

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**



Παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου flufenoxuron σε σταφύλια της περιοχής Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας και στη διάρκεια της οινοποίησής τους.

Γκαγκούλια Αθανασία

Πτυχιακή διατριβή που υποβλήθηκε στο Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος ως μερική υποχρέωση για τη λήψη του πτυχίου του Γεωπόνου.

ΒΟΛΟΣ 2004



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 4200/1
Ημερ. Εισ.: 15-12-2004
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΦΠΑΠ
2004
ΓΚΑ

Παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου flufenoxuron σε σταφύλια της περιοχής Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας και στη διάρκεια της οινοποίησής τους.

Γκαγκούλια Αθανασία

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ν. Τσιρόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής Χημείας Π.Θ.,

Επιβλέπων Καθηγητής

Ι. Τσιτσιπής, Καθηγητής Εντομολογίας Π.Θ., Μέλος

Γ. Νάνος, Επίκουρος Καθηγητής Δενδροκομίας Π.Θ., Μέλος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της μελέτης ήταν η παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου flufenoxuron σε σταφύλια καθώς και η πορεία των υπολειμμάτων στη διάρκεια της οινοποίησης τους. Το πείραμα αγρού πραγματοποιήθηκε σε αμπελώνα, στη Νέα Αγχίαλο Μαγνησίας, με σκοπό τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του flufenoxuron στα σταφύλια, σε διάφορες ημερομηνίες μετά τον τελευταίο ψεκασμό, μετά από δύο και μία εφαρμογές, με το εμπορικό σκεύασμα Cascade (flufenoxuron 50% WP) κατά τα έτη 2002 και 2003, αντίστοιχα. Επίσης προσδιορίστηκαν τα υπολείμματα στο μούστο και στον οίνο, που προήλθαν από τα παραπάνω σταφύλια.

Για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) μετά από εκχύλιση των αναλυτικών δειγμάτων με οξικό αιθυλεστέρα και καθαρισμό των εκχυλισμάτων με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Η ορθότητα και η ακρίβεια της μεθόδου, καθώς και η επαναληψιμότητά της ελέγχθηκαν αφού βρέθηκαν ανακτήσεις που κυμαίνονταν από 94-101% για το σταφύλι και 97-105% για το κρασί, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση ήταν από 2-5% και από 3-8% για το σταφύλι και το κρασί αντίστοιχα, τιμές ικανοποιητικές για τις αναλύσεις υπολειμμάτων.

Για το έτος 2002 τα υπολείμματα στα σταφύλια, 35 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό, βρέθηκαν 0,685 mg/kg, ενώ το 2003, 56 ημέρες μετά τον ψεκασμό, βρέθηκαν 0,226 mg/kg. Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων στο μούστο ήταν 0,138 και 0,118 mg/kg για τα έτη 2002 και 2003 αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων στους οίνους που παρήχθησαν ήταν 0,007 mg/kg το 2002 και 0,005 mg/kg το 2003.

Το γενικό συμπέρασμα που προκύπτει για το flufenoxuron είναι η σταθερότητα των υπολειμμάτων του στα δείγματα σταφυλιών κατά το χρονικό διάστημα των μετρήσεων που πραγματοποιήσαμε και η σχετικά μεγάλη τάση προσρόφησης στη στερεή φάση που παρουσιάζει κατά το πέρασμα από το σταφύλι στο κρασί.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εργασία αυτή σχεδιάστηκε με σκοπό να μελετηθεί η τύχη των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε καλλιέργεια αμπέλου, μιας σημαντικής για τη χώρα μας καλλιέργειας, όπως και στο παραγόμενο κρασί. Για το σκοπό αυτό έγινε παρακολούθηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων στο σταφύλι και μετά την οινοποίηση, στο μούστο και στο κρασί. Για τη μελέτη αυτή επιλέχθηκε το flufenoxuron, ένα νέο εντομοκτόνο, για το οποίο, στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχει σχετική έλλειψη πληροφόρησης για την τύχη των υπολειμμάτων του στην καλλιέργεια της αμπέλου και στο κρασί. Το flufenoxuron ανήκει στην ομάδα των βενζουλουριών, δρα ως ρυθμιστής ανάπτυξης των εντόμων και χρησιμοποιείται στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης.

Τα πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε σε αμπελώνα της περιοχής Ν. Αγχιάλου Μαγνησίας ενώ οι αναλύσεις για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων έγιναν στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Τα παρόν κείμενο της εργασίας είναι οργανωμένο σε δύο μέρη, τη βιβλιογραφική ανασκόπηση και το πειραματικό μέρος. Στη **βιβλιογραφική ανασκόπηση**, δίνονται γενικές πληροφορίες για το αμπέλι, τις καλλιεργητικές φροντίδες που εφαρμόζονται σε αυτό και γίνεται αναφορά στην υφιστάμενη κατάσταση της αμπελοκαλλιέργειας στη χώρα μας με επίκεντρο αυτή της Θεσσαλίας (Κεφάλαιο 1). Στη συνέχεια παρουσιάζονται μέθοδοι αντιμετώπισης των εχθρών της αμπέλου, με έμφαση στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση (Κεφάλαιο 2) και δίνονται πληροφορίες σχετικά με τα υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων (Κεφάλαιο 3) και τη μεθοδολογία προσδιορισμού τους (Κεφάλαιο 4). Ακολουθεί η παρουσίαση της επίδρασης των μεταποιητικών διαδικασιών στην τύχη των υπολειμμάτων (κεφάλαιο 5) και τέλος, (Κεφάλαιο 6) αναφέρονται στοιχεία που αφορούν τις βενζουλουρίες και τα υπολείμματα αυτών στα γεωργικά προϊόντα.

Στο **πειραματικό μέρος**, παρουσιάζονται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην εκτέλεση του πειράματος (Κεφάλαιο 1) και η αναλυτική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων στα συλλεχθέντα δείγματα καρπών, μούστου και κρασιού (Κεφάλαιο 2). Τέλος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν και αφορούν την αξιολόγηση της αναλυτικής μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε, την πορεία των υπολειμμάτων στον αγρό και κατά τη διάρκεια της οινοποίησης, δηλαδή η πορεία τους στα σταφύλια, το μούστο και το κρασί, και τέλος η συζήτηση και τα συμπεράσματα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	σελ. 7
1. Η ΑΜΠΕΛΟΣ.....	σελ. 7
1.1 Γενικά.....	σελ. 7
1.2 Υφιστάμενη κατάσταση και προοπτική της αμπελοκαλλιέργειας στη χώρα μας.....	σελ. 7
1.3 Ποικιλίες που καλλιεργούνται στην περιοχή της Θεσσαλίας.....	σελ. 9
1.4 Καλλιεργητικές φροντίδες.....	σελ. 11
1.5 Κυριότεροι εχθροί και ασθένειες.....	σελ. 12
1.5.1 Ασθένειες.....	σελ. 12
1.5.2 Εχθροί.....	σελ. 12
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΕΧΘΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΜΠΕΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.....	σελ. 15
2.1 Ημερολογιακή ή σχηματική καταπολέμηση.....	σελ. 15
2.2 Διευθυνόμενη ή κατευθυνόμενη καταπολέμηση.....	σελ. 15
2.3 Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση.....	σελ. 15
3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.....	σελ. 18
3.1 Γενικά.....	σελ. 18
3.2 Τοξικότητα.....	σελ. 19
3.3 Αποδεκτή ημερήσια λήψη για τον άνθρωπο (ADI).....	σελ. 19
3.4 Διαδικασία καθορισμού των κοινοτικών MRLs.....	σελ. 20
3.5 Ορθή γεωργική πρακτική (GAP).....	σελ. 21
3.6 Πειράματα υπολειμμάτων.....	σελ. 21
3.6.1 Καμπύλες αποικοδόμησης.....	σελ. 22
3.6.2 Προϊόντα ή σσονος σημασίας.....	σελ. 23
3.6.3 Επέκταση των δεδομένων (Extrapolation).....	σελ. 23
3.6.4 Υπολείμματα σε μεταποιημένα προϊόντα.....	σελ. 24
3.7 Προτεινόμενα ανώτατα όρια υπολειμμάτων (Draft MRLs).....	σελ. 24
3.7.1 Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.....	σελ. 25
3.8 Έννοια του ορίου αναλυτικού προσδιορισμού (LOD, Limit of Determinatio όπως έχει επικρατήσει πρόσφατα Limit of Quantitation)...	σελ. 25
3.9 Εκτίμηση των κινδύνων για τους καταναλωτές από τη διατροφική λήψη υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων (dietary intake risk assesement).....	σελ. 26
4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.....	σελ. 27
4.1 Πειράματα αγρού.....	σελ. 27
4.2 Δειγματοληψία (sampling).....	σελ. 27
4.3 Αποθήκευση.....	σελ. 30
4.4 Επιλογή αναλυτικής μεθόδου.....	σελ. 30
4.5 Αναλύσεις υπολειμμάτων.....	σελ. 30
4.6 Εκτέλεση της μεθόδου ανάλυσης.....	σελ. 32
4.6.1 Προετοιμασία Αναλυτικών Δειγμάτων.....	σελ. 32
4.6.2.Εκχύλιση (extraction).....	σελ. 33

4.6.3.Καθαρισμός (clean-up)	σελ. 34
4.6.4.Συμπύκνωση (concentration)	σελ. 35
4.6.5.Προσδιορισμός (determination)	σελ. 35
4.6.6 Εκτίμηση αποτελεσμάτων.....	σελ. 37
5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΣΤΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	σελ. 38
5.1 Πλύσιμο.....	σελ. 38
5.2 Αποφλοιώση.....	σελ. 39
5.3 Βρασμός – Ψήσιμο.....	σελ. 39
5.4 Κονσερβοποίηση.....	σελ. 40
5.5 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα σταφύλια και στο κρασί.....	σελ. 40
5.5.1 Επίδραση υπολειμμάτων στην οινοποιητική ζύμωση.....	σελ. 41
5.5.2 Υπολείμματα μερικών κοινών φυτοφαρμάκων κατά την διάρκεια της οινοποίησης.....	σελ. 41
5.5.3 Διαύγαση του κρασιού.....	σελ. 43
5.5.4 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε μεταποιημένα προϊόντα.....	σελ. 44
6. ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ-ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΟΥΡΙΑΣ.....	σελ. 45
6.1 Γενικά.....	σελ. 45
6.2 Μιμητικές ορμόνες.....	σελ. 45
6.3 Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης.....	σελ. 46
6.4 Υπολείμματα βενζουλουριών.....	σελ. 49
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	σελ. 51
1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	σελ. 51
1.1 Πειραματικός αγρός.....	σελ. 51
1.2 Δειγματοληψία.....	σελ. 51
1.3 Υλικά και χημικά αντιδραστήρια	σελ. 52
1.4 Εκχύλιση των δειγμάτων σταφυλιών.....	σελ. 52
1.5 Καθαρισμός (clean up)	σελ. 52
1.6 Χρωματογραφική ανάλυση.....	σελ. 53
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	σελ. 54
2.1 Ποιοτική ανάλυση.....	σελ. 54
2.2 Ποσοτική ανάλυση.....	σελ. 54
2.3 Έλεγχος και αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου.....	σελ. 55
2.4 Μεταβολή υπολειμμάτων του flufenoxuron στα σταφύλια.....	σελ. 56
2.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	σελ. 60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ. 61

A. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1. Η ΑΜΠΕΛΟΣ

1.1 Γενικά

Η οικογένεια VITACEAE περιλαμβάνει 14 γένη με 450 είδη. Από τα 14 γένη της οικογένειας μόνον το *Vitis* μας ενδιαφέρει από αμπελουργική άποψη, το οποίο περιλαμβάνει το υπογένος *Euvitis*, στο οποίο ανήκει το είδος *Vinifera* (άμπελος η οινοφόρος) ως και διάφορα αμερικανικά και ασιατικά είδη. Οι καλλιεργούμενες σόλο τον κόσμο ποικιλίες αμπέλου ανέρχονται σε 7.000- 10.000. Διακρίνονται σε **επιτραπέζιες, οινοποιήσιμες και παραγωγής ξηρών σταφίδων.**

Είναι γνωστό ότι η άμπελος και ο οίνος αποτέλεσαν ένα σημαντικό παράγοντα που επηρέασε τον ανθρώπινο πολιτισμό στην μακραίωνη εξέλιξή του. Η άμπελος ευδοκμεί στις παραμεσόγειες χώρες, όπου και διαμορφώθηκε μέσα από τη θρησκευτική σκέψη, τις τέχνες και τα γράμματα, ο μεγάλος πνευματικός κύκλος της αμπέλου και του οίνου που απ' την ομηρική εποχή φθάνει μέχρι τις ημέρες μας.

Οι πρωτόγονοι άνθρωποι από νωρίς παρατήρησαν ότι ο καρπός που παρήγαγε ένα καχεκτικό φυτό, έδινε χυμό ο οποίος σύντομα μετατρέποταν σ'ένα ποτό που πινόταν ευχάριστα και είχε κάποιες περιέργες συνέπειες γι'αυτούς που το κατανάλωναν. Με το πέρασμα του χρόνου η ανακάλυψη αυτή ολοένα και επεκτεινόταν στις τότε ανθρώπινες κοινωνίες.

Στην ελληνική μυθολογία ο οίνος θεωρήθηκε σαν δώρο προς τους ανθρώπους από το γιο του Δία και της Σεμέλης, το Διόνυσο που πήρε και το όνομα Βάκχος. Ο Διονυσιακός μύθος με διάφορες παραλλαγές και ονόματα υπάρχει σ'όλους σχεδόν τους αρχαίους λαούς που κατοικούσαν σε χώρες όπου εφύετο η άμπελος. Έτσι, η αντίστοιχη με το Διόνυσο θεότητα ήταν: για τους Ινδούς ο Σόμα, για τους Αρμένιους ο Σπανδαράμετ, για τους Αιγύπτιους ο Όσιρις, για τους Εβραίους ο Νάε, για τους Λίβυους ο Άμμων, και για τους πρωτόγονους κατοίκους της Ιταλικής χερσονήσου, ο Κρόνος.

Είναι πολύ χαρακτηριστικό το γεγονός, ότι κάθε λαός ανεξάρτητα απ'την καταγωγή του απέδωσε σε μία θεότητα την ανακάλυψη της αμπέλου, τη διδασκαλία της καλλιέργειάς της και την τεχνική της παρασκευής του οίνου, καθώς και το ότι σ' όλες τις αρχαιότερες γνωστές γλώσσες υπάρχουν ιδιαίτερες λέξεις για την άμπελο, τη σταφυλή και τον οίνο (Σταύρακας, 1997).

1.2 Υφιστάμενη κατάσταση και προοπτική της αμπελοκαλλιέργειας στη χώρα μας

Η συνολική έκταση του ελληνικού αμπελώνα ανέρχεται σε 1.383.220 στρέμματα (1992) και αντιπροσωπεύει περίπου το 4,5% της συνολικής καλλιεργούμενης στη χώρα μας έκτασης, το 3,5% του κοινοτικού και το 1,7% του παγκόσμιου αμπελώνα.

Η καλλιεργούμενη έκταση από 2.030.000 στρ. (1971/75) μειώθηκε προοδευτικά σε 1.920.000 στρ. (1981/85), 1.700.000 στρ. (1989) και το 1992 σε 1.383.220 στρ. Η μείωση αυτή οφείλεται εκτός των άλλων (εισβολή φυλλοξήρας σε Πελοπόννησο το 1971 και Κρήτη το 1988,

εγκατάλειψη λόγω αστυφιλίας και μείωση του αριθμού των γεωργών που ασχολούνται με την αμπελοργία) στην εφαρμογή των κοινοτικών νόμων 456/70, 777/85 και ιδιαίτερα του 1442/88 που είχαν σαν συνέπεια την εκρίζωση σημαντικού μέρους του ελληνικού αμπελώνα. Συγκεκριμένα κατά την περίοδο 1988-1992 εκριζώθηκε το 14,2% (περίπου 240.000 στρ.) των καλλιεργούμενων το 1988 εκτάσεων (Σταύρακας, 1997).

Στους Πίνακες 1-3 δίνονται, ανά διαμέρισμα της χώρας, οι καλλιεργούμενες εκτάσεις και η παραγωγή κατά αμπελοργική κατεύθυνση (ποικιλίες οινοποιίας, επιτραπέζιας χρήσης και σταφιδοποιίας) (Στοιχεία Υπουργείου Γεωργίας, 1992).

Η συμμετοχή των αμπελοοινικών προϊόντων στο σύνολο της γεωργικής παραγωγής το 1992 ήταν 4,1% και αντιστοιχούσε στο 5,79% της ακαθάριστης αξίας της φυτικής παραγωγής στην Ελλάδα. Το ποσοστό % συμμετοχής των τριών κλάδων ποικιλιών στο σύνολο της αμπελοργικής έκτασης της χώρας. Σύμφωνα με στοιχεία του 1992 είναι η ακόλουθη: οινοποιήσιμες ποικιλίες 56%, επιτραπέζιες ποικιλίες 13%, σταφιδοποιήσιμες ποικιλίες 31%. Η ετήσια παραγωγή διαμορφώνεται ως εξής: Επιτραπέζια σταφύλια 300.000 τόνοι, οίνοι 4.000.000 hl (65% λευκοί και 35% ερυθροί)

α. Οίνοι κοινής καταναλώσεως: 3.600.000 hl

β. Οίνοι ονομασίας προελεύσεως (ΟΠΑΠ.): 400.000 hl

Σταφίδες: 77.000 τόνοι

α. Κορινθιακή: 40.000 τόνοι

β. Σουλτανίνα: 37.000 τόνοι

Από τις 1.000.000 περίπου γεωργικές εκμεταλλεύσεις που αναπτύσσονται στην Ελλάδα οι 310.000 περιλαμβάνουν και αμπέλια. Στις αμπελοργικές ιδιοκτησίες επικρατεί αυτή με έκταση 4 έως 14 στρεμμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Α1: Καλλιεργούμενη έκταση ανά διαμέρισμα της χώρας σε στρέμματα και παραγωγή σταφυλιών σε τόνους των ποικιλιών οινοποιίας και επιτραπέζιας χρήσης (1992).

Διαμέρισμα	Οινοποιήσιμες		Επιτραπέζιες	
	Έκταση σε στρέμματα	Παραγωγή σε τόνους	Έκταση σε στρέμματα	Παραγωγή σε τόνους
Ανατ. Μακεδονίας-Θράκης	9502	9695	51241	80350
Δ. & Κ. Μακεδονίας	46555	30517	26369	31118
Ηπείρου	29545	17137	441	255
Θεσσαλίας	30225	23550	47505	73040
Πελοποννήσου-Δ. Στερεάς	244109	224832	17209	24440
Αττικής-Νήσων	319302	248343	11950	13853
Κρήτης	95171	46587	25435	39705
Σύνολο	774409	600661	180150	262761

ΠΙΝΑΚΑΣ Α2: Καλλιεργούμενη έκταση ανά διαμέρισμα της χώρας σε στρέμματα και παραγωγή σταφυλιών σε τόνους των ποικιλιών σταφιδοποιίας (1992).

Διαμέρισμα	Κορινθιακή (Μαύρη σταφίδα)		Σουλτανίνα (Άσπρη σταφίδα)	
	Έκταση σε στρέμματα	Παραγωγή σε τόνους	Έκταση σε στρέμματα	Παραγωγή σε τόνους
Πελοποννήσου-Δ. Στερεάς	197731	185630	63575	75900
Ανατ. Μακεδονίας- Θράκης	-	-	650	200
Αττικής- Νήσων	-	-	300	700
Κρήτης	-	-	166403	174232
Σύνολο	197731	185630	230930	251032

ΠΙΝΑΚΑΣ Α3: Αξιοποίηση της παραγωγής των ποικιλιών σταφιδοποιίας (1992).

	Ξηρή σταφίδα τόνοι	Επιτραπέζια χρήση τόνοι	Οινοποίηση Τόνοι γλεύκους
Κορινθιακή	41030	-	3448
Σουλτανίνα	37856	74000	14948

Παρότι αρκετό ποσοστό των αμπελουργικών εκτάσεων (20-25%) της χώρας είναι αμόλυντο φυλλοξήρας (Επτάνησα πλην Κεφαλονιάς, μέρος της Πελοποννήσου και της Κρήτης, μερικά νησιά του Αιγαίου κλπ.) εντούτοις για την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.) η Ελλάδα έχει κηρυχθεί εξ' ολοκλήρου φυλλοξηριώσα. Έτσι κατά την εγκατάσταση (ίδρυση) νέου αμπελώνα, σύμφωνα με το νόμο, πρέπει οι διάφορες ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου (*V. vinifera* L.) να εμβολιάζονται στα ανθεκτικά στη φυλλοξήρα υποκείμενα (αντιφυλλοξηρικά) (Σταύρακας, 1997).

1.3 Ποικιλίες που καλλιεργούνται στην περιοχή της Θεσσαλίας

Ο κάμπος της Θεσσαλίας δεν παρουσιάζει σημαντικό οινολογικό ενδιαφέρον. Ωστόσο, η Θεσσαλία περιζώνεται από βουνά και θάλασσα τα οποία δημιουργούν, θα έλεγε κανείς, περιφερειακά φυσικό περιβάλλον πρόσφορο για το αμπέλι. Σ' αυτά τα μέρη, υπάρχει σήμερα μια εξαιρετικά ελπιδοφόρα ανάπτυξη του θεσσαλικού αμπελιού που σε κύρια βάση αποτελείται από οινοποιήσιμη παραγωγή.

Ραψάνη

Το χωριό Ραψάνη ιδρύθηκε στα τέλη του 15ου αιώνα, όπως και η Ζίτσα, από κατοίκους που επιθυμούσαν να αποφύγουν την άμεση οθωμανική κυριαρχία. Από τότε μέχρι σήμερα η

Ραψάνη έχει δημιουργήσει σοβαρή οινολογική παράδοση. Στις αρχές του αιώνα μας, πριν την φυλλοξήρα, υπήρχαν περίπου 5.000 στρ. στην περιοχή της Ραψάνης. Σήμερα υπάρχουν περίπου 3.000 στρ. αμπελώνων, τα περισσότερα σε υψόμετρο 300-500 μέτρων με νοτιοανατολικό κυρίως προσανατολισμό.

Γύρω από τη Ραψάνη καλλιεργούνται τρεις ερυθρές ποικιλίες: το **Ξινόμαυρο**, γνωστό μας από τη Μακεδονία, το **Σταυρωτό** (που τοπικά λέγεται και **Αμπελακιώτικο**) και το **Κρασάτο**. Η τριάδα αυτή των ποικιλιών είναι χαρακτηριστική της γεωγραφικής θέσης της Ραψάνης. Το μεν **Ξινόμαυρο** δεν καλλιεργείται νοτιότερα, το δε **Σταυρωτό** δεν καλλιεργείται βορειότερα. Μόνο το **Κρασάτο** είναι γηγενής ποικιλία. Στη Ραψάνη έχει δοθεί το δικαίωμα χρήσης **ΟΠΑΠ Ραψάνη** με την προϋπόθεση της συνύπαρξης και των τριών ποικιλιών.

Αγχιάλος

Εκτός από τη Ραψάνη που δίνει το κόκκινο **ΟΠΑΠ Ραψάνη**, η Θεσσαλία έχει ονομασία προελεύσεως και για λευκό κρασί, το οποίο παράγεται στην Αγχιάλο, μια κοινότητα λίγα χιλιόμετρα νότια του Βόλου, στην παραλία του Παγασητικού.

Η ζώνη ονομασίας περιλαμβάνει την Αγχιάλο, τις Μικροθήβες, το Αϊδίνιο και το Κρόκι. Πρακτικά, μόνο τα δύο πρώτα χωριά έχουν σοβαρή παραγωγή σταφυλιών σε αμπελώνες περίπου 4.000 στρεμμάτων οι οποίοι είναι σε χαμηλό υψόμετρο περίπου 100 μέτρων (ελάχιστοι 200 μέτρα), ενώ μερικοί φτάνουν και μέχρι τη θάλασσα.

Στην ονομασία προελεύσεως συμμετέχει Ροδίτης κατά 85% τουλάχιστον και το υπόλοιπο πρέπει να είναι **Σαββατιανό**. Στην περιοχή, η αμπελοκαλλιέργεια περιλαμβάνει **Ροδίτη** (75%), **Σαββατιανό** (10%) και μια κόκκινη ποικιλία που λέγεται **Συκιώτης** (15%).

Καρδίτσα

Τα σημαντικότερα αμπελουργικά χωριά της περιοχής είναι ο Μεσενικόλας, το Μοσχάτο και το Μορφοβούνι. Η χαρακτηριστική ποικιλία της περιοχής είναι το ερυθρό **Μεσενικόλα**, που καλλιεργούνταν σε μεγάλες εκτάσεις πριν την εποχή της φυλλοξήρας. Από τότε, εξαιτίας και της μετανάστευσης, η διαδικασία της αναμπέλωσης ήταν μακροχρόνια και επίπονη.

Σήμερα υπάρχουν περί τα 700 στρέμματα αυτής της ποικιλίας, σε υψόμετρο 250-800 μέτρα. Καλλιεργείται επίσης και **Σαββατιανό**. Η ποικιλία **Μεσενικόλα** (που σύμφωνα με την παράδοση οφείλει το όνομά της, όπως και το ομώνυμο χωριό, στον Monsieur Nicolas ο οποίος επί τουρκοκρατίας έφερε την ποικιλία και το όνομά του στην περιοχή) έχει δώσει τον οίνο **ΟΠΑΠ Μεσενικόλα**.

Τύρναβος

Στον Τύρναβο βρίσκεται κανείς από πλευράς έκτασης τους περισσότερους αμπελώνες της Θεσσαλίας, αφού η άμπελος εκεί καταλαμβάνει περίπου 38.000 στρέμματα. Οι ποικιλίες που παραδοσιακά καλλιεργούντο στην περιοχή (Μπατίκι, Ροδίτης, Κουκούλι, Λημνιό, Ημερόμαυρο, Σιδερίτης, Καρτσιώτης) καταστράφηκαν ολοκληρωτικά από τη φυλλοξήρα. Σήμερα, η αμπελοκαλλιέργεια περιλαμβάνει κυρίως το **Μοσχάτο Αμβούργου**. Πρόκειται για ποικιλία με έντονο άρωμα η οποία διατίθεται τόσο για άμεση κατανάλωση ως επιτραπέζιο σταφύλι, όσο και για οινοποίηση. Διπλής επίσης χρήσης είναι και το **Μπατίκι**. Ως καθαρά κρασοστάφυλα συναντάμε **Ροδίτη** και **Σαββατιανό**, αλλά όχι σε περισσότερα από 3.500-4.000 στρέμματα. Ο αμπελώνας Τυρνάβου περιλαμβάνει τους αμπελώνες των δήμων Τυρνάβου και Αμπελώνα και των κοινοτήτων Πλατανούλια, Δένδρα, Δελέρια, Ροδιά, Αργυροπούλι και Δαμάσι.

1.4 Καλλιεργητικές φροντίδες

Κλάδεμα

Κλάδεμα ονομάζουμε τις τομές που γίνονται στις κληματίδες, στους βραχίονες και στον κορμό για την αφαίρεση ή το κόντευμα των υπέργειων οργάνων του φυτού. Στην άμπελο διακρίνουμε δυο είδη κλαδέματος: Το **χειμερινό ή ξηρό κλάδεμα** που γίνεται κατά την περίοδο της χειμερίας ανάπαυσης σε όργανα ξυλοποιημένα και το **θερινό ή χλωρό κλάδεμα** που γίνεται σε όργανα χλωρά, όταν η άμπελος βρίσκεται σε πλήρη βλάστηση, όπως βλαστούς, φύλλα, ταξιανθίες, ράγες. Τα χειμερινά διακρίνονται σε κλαδέματα διαμόρφωσης και καρποφορίας. Με το κλάδεμα διαμόρφωσης γίνεται ανάπτυξη και υποστήριξη του σκελετού και της βλάστησης του φυτού. Με το κλάδεμα καρποφορίας ρυθμίζεται η παραγωγή και διατηρείται το σχήμα του φυτού, ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των οφθαλμών που αφήνονται.

Κύριος σκοπός του κλαδέματος είναι να προσαρμόσει το φυτό, έτσι ώστε να μας αποδώσει κάθε χρόνο την καλύτερη ποιοτικά παραγωγή. Ένα ακλάδευτο φυτό αποκτά γρήγορα μεγάλες διαστάσεις, παράγει πολλά σταφύλια με αραιωμένα τα γευστικά συστατικά και άρα μέτρια ποιότητα. Το φυτό εξαιτίας της μεγάλης παραγωγής εξασθενίζει και χάνει τη ζωηρότητά του. Με το κλάδεμα έχουμε σταθεροποίηση της ετήσιας παραγωγής και διευκολύνονται οι καλλιεργητικές εργασίες. Το είδος του κλαδέματος εξαρτάται από το είδος της ποικιλίας και τις οικολογικές συνθήκες στις οποίες βρίσκεται το φυτό. Γενικά, το κλάδεμα αποβλέπει στην εξισορρόπηση ποιότητας και ποσότητας. Για παράδειγμα, η ελληνική νομοθεσία θεωρεί ότι στις περιοχές Ονομασίας Προέλευσης η παραγωγή δεν πρέπει να ξεπερνάει τα 1000 κιλά σταφυλιού ανά στρέμμα. Αυτό δεν σημαίνει βέβαια ότι οι μικρές παραγωγές οδηγούν αναγκαστικά σε υψηλή ποιότητα. Στα εύφορα εδάφη τα οποία εξ ορισμού οδηγούν σε χαμηλή ποιότητα, το αυστηρό κλάδεμα με σκοπό τη μείωση της παραγωγής έχει αποτέλεσμα τη μείωση της ποιότητας. Για τον ίδιο αμπελώνα τις χρονιές που έχουμε μεγάλη παραγωγή, έχουμε και καλή ποιότητα.

Βλαστολόγημα

Είναι η αφαίρεση διογκωμένων οφθαλμών ή βλαστών που πλεονάζουν ή έχουν αναπτυχθεί σε ακατάλληλη θέση και έχει σκοπό τον περιορισμό των αναγκών των φυτών, σε υγρασία και θρεπτικά στοιχεία.

Κορφολόγημα

Είναι η αφαίρεση της κορυφής του βλαστού πριν κατά ή μετά την άνθηση. Το κατάλληλο κορφολόγημα για κάθε ποικιλία και κάθε οικολογική συνθήκη απαιτεί μακροχρόνια πείρα και πειράματα.

Ξεφύλλισμα

Είναι η αφαίρεση των φύλλων του βλαστού που βρίσκονται κάτω από το πρώτο σταφύλι, δηλαδή προς τη βάση του βλαστού. Έχει σκοπό την έκθεση των σταφυλιών στον αέρα και το φως, ώστε να επιτευχθεί καλύτερη ωρίμανση.

Αραιώση

Είναι η αφαίρεση μέρους των ταξιανθιών, καθώς και άγουρων σταφυλιών.

Λίπανση

Οι μητρικές φυτείες έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε λιπαντικά στοιχεία λόγω της μεγάλης ποσότητας του παραγόμενου ξύλου. Χωρίς λίπανση η απόδοση ελαττώνεται προοδευτικά. Τα πρέμνα χάνονται με το χρόνο εξασθενούν και δίνουν ξύλο κακής ποιότητας με μικρά μεσογονάτια διαστήματα, εξωτερικεύοντας τα χαρακτηριστικά του μολυσματικού εκφυλισμού.

Για τον καθορισμό της ποσότητας των λιπασμάτων που θα χρησιμοποιήσουμε λαμβάνουμε υπόψη τη γονιμότητα του εδάφους, την απόδοση, την ηλικία της μητρικής φυτείας κλπ. Μια μέση λίπανση περιλαμβάνει ανά στρέμμα: 15-20 μονάδες Κ, 3-10 μονάδες Ν και 5-6 μονάδες Ρ.

Η λίπανση γίνεται με σπορά του μείγματος των λιπασμάτων και ενσωμάτωσή τους στο έδαφος με το πρώτο όργωμα του χειμώνα. Η υπερβολική λίπανση και ιδιαίτερα η αζωτούχος έχει σαν συνέπεια τα πρέμνα να αποκτήσουν μια ζωηρότητα, η οποία δεν είναι πραγματική και καλύπτει τα εξωτερικά συμπτώματα του μολυσματικού εκφυλισμού. Έτσι κατά τον έλεγχο της υγιεινής κατάστασης της μητρικής φυτείας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ο παράγοντας της λίπανσης, δηλαδή αν έγινε ή όχι λίπανση και ποιες ποσότητες λιπασμάτων χρησιμοποιήθηκαν.

Αρδεύεις

Ο αριθμός των αρδεύσεων εξαρτάται από τη φύση του εδάφους, τις βροχοπτώσεις και γενικά από το κλίμα της περιοχής. Συνήθως 2-3 αρδεύσεις κατά τη διάρκεια του θέρους είναι αρκετές. Η τελευταία δε θα πρέπει να γίνεται μετά το σταμάτημα της αύξησης, δηλαδή μετά το τέλος Αυγούστου έως τις αρχές Σεπτεμβρίου (Τσακίρης, 1995).

1.5 Κυριότεροι εχθροί και ασθένειες

1.5.1 Ασθένειες

Περονόσπορος (*Plasmopara viticola*): Ο περονόσπορος αποτελεί την πιο σοβαρή ασθένεια της αμπέλου. Προσβάλλει όλα τα πράσινα μέρη του φυτού. Στα φύλλα εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κηλίδες λαδιάς. Η ασθένεια ενδημεί στη χώρα μας και απειλεί κατ'έτος την παραγωγή στις υγρές και με συχνές βροχοπτώσεις περιφέρειες. Οι ξηρές περιοχές δεν κινδυνεύουν συνήθως από την ασθένεια.

Ωίδιο (*Uncinula necator*): Το ωίδιο είναι πολύ σοβαρή, μετά τον περονόσπορο, ασθένεια της αμπέλου. Τα χαρακτηριστικά συμπτώματα στο φύλλο είναι οι κηλίδες λαδιάς στο έλασμα επί των οποίων εμφανίζεται ένα συνεχές αραχνοειδές, λευκό, αλευρώδες επίχρισμα. Είναι ιδιαίτερα ξηροθερμικός μύκητας.

Τεφρά σήψη (*Botrytis cinerea*): Σημαντικές είναι οι ζημιές που προκαλεί στα σταφύλια λίγο πριν και μετά τη συγκομιδή (προ και μετά συλλεκτικές σήψεις). Οι προσβεβλημένοι ιστοί γίνονται καστανοί, χάνουν υγρασία, ζαρώνουν και συχνά «μουμιοποιούνται». (Παναγόπουλος, 1997)

1.5.2 Εχθροί

Ευδεμίδα (*Lobesia botrana*): Είναι ο σοβαρότερος εχθρός της αμπέλου. Ανήκει στην τάξη των Lepidoptera, στην οικογένεια Tortricidae. Προσβάλλει κυρίως την Ευρωπαϊκή άμπελο. Μπορεί όμως η προνύμφη να αναπτυχθεί και σε ορισμένα φυτά άλλων οικογενειών, ώστε ο Bovey (1966) τη θεωρεί πολυφάγο έντομο. Στο ύπαιθρο, τα ενήλικα ωοτοκούν και οι προνύμφες της

πρώτης γενεάς αναπτύσσονται ικανοποιητικά και σε ανθοταξίες ελιάς, όταν τα ελαιόδεντρα βρίσκονται κοντά σε αμπελώνες. Στην περιοχή της Καβάλας, αυγά ευδεμίδας βρέθηκαν και σε νεαρούς καρπούς δαμασκηιάς κοντά σε αμπελώνα. Στη Ν. Ιταλία, διαπιστώθηκε προσβολή μικρού ποσοστού καρπών ακτινιδιάς σε φυτεία που ήταν κοντά σε αμπελώνα που είχε πρόσφατα ξεριζωθεί (Moleas 1988). Όμως, πιθανότατα, η ευδεμίδα δεν μπορεί να συμπληρώσει διαδοχικά και τις τρεις γενεές της στα ανωτέρω καρποφόρα, εκτός από την άμπελο.

Βιολογία-ζημιές: Στην Ελλάδα, στις πλείστες περιοχές, έχει 3 γενιές. Διαχειμάζει συνήθως μέσα σε λευκό βομβύκιο κάτω από ξηρούς φλοιούς των πρέμων. Τα ενήλικα της γενιάς που διαχείμασε (συνήθως της τρίτης) εμφανίζονται τον Απρίλιο και Μάιο. Τα ενήλικα ωοτοκούν πάνω σε κλειστά άνθη. Η πρώτη γενιά είναι κατά κανόνα ανθοφάγος. Η προνύμφη ανοίγει οπή και μπαίνει στο κλειστό άνθος του οποίου τρώει τους στήμονες και τον ύπερο. Στη συνέχεια επεκτείνεται και στα γειτονικά άνθη. Συνδέει τα άνθη που προσβάλλει και τα γειτονικά τους με μεταξύινους ιστούς. Νυμφώνεται μέσα σε βομβύκιο συνήθως στην προσβεβλημένη ανθοταξία. Τα ενήλικα της πρώτης γενιάς ωοτοκούν στις μικρές άγουρες ράγες. Οι προνύμφες της δεύτερης γενιάς που είναι καρποφάγος όπως και η τρίτη, μπαίνουν στις άγουρες ράγες και καταστρέφουν τη μια μετά την άλλη, ώσπου να συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους. Συχνά συνδέουν με νήματα τις ράγες που προσβάλλουν. Νυμφώνονται μέσα σε ράγες. Τα ενήλικα της τρίτης αυτής γενιάς ωοτοκούν επίσης στους βότρους και οι προνύμφες προσβάλλουν τις ράγες που τότε έχουν το τελικό τους μέγεθος και αρχίζουν να ωριμάζουν ή είναι ήδη ώριμες. Όταν συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους υφαίνουν το βομβύκιο διαχείμανσης, νυμφώνονται και διαχειμάζουν ως νύμφες.

Η βλάβη είναι συνήθως σοβαρότερη σε πυκνόραγους βότρους και σε κληματαριές. Εκτός από την άμεση ζημιά λόγω καταστροφής των ραγών και ρύπανσής τους με τα αποχωρήματα και τους ιστούς της προνύμφης, συνήθως προκαλείται σήψη των βοτρυών από μύκητες ή άλλους μικροοργανισμούς που εγκαθίστανται στις τραυματισμένες ράγες και στη συνέχεια απλώνονται και σε υγιείς ράγες, ιδιαίτερα όταν ο καιρός είναι υγρός. Ο μύκητας *Botrytis cinerea* είναι συχνό επακόλουθο της προσβολής των βοτρυών από ευδεμίδα, ιδίως το φθινόπωρο. Επιπλέον ράγες προσβεβλημένες από τον μύκητα είναι καταλληλότερες ως τροφή των προνυμφών του εντόμου, συνεπώς και το έντομο ευνοείται από τον μύκητα.

Καταπολέμηση: Γίνεται συνήθως με συνθετικά εντομοκτόνα και λιγότερο με μικροβιακά. Δοκιμάστηκε επίσης και στη χώρα μας η μέθοδος παρεμπόδισης σύζευξης, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Τα μικροβιακά εντομοκτόνα (σκευάσματα του *Bacillus thuringiensis*) είναι εκλεκτικά, δεν βλάπτουν τα ωφέλιμα αρθρόποδα και δεν είναι επικίνδυνα για τον άνθρωπο. Όμως η αποτελεσματικότητά τους κατά των καρποφάγων προνυμφών της ευδεμίδας δεν είναι τόση ώστε να είναι κατάλληλα για επιτραπέζιες ποικιλίες και συνεπώς χρησιμοποιούνται μόνο στις οινοποιήσιμες. Από τα εντομοκτόνα που εμποδίζουν την κανονική ανάπτυξη και εξέλιξη των εντόμων, το fenoxycarb έχει και ωοκτόνο δράση κατά της ευδεμίδας αν εφαρμοστεί λίγο πριν από την ωοτοκία ή ως 2 μέρες μετά την ωοτοκία. Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα είναι αποτελεσματικά εναντίον των ενήλικων εντόμων και νεαρών προνυμφών όπως και τα πυρεθροειδή. Τα τελευταία είναι λιγότερο επικίνδυνα για τον άνθρωπο. Όμως περιορίζουν πολύ τα ωφέλιμα ακαρεοφάγα αρθρόποδα. Από τα καρβαμδικά εντομοκτόνα το fenoxycarb (που έχει ορμονική δράση) και το methomyl έχουν αξιόλογη ωοκτόνο δράση κατά της ευδεμίδας υπό ορισμένες συνθήκες. Από τα χλωριωμένα εντομοκτόνα χρησιμοποιήθηκαν το endosulfan μόνο του ή μαζί με θερινό ορυκτέλαιο. Τέλος, η παρεμπόδιση της σύζευξης με τοποθέτηση ελκυστικής φερομόνης φύλλου έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, με λογικό κόστος, σε διάφορες Ευρωπαϊκές χώρες. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και σε 4 περιοχές της χώρας μας όπου εφαρμόστηκαν οι παγίδες φερομόνης (Τζανακάκης 2003).

Φυλλοξήρα (*Viteus vitifoliae*, Homoptera, Phylloxeridae): Στην Ευρωπαϊκή άμπελο δημιουργείται κατά κανόνα μια μόνο μορφή, η ριζόβια, ενώ η κηκιδόβια εμφανίζεται σπάνια. Το νύγμα της φυλλοξήρας προκαλεί τη δημιουργία φυματίων στα ριζίδια και καρκινωμάτων στις μεγαλύτερες ρίζες. Ακολουθεί σήψη των προσβεβλημένων μερών και βαθμιαία καταστροφή του ριζικού συστήματος του φυτού. Τα συμπτώματα στο υπέργειο μέρος του πρέμνου είναι καθυστερημένη βλάστηση, χλώρωση, ξήρανση φύλλων, πρόωρη φυλλόπτωση και τελικά ξήρανση ολόκληρου του φυτού. (Τζανακάκης, 2003)

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΕΧΘΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΜΠΕΛΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

2.1 Ημερολογιακή ή σχηματική καταπολέμηση

Διενεργούνται συχνοί ψεκασμοί με βάση ορισμένες ημερομηνίες, ή σύμφωνα με τα βλαστικά στάδια των δέντρων, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι εχθρών, συνήθως με φυτοφάρμακα ευρέως φάσματος δράσης. Τα προγράμματα των ψεκασμών αυτών εκπονούνται συνήθως από εταιρίες παραγωγής και διακίνησης γεωργικών φαρμάκων, ή από κεντρικές και τοπικές υπηρεσίες του Υπουργείου Γεωργίας και άλλων υπηρεσιών ή οργανισμών. Η τακτική αυτή είναι η πλέον εύκολη και απλή στην εφαρμογή της και κατά συνέπεια ευρέως διαδεδομένη. Συνήθως διενεργούνται περισσότεροι ψεκασμοί από όσους χρειάζονται, με αποτέλεσμα μεγάλο κόστος φυτοπροστασίας και ιδιαίτερα δυσμενή επίδραση στο περιβάλλον και τους ωφέλιμους οργανισμούς. Η ανάπτυξη από τα έντομα ανθεκτικότητας σε ορισμένα εντομοκτόνα, εξαιτίας της συχνής χρήσης τους, καθιστά τη στρατηγική αυτή συχνά μη αποτελεσματική.

2.2 Διευθυνόμενη ή κατευθυνόμενη καταπολέμηση

Εφαρμόζεται κυρίως με βάση τις οδηγίες που παρέχουν οι Υπηρεσίες Γεωργικών Προειδοποιήσεων και συνίσταται στην έγκαιρη καταπολέμηση ορισμένων εχθρών μόνον όταν αυτοί υπάρχουν στον οπωρώνα και εφόσον εκτιμηθεί ότι υπάρχει πράγματι κίνδυνος από αυτούς για την παραγωγή. Η απόφαση για καταπολέμηση λαμβάνεται ύστερα από παρακολούθηση του πληθυσμού με διάφορους τρόπους και συνεκτιμώντας τα κλιματολογικά και άλλα στοιχεία. Επιδιώκεται η προστασία των ωφέλιμων οργανισμών όπως αρπακτικών εντόμων και ακαρέων καθώς και παρασιτικών εντόμων, που με τη δράση τους περιορίζουν τους πληθυσμούς των εχθρών των φυτών. Κατά την εφαρμογή της στρατηγικής αυτής, χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα με κατά το δυνατόν εκλεκτική δράση, ώστε να έχουν τις ελάχιστες βλαβερές επιδράσεις στους ωφέλιμους οργανισμούς και το περιβάλλον και ταυτόχρονα να αντιμετωπίζουν αποτελεσματικά τους βλαβερούς για τα φυτά οργανισμούς.

2.3 Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση

Για το τι είναι ολοκληρωμένη καταπολέμηση ή αντιμετώπιση (ελληνική απόδοση των αγγλικών όρων integrated pest management ή integrated pest control), μόνο τα τελευταία επτά χρόνια έχουν διατυπωθεί στη διεθνή βιβλιογραφία περισσότεροι από 20 παρεμφερείς ορισμοί. Σύμφωνα με ένα γενικότερα αποδεκτό ορισμό, ολοκληρωμένη καταπολέμηση είναι ένα σύστημα οικολογικά προσανατολισμένης διαχείρισης ή χειρισμού των πληθυσμών των βλαβερών για τα φυτά οργανισμών (εντόμων, ακαρέων, μυκήτων, ιών, ζιζανίων κλπ.) που χρησιμοποιεί όλες τις κατάλληλες τεχνικές και μεθόδους με ένα συνδυασμένο τρόπο, τέτοιο ώστε η πυκνότητα του πληθυσμού τους να συγκρατείται σε επίπεδα κατώτερα από εκείνα που θα μπορούσαν να προκαλέσουν οικονομική ζημιά στην καλλιέργεια. Βασική επιδίωξή της είναι ο περιορισμός της χρήσης φυτοπροστατευτικών ουσιών επικίνδυνων για το περιβάλλον, την οικολογική ισορροπία και τον άνθρωπο και η μεγιστοποίηση της χρήσης εναλλακτικών προς

τη χημική μεθόδων καταπολέμησης (Κατσόγιαννος και Κωβαίος 1996).

Για να εφαρμοστεί στην πράξη η ολοκληρωμένη καταπολέμηση θα πρέπει να πληρούνται ορισμένες προϋποθέσεις, βασικότερες των οποίων είναι:

1) Η γνώση της βιοοικολογίας των κύριων και των δευτερευόντων εχθρών της καλλιέργειας καθώς και των φυσικών τους εχθρών. 2) Η ύπαρξη εναλλακτικών προς τη χημική μεθόδων καταπολέμησης. 3) Η ύπαρξη μεθόδου για την παρακολούθηση της εμφάνισης και της πορείας του πληθυσμού των διάφορων εχθρών της καλλιέργειας και της εξέλιξης των προσβολών από αυτούς, καθώς και της εμφάνισης και πορείας των πληθυσμών των ωφέλιμων εντόμων και άλλων οργανισμών. Οι κυριότερες μέθοδοι ή τρόποι για την παρακολούθηση των πληθυσμών των εντόμων είναι οι τακτικοί οπτικοί έλεγχοι κατά τον χειμώνα και κατά την βλαστική περίοδο, η κατάρριψη εντόμων σε ειδικό υποδοχέα, ο εγκλωβισμός στο ύπαιθρο φυτικών τμημάτων προσβεβλημένων από το έντομο που μας απασχολεί για την παρακολούθηση της εξέλιξης των διάφορων σταδίων του, ο προσδιορισμός της φαινολογίας του εντόμου με βάση ορισμένο άθροισμα θερμοκρασιών (ημεροβαθμών) μετά από συγκεκριμένη ημερομηνία και η χρήση εντομοπαγίδων. 4) Ο καθορισμός "ορίου ανεκτής πυκνότητας πληθυσμού" και αντίστοιχης "πυκνότητας ή ορίου επέμβασης" για κάθε εχθρό. Ως "όριο ανεκτής πυκνότητας" θεωρείται εκείνο το ύψος του πληθυσμού του βλαβερού εντόμου (ή της βλάβης που προκαλεί), το οποίο αν ξεπεραστεί, η αναμενόμενη ζημιά που θα προκληθεί θα είναι οικονομικά σημαντική. Η "πυκνότητα επέμβασης" είναι εκείνη κατά την οποία λαμβάνονται τα μέτρα καταπολέμησης και συνήθως είναι λίγο πιο κάτω από το όριο ανεκτής πυκνότητας,

ώστε να αποφευχθεί σημαντική ζημιά. Για τον καθορισμό των ανωτέρω πυκνοτήτων πληθυσμού, συνεκτιμώνται τόσο οι απαιτήσεις του αγοραστικού κοινού, όσο και άλλοι παράγοντες που μπορεί να επιδρούν στον καθορισμό τους, τοπικά ή και χρονικά. Είναι αυτονόητο ότι η πυκνότητα επέμβασης διαφέρει ανάλογα και με τη μέθοδο καταπολέμησης που θα εφαρμόσουμε. 5) Ο συνδυασμός των διαφόρων επί μέρους στοιχείων και παραγόντων που συμμετέχουν στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση σε ένα οργανωμένο σύστημα που να μπορεί να λειτουργεί στην πράξη. Ειδικότερα, χρειάζεται συνεργασία μεταξύ των επιστημόνων, τεχνικών και παραγωγών που συμμετέχουν.

Η στρατηγική της ολοκληρωμένης καταπολέμησης είναι ένα δυναμικό σύστημα ιδεών, τεχνικών και μεθόδων φυτοπροστασίας, που για να εφαρμοστεί στην πράξη πρέπει να πληρούνται τουλάχιστον οι αναφερθείσες προϋποθέσεις. Μέθοδοι που εφαρμόζονται για την καταπολέμηση των εντόμων στη στρατηγική αυτή είναι:

α. Χημική μέθοδος. Χρησιμοποιεί εκλεκτικά εντομοκτόνα, τέτοια που να μην εξοντώνουν τα ωφέλιμα εντομοφάγα και ακαρεοφάγα αρθρόποδα. Αν δεν υπάρχει εκλεκτικό εντομοκτόνο για την περίπτωση μας και η χημική επέμβαση είναι αναγκαία, θα επιδιώξουμε με τη μικρότερη δυνατή δόση και την κατάλληλη, τοπικά και χρονικά, εφαρμογή ενός μη εκλεκτικού εντομοκτόνου μικρής υπολειμματικής διάρκειας, να έχουμε εκλεκτικό αποτέλεσμα. Ανάμεσα στα εντομοκτόνα που είναι εκλεκτικά ή μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατά τρόπο που να δίνουν αποτέλεσμα εκλεκτικό, είναι τα μικροβιακά, ορισμένα ορμονικής δράσης και ορισμένα κλασσικά μικρής συνήθως διάρκειας υπολειμμάτων, οργανοφωσφορικά ή καρβαμιδικά.

β. Βιολογικές μέθοδοι. Σε αυτές χρησιμοποιούνται φυσικοί εχθροί των βλαβερών αρθροπόδων και άλλων ζωικών οργανισμών και κυρίως εντομοφάγα έντομα και ακάρεα, εντομοπαρασιτικοί νηματώδεις, εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί (βακτήρια, μύκητες) και ιοί. Ορισμένοι κατατάσσουν και τη χρήση μικροβιακών εντομοκτόνων σε αυτές τις μεθόδους. Πρόσφατο παράδειγμα επιτυχούς βιολογικής καταπολέμησης σε δενδρώδεις καλλιέργειες στη χώρα μας είναι η αντιμετώπιση του εριώδη αλευρώδη των εσπεριδοειδών (*Aleurothrixus floccosus*) με την εισαγωγή και εξαπόλυση του παρασίτου *Cales noacki*.

γ. **Βιοτεχνικές μέθοδοι.** Στην κατηγορία αυτή υπάγονται μέθοδοι και τεχνικές που εκμεταλλεύονται ορισμένα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς των εντόμων. Μεταξύ των μεθόδων αυτών συγκαταλέγονται οι εντομοπαγίδες όταν χρησιμοποιούνται για άμεση καταπολέμηση με "μαζική παγίδευση". Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρησιμοποίηση φερομονών φύλου για καταπολέμηση κυρίως με τη μέθοδο "παρεμπόδισης συνάντησης ή σύζευξης των δύο φύλων" (mating disruption). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή εγκαθιστούμε στον οπωρώνα ένα πυκνό δίκτυο εξατμιστήρων ελκυστικής φερομόνης φύλου. Η φερομόνη αυτή που διαχέεται από διάφορα σημεία, προκαλεί σύγχυση και αποπροσανατολισμό στα αρσενικά άτομα του βλαβερού είδους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία συνάντησης και σύζευξης του αρσενικού με το θηλυκό και συνεπώς την εναπόθεση άγονων αυγών. Η μέθοδος αυτή έχει δοκιμαστεί με επιτυχία για την αντιμετώπιση ορισμένων Λεπιδοπτέρων, σοβαρών εχθρών των καρποφόρων δέντρων και της αμπέλου, όπως η καρπόκαψα των μήλων (*Cydia pomonella*), ο βλαστορύκτης της ροδακινιάς (*Grapholitha molesta*) και η ευδεμίδα της αμπέλου, (*Lobesia botrana*).

δ. **Άλλες μέθοδοι.** Υπάρχουν και άλλες μέθοδοι που μπορούν να εφαρμοστούν στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών δενδρωδών καλλιεργειών. Η μέθοδος "εξαπόλυσης στείρων εντόμων" υπάγεται στις γενετικές (κατ' άλλους βιολογικές) μεθόδους και έχει επιτυχία όταν εφαρμόζεται σε πολύ μεγάλες ή απομονωμένες περιοχές. Εφαρμόστηκε με επιτυχία (μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους) για την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*) στο Ισραήλ, το Μεξικό και αλλού. Χρήση ανθεκτικών ποικιλιών φυτών καθώς και γενετικά επιλεγμένων φυλών ωφέλιμων οργανισμών (ανθεκτικών στα παρασιτοκτόνα) μπορεί να υπαχθεί επίσης στις γενετικές ή και ακαλλιεργητικές μεθόδους και μέτρα. Χρήση γενετικά μεταλλαγμένων εντόμων ή φυτών, με τη βοήθεια της γενετικής μηχανικής, μπορεί να υπαχθεί στις βιοτεχνολογικές μεθόδους καταπολέμησης. Η χρήση μεταλλαγμένων εντόμων ή φυτών, εκτός από δυσκολίες τεχνικής φύσεως, αντιμετωπίζει και θέμα κοινωνικής αποδοχής. Στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση χρησιμοποιούνται, όπου ενδείκνυται, μηχανικά, καλλιεργητικά και άλλα μέτρα. Η αποτελεσματικότητα των μεθόδων και μέτρων καταπολέμησης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων είναι η γνώση της ταυτότητας των βλαβερών εντόμων, ο βαθμός βλαβερότητάς τους, η γνώση του τρόπου ζωής, ανάπτυξης και συμπεριφοράς τους στο δέντρο που μας ενδιαφέρει, αλλά και σε τυχόν άλλα γειτονικά φυτά-ξενιστές, οι διακυμάνσεις του πληθυσμού τους, η πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ορισμένα εντομοκτόνα, η καταλληλότητα και ορθή εφαρμογή των μέτρων καταπολέμησης, η ανάγκη ταυτόχρονης καταπολέμησης ακάρεων, μυκήτων, βακτηρίων ή άλλων φυτοπαθογόνων οργανισμών. (Τζανακάκης, 2003)

3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

3.1 Γενικά

Η παραγωγή φυτικών προϊόντων κατέχει πολύ σημαντική θέση στην Κοινότητα. Η απόδοση της παραγωγής αυτής επηρεάζεται από επιβλαβείς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των ζιζανίων. Για να προστατευθούν τα φυτά από τους κινδύνους αυτούς και να εμποδιστεί η μείωση της απόδοσής τους χρησιμοποιούνται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

Φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι οι δραστικές ουσίες και τα σκευάσματα τα οποία περιέχουν μία ή περισσότερες δραστικές ουσίες, προσφέρονται με τη μορφή με την οποία παραδίδονται στον χρήστη και προορίζονται:

α) να προστατεύουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδους επιβλαβείς οργανισμούς ή να προλαμβάνουν τη δράση τους,

β) να επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών, εκτός αν πρόκειται για θρεπτικές ουσίες (π.χ. ρυθμιστές αύξησης),

γ) να διατηρούν τα φυτικά προϊόντα, εκτός αν πρόκειται για ουσίες ή προϊόντα που υπόκεινται σε ειδικές διατάξεις του Συμβουλίου ή της Επιτροπής σχετικά με τα συντηρητικά, δ) να καταστρέφουν τα ανεπιθύμητα φυτά, ή

ε) να καταστρέφουν μέρη των φυτών, να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίζουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξη των φυτών.

Η χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων πέρα από την ευνοϊκή επίδραση στη φυτική παραγωγή έχει και άλλες επιπτώσεις. Συνεπάγεται κίνδυνος για τον άνθρωπο, τα ζώα και το περιβάλλον, ιδίως όταν τα φυτοπροστατευτικά αυτά προϊόντα διατίθενται στην αγορά χωρίς να έχουν εξετασθεί και εγκριθεί επίσημα και όταν χρησιμοποιούνται με εσφαλμένο τρόπο.

Λόγω των κινδύνων αυτών στα περισσότερα κράτη μέλη υπάρχουν κανόνες που διέπουν την έγκριση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Οι κανόνες όμως αυτοί παρουσιάζουν διαφορές ανάμεσα στα κράτη μέλη με αποτέλεσμα να αποτελούν εμπόδιο στο εμπόριο όχι μόνο των φυτοπροστατευτικών προϊόντων αλλά και των φυτικών προϊόντων, θίγοντας έτσι άμεσα τη λειτουργία της εσωτερικής αγοράς. Σκόπιμη είναι λοιπόν η κατάργηση των εμποδίων αυτών με την προσέγγιση των διατάξεων που ισχύουν στα κράτη μέλη, ώστε να υπάρξουν ενιαίοι κανόνες στα κράτη μέλη σχετικά με" τους όρους και τις διαδικασίες έγκρισης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Το θέμα των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα τρόφιμα είναι πολύπλοκο και αποτελεί αντικείμενο ειδικών μελετών στις ανεπτυγμένες χώρες.

Υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι μία ή περισσότερες ουσίες παρούσες εντός ή επί των φυτών ή των προϊόντων φυτικής προέλευσης, των βρωσίμων προϊόντων ζωικής προέλευσης ή αλλού στο περιβάλλον, προερχόμενες από τη χρήση φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα περιλαμβάνονται και οι μεταβολίτες τους, δηλαδή τα προϊόντα που προέρχονται από την αποικοδόμησή τους.

Στις ανεπτυγμένες χώρες, μετά από μελέτη των τοξικολογικών, βιολογικών και άλλων ιδιοτήτων κάθε ουσίας που προτείνεται ως φυτοπροστατευτικό προϊόν, οι επιστήμονες προβαίνουν σε ρυθμίσεις για την προστασία του καταναλωτή. Οι ρυθμίσεις αυτές καθορίζονται

με τη διαδικασία έγκρισης ή επανέγκρισης κάθε ουσίας. Γίνεται ανάλυση των ωφελειών που προκύπτουν από την υπό έγκριση ουσία, αλλά και των δυσμενών επιπτώσεων λόγω της χρήσης της (risk- benefit analysis) και ζυγίζονται τα οφέλη και οι ζημιές ώστε να αποφασισθεί ή όχι η έγκρισή τους (Απλαδά, 1999)

3.2 Τοξικότητα

Είναι το σύνολο των μη επιθυμητών, δυσμενών επιδράσεων, των γεωργικών φαρμάκων στους διαφόρους οργανισμούς (ζωικούς και φυτικούς) που είναι εκτός του στόχου εφαρμογής των γεωργικών φαρμάκων. Ειδικότερα η τοξικότητα ή οι δυσμενείς επιδράσεις στα καλλιεργούμενα φυτά χαρακτηρίζονται σαν φυτοτοξικότητα και για τον λόγο αυτό ο όρος τοξικότητα συνήθως αναφέρεται για τις δυσμενείς επιδράσεις στους ζωικούς οργανισμούς συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου.

Η τοξικότητα διακρίνεται σε: 1. **Οξεία τοξικότητα** που οι δυσμενείς επιδράσεις εμφανίζονται αμέσως, σε λίγες ώρες ή ημέρες μετά την λήψη μιας δόσεως γεωργικού φάρμακου και 2. **Χρόνια τοξικότητα** που οι δυσμενείς επιδράσεις εμφανίζονται μετά από πολλές ημέρες ή έτη μετά την επανειλημμένη λήψη μικρών δόσεων ενός γεωργικού φαρμάκου. Στη χρόνια τοξικότητα περιλαμβάνονται: καρκινογένεση, μεταλλαξογένεση, νευροτοξικότητα, ήπατονεφροτοξικότητα κ.λπ. (Παπαδοπούλου, 1991)

3.3 Αποδεκτή ημερήσια λήψη για τον άνθρωπο (ADI)

Για τον καθορισμό του MRL ενός φαρμάκου σε κάποιο γεωργικό προϊόν λαμβάνεται υπόψη η τιμή της Αποδεκτής Ημερήσιας Λήψης για τον άνθρωπο (Acceptable Daily Intake for Man, ADI), το βάρος του ανθρώπου και το ποσοστό συμμετοχής του προϊόντος στην καθημερινή διαίτα ενός λαού, θεωρώντας ότι ο μέσος όρος ισχύει και για κάθε άτομο. Λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό συμμετοχής ενός γεωργικού προϊόντος στη διαίτα δυο λαών, τα MRLs θα έπρεπε να καθοριστούν σε διαφορετικό ύψος αν ο ένας εκ των δυο λαών καταναλώνει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες του συγκεκριμένου γεωργικού προϊόντος και μάλιστα καθόλη τη διάρκεια του έτους. Για να μην δημιουργούνται προβλήματα στο εμπόριο, διεθνείς οργανισμοί έχουν αναλάβει τον εναρμονισμό των MRLs ώστε να εξυπηρετεί το εμπόριο χωρίς να αποβαίνει εις βάρος του λαού ενός κράτους. Τέλος το άθροισμα των MRLs ενός φαρμάκου στα διάφορα προϊόντα μίας χώρας δεν πρέπει να υπερβαίνει την ADI.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση λαμβάνονται υπόψη καταρχήν οι τιμές ADI που καθορίστηκαν από τη Μικτή Ομάδα Εμπειρογνομώνων των FAO/WHO (JMPR).

Συμπληρωματικά εξετάζονται οι τιμές ADI που έχουν καθορίσει οι χώρες σε εθνικό επίπεδο.

Σε περίπτωση που το JMPR δεν έχει καθορίσει ADI, είτε γιατί πρόκειται για νέα ουσία που δεν έχει ακόμα περιληφθεί στις υπό μελέτη ενώσεις, είτε γιατί δεν υπάρχουν επαρκή τοξικολογικά στοιχεία, ή ακόμη όταν υπάρχουν διαφωνίες μεταξύ των εκτιμήσεων (όπως για ουσίες που η τοξικολογική εκτίμησή τους έγινε πολλά χρόνια πριν με τις τότε ισχύουσες απαιτήσεις και προδιαγραφές), τότε ζητείται γνωμοδότηση της Επιστημονικής Επιτροπής Φυτοφαρμάκων της ΕΕ.

3.4 Διαδικασία καθορισμού των κοινοτικών MRLs

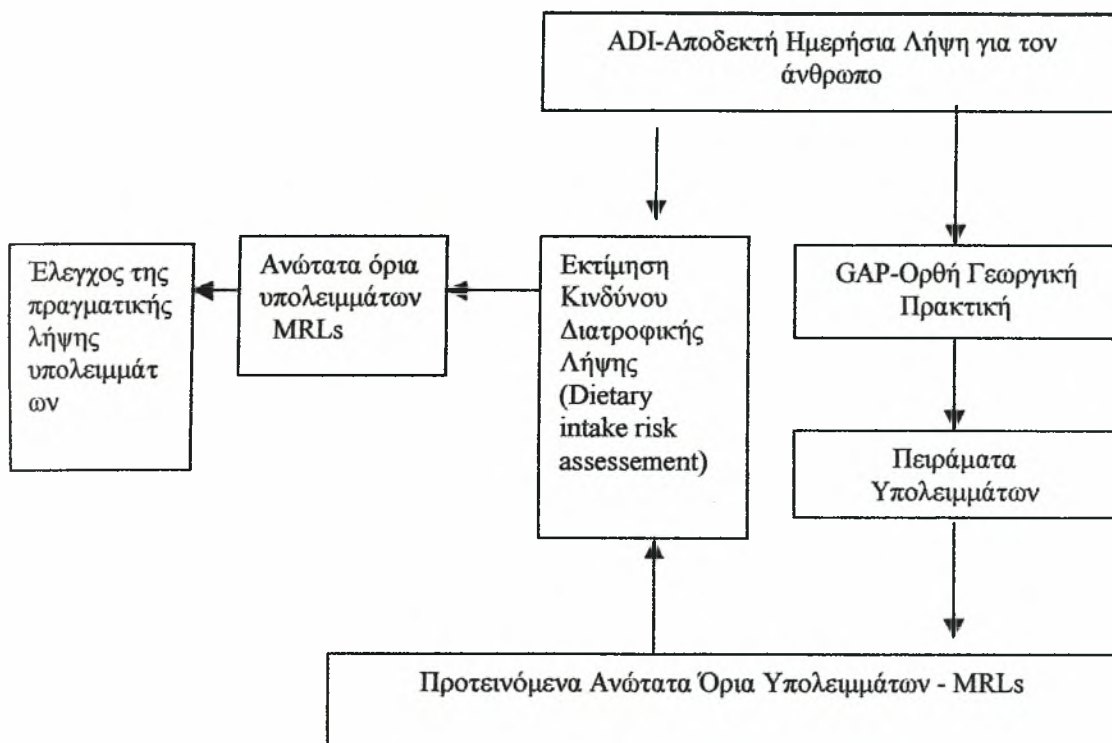
Για να ελέγχεται εάν τα φάρμακα χρησιμοποιούνται στις ενδεικνυόμενες δόσεις ώστε να προστατεύεται η υγεία των καταναλωτών και να διευκολύνεται το διεθνές εμπόριο, καθιερώθηκε ο όρος Μέγιστο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων (Maximum Residue Limit, MRL) που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας ανά kg προϊόντος για κάθε συνδυασμό καλλιέργειας-φυτοφαρμάκου. MRL είναι η μέγιστη ποσότητα του γεωργικού φαρμάκου (μητρικών μορίων ή τοξικών μεταβολιτών) που παραμένει μετά από χρήση σύμφωνα με την Ορθή Αγρονομική Πρακτική (Good Agricultural Practice GAP) δηλαδή χρήση σύμφωνα με τις ενδείξεις της ετικέτας και φυσικά με βάση την έγκριση του σκευάσματος (Λιαπής, 1997).

Τα θεμελιώδη στοιχεία, βάση των οποίων καθορίζονται τα MRLs είναι η Αποδεκτή Ημερήσια Λήψη για τον Άνθρωπο (Acceptable Daily Intake, ADI) και η Ορθή Γεωργική Πρακτική (Good Agricultural Practice, GAP), όπως αυτή καθορίζεται από τον FAO. Δηλαδή η συνιστώμενη από τις αρμόδιες υπηρεσίες ή η εγκεκριμένη χρήση κάθε ουσίας υπό συνθήκες πράξης, σε κάθε στάδιο της παραγωγής, αποθήκευσης, μεταφοράς, διανομής ή επεξεργασίας των τροφίμων των γεωργικών προϊόντων ή των ζωοτροφών. Αυτό γίνεται υπολογίζοντας τις διαφορές μεταξύ ή και εντός των διαφόρων περιοχών, λαμβάνοντας υπόψη τις ελάχιστες ποσότητες που απαιτούνται για την επίτευξη επαρκούς ελέγχου των εχθρών, και τον τρόπο εφαρμογής, που πρέπει να συμβάλλει στο να απομένουν όσο το δυνατόν λιγότερα υπολείμματα της εν λόγω ουσίας και σε επίπεδα που είναι τοξικολογικά αποδεκτά (WHO, 1989).

MRLs για τα εγκεκριμένα για χρήση φυτοπροστατευτικά προϊόντα, σύμφωνα με την κοινοτική διαδικασία καθορίζονται με βάση πειραματικά δεδομένα από εφαρμογή κάθε ουσίας σύμφωνα με την Ορθή Γεωργική Πρακτική.

Για ουσίες που από καιρό έχουν πάψει να χρησιμοποιούνται (π.χ. οργανοχλωριωμένα) καθορίζονται Extraneous Residue Limits (ERLs) βασισμένα κυρίως σε δεδομένα ειδικών ελέγχων στα γεωργικά προϊόντα (monitoring data).

Η όλη διαδικασία καθορισμού των κοινοτικών MRLs δίνεται σχηματικά στο παρακάτω διάγραμμα (ΕΟΚ, 1991).



3.5 Ορθή γεωργική πρακτική (GAP)

Ο ορισμός του FAO για την Γεωργική Πρακτική (GAP, Good Agricultural Practice) που αναφέραμε προηγουμένως, έχει υιοθετηθεί και από την ΕΕ.

Μόνο για καλλιέργειες για τις οποίες υπάρχει εγκεκριμένη χρήση κάποιου φαρμάκου σε μια χώρα, καθορίζονται τιμές MRLs. Διαφορετικά ορίζεται ως MRL το όριο αναλυτικού προσδιορισμού (limit of quantitation) οπότε η τιμή ακολουθείται από αστερίσκο (*). (ΕΟΚ, 1991).

3.6 Πειράματα υπολειμμάτων

Όπου εφαρμόζεται Ορθή Γεωργική Πρακτική, αυτό που χρειάζεται αμέσως μετά, για τον προσδιορισμό των MRLs, είναι να εφαρμοστεί η εν λόγω ουσία στις συγκεκριμένες καλλιέργειες για τις οποίες έχει έγκριση. Αποβλέπεται στο να προσδιοριστούν με τα πειράματα υπολειμμάτων τα υψηλότερα πιθανά υπολείμματα που είναι δυνατόν να προκύψουν από την εγκεκριμένη χρήση κάποιας ουσίας. Κατά την εκτέλεση των πειραμάτων αυτών ακολουθούνται οι δυσμενέστερες συνθήκες χρήσεως της ουσίας (χειρίστη περίπτωση, worst case, least favorable trial conditions, critical GAP) που μπορούν να παρουσιαστούν στην πράξη, δηλαδή πολλαπλές επεμβάσεις, μέγιστη δόση εφαρμογής, μικρό χρονικό μεσοδιάστημα μεταξύ τελευταίας επέμβασης και συγκομιδής (PHI, Pre-Harvest Interval). Οι πολλαπλές όμως επεμβάσεις και η

μέγιστη δόση θα πρέπει να είναι τεκμηριωμένες και να απορρέουν από στοιχεία για το είδος των καταπολεμούμενων εχθρών και ασθενειών και τη βιολογία της καλλιέργειας (ταχύτητα ωρίμανσης των προϊόντων, συγκομιδή σε ένα ή πολλά χέρια κ.λπ.). Βέβαια η ρύθμιση αυτή, που αποσκοπεί στο να αναγνωρισθούν οι ανάγκες φυτοπροστασίας κάθε χώρας και να διευκολυνθούν οι εμπορικές συναλλαγές, δε σημαίνει ότι πρέπει να ενθαρρύνονται αυτές οι ακραίες περιπτώσεις χρήσεως.

Τα υπολείμματα που προσδιορίζονται στα εδάφιμα μέρη της καλλιέργειας, κατά τη δειγματοληψία που θα γίνει στο μικρότερο μεσοδιάστημα μεταξύ τελευταίας επέμβασης και συγκομιδής, στη μέγιστη συνιστώμενη δόση εφαρμογής και με το μεγαλύτερο αριθμό επεμβάσεων προτείνονται σαν **καταρχήν όρια υπολειμμάτων (προτεινόμενα, draft MRLs)**.

Για να είναι αποδεκτά τα Ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων που θεσπίζονται από την κοινότητα πρέπει να την αντιπροσωπεύουν ολόκληρη. Για το λόγο αυτό η Ευρώπη έχει χωριστεί σε 2 ζώνες (Βορράς - Νότος). Απαιτούνται επαρκή πειράματα και από τις 2 ζώνες, εάν κάποιος συνδυασμός φυτοπροστατευτικού προϊόντος - γεωργικού προϊόντος έχει έγκριση και σε Βόρειες και σε Νότιες χώρες.

Τα στοιχεία θα προέρχονται από πειράματα δύο τουλάχιστον ετών ή δύο καλλιεργητικών περιόδων. Σε περιοχές όπου οι άλλες παράμετροι είναι κοινές (π.χ. Βόρεια Ευρώπη) ο αριθμός των πειραμάτων είναι το λιγότερο οκτώ. Για μικρές γεωγραφικές περιοχές της Ευρώπης δίνεται η δυνατότητα να μειωθεί ο αριθμός των πειραματικών θέσεων, αλλά να αυξηθεί ο αριθμός των επαναλήψεων σε κάθε τοποθεσία πειραματισμού. Έτσι αντί για 8 πειράματα σε διαφορετικές περιοχές ορίζονται 6 πειράματα με 2 επαναλήψεις ανά περίπτωση ή 4 πειράματα με 4 επαναλήψεις ανά περίπτωση.

Επειδή η ανομοιογένεια εμφανίζεται κυρίως μεταξύ διαφορετικών πειραματικών θέσεων μάλλον παρά μεταξύ των επαναλήψεων στην ίδια θέση, στις περιπτώσεις μειωμένου αριθμού πειραμάτων τα αποτελέσματα θα πρέπει να δείχνουν ομοιογένεια μεταξύ των διαφόρων περιοχών για να γίνουν αποδεκτά.

3.6.1 Καμπύλες αποικοδόμησης

Όταν αναμένονται υπολείμματα στο συγκομιζόμενο προϊόν, τότε ένα μέρος των πειραμάτων υπολειμμάτων θα πρέπει να περιλαμβάνει τις καμπύλες αποικοδόμησης (degradation curves) των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην σχετική καλλιέργεια. Με αυτές καταδεικνύεται η επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση των υπολειμμάτων. Θα πρέπει να γίνονται τουλάχιστον 5 δειγματοληψίες στο ίδιο πειραματικό τεμάχιο. Από αυτές η πρώτη γίνεται στο χρόνο μηδέν, λίγη ώρα μετά την ημέρα της εφαρμογής, αμέσως μόλις στεγνώσει το ψεκαστικό υγρό, η δε τελευταία δειγματοληψία γίνεται κατά την ημέρα της συγκομιδής.

Σε καλλιέργειες με παρατεταμένη περίοδο συγκομιδής είναι δυνατόν ο σχεδιασμός των πειραμάτων να γίνει με διαφορετικό τρόπο (reverse test series). Δηλαδή, το φυτοπροστατευτικό προϊόν εφαρμόζεται σε γειτονικά πειραματικά τεμάχια και σε ημερομηνίες και διαστήματα που να αντιστοιχούν σε πιθανούς χρόνους εφαρμογής της ουσίας. Στο τέλος τα δείγματα από όλα τα πειραματικά τεμάχια συλλέγονται την ίδια μέρα, που είναι και η ημέρα της συγκομιδής (Lundehn, 1993).

Για την ομοιόμορφη αναφορά των στοιχείων των πειραμάτων υπολειμμάτων προς την ΕΕ, έχει εκπονηθεί ειδικό έντυπο (ΕΟΚ, 1991. Residues data from supervised trials. Document αριθ. 5395/VI/91).

Όπως ορίζεται διεθνώς, για πειράματα που άπτονται θέματα δημόσιας υγείας, όπως τα υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, θα πρέπει να τηρούνται οι αρχές της Ορθής Εργαστηριακής Πρακτικής (Good Laboratory Practice, GLP, applied to field studies), ώστε να είναι υψηλής ποιότητας και αξιόπιστα. Μόνον έτσι θα μας δώσουν αξιόπιστα στοιχεία για καθορισμό MRLs.

Τα πειράματα υπολειμμάτων για την παραγωγή αυτών των στοιχείων διενεργούνται από τις παράγουσες εταιρείες. Στις χώρες που έχουν παράδοση στην έγκριση κυκλοφορίας, όπως η Γερμανία, η κοινοτική διαδικασία είναι επανάληψη σχεδόν της εθνικής τους διαδικασίας. Η ύπαρξη πειραματικών δεδομένων υπολειμμάτων, για προϊόντα στα οποία έχει χορηγηθεί έγκριση κυκλοφορίας, διευκολύνει τον άμεσο καθορισμό κοινοτικού MRL.

Αντίθετα δημιουργείται πρόβλημα για ορισμένες χώρες που παρήγαγαν (και έκαναν εξαγωγή) γεωργικά προϊόντα και δεν είχαν απαιτήσει από τις αιτούσες εταιρείες πειράματα υπολειμμάτων, ούτε οι εθνικοί τους ερευνητικοί φορείς παρήγαγαν τέτοια στοιχεία. Σ' αυτές δόθηκε μια προθεσμία 4 ετών για την παραγωγή απαραίτητων στοιχείων που θα τεκμηρίωνε ένα MRL που να απορρέει από την εγκεκριμένη χρήση. Σε περίπτωση που δεν υπήρχε δυνατότητα παραγωγής τέτοιων στοιχείων, τότε οριζόταν ως MRL το όριο αναλυτικού προσδιορισμού (quantitation limit) που είναι πρακτικά μηδέν. (Απλαδά, 1999)

3.6.2 Προϊόντα ήσσονος σημασίας

Πολλές φορές σε καλλιέργειες ήσσονος σημασίας (minor crops) όπως αρωματικά φυτά και καρυκεύματα γίνεται χρήση ουσιών που δεν έχουν πάρει έγκριση για τις περιπτώσεις αυτές, καθώς η έκταση που καταλαμβάνουν είναι πολύ μικρή και οι δαπάνες που συνεπάγεται ο απαιτούμενος πειραματισμός για τις εταιρείες παραγωγής των υπόψη φυτοπροστατευτικών προϊόντων υπερβαίνουν τα πιθανά έσοδα από την πώληση για χρήση σε μικρές καλλιέργειες. Στις περιπτώσεις αυτές ισχύει ως MRL το όριο αναλυτικού προσδιορισμού (quantitation limit). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση επικρατούσε η σκέψη να αναληφθούν πειράματα υπολειμμάτων για τις καλλιέργειες αυτές από κρατικές υπηρεσίες των χωρών στις οποίες οι καλλιέργειες αυτές έχουν μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον ή από οργανώσεις παραγωγών με ειδικό ενδιαφέρον στις καλλιέργειες αυτές. (Απλαδά, 1999)

3.6.3 Επέκταση των δεδομένων (Extrapolation)

Για να διευκολυνθεί η διαδικασία καθορισμού MRLs, χωρίς αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητά τους, μπορεί να ισχύει σε ορισμένες περιπτώσεις η επέκταση των δεδομένων (extrapolation). Δηλαδή όταν έχουμε στοιχεία από πειραματισμό σε μία κύρια καλλιέργεια, π.χ. πορτοκάλια, αυτά λαμβάνονται σαν βάση για τον καθορισμό MRLs σε άλλα είδη της ίδιας βοτανικής ομάδας, π.χ. λεμόνια, μανταρίνια και άλλα εσπεριδοειδή.

Η τεχνική αυτή ακολουθήθηκε ευρέως από τους FAO/WHO αλλά δέχτηκε οξεία κριτική από οργανώσεις καταναλωτών. Για το λόγο αυτό η ΕΕ ήταν πολύ επιφυλακτική στη χρήση αυτής της επιλογής. Ομάδα εμπειρογνομόνων εκπόνησε σχετική μελέτη και καθόρισε αναλυτικά τις επιτρεπόμενες δυνατότητες επέκτασης. Προϋπόθεση για να εφαρμοστεί η επέκταση (extrapolation) είναι η GAP να είναι ίδια και για τα δύο είδη. (Απλαδά, 1999)

3.6.4 Υπολείμματα σε μεταποιημένα προϊόντα

Υπάρχουν περιπτώσεις, όπου μεγάλος όγκος της παραγόμενης ποσότητας ενός γεωργικού προϊόντος να καταναλίσκεται σε μεταποιημένη μορφή (π.χ. χυμοί φρούτων, κρασί, μαρμελάδες, λάδια κ.λπ.). Στις περιπτώσεις αυτές χρειάζονται επιπλέον μελέτες που αφορούν την τύχη των υπολειμμάτων κατά τις διαδικασίες επεξεργασίας. Οι μελέτες αυτές αποσκοπούν:

1. στο να προσδιορισθεί σε ποιο βαθμό τα υπολείμματα κάποιας ουσίας συμπυκνώνονται ή αραιώνονται στο μεταποιημένο προϊόν,
2. στο να γίνει σαφής η φύση των υπολειμμάτων (ποσοστό συμμετοχής του μητρικού ορίου και ποσοστά τυχόντων προϊόντων μεταβολισμού) στο τελικό υπόλειμμα,
3. στο να καταστεί δυνατή μια πιο ρεαλιστική εκτίμηση διατροφικής λήψης τοξικών,
4. στο να επιτρέψουν μελλοντικά καθορισμό MRLs σε μεταποιημένα προϊόντα.

Ο Codex Alimentarius έχει καθορίσει κάποια όρια για ορισμένα προϊόντα όπως τα βρώσιμα έλαια.

Στις ΗΠΑ ισχύει γενικά το "flow through provision" (το όριο για το νωπό να ισχύει και για το μεταποιημένο προϊόν) εκτός από περιπτώσεις όπου επαρκή πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν συμπύκνωση των υπολειμμάτων, οπότε καθορίζεται διαφορετική (υψηλότερη) τιμή για το μεταποιημένο προϊόν. Πάντως σε γενικές γραμμές τα υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων μειώνονται με τις διαδικασίες μεταποίησης (Elkins, 1989). Εξάιρεση αποτελεί η περίπτωση λιποδιαλυτών φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε προϊόντα που προορίζονται για εξαγωγή βρωσίμων ελαίων (ελιές, καλαμπόκι κ.α.) τα οποία συμπυκνώνονται στο τελικό προϊόν.

Μια περίπτωση ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι η μελέτη παραγωγής κατά τη μεταποίηση μεταβολιτών που είναι πολλές φορές περισσότερο επικίνδυνες από το μητρικό όριο όπως η αιθυλενοθειουρία (ETU), προϊόν θερμικής επεξεργασίας των αιθυλενο-δισ-διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων (Lentza-Rizos, 1990) ή η μη συμμετρική διμεθυλο υδραζίνη (UDMH), προϊόν θερμικής επεξεργασίας του daminozide (Commission of the European Communities, DG VI, 1990).

3.7 Προτεινόμενα ανώτατα όρια υπολειμμάτων (Draft MRLs)

Κάθε χώρα αναλαμβάνει να ενεργήσει ως εισηγητής (rapporteur) για ορισμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Καθήκον του εισηγητή είναι να συλλέξει α) στα στοιχεία της Ορθής Γεωργικής Πρακτικής και β) τα δεδομένα πειραμάτων υπολειμμάτων από κάθε κράτος - μέλος καθώς και από την παρασκευάστρια εταιρεία. Από τον όγκο των υποβαλλομένων πειραματικών δεδομένων επιλέγει εκείνα που αντικατοπτρίζουν την Ορθή Γεωργική Πρακτική και επισημαίνει αυτά που αντιπροσωπεύουν τη χειρίστη περίπτωση που είναι δυνατόν να παρουσιαστεί στην πράξη σε κοινοτικό επίπεδο. Επίσης ο εισηγητής μελετά τις μονογραφίες των JMPR που πραγματεύονται την υπόψη ουσία καθώς και τη διεθνή βιβλιογραφία, επεξεργάζεται αυτά τα στοιχεία και με βάση τις κοινοτικές κατευθυντήριες οδηγίες κάνει προτάσεις σε ειδική ολιγομελή επιτροπή (ad-hoc group) για κοινοτικά MRLs. Έτσι σαν κατ' αρχήν όρια (draft MRLs) προτείνονται οι τιμές που αντιπροσωπεύουν τις δυσμενέστερες περιπτώσεις χρήσης της ουσίας, όπως τις αναφέραμε προηγουμένως (υψηλές δόσεις, ανάγκη για πολλαπλές επεμβάσεις, ανάγκη

για μικρό χρονικό διάστημα τελευταίας επέμβασης-συγκομιδής) και υπό τον όρο βέβαια ότι η τοξικολογική συμπεριφορά της υπόψη μελέτης ουσίας, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται από την τιμή της ADI, δεν προιδεάζει αρνητικά αυτή την προσέγγιση.

3.7.1 Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων

Η στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων είναι απαραίτητη γιατί, όπως είναι φυσικό, τα αποτελέσματα των πειραμάτων υπαίθρου που προέρχονται από διάφορες περιοχές και διάφορες χρονικές περιόδους χαρακτηρίζονται από μεγάλη παραλλακτικότητα. Έχει παρατηρηθεί ότι όταν υπάρχει μεγάλος αριθμός δεδομένων, που επιτρέπει την επισήμανση του βαθμού παραλλακτικότητας, αυτός κυμαίνεται γύρω από το 100% του μέσου όρου, με άλλα λόγια ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση έχουν την ίδια τιμή. Τα στοιχεία από τα πειραματικά δεδομένα υφίστανται επεξεργασία βάσει ειδικών κανόνων. Στην Ε.Ε. χρησιμοποιούνται μέθοδοι που αναπτύχθηκαν από την αρμόδια Γερμανική Υπηρεσία. Σύμφωνα με αυτές τις μεθόδους χρησιμοποιούνται σαν πληθυσμός δεδομένων, πάνω στα οποία εφαρμόζεται η στατιστική ανάλυση, τα αποτελέσματα των πειραμάτων σε δεδομένη καλλιέργεια και για παρόμοιες κλιματικές συνθήκες που διενεργήθηκαν κατά τρόπο που να αντιπροσωπεύουν την εγκεκριμένη γεωργική πρακτική που συνεπάγεται τη μεγαλύτερη επιβάρυνση με υπολείμματα στα παραγόμενα γεωργικά προϊόντα (υψηλότερη δόση εφαρμογής, μεγαλύτερος αριθμός επεμβάσεων, μικρότερος χρόνος αναμονής μεταξύ τελευταίας επέμβασης και συγκομιδής). Πειράματα στα οποία οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων διαφέρουν κατά ποσοστό 25% από τις συνιστώμενες θεωρούνται ότι επίσης αντιπροσωπεύουν τη δυσμενέστερη χρήση (critical GAP) και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Παράγοντες όπως ο τρόπος εφαρμογής (μέχρις απορροής, με νεφελοψεκαστήρα κ.λ.π.) και η μορφή του σκευάσματος (WP, EC κ.λπ.) επί του παρόντος δε διαφοροποιούνται. Όμως κατά τη διαδικασία ελέγχου των ουσιών με το κοινοτικό πρόγραμμα σκευάσματα υπό νέα μορφή, ουσιαστικά διαφορετική από αυτά με τα οποία είχε γίνει ο πειραματισμός, για να εγκριθούν και κατά συνέπεια να καθοριστούν MRLs, θα πρέπει να συνοδεύονται από πειράματα υπολειμμάτων, όπου οι εφαρμογές θα έχουν γίνει με το νέο υπό έγκριση σκεύασμα. Επίσης, θα πρέπει στο μέλλον να εξετάζεται και ο τρόπος εφαρμογής του σκευάσματος, γιατί" σε ειδικές περιπτώσεις υπάρχει μεγάλη διαφορά στην ποσότητα του φαρμάκου που τελικά καταλήγει στους καρπούς λόγω του διαφορετικού τρόπου εφαρμογής (π.χ. διαφορά μεταξύ κατευθυνόμενου ψεκασμού στα σταφύλια και ψεκασμού με νεφελοψεκαστήρες), με αποτέλεσμα να καταλήγουμε σε πολύ διαφορετικά επίπεδα υπολειμμάτων στο ίδιο χρονικό διάστημα από την τελευταία εφαρμογή (Lundehn, 1993).

3.8 Έννοια του ορίου αναλυτικού προσδιορισμού (LOD, Limit of Determination ή όπως έχει επικρατήσει πρόσφατα Limit of Quantitation)

Στην αναλυτική χημεία σαν όριο προσδιορισμού (limit of determination ή limit of quantitation) είναι το όριο πάνω από το οποίο μπορεί να επιτευχθεί ποσοτική μέτρηση με ικανοποιητικό βαθμό αξιοπιστίας. Η American Chemical Society (ACS) συνιστά σαν όριο προσδιορισμού να θεωρείται η μέση τιμή των μετρήσεων που έδωσε ένα «τυφλό» δείγμα

(blank) συν το δεκαπλάσιο της τυπικής απόκλισης των επαναλαμβανόμενων μετρήσεών του. Τυφλό δείγμα θεωρείται εκείνο που είναι γνωστό ότι δεν περιέχει την υπόψη ουσία (μάρτυρας), ή σε περίπτωση αδυναμίας εξεύρεσης τέτοιων δειγμάτων το εκχύλισμα που παραλαμβάνεται εφαρμόζοντας την πλήρη μέθοδο με χρήση όλων των αντιδραστηρίων και όλων των φάσεων ανάλυσης χωρίς όμως πραγματικό δείγμα (reagent blank). Το όριο προσδιορισμού διαφέρει από το όριο ανίχνευσης (limit of detection) κατά το ότι το τελευταίο είναι η ελάχιστη συγκέντρωση που μπορεί να ανιχνευτεί ποιοτικά και που είναι στατιστικά διάφορη από το «τυφλό» δείγμα. Σύμφωνα με την ACS το επιστημονικά ορθό, από αναλυτικής πλευράς, όριο ανίχνευσης ορίζεται σαν τρεις τυπικές αποκλίσεις πολλαπλασιαζόμενες στην τιμή του μέσου όρου των μετρήσεων που έδωσε το τυφλό δείγμα.

Στις καλλιέργειες που υπάρχει έγκριση αλλά δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που να επιτρέπουν τον καθορισμό ορθολογιστικού κοινοτικού ορίου υπολειμμάτων MRL, το όριο μένει κενό (blank, open) και δίνεται προθεσμία 4 ετών για την παραγωγή των στοιχείων. Σε περίπτωση που μετά το τέλος της δοθείσας προθεσμίας τα στοιχεία αυτά δεν έχουν παραχθεί, τότε ορίζεται σαν MRL το όριο αναλυτικού προσδιορισμού. Επίσης η τιμή του ορίου αναλυτικού προσδιορισμού ορίζεται σαν MRL στις περιπτώσεις που με την εγκεκριμένη χρήση δεν υπάρχουν ανιχνεύσιμα υπολείμματα στα εδάδιμα προϊόντα (no residue situation). Επομένως οι πολύ χαμηλές αυτές τιμές δεν υπονοούν πάντα τοξικολογικά προβλήματα, όπως πολύ συχνά εσφαλμένα ερμηνεύεται από ανθρώπους που είναι επιφορτισμένοι με την υλοποίηση του ελέγχου των τροφίμων ή τους καταναλωτές. Μόνο στις περιπτώσεις που η ADI κάποιας ουσίας ή των μεταβολιτών της είναι πολύ χαμηλή, τότε το όριο αναλυτικού προσδιορισμού σαν ανώτατη επιτρεπτή περιεκτικότητα (πρακτικά μηδέν) συνδέεται με την τοξικότητα της ουσίας και αποτελεί έμμεση σύσταση για απαγόρευση της χρήσης της.

3.9 Εκτίμηση των κινδύνων για τους καταναλωτές από τη διατροφική λήψη υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων (dietary intake risk assesement)

Τα MRLs δεν είναι τοξικολογικά όρια (σαν όρια ορίζονται αυτά που καταλείπονται μετά από ορθή εφαρμογή του φαρμάκου για καταπολέμηση κάποιου εχθρού ή ασθένειας). Πρέπει όμως τα MRLs να είναι τοξικολογικά αποδεκτά, δηλαδή πρέπει να διαπιστωθεί, με κατάλληλους υπολογισμούς, ότι τα όρια που έχουν κατ' αρχήν προταθεί, δεν εγκυμονούν κινδύνους για τους καταναλωτές.

Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι από τις διάφορες χώρες, όλες όμως έχουν τον ίδιο βασικό σκοπό. Για ουσίες για τις οποίες η αποδεκτή ημερήσια λήψη για τον άνθρωπο έχει καθοριστεί βάσει δεδομένων χρόνιων επιδράσεων θα πρέπει η υπολογιζόμενη μέση ημερήσια λήψη κάθε τοξικής ουσίας να μην υπερβαίνει την τιμή της ADI. Σ' αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα περισσότερα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Αντίθετα, για ουσίες που η σημαντικότερη τοξικολογική τους ιδιότητα είναι η οξεία τοξικότητα (όπως π. χ. η δέσμευση της χολινεστεράσης) ή τερατογενείας ουσίες, χρησιμοποιείται για την εκτίμηση των κινδύνων για τον καταναλωτή ένα τροποποιημένο σύστημα. (Απλαδά, 1999)

4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

4.1 Πειράματα αγρού

Στις μελέτες υπολειμμάτων, πρωταρχικής σημασίας είναι ο σχεδιασμός του πειράματος προκειμένου να έχουμε δείγματα γεωργικού προϊόντος που περιέχουν υπολείμματα αντιπροσωπευτικά ανάλογα με τη χρήση που έγινε (Lykken, 1963)

Τα πειράματα γίνονται με χρησιμοποίηση εμπορικών σκευασμάτων και όχι εργαστηριακών παρασκευασμάτων επειδή η μορφή του σκευάσματος επηρεάζει την υποβάθμιση.

Η εφαρμογή γίνεται ομοιόμορφα και με τρόπο ανάλογο της γεωργικής πρακτικής. Οι διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν τα υπολείμματα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και απαιτείται ένας αριθμός επαναλήψεων για την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Σε όλες τις μελέτες χρειάζεται μάρτυρας, δηλαδή πειραματικό τεμάχιο στο οποίο δεν γίνεται εφαρμογή.

Στη συνέχεια δίνονται στοιχεία για τη δειγματοληψία, την αποθήκευση, την επιλογή της αναλυτικής μεθόδου και τη διαδικασία της ανάλυσης

4.2 Δειγματοληψία (sampling)

Οι αναλύσεις υπολειμμάτων αποτελούν μια άκρως εξειδικευμένη κατηγορία ελέγχου που παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες. Η τάση να μειώνονται τα MRLs επιβάλλει μια αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων ανάλυσης με συνέπεια την αύξηση και των δυσκολιών και προβλημάτων επιτυχούς προσδιορισμού.

Η δειγματοληψία, ένα σημείο που πρέπει να προσέξουμε ιδιαίτερα στην ανάλυση υπολειμμάτων, προηγείται τόσο χρονικά όσο και ουσιαστικά.

Όσα εργαστήρια και αν ιδρυθούν και όσες χιλιάδες αναλύσεις και αν γίνουν είναι αδύνατο να ελεγχθεί όλη η γεωργική παραγωγή, η τροφή του κάθε καταναλωτή για υπολείμματα. Οι αναλύσεις αυτές είναι δαπανηρότερες σε εξοπλισμό, σε αναλώσιμα και σε ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό. Επομένως η γεωργική παραγωγή ελέγχεται δειγματοληπτικά. Η δειγματοληψία θεωρείται σαν ένα από τα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας και το παλιά γνωστό αξίωμα " μια αλυσίδα είναι τόσο γερή όσο ο ασθενέστερος κρίκος της" επιβεβαιώνει απόλυτα τη βαρύτητα που πρέπει να δοθεί στο στάδιο αυτό. Ποια η αξία βελτίωσης των μεθόδων ανάλυσης και μείωσης του ορίου ευαισθησίας των όταν το σφάλμα της ανάλυσης υπάρχει ήδη μέσα στην αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος.

Ακριβώς, επειδή έχει επισημανθεί η βαρύτητα της δειγματοληψίας, έγινε κατά τα τελευταία χρόνια σοβαρή δουλειά ώστε οι αβεβαιότητες των αποτελεσμάτων να προσδιορίζονται και να μειώνονται. Έγινε χρήση και επεξεργασία στατιστικών υπολογισμών και καθορίστηκαν οδηγίες για την κατά το δυνατόν αντιπροσωπευτικότερη δειγματοληψία. Οι FAO/WHO (Οργανισμός Τροφίμων & Γεωργίας Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας) έχουν εκδώσει δύο κατευθυντήριες οδηγίες για τη δειγματοληψία. Η μία αφορά τις πειραματικές εφαρμογές φυτοπροστατευτικών προϊόντων και τις δειγματοληψίες που γίνονται για να μελετηθεί η συμπεριφορά του

φυτοπροστατευτικού προϊόντος από πλευράς υπολειμμάτων (υποβάθμιση), με βάση την οποία θα καθοριστεί ο χρόνος αναμονής μεταξύ τελευταίας επέμβασης και συγκομιδής. Η δεύτερη αφορά τον συνιστώμενο τρόπο δειγματοληψίας σε φορτία του εμπορίου. Είναι γενικές μέθοδοι για όλα τα γεωργικά προϊόντα φυτικής προέλευσης. Αντίθετα η μέθοδος δειγματοληψίας που προτείνεται από την Ε.Ε. εφαρμόζεται μόνο σε φρούτα και λαχανικά τού εμπορίου.

Οι πληροφορίες τις οποίες θέλουμε να αποκτήσουμε για τα υπολείμματα ενός συνόλου προϊόντων καθορίζουν τη μέθοδο δειγματοληψίας την οποία θα ακολουθήσουμε καθώς και τη μέθοδο ανάλυσης των προϊόντων. Κατά συνέπεια, είναι φανερό ότι η διαδικασία δειγματοληψίας πρέπει να επιλεγεί ανάλογα με τον ιδιαίτερο στόχο της κάθε εξέτασης για την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Ο σκοπός της διαδικασίας δειγματοληψίας είναι η λήψη κατάλληλης ποσότητας γεωργικού προϊόντος για να χρησιμοποιηθεί στην ανάλυση. Τονίζεται ότι τα δείγματα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικά και τυχαία. Αυτό δεν σημαίνει ότι λαμβάνονται 'στην τύχη', αλλά ότι υπάρχει η ίδια πιθανότητα να περιέχεται σε αυτά κάθε μονάδα του όλου πειραματικού τεμαχίου ή φορτίου.

Κανόνες δειγματοληψίας για πειραματικές εφαρμογές φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων

Έχει διαπιστωθεί ότι σπάνια υπάρχει ομοιόμορφη εφαρμογή του γεωργικού φαρμάκου στον αγρό και σε πολλές περιπτώσεις δεδομένα αποθήσεως, μετά από προσεκτική εφαρμογή τους από θέση σε θέση στο ίδιο πειραματικό τεμάχιο, έχουν βρεθεί να διαφέρουν αρκετά. Γενικά η επιλογή των σημείων δειγματοληψίας γίνεται είτε τυχαία ή με μια συγκεκριμένη διάταξη ή επιλεκτικά από προκαθορισμένα σημεία.

Ο μάρτυρας, δηλαδή δείγμα από τεμάχιο όπου δεν έγινε επέμβαση με το γεωργικό φάρμακο, πρέπει: α) να είναι αρκετό σε ποσότητα, β) να παίρνεται κάθε φορά που γίνεται δειγματοληψία, και γ) να μην παίρνεται από τα περιθώρια του πειραματικού τεμαχίου του μάρτυρα για αποφυγή επιμολύνσεων από τα γειτονικά τεμάχια.

Οι γενικοί κανόνες που ισχύουν τόσο για τα κυρίως δείγματα όσο και για το μάρτυρα, είναι:

1. Επιλέγονται απολύτως υγιή φυτά ή μέρη αυτών και κανονικής ανάπτυξης, όπως ακριβώς θα συγκομίζονταν για την κατανάλωση.
2. Δεν απομακρύνονται τα επιφανειακά κατάλοιπα των γεωργικών φαρμάκων (σκούπισμα, πλύσιμο, κ.α.) κατά τη λήψη ή συσκευασία των δειγμάτων.
3. Λαμβάνεται επαρκής ποσότητα για όλες τις πιθανές επαναλήψεις των αναλύσεων στο εργαστήριο.
4. Πρέπει να αποφεύγεται η επιμόλυνση των δειγμάτων κατά τη λήψη και μεταφορά- αποστολή. Για το σκοπό αυτό πρέπει: α) να χρησιμοποιούνται απολύτως καθαρά εργαλεία (μαχαίρια, ψαλίδια) β) να αποφεύγεται η επαφή των δειγμάτων με χέρια ή ρούχα που ήρθαν σε επαφή με γεωργικό φάρμακο (συνιστάται η χρησιμοποίηση γαντιών μιας χρήσης από πολυαιθυλένιο), γ) οι σακούλες των δειγμάτων να είναι από πολυαιθυλένιο και ικανοποιητικής αντοχής, δ) τα δείγματα να μην εκτίθενται σε ακραίες συνθήκες και ε) να μην μεταφέρονται δείγματα μαζί με γεωργικά φάρμακα.

Ειδική προσοχή πρέπει να δίνεται στα δείγματα του μάρτυρα τα οποία λαμβάνονται πριν από τα άλλα δείγματα ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνσή τους από τα εργαλεία ή τα χέρια. Για το μέγεθος των δειγμάτων και τις λεπτομέρειες του τρόπου λήψης αυτών πρέπει να ακολουθούνται οι οδηγίες που εκδίδουν διεθνείς οργανισμοί. Στον πίνακα που ακολουθεί δίνεται η παλαιότερη και η νέα οδηγία των FAO/WHO για το ελάχιστο μέγεθος των δειγμάτων γεωργικών προϊόντων από πειραματικούς αγρούς, για τα σταφύλια και άλλα φρούτα (FAO/WHO, 1986) (Απλαδά, 1999).

Πίνακας Α4: Οδηγίες για το ελάχιστο μέγεθος δείγματος γεωργικών προϊόντων από πειραματικούς αγρούς, για ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων FAO/WHO, 1986

Φρούτα	Παλαιότερη οδηγία	Νέα οδηγία
Σταφύλια	2 kg	12 βότρες ή μέρη από 12 βότρες, από χωριστά πρέμνα, ώστε να δίνουν τελικό βάρος τουλάχιστο 1 kg
Εσπεριδοειδή	5 kg	24 καρποί από διάφορα σημεία του δέντρου, από τουλάχιστο 4 δέντρα. Περισσότεροι καρποί, αν είναι απαραίτητο, ώστε το ελάχιστο βάρος να είναι 2 kg
Μικρά πυρηνόκαρπα (π.χ. κεράσια)	2 kg	1 kg από διάφορα σημεία του δέντρου, από τουλάχιστο 4 δέντρα
Μεγάλα πυρηνόκαρπα (π.χ. βερίκοκα, ροδάκινα)	2 kg	2 kg
Φράουλες	2 kg	1 kg από 12 τουλάχιστο διαφορετικά σημεία

Για την καλύτερη κατανόηση των όρων που χρησιμοποιούνται στη μέτρηση υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων παρουσιάζονται οι παρακάτω όροι:

- **Φορτίο.** Είναι μια αναγνωρίσιμη ποσότητα αγαθών που παραδίδεται μια συγκεκριμένη στιγμή, και η οποία έχει κοινές ιδιότητες, ομοιόμορφα χαρακτηριστικά, όπως κοινή προέλευση, ίδια ποικιλία, ίδιο αποστολέα, κοινό τύπο τυποποίησης και όμοιο τρόπο μαρκαρίσματος. Πολλά φορτία μαζί μπορούν να δημιουργήσουν μία αποστολή φορτίων.

- **Στοιχειώδες δείγμα.** Είναι μία ποσότητα προϊόντος που λαμβάνεται από ένα σημείο του φορτίου.
- **Τελικό δείγμα.** Πρόκειται για το ολικό δείγμα (αν είναι μικρό) ή αντιπροσωπευτικό μέρος του ολικού δείγματος το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο υπολειμμάτων.
- **Εργαστηριακό δείγμα.** Δείγμα το οποίο πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στο εργαστήριο για εργαστηριακή ανάλυση. Το τελικό δείγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ολόκληρο στο εργαστήριο ή να υποδιαιρεθεί σε αντιπροσωπευτικές ποσότητες (εργαστηριακό δείγμα). Αυτό θα ομογενοποιηθεί και θα ληφθούν τα αναλυτικά δείγματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπως π.χ. στην ανάλυση των διθειοκαρβαμιδικών, δεν ομογενοποιείται, αλλά λαμβάνεται από τα αναλυτικά δείγματα μετά από έναν απλό τεμαχισμό.
- **Τυχαία δειγματοληψία.** Μια δειγματοληψία θεωρείται τυχαία όταν κάθε μονάδα του προϊόντος ενός φορτίου έχει την ίδια πιθανότητα να επιλεγεί.
- **ομοιογένεια προϊόντος.** Εάν οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, των τμημάτων στα οποία ένα φορτίο μπορεί να διαιρεθεί, δε διαφέρουν σημαντικά

μεταξύ τους, τότε λέμε ότι το φορτίο μας είναι ομοιογενές. Στα ομοιογενή φορτία κάθε μικρή ξεχωριστή ποσότητα είναι αντιπροσωπευτική του συνόλου.

4.3 Αποθήκευση

Αντιπροσωπευτικό μέρος των δειγμάτων μόλις φτάσουν στο εργαστήριο, ομογενοποιούνται και ένα μέρος τους μεταφέρεται σε ειδικά σακουλάκια (αναλυτικό δείγμα), τα οποία αποθηκεύονται σε καταψύκτες (σε θερμοκρασία -20°C). Στην αποθήκευση η αποικοδόμηση των φυτοπροστατευτικών πραγματοποιείται με εξαιρετικά χαμηλή ταχύτητα. Πρέπει να επισημανθεί ότι τα δείγματα πρέπει να αναλύονται το ταχύτερο δυνατό μετά τη συλλογή τους ώστε να αποφευχθούν φυσικές και χημικές μεταβολές.

4.4 Επιλογή αναλυτικής μεθόδου

Για την επιλογή μιας μεθόδου ανάλυσης λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα:

- Η διεθνής βιβλιογραφία, δηλαδή αναζητούνται οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί στο συγκεκριμένο- αντικείμενο.
- Η τυχόν εφαρμογή της μεθόδου από πολλά συγχρόνως συνεργαζόμενα εργαστήρια (collaborative study).
- Η ικανότητα της μεθόδου για ταυτόχρονο προσδιορισμό περισσότερων από ένα γεωργικών φαρμάκων. Τέτοιες μέθοδοι ονομάζονται πολυδύναμες ή πολυυπολειμματικές.
- Η ικανότητα προσαρμογής της μεθόδου σε ένα μέσο εργαστήριο υπολειμμάτων εφοδιασμένο με τα βασικά αναλυτικά όργανα για τις αναλύσεις υπολειμμάτων.
- Η ικανότητα της μεθόδου για προσδιορισμό ουσιών σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο (MRL).
- Ο σκοπός της ανάλυσης, αν δηλαδή η ανάλυση γίνεται για έρευνα, έλεγχο, επιβολή κυρώσεων κ.λ.π. (Μηλιάδης, 1985).

4.5 Αναλύσεις υπολειμμάτων

Οι μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων εντομοκτόνου διακρίνονται σε πολυδύναμες (multi-residue methods) και εξειδικευμένες (specific methods). Πολυδύναμες ή πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι είναι αυτές που επιτρέπουν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών εντομοκτόνων (μέχρι και 200 μορίων). Εξειδικευμένες ή μονο-υπολειμματικές μέθοδοι είναι αυτές με τις οποίες προσδιορίζεται ένα μόνο εντομοκτόνο ή και ορισμένες μόνο συγγενείς ουσίες.

Οι πολυδύναμες αναπτύχθηκαν για να διευκολύνουν το συνεχή έλεγχο των γεωργικών προϊόντων και μ' αυτές προσδιορίζονται κυρίως εντομοκτόνα της ίδιας οικογένειας. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για προκαταρκτικό έλεγχο (screening) των γεωργικών προϊόντων. Όμως μόνες τους οι πολυδύναμες μέθοδοι δεν αρκούν για την επισημάνση και τον προσδιορισμό του συνολικού ρυπαντικού φορτίου ενός δείγματος.

Για τις ουσίες που δεν είναι δυνατό να προσδιοριστούν με κάποια πολυδύναμη μέθοδο

απαιτείται η χρήση εξειδικευμένων μεθόδων που είναι τόσες όσες και τα φάρμακα που προσδιορίζουν (Λέντζα-Ρίζου, 1999.)

Τα επίπεδα των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων είναι συνήθως της τάξης των 0,01-10mg/kg ή ppb (μέρη ανά δισεκατομμύριο). Η ανάλυση υπολειμμάτων είναι δηλαδή ιχνοανάλυση αφού προσδιορίζονται σε κάθε γραμμάριο του δείγματος ένα έως χίλια νανογραμμάρια της ουσίας.

Χρήσιμο είναι να παρατηρηθεί ότι οι δυνατότητες του εργαστηρίου αναλύσεων υπολειμμάτων είναι περιορισμένες. Για παράδειγμα είναι αδύνατον να γνωματεύσει την πλήρη απουσία γεωργικών φαρμάκων σε κάποιο φυτικό δείγμα. Αυτό γιατί υπάρχουν περίπου 500 δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα σε διάφορες μορφές σκευασμάτων. Θα πρέπει λοιπόν να υπάρχει υπόνοια για συγκεκριμένα γεωργικά φάρμακα που πιθανόν χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο προϊόν, προκειμένου να προσανατολιστεί η ανάλυση του εργαστηρίου προς αυτά τα φάρμακα. (Λέντζα-Ρίζου, 1997.)

Η Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων ορίζει ανεκτά υπολείμματα ορισμένων εντομοκτόνων στα κυριότερα γεωργικά προϊόντα και απαιτεί από τα κράτη μέλη της Ε.Ε. να ακολουθούν καθορισμένες διαδικασίες ελέγχου. Επίσης, υπό τους διεθνείς οργανισμούς FAO και WHO λειτουργεί η Codex Committee on Pesticide Residues, που προσπαθεί να εναρμονίσει τα μέγιστα ανεκτά υπολείμματα στις χώρες - μέλη τους. Τέλος η τάση που επικρατεί σήμερα από τους διεθνείς οργανισμούς FAO και WHO, όσον αφορά τη διευκόλυνση του διεθνούς εμπορίου και την προστασία των καταναλωτών, είναι να γίνουν αποδεκτές μέθοδοι ελεγμένες από μελέτες συνεργαζόμενων εργαστηρίων από όσο το δυνατόν περισσότερο κράτη.

Η προσέγγιση μια αναλυτικής μεθόδου από ένα εργαστήριο υπολειμμάτων καθορίζεται από τους εξής παράγοντες:

- ▶ Εξειδίκευση (specificity), δηλαδή ο αριθμός των ουσιών που μπορούν να ανιχνευθούν με την ίδια μέθοδο.
- ▶ Εκλεκτικότητα (selectivity), που αναφέρεται στην ανίχνευση κατά προτίμηση μιας ή περισσοτέρων ουσιών.
- ▶ Ευαισθησία (sensitivity), που αναφέρεται στη μικρότερη ποσότητα μιας ουσίας που μπορεί να ανιχνευθεί.
- ▶ Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, IO), που είναι η μικρότερη ποσότητα της ουσίας που αξιόπιστα ανιχνεύεται ποιοτικά με τη μέθοδο.
- ▶ Όριο αναλυτικού προσδιορισμού (Limit of Determination /Quantitation, LOD, LOC), που είναι η ελάχιστη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με ικανοποιητικό βαθμό αξιοπιστίας.
- ▶ Επαναληψιμότητα (repeatability) της μεθόδου, δηλαδή η δυνατότητα να επιτυγχάνονται επαναλήψιμα αποτελέσματα από τον ίδιο αναλυτή κάτω από τις ίδιες συνθήκες (ίδια όργανα, αντιδραστήρια, κ.λ.π.). Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας πρέπει να γίνουν τουλάχιστον πέντε ίδιες αναλύσεις. Η επαναληψιμότητα εκτιμάται με την % σχετική τυπική απόκλιση (αποδεκτές τιμές μέχρι 25%) (Λέντζα-Ρίζου, 1999.)
- ▶ Απόδοση της μεθόδου, δηλαδή η ανάκτηση ή επανάκτηση (recovery) επί τοις εκατό για τη δραστική ουσία. Η απόδοση ελέγχεται με ανάλυση φυσικών δειγμάτων, στα οποία γίνεται τεχνητή προσθήκη φυτοφαρμάκου σε διάφορες συγκεντρώσεις που είναι κοντά στο ανώτατο ανεκτό όριο. Τα δείγματα αυτά ονομάζονται φορτισμένα δείγματα (fortified samples ή spiked samples). Τα δείγματα αναλύονται με την υπό δοκιμή μέθοδο και γίνεται ο ποσοτικός προσδιορισμός των υπολειμμάτων που ανιχνεύθηκαν. Η προσδιορισθείσα ποσότητα συγκρίνεται με εκείνη που είχε προστεθεί και εκφράζεται η ανάκτηση από το λόγο αυτό. Ποσοστό επανάκτησης 100% είναι η ιδανική περίπτωση, το οποίο όμως δεν είναι πάντα δυνατό. Για να

είναι αποδεκτή η μέθοδος, η απόδοση πρέπει να κυμαίνεται από 70-110%, με μέσο όρο μεγαλύτερο από 80% (FAO/WHO, 1994).

Οι μέθοδοι επιτρέπουν την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό υπολειμμάτων που υπάρχουν στο δείγμα πάνω από κάποια συγκέντρωση. Εάν ο αναλυτής δεν έχει από το όργανο απόκριση για κάποιο φυτοφάρμακο σε κάποιο δείγμα, αυτό δεν σημαίνει ότι το δείγμα δεν περιέχει καθόλου το εν λόγω φυτοφάρμακο αλλά ότι το φυτοφάρμακο ίσως βρίσκεται σε τέτοια συγκέντρωση που δεν μπορεί να ανιχνευθεί. Επομένως δεν χρησιμοποιούμε ποτέ τον όρο "μηδέν υπολείμματα", αλλά τον όρο "μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα".

4.6 Εκτέλεση της μεθόδου ανάλυσης

Από τη στιγμή που φθάνει το δείγμα στο εργαστήριο και μέχρι τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων, ακολουθείται μια διαδικασία που περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος,
2. Εκχύλιση,
3. Καθαρισμός,
4. Συμπύκνωση και
5. Προσδιορισμός.

4.6.1. Προετοιμασία Αναλυτικών Δειγμάτων

Αναλυτικό δείγμα (analytical sample) ονομάζεται το μέρος του εργαστηριακού δείγματος το οποίο αναλύεται. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν θεωρούνται αντιπροσωπευτικά του όλου δείγματος. Ο σκοπός της προετοιμασίας του αναλυτικού δείγματος είναι η λήψη μιας αντιπροσωπευτικής μερίδας του εργαστηριακού δείγματος ή ένα συγκεκριμένο μέρος αυτού ανάλογα με τον σκοπό της ανάλυσης.

Τα στάδια για την προετοιμασία του εργαστηριακού δείγματος είναι η επιλογή των κατάλληλων τεμαχίων του δείγματος, η άλεση και η ομογενοποίηση της συνολικής ποσότητας των επιλεγμένων τεμαχίων, έτσι ώστε να προκύψει ομοιογενές υλικό. Από αυτό παίρνεται κατάλληλη ποσότητα για την ανάλυση, αφού ζυγιστεί, που ονομάζεται αναλυτικό δείγμα.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η κατανομή των υπολειμμάτων μέσα ή πάνω στα φυτά δεν είναι όμοια. Η κατανομή τους εξαρτάται κυρίως από τη φύση του φυτικού υλικού, τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των ουσιών- υπολειμμάτων και τον τρόπο εφαρμογής. Οι ουσίες που δρουν δια επαφής παραμένουν στην επιφάνεια, διεισδύοντας μόνο ελάχιστα στα κηρώδη στρώματα. Οι διασυστηματικές κυκλοφορούν μέσα στο φυτό. Τα υπολείμματα υδρόφιλων μορίων βρίσκονται συγκεντρωμένα στο υδατώδες μέρος του προϊόντος, ενώ αυτά των λιπόφιλων στο ελαιώδες ή κηρώδες μέρος αυτού.

Μια άλλη πηγή ανομοιογένειας αποτελεί το μέσο εφαρμογής. Σκευάσματα που ψεκάζονται με ψεκάστικά μεγάλου όγκου συχνά συγκεντρώνονται στο κατώτερο άκρο των φρούτων, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα αναλύσεων που έγιναν σε δείγματα αχλαδιών με διθειοκαρβαμιδικά (FAO/WHO, 1980). Η ανομοιογενής κατανομή των υπολειμμάτων εσωτερικά και η ανομοιόμορφη (επιφανειακή) εναπόθεσή τους πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν στην προετοιμασία των αναλυτικών δειγμάτων.

Είναι πολύ σημαντικό να ακολουθούνται πάντα οι ίδιες διαδικασίες για να εξασφαλιστούν

συγκρίσιμα και επαναλήψιμα αποτελέσματα. Έτσι πρέπει να εφαρμόζεται στην προετοιμασία του αναλυτικού δείγματος σε επιβλεπόμενα πειράματα για τον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων (MRLS) η ίδια μέθοδος που εφαρμόζεται και σε κανονικούς ελέγχους της αγοράς.

Αφού διαχωριστεί το τμήμα του προϊόντος που θα αναλυθεί πρέπει να ομογενοποιηθεί. Όταν πρόκειται για φρούτα αυτή μπορεί να γίνει είτε με τη χρήση κοινών blenders οικιακής χρήσης είτε με ειδικούς εργαστηριακούς ομογενοποιητές.

Όταν τα τεμάχια είναι πολύ μεγάλα, τότε για να γίνει η ομοιογενοποίησή τους προηγείται μια χειρωνακτική μείωση του δείγματος. Στην περίπτωση αυτή έχει πολύ μεγάλη σημασία να κοπεί ένα αντιπροσωπευτικό τμήμα του καρπού.

Στις παλαιότερες μεθόδους το αναλυτικό δείγμα ήταν της τάξης των 100-250 gr. Σήμερα με την αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων και την τάση για περιορισμό των χρησιμοποιούμενων διαλυτών, το αναλυτικό δείγμα είναι της τάξης των 15-50 gr.

(Λέντζα-Ρίζου , 1999).

4.6.2. Εκχύλιση (extraction)

Η εκχύλιση είναι μια από τις πιο χρήσιμες διαχωριστικές τεχνικές κατά την οποία οι ουσίες που μας ενδιαφέρουν διαχωρίζονται από τους φυτικούς ιστούς με κατάλληλα εκχυλιστικά διαλύματα. Η επιλογή εκχυλιστικών μέσων είναι καθοριστικής σημασίας για την επιτυχία μιας ανάλυσης.

Στις πολυδύναμες μεθόδους οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συνήθως στην ανάλυση υπολειμμάτων για την εκχύλιση διαφόρων ουσιών είναι είτε ο οξικός αιθυλεστέρας (ethyl acetate), είτε το τολουόλιο με την ισοπροπανόλη, είτε σύστημα τριών διαλυτών: ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκός αιθέρας. Πολλές φορές η εκχύλιση από ένα υδατικό διάλυμα υποβοηθείται με την προσθήκη ανόργανων αλάτων (π.χ. άνυδρο θειικό νάτριο), έτσι ώστε να ελαττώνεται η διαλυτότητα των οργανικών ουσιών στην υδατική φάση. Στη περίπτωση που η εκχύλιση γίνεται για την απομάκρυνση προσμίξεων ο διαλύτης πρέπει να διαλύει τις προσμίξεις αλλά όχι την ουσία. Άλλοι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες για εκχύλιση είναι το εξάνιο, το ακετονιτρίλιο, η ακετόνη και η μεθανόλη. Στο στάδιο αυτό ορισμένη ποσότητα του δείγματος αφού ομογενοποιηθεί σε κατάλληλο blender, εκχυλίζεται με κατάλληλο διαλύτη ή μείγμα διαλυτών. Για να πετύχουμε ικανοποιητική εκχύλιση χρησιμοποιούμε αναμίκτη μεγάλων ταχυτήτων (4000-5000 στροφές ανά λεπτό) αποφεύγοντας όμως τη δημιουργία γαλακτωμάτων. Η εκχύλιση γίνεται είτε σε κλειστά δοχεία (τύπου Omni-Mixer), είτε σε ανοιχτά δοχεία (τύπου Ultra-Turrax). Η εκχύλιση μπορεί να γίνει και με συσκευή Soxhlet, που χρησιμοποιείται κυρίως για την εκχύλιση στερεών υποστρωμάτων (π.χ. εκχύλιση δείγματος χόματος για την παραλαβή διαφόρων οργανικών μορίων ή εκχύλιση για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητάς τους σε λίπος ή λάδι πολλών φυτικών υλικών)

Η μέθοδος εκχύλισης είναι πολύ σημαντικό στάδιο και επηρεάζει σημαντικά τα αποτελέσματα των αναλύσεων. Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των φορτισμένων δειγμάτων δίνει πληροφορίες για τις απώλειες της προς προσδιορισμό ουσίας που αναμένονται και για τα δείγματα αγρού. Το ποσοστό της αρχικής ποσότητας της ουσίας που ανιχνεύεται στο φορτισμένο δείγμα αφού αναλυθεί, ονομάζεται ανάκτηση (recovery) και είναι μέτρο της αποτελεσματικότητας όλης της διαδικασίας ανάλυσης και όχι μόνο της εκχύλισης. Ο έλεγχος της εκχύλισης γίνεται με δείγματα που προέρχονται από τον αγρό στον οποίο έγινε εφαρμογή του υπό μελέτη φυτοφαρμάκου τα οποία υποβάλλονται σε εκχύλιση με μια μέθοδο γνωστής

εκχυλιστικής ικανότητας και με την υπό εξέταση μέθοδο (Λέντζα-Ρίζου, 1997).

Όταν αναπτύσσεται μια νέα μέθοδος ή όταν εφαρμόζεται μια ήδη γνωστή για μια διαφορετική ουσία πρέπει να ελεγχεται η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης και να αναφέρεται στην περιγραφή την νέας μεθόδου. Παρ' όλο που αυτό φαίνεται αυτονόητο, στην πράξη, παρατηρείται συχνά το αντίθετο. Λίγες αναφορές υπάρχουν στη βιβλιογραφία για την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ενώ τα στοιχεία δείχνουν ότι καθιερωμένες μέθοδοι εκχύλισεως διαφέρουν στην αποτελεσματικότητα έως και 35% (Visi, 1984).

4.6.3. Καθαρισμός (clean-up)

Ο καθαρισμός στην ανάλυση υπολειμμάτων εκφράζει τις χημικές διεργασίες στις οποίες υποβάλλεται το πρώτο εκχύλισμα, που παραλάβαμε από το προηγούμενο στάδιο, το οποίο περιέχει εκτός από την απειροελάχιστη ποσότητα γεωργικού φαρμάκου και πολλές συνεκχυλιζόμενες ουσίες που πρέπει να απομακρυνθούν. Η συγκέντρωση των συνεκχυλιζόμενων ουσιών είναι 10^5 ή και μεγαλύτερη σε σχέση με αυτήν του γεωργικού φαρμάκου. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι χημικές ενώσεις των εξής κατηγοριών: αμίνες, φαινόλες, οργανικά οξέα, σάκχαρα, φυτικά λίπη και έλαια, χλωροφύλλη κ.α.

Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον σκοπό αυτό εξαρτώνται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του γεωργικού φαρμάκου και των συνεκχυλισμάτων και περιγράφονται παρακάτω:

➤ Στην χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής:

Ο διαχωρισμός βασίζεται στην ικανότητα διάφορων συστατικών, που είναι φορτισμένα, να δεσμεύονται με ηλεκτροστατικούς δεσμούς με φορτισμένες ομάδες της στατικής φάσης

➤ Ο διαχωρισμός με προσρόφηση:

Βασίζεται στην συγκράτηση μιας ουσίας πάνω στην επιφάνεια ενός στερεού με δυνάμεις μοριακής φύσης. Κατά την έκλυση της στατικής φάσης

(μετά την με οποιοδήποτε τρόπο εναπόθεση του δείγματος σ' αυτή) με κατάλληλη κινητή φάση τα συστατικά του μίγματος συγκρατούνται λιγότερο ή περισσότερο ανάλογα με την ισχύ προσρόφησης τους. Έτσι η ταχύτητα μεταφοράς τους δια μέσου της στατικής φάσης είναι διαφορετική (πρώτα κινούνται οι ουσίες με ασθενή συγκράτηση και μετά οι ουσίες με ισχυρότερη συγκράτηση) και επέρχεται ο διαχωρισμός.

➤ Ο διαχωρισμός με κατανομή:

Βασίζεται στη διαφορετική διαλυτότητα μιας ένωσης στις δύο φάσεις (κινητή και στατική) με αποτέλεσμα να κατανέμεται με διαφορετικό τρόπο στις δύο φάσεις και ως εκ τούτου να διαχωρίζεται.

➤ Στη χρωματογραφία μοριακών ηθμών ή χρωματογραφία διαπερατότητας πηκτής:

Ο διαχωρισμός των μακρομορίων γίνεται με βάση το μοριακό τους βάρος, τη μορφή και το μέγεθος αυτών

➤ Χρωματογραφία στήλης:

Στη χρωματογραφία στήλης η στατική φάση βρίσκεται σε μια στήλη από γυαλί, πλαστικό ή μέταλλο στο κάτω μέρος της οποίας υπάρχει μια πορώδης επιφάνεια που επιτρέπει το πέρασμα της κινητής φάσης. Στην υγρή χρωματογραφία στήλης, αφού προετοιμασθεί κατάλληλα η στήλη, τοποθετείται το μίγμα ουσιών στο πάνω μέρος της στήλης και γίνεται η έκλυση ή ανάπτυξη κατά την οποία διαβιβάζεται το διαλυτικό μέσο (υγρά κινητή φάση) διαμέσου της στήλης. Κατά

την έκλυση τα συστατικά του μίγματος διατρέχουν με διαφορετική ταχύτητα τη στήλη, διαχωρίζονται και εξέρχονται χωριστά από τη στήλη, συλλέγονται σε κλάσματα και επακολουθεί ανίχνευση των διάκριτων πλέον συστατικών.

4.6.4. Συμπύκνωση (concentration)

Ως συμπύκνωση ορίζεται η εξάτμιση του διαλύτη ενός διαλύματος οπότε επέρχεται αύξηση της συγκεντρώσεως της διαλυμένης ουσίας. (Μανουσάκη, 1998).

Στο στάδιο αυτό το τελικό διάλυμα συμπυκνώνεται σε μικρούς όγκους (1-5 ml) έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις των γεωργικών φαρμάκων να μεγαλώσουν και ο προσδιορισμός τους να γίνει δυνατός.

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος συμπύκνωσης γίνεται με περιστροφικό εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση (rotary evaporator). Το διάλυμα βρίσκεται μέσα σε σφαιρική φιάλη που βυθίζεται σε υδατόλουτρο ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας (συνήθως κυμαίνεται από 35-50°C). Στις θερμοκρασίες αυτές και υπό ελαττωμένη πίεση αποστάζουν οι περισσότεροι διαλύτες με σημείο ζέσεως μικρότερο των 100°C.

Πιο ήπιος τρόπος συμπύκνωσης θεωρείται αυτός της εξάτμισης με ρεύμα καθαρού αζώτου και πραγματοποιείται όταν ο όγκος του διαλύματος έχει ήδη μειωθεί με περιστροφικό εξατμιστήρα σε 10-15 ml. (Τσιρόπουλος, 1999)

4.6.5. Προσδιορισμός (determination)

Η ουσία στο τελικό συμπύκνωμα προσδιορίζεται ποσοτικά με κάποια από τις παρακάτω μεθόδους: αέριο χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), φασματοφωτομετρία (spectrophotometry), υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) και φασματομετρία μάζας (mass spectrometry). Πολύ πρόσφατα γνωρίζουν ανάπτυξη οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι (ανοσοδοκιμασίες- immunoassays) (Λέντζα-Ρίζου, 1997).

Η αέριος χρωματογραφία είναι μια σημαντική μέθοδος προσδιορισμού υπολειμμάτων. Ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας στη στήλη (χρόνος κατακράτησης- retention time) αποτελεί τη βάση για τον ποιοτικό προσδιορισμό. Το μέγεθος του σήματος που καταγράφεται από κατάλληλα όργανα (ανιχνευτές) στην έξοδο της στήλης υπό μορφή κορυφής χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό. Αυτό που υπολογίζεται είναι το ύψος της κορυφής (peak) ή η επιφάνεια υπό την κορυφή έπειτα από 'ολοκλήρωση'.

Με τη χρήση εξειδικευμένων ανιχνευτών, π.χ. δέσμευσης ηλεκτρονίων (electron capture detector, ECD), θερμονικό ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (NPD) και άλλων, ανιχνεύονται και προσδιορίζονται εκλεκτικά μόνο οι ουσίες που ενδιαφέρουν. Σε περιπτώσεις που η ουσία προς προσδιορισμό δεν ικανοποιεί τις συνθήκες του αεριοχρωματογράφου, όπως συμβαίνει με μη πτητικές ή θερμοευαίσθητες ουσίες, είναι δυνατός ο σχηματισμός παραγώγου της ουσίας που να ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις της τεχνικής της αεριοχρωματογραφίας.

Η αέρια χρωματογραφία προτείνεται για το διαχωρισμό αεριοποιημένων συστατικών ή πτητικών μορίων, τα οποία εισέρχονται με έγχυση στη κορυφή της χρωματογραφικής στήλης (κολώνας). Η συσκευή έγχυσης και η στήλη ευρίσκονται σε θερμαινόμενη ζώνη (έως 300°C). ώστε να επιτυγχάνεται αεριοποίηση των προς ανάλυση ουσιών, οι οποίες κατόπιν παρασύρονται από τη κινητή φάση, η οποία συνήθως είναι ένα αδρανές αέριο και λέγεται φέρον αέριο ή αέριο

μεταφοράς. Η στήλη είναι γεμισμένη με αδρανές πορώδες υλικό, διαποτισμένο με κατάλληλη υγρή, αδρανή, θερμοάντοχη ουσία (συνιστά έτσι την στατική υγρή φάση και έχουμε αέρια χρωματογραφία αερίου υγρού). Ο διαχωρισμός οφείλεται κύρια στην διαφορετική κατανομή των ουσιών ανάμεσα στο υλικό της στατικής φάσης και της κινητής φάσης, αλλά και στη διαφορετική τους προσρόφηση από τη στερεά φάση. Οι ουσίες εξερχόμενες χωριστά από τη στήλη διέρχονται από τον ανιχνευτή, όπου ανιχνεύονται. Στη συνέχεια το σήμα του ανιχνευτή καταγράφεται στον καταγραφέα. Το καταγράφημα που παρέχει την κατανομή των ουσιών κατά την έξοδο τους από τη χρωματογραφική στήλη σε συνάρτηση με τη διανυθείσα απόσταση των ουσιών από το σημείο εκίνησης (σημείο έκχυσης) ονομάζεται χρωματογράφημα.

Βασικοί όροι που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία είναι ο χρόνος ανάσχεσης ή χρόνος κατακράτησης (retention time). Ως χρόνος ανάσχεσης (tR) ορίζεται ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της έκχυσης του δείγματος στη στήλη και της εμφάνισης της ουσίας στον ανιχνευτή.

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.- HPLC:

Το χρωματογραφικό σύστημα της HPLC αποτελείται από τα εξής επιμέρους τμήματα (Παπαδογιάννης, 1992) :

- ⇒ Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών,
- ⇒ Αντλία υψηλής πίεσης, σταθερής ροής (reciprocating pumps),
- ⇒ Σύστημα εισαγωγής δείγματος (injector),
- ⇒ Χρωματογραφική στήλη (σε θάλαμο ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας),
- ⇒ Ανιχνευτή (απορρόφησης UV συνήθως),
- ⇒ Καταγραφέα.

Η στήλη είναι μικρών διαστάσεων, χαλύβδινη γεμισμένη ασφυκτικά από πορώδες υλικό διαποτισμένο με τη υγρή σταθερή φάση, η οποία με αυτό τον τρόπο ακινητοποιείται. Η ροή του διαλυτικού μέσου (κινητής φάσης) δια μέσου της στήλης πετυχαίνεται με τη βοήθεια ισχυρής αντλίας που εξασκεί υψηλή πίεση ώστε να υπερνικήσει την αντίσταση του πορώδους υλικού. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με ταυτόχρονο συνδυασμό χρωματογραφίας κατανομής, εκλεκτικής προσρόφησης και ιοντανταλλαγής. Στην έξοδο τα συστατικά του μίγματος ανιχνεύονται και το σήμα, του ανιχνευτή καταγράφεται στον καταγραφέα. Χρησιμοποιείται κυρίως ο ανιχνευτής απορρόφησης ορατού/υπεριώδους (UV/VIS) σταθερού ή ποικίλου μήκους κύματος (από 200-350 nm). Μειονεκτεί σε σχέση με τους ανιχνευτές της GC κατά το ότι είναι μη εκλεκτικός και όχι αρκετά ευαίσθητος. Μια σύγχρονη μορφή του, ο ανιχνευτής φωτοδιόδων (DAD), είναι περισσότερο εκλεκτικός, μικρής όμως ευαισθησίας. Ο φθορισμετρικός ανιχνευτής (Fluorescence detector) είναι αρκετά ευαίσθητος, μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί μόνο για φθορίζουσες ουσίες. Ορισμένα φυτοφάρμακα έχουν αυτή την ιδιότητα. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ειδικές τεχνικές μετατροπής ορισμένων φυτοφαρμάκων σε φθορίζοντα παράγωγα, τα οποία και προσδιορίζονται φθορισμομετρικά.

Η απόδοση του συστήματος στο διαχωρισμό εξαρτάται από το κατάλληλο συνδυασμό του υλικού της στήλης και του διαλύτη έκλυσης. Το κύριο προσόν της HPLC είναι η λειτουργία της σε χαμηλές θερμοκρασίες. Γι' αυτό χρησιμοποιείται στο διαχωρισμό ευπαθών στις υψηλές θερμοκρασίες της αερίου χρωματογραφίας δειγμάτων, όπως για παράδειγμα βιολογικών μορίων (πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια κα.) καθώς και δειγμάτων, που δεν μπορούν να αεριοποιηθούν. Σήμερα εφαρμόζεται σε ανάλυση δειγμάτων που περιέχουν ορμόνες, φάρμακα, βιταμίνες, εντομοκτόνα, τοξίνες κα. (Τσιρόπουλος, 1999)

4.6.6 Εκτίμηση αποτελεσμάτων

Κάθε στάδιο της αναλυτικής μεθόδου, όπως προαναφέρθηκε, περικλείει σειρά από κίνδυνους για πιθανό σφάλμα. Για τον έλεγχο τέτοιων σφαλμάτων, παράλληλα με την ανάλυση του κυρίως δείγματος αναλύονται και:

- α) τυφλό δείγμα αντιδραστηρίων (reagent blank), που περιέχει μόνο του διαλύτες και τα αντιδραστήρια,
- β) μάρτυρας (control sample), δηλαδή δείγμα χωρίς καθόλου γεωργικό φάρμακο και
- γ) φορτισμένα δείγματα (spiked ή fortified samples), που είναι μάρτυρες με ορισμένη περιεκτικότητα στην ουσία του φαρμάκου που αναλύεται. Για να είναι ικανοποιητική η μέθοδος πρέπει η ανάκτηση να είναι της τάξεως του 70-110% και η επαναληψιμότητα $< 20\%$ σαν σχετική τυπική απόκλιση (relative standard deviation, R.S.D.) (Council Directive 94/43/EC). Επίσης, μια άγνωστη ουσία θα πρέπει να ταυτοποιείται με περισσότερες από μία αναλυτικές μεθόδους.

5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΣΤΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.

Τα υπολείμματα των γεωργικών φαρμάκων (φυτοφαρμάκων, προϊόντων φυτοπροστασίας) στα τρόφιμα αποτελούν βασική παράμετρο της ποιότητας και απασχολούν έντονα τους καταναλωτές και τις εθνικές και διεθνείς αρμόδιες υπηρεσίες. Όπως είναι γνωστό, τα γεωργικά φάρμακα διακρίνονται από οξεία ή και χρόνια τοξικότητα και είναι δυνατόν η λήψη ακόμη και ελαχίστων ποσοτήτων να προκαλέσει προβλήματα στη δημόσια υγεία. Για την προστασία των καταναλωτών και την παράλληλη διασφάλιση των εμπορικών συναλλαγών, οι ανεπτυγμένες χώρες καθώς και οι διεθνείς οργανισμοί FAO/WHO, όπως και η Ευρωπαϊκή Ένωση, έχουν καθορίσει ανώτατες επιτρεπτές περιεκτικότητες (Maximum Residue Limits, MRLS). Τα όρια αυτά στις περισσότερες περιπτώσεις αναφέρονται στα πρωτογενή προϊόντα. Όμως, μεγάλο μέρος των προϊόντων αυτών καταναλίσκονται έπειτα από οικιακή προετοιμασία ή βιομηχανική επεξεργασία. Έχει λοιπόν ενδιαφέρον να διερευνηθεί η τύχη των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων κατά τις διαδικασίες αυτές.

Τα συμπεράσματα των ερευνών για την τύχη των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων κατά τις διαδικασίες μεταποίησης και προετοιμασίας των προϊόντων για κατανάλωση, συγκλίνουν στο ότι αυτή είναι κατ' αρχήν συνάρτηση των ιδιοτήτων κάθε γεωργικού φαρμάκου και ιδιαίτερα της διασυστηματικότητάς του, καθώς και της υδατο- ή λιποδιαλυτότητάς του. Τα υπολείμματα των μη διασυστηματικών συνήθως εντοπίζονται στην εξωτερική επιφάνεια των προϊόντων και απομακρύνονται κατά μεγάλο ποσοστό με το πλύσιμο και την αποφλοιώση φρούτων και λαχανικών. Τα λιποδιαλυτά, κυρίως εντομοκτόνα, έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στα ελαιοκυστίδια, σε φυτικά προϊόντα σχετικά υψηλής λιποπεριεκτικότητας.

Ενώ οι παλαιότερες μελέτες στο θέμα αναφέρονταν κυρίως στα μητρικά μόρια η επιστημονική πρόοδος έδειξε ότι τα μόρια αυτά αποικοδομούνται και με διάφορες χημικές αντιδράσεις παράγονται νέα μόρια, οι μεταβολίτες. Η γνώση της τοξικολογικής συμπεριφοράς των μεταβολιτών είναι απαραίτητο στοιχείο για την αξιολόγηση των υπολειμμάτων στα μεταποιημένα προϊόντα και οι σύγχρονες έρευνες στρέφονται και προς αυτή την κατεύθυνση. Περαιτέρω έρευνες απαιτούνται για να διαλευκανθεί ο μεταβολισμός κάθε φαρμάκου κατά τη θερμική επεξεργασία των φρούτων και λαχανικών που καταναλίσκονται κατά μεγάλο μέρος βρασμένα, καθώς και η τύχη των υπολειμμάτων κατά τις συνηθέστερες διαδικασίες οικιακής ή βιομηχανικής μεταποίησης. Οι έρευνες αυτές θα δώσουν χρησιμότητα στοιχεία που θα επιτρέψουν την εκτίμηση της πραγματικής ημερήσιας ποσότητας υπολειμμάτων που λαμβάνει ο μέσος καταναλωτής με την τροφή του.

5.1 Πλύσιμο

Το πλύσιμο των φρούτων και λαχανικών είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό μέσο για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων των σκευασμάτων που αφήνουν επιφανειακά υπολείμματα, δεν είναι δηλαδή διασυστηματικά. Αντίθετα, οι διασυστηματικές ουσίες απομακρύνονται ελάχιστα έως καθόλου με το πλύσιμο. Ο τρόπος και η διάρκεια του πλυσίματος επίσης το ποσό των υπολειμμάτων που απομακρύνεται. Με το πλύσιμο σπανακιού, κατά τον τρόπο που γίνεται στα εργοστάσια επεξεργασίας του, απομακρύνθηκαν τα υπολείμματα του DDT σε ποσοστά 17% με ελάχιστο πλύσιμο και 48% με μέγιστο πλύσιμο, του ethyl- parathion σε ποσοστά 0% και 9% και του carbaryl σε ποσοστά 66% και 87%, με ελάχιστο και μέγιστο πλύσιμο αντιστοίχως, (

Geisman, 1975). Υπολείμματα του pirimicarb και των δυο κύριων καρβαμιδικών μεταβολιτών του, σε μαρούλι, μειώθηκαν κατά ποσοστό 38-50% με πλύσιμο με κρύο νερό (FAO, 1976). Γενικά από τα υπάρχοντα δεδομένα προκύπτει ότι με το πλύσιμο τα ποσοστά μείωσης των υπολειμμάτων κυμαίνονται από 0% (deltamethrine σε σιτάρι) μέχρι και 96% (malathion σε τομάτες) (FAO, 1985, Λέντζα-Ρίζου, 1997).

5.2 Αποφλοιώση

Πολλά φάρμακα παραμένουν εντοπισμένα στο φλοιό των φρούτων ή των κονδύλων, και των λαχανικών. Ιδιαίτερα στα εσπεριδοειδή τα λιποδιαλυτά φυτοπροστατευτικά προϊόντα έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στα αιθέρια έλαια του φλοιού. Το γεγονός αυτό καθιστά ασφαλέστερο, για τον καταναλωτή, το εδώδιμο μέρος των καρπών. Μπορεί όμως να αποτελέσει πρόβλημα κατά την παραγωγή αιθέριων ελαίων ή κατά την παρασκευή μαρμελάδας εσπεριδοειδών, για την οποία χρησιμοποιείται και κάποιο ποσοστό φλοιού. Τα υπολείμματα του carbosulfan π.χ. συμπυκνώνονται στο αιθέριο έλαιο των πορτοκαλιών και grapefruits, με συντελεστή συμπύκνωσης 7,1 (FAO, 1985). Σε γενικές γραμμές, τα μη διασυστηματικά γεωργικά φάρμακα παραμένουν, κατά μεγάλο μέρος ή και αποκλειστικά, εντοπισμένα στο φλοιό των καρπών ή στα εξωτερικά μέρη των λαχανικών και μπορούν να απομακρυνθούν με αποφλοιώση ή απομάκρυνση των εξωτερικών μερών. Αντίθετα, τα υπολείμματα των διασυστηματικών φυτοφαρμάκων διεισδύουν βαθμιαία στο εσωτερικό του φλοιού και των ιστών τόσο κατά τους ψεκασμούς του υπέργειου μέρους των φυτών, όσο και κατά τις επεμβάσεις στο έδαφος. Τα υπολείμματα των εντομοκτόνων aldrin και dieldrin, στα καρότα, απομακρύνονται κατά ποσοστό 88% με το ξύσιμο των καρότων (Andre, 1970). Αντίθετα, τα υπολείμματα των dimethoate, parathion και diazinon απομακρύνονται μόνο κατά μικρό ποσοστό. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατανομή των υπολειμμάτων στους κονδύλους των γεωμύλων. Οι πατάτες μπορούν να επιβαρυνθούν με υπολείμματα τόσο κατά την παραγωγική διαδικασία, από τις επεμβάσεις που γίνονται στο φύλλωμα ή στο έδαφος, όσο και μετά την συγκομιδή. Μεγάλες ποσότητες γεωμύλων αποθηκεύονται για να διατεθούν όταν οι τιμές θα γίνουν ελκυστικότερες, ή για να υποστούν βιομηχανική επεξεργασία (προτηγανισμένα πατατάκια, chips, στιγμιαίος πουρές κτλ). Οι κόνδυλοι, κατά την αποθήκευση, προστατεύονται από προσβολές εντόμων, μυκήτων και βακτηρίων με φυτοφάρμακα. Τα περισσότερα από αυτά είναι επιφανειακά και απομακρύνονται κατά μεγάλο ποσοστό με την αποφλοιώση. Πείραμα που διενεργήθηκαν με το μυκητοκτόνο thiabendazole, προκειμένου να διερευνηθεί η τύχη των υπολειμμάτων του κατά την αποθήκευση των κονδύλων σε ψυγεία και την προετοιμασία τους για βιομηχανική επεξεργασία, έδειξε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των υπολειμμάτων (93%) παραμένουν στο φλοιό και απομακρύνονται με την αποφλοιώση. Με τη μηχανική, χημική ή θερμική αποφλοιώση απομακρύνεται μεγάλο μέρος των υπολειμμάτων.

5.3 Βρασμός – Ψήσιμο

Η θερμική επεξεργασία των νωπών γεωργικών προϊόντων προκαλεί σημαντική μείωση των υπολειμμάτων πολλών φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα αυτών που υδρολύονται σχετικά εύκολα. Έπειτα από βρασμό επί 15 λεπτά, τα υπολείμματα του methidathion σε μήλα, σπανάκι και τομάτες μειώθηκαν κατά 90% (WHO, 1972). Τα υπολείμματα της ουσίας διβρωμοαιθυλένιο

(EDB), που χρησιμοποιούνταν για απεντόμωση αποθηκευμένων προϊόντων, μειώνονται σημαντικά με το βρασμό. Άβραστο ρύζι που περιείχε 0,1-1,6 mg/kg EDB, μετά τον βρασμό, κατά τον συνήθη τρόπο οικιακού βρασίματος, περιείχε 0,005-0,05 mg/kg (Clover κ.α., 1985). Τα υπολείμματα του fenitrothion στο ρύζι μειώνονται κατά το ήμισυ με το βρασμό. Το βράσιμο λάχανων των Βρυξελλών προκάλεσε απομάκρυνση των υπολειμμάτων του pirimicarb και των μεταβολιτών του κατά ποσοστά περίπου 60% και 52-65%, αντίστοιχα, τα οποία ανιχνεύθηκαν στο νερό του βρασμού (FAO, 1976). Φασολάκια που περιείχαν 2 mg/kg benomyl, περιείχαν λιγότερο από το μισό της αρχικής ποσότητας έπειτα από βρασμό, ενώ το νερό του βρασίματος περιείχε την υπόλοιπη ποσότητα μυκητοκτόνου (FAO, 1983). Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις κατά τις οποίες η θερμική επεξεργασία δεν επιφέρει μείωση των υπολειμμάτων. Η συγκέντρωση cypermethrin σε λάχανο δεν μειώθηκε έπειτα από βρασμό για 15 λεπτά. Η ίδια σταθερότητα διακρίνει και το εντομοκτόνο permethrin (FAO, 1982). Οι Galoux κ.α. (1992) μελέτησαν τα υπολείμματα του εντομοκτόνου-νηματοδοκτόνου aldicarb σε πατάτες έπειτα από βρασμό για 20 min σε νερό καθώς και μετά από ψήσιμο σε φούρνο μικροκυμάτων επί 7 min. Οι κόνδυλοι προέρχονταν από καλλιέργεια που είχε δεχθεί επέμβαση με aldicarb σε διάφορες δόσεις (συνιστώμενη δόση εφαρμογής 3 kg αι/ha). Παρατηρήθηκε μείωση των υπολειμμάτων κατά ποσοστό 30% και στις δύο περιπτώσεις. Πέρα από τη χημική σταθερότητα των μορίων μια άλλη ιδιότητα που επηρεάζει την τύχη των υπολειμμάτων με το βρασμό είναι η υδατοδιαλυτότητά της. Τα υδατοδιαλυτά εντομοκτόνα dimethoate και omethoate (μεταβολίτης του πρώτου) μειώνονται σε ποσοστό 60-100% με το βρασμό σε φασολάκια, λάχανο, κουνουπίδι, πιπεριές και τομάτες(FAO 1985).

Ιδιαίτερα πρέπει να προσεχθούν ορισμένα φυτοφάρμακα που με το βρασμό μετατρέπονται σε ουσίες περισσότερο τοξικές και επικίνδυνες από τα μητρικά μόρια. Οι πιο γνωστές περιπτώσεις αφορούν τα αιθυλενο-διθειοκαρβαμιδικά (EBDCs) (maneb, zineb, mancozeb) και προπυλενο-διθειοκαρβαμιδικά (propineb), ευρέως φάσματος μυκητοκτόνα, καθώς και το ρυθμιστή αυξήσεως daminozide, που χρησιμοποιούνταν σε πολλές Βόρειες χώρες και στις Η.Π.Α. στα μήλα για να προσδώσει έντονο κόκκινο χρωματισμό (Λέντζα-Ρίζου, 1997).

5.4 Κονσερβοποίηση

Η διαδικασία της κονσερβοποίησης συμπεριλαμβάνει και τις προκαταρκτικές διαδικασίες πλυσίματος, ζεματίσματος, ή και αποφλοιώσης, στον ρόλο των οποίων έχουμε ήδη αναφερθεί, και οι οποίες έχουν σαν συνέπεια, στο πλείστο των περιπτώσεων, τη μείωση των υπολειμμάτων. Ιδιαίτερη σημασία έχουν τα υπολείμματα των μυκητοκτόνων που χρησιμοποιούνται προ- ή μετασυλλεκτικά για την αποφυγή των μετασυλλεκτικών σήψεων που αναπτύσσονται στους ψυκτικούς χώρους πριν από τη βιομηχανική επεξεργασία των καρπών.

5.5 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα σταφύλια και στο κρασί

Στην οινοποίηση τα υπολείμματα των φυτοφαρμάκων πρέπει να εξετάζονται: α) για πιθανή αρνητική επίδραση, ορισμένων φυτοφαρμάκων στους ζυμομύκητες, με αποτέλεσμα την αναστολή της οινοποιητικής ζύμωσης. β) για τυχόν επίδραση στα, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού, και γ) στα υπολείμματα στο κρασί που είτε για λόγους

πραγματικών τοξικολογικών κινδύνων για τους καταναλωτές, είτε για εμπορικούς λόγους, δεν είναι αποδεκτά από εισάγουσες χώρες και δημιουργούν σοβαρότατα εμπορικά προβλήματα. Το 1990 σημειώθηκε εμπορικός πόλεμος μεταξύ Η.Π.Α και Γαλλίας με συνέπεια δραστική μείωση των εξαγωγών Γαλλικών κρασιών στις ΗΠΑ. Αφορμή ήταν η ανίχνευση σε ορισμένα κρασιά πολυτελείας υπολειμμάτων του μυκητοκτόνου procyimidone, το οποίο δεν είχε έγκριση στις Η.Π.Α. για τα αμπέλια, και ως εκ τούτου σαν ανώτατη αποδεκτή περιεκτικότητα είχε καθορισθεί το όριο ανίχνευσης (Λέντζα-Ρίζου, 1994).

5.5.1 Επίδραση υπολειμμάτων στην οινοποιητική ζύμωση

Στον παραγωγικό κύκλο του κρασιού δύο ζυμώσεις λαμβάνουν χώρα: Η αλκοολική ζύμωση και η μαλολακτική ζύμωση. Η μαλολακτική ζύμωση γίνεται με την δράση της ζύμης από λακτικά βακτήρια. Η δράση αυτών των μικροοργανισμών μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία υπολειμμάτων φαρμάκων. Τα πρώτα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο του περονόσπορου (folpet και captan) έδειξαν αξιοσημείωτη αντισηπτική δράση στις ζύμες (Cabras 1987). Τα άλλα δύο μυκητοκτόνα captafol και dichlofluanid, που βγήκαν αργότερα στην αγορά, έδειξαν ανάλογη συμπεριφορά. Ανωμαλίες στην ζύμωση παρατηρήθηκαν επίσης και με την παρουσία των thiophanate-methyl και fenarimol (Zironi κ.α, 1991).

Σήμερα καινούργια φάρμακα βγαίνουν στο εμπόριο μόνο αν δε βλάψουν τη ζυμωτική μικροχλωρίδα. Σε μερικές περιπτώσεις όμως η παρουσία φαρμάκων μπορεί να διεγείρει τη ζύμη, ειδικά την *Kloeckera ariculata*, να παράγει περισσότερο αλκοόλ (Cabras κ.α. 1999). Αν τα φυτοφάρμακα μπορούν να επηρεάσουν την δράση των ζυμών, οι ζύμες μπορούν να μειώσουν το υπολειμματικό περιεχόμενο. Οι ζύμες έδειξαν την ικανότητα να υποβαθμίζουν ορισμένα φυτοφάρμακα τα οποία ανήκουν στις πυρεθρίνες (Faticenti κ.α.1983,1984). Ζύμες που παράγουν H₂S και SO₂ μπορούν να υποβαθμίσουν μερικά εντομοκτόνα (chlorpyrifos-methyl, fenitrothion, parathion, quinalthos) τα οποία ανήκουν στις θειοφωσφάτες (Cabras κ.α.1995). Επιπλέον οι ζύμες μπορούν να προσροφήσουν μερικά φάρμακα, με τον τρόπο να συμβάλλουν στη μεταφορά τους από το κρασί στο τέλος της ζύμωσης (Cabras κ.α. 1988, Farris κ.α. 1989).

Η δράση των φαρμάκων στην μαλολακτική ζύμωση έχει μελετηθεί πολύ λιγότερο. Οι Radler και Schoning (1974) βρήκαν ότι το moncozeb και methylmetiram εμπόδισαν την δράση των λακτικών βακτηρίων. Πέρα από αυτή την περίπτωση, κανένα άλλο παλιό ή νεότερο φάρμακο δεν βρέθηκε να ασκεί αρνητική επίδραση στην μαλολακτική ζύμωση. Τα λακτικά βακτήρια δεν υποβαθμίζουν τα κύρια μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνται στην αμπελοκαλλιέργεια.(Cabras and Angioni 2000)

5.5.2 Υπολείματα μερικών κοινών φυτοφαρμάκων κατά τη διάρκεια της οινοποίησης

Χαρακτηριστική είναι η επίδραση της οινοποίησης στα υπολείματα φυτοφαρμάκων. Η οινοποιητική διαδικασία αρχίζει με την συμπίεση των σταφυλιών. Από τη στιγμή αυτή τα φάρμακα στο σταφύλι εισέρχονται στο περιεχόμενο με το μούστο, όπου υπάρχει ένα pH 2,7-3,7. Το φάρμακο βρίσκεται εκεί σε ένα διαφασικό σύστημα το οποίο αποτελείται από την στερεή (στέμφυλα και οινολάσπη) και την υγρή φάση (μούστος) και είναι ανάλογα μοιρασμένο στις δυο καταστάσεις αυτές. Τα υπολείματα στο μούστο ορισμένων φαρμάκων (π.χ. azoxystrobin, dimethoate, pyrimethanil) είναι ίδια με αυτά των σταφυλιών. Σε άλλες περιπτώσεις τα υπολείματα στο μούστο βρέθηκαν να είναι εμφανώς χαμηλότερα από αυτά των σταφυλιών και

σε ορισμένες περιπτώσεις (myclobutanil, tetraconazole) δεν ανιχνεύθηκαν καθόλου υπολείμματα στο μούστο. Αυτό δείχνει μια τάση των φαρμάκων αυτών για ένωση με τη στερεή φάση. Αυτή η τάση επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι η διαύγαση του μούστου με φυγοκέντριση μειώνει τα υπολείμματα και στην περίπτωση ορισμένων φαρμάκων τα περιορίζει εντελώς. Μερικά δραστικά συστατικά τα οποία είναι ασταθή σε όξινο περιβάλλον, αποσυντίθενται μετά τη συμπίεση και στο τέλος της ζύμωσης τα δραστικά συστατικά δε βρέθηκαν πια στο κρασί παρά μόνο οι σταθεροί μεταβολίτες τους (dichlofluanid, chlozolate, folpet).

Η οινοποίηση μπορεί να γίνει με ή χωρίς φλοιούς. Στην πρώτη περίπτωση το κρασί θα παραχθεί με όλα τα υπολείμματα των σταφυλιών. Στη δεύτερη περίπτωση θα περιληφθούν μόνο τα υπολείμματα πέρασαν στο μούστο. Μετά τη ζύμωση τα υπολειμματικά επίπεδα των φαρμάκων στο κρασί ήταν πάντα λιγότερα από αυτά των σταφυλιών και του μούστου, εκτός από τα φάρμακα τα οποία δεν εμφάνισαν ιδιαίτερο διαχωρισμό ανάμεσα στην υγρή και στερεή φάση (azoxystribin, dimethoate, pyrimethanil) και ήταν παρόντα στο κρασί στις ίδιες συγκεντρώσεις με των σταφυλιών. Σε μερικές περιπτώσεις (meranipyrim, fluazinam, chlorpyrifos) στο τέλος της ζύμωσης δεν ανιχνεύθηκαν καθόλου υπολείμματα.

Αν συγκρίνουμε τα υπολείμματα στο κρασί το οποίο παράχθηκε και με τις δύο τεχνικές βλέπουμε ουσιαστικά παρόμοιες τιμές. Το fluidoxonil είναι μια εξαίρεση και δε βρέθηκαν υπολείμματα στο κρασί το οποίο παράχθηκε με τους φλοιούς, ενώ στο κρασί χωρίς φλοιούς τα υπολείμματα ήταν στη μισή τιμή της αρχικής του μούστου (Cabras and Angioni, 2000).

Όσον αφορά τη συμπεριφορά των parathion-methyl, fenitrothion, dichlofluanid, chlorpyrifos, vinclozolin, chlorolindone, procymidone, iprodione, οξυχλωριούχου χαλκού, τα σταφύλια ψεκάστηκαν 2 μέρες πριν τον τρύγο προκειμένου να μελετηθεί ευκολότερα η επιρροή τους στις διάφορες οινολογικές μεταχειρίσεις κατά τη διάχεισή τους. Μελετήθηκε επίσης η συμπεριφορά των συγκεντρώσεων του χαλκού αλλά και άλλων μετάλλων (Fe, Zn, Mg) προκειμένου να βρεθεί πώς αυτές οι μεταχειρίσεις επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις των μετάλλων αυτών κατά τη διάρκεια της οινοποίησης (Sala, 1996). Τα αποτελέσματα αναφέρονται εκτενώς παρακάτω.

Λευκή οινοποίηση: Παρατηρείται μια συνεχής μείωση όλων των συγκεντρώσεων των σκευασμάτων κατά τη διάρκεια της οινοποίησης με τις διαδικασίες καθίζησης μούστου και αλκοολικής ζύμωσης να είναι αυτές στις οποίες γίνεται περισσότερο αισθητή η μείωση αυτή. Όλα τα εκατοστιαία ποσοστά που περιγράφονται παρακάτω εκφράζονται ως ποσοστό μείωσης της αρχικής συγκέντρωσης κατά τη διάρκεια των ενδεικτικών βημάτων οινοποίησης.

Με την καθίζηση εξαφανίστηκε εντελώς η συγκέντρωση του Chlorpyrifos ενώ τα Dichlofluanid και Chlorolate υπέστησαν σημαντική μείωση κατά 85 και 70%, αντίστοιχα. Τα επίπεδα των fenitrothion και parathion-methyl έπεσαν επίσης κατά 40 και 25%, αντίστοιχα. Εντούτοις όλα τα αντιβιοτικά σκευάσματα παρουσίασαν μόνο μια μικρή μείωση με την καθίζηση: iprodione (15%), vinclozolin (13%) και procymidone (4%).

Η αλκοολική ζύμωση επίσης είχε σημαντική επίδραση στις συγκεντρώσεις των σκευασμάτων. Συγκεντρώσεις των dichlofluanid και chlozolate δεν βρέθηκαν με το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης ενώ οι συγκεντρώσεις και των υπολοίπων σκευασμάτων μειώθηκαν σημαντικά: parathion-methyl (77%), procymidone (36%), fenitrothion (69%), vinclozolin (52%) και iprodione (35%).

Τα ποσοστά συγκεντρώσεων των σκευασμάτων συνεχώς μειώνονταν κατά τη διάρκεια των υπολοίπων βημάτων της οινοποιητικής διαδικασίας. Τα chlorpyrifos, chlozolate, parathion-methyl και fenitrothion βρέθηκαν σε ίχνη με το τέλος της οινοποίησης. Αντίθετα τα procymidone, vinclozolin και iprodione ήταν τα πιο επίμονα σκευάσματα και ανιχνεύθηκαν στις

φιάλες κρασιών σε επίπεδα περίπου του 1 ppm. Πρέπει όμως να σημειωθεί εδώ ότι η διεξαγωγή των αποτελεσμάτων αυτών έγινε με αλόγιστη χρήση των σκευασμάτων πριν τον τρύγο και δεν θα ήταν σωστό τα συμπεράσματα αυτά να γενικευτούν και στην περίπτωση ορθολογικής χρήσης αυτών.

Όσο αφορά τη συμπεριφορά των Cu, Fe, Zn και Mg στην αρχή της λευκής οινοποίησης η συγκέντρωση του Cu του δείγματος ήταν πολύ υψηλότερη από αυτήν του μάρτυρα. Η καθίζηση δεν συνετέλεσε σε σημαντική μείωση του ποσοστού (67%). Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης τα αρχικά πολύ υψηλά επίπεδα Cu του δείγματος μειώθηκαν δραστικά (99%) και στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης τα επίπεδα ήταν σχεδόν όμοια με του μάρτυρα. Η συμπεριφορά αυτή του χαλκού μπορεί να οφείλεται στην ικανότητα της ζύμης να προσλαμβάνει το μέταλλο αυτό και στην ικανότητα του χαλκού να αντιδρά με θειϊκές ενώσεις που παράγονται κατά το μεταβολισμό της ζύμης και έπειτα να καθιζάνει. Τα ποσοστά Fe, Zn και Mg των δειγμάτων μούστου δεν απείχαν πολύ από αυτά των μαρτύρων, γεγονός που δείχνει ότι τα αρχικά πολύ υψηλά επίπεδα Cu δεν επηρέασαν τις συγκεντρώσεις των μεταβολικών αυτών μετάλλων.

Κόκκινη οινοποίηση: Σε γενικές γραμμές στην αρχή της οινοποιητικής διαδικασίας τα επίπεδα των φυτοφαρμάκων ήταν υψηλότερα από αυτά της λευκής. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη ζύμωση μαζί με τους φλοιούς που λαμβάνει χώρα στην κόκκινη οινοποίηση. Όλα τα σκευάσματα έδειξαν μια προοδευτική μείωση κατά τη διάρκεια της οινοποίησης με το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης να επιδρά σημαντικά στη μείωση αυτή.

Η αλκοολική ζύμωση προκάλεσε την ολοκληρωτική εξαφάνιση των συγκεντρώσεων των chlorpyrifos, dichlofluanid και chlozolinat ενώ μείωσε σημαντικά τα ποσοστά των parathion-methyl (88%), fenitrothion (89%), vinclozolin (80%) και procymidone (59%). Το iprodione ελάχιστα επηρεάστηκε από την αλκοολική ζύμωση (μείωση 17%).

Τα υπόλοιπα βήματα επίσης συνέβαλαν στη μείωση συγκεντρώσεων και ειδικά στην περίπτωση των iprodione και procymidone (μείωση 50 και 24% αντίστοιχα).

Τα dichlofluanid, chlorpyrifos, chlozolinat, parathion-methyl και fenitrothion με το τέλος της οινοποίησης βρέθηκαν σε ίχνη, ενώ τα procymidone, vinclozolin και iprodione ήταν όπως και στη λευκή οινοποίηση τα πιο επίμονα και ανιχνεύτηκαν στις φιάλες σε επίπεδο σχεδόν 1 ppm.

Τα ποσοστά των Cu, Fe, Zn και Mg των μαρτύρων και των δειγμάτων του μούστου ήταν παρόμοια με αυτά της λευκής οινοποίησης και αυτό ίσως να οφείλεται στους ίδιους λόγους που ίσχυαν και στη λευκή οινοποίηση.

Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα συνηγορούν ότι τα dichlofluanid, chlorpyrifos, chlozolinat, parathion-methyl, fenitrothion και οξυχλωριούχος χαλκός εξαφανίστηκαν εντελώς κατά τη διάρκεια της λευκής και κόκκινης οινοποίησης παρόλο που η ελάχιστη χρονική περίοδος μεταξύ ψεκασμών και τρύγου δεν τηρήθηκε. Εντούτοις τα τρία κύρια αντιβοτρυτικά σκευάσματα (procymidone, vinclozolin και iprodione) ήταν κατά πολύ περισσότερο επίμονα και η παρουσία τους στις φιάλες σε αρκετές περιπτώσεις ήταν μεγαλύτερη από αυτήν που προβλέπουν οι κανονισμοί. (Sala κ.α.1996)

5.5.3 Διαύγαση του κρασιού

Η πιο κοινοί διαυγαστικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στο κρασί είναι: ο μπετονίτης, η ζελατίνη, ο άνθρακας, η πολυβυνιλ-πολυπυρολιδόνη, η ποτάσσα, η καζείνη και η κολλώδης διοξειδική σιλικόνη.

Ο άνθρακας, ειδικά όταν τα υπολείμματα ήταν χαμηλά προκάλεσε τον πλήρη περιορισμό των περισσότερων φαρμάκων. Γενικά η επίδραση του άνθρακα ήταν μειωμένη όσο περισσότερη ήταν η υδατοδιαλυτότητα του φαρμάκου. Γι' αυτό φάρμακα ιδιαίτερα υδατοδιαλυτά όπως το dichlorvos και dimethoate δεν έδειξαν αισθητή μείωση. Οι υπόλοιποι διαφυγαστικοί παράγοντες επέφεραν περιορισμένη ή καθόλου μείωση υπολειμμάτων (Cabras κ.α. 1995, 1997, 1998).

5.5.4 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε μεταποιημένα προϊόντα

Αλκοολούχα ποτά: Στην οινοποίηση τα περισσότερα φάρμακα είναι ιδιαίτερα προσροφημένα στα στέμφυλα και στον οινοπολτό και μόνο ελάχιστες ποσότητες περνάν στο κρασί. Μερικά δραστικά συστατικά πέρασαν εξ' ολοκλήρου από τα σταφύλια στο κρασί. Το κρασί, τα στέμφυλα και ο οινοπολτός χρησιμοποιήθηκαν στη βιομηχανία για παραγωγή αλκοόλ και αλκοολούχων ποτών. Ένα λίτρο μπράντυ (45 βαθμών αλκοολικού περιεχομένου) παράγεται από 4,5 λίτρα κρασιού με 10% αλκοόλ. Ένα λίτρο γκράπα (45% αλκοόλ) παράγεται από 10 κιλά οινολάσπης των 4,5% αλκοόλ, ενώ 1 λίτρο των 95% αλκοόλ γίνεται από 21 κιλά στεμφύλων των 4,5% αλκοόλ. Κατά μέσο όρο από 1 κιλό σταφύλια παράγονται 0,65 λίτρα κρασιού, 0,17 κιλά οινολάσπης και 0,055 κιλά στέμφυλα.

Αν τα υπολείμματα των σταφυλιών περάσουν εντελώς στο κρασί, στέμφυλα και οινολάσπη, ή από αυτά στα αλκοολούχα ποτά, θα εμφανιστεί ένας συντελεστής συγκέντρωσης περίπου 7,59 και 382 φορές αντίστοιχα. Αυτοί οι θεωρητικοί συντελεστές δείχνουν το τοξικό δυναμικό το οποίο θα περιέχουν τα αποστάγματα του κρασιού και τα υποπροϊόντα τους, αν η τεχνολογική διαδικασία δεν συμβάλλει σημαντικά στη μείωση των υπολειμμάτων. Παρόλο που το τοξικό δυναμικό υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να παραβρεθεί στα αποστάγματα του κρασιού και τα υποπροϊόντα τους, αυτό το θέμα έχει παραμεληθεί από τις έρευνες για τα φυτοφάρμακα. Η πρώτη μελέτη για τα φάρμακα στα αποστάγματα έγινε από τον Bertrand (1980). Δείγματα κρασιού τα οποία φορτίστηκαν με 20mg/L με phosetyl-Al υποβλήθηκαν σε απόσταξη προκειμένου να δώσουν οινοπνευμα χωρίς υπολείμματα φαρμάκων. Σε μελέτη (Cabras κ.α. 1997) απόσταξης κρασιού, οινολάσπη και στέμφυλα φορτίστηκαν με 8 μυκητοκτόνα (benalaxyl, fenitrimol, iprodione, metalaxyl, myclobutanil, procymidone, triadimefon, και vinclozolin) και 5 εντομοκτόνα (dimethoate, fenthion, methidathion, parathion-methyl και quinalophos) μόνο τα fenthion, quinalophos και vinclozolin βρέθηκαν στα αποστάγματα. Πέρασαν στο απόσταγμα από τα στέμφυλα μόνο όπου η συγκέντρωσή τους ήταν πολύ υψηλή αλλά με πολύ χαμηλά ποσοστά μεταφοράς (2,1 και 0,1% αντίστοιχα). Δεν βρέθηκαν υπολείμματα στο απόσταγμα τα οποία πέρασαν από την οινολάσπη, ενώ τα fenthion και vinclozolin πέρασαν από το κρασί αλλά μόνο σε χαμηλές συγκεντρώσεις (13 και 5%, αντίστοιχα).

Υπολείμματα σε σταφίδα: Υπάρχουν δύο μέθοδοι αποξήρανσης για παραγωγή σταφίδας. Αποξήρανση σε ηλιακό φως και αποξήρανση σε φούρνο. Σε σταφύλια που αποξηράνθηκαν και με τις δύο μεθόδους, τα υπολείμματα δεν άλλαξαν ή μειώθηκαν. Μόνο το iprodione αυξήθηκε κατά 1,6 φορές όταν η διαδικασία έγινε με έκθεση στο ηλιακό φως. (Cabras and Angioni, 2000)

6. ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ-ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΟΥΡΙΑΣ

6.1 Γενικά

Στην προσπάθεια να βρεθούν εντομοκτόνες ουσίες με λιγότερα μειονεκτήματα και προπαντός λιγότερο επικίνδυνες από τα ως τώρα χρησιμοποιούμενα σε μεγάλη κλίμακα ανόργανα και οργανικά συνθετικά εντομοκτόνα, οι επιστήμονες αναζήτησαν ουσίες που να ζημιώνουν ζωτικούς για τα έντομα φυσιολογικούς μηχανισμούς που δεν τους έχουν τα σπονδυλωτά και ιδίως τα θηλαστικά. Τέτοιοι μηχανισμοί είναι η σύνθεση της χιτίνης, ο σχηματισμός του δερματίου, η έκδυση, η μεταμόρφωση, η μετατροπή φυτοστερολών σε εντομοστερόλες, η παραγωγή και έκλυση ορισμένων φερομονών. Οι φυσιολογικοί αυτοί μηχανισμοί, όπως γενικότερα η ανάπτυξη ελέγχονται από ορμόνες. Ήταν λοιπόν αναμενόμενο ορισμένες από αυτές τις ορμόνες, ή ουσίες με όμοια ή παρόμοια δράση, να δοκιμαστούν ως μέσα διατάραξης ή ανασχεσης ορισμένων από τους παραπάνω φυσιολογικούς μηχανισμούς. Αποτέλεσμα των ερευνών προς την κατεύθυνση αυτή είναι να χρησιμοποιούνται ουσίες ρυθμιστές της ανάπτυξης των εντόμων (IGRs) ως μέσα καταπολέμησης. (Τζανακάκης, 1995)

Στην παραπάνω κατηγορία ανήκουν οι μιμητικές ορμόνες και οι παρεμποδιστές αύξησης χιτίνης.

6.2 Μιμητικές ορμόνες

Σ' αυτές οι ανωτέρω μηχανισμοί (η σύνθεση της χιτίνης, ο σχηματισμός του δερματίου, έκδυση, μεταμόρφωση, παραγωγή και έκλυση ορισμένων φερομονών) ρυθμίζονται από 3 κύριες κατηγορίες ορμονών: την εγκεφαλική ορμόνη, τις εκδυσόνες και τις νεανικές ορμόνες. Από τις ορμόνες αυτές πρακτική χρησιμότητα στην καταπολέμηση έδωσαν πρώτα οι νεανικές ορμόνες. Όταν η νεανική ορμόνη είναι παρούσα η προνύμφη κατά την έκδυση δίνει πάλι προνύμφη του επόμενου σταδίου, ενώ όταν είναι σε μικρή ποσότητα στην προνύμφη θα βγει νύμφη και από τη νύμφη ενήλικο. Οι νεανικές ορμόνες δηλαδή, εμποδίζουν τα έντομα να ενηλικιωθούν.

Πλεονέκτημα των μιμητικών ορμονών είναι η έλλειψη της τοξικότητας για τα θερμόαιμα ζώα και μειονέκτημα αυτών είναι ότι απαιτούν εφαρμογή σε ορισμένο στάδιο του εντόμου. Αυτό μειώνει την αποτελεσματικότητά τους για πληθυσμούς ανομοιογενείς ως προς την ηλικία. Με κατάλληλη τυποποίηση το πρόβλημα αυτό θα περιοριστεί και οι εφαρμογές τους θα πολλαπλασιαστούν. Η εύκολη όμως βιολογική αποικοδόμηση είναι και πλεονέκτημα, γιατί δεν ρυπαίνει το περιβάλλον και περιορίζει τους κινδύνους για οργανισμούς που δεν εκτίθενται άμεσα στις ουσίες αυτές (Τζανακάκης, 1995).

6.3 Παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης

Η χιτίνη είναι ένα πολυμερές της Ν-ακετυλογλυκοζαμίνης, το οποίο συμμετέχει ως βασικό δομικό συστατικό στον εξωσκελετό των εντόμων και άλλων ασπόνδυλων καθώς και στο κυτταρικό τοίχωμα των περισσότερων μυκήτων. Αναστολή της βιοσύνθεσης της χιτίνης θα έχει ως συνέπεια την αδυναμία των εντόμων να σχηματίσουν τον εξωσκελετό τους και συνεπώς να μεταμορφωθούν σε τέλεια.

Εντομοκτόνα αυτής της ομάδας ανακαλύφθηκαν τυχαία από ερευνητές της PHILIPS-DUPHAR γύρω στα 1970.

Μια από τις χημικές ομάδες οι οποίες ανήκουν στους αναστολείς βιοσύνθεσης χιτίνης είναι οι βενζουλουρίες, από τα παράγωγα της ουρίας. Είναι αποτελεσματικά εντομοκτόνα με λαμπρές προοπτικές εξαιτίας των πλεονεκτημάτων τους, όπως περιορισμένο φάσμα δράσης, μικρή οξεία τοξικότητα στα θηλαστικά, και γι' αυτό συμπεριλαμβάνονται σε προγράμματα Ολοκληρωμένης Καταπολέμησης σε οπωρώνες (Παπαδοπούλου, 1991)

Τα παράγωγα της ουρίας αρχικά χρησιμοποιήθηκαν στην Κεντρική Αμερική το 1985, για την καταπολέμηση σοβαρών ανθεκτικών σε άλλα εντομοκτόνα φυλλοφάγων εντόμων (*Spodoptera spp.*, *Trichoplusia spp.*) που εμφανίστηκαν ξαφνικά στο βαμβάκι

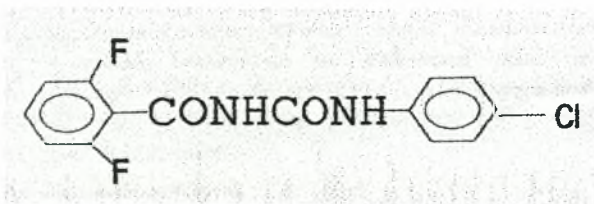
Οι πρώτες Βενζουλουρίες παρασκευάστηκαν το 1978 από την Bayer της Γερμανίας, και το triflumuron (Alsystin) ήταν η πρώτη δραστική ουσία. Από τότε εμφανίστηκαν κατά χρονική σειρά το chlorfluzuron (Atabron, Helix), το teflubenzuron (Nomolt, Dart), το hexaflumuron (Trueno, Consult), το flufenoxuron (Cascade) και το flucycloxuron (Andalin). Άλλα δραστικά μόρια αυτής της κατηγορίας είναι το flurazuron, novaluron και το diafenthion. Το lufenuron (Axor ή Match) εμφανιζόμενο το 1990, είναι το νεότερο από αυτή την ομάδα. Κανένα από αυτά δεν εφαρμόστηκε στις Η.Π.Α., εκτός από το diflubenzuron (Dimilin, Adept, Micromite). (<http://ipmworld.unm.edu/chapters/ware.htm>).

Η χρήση τους στις μηλιές, αχλαδιές, αμπέλια και πορτοκαλιές συνεχώς αυξάνεται Στην Ελλάδα εφαρμόζονται έξι παράγωγα της ουρίας: το diflubenzuron (Dimilin), το teflubenzuron (Nomolt), το triflumuron (Alsystin), το lufenuron (Match) και το flufenoxuron (Cascade) που ανήκουν στην κατηγορία των εντομοκτόνων που παρεμποδίζουν τη σύνθεση της χιτίνης και το tebufenozide (Mimic) που ανήκει στις μιμητικές ορμόνες.

Οι περισσότερες από τις παραπάνω ουσίες έχουν υψηλή τιμή του συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού (109 Kow), που είναι ένδειξη υψηλού κινδύνου βιοσυσσώρευσης.

diflubenzuron (Dimilin)

Μια από τις πιο δραστικές ουσίες που ανήκουν στα παράγωγα της ουρίας είναι αυτή με το κοινό όνομα diflubenzuron και με το εμπορικό όνομα Dimilin. Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea. Ο χημικός της τύπος είναι $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$, ενώ ο συντακτικός της τύπος δίνεται παρακάτω.



Δρά αναστέλλοντας τη βιοσύνθεση της χιτίνης και συνεπώς του εξωτερικού περιβλήματος του σώματος των εντόμων (cuticula). Η δράση αυτή είναι εξειδικευμένη. Αντίστοιχες βιοχημικές λειτουργίες σε μύκητες, κοτόπουλα και ποντίκια, δεν επηρεάζονται. Εκτός της δράσης αυτής έχει και ωοκτόνο και προνυμφοκτόνο δράση σε έντομα και ακάρεα.

Το diflubenzuron είναι μη διασυστηματικός ρυθμιστής ανάπτυξης των εντόμων και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση πολλών φυλλοφάγων εντόμων φρούτων, δασικών καλλιεργειών και καλλωπιστικών. Καταπολεμά επίσης σημαντικούς εχθρούς στο βαμβάκι, τη σόγια, τα εσπεριδοειδή, στο τσάι, σε λαχανικά και μανιτάρια. Χρησιμοποιείται και σαν εκτοπαράσιτο ζώων. Απορροφάται σε μεγάλο ποσοστό από τα σύμπλοκα εδάφους και χουμικών οξέων και στην πράξη είναι ακίνητο στο έδαφος. Αποδομείται γρήγορα στο έδαφος με χρόνο ημιζωής < 7 ημέρες. Λόγω της εκλεκτικότητάς του και της γρήγορης αποδόμησής του στο έδαφος και το νερό, δεν έχει ή έχει πολύ μικρές επιπτώσεις στους φυσικούς εχθρούς βλαβερών εντόμων. Οι ιδιότητές του αυτές το καθιστούν κατάλληλο για ένταξη σε προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης.

Δεν είναι φυτοτοξικό όταν ακολουθούνται οι οδηγίες.

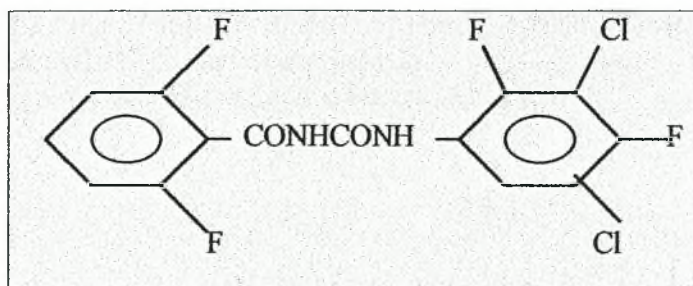
Η οξεία τοξικότητά του από στόματος στα θηλαστικά (Acute oral LD₅₀) είναι μεγαλύτερη από 4640 mg kg⁻¹, για ποντίκια. Η μέγιστη επιτρεπόμενη ημερήσια δόση στον άνθρωπο (ADI) είναι 0.02 mg kg⁻¹ σωματικού βάρους.

Η ανάλυση υπολειμμάτων του diflubenzuron γίνεται με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) ή με αέριο χρωματογραφία (GC). (The pesticide manual)

teflubenzuron (Nomolt)

Το teflubenzuron είναι μια δραστική ουσία που ανήκει στα παράγωγα της ουρίας και κυκλοφορεί με το εμπορικό όνομα Nomolt.

Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 1-(3,5-dichloro-2,4-difluorophenyl)-3-(2,6difluorobenzyl)urea. Ο χημικός της τύπος είναι C₁₄H₆Cl₂F₄N₂O₂, ενώ ο συντακτικός της τύπος δίνεται παρακάτω:



Είναι ρυθμιστής της ανάπτυξης των εντόμων και δρα από το στομάχι. Παρεμποδίζει τη σύνθεση της χιτίνης και την έκδυση. Είναι μη διασυστηματικό εντομοκτόνο. Δεν προσλαμβάνεται και δεν μεταβολίζεται στα φυτά. Μπορεί να επηρεάσει τη γονιμότητα των θηλυκών εντόμων μετά από επαφή ή κατάποση.

Καταπολεμά Λεπιδόπτερα, Κολεόπτερα, Δίπτερα, Υμενόπτερα κ.λ.π σε αχλάδια, μήλα, αμπέλια, φρούτα, πατάτες, λαχανικά, καπνό, βαμβάκι κ.λ.π

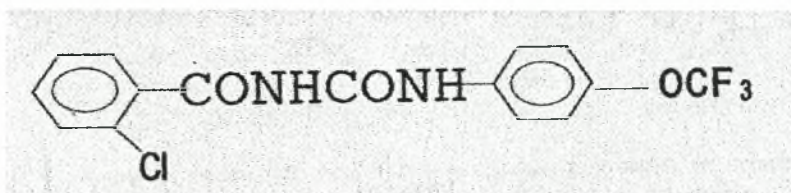
Δεν είναι φυτοτοξικό όταν ακολουθούνται οι συνιστώμενες οδηγίες. Συνδυάζεται με τα περισσότερα εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα.

Η οξεία τοξικότητά του από στόματος στα θηλαστικά (Acute oral LD₅₀) είναι μεγαλύτερη από 5000 mg/kg-1, για ποντίκια. Στο έδαφος λαμβάνει χώρα μικροβιακή αποδόμηση και το teflubenzuron μεταβολίζεται γρήγορα (The pesticide manual).

triflumuron (Alsystin)

Το triflumuron είναι μια δραστική ουσία η οποία παρεμποδίζει τη σύνθεση της χιτίνης. Το εμπορικό της όνομα είναι Alsystin.

Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 1-(2-chlorobenzoyl)-3-(4trifluoromethoxyphenyl)urea. Ο χημικός της τύπος είναι C₁₄H₆Cl₂F₃N₂O₂, ενώ συντακτικός της τύπος δίνεται παρακάτω:

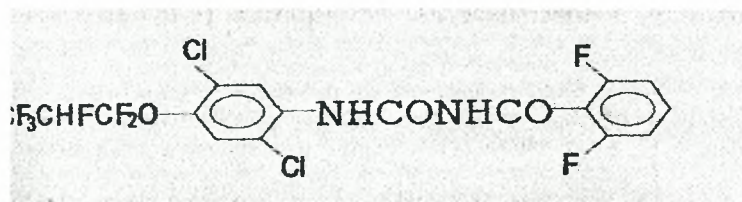


Ο μεταβολισμός του triflumuron στα φυτά μελετήθηκε σε μήλα, αχλάδια, σόγια και πατάτες. Το δρών συστατικό μεταβολίζεται κατά ένα μικρό μόνο ποσοστό και δίνει μεταβολίτες ίδιους με αυτούς που παρατηρούνται και στα ζώα. Σε εργαστηριακά πειράματα το triflumuron αποδομείται γρήγορα στο έδαφος, στον αγρό όμως η αποδόμηση γίνεται 3-5 φορές γρηγορότερα. Σαν συνέπεια αυτού, επαναλήψεις για περισσότερο από 3 χρόνια σε ακαλλιέργητο έδαφος δεν οδήγησαν σε συσσώρευση στο έδαφος. (The pesticide manual).

lufenuron (Match)

Το lufenuron είναι μια δραστική ουσία η οποία παρεμποδίζει τη σύνθεση της χιτίνης και κυκλοφορεί με το εμπορικό όνομα Match.

Η ονομασία της κατά IUPAC είναι (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy)phenyl]-3-(2,6difluorobenzoyl)urea. Ο χημικός της τύπος είναι C₁₇H₈Cl₂F₈N₂O₃, ενώ ο συντακτικός της τύπος δίνεται παρακάτω:

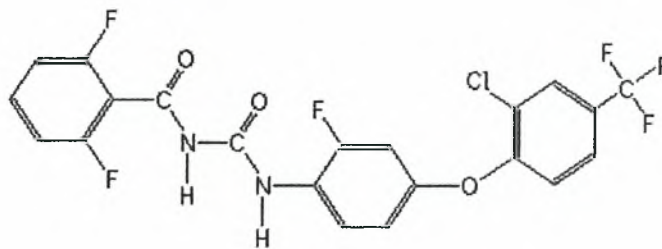


Καταπολεμά τις νύμφες των Λεπιδόπτερων και Κολεόπτερων στο βαμβάκι, στα λαχανικά και στα φρούτα. Δεν είναι φυτοτοξικό στις καλλιέργειες. Συνδυάζεται με τα περισσότερα εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα, εκτός από εκείνα που έχουν αλκαλική αντίδραση. Η οξεία τοξικότητά του από στόματος στα θηλαστικά (Acute oral LD₅₀) είναι μεγαλύτερη από 2000 mg

kg⁻¹, για ποντίκια. Η ανάλυση υπολειμμάτων του Iufenuron γίνεται από Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Κύρια οδός απομάκρυνσης του Iufenuron στα ζώα είναι δια μέσου των περιττωμάτων, με πολύ μικρή αποικοδόμηση. Το Iufenuron αποικοδομείται γρήγορα σε εδάφη κάτω από αερόβιες συνθήκες (The pesticide manual).

flufenoxuron (Cascade)

Το flufenoxuron είναι μια δραστική ουσία η οποία παρεμποδίζει τη σύνθεση της χιτίνης και κυκλοφορεί με το εμπορικό όνομα Cascade. Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 1-[4-(2-chloro- α,α,α -trifluoro-*p*-tolylloxy)-2-fluorophenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea. Ο χημικός της τύπος είναι C₂₁H₁₁ClF₆N₂O₃, ενώ ο συντακτικός της τύπος δίνεται παρακάτω (<http://www.hclrss.demon.co.uk/flufenoxuron.html>):



Εκτός από εντομοκτόνα, έχει και ακαρεοκτόνο δράση. Η οξεία τοξικότητα του στα ποντίκια από στόματος είναι μεγαλύτερη από 3000mg/kg ενώ υποδόρια μεγαλύτερη από 2000mg/kg. Επίσης βρέθηκε ότι είναι τοξικό για τα ψάρια αλλά όχι για τις μέλισσες. (<http://www.pentol.ch/lexicon.asp?code=10&term=163>)

6.4 Υπολείμματα βενζουλουριών

Οι Tsiropoulos κ.α. (1999) μελέτησαν την αποδόμηση του teflubenzuron (TFB) σε σταφύλια ποικιλίας ροδίτη στην περιοχή Ν. Αγχιάλου Μαγνησίας. Τα αμπέλια για παραγωγή λευκών κρασιών ψεκάστηκαν δυο φορές σε χρονικό διάστημα 28 ημερών, με το εμπορικό σκεύασμα του εντομοκτόνου και η τύχη των υπολειμμάτων παρακολούθηθηκε για χρονικό διάστημα 49 ημερών. Τα υπολείμματα TFB προσδιορίστηκαν με HPLC με όριο ανίχνευσης 0,005 mg kg⁻¹. Σε συνθήκες αγρού τα υπολείμματα TFB στα σταφύλια βρέθηκαν να είναι πολύ σταθερά χωρίς καμία σημαντική μείωση κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου των 49 ημερών. Ωστόσο τα υπολείμματα ήταν ελαφρώς χαμηλότερα από τα μέγιστα όρια υπολειμμάτων που έχει θεσπίσει η Ιταλία λόγω απουσίας της Ε.Ε και των FAO/WHO. Τα MRL's αυτά είναι 1mg kg⁻¹. (Tsiropoulos, 1999)

Επίσης εκτιμήθηκε η αποδόμηση των υπολειμμάτων του teflubenzuron (TFB) και του triflumuron (TFM) σε σπυρώνες αχλαδιών στην Κ. Ελλάδα και σε αχλάδια αποθηκευμένα στο ψυγείο. Βρέθηκε ότι τα υπολείμματα του TFB στα αχλάδια παρέμειναν σταθερά για 2 εβδομάδες και έπειτα μειώθηκαν κατά 48% της αρχικής εναπόθεσης. Όσον αφορά τα υπολείμματα του TFM, αυτά βρέθηκε να μειώνονται με χρόνο ημιζωής 39 ± 7 ημέρες. Βρέθηκε

ότι τα υπολείμματα και από τα δυο εντομοκτόνα στα αχλάδια στη συγκομιδή ήταν χαμηλότερα από το μέγιστο όριο υπολειμμάτων (MRLs). Ακόμα εκτιμήθηκε η αποδόμηση των TFM και TFB σε αχλάδια αποθηκευμένα στο ψυγείο (ψυχοσυντήρηση). Τα υπολείμματα του TFB ήταν σταθερά κατά τη διάρκεια όλης της περιόδου της αποθήκευσής τους, ενώ τα υπολείμματα του TFM αν και δεν αποικοδομήθηκαν τις εβδομάδες παρουσίασαν έπειτα μια σταθερή μείωση. Κατά το τέλος της αποθηκευτικής περιόδου των 29 εβδομάδων παρέμεινε το 7% της αρχικής συγκέντρωσης για το TFM.

Το Diflubenzuron (DFB) είναι η πιο εκτενώς μελετημένη Βενζουλουρία σε πολλούς φυτικούς ιστούς, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται μήλα, μανιτάρια, κίτρα, καντερές πιπεριές και σε δασικά υποστρώματα. Διαπιστώθηκε ότι μόνο το DFB παρέμεινε στα φύλλα και ότι δεν ανιχνεύτηκε κανένα από τα εντομοκτόνα κατά τη συγκομιδή των φρούτων. Η ελάχιστη επιτρεπτή ποσότητα υπολειμμάτων binaparacyl, buprimate και diflubenzuron είναι αντίστοιχα 1,5 και 2,5 mg kg⁻¹.

Οι Mensah κ.α. προσδιόρισαν το DFB σε μήλα μετά από εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο, με παραγωγοποίηση και με καθαρισμό με εκχύλιση στερεής φάσης SPE. Οι ανακτήσεις κυμαίνονταν από 80-88% και το όριο ανίχνευσης ήταν 0,03 mg kg⁻¹. Οι Austin και Hall εκτίμησαν την εμμονή των υπολειμμάτων των DFB σε καρπό μήλων και σε φύλλα μετά από εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο. Η ανάκτηση βρέθηκε στα 60% και το όριο ανίχνευσης στα 0,025 mg kg⁻¹. (Mensah, 1997)

Οι Tomsej και Hajslova προσδιόρισαν 5 Βενζουλουρίες σε μήλα μετά από εκχύλιση με ακετόνη, κατανομή με διχλωρομεθάνιο και χρωματογραφία διαπερατότητας πηχτής. Οι ανακτήσεις βρέθηκαν στα 71-92% και το όριο ανίχνευσης ήταν 0,01-0,03 mg kg⁻¹. (Tomsej, 1995)

Οι Galera κ.α. το 2001 προσδιόρισαν τα diflubenzuron, triflumuron, hexaflumuron, lufenuron, flufenoxuron σε τομάτες μετά από εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο και με καθαρισμό με εκχύλιση στερεάς φάσεως. Οι ανακτήσεις κυμαίνονταν από 79-120%, ενώ τα υπολείμματα που μετρήθηκαν σε τομάτες κυμαίνονται από 0,5 - 2,1 mg kg⁻¹. Σε μία παρόμοια μελέτη για τα εσπεριδοειδή (Valenzuela κ.α, 1999) μετρήθηκαν υπολείμματα flufenoxuron που κυμαίνονται από 0,15-0,25mg kg⁻¹ και τα οποία ήταν κάτω από τα μέγιστα επιτρεπτά όρια τα οποία έχει θεσπίσει η Ισπανική κυβέρνηση.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η εργασία αυτή σχεδιάστηκε με σκοπό να μελετηθεί η τύχη των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε καλλιέργεια αμπέλου, μιας σημαντικής για τη χώρα μας καλλιέργειας, όπως και στο παραγόμενο κρασί. Για το σκοπό αυτό έγινε παρακολούθηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων στο σταφύλι και μετά την οινοποίηση, στο μούστο και στο κρασί. Για τη μελέτη αυτή επιλέχθηκε το flufenoxuron, ένα νέο εντομοκτόνο, για το οποίο, στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχει σχετική έλλειψη πληροφόρησης για την τύχη των υπολειμμάτων του στην καλλιέργεια της αμπέλου και στο κρασί. Το flufenoxuron ανήκει στην ομάδα των βενζουλουριών, δρα ως ρυθμιστής ανάπτυξης των εντόμων και χρησιμοποιείται στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης.

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1 Πειραματικός αγρός

Το πείραμα έγινε σε αμπελώνα της οινοποιήσιμης ποικιλίας Ροδίτης στην περιοχή Νέας Αγχιάλου του Νομού Μαγνησίας από τον Αύγουστο μέχρι τον Οκτώβριο του 2002 και 2003. Τα πρέμνα, που ήταν φυτεμένα σε γραμμές, απείχαν 1,20 μέτρα επί της γραμμής και 1,80 μέτρα μεταξύ των γραμμών. Ο αμπελώνας χωρίστηκε σε 5 πειραματικά τεμάχια των 12 πρέμων το κάθε ένα. Από τα 5 πειραματικά τεμάχια του κάθε τμήματος τα τέσσερα δέχτηκαν εφαρμογή του flufenoxuron ενώ το πέμπτο παρέμεινε απέκαστο και χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Γύρω από τον αγρό αφέθηκαν τέσσερις γραμμές περιθώριο.

Στον αγρό έγιναν όλες οι συνήθειες στην περιοχή καλλιεργητικές φροντίδες.

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Cascade το οποίο είναι εναιωρηματοποιήσιμο συμπύκνωμα με περιεκτικότητα 10% σε δραστική ουσία. Οι ψεκασμοί έγιναν με υδατικό εναιώρημα του παραπάνω σκευάσματος, με δόση 100 ml/100 λίτρα ψεκαστικού υγρού, στις 31 Ιουλίου και 27 Αυγούστου για το 2002, ενώ για το έτος 2003 πραγματοποιήθηκε ένας ψεκασμός στις 4 Αυγούστου. Χρησιμοποιήθηκε χειροκίνητο ψεκαστικό πλάτης και ο ψεκασμός ήταν κατευθυνόμενος στους βότρυες και έγινε μέχρι απορροής του ψεκαστικού υγρού.

1.2 Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες δειγματοληψίας των FAO/WHO όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.2. (Πίνακας 4), δηλαδή συλλέγοντας διάφορα τμήματα από 12 βότρυες από τέσσερα τουλάχιστον πρέμνα από κάθε πειραματικό τεμάχιο. Το συνολικό βάρος του κάθε δείγματος ήταν τουλάχιστον 1 kg. Πάρθηκαν τμήματα από βότρυες που βρίσκονταν τόσο σε χαμηλή όσο και σε υψηλή θέση στο πρέμνο, και από θέσεις τόσο εκτεθειμένες στο άμεσο ηλιακό φως όσο και από προστατευόμενες από το φύλλωμα.

Δείγματα σταφυλιών συνελέγησαν αμέσως μετά τον ψεκασμό, αφού είχε στεγνώσει το ψεκαστικό υγρό (0 ημέρες) και σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα μετά τον ψεκασμό Συγκεκριμένα δείγματα σταφυλιών συνελέγησαν σε 4, 7, 10, 21, 24 και 35 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό του έτους 2002, ενώ 24, 38 και 56 ημέρες μετά τον ψεκασμό του 2003. Τα

συλλεχθέντα δείγματα, αφού απορρίφθηκαν προσβλημένες και αλλοιωμένες ράγες, ομογενοποιήθηκαν με blender. Το ομογενοποιημένο υλικό χωρίστηκε σε αναλυτικά υποδείγματα τα οποία αποθηκεύτηκαν στους -18°C μέχρι την ανάλυσή τους. Η δειγματοληψία, η μεταφορά στο εργαστήριο, η ομογενοποίηση και η αποθήκευση έγιναν αυθημερόν.

Επίσης, για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων στο κρασί, 35 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκάσμο για το έτος 2002 και 32 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκάσμο για το έτος 2003, συνελέγησαν 30 βότρες από τον πειραματικό αγρό οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν για οινοποίηση.

1.3 Υλικά και χημικά αντιδραστήρια

Τα υλικά και τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα παρακάτω:

- **Διαλύτες.** Οι διαλύτες οξικός αιθυλεστέρας (ethyl acetate), εξάνιο, διχλωρομεθάνιο και ισοπροπανόλη, που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τύπου pestigrade. Η μεθανόλη και το νερό ήταν καθαρότητας HPLC.
- **Άνυδρο θειικό νάτριο (Na_2SO_4)** για την κατακράτηση της υγρασίας του εκχυλίσματος.
- **Φυσίγγια οξειδίου του πυριτίου (Silica)** για εκχύλιση στερεάς φάσης.
- **Πρότυπες ουσίες** flufenoxuron καθαρότητας 99,4%.
- **Πρότυπα διαλύματα (stock solutions):**

Παρασκευάστηκε μητρικό πρότυπο διάλυμα του flufenoxuron σε μεθανόλη με συγκέντρωση $1000 \mu\text{g ml}^{-1}$. Από το πυκνό πρότυπο διάλυμα παρασκευάστηκε με αραιώση ενδιάμεσο πρότυπο διάλυμα $100 \mu\text{g ml}^{-1}$. Από αυτό παρασκευάστηκαν με αραιώση πρότυπα διαλύματα εργασίας του flufenoxuron με συγκεντρώσεις 10, 5, 4, 3, 2, 1 και $0,2 \mu\text{g ml}^{-1}$ σε μεθανόλη.

1.4 Εκχύλιση των δειγμάτων σταφυλιών

Είκοσι πέντε γραμμάρια (25g) ομογενοποιημένου δείγματος σταφυλιού ζυγίστηκαν με ακρίβεια μέσα σε ποτήρι ζέσεως και προστέθηκαν 50mL οξικού αιθυλεστέρα και 25g άνυδρου θειικού νατρίου με συνεχή ανάδευση. Το μίγμα ομογενοποιήθηκε σε ομογενοποιητή (τύπου Ultra Turrax) στις 6000 rpm για 3 min. Αφού ηρέμησε για 1min το παραπάνω μίγμα διηθήθηκε σε χαρτί διήθησης Whataman No. 2, που περιείχε 10 g άνυδρο θειικό νάτριο, 25 mL του διηθήματος μεταφέρθηκαν σε σφαιρική φιάλη 100 mL και συμπυκνώθηκαν μέχρι ξηρού σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα με μειωμένη πίεση στους 40°C . Το στερεό επαναδιαλύθηκε σε 3 mL εξάνιο και 1 mL από αυτό μεταφέρθηκαν σε ενεργοποιημένο φυσιγγίο για καθαρισμό.

1.5 Καθαρισμός (clean up)

Τα βήματα της διαδικασίας που ακολουθήθηκε για τον καθαρισμό του εκχυλίσματος είναι τα παρακάτω:

- Ενεργοποίηση της στερεής φάσης του φυσιγγίου με 10 mL εξανίου.
- Φόρτιση του φυσιγγίου με 1 mL δείγματος
- Εκπλυση του φυσιγγίου με 5 mL εξάνιο.
- Εκλούση της δραστικής ουσίας με 2 mL διαλύματος διχλωρομεθανίου-2 ισοπροπανόλης (9+1).
- Συλλογή του εκλούσματος και συμπύκνωση μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου και επαναδιάλυση σε 1 mL μεθανόλης.
- Διήθηση του μεθανολικού διαλύματος σε φίλτρα ($0.2 \mu\text{m}$) και μεταφορά τους σε φιαλίδια χρωματογράφου προς έκχυση.

1.6 Χρωματογραφική ανάλυση

Για την ανάλυση υπολειμμάτων του flufenoxuron χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας τύπου Hewlett – Packard 1100 Series που αποτελείται από :

- Σύστημα έγχυσης με βρόγχο χωρητικότητας 20 μ L.
- Χρωματογραφική στήλη μήκους 25cm τύπου C-18 και διαμέτρου 4,6mm
- Ανιχνευτή απορρόφησης UV με καταγραφή ορισμένη στα 254nm.
- Η καταγραφή και επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος έγινε με Η/Υ με το πρόγραμμα Chem-Station της Hewlett Packard.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βαθμιδωτή έκλυση (gradient elution), η οποία φαίνεται στον Πίνακα Β1.

ΠΙΝΑΚΑΣ Β1. Πρόγραμμα Χρωματογραφικής ανάλυσης

Χρόνος (min)	Μεθανόλη HPLC	Νερό HPLC
0	10%	90%
5	10%	90%
20	65%	35%
40	100%	0%
42	10%	90%

Η θερμοκρασία της στήλης διατηρήθηκε σταθερή στους 40⁰ C. Το σύστημα HPLC εξισορροπήθηκε με το μίγμα της κινητής φάσης (10/90 MeOH/H₂O) σε μια ροή 1 mL/min.

2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1 Ποιοτική ανάλυση

Η ταυτοποίηση του εντομοκτόνου στο χρωματογράφημα έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής του. Ο χρόνος κατακράτησής του είναι 30.7 min. Το δείγμα του μάρτυρα, όπως αναμένονταν, δεν εμφάνισε κορυφή στον χρόνο κατακράτησης της κορυφής της παραπάνω δραστικής ουσίας.

2.2 Ποσοτική ανάλυση

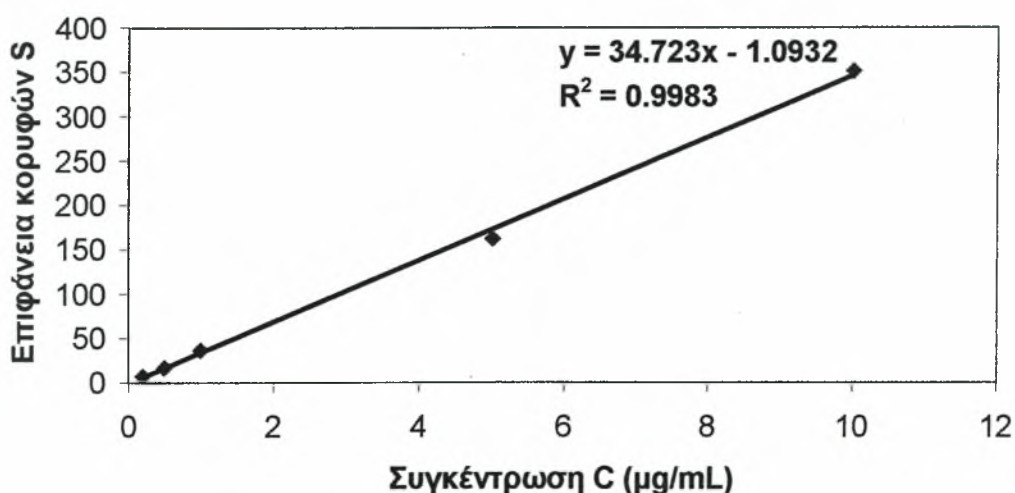
Ο ποσοτικός προσδιορισμός του εντομοκτόνου πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας τη μέθοδο του εξωτερικού προτύπου, χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς.

Η καμπύλη αναφοράς κατασκευάστηκε με πρότυπα διαλύματα του flufenoxuron διαφορετικών συγκεντρώσεων. Η καμπύλη αναφοράς φαίνεται στο σχήμα Β1 όπου:

s: η επιφάνεια της κορυφής της ουσίας.

c: η συγκέντρωση της ουσίας στα πρότυπα διαλύματα.

Σχήμα Β1: Καμπύλη αναφοράς για το flufenoxuron



Η συγκέντρωση του εντομοκτόνου για το δείγμα υπολογίστηκε από την επιφάνεια της κορυφής του flufenoxuron στο χρωματογράφημα χρησιμοποιώντας παράλληλα την καμπύλη αναφοράς. Η συγκέντρωση του εντομοκτόνου στο σταφύλι και το κρασί εκφράζεται σε mg δ.ο /kg ιστού για το σταφύλι και σε mg δ.ο./L για το κρασί.

Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού όπως προέκυψαν για την ακολουθούμενη μέθοδο είναι

0,005 mg kg⁻¹ για το σταφύλι και 0,005 mg/L για το κρασί.

2.3 Έλεγχος και αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου

Η αναλυτική μέθοδος εκχύλισης για το εντομοκτόνο flufenoxuron ελέγχθηκε ως προς την αξιοπιστία της με πειράματα ανάκτησης. Νέο στοιχείο σχετικά με τη μέθοδο εκχύλισης, όπως περιγράφεται στην εργασία των Tsiropoulos κ.α. (1999), είναι η χρήση μικρότερου αναλυτικού δείγματος (25 g αντί 50 g) με ταυτόχρονη μειωμένη χρήση διαλυτών (50 mL οξικού αιθυλεστέρα αντί 100 mL).

Δείγμα μάρτυρα σταφυλιού (25 g) φορτίστηκε με κατάλληλη ποσότητα πρότυπου διαλύματος flufenoxuron έτσι ώστε να προκύψουν δείγματα φορτισμένα με συγκεντρώσεις 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,75 και 1 mg δ.ο./kg ιστού. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η προαναφερόμενη μέθοδος εκχύλισης και ανάλυσης του δείγματος, προσδιορίστηκε η ποσότητα εντομοκτόνου που ανακτήθηκε και συγκρίθηκε με αυτή που εφαρμόστηκε για να προκύψει το ποσοστό ανάκτησης. Το πείραμα επαναλήφθηκε 3 φορές και τα αποτελέσματά του, δηλαδή η ανάκτηση (%) και η επαναληψιμότητα (RSD) της μεθόδου για το εντομοκτόνο, φαίνεται στους Πίνακες Β 2 και Β3.

Πίνακας Β2. Μέση τιμή ανάκτησης και σχετική τυπική απόκλιση για το flufenoxuron σε φορτισμένα δείγματα σταφυλιού (τρία δείγματα για κάθε επίπεδο φόρτισης).

Επίπεδο φόρτισης (mg kg ⁻¹)	Ανάκτηση %	RSD %
0,05	94	4
0,10	94	3
0,20	96	2
0,50	101	4
0,75	92	5
1,00	95	2

Πίνακας Β3. Μέση τιμή ανάκτησης και σχετική τυπική απόκλιση για το flufenoxuron σε φορτισμένα δείγματα κρασιού (τρία δείγματα για κάθε επίπεδο φόρτισης).

Επίπεδο φόρτισης (mg L ⁻¹)	Ανάκτηση %	RSD %
0,005	105	3
0,010	99	8
0,020	97	5

Οι τιμές ανάκτησης που προέκυψαν είναι ικανοποιητικές, καθώς είναι γνωστό ότι όταν η ανάκτηση κυμαίνεται μεταξύ 70% και 110% της συγκέντρωσης με την οποία φορτίστηκε ο μάρτυρας τότε θεωρείται αποδεκτή και τα αποτελέσματα αξιόπιστα (Council Directive 94/43/EC, Greve, 1984). Επίσης οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι πολύ καλές και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος που εφαρμόσαμε παρουσιάζει καλή επαναληψιμότητα.

2.4 Μεταβολή υπολειμμάτων του flufenoxuron στα σταφύλια

Οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου σε σταφύλια που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από την εφαρμογή του τα έτη 2002 και 2003 παρουσιάζονται στους Πίνακες 4 και 5 αντίστοιχα.

Επίσης στο Σχήμα 1 παρουσιάζεται σε απεικόνιση η πορεία των υπολειμμάτων του flufenoxuron σε σταφύλια που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από την εφαρμογή του το έτος 2002.

Στους Πίνακες Β4, Β5, Β6, Β7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τα σταφύλια, το μούστο , το φυγοκεντρημένο μούστο και το κρασί που προέκυψε από τα πειράματα οινοποίησης τις χρονιές 2002 και 2003.

Πίνακας Β4. Υπολείμματα (mg kg^{-1}) flufenoxuron σε σταφύλια και σχετική τυπική απόκλιση ($n=4$) σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από τον ψεκασμό για το έτος 2002. (την 35^η ημέρα έγινε οινοποίηση)

Ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό	Υπολείμματα (mg kg^{-1})	RSD %
0	0,822	5
4	0,782	13
7	0,699	26
10	0,721	16
21	0,677	21
24	0,623	12
35	0,685	10

Πίνακας Β5. Υπολείμματα (mg kg^{-1}) flufenoxuron σε σταφύλια και σχετική τυπική απόκλιση ($n=4$) σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από τον ψεκασμό για το έτος 2003. (Την 56^η ημέρα έγινε η οινοποίηση)

Ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό	Σταφύλια (mg kg^{-1})	RSD %
24	0,270	16
38	0,240	12
56	0,226	1

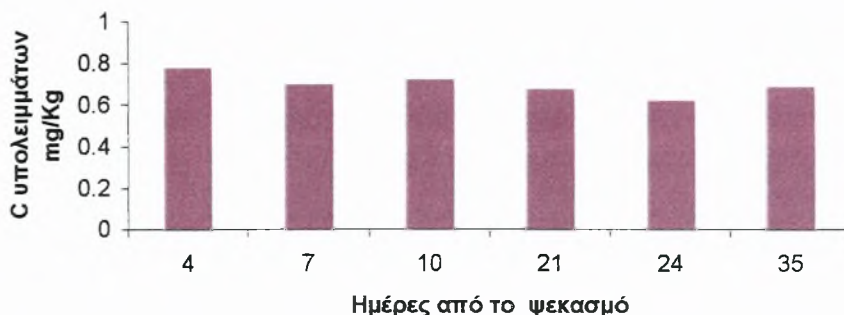
Πίνακας Β6. Υπολείμματα (mg L^{-1}) flufenoxuron σε μούστο, φυγοκεντρίμενο μούστο και κρασί από τον τελευταίο ψεκασμό για το έτος 2002.

Ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό	Υπολείμματα στον μούστο (mg L^{-1})	Υπολείμματα στον φυγοκεντρίμενο μούστο (mg L^{-1})	Υπολείμματα στο κρασί (mg L^{-1})
35	0,138	0,034	0,007

Πίνακας Β7. Υπολείμματα (mg L^{-1}) flufenoxuron σε μούστο, φυγοκεντρίμενο μούστο και κρασί από τον ψεκασμό για το έτος 2003.

Ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό	Υπολείμματα στον μούστο (mg L^{-1})	Υπολείμματα στον φυγοκεντρίμενο μούστο (mg L^{-1})	Υπολείμματα στο κρασί (mg L^{-1})
56	0,118	0,031	0,005

Σχήμα Β2: Πορεία υπολειμμάτων flufenoxuron στα σταφύλια για το 2002.



2.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό του flufenoxuron στα σταφύλια παρουσιάζεται αξιόπιστη καθώς τόσο η ορθότητά της όσο και η επαναληψιμότητά της έχουν ικανοποιητικές τιμές αφού και οι ανακτήσεις αλλά και οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης στα πειράματα ανάκτησης κυμαίνονται από 94 μέχρι 101% και από 2 μέχρι 5%, αντίστοιχα. Το ίδιο ικανοποιητικές παρουσιάζονται και οι τιμές της ανάκτησης αλλά και οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης στα πειράματα ανάκτησης για το κρασί, αφού βρέθηκαν 97-105% και 3-8%, αντίστοιχα.

Από τα πειράματα στον αγρό προέκυψε ότι για το 2002, τα υπολείμματα του flufenoxuron ήταν $0,380 \text{ mg kg}^{-1}$ αμέσως μετά τον πρώτο ψεκάσμο και $0,782 \text{ mg kg}^{-1}$ αμέσως μετά το δεύτερο ψεκάσμο. Στη συνέχεια παρατηρούμε ότι τα υπολείμματα του flufenoxuron παρέμειναν σχεδόν σταθερά καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου των 35 ημερών, που παρακολουθήθηκε, δείχνοντας μεγάλη εμμονή. Αυτό οφείλεται αφενός στη χημική σταθερότητα του μορίου αυτού αλλά και στην απουσία του φαινομένου της αραιώσης των υπολειμμάτων (dilution effect) λόγω της μη περαιτέρω αύξησης του καρπού. Τα αποτελέσματα αυτά οφείλονται στο γεγονός ότι τα σταφύλια είχαν αποκτήσει το τελικό τους μέγεθος πριν τον τελευταίο ψεκάσμο (ο οποίος έγινε στις 27/08/2002) δεδομένου ότι το γυάλισμα της ράγας συμβαίνει στην περιοχή της Ν. Αγχιάλου για την ποικιλία Ροδίτη, από 1 έως 15 Αυγούστου. Σημειώνεται εδώ ότι το όριο της τελευταίας επέμβασης πριν τη συγκομιδή (ΤΕΠΣ, Preharvest Interval, PHI), του flufenoxuron για τα σταφύλια είναι 35 ημέρες.

Οι τιμές των υπολειμμάτων κυμάνθηκαν από $0,623$ έως $0,782 \text{ mg kg}^{-1}$ για το 2002 και φαίνεται να είναι ανεξάρτητες της διάρκειας της πειραματικής περιόδου. Τα αποτελέσματα αυτά

συμφωνούν με εκείνα παρόμοιας μελέτης (Tsiropoulos κ. α , 1999) σχετικής με τα υπολείμματα σε σταφύλια και κρασί μίας άλλης βενζουλουρίας, του teflubenzuron. Επίσης το ίδιο φάρμακο μελετήθηκε από τους Tsiropoulos κ. α (1999) σε αχλάδια, όπου η παρατηρούμενη μείωση των υπολειμμάτων του στα δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν μετά τον τελευταίο ψεκασμό αποδόθηκε, κατά κύριο λόγο, στο ότι ο όγκος και το βάρος των αχλαδιών συνέχισε να αυξάνεται μετά την τελευταία εφαρμογή προκαλώντας σημαντική διάλυση του φαρμάκου.

Όσον αφορά το έτος 2003, όπου πραγματοποιήθηκε ένας μόνο ψεκασμός στις 4 Αυγούστου, τα υπολείμματα 24 έως και 56 ημέρες μετά το ψεκασμό βρέθηκαν να κυμαίνονται από 0,226 έως 0,270mg kg⁻¹, παρουσιάζοντας και αυτά τη ίδια εμμονή που παρατηρήθηκε και στο πείραμα του 2002. Οι τιμές των υπολειμμάτων που βρέθηκαν το 2003 υπολείπονται αυτών του 2002 και αυτό θεωρείται φυσιολογικό καθόσον το αμπέλι δέχθηκε ένα ψεκασμό σε σχέση με τους δύο το 2002. Ακόμη επειδή ο ψεκασμός αυτός έγινε στις 4 Αυγούστου, θα πρέπει να θεωρηθεί ότι επέδρασε και το φαινόμενο της αραίωσης λόγω της αύξησης του καρπού , που την ημερομηνία του ψεκασμού δεν είχε πάρει το τελικό του μέγεθος.

Όσον αφορά τα υπολείμματα του flufenoxuron στο κρασί παρατηρούμε μεγάλη μείωση των υπολειμμάτων που μεταφέρθηκαν από τα σταφύλια στο μούστο, και στις δύο χρονιές, της τάξης 80 και 52%, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό φανερώνει ότι το flufenoxuron παρουσιάζει μια τάση προσρόφησης στα στερεά συστατικά του σταφυλιού και δεν μεταφέρεται στον παραγόμενο χυμό. Μετά τη φυγοκέντρηση του μούστου παρατηρείται επίσης σημαντική μείωση των υπολειμμάτων ενισχύοντας την παραπάνω άποψη ότι το flufenoxuron καθιζάνει με τα στερεά υλικά του μούστου. Η μείωση αυτή στον φυγοκεντρίμενο μούστο είναι της τάξης του 75 και 65% αντίστοιχα, για τις δύο χρονιές.

Τα τελικά υπολείμματα στο παραγόμενο κρασί ήταν 0.005 mg L⁻¹, για το 2003 και 0.007 mg L⁻¹ για το 2002, όταν τα υπολείμματα στα οινοποιηθέντα σταφύλια βρέθηκαν 0,226 mg kg⁻¹ και 0.685 mg L⁻¹ το 2003 και 2002, αντίστοιχα. Δηλαδή η ολική μείωση των υπολειμμάτων από την αρχική ποσότητα αυτών στα σταφύλια που οινοποιήθηκαν ήταν 99% για το 2002 και 98% για το 2003. Για το flufenoxuron δεν έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση ανώτατα επιτρεπτά όρια (MRLs) για τα σταφύλια και τον οίνο, παρά μόνο από κάποιες συγκεκριμένες χώρες, όπως η Ιαπωνία η οποία για τα σταφύλια έχει θεσπίσει ως ανώτατο επιτρεπτό όριο τα 2 mg kg⁻¹.

Το γενικό συμπέρασμα που προκύπτει για το flufenoxuron είναι η σταθερότητα των υπολειμμάτων του στα δείγματα σταφυλιών κατά το χρονικό διάστημα των μετρήσεων που πραγματοποιήσαμε και η σχετικά μεγάλη τάση προσρόφησης στη στερεή φάση που παρουσιάζει κατά το πέρασμα από το σταφύλι στο κρασί.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andre, L., 1970.** Les residus de pesticides dans les aliments après preparation culinaire ou traitement industriel.
- Cabras P., and Angioni A., 2000.** Pesticide Residues in Grapes, Wine, and Their Processing Products
- Cabras P., Angioni A., Garau V. I., Melis M., Pirisi F. M., Farris G. A., Sotgiu, C., Minelli E. V., 1997a.** Persistence and metabolism of folpet in grapes and wine. *J Agric. Food Chem.*, 45, 476-479.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. I., Minelli E. V., Melis M., Pirisi F. M., 1997b.** Pesticides in the distilled spirits of wine and its by-products *J Agric. Food Chem.*, 45, 2248-2251.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. I., Melis M., Pirisi F. M., Minelli E. V., Cabitza F., Cubeddu M., 1997c.** Fate of some new fungicides (cyprodinil, fludioxonil, pyrimethanil and tebuconazole) from vine to wine. *J. Agric Food Chem.*, 45, 2708-2710.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. L., Minelli E. V., Cabitza F., Pala M., 1998a.** Pesticide residues in raisin processing. *J Agric Food Chem.*, 46, 2309-2311.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. I., Pirisi F. M., Espinoza J., Mendoza A., Cabitza F., Pala M., Brandolini V., 1998b.** Fate of Azoxystrobin, Fluazinam, Kresoxim-methyl, Mepanipyrim and Tetraconazole from vine to wine. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3249-3251.
- Cabras P., Garau V. I., Angioni A., Farris G. A., Budroni M., Spanedda L., 1995a.** Interaction during fermentation between pesticides and oenological yeasts producing H₂S and SO₂. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43, 370-373.
- Cabras P., Garau V. I., Pirisi F. M., Cubeddu M., Cabitza F., Spanedda L., 1995b.** Fate of some insecticides from vine to wine. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2613-2615.
- Cabras P., Garau V. I., Melis M., Pirisi F. M., Tuberoso C. I. G., 1995c.** The effect of clarifying substances on organophosphorous insecticide residues in wine. *J Wine Res.*, 6, 201-205.
- Cabras P., Meloni M. and Pirisi F. M., 1987.** Pesticides fate from vine to wine. *Rev. Envir. Contam. Toxic.* 99, 83-117.
- Cabras P., Meloni, M., Pirisi F. M., Farris G. A., Fatichenti F., 1988.** Yeast and pesticide interaction during aerobic fermentation. *Appl. Microbiol. Blotechnol.*, 29,298-301.
- Clover M. Jr, . M. Carthy J. P. and. Rains D. M. , 1985.** Effect of cooking on levels of ethylene dipromide residues in rise. *J. Assos. Offic. Anal. Chem.* 68, 710-711.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, DG VI, 1990.** Report of the Scientific Committee for Pesticides on daminozide and unsymmetrical dimethyl hydrazine.
- Council Directive 94/43/EC. Off. J. Eur. Com. L227 (1994),** σελ. 31-35.
- Elkins E.R., 1989.** Effect of commercial processing on pesticide residues in selected fruits and vegetables. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 72, 533-535.
- FAO 1976.** JMPR Evaluations. Rome.
- FAO 1982.** JMPR Evaluations. Rome.
- FAO 1983.** JMPR Evaluations. Rome.
- FAO 1985.** JMPR Evaluations. Rome.
- FAO/WHO, 1986.** JMPR Evaluations. Rome.

- FAO/WHO, 1994. Guide to Codex Recommendations concerning pesticide residues, Part 7 CAC/PR
- Farris G. A., Fatichenti F., Cabras P., Meloni M., Pirisi F. M., 1989. Flor-yeast and fungicide interactions. *Sci. Aliments*, 9, 553-560.
- Fatichenti F., Farris G. A., Deiana P., Cabras P., Meloni M., Pirisi F. M., 1983. A preliminary investigation into the effect of *Saccharomyces cerevisiae* on pesticide concentration during fermentation. *Eur. J Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 323-325.
- Fatichenti F., Farris G. A., Deiana P., Cabras P., Meloni M., Pirisi F. M., 1984. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on concentration of dicarboximide and acylamide, fungicides and pyrethroid insecticides during fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 419-421.
- Martinez-Galera M, Lopez-Lopez T, Gil-Garcia MD, Martinez-Vidal JL, Parrilla Vazquez P. , 2001. Determination of benzoylureas in tomato by high-performance liquid chromatography using continuous on-line post-elution photoirradiation with fluorescence detection. *J Chromatogr* 18;918(1):79-85.
- Mensah J. K., Lundanes E., Greibrokk T., Holen B., 1997. Determination of diflubenzuron in apples by gas chromatography. *J. Chromatogr.* 765: σελ. 85-90.
- Moleas T. , 1988. La Lobesia botrana Den. et Schiff. (Tortricidae-Lepidoptera), un potenziale pericolo per l'actinidia (*Actinidia chinensis* Planchon). *Inform. Fitopatologico* 38 (12),71-73
- Galoux M., M. de Proft, and Bernes A., 1992. Aldicarb in edible potato crops: Agronomic interest and residues in tubers during growth and after cooking. *J. Agric. Food Chem.* 40, 139-141.
- Geisman, J.R., 1975. Reduction of pesticide residues in food crops by processing. *Res. Rev.* 54, 43-54.
- Hopkins W. A. and Lauren D. R. , 1990. Analysis of the pesticide flufenoxuron in apples and kiwi by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 516: σελ. 442-445
- Lentza-Rizos Ch., 1990. Ethylenethionila (ETU) in relation to use of EBOC fungicides. *Rev. Env. Cont. Toxic.* 115, 1-37.
- Lundehn J.R., 1993. Guidelines for the establishment of Community Maximum Residues Levels (MRLs) of plant protection products in food and foodstuffs of plant and animal origin. Study prepared for the DGVI of the Commission of European Communities.
- Miliadis GE, Tsiropoulos NG, Aplada-Sarlis PG., 1999. High-performance liquid chromatographic determination of benzoylurea insecticides residues in grapes and wine using liquid and solid-phase extraction. *J Chromatogr A.* 835(1-2),113-20
- Sala C., Fort F., Busto O., Zamora F., Arola L., and Guasch J., 1996. Fate of Some Common Pesticides during Vinification Process. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3668-3671.
- The pesticide manual, 10 Ed., British crop protection council and the royal society of chemistry, London, UK
- Tomsej T., Hajslova J., 1995. Determination of benzoylurea insecticides in apples by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 704: σελ. 513-517.
- Tsiropoulos N. G., Aplada-Sarli P. G., Miliadis G. E., 1999. Evaluation of Teflubenzuron Residue Levels in Grapes Exposed to Field Treatments and in the Must Produced from Them. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4583-4586.

- Tsiropoulos N. G., Aplada-Sarli P. G., Miliadis G. E., 1999a.** Determination of Benzoylurea Insecticides in Apples and Pears by Solid-Phase Extraction Cleanup and Liquid Chromatography with UV Detection. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* , 82. , σελ. 213-216.
- Zironi R., Farris G. A., Cabras P., Fatichenti F., 1991.** Pesticides residues from vine to wine. *Proc. Acc. Ital. Vite Vino*
- Valenzuela AI, Lorenzini R, Redondo MJ, Font G., 1999.** Matrix solid-phase dispersion microextraction and determination by high-performance liquid chromatography with UV detection of pesticide residues in citrus fruit. *J Chromatogr.* 839(1-2),101-7.
- Visi E., 1984.** Methods of Extraction. In: Pesticide Residue Analysis. Ambrus, A., Greenhalgh, R., Eds. Proceedings of a joint FAO/WHO course, Rome. 63-68.
- WHO, 1972.** Pesticide residues No 2. Evaluation of some pesticide residues in food.
- WHO, 1989.** Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues. Prepared by the joint UNEP/FAO/WHO food Contamination Monitoring, in collaboration with the Codex Committee on Pesticide Residues.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Απλαδά-Σαρλή Π., 1999** Κοινοτική νομοθεσία για τον προσδιορισμό ορίων υπολειμμάτων (MRLs), Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο. Τμήμα Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων & Φυτοφαρμακευτικής σελ. 74-82.
- Απλαδά-Σαρλή Π., 1999** Δειγματοληψίες γεωργικών προϊόντων για προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο. Τμήμα Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων & Φυτοφαρμακευτικής σελ 61-63.
- ΕΟΚ, 1991.** Residues data from supervised trials. Document αριθ. 5395/VI/91
- ΕΟΚ, 1991.** Preliminary draft guidelines for establishing Community MRLs, Document αριθ. 3411/VI/91-EN rev. 2
- Κατσόγιαννος Β. Ι και Κωβαίος Δ., 1996.** Ολοκληρωμένη καταπολέμηση εχθρών: Γενικές αρχές, πρόοδος στην εφαρμογή της, προβλήματα και προοπτικές. Γεωργία- Κτηνοτροφία τευχ. 8. 48-53.
- Λέντζα-Ρίζου Χ., 1994.** Υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων στα αγροτικά προϊόντα. Ρυθμίσεις στην Ευρωπαϊκή Ένωση για την προστασία καταναλωτών και τη διευκόλυνση των εμπορικών συναλλαγών. Έκδοση της συγγραφέως.
- Λέντζα-Ρίζου Χ., 1997.** Γεωργική Φαρμακολογία, Διδακτικές σημειώσεις, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής και Ζωϊκής Παραγωγής, Βόλος. 407 σελ.
- Λέντζα-Ρίζου Χ., 1997.** Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των φαρμάκων στα φυτικά προϊόντα. Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα, Τόμος 8, Τεύχος 2, σελ. 83-93.
- Λέντζα-Ρίζου Χ., 1999.** Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων. Μεταβολισμός των φυτοφαρμάκων - Αποικοδόμηση. Γεωργική Φαρμακολογία. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. σελ 210-240, σελ 72-87.
- Μανουσάκη Γ., Ασλανίδη Π., Μπόλου Χ., 1998.** Αρχές γενικής χημείας Εκδόσεις Αφοι Κυριακίδη Α.Ε. , Θεσσαλονίκη.
- Μηλιάδης Γ.Ε., 1985.** Αναλύσεις για προσδιορισμό υπολειμμάτων γεωργικών

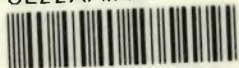
- φαρμάκων. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο
- Παναγόπουλος Χ. Γ., 1997.** Ασθένειες καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
- Παπαδογιάννης Ι., 1992.** Διαχωριστικές τεχνικές στην Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Εκδ. Α. Σιμώνη-Σ. Χατζηπάντου, Θεσσαλονίκη.
- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου Ε., 1991.** Σημειώσεις Γεωργικής Φαρμακολογίας. Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- Σταύρακας Δ. Ε., 1997.** Μαθήματα Γενικής Αμπελουργίας. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας. Σελ, 1-15.
- Τζανακάκης Μ. Ε., 1995.** Καταπολέμηση των εντόμων, μέθοδοι και μέτρα καταπολέμησης. Εντομολογία. University studio press, Θεσσαλονίκη: σελ 196-198, σελ 307-310, σελ 323-352.
- Τζανακάκης Μ. Ε., Κατσόγιαννος Β. Ι., 2003.** Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα
- Τσακίρης Α., 1995.** Ελληνική οινογενεσία. Περιήγηση στα ελληνικά κρασιά. Εκδόσεις Ηνίοχος.
- Τσιρόπουλος Ν., 1999.** Εργαστηριακές σημειώσεις και ασκήσεις οργανικής χημείας , Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας ,σελ. 60-65,σελ. 10.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- <http://ipmworld.unm.edu/chapters/ware.htm>
<http://www.hclrss.demon.co.uk/flufenoxuron.html>
<http://www.pentol.ch/lexicon.asp?code=10&term=163>



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000074282