. STENDELL-HOLLIS and C.A. THOMSON. Cherries and health: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2011, **51**:1–12. DOI: 10.1080/10408390903001719.
- GARRIDO, M., J. ESPINO, A.F. TORIBIO-DELGADO, J. CUBERO, J.I. MAYNARMARINO, C. BARRIGA, S.D. PAREDES and A.B. RODRIGUEZ. A jerte valley cherry-based product as a supply of tryptophan. *Int. J. Tryptophan Res.* 2012, **5**:9–14. DOI: 10.4137/IJTR.S9394.
- CUBERO, J., F. TORIBIO, M. GARRIDO, M.T. HERNANDEZ, J. MAYNAR, C. BARRIGA and A.B. RODRIGUEZ. Assays of the Amino Acid Tryptophan in Cherries by HPLCFluorescence. *Food Anal. Methods.* 2010, (3):36–39. DOI: 10.1007/s12161-009-9084-1.
- FERRETTI, G., T. BACCHETTI, A. BELLEGGIA and D. NERI. Cherry antioxidants: From farm to table. *Molecules.* 2010, **15**:6993–7005. DOI: 10.3390/molecules15106993.
- COMMISSO, M., M. BIANCONI, F. CARLO DI, S. POLETTI, A. BULGARINI, F. MUNARI, S. NEGRI, M. STOCCHERO, S. CEOLDO, L. AVESANI *et al.* Multi-approach metabolomics analysis and artificial simplified phytocomplexes reveal cultivar-dependent synergy between polyphenols and ascorbic acid in fruits of the sweet cherry (*Prunus avium* L.). *PLoS ONE.* 2017, **12**(7):e0180889. DOI: 10.1371/journal.pone.0180889.