

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ- ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
85
12-7-2005

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ- ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

‘ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗΣ

ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΔΥΟ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ *FENITROTHION*

ΣΕ ΣΤΑΦΥΛΙΑ ΣΕ ΑΜΠΕΛΩΝΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ Ν. ΑΓΧΙΑΛΟΥ’

Μπέλη Αικατερίνη
ΒΟΛΟΣ 2005





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

Αριθ. Εισ.: 4883/1
Ημερ. Εισ.: 6/9/2006
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΦΠΑΠ
2005
ΜΠΕ

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

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*‘ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ
ΔΥΟ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ fenitrothion
ΣΕ ΣΤΑΦΥΛΙΑ ΣΕ ΑΜΠΕΛΩΝΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ Ν. ΑΓΧΙΑΛΟΥ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ’*

Μπέλη Αικατερίνη

Εξεταστική επιτροπή

Τσιρόπουλος Ν.
Επίκουρος Καθηγητής
Επιβλέπων

Νάνος Γ.
Επίκουρος Καθηγητής
Μέλος

Τσιτσιπής Ι.
Καθηγητής
Μέλος

ΒΟΛΟΣ 2005

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και να εκφράσω τη βαθύτατη εκτίμησή μου στον Επίκουρο Καθηγητή Χημείας κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο, επιβλέποντα αυτής της εργασίας, ο οποίος μου προσέφερε πολύτιμες επιστημονικές γνώσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος αλλά και σημαντική καθοδήγηση κατά τη συγγραφή της πτυχιακής μου.

Επίσης, ευχαριστώ τον Καθηγητή Εντομολογίας κ. Τσιτσιπή Ι. και τον Επίκουρο Καθηγητή Δενδροκομίας κ. Νάνο Γ. για τις ουσιώδεις διορθώσεις τους, οι οποίες συνέβαλαν στη βελτίωση του λόγου και στην ολοκληρωμένη εμφάνιση του κειμένου ώστε να είναι ιδιαίτερα κατανοητό σε όλους.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ τον γεωπόνο και υποψήφιο διδάκτορα Δημήτριο Λύκα για την άμεση εξοικείωση στον εργαστηριακό χώρο και τη βοήθειά του κατά την εκτέλεση του πειράματος, τον Δρ. Καρπούζα Δ. για την παροχή πληροφοριών και τον Δρ. Κουνδουρά Στ. για τις συμβουλές του.

Οφείλω ακόμη να ευχαριστήσω για τη συμπαράστασή τους, την οικογένειά μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
---------------	---

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
---------------	---

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 9

1. Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ 10

1.1. Υπάρχουσα κατάσταση στην Ελλάδα και στην Ευρώπη.....	10
1.2. Οι εκτάσεις των Ελληνικών αμπελώνων.....	11
1.3. Ποικιλίες αμπελιού που καλλιεργούνται στην Ελλάδα.....	12

2. ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ, ΖΙΖΑΝΙΩΝ ΚΑΙ ΕΧΘΡΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ 13

2.1. Οι ασθένειες της αμπέλου	13
2.2. Τα ζιζάνια της αμπέλου.....	13
2.3. Οι εχθροί της αμπέλου	14
2.4. Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα	20
2.5. Το fenitrothion	20

3. ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ..... 23

3.1. Κατηγορίες σκευασμάτων	23
3.2. Μικροεγκλεισμός (Microencapsulation).....	23
3.3. Εφαρμογές της τεχνικής του μικροεγκλεισμού	24
3.4. Σκευάσματα αργής αποδέσμευσης	26
3.5. Γεωργικές εφαρμογές.....	27
3.6. Μικροκάψουλες και μέλισσες.....	29

4. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ 32

4.1. Το Μέγιστο ή Ανώτατο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων στα προϊόντα.	32
4.2. Τα υπολείμματα στα γεωργικά προϊόντα και οι σχετικές νομοθεσίες τους.....	33
4.3. Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων	35
4.4. Αξιολόγηση (validation) των μεθόδων προσδιορισμού υπολειμμάτων	37
4.5. Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των φαρμάκων στα φυτικά προϊόντα	38
4.6. Υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα σταφύλια και στο κρασί.....	39

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ43

5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ..... 44

5.1. Πείραμα αγρού.....	44
5.2. Δειγματοληψία στον αγρό.....	45
5.3. Διαδικασία οينوποίησης.....	45
5.4. Υλικά-χημικά αντιδραστήρια-διαλύματα	46
5.5. Μέθοδος εκχύλισηςγια το σταφύλι και το μούστο.	47

5.6. Μέθοδος εκχύλισης για το κρασί.....	47
5.7. Χρωματογραφική ανάλυση	48
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ –ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	49
6. 1. Ποιοτικός προσδιορισμός.....	49
6. 2. Ποσοτικός προσδιορισμός.....	49
6. 3. Έλεγχος της μεθόδου.	53
6. 4. Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenitrothion σε σταφύλια	54
6. 5. Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenitrothion στο κρασί.....	59
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	62
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της μελέτης, ήταν η συγκριτική παρακολούθηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου fenitrothion σε σταφύλια in situ στον αμπελώνα μετά από ψεκασμό, στις συνιστώμενες δόσεις, δύο διαφορετικών εμπορικών σκευασμάτων της δραστικής ουσίας fenitrothion ένα βραδείας ελευθέρωσης, το IPM CS 40% σε μορφή μικροκάψουλας και το άλλο, Fenthron EC 50%, σε μορφή γαλακτώματος, καθώς και της υποβάθμισης των υπολειμμάτων του μετά την οινοποίηση των σταφυλιών.

Το πείραμα αγρού πραγματοποιήθηκε σε αμπελώνα στη Νέα Αγχίαλο Μαγνησίας σε δύο οινοποιήσιμες ποικιλίες σταφυλιών, μιας λευκής οινοποίησης (Ροδίτης) και μιας ερυθρής οινοποίησης (Cabernet Sauvignon) και για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων του fenitrothion συλλέχθηκαν δείγματα σταφυλιών σε διάφορες ημερομηνίες μετά την επέμβαση. Το 2002 έγινε μία επέμβαση με το σκεύασμα IPM CS 40. Το 2003 τελέσθηκαν δύο επεμβάσεις, σε διαφορετικά πειραματικά τεμάχια η κάθε μία, μία με σκεύασμα IPM CS 40% και μία με σκεύασμα Fenthron EC 50%. Για την εργαστηριακή οινοποίηση συλλέχθηκαν σταφύλια 15-20 ημέρες από την εφαρμογή (HAE) και οδηγήθηκαν προς οινοποίηση.

Για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (GC – NPD) μετά από εκχύλιση των δειγμάτων σταφυλιού και μούστου με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα και των δειγμάτων κρασιού με ακετόνη και διχλωρομεθάνιο.

Στην περίπτωση της επέμβασης με το σκεύασμα IPM CS τα υπολείμματα του fenitrothion στα σταφύλια 15 ημέρες από την εφαρμογή (HAE), βρέθηκαν 1,0 mg/kg και 1,2 mg/kg για το 2003 και 2,0 mg/kg για το 2002, τιμές αρκετά υψηλότερες από τα ανώτερα επιτρεπτά όρια (0,5 mg/kg) στο σταφύλι. Στην περίπτωση της επέμβασης με το σκεύασμα EC τα αποτελέσματα έδειξαν μια ταχεία υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenitrothion, τέτοια που σε 7 HAE οι μετρούμενες συγκεντρώσεις (0,18 mg/kg) να είναι καθαρά κάτω από τα ανώτερα επιτρεπτά όρια.

Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων στο κρασί βρέθηκαν να κυμαίνονται από 0,002 έως και 0,10 mg/kg . Όλα τα κρασιά που προήλθαν από οινοποιήσεις σταφυλιών που δέχθηκαν ψεκασμούς με το σκεύασμα της μικροκάψουλας, έχουν συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,03 έως 0,10 mg/kg.

Παρουσιάζεται, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής, μια διαφορετική πορεία υποβάθμισης των υπολειμμάτων του fenitrothion ανάλογα με το σκεύασμα με το οποίο έγινε η επέμβαση και, ως εκ τούτου, προκύπτει ανάγκη περαιτέρω έρευνας σχετικά με τη συμπεριφορά του fenitrothion με την μορφή σκευάσματος ελεγχόμενης απελευθέρωσης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εργασία αυτή σχεδιάστηκε **με σκοπό** να μελετηθεί η πορεία των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων με διαφορετική μορφή σκευάσματος στον αμπελώνα, παρακολουθώντας την υποβάθμιση των υπολειμμάτων στο σταφύλι καθώς και την υποβάθμιση κατά τη διάρκεια της οινοποίησής τους. Για τη μελέτη αυτή **επιλέχθηκε το fenitrothion** (οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο) που διατίθεται **σε δύο μορφές εμπορικού σκευάσματος**, οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη φυτοπροστασία του αμπελιού, τη μορφή μικροκάψουλας βραδείας αποδέσμευσης, IPM CS 40% και τη μορφή του γαλακτώματος EC (π.χ. Fenthron EC 50%). Λόγω της τάσης που επικρατεί τελευταία για τη μείωση των επεμβάσεων, το fenitrothion σε μορφή μικροκάψουλας βραδείας αποδέσμευσης έχει αυξανόμενη εφαρμογή και χρησιμοποιείται στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης. Λόγω της βραδείας αποδέσμευσής του έχει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα βιολογικής δράσης (10-15 ημέρες) σύμφωνα με την ετικέτα του σκευάσματος και είναι φιλικό προς το χρήστη διότι δεν εκτίθεται απευθείας στη δραστική ουσία του. Το χρονικό όριο συγκομιδής από την τελευταία επέμβαση (PHI) είναι 14 ημέρες όπως αναφέρεται στις οδηγίες της συσκευασίας και τα ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων (MRLs) του fenitrothion στο σταφύλι, τα οποία έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση είναι 0,5 mg/kg, ενώ τα ανώτερα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων που έχει θεσπίσει η Ιταλία για το κρασί είναι 0,01 mg/kg.

Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε το 2002 και 2003 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.

Το κείμενο της εργασίας είναι οργανωμένο σε δύο μέρη, τη βιβλιογραφική ανασκόπηση και το πειραματικό μέρος. Στη **βιβλιογραφική ανασκόπηση**, δίνονται γενικές πληροφορίες για την υφιστάμενη κατάσταση της αμπελοκαλλιέργειας στη χώρα μας (Κεφάλαιο 1) και παρουσιάζεται σύντομα η ολοκληρωμένη καταπολέμηση εχθρών, ασθενειών και ζιζανίων της αμπέλου (Κεφάλαιο 2). Στη συνέχεια δίνονται πληροφορίες σχετικά με τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα και την τεχνολογία του μικροεγκλεισμού ή μικροενθυλάκωσης (microencapsulation) για την επίτευξη της ελεγχόμενης αποδέσμευσής τους (Κεφάλαιο 3).

Έπειτα, γίνεται αναφορά στα υπολείμματά τους στο αμπέλι και στα προϊόντα του και στις μεθόδους προσδιορισμού τους (Κεφάλαιο 4).

Στο **πειραματικό μέρος**, περιγράφεται η διαδικασία που ακολουθήθηκε κατά την εκτέλεση του πειράματος (Κεφάλαιο 5) και η αναλυτική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων στα συλλεχθέντα δείγματα καρπών και στο κρασί (Κεφάλαιο 6). Τέλος, παρουσιάζονται και συζητούνται τα αποτελέσματα που προέκυψαν και αφορούν την αξιολόγηση της αναλυτικής μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε, την πορεία των υπολειμμάτων στα δείγματα σταφυλιού και οίνου και τα συμπεράσματα.

1. Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Ο αμπελουργικός - αμπελοοινικός τομέας στην Ελλάδα λειτουργεί επί σειρά ετών μιας που συγκεντρώνει μοναδικά συγκριτικά πλεονεκτήματα ακόμη και σε σύγκριση με αντίστοιχους τομείς άλλων οινοπαραγωγών χωρών. Συνοπτικά κάποια από αυτά είναι:

- Η βαθιά παράδοση των Ελλήνων στην καλλιέργεια αμπελιού και στην οινοποιία, που ακολουθεί μια ιστορική διαδρομή χιλιάδων ετών.
- Η μοναδικότητα του ποικιλιακού πλούτου που έχει να παρουσιάσει ο αμπελώνας μας. Καμιά άλλη χώρα του κόσμου δεν έχει τόσες πολλές και τέτοιας ποιότητας γηγενείς ποικιλίες όπως η Ελλάδα.
- Η κλιματολογική και εδαφολογική ιδιαιτερότητα του ελλαδικού χώρου διαφοροποιούν την παραγωγή ακόμη και μέσα στην ίδια τη μικροπεριοχή.
- Η πολιτισμική σχέση των Ελλήνων με το κρασί σε όλες τις εκφάνσεις και εκδηλώσεις της ανθρώπινης συμπεριφοράς καταγράφεται παγκόσμια σαν μοναδικό φαινόμενο.
- Το ελληνικό διατροφικό πρότυπο (μεσογειακή διαίτα) στο οποίο κυριαρχεί το κρασί, αποτελεί ξεχωριστό συγκριτικό πλεονέκτημα για την ανθρώπινη υγεία.
- Η σύγχρονη τουριστική ανάπτυξη της χώρας αποτελεί εν πολλοίς ανεκμετάλλευτη ευκαιρία για ουσιώδη προώθηση των εξαγωγών των ποιοτικών ελληνικών κρασιών και την εισαγωγή τους σε νέες δυναμικές αγορές.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση συναντάμε χώρες με δυναμική παρουσία στον κλάδο αμπέλι – κρασί όπως η Πορτογαλία, η Γαλλία, η Ιταλία και η Ισπανία, ενώ ακόμη και βόρειες χώρες όπως η Γερμανία και η Αυστρία, αναπτύσσουν την αμπελοκαλλιέργεια και την οινοποιία χωρίς όμως να μπορούν να ανταγωνιστούν τις προαναφερθείσες Μεσογειακές χώρες. Είναι φανερό ότι ο κλάδος είναι σημαντικότερος για την Ε.Ε. ενώ η Ελλάδα, παρά τα σημαντικά συγκριτικά πλεονεκτήματα που διαθέτει, δεν έχει βρει ακόμη την θέση που της αξίζει.

1.1. Υπάρχουσα κατάσταση στην Ελλάδα και στην Ευρώπη

Το ιστορικό του κλάδου της οινοποιίας είναι άμεσα συνυφασμένο με την αμπελοκαλλιέργεια, δραστηριότητα που είναι γνωστή από τα βάθη της αρχαιότητας. Όσον αφορά τη σύγχρονη Ελληνική οινοποιία, η ουσιαστική ανάπτυξη του εμφιαλωμένου κρασιού στην Ελλάδα τοποθετείται στη δεκαετία του 1960. Από τη δεκαετία του 1960 γίνονται οι πρώτες ουσιαστικές επενδύσεις σε εγκαταστάσεις και σε μηχανικό εξοπλισμό. Την τελευταία δεκαετία οι προσπάθειες ανάπτυξης παρουσίασαν θεαματική βελτίωση των εγχώριων εμφιαλωμένων κρασιών. Παράλληλα θεσμοθετούνται από το Υπουργείο Γεωργίας και οι

περιοχές για παραγωγή οίνων ονομασίας προελεύσεως (ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ. ΑΜΠΕΛΙ – ΚΡΑΣΙ. ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΗΣ : ANEM A.E. ΒΟΛΟΣ 2003).

1.2. Οι εκτάσεις των Ελληνικών αμπελώνων

Διαχρονικά οι εκτάσεις των ελληνικών αμπελώνων παρουσιάζουν αυξομειώσεις. Από τα διαθέσιμα στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας το 1988 σε όλη την επικράτεια υπήρχαν 1.613.308 στρεμ. αμπελώνων ενώ το 1989 παρουσιάζεται μια οριακή αύξηση 2.000 στρεμ. περίπου. Από το 1990 μέχρι και σήμερα η έκταση των αμπελώνων μειώνεται, ενώ σύμφωνα με στοιχεία του 1997 η συνολική έκταση των αμπελώνων ήταν 1.323.175 στρεμ. Οι προαναφερόμενοι πτωτικοί ρυθμοί της αμπελοκαλλιέργειας είναι της τάξης του 10% την τελευταία πενταετία έως το 1998. Συγκρίνοντας τα διαθέσιμα στοιχεία για τις εκτάσεις των αμπελώνων της Ελλάδας (1.320.000 στρ.) με τις αντίστοιχες χωρών μελών της Ένωσης, η χώρα μας βρίσκεται στις τελευταίες θέσεις απέχοντας κατά πολύ από τις εκτάσεις χωρών όπως η Ισπανία (10.210.000 στρ.) και η Γαλλία (9.780.000 στρ.) .

Όσον αφορά τη γεωγραφική κατανομή των ελληνικών εκτάσεων, ο μεγαλύτερος αριθμός αμπελώνων (στοιχεία του 1996) βρίσκεται στην Κρήτη με 293.482 στρέμ. ενώ ακολουθούν η Πελοπόννησος με 259,567 στρέμ. και η περιφέρεια της Δυτικής Ελλάδας με 195.804 στρέμ. ενώ η Θεσσαλία είναι πολύ πιο πίσω με 62.330 στρέμ.

Σχετικά με τις εκτάσεις των καλλιεργούμενων ποικιλιών στη χώρα μας, οι οινάμπελοι κατέχουν περίπου το 45% των αμπελώνων, ενώ οι υπόλοιπες εκτάσεις καλλιεργούνται με επιτραπέζιες ποικιλίες και σταφίδα. Η μέση έκταση για την Ελλάδα είναι περίπου 5 στρεμ. για τις ποικιλίες V.Q.P.R.D. (Ονομασία Προέλευσης Ανωτέρας Ποιότητας, Ο.Π.Α.Π.) ενώ για την Ε.Ε είναι 11-70 στρεμ. Για τις επιτραπέζιες ποικιλίες η μέση έκταση για την Ελλάδα είναι 4 στρεμ. ενώ είναι 7-35 στρεμ. για την Ε.Ε.

Οι ποικιλίες που προορίζονται για κρασί καταλαμβάνουν το 80% περίπου της συνολικής έκτασης των οιναμπέλων, σημειώνοντας πτώση της τάξης του 13,4% από το 1988. Παράλληλα ένα σημαντικό στοιχείο είναι ότι ενισχύεται το μερίδιο των ποικιλιών για κρασιά ποιότητας, αν και παρουσιάζουν μια πτώση της τάξης του 2,6% αντίστοιχα. Η πτώση αυτή οφείλεται κατά κύριο λόγο στο μέτρο των επιδοτούμενων εκριζώσεων που εφάρμοσε η Κοινότητα, με σκοπό τον περιορισμό της υψηλής παραγωγής και των συσσωρευμένων αποθεμάτων.

1.3. Ποικιλίες αμπελιού που καλλιεργούνται στην Ελλάδα

Το σύνολο σχεδόν της αμπελοοινικής μας παραγωγής το συνθέτουν οι εξής ποικιλίες που καλλιεργούνται σε μεγάλες εκτάσεις στη χώρα μας (Πίνακας 1):

Πίνακας 1. Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται στη χώρα μας

Επιτραπέζιες ποικιλίες	Ποικιλίες οινοποιίας		Ποικιλίες σταφιδοποιίας
	Λευκές ποικιλίες	Ερυθρές ποικιλίες	
Κάρντιναλ, Βικτόρια, Ροζακί, Σουλτανίνα, Μοσχάτο Αμβούργου, Ριπιέ, Ιτάλια, Φράουλα και σε μικρότερες εκτάσεις οι ποικιλίες Αττική και Φλέϊμ Σίντλες.	Ντεμπίνα, Μοσχάτο Αλεξανδρείας, Μοσχάτο άσπρο (Σάμου), Σαββατιανό, Ασύρτικο, Αθήρι, Αϊδανί άσπρο, Βηλάνα, Μονεμβασιά, Γλυκερήθρα, Μοσχάτο Τράνι, Ρομπόλα, Ροδίτης, Μοσχοφίλερο.	Ξυνόμαυρο, Νεγκόσκα, Κρασατό, Σταυρωτό, Αγιωρίτικο, Λημιό, Μανδηλαρία, Λιάτικο, Κοτσιφάλι, Μαυροδάφνη, Κορινθιακή σταφίδα. Μαύρο Μεσινικόλα, Καμπερνέ Σοβινόν, Καμπερνέ Γράνκ, Συράχ, Καρινιάν	Σουλτανίνα Κορινθιακή

Από τις πιο σημαντικές οινοποιήσιμες ποικιλίες για την Ελλάδα είναι ο Ροδίτης, με συνώνυμα Ρογδίτης, Ροϊδίτης, Αλεπού, Ροδομούσι κ.α. Πρόκειται για ποικιλία που καλλιεργείται από παλιά στη χώρα μας. Καλλιεργείται σε όλη την αμπελουργική Ελλάδα και είναι ιδιαίτερα εντοπισμένη στην Αττική, την Εύβοια, τη Βοιωτία, τη Βόρεια και τη Δυτική Πελοπόννησο καθώς και την αμπελουργική ζώνη Ν. Αγχιάλου Μαγνησίας.

Ο Σταύρακας (1997) δίνει τα παρακάτω στοιχεία για την ποικιλία ροδίτης. Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά: Δίνει σταφυλή μεγάλη, κυλινδροκωνική και καμία φορά πτερυγωτή, μέσης πυκνότητας. Ράγα μέτρια προς μεγάλη, σφαιροκωνοειδή, χρώματος λευκορόδινου ανομοιογενούς, έως ρόδινου. Είναι ποικιλία ζωηρή, παραγωγική, με στρεμματική απόδοση που μπορεί να ξεπεράσει τα 2.000 κιλά. Προτιμά εδάφη βαρεία, πλούσια, δροσερά και αργιλοασβεστώδη. Είναι ευαίσθητη στον περονόσπορο, το μολυσματικό εκφυλισμό και την ανθόρροια. Φθάνει στο στάδιο της βιομηχανικής ωρίμανσης από τα μέσα Σεπτεμβρίου έως τα μέσα Οκτωβρίου, ανάλογα με την περιοχή. Από την ποικιλία Ροδίτης παράγονται εκλεκτής ποιότητας ξηροί, λευκοί και ρόδινοι οίνοι, καθώς και ρετσίνες. Σταφύλια του Ροδίτη από κλώνους με τραγανή σάρκα χρησιμοποιούνται από ορισμένες περιοχές για επιτραπέζια χρήση.

2. ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ, ΖΙΖΑΝΙΩΝ ΚΑΙ ΕΧΘΡΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

2.1. Οι ασθένειες της αμπέλου

Ο περονόσπορος (*Plasmopara viticola*) αποτελεί τη σπουδαιότερη μυκητολογική ασθένεια της αμπέλου και απειλεί κατ' έτος την παραγωγή στις υγρές και με συχνές βροχοπτώσεις περιφέρειες. Οι ξηρές περιοχές δε κινδυνεύουν από την ασθένεια π.χ. η Αττική. Το ωίδιο (*Oidium tuckeri*) είναι επίσης μια σημαντική ασθένεια η οποία αν δεν καταπολεμηθεί εγκαίρως και κάθε χρόνο μπορεί να προκαλέσει σημαντική μείωση της παραγωγής και της ποιότητας του προϊόντος. Τέλος, η φώμοψη (*Phomopsis viticola*) και η τεφρά σήψη (*Botrytis cinerea*) προσβάλλουν την άμπελο. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ίδιος μύκητας που προκαλεί την τεφρά σήψη είναι υπεύθυνος για το φαινόμενο της «ευγενούς σήψης» των σταφυλιών κάτω από ορισμένες κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες. Η ανάπτυξη της «ευγενούς σήψης» έχει ως αποτέλεσμα να παράγεται γλεύκος με υψηλή συγκέντρωση σακχάρου (30-40%) χωρίς την παράλληλη αύξηση της ολικής οξύτητας. Ο οίνος που παράγεται από τέτοιο γλεύκος είναι πολύ αρωματικός και υψηλής ποιότητας. (Παναγόπουλος, 1997)

Στη χώρα μας η αντιμετώπιση των ασθενειών γίνεται με ένα πρόγραμμα προληπτικών ψεκασμών το οποίο βασίζεται στα στάδια βλαστήσεως της αμπέλου, τις καιρικές συνθήκες των αμπελουργικών περιοχών και την πορεία της ασθένειας. Κρίσιμες επεμβάσεις για την αντιμετώπιση π.χ. της ασθένειας του περονόσπορου είναι στη περίοδο της προανθήσεως – ανθήσεως – γονιμοποιήσεως. Επίσης, η εφαρμογή καλλιεργητικών μέτρων που αναφέρθηκαν παραπάνω κρίνονται αναγκαία να εφαρμοσθούν πριν τη χρήση φυτοφαρμάκων.

2.2. Τα ζιζάνια της αμπέλου

Μερικά από τα σπουδαιότερα ζιζάνια που συναντώνται σε μια αμπελοκαλλιέργεια είναι: βλήτα, δρακοντιές, λουβουδιά, καλεντούλα, χαμομήλι, αγριομαργαρίτα, κίρσιο, μαρτιάκος, ζωχός, περικοκλάδα κ.α.

Με τον όρο ολοκληρωμένη αντιμετώπιση ζιζανίων ορίζεται 'ο συνδυασμός χημικών, βιολογικών, καλλιεργητικών, νομοθετικών και γενικά όλων εκείνων των μέσων που η εφαρμογή τους βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα σε ένα αγροοικοσύστημα έχει σαν αποτέλεσμα αφενός μεν τη διατήρηση του πληθυσμού των ζιζανίων σε τέτοιο επίπεδο που η

παρουσία τους δεν είναι ανταγωνιστική για την καλλιέργεια, αφετέρου δε τη μη διατάραξη της περιβαλλοντικής ισορροπίας του αγροοικοσυστήματος”. Σύμφωνα με τα παραπάνω, ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης περιλαμβάνει διάφορα μέτρα όπως: Προληπτικά, δηλαδή αντιμετώπιση των ζιζανίων πριν την εγκατάσταση του αμπελώνα, Μηχανική καταπολέμηση, Χημική καταπολέμηση, Βιολογική καταπολέμηση, Ηλιοαπολύμανση, Αλληλοπάθεια και Βιοτεχνολογικά μέσα. (Λόλας, 2003).

Μερικά από τα ζιζανιοκτόνα που χρησιμοποιούνται στο αμπέλι είναι: μίγματα των amitrole-atrazine, amitrole-atrazine-simazin, amitrole-diuron, amitrole-diuron-linuron-mondinuron, επίσης τα cycloxydim, fluazifop-p-butyl, glufosinate, napropamide, oxadiazon, oxyfluorfen, paraquat, propaquizafop και το simazine.

2.3. Οι εχθροί της αμπέλου

Ο σοβαρότερος εχθρός της αμπέλου στη χώρα μας είναι η ευδεμίδα (*Lobesia botrana*, Lepidoptera, Tortricidae). Λόγω του περιορισμού της καλλιέργειας του αμπελιού στη Βόρεια Ευρώπη είναι περιορισμένη η παρουσία της εκεί. Αντίθετα είναι διαδεδομένη στις νότιες περιοχές της Ευρώπης (κυρίως Πορτογαλία, Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία, Γιουγκοσλαβία, Ελλάδα, Βουλγαρία, Ρουμανία, Κριμαία, Καύκασο), σε ορισμένες περιοχές της βόρειας Αφρικής, της Μέσης Ανατολής και της Ιαπωνίας. Ανάμεσα στα καλλιεργούμενα φυτά ξενιστές συμπεριλαμβάνονται, εκτός από το αμπέλι, η ελιά και το φραγκοστάφυλο.



Εικόνα 1. Ενήλικο έντομο

Το ενήλικο (Εικόνες 1 και 2) έχει άνοιγμα πτερύγων 10-12mm, οι πρόσθιες πτέρυγες είναι διάσπαρτες από καφέ κηλίδες που θυμίζουν αμυδρά το μάρμαρο. Οι οπίσθιες πτέρυγες έχουν χρώμα γκριζό. Το είδος δεν παρουσιάζει έντονο φυλετικό διμορφισμό. Το αυγό είναι φακοειδές (0,7 * 0,6 mm), με χρώμα που στην αρχή είναι κιτρινωπό και στη συνέχεια γκριζό

ανοιχτό. Η ώριμη προνύμφη (Εικ.3 και 5) έχει μέγεθος περίπου 9-10 mm και ο χρωματισμός της ποικίλλει από το κίτρινο-πράσινο στο καφέ, με τμήματα ανοιχτού χρώματος που φέρουν τρίχες (Πίνακας 2). Η νύμφη έχει χρώμα καφέ και στα θηλυκά μεγαλύτερες διαστάσεις (4-6 mm) από τα αρσενικά. Το κωνικό τμήμα της έδρας καταλήγει σε κρεμαστήρα που παρουσιάζει 4 νωτιαία και 4 πλευρο-νωτιαία άγκιστρα, χαρακτηριστικό που τη διακρίνει από την *E. Ambiguella*. (<http> 12)



Εικόνα 2 Τέλειο έντομο

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά των προνυμφών τελευταίου σταδίου	
Μήκος	9-10 mm
Χρώμα σώματος	κίτρινο
Κεφαλική κάψα	πρασινωπή-καφέ
Προθωρακική πλάκα	κιτρινωπή-καφέ
Εδρική πλάκα	κίτρινη-πρασινωπή
Τριχοφόρες περιοχές	πιο ανοιχτόχρωμες από το υπόλοιπο σώμα

Το έντομο παρουσιάζει συνήθως 3 γενεές. Διαχειμάζει στο στάδιο της χρυσαλίδας σε ένα βομβύκιο κρυμμένο στο φλοιό (Εικ. 4). Η εμφάνιση των ακμαίων ξεκινά τον Απρίλιο. Οι πτήσεις μπορούν να διαρκέσουν πέρα από ένα μήνα και τα αρσενικά εμφανίζονται πριν από τα θηλυκά. Τα ακμαία παρουσιάζουν μεγαλύτερη δραστηριότητα το σούρουπο που εντείνεται στις υψηλότερες από 15⁰ C θερμοκρασίες. Η σύζευξη ξεκινά λίγες ημέρες μετά την πτήση.

Οι προνύμφες της πρώτης γενιάς περιφέρονται σε αναζήτηση των κλειστών ανθών τα οποία καταστρέφουν και τυλίγουν με μετάξινα νήματα σχηματίζοντας χαρακτηριστικές «κουκούλες». Οι πτήσεις της δεύτερης γενιάς ξεκινούν το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Ιουνίου, πιο συχνά στις αρχές Ιουλίου στα βόρεια και συνεχίζουν για 3-4 εβδομάδες. Οι πτήσεις παρουσιάζουν μια αιχμή που εντοπίζεται 1-2 εβδομάδες μετά την έναρξή τους. Οι

νεαρές προνύμφες εισχωρούν στο εσωτερικό των ραγών επιλέγοντας ορισμένες εισόδους, όπως π.χ. το σημείο επαφής των δύο ραγών. Όταν ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους αναζητούν και βρίσκουν ένα μέρος όπου γεννούν. Οι πτήσεις των νέων ακμαίων ξεκινούν το μήνα Αύγουστο και συνεχίζουν για ορισμένες εβδομάδες. Η τοποθέτηση των ωών πραγματοποιείται σε ράγες που βρίσκονται κοντά στην ωρίμανση. Αυτές οι προνύμφες προκαλούν ζημιές ακόμη πιο επικίνδυνες από εκείνες της προηγούμενης γενιάς, συγκεκριμένα επιφανειακά φαγώματα που παρέχουν τη δυνατότητα ανάπτυξης δευτερογενών σήψεων. (<http> 11)



Εικόνα 3. Προνύμφη στις νεαρές ράγες

2.3.1. Καταπολέμηση της ευδεμίδας (*Lobesia botrana*)

Η καταπολέμηση της ευδεμίδας συνήθως γίνεται με συνθετικά εντομοκτόνα αλλά και με μικροβιακά. Δοκιμάστηκε επίσης και στη χώρα μας, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα, η μέθοδος παρεμπόδισης σύζευξης αλλά δε χρησιμοποιείται ακόμα από τους αμπελουργούς. Επίσης έχει αναπτυχθεί ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια η ολοκληρωμένη καταπολέμηση για την προστασία του αμπελιού από την ευδεμίδα.

Στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης σε πειράματα στη χώρα μας επιτεύχθηκε ικανοποιητική προστασία ορισμένων οινοποιήσιμων και επιτραπέζιων ποικιλιών, όταν ο χρόνος επέμβασης ορίστηκε με βάση μόνο τις συλλήψεις αρσενικών σε παγίδες. Στις πλείστες χώρες της Ευρώπης, ο αριθμός των συλλαμβανόμενων σε παγίδες αρσενικών δεν έχει στενή συσχέτιση με το μέγεθος της βλάβης στις ράγες και συνεπώς δεν αποτελεί το κύριο κριτήριο για καθορισμό της ανάγκης εντομοκτόνων επεμβάσεων. Είναι όμως χρήσιμος δείκτης της έναρξης της καταμέτρησης των αυγών στους βότρους και των εκκολάψεων της 2^{ης} και 3^{ης} γενιάς του εντόμου, βάσει του αριθμού των οποίων ορίζονται οι ημερομηνίες ψεκασμού. Η παρεμπόδιση της σύζευξης με τοποθέτηση εξατμιστήρων ελκυστικής

φερομόνης φύλλου, έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα με λογικό κόστος σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες, όταν η πυκνότητα του πληθυσμού δεν ήταν μεγάλη. (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003)



Εικ. 4 Ζημιά εντόμου πάνω σε πρέμνο

Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και σε τέσσερις περιοχές της χώρας μας. Ιδιαίτερα στις περιοχές Ελασσόνας και Αταλάντης όπου η μέθοδος εφαρμόστηκε σε οиноποιήσιμες ποικιλίες για 5 έτη, η παραγωγή προστατεύτηκε εξ ίσου καλά όσο οι αμπελώνες που δέχτηκαν τους συνηθισμένους ψεκασμούς με εντομοκτόνα (Ι. Τσιτσιπής και συνεργάτες). Οι περίοδοι παρουσίας ενηλίκων της γενεάς που διαχειμάσε (συνήθως της 3ης), της 1ης και της 2^{ης} όπως προκύπτει από συλλήψεις σε φερομονικές παγίδες, ήταν αντίστοιχα Απρίλιος-Μάιος, Ιούνιος-Ιούλιος και Αύγουστος-Σεπτέμβριος για τις περιοχές του Ηρακλείου (Ροδιτάκης, 1987), της Αττικής και της Λάρισας (Μπρούμας και συνεργάτες, 1994,1995).



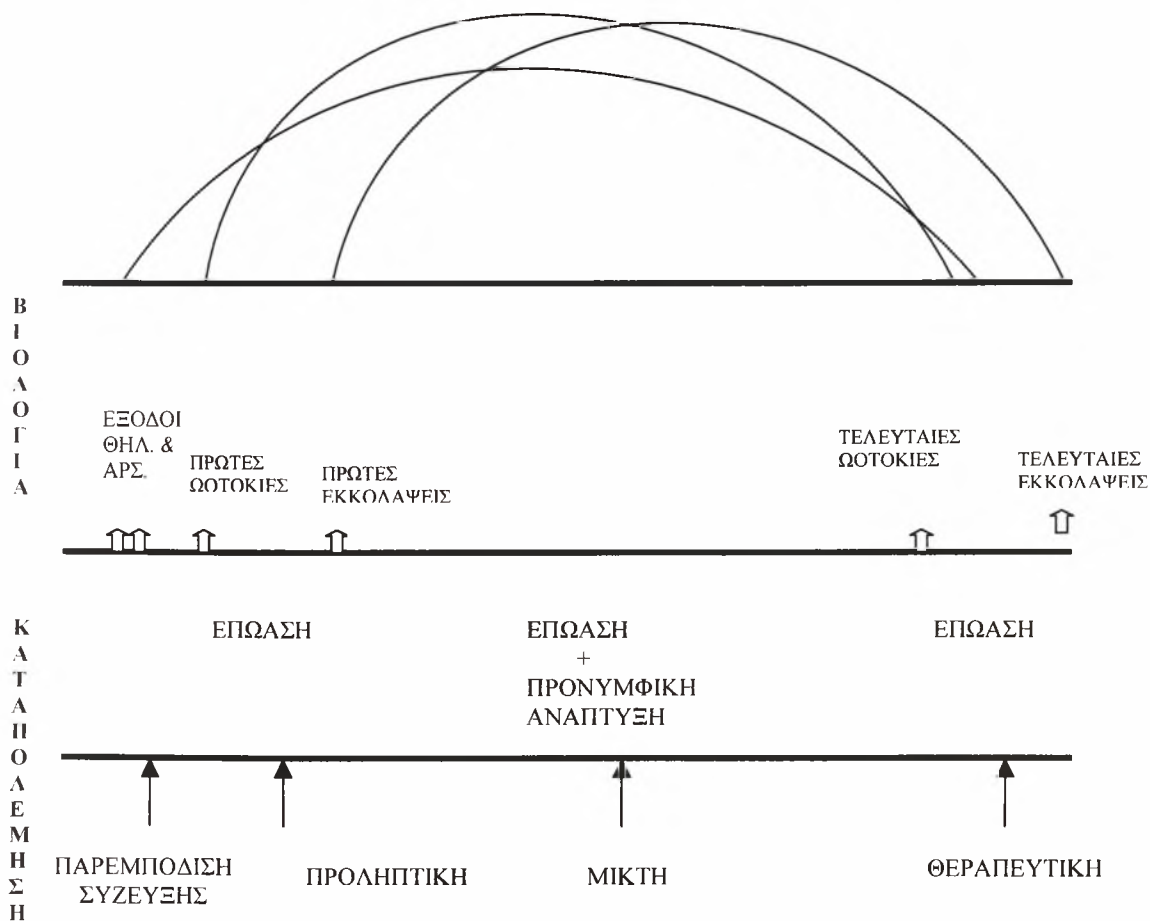
Εικ. 5 Προνύμφη πάνω στο πρέμνο

Για το Αμόνταιο Φλώρινας, οι αντίστοιχοι περίοδοι ήταν κυρίως Απρίλιος-Μάιος, Ιούλιος και Αύγουστος-Σεπτέμβριος μία πρώιμη χρονιά, αλλά Ιούνιος, Ιούλιος-Αύγουστος και Σεπτέμβριος μια όψιμη χρονιά. Στο νομό Καβάλας, σε Ροζάκι, οι περίοδοι ήταν Απρίλιος-Μάιος, Ιούνιος και Αύγουστος.

Απρίλιος-Μάιος, Ιούνιος και Αύγουστος.

Για την αντιμετώπιση της ευδεμίδας λαμβάνονται διάφορα μέτρα όπως η παρακολούθηση της πτήσης των ακμαίων με τροφικές ή φερομονικές παγίδες, η καταγραφή των φαινολογικών σταδίων της αμπέλου, ο έλεγχος φωτοκίων, εκκολάψεων και προνυμφικών σταδίων, η συγκέντρωση και αξιολόγηση των μετεωρολογικών δεδομένων, διάφορες φυσικές εκτροφές και μαθηματικά υποδείγματα καθώς και η χημική καταπολέμηση. Οι παράγοντες που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα των χημικών επεμβάσεων εξαρτώνται από το έντομο και από το εντομοκτόνο (Ρούμπος, 1996).

Ανάλογα με το σκοπό που επιδιώκεται, η στρατηγική καταπολέμησης διακρίνεται σε μικτή, προληπτική, μικτή ή θεραπευτική (Σχήμα 1).



Σχήμα 1: Στρατηγική καταπολέμησης της ευδεμίδας του αμπελιού

Για την καταπολέμηση της ευδεμίδας χρησιμοποιούνται διάφορα εντομοκτόνα, όπως:

- Οι ρυθμιστές ανάπτυξης των εντόμων, όπως το fenoxycarb, που εφαρμόζεται κατά την έναρξη των συλλήψεων των ακμαίων στις παγίδες και είναι ουδέτερο στα ωφέλιμα και σχετικά μη τοξικό στις μέλισσες, καθώς και τα tebufenozide, flufenoxuron, lufenuron και teflubenzuron, που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλουριών. Ανήκουν στην κατηγορία των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης.
- Το *Bacillus thuringensis* που χρησιμοποιείται για τη βιολογική αντιμετώπιση και εφαρμόζεται με την έναρξη των πρώτων εκκολάψεων και είναι ουδέτερο στα ωφέλιμα έντομα και στις μέλισσες (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).
- Διάφορα νευροτοξικά εντομοκτόνα μέλη της ομάδας των πυρεθρινών, των καρβαμιδικών και των οργανοφωσφορικών (Πίνακας 3.) (Ρούμπος 1996):
- Από τα χλωριωμένα εντομοκτόνα χρησιμοποιείται το endosulfan μόνο του ή μαζί με θερινό ορυκτέλαιο (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα χλωριωμένα εντομοκτόνα είναι πιο σταθερά από εκείνα της ομάδας των οργανοφωσφορικών και μερικοί από τους μεταβολίτες τους μπορεί να παραμείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο έδαφος και τους φυτικούς ιστούς. Για το λόγο αυτό τα περισσότερα είναι απαγορευμένα.

Πίνακας 3. Διάφορα νευροτοξικά εντομοκτόνα καταπολέμησης της ευδεμίδας

ΠΥΡΕΘΡΙΝΕΣ	ΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΑ	ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΑ
Έχουν τοξική δράση στα ωφέλιμα ακάρεα και τα περισσότερα είναι πολύ τοξικά στις μέλισσες.	Πολύ τοξικά για τις μέλισσες και τοξικά για τα ωφέλιμα ακάρεα	Ουδέτερα έως μέτρια τοξικά για τα ωφέλιμα και τοξικά για τις μέλισσες.
Alphamethrin, alphacypermethrin, bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenpropathrin, fenvalerate, permethrin	Carbaryl, methomyl, thiodicarb	Επαφής: chlorpyrifos-methyl, diazinon, dichlorvos, fenitrothion, malathion, methidathion, parathion ethyl, phosalone, phosmet, quinalphos Διασυστηματικά: acephate, dimethoate, formothion.

2.4. Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα

Τα περισσότερα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα είναι υγρά με χαρακτηριστική ισχυρή οσμή, έχουν μέτρια με σημαντική υδατοδιαλυτότητα και μέτρια τάση ατμών (10^{-3} - 10^{-5} mm Hg), ορισμένα δε είναι πολύ πτητικά. Ο μεταβολισμός τους περιλαμβάνει α) αντιδράσεις ενεργοποίησης, που οδηγούν στο σχηματισμό μεταβολιτών περισσότερο ενεργών βιολογικά συγκριτικά με τις μητρικές ουσίες από τις οποίες προέρχονται και β) αντιδράσεις καταβολισμού δηλαδή υδροξυλιώσεις, απαλκυλιώσεις κτλ.

Πρόκειται για δηλητήρια του νευρικού συστήματος που δρουν στις χοληνεργικές συνάψεις. Στον άνθρωπο και τα ανώτερα ζώα, χοληνεργικές είναι οι συνάψεις του κεντρικού νευρικού συστήματος, οι νευρομυϊκές συνάψεις των κινητηρίων νεύρων, οι προαγγλιονικές συνάψεις του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και οι μετααγγλιονικές και νευρομυϊκές συνάψεις του παρασυμπαθητικού νευρικού συστήματος. Στα έντομα, μόνο οι συνάψεις του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι χοληνεργικές. Η παρεμβολή των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων στις χοληνεργικές συνάψεις των ζώων έχει σαν συνέπεια: τη σύμπτυξη βρογχιόλων, μείωση της πίεσης του αίματος, παράλυση του διαφράγματος, παράλυση του αναπνευστικού κέντρου του εγκεφάλου και τελικά πρόκληση θανάτου από ασφυξία λόγω παράλυσης του αναπνευστικού συστήματος.

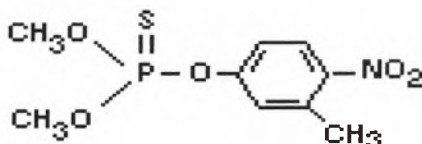
Τα περισσότερα οργανοφωσφορικά είναι εντομοκτόνα επαφής αλλά ορισμένα είναι και διασυστηματικά. Η εντομοκτόνος δράση τους εκδηλώνεται σχετικά γρήγορα, μέσα σε λίγες ώρες. Έχουν ευρύ φάσμα εντομοτοξικότητας και πολλά μέλη της ομάδας έχουν και ακαρεοκτόνο δράση. Η υπολειμματική τους διάρκεια είναι από μικρή έως σχετικά μεγάλη. Ορισμένα έχουν διεισδυτική ικανότητα σε φύλλα και καρπούς. (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991)

2.5. Το fenitrothion

Η ενεργή ουσία fenitrothion απαντάται σε ποικιλία σκευασμάτων. Εμπορικά ονόματα προϊόντων που περιέχουν fenitrothion είναι τα: Accothion, Agrothion, Bay 41831, Cyfen, Cytel, Dicofen, Fenstan, Folithion, Kaleit, Mep, Metathion, Micromite, Novathion, Nuvanol, Pestroy, Sumanone, Sumithion, Verthion. Στην ανατολική Ευρώπη χρησιμοποιείται με το κοινό όνομα methylnitrophos. Χρησιμοποιείται αποτελεσματικά εναντίων πολλών εντόμων όπως μασητικά, μυζητικά σε σιτηρά, βαμβάκι, ρύζι, λαχανικά, καλλωπιστικά. Χρησιμοποιείται επίσης για το κουνούπι, τη μύγα και την κατσαρίδα ως εντομοκτόνο επαφής

σε φάρμες και προγράμματα δημόσιας υγείας. Είναι πολύ λιγότερο τοξικό από το malathion με το οποίο έχουν παρόμοια εντομοκτόνο δράση. Είναι συμβατό με άλλα ουδέτερα εντομοκτόνα. ([http 2](#))

Το οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο fenitrothion (Σχήμα 2) (3-διμεθυλο, 4-μέθυλο, νιτροφαινόλο-φωσφοροθειονικός εστέρας) είναι υγρό, χρώματος κίτρινου-καφέ, με δυσάρεστη οσμή, με υδατοδιαλυτότητα 30 mg/l στους 20 °C και με τάση ατμών 18 mPa στους 20⁰C. ([http 1](#))



Σχήμα 2 Ο Μοριακός τύπος του fenitrothion

Η **Οξεία τοξικότητα** του fenitrothion στα θηλαστικά θεωρείται χαμηλή ενώ όσον αφορά τη **χρόνια τοξικότητα** του, αυτή εμφανίζεται με συμπτώματα στους ανθρώπους όπως: κούραση, πονοκέφαλος, απώλεια μνήμης, αδυναμία συγκέντρωσης, ανορεξία, ναυτία, δίψα, απώλεια βάρους, κράμπες, αδυναμία μυών και τρέμουλο. Μελέτες σε αγελάδες και πρόβατα στις οποίες παρέχονταν 100 mg/kg σωματικού βάρους/ μέρα για πάνω από 60-90 ημέρες, έδειξαν ότι δεν επηρέασε την παραγωγή γάλακτος. Άλλες μελέτες έδειξαν αναστολή ανάπτυξης και ποικίλα χοληνεργικά συμπτώματα σε αρουραίους 2 με 3 εβδομάδες μετά την παροχή 500ppm fenitrothion. Η τιμή NOEL για τη χοληνεστεράση εγκεφάλου και των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι 10ppm, ενώ για την αναστολή πλάσματος στα σκυλιά 5ppm. Το fenitrothion θεωρείται υπεύθυνο για νευροτοξικότητα σε ενήλικους αρουραίους και σε ανθρώπους. ([http 2](#)).

Το κύριο προϊόν μεταβολισμού του fenitrothion στα θηλαστικά είναι το **fenitrooxon** (II) αλλά και η **3-μέθυλ -4-νιτροφαινόλη** (VII) και άλλα διμέθυλ-παράγωγα (Σχήμα 3). Όπως συμβαίνει με όλα τα οργανοφωσφορικά, έτσι και το fenitrothion δρα παρεμποδίζοντας τη χοληνεστεράση πιθανότατα μετά από τη μετατροπή της στο οξυγονούχο ανάλογό της. Στοιχεία δείχνουν ότι η δράση του στον εγκέφαλο εξαρτάται περισσότερο από το ποσοστό διείσδυσης σε αυτόν, παρά από το ποσοστό οξείδωσης και αποδόμησης του fenitrothion. Το fenitrothion χρησιμοποιείται σε ποικιλία φυτικών προϊόντων όπως φρούτα, λαχανικά, ρύζι, δημητριακά, βαμβάκι. Οι συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής ποικίλουν για κάθε καλλιέργεια και για τον αντίστοιχο εχθρό της και ο χρόνος από την τελευταία εφαρμογή μέχρι τη συγκομιδή

(Preharvest Interval, PHI) κυμαίνεται στις 10-21 ημέρες. Στον Πίνακα 4 δίνονται οι ανώτατες τιμές των υπολειμμάτων του εντομοκτόνου ύστερα από την εφαρμογή του σε διάφορες καλλιέργειες. (http 1).

Πίνακας 4. Μέγιστες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων fenitrothion σε διάφορα προϊόντα σε σχέση με το χρόνο εφαρμογής του

Φυτό	Δόση δραστικής ουσίας	Εφαρμογή (Ημέρες από τη συγκομιδή)	Συγκέντρωση fenitrothion στη συγκομιδή (mg/kg)
Μήλο	0.2% spray	7 και 14	0.5 και 0.35
Κεράσι	0.2% spray	7 και 14	0.5 και 0.2
Σταφύλι	0.05% spray	10	0.50
Ντομάτα	0.05% spray	7	0.18

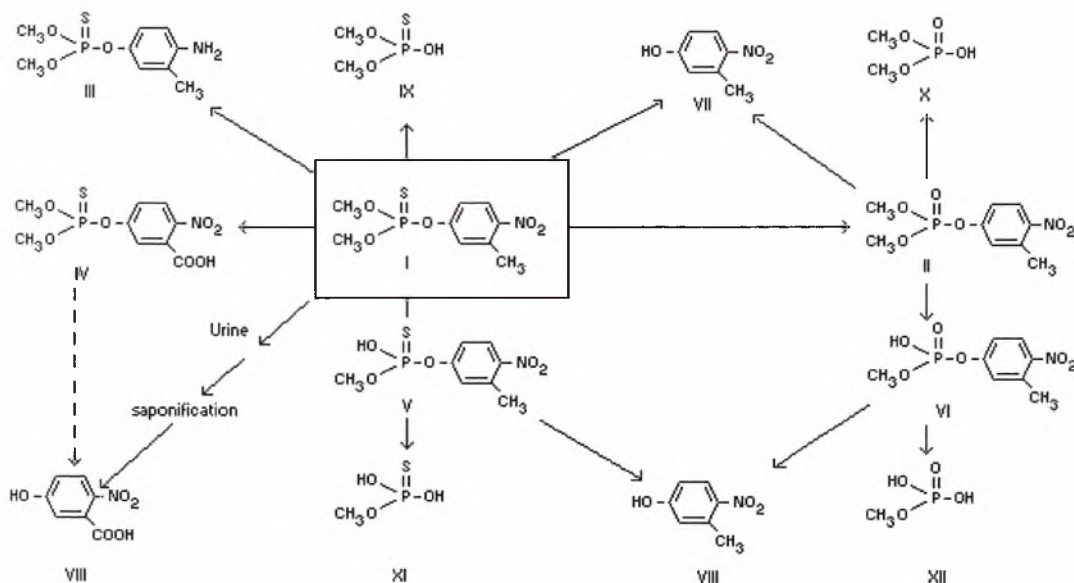


Figure 1.
Metabolism of fenitrothion

Σχήμα 3 Ο μεταβολισμός του fenitrothion στα θηλαστικά

3. ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

3.1. Κατηγορίες σκευασμάτων

Φυτοπροστατευτικό προϊόν (Φ. Π.) είναι κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών συμπεριλαμβανομένων και επεξεργασμένων ή μη φυτικών προϊόντων, δυναμένη να χρησιμοποιηθεί ως μέσον καταπολέμησης των εχθρών και των ασθενειών των φυτών ή να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των εν λόγω ουσιών (Νόμος 721/1977).

Με βάση τον παραπάνω ορισμό, τα Φ.Π. διακρίνονται στις εξής βασικές ομάδες: Εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα, βακτηριοκτόνα, νηματωδοκτόνα, ρυθμιστές αύξησης φυτών κ.τ.λ. . Τα Φ.Π. διατίθενται σε σκευάσματα με διάφορες μορφές (Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991), όπως:

- Υγρά σκευάσματα

Υδατικά διαλύματα (WS), Βρέξιμες σκόνες (WP), Πυκνά γαλακτοποιήσιμα σκευάσματα (EC), Κάψουλες ή μικροκάψουλες μεγέθους 10μm, Σκευάσματα τύπου ULV (υπέρ μικρού όγκου)

- Ξηρά σκευάσματα

Σκόνες, Κοκκώδη, Ξηρά φυράματα, Ξηρά καπνογόνα

- Καπνογόνα

- Αεροζόλ

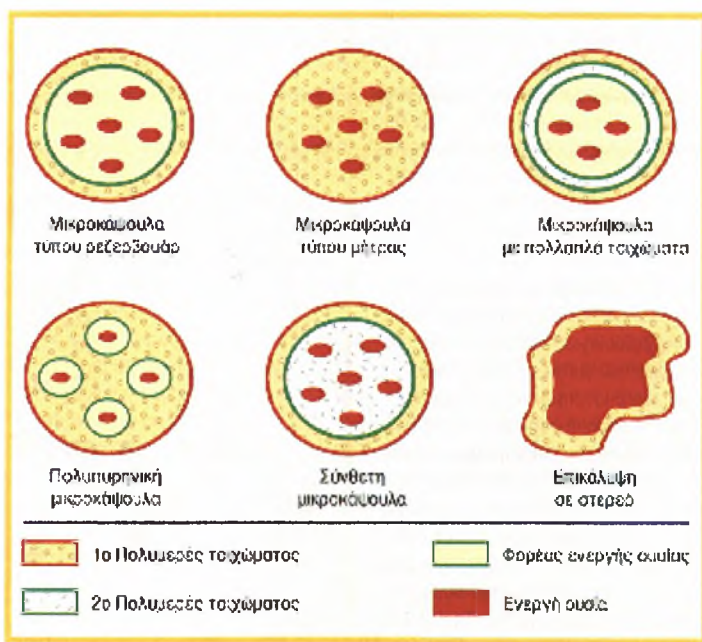
- Λοιπά σκευάσματα: Δενδροκομικοί κηροί κ.λ.π.

Κάθε Φ.Π. περιέχει την ενεργή ουσία που είναι υπεύθυνη για τη δράση του, η οποία όμως σπάνια χρησιμοποιείται αυτή καθ' αυτή. Η δραστική ουσία αναμιγνύεται και επεξεργάζεται με τις βοηθητικές ουσίες, γίνεται δηλαδή τυποποίηση των Φ.Π. που οδηγεί στην παραγωγή του σκευάσματος που εφαρμόζεται στο χωράφι. (Καρπούζας, 2003).

3.2. Μικροενθυλάκωση (Microencapsulation)

Μία πολύ σημαντική ερευνητική δραστηριότητα είναι εκείνη που αναφέρεται στην ανάπτυξη νέων μεθόδων μικροενθυλάκωσης (ή μικροεγκλεισμού) για την παραγωγή συστημάτων τύπου μικροκάψουλας με επιθυμητές ιδιότητες. Οι μικροκάψουλες είναι μικροσωματίδια μεγέθους 1 έως 1000 μm, τα οποία εγκλείουν μικρά στερεά σωματίδια, σταγόνες υγρού ή φυσαλίδες αερίου σε ένα περίβλημα από φυσικό ή συνθετικό πολυμερές. Ο εγκλεισμός δραστικών ουσιών σε μικροκάψουλες αποσκοπεί στον έλεγχο του ρυθμού

απελευθέρωσης και απόδοσης δραστικών ουσιών στο περιβάλλον, την προστασία ευαίσθητων ενεργών ουσιών από τις συνθήκες του περιβάλλοντος (οξυγόνο, υγρασία, θερμότητα, χημική προσβολή), τη μείωση της πτητικότητας των υγροσκοπικών ιδιοτήτων, της δυσάρεστης οσμής και γεύσης πολλών συστατικών, την τροποποίηση των φυσικών ιδιοτήτων μερικών χημικών ουσιών, όπως μετατροπή ενός υγρού υλικού σε ψευδο-στερεό (π.χ. για την ασφαλή διαχείριση τοξικών ουσιών), καθώς και το διαχωρισμό ασύμβατων ενεργών συστατικών. Στο Σχήμα 4 παρουσιάζονται τα συστήματα τύπου μικροκάψουλας διαφόρων ειδών. (http5)



Συστήματα τύπου μικροκάψουλας διαφόρων ειδών

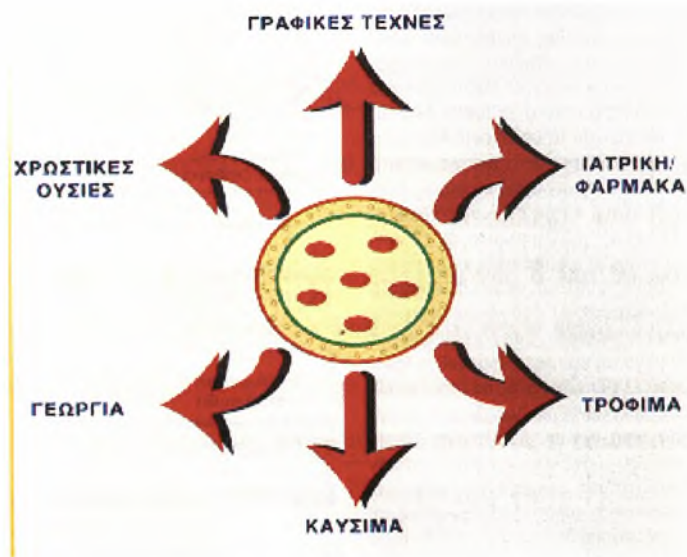
Σχήμα 4. Τύποι μικροκάψουλας διαφόρων ειδών

3.3. Εφαρμογές της τεχνικής της μικροενθυλάκωσης

Τι κοινό έχουν μεταξύ τους οι διαφημίσεις των αρωμάτων στα περιοδικά, όπου δείγμα αρώματος κρύβεται κάτω από το χαρτί, τα απορρυπαντικά του πλυντηρίου και η ασπιρίνη; Κάθε ένα από αυτά τα προϊόντα, για να αποκτήσει τις μοναδικές του ιδιότητες, βασίζεται στην τεχνική του μικροενθυλάκωσης (microencapsulation). Υπάρχουν 4 βασικοί μηχανισμοί με τους οποίους το υλικό του πυρήνα απελευθερώνεται από την μικροκάψουλα: με μηχανική ρήξη του τοίχους της μικροκάψουλας, με διάλυση του τοίχους της, με λιώσιμο του τοίχους της και τέλος με διάχυση διαμέσου του τοίχους της. Λιγότερο κοινός μηχανισμός είναι η σταδιακή διάβρωση της κάψουλας και η βιοαποσύνθεση.

Δύο πολύ γνωστές εφαρμογές της μικροκάψουλας βασίζονται στη μηχανική ρήξη της εξωτερικής της μεμβράνης. Στη διαφημίσεις των αρωμάτων στα περιοδικά, το άρωμα με μορφή μικροκάψουλας καλύπτει το χαρτί. Ξύνοντας το σημείο εκείνο διαρρηγνύεται η κάψουλα και διαχέεται το άρωμα. Οι απορρυπαντικές σκόνες εμπεριέχουν ένζυμα σε μικροκάψουλες για την καταπολέμηση των λεκέδων από αίμα. Η ασπιρίνη ανακουφίζει από τον πυρετό, τις λοιμώξεις, την αρθρίτιδα όμως η απευθείας δόση της προκαλεί προβλήματα στο στομάχι. Για αυτό εσωκλείεται σε μικροκάψουλα της οποίας η εξωτερική μεμβράνη αποτελείται από κυτταρίνη ή άμυλο και διαχέεται αργά και σταθερά. (http 4).

Οι μικροκάψουλες, βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς της επιστήμης και της τεχνολογίας (Σχήμα 5) όπως στις γραφικές τέχνες (χαρτί αντιγραφής, φωτοτυπικά), στην ιατρική και φαρμακευτική βιομηχανία, στη βιομηχανία τροφίμων, στη γεωργία (γεωργικά φάρμακα, λιπάσματα), στα συγκολλητικά (ρητίνες, βαφές), στα απορρυπαντικά (λευκαντικά, ένζυμα), στα καύσιμα και στα καλλυντικά.



Σχήμα 5. Εφαρμογές μικροκαψουλών

Με εφαρμογή των μεθόδων μικροενθυλάκωσης στην **τεχνολογία ελεγχόμενης απελευθέρωσης λιπασμάτων και γεωργικών φαρμάκων**, αναπτύσσεται ένας νέος τύπος αγροχημικών προϊόντων με σκοπό την αποτελεσματικότερη λίπανση και προστασία της αγροτικής παραγωγής, τη συμβατότητα των λιπασμάτων και των Φ.Π. με το περιβάλλον αλλά και την ασφάλεια του χρήστη. Από τη χρήση τους προκύπτουν τεχνικά και οικονομικά οφέλη με ταυτόχρονη ικανοποίηση της γενικότερης απαίτησης της εποχής μας για καλύτερη

προστασία του περιβάλλοντος. Η ανάπτυξη αυτή κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική δεδομένου ότι στην Ελλάδα δεν έχει ακόμα αναπτυχθεί ευρέως η παραπάνω τεχνολογία και κυρίως δεν έχει μεταφερθεί σε επίπεδο παραγωγής.

Στην τεχνολογία των φαρμάκων και των βιοενεργών ουσιών, μια μικροκάψουλα αντιπροσωπεύει ένα μικρό σωματίδιο ο πυρήνας του οποίου περιέχει τα φαρμακευτικά / θεραπευτικά στοιχεία τα οποία περικλείονται από μια προστατευτική βιοσυμβατή ή βιοαποικοδομήσιμη πολυμερική μεμβράνη. Με το μικροεγκλεισμό και τη χρήση επιλεγμένων πολυμερών είναι εφικτό να ελέγξουμε το σημείο της απόδοσης, την έναρξη της απόδοσης, την ένταση και τη διάρκεια της δράσης του φαρμάκου. Ο έλεγχος της διάχυσης του φαρμάκου είναι μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση για φάρμακα που απαιτούν συχνή δοσολογία προκειμένου να διατηρήσουν επιθυμητά θεραπευτικά επίπεδα στο σώμα, παρέχοντας ένα επαναλήψιμο και παρατεταμένο ρυθμό απελευθέρωσης. Με τη βελτίωση του τρόπου με τον οποίο τα φάρμακα μεταφέρονται στο συγκεκριμένο όργανο μειώνονται οι δευτερεύουσες επιδράσεις και η απώλεια του φαρμάκου ([http 5](http://5)).

3.4. Σκευάσματα αργής αποδέσμευσης

Η τεχνολογία ελεγχόμενης αποδέσμευσης είναι ένα ανεκτίμητο επιστημονικό εργαλείο για τη βελτίωση της απόδοσης και της ασφάλειας των βιοενεργών χημικών. Ενεργά συστατικά εσωκλείονται σε μικροκάψουλες (Εικόνες 8 και 9) που λειτουργούν ως φράγμα και απελευθερώνονται στο βέλτιστο ποσοστό και στον κατάλληλο χρόνο. Συνήθως για την κατασκευή τέτοιων «φραγμάτων» χρησιμοποιούνται ειδικά σχεδιασμένα πολυμερή. Το υλικό στο εσωτερικό της μικροκάψουλας ονομάζεται πυρήνας ή εσωτερική φάση, ενώ το τοίχος της ονομάζεται και κέλυφος, φιλμ, κάλυμμα ή μεμβράνη ([http 7](http://7)).



Εικόνα 6. Μορφολογία της επιφάνειας της μικροκάψουλας



Εικόνα 7. Εσωτερική δομή της μικροκάψουλας (Πολλαπλά στρώματα) ([http 6](http://6)).

Ο έλεγχος του ποσοστού του φυτοφαρμάκου που απελευθερώνεται στο περιβάλλον παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα. Αντίθετα με την εφαρμογή μίας και μόνο μεγάλης δόσης

η απελευθέρωση της ίδιας ποσότητας σε ένα διάστημα χρόνου θα έχει καλύτερα αποτελέσματα ([http 3](#)).

3.5. Γεωργικές εφαρμογές

Η εφαρμογή λανθασμένων δόσεων φυτοφαρμάκων και λιπασμάτων έχει τις περισσότερες φορές καταστροφικά αποτελέσματα. Τα σκευάσματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης αναπτύχθηκαν περιέχοντας ημιδιαπερατά φράγματα τα οποία επιτρέπουν την αποδέσμευση για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι ελαττώνεται ο αριθμός των εφαρμογών βελτιώνοντας την παραγωγή και αυξάνοντας την ασφάλεια. Το methyl parathion (με το εμπορικό όνομα Penn-Cap M), ένα ισχυρά τοξικό εντομοκτόνο έγινε 100 φορές πιο ασφαλές για το χρήστη χωρίς να χάσει την αποτελεσματικότητά του με τη μέθοδο του μικροεγκλεισμού. Η αποδέσμευσή του μπορεί να είναι α) σταθερή σε σχέση με το χρόνο, β) φθίνουσα ή γ) απότομη σε μία συγκεκριμένη χρονική στιγμή (π.χ. μόλις βρεθεί στο πεπτικό σύστημα) ([http 7](#)).

Ο μικροεγκλεισμός επιτρέπει στα υγρά και τα στερεά αργής τήξης (low-melting solids) να συμπεριφέρονται ως στερεά σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Αυτή η μετατροπή της συμπεριφοράς προσφέρει τον πιο άμεσο τρόπο μετατροπής των φυτοφαρμάκων που λιώνουν κάτω από τους 60⁰ C σε βρέξιμες σκόνες ή υδατοδιασπειρόμενους κόκκους. Η μικροκάψουλα είναι ένα μόριο διαμέτρου 10⁻³-10⁻⁹ m που αποτελείται από τον πυρήνα και το εξωτερικό τοίχωμα που τον απομονώνει από το περιβάλλον και τον προστατεύει από την αποδόμηση και την αλληλεπίδραση με άλλα υλικά. Τα περισσότερα φυτοφάρμακα σε μικροκάψουλα στο εμπόριο είναι εντομοκτόνα. Συνήθως διαλύονται στο νερό και ψεκάζονται αλλά τυποποιούνται και σε ξηρές σκόνες που χρησιμοποιούνται σαν δολώματα, σκόνες επιπάσεως ή βρέξιμες σκόνες.

Τα **χαρακτηριστικά του πολυμερούς** που περικλείει τον πυρήνα της μικροκάψουλας πρέπει να είναι τα παρακάτω: **1)** να μην αλληλεπιδρά με το φυτοφάρμακο, **2)** να μην έχει επίδραση στο περιβάλλον τόσο το ίδιο όσο και τα παράγωγά του, **3)** να είναι σταθερό κατά την αποθήκευση και χρήση του, **4)** να παράγεται και να κατασκευάζεται εύκολα και **5)** να μην κοστίζει. Επίσης θα πρέπει να είναι βιοαποσυντιθέμενο για αποφυγή της ρύπανσης του περιβάλλοντος. (Kydonieus, 1981)

Ανεξάρτητα από τους λόγους για τους οποίους χρησιμοποιείται ο μικροεγκλεισμός ενός φυτοφαρμάκου, το σύστημα μπορεί να είναι αποτελεσματικό μόνον όταν υπάρχει τρόπος απελευθέρωσης της ενεργής ουσίας σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή. Η θερμοκρασία, η

υπεριώδης ακτινοβολία, η υγρασία, το pH, η μικροβιακή δράση, η διάβρωση μπορούν να θεωρηθούν πιθανοί μηχανισμοί απελευθέρωσης. Παρόλα αυτά κανένας από αυτούς, στις περισσότερες περιπτώσεις, δε μπορεί να ελεγχθεί πλήρως για να παρέχει αξιόπιστη και σταθερή απελευθέρωση. Ο κύριος μηχανισμός απελευθέρωσης σήμερα, είναι η διάχυση διαμέσου του περιβάλλοντος φιλμ

Δύο πλεονεκτήματα έγιναν αμέσως εμφανή από την εφαρμογή της μικροκάψουλας στα σκευάσματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και αυτά είναι η αυξημένη δραστικότητα στους οργανισμούς στόχους και η μειωμένη τοξικότητα στα θηλαστικά. Αυτά τα χαρακτηριστικά έδωσαν το κίνητρο για έρευνα με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα όπως το methyl-parathion, το chlorpyrifos, το pirimiphos-ethyl και άλλα (Marrs and Middleton, 1973) Οι μικροκάψουλες του methyl-parathion με βάση πολυαμιδίου (polyamide-based), βρέθηκαν να είναι περισσότερο δραστικές ενάντια σε πολλά είδη εντόμων σε σύγκριση με το τυπικό γαλακτωματοποιήσιμο διάλυμα. Ακόμα η μικροκάψουλα (CS) βρέθηκε ότι ήταν 6 φορές λιγότερο τοξική από στόματος και 12 φορές λιγότερο τοξική από δέρματος συγκριτικά με γαλακτωματοποιήσιμο διάλυμα (EC) της ίδιας δραστικής ουσίας. Ο έλεγχος της δραστικότητας, η ελευθέρωση της δραστικής ουσίας από τη μικροκάψουλα με διάλυση ή σπάσιμο, μπορεί να πραγματοποιηθεί με παραλλαγές του μεγέθους της μικροκάψουλας αλλά και της σύνθεσής της. (Scher, 1977) Εκτός από το γεγονός ότι η μικροκάψουλα ελέγχει τη δράση μέσω της διάλυσης, μπορεί ακόμα να προστατέψει τα δραστικά στοιχεία από την περιβαλλοντική αποδόμηση. Μπορεί επίσης να βελτιωθεί η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, περικλείοντας στην μικροκάψουλα ουσίες που απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία ή/ και ουσίες αντιοξειδοτικές. (Hall *et al.*, 1977)

Σκευάσματα **fenitrothion** σε μορφή μικροκάψουλας επίσης χρησιμοποιούνται και για την αντιμετώπιση των κατσαρίδων (*Blattella germanica*) σε εσωτερικούς χώρους. Συνήθως το τοίχωμα της μικροκάψουλας είναι από πολυουρεθάνη, η δραστική ουσία του πυρήνα 20% fenitrothion και οι πιθανοί μηχανισμοί της απελευθέρωσης είναι με διάχυση, με βάδιση και με βρώση (Tsuda *et al.*, 1987).

Η τεχνική της παρασκευής της μικροκάψουλας εφαρμόστηκε επιτυχώς στα σκευάσματα φερομονών των εντόμων. Οι φερομονικές παγίδες χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της έναρξης της πτήσεως των εντόμων, βοηθώντας έτσι τον προσδιορισμό της έναρξης των ψεκασμών. Ακόμα με την τεχνική της μικροκάψουλας αποφεύγεται η φυτοτοξικότητα ενώ αυξάνεται η εκλεκτικότητα των ζιζανιοκτόνων. Η κουφετοποίηση του σπόρου είναι μια ακόμα εφαρμογή, σκοπός της οποίας είναι η δημιουργία ομοιόμορφων

σπόρων για μεγαλύτερη ακρίβεια σποράς και φυτρώματος. Με την ανάπτυξη της συγκεκριμένης τεχνολογίας καθιερώθηκε και η εισαγωγή εντομοκτόνων και μυκητοκτόνων για ολοκληρωμένη προστασία του σπόρου στα πρώτα στάδια της ανάπτυξής του. Κάποια εντομοκτόνα απενεργοποιούν μυκητοκτόνα που συμμετέχουν στη διαδικασία της κουφετοποίησης και χρησιμοποιείται ο μικροεγκλεισμός του εντομοκτόνου για τη βελτίωση της συμβατότητας μεταξύ των δύο φαρμάκων. Αυτά τα πλεονεκτήματα και άλλα πιθανά συγκεντρώνονται στον παρακάτω Πίνακα 5 (Marrs and Middleton, 1973).

Πίνακας 5. Τα πλεονεκτήματα των μικροκαψουλών

1. Προστασία ευαίσθητων φαρμάκων από περιβαλλοντική αποδόμηση
2. Έλεγχος βιοδιαθεσιμότητας
3. Μείωση της τοξικότητας και των κινδύνων από την εφαρμογή
4. Μείωση φυτοτοξικότητας σε σπόρους και φυτά
5. Βελτίωση εκλεκτικότητας
6. Μειωμένες απώλειες φαρμάκων
7. Δυνατότητα συνδυασμού μη συμβατών φαρμάκων

3.6. Μικροκάψουλες και μέλισσες

Όπως και για τα περισσότερα φυτοφάρμακα, έτσι και για τα εντομοκτόνα η επιλογή τους εκτός των άλλων χαρακτηριστικών, επηρεάζεται και από τη μελισσοτοξικότητά τους. Για το λόγο αυτό ερευνήθηκε η επίδραση της μικροκάψουλας στις μέλισσες και η συσχέτιση της με τις δηλητηριάσεις των μελισσών. Παρατηρήθηκε ότι τα συμπτώματα της δηλητηρίασης ποικίλουν ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης του κάθε εντόμου και το είδος του φαρμάκου. Κυρίως οι εργάτριες είναι αυτές που επηρεάζονται από τα φυτοφάρμακα, ενώ οι μέλισσες που μένουν στην κυψέλη δηλητηριάζονται συνήθως από μολυσμένη γύρη που μεταφέρεται και αποθηκεύεται στην κυψέλη. Καθώς οι μέλισσες αυτές νεκρώνονται, μένουν όλο και λιγότερες υπεύθυνες για τη θρέψη των απογόνων. Τις περισσότερες φορές οι ενήλικες μέλισσες σκοτώνονται με επαφή από τα εντομοκτόνα στο χωράφι, αλλά κάποιες φορές συλλέγουν μολυσμένο νέκταρ και γύρη και συμβάλλουν στην επιβάρυνση των υπολοίπων στην αποικία. Αν οι ενήλικες σκοτωθούν οι ανήλικες αναγκάζονται να βγουν στο

χωράφι νωρίτερα, με αποτέλεσμα τη διατάραξη και τον αποπροσανατολισμό της αποικίας ([http 9](#)).

Αξιοσημείωτη είναι η επίδραση δύο εντομοκτόνων **methyl parathion** (PennCap M®) σε μικροκάψουλα και του **fenitrothion** (Sumithion EC) στις μέλισσες.

Το **methyl parathion** (PennCap M®) είναι ένα υγρό σκεύασμα που περιέχει κάψουλες σε μέγεθος όπως αυτό των κόκκων της γύρης, οι οποίες εσωκλείουν τη δραστική ουσία. Οι μικροκάψουλες προσκολλώνται ηλεκτροστατικά στα σημεία συλλογής της γύρης στο πόδι του εντόμου. Αποθηκευμένη στη γύρη και με χαρακτηριστικό την αργή αποδέσμευση (slow release), η μικροκάψουλα επιτρέπει στο methyl parathion να διατηρεί για πολλούς μήνες την εντομοκτόνο δράση του. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 6 το methyl parathion σε κάψουλα είναι ισχυρώς τοξικό για τις μέλισσες και για το λόγο αυτό αποσύρθηκε από την κυκλοφορία. Είναι 13 φορές πιο τοξικό για την αποικία από το αντίστοιχο πυκνό γαλακτωματοποιήσιμο σκεύασμα (EC) ([http 9](#)).

Ακόμη, το **fenitrothion** είναι ιδιαίτερα τοξικό για τις μέλισσες με τιμή LD_{50} 0.03-0.13 μg ανά μέλισσα. Παρόλα αυτά, μελέτες σε αποικίες μελισσών έδειξαν ότι η εφαρμογή 280 g/ha είχε μικρή μακροχρόνια επίδραση. Αρχικά παρατηρήθηκε θνησιμότητα μελισσών ενώ 4 μέρες από την εφαρμογή, η ημερήσια θνησιμότητα των μελισσών επέστρεψε σε κανονικά επίπεδα. Τελικά η διαφορά με το μάρτυρα ήταν 500 μέλισσες, περίπου 1% της κυψέλης, ενώ δεν υπήρχε διαφορά στην δραστηριότητα των κυψελών και το βάρος της κυψέλης αλλά και η παραγωγή μελιού ήταν ίδια με το μάρτυρα. Πιθανώς, η παρατηρούμενη θνησιμότητα αφορούσε μόνο τις εργάτριες τις εκτιθέμενες στο εντομοκτόνο ([http 10](#)).

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6) παρατίθενται κάποια στοιχεία σχετικά με την τοξικότητα διάφορων εντομοκτόνων στις μέλισσες. Τα εντομοκτόνα παρουσιάζονται στη λίστα σε φθίνουσα σειρά τοξικότητας. Οι πληροφορίες υπολειμματικής τοξικότητας βασίζονται σε πειράματα στον αγρό με δόσεις που συνιστώνται φυσιολογικά για τον έλεγχο των εχθρών ενώ χρησιμοποιούνται υδατικά διαλύματα (SL).

Ισχυρώς τοξικά φυτοφάρμακα χαρακτηρίζονται αυτά με τιμή LD_{50} = 0.001 ως 1.99 μg/μέλισσα, για τα οποία αναμένονται σοβαρές απώλειες με τη χρήση τους τις ημέρες που οι μέλισσες είναι παρούσες αλλά και την επόμενη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η εφαρμογή τη νύχτα θα ελαττώσει τη θνησιμότητα των μελισσών κατά 50% και θα μειώσει τον κίνδυνο τουλάχιστον κατά μία κατηγορία τοξικότητας φαρμάκων, σε σχέση με τους πρωινούς ψεκασμούς (από τις 7 π.μ.). Ψεκασμοί μετά τις 7 π.μ. θα αυξήσουν τον κίνδυνο για τις μέλισσες περίπου 2 φορές.

Πίνακας 6. Τοξικότητα στις μέλισσες μερικών γνωστών εντομοκτόνων

φυτοφάρμακο	Εργαστηριακά αποτελέσματα		Πειραματικά αποτελέσματα Τοξικότητα στις μέλισσες	
	Probits*	LD ₅₀	Αριθμός ημερών**	Κίνδυνος
Δραστική ουσία / Εμπορικό σκεύασμα				
chlorpyrifos, Lorsban, Dursban	10.17	0.110	2-3.5(H)	M-MH
methyl parathion ¹ +	5.13	0.111	0.5(H)	H-VH+
carbofuran ⁵ , Furadan®	6.14	0.149	3 > 5(H)	M-H
parathion ¹	4.96	0.175	1 (H)	H-VH
fenitrothion, Sumithion ²	5.75	0.176		
methyl parathion, encapsulated, Penncap-M®	5.13	0.241	> 5(H)	H-VH+
fenthion, Baytex ²	6.14	0.319		
carbaryl, Sevin ²	3.04	1.54	3-7(H)	M-VH

**Probits*: Τα ποσοστά της θνησιμότητας ενός εντόμου μετατρέπονται σε μονάδες απόκλισης από το μέσο όρο της Κανονικής Κατανομής(NED). Τα probits προκύπτουν προσθέτοντας στην τιμή αυτή το 5 (Probits=NED +5)

***Αριθμός ημερών*: Μέσος χρόνος σε ημέρες κατά τον οποίο τα υπολείμματα είναι τοξικά στις μέλισσες *Πιθανότητα κινδύνου*: L =χαμηλή (low); M = μέτρια (moderate), H =υψηλή (high), ML = Σχετικά χαμηλή (moderately low), MH = Σχετικά υψηλή (moderately high), VH = πολύ υψηλή (very high).

Για την προστασία των μελισσών από τα φυτοφάρμακα θα πρέπει να εφαρμόζονται τα εξής:

- Χρήση των φυτοφαρμάκων μόνο όταν είναι απαραίτητα
- Να μην γίνεται εφαρμογή των φυτοφαρμάκων όταν τα φυτά είναι στην άνθηση
- Εφαρμογή των φυτοφαρμάκων όταν δεν πετούν οι μέλισσες: Οι μέλισσες πετούν με θερμοκρασία αέρος 37.2- 42.2 ° C και είναι δραστήριες από τις 8 π.μ. έως τις 5 μ.μ.
- Να μη μολδώνονται τα στάσιμα νερά
- Να χρησιμοποιούνται λιγότερο τοξικά φάρμακα όταν υπάρχει η δυνατότητα
- Να χρησιμοποιούνται λιγότερο τοξικά σκευάσματα :

1.Κάποια εντομοκτόνα έχουν διαφορετική δράση ανάλογα με τη μορφή του σκευάσματος που χρησιμοποιούνται. Τα νέα εντομοκτόνα σε μικροκάψουλες είναι περισσότερο τοξικά για τις μέλισσες από οποιοδήποτε άλλο σκεύασμα. Εξαιτίας του μεγέθους τους, οι μικροκάψουλες μεταφέρονται στην αποικία και μπορούν να παραμείνουν δηλητηριώδεις για μεγάλο χρονικό διάστημα.

2.Οι σκόνες είναι περισσότερο επικίνδυνες από τα υγρά σκευάσματα

3.Τα γαλακτοματοποιήσιμα είναι λιγότερο επικίνδυνα από τις βρέξιμες σκόνες (<http> 9)

4. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Ως υπολείμματα (residues) γεωργικών φαρμάκων θεωρούνται ουσίες ή μίγματα ουσιών που βρίσκονται στην τροφή των ανθρώπων ή των ζώων και προέρχονται από τη χρησιμοποίηση γεωργικών φαρμάκων. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται και οι ουσίες που είναι προϊόντα διάσπασης, μεταβολισμού (σχετικοί μεταβολίτες) ή χημικής αντίδρασης εφ' όσον είναι τοξικολογικά σημαντικές. (FAO 1981).

Επίσης αξιοσημείωτο είναι ότι οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων για ένα δείγμα μιας περιοχής επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως η δόση, η μέθοδος εφαρμογής, η πυκνότητα φυτού και η θέση του στο χώρο, το στάδιο ανάπτυξης του, τις μετεωρολογικές συνθήκες κατά τη διάρκεια εφαρμογής του φυτοφαρμάκου καθώς και από το χρόνο από την εφαρμογή έως τη δειγματοληψία (Ambrus, 1999).

4.1. Το Μέγιστο ή Ανώτατο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων στα προϊόντα.

Για να ελέγχεται αν τα φάρμακα χρησιμοποιούνται στις ενδεικνυόμενες δόσεις ώστε να προστατεύεται η υγεία των καταναλωτών και να διευκολύνεται το διεθνές εμπόριο, καθιερώθηκε ο όρος Ανώτατο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων (**Maximum Residue Limit, MRL**) που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας/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 Αγροτική Πρακτική (Good Agricultural Practice GAP), δηλαδή σύμφωνα με τις ενδείξεις της ετικέτας και φυσικά με βάση την έγκριση του σκευάσματος (Λιάπης, 1997- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, 1991^β)

Για πρακτικούς λόγους εκτίμησης της τοξικότητας κάθε ουσίας, έχει καθιερωθεί από τους διεθνείς οργανισμούς ο όρος Ημερήσια Αποδεκτή Δόση (Acceptable Daily Intake, ADI) που ορίζεται σαν η ποσότητα της ουσίας σε mg/kg σωματικού βάρους/ ημέρα που μπορεί να καταναλώνει ένας άνθρωπος ή άλλο ζώο, για όλη του τη ζωή χωρίς βλάβη της υγείας με βάση τα δεδομένα της επιστήμης την εποχή που γίνεται ο καθορισμός της (Λέντζα-Ρίζου, 1997^α, Παπαδοπούλου- Μουρκίδου, 1991^α).

Τα MRLs προκύπτουν από στοιχεία από εποπτευόμενα πειράματα αγρού (supervised trials). Θα πρέπει να τονιστεί ότι τα MRLs και τα ADIs προκύπτουν από τελείως διαφορετικά δεδομένα, πειράματα στον αγρό τα πρώτα και τοξικολογικά δεδομένα τα δεύτερα. Γενικά ισχύει ότι τα MRLs πρέπει να είναι αποδεκτά από τοξικολογικής άποψης, αν

για παράδειγμα δεν έχει καθοριστεί ADI για μια ουσία δεν συνιστώνται MRLs. Για τον καθορισμό του MRLs ενός φαρμάκου σε κάποιο γεωργικό προϊόν λαμβάνεται υπόψη η τιμή της 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 της ντομάτας π.χ. στη διαίτα των Ελλήνων και των Γερμανών, τα MRLs θα έπρεπε να καθοριστούν σε διαφορετικό ύψος, αφού ο ελληνικός λαός καταναλώνει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες ντομάτας και μάλιστα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Τέλος, το άθροισμα των MRLs ενός φαρμάκου στα διάφορα προϊόντα μιας χώρας δεν πρέπει να υπερβαίνει την ADI (Λιάπης, 1997).

4.2. Τα υπολείμματα στα γεωργικά προϊόντα και οι σχετικές νομοθεσίες τους

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) σε συνεργασία με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO), συνέστησαν ειδική επιτροπή την Codex Alimentarius Committee, που μελετά τα θέματα που σχετίζονται με την ποιότητα των τροφίμων γενικά. Τα υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων, ειδικότερα, αποτελούν αντικείμενο ειδικής υποεπιτροπής της Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR), αποτελούμενης από επιστήμονες όλων των χωρών. Η επιτροπή αυτή ύστερα από συντονισμένες έρευνες και μελέτες των τοξικολογικών ιδιοτήτων των δραστικών ουσιών, καθορίζει την ADI ή το MRL για κάθε μία από αυτές. Επίσης η Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (Commission), έχει περιλάβει στις δραστηριότητές της και το πρόγραμμα των υπολειμμάτων. Με ειδικές οδηγίες (directives), καθορίζει τα MRLs και επιβάλλει στα κράτη-μέλη με παρακολούθηση (monitoring) των προϊόντων, να εξακριβώνουν αν τα προϊόντα ανταποκρίνονται στα όρια που θεσπίστηκαν. Τα θέματα που αφορούν τα γεωργικά φάρμακα εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, ρυθμίζονται βάσει της οδηγίας 91/414/EEC περί φυτοπροστατευτικών προϊόντων. (Αθανασόπουλος, 1998)

Στη χώρα μας για κάθε ουσία που χρησιμοποιείται ως φυτοπροστατευτικό προϊόν ακολουθείται διαδικασία αξιολόγησης σύμφωνα με το Ν. 721/77 και το Π.Δ. 115/97 (συμμόρφωση με την οδηγία 91/414/ΕΟΚ όπως έχει συμπληρωθεί) και ακολουθεί απόφαση έγκρισης από το Α.ΣΥ.ΓΕ.Φ. Όμως, παρά την εφαρμογή των κανόνων της ορθής γεωργικής πρακτικής και την πιστή εφαρμογή της ετικέτας του φυτοπροστατευτικού προϊόντος από τους γεωργούς- χρήστες, υπάρχει πιθανότητα να απομείνει στο γεωργικό προϊόν (επί ή και εντός) υπόλειμμα φυτοπροστατευτικού προϊόντος, που όμως θα πρέπει να είναι τέτοιας ποσότητας ώστε να μη δημιουργεί πρόβλημα στην υγεία του καταναλωτή. Η χώρα μας σε μεγάλο βαθμό

έχει εναρμονίσει τη νομοθεσία της και εφαρμόζει τα **Ανώτατα Αποδεκτά Όρια Υπολειμμάτων Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων** και αυτά που έχουν θεσπιστεί στην **Ευρωπαϊκή Ένωση** (Νίκλης, 1996)

Στο Πίνακα 7 αναφέρονται τα MRLs (mg/kg) για τα περισσότερα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα για επιτραπέζια και οινοποιήσιμα σταφύλια (Υπουργείο Γεωργίας, 27 Αυγούστου 2004 Informal coordination of MRLs established in Directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC, and 90/642/EEC).

Πίνακας 7: Κοινοτικά MRLs (mg/kg) για οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα στο σταφύλι

Επιτραπέζια σταφύλια		Οινοποιήσιμα σταφύλια	
Acephate	0,02	Acephate	0,02
Azinphos-ethyl	0,05	Azinphos-ethyl	0,05
Azinphos-methyl	1	Azinphos-methyl	1
Chlorpyrifos	0,5	Chlorpyrifos	0,5
Chlorpyrifos-methyl	0,2	Chlorpyrifos-methyl	0,2
Diazinon	0,02	Diazinon	0,02
Dichlorvos	0,1	Dichlorvos	0,1
Dimethoate	0,02	Dimethoate	0,02
Fenitrothion	0,5	Fenitrothion	0,5
Formothion	0,02	Formothion	0,02
Malathion	0,5	Malathion	0,5
Methamidophos	0,01	Methamidophos	0,01
Methidathion	0,5	Methidathion	0,5
Mevinphos	0,1	Mevinphos	0,1
Omethoate	0,1	Omethoate	0,1
Parathion	0,05	Parathion	0,05
Parathion-methyl	0,2	Parathion-methyl	0,2
Phosalone	1	Phosalone	1
Phosphamidon	0,15	Phosphamidon	0,15
Pirimiphos-methyl	0,05	Pirimiphos-methyl	2
Quinalphos	0,05	Quinalphos	0,05
Triazophos	0,02	Triazophos	0,02

4.3. Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων

Ο έλεγχος των γεωργικών προϊόντων για την ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων απαιτεί την ύπαρξη κατάλληλων εργαστηρίων εξειδικευμένων στη χημική ανάλυση ανίχνευσης και προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα τρόφιμα, την ύπαρξη εξειδικευμένου επιστημονικού και τεχνικού προσωπικού και τέλος την επιλογή της κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων. Για την επιλογή αυτή λαμβάνονται υπόψη:

- Η διεθνής βιβλιογραφία, δηλαδή οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί στο συγκεκριμένο αντικείμενο.
- Η δυνατότητα που παρέχει η μέθοδος για ταυτόχρονο προσδιορισμό περισσοτέρων της μιας ουσιών.
- Η ικανότητα της μεθόδου για προσδιορισμό ουσιών σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο (MRL).
- Η ικανότητα προσαρμογής της μεθόδου σε ένα μέσο εργαστήριο ανάλυσης υπολειμμάτων εφοδιασμένο με όργανα ρουτίνας.
- Ο σκοπός της ανάλυσης, αν δηλαδή η ανάλυση γίνεται για έλεγχο, έρευνα, επιβολή κυρώσεων κ.α., καθώς και οι απαιτήσεις για ταχύτητα ή ακρίβεια.

Οι μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων διακρίνονται σε πολυδύναμες (multi-residue methods) και εξειδικευμένες (specific methods).

Πολυδύναμες ή πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι αναπτύχθηκαν για να διευκολύνουν τον έλεγχο ρουτίνας (monitoring) των γεωργικών προϊόντων. Είναι αυτές που επιτρέπουν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών φυτοφαρμάκων (μέχρι και 200), κυρίως της ίδιας οικογένειας. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για προκαταρκτικό έλεγχο (screening) των γεωργικών προϊόντων, όμως μόνες οι πολυδύναμες μέθοδοι δεν αρκούν για την επισήμανση και τον προσδιορισμό του συνολικού ρυπαντικού φορτίου ενός δείγματος.

Εξειδικευμένες ή μόνο –υπολειμματικές μέθοδοι (specific or single residue methods), είναι αυτές με τις οποίες προσδιορίζεται ένα μόνο φυτοφάρμακο ή και ορισμένες μόνο συγγενείς ουσίες.

Οι έλεγχοι και τα πιστοποιητικά ελέγχου υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, έχουν ισχύ μόνον όσο αφορά τα υπολείμματα που είναι δυνατόν να προσδιοριστούν με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε. Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται από τα Εργαστήρια Προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι κυρίως χημικές

μέθοδοι που αξιοποιούν τις αρχές της αέριας χρωματογραφίας (GC), της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), της φασματοφωτομετρίας και τελευταία της συζευγμένης φασματογραφίας μάζας (GC/MS ή LC/MS).

Αέρια χρωματογραφία (gas chromatography, GC)

Με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, μικρή ποσότητα (1-5μL) από το καθαρό εκχύλισμα εγχύεται στην κορυφή θερμαινόμενης ειδικής στήλης χρωματογραφίας τοποθετημένης σε κλίβανο. Το εκχύλισμα μεταπίπτει σε αέρια φάση. Ένα αδρανές αέριο (συνήθως άζωτο, ήλιο ή αργό) κινείται μέσα στη στήλη και παρασύρει τους ατμούς του δείγματος. Ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας στη στήλη (χρόνος κατακράτησης-retention time) είναι συνάρτηση των ιδιοτήτων της και είναι το κριτήριο για τον ποιοτικό προσδιορισμό. Το μέγεθος του σήματος που καταγράφεται από κατάλληλα όργανα στην έξοδο της στήλης είναι το κριτήριο για τον ποσοτικό προσδιορισμό. Το σήμα καταγράφεται υπό μορφή κορυφής. Μετρούμενο το ύψος της κορυφής και η επιφάνειά της χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό.

Η GC χρησιμοποιείται κυρίως για φυτοφάρμακα που έχουν ικανοποιητική πτητικότητα και θερμική σταθερότητα. Μόρια που θερμοδιασπώνται δεν μπορούν να προσδιοριστούν με αέρια χρωματογραφία, παρά μόνο μετά από την μετατροπή τους σε άλλα μόρια πτητικά και σταθερά .

Φασματογραφία μάζας (Mass Spectrometry, MS)

Η τεχνική αυτή καταρχάς προτάθηκε σαν μέθοδος ταυτοποίησης-επιβεβαίωσης των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από την αέρια και τελευταία και από την υγρή χρωματογραφία. Τελευταία αρχίζει να χρησιμοποιείται και σαν ανεξάρτητος ανιχνευτής για ποσοτικό προσδιορισμό. Το σύστημα GC-MS αποτελεί μια από τις πιο επιτυχημένες συνδυαστικές τεχνικές ανάλυσης. Κατά την τεχνική αυτή, τα οργανικά μόρια οδηγούνται σε ένα χώρο όπου βομβαρδίζονται με ηλεκτρόνια με συνέπεια την αποδόμησή τους και τον σχηματισμό μοριακών ιόντων. Τα μοριακά ιόντα μετατρέπονται περαιτέρω σε κατιόντα και ουδέτερα μέρη. Τα θετικά φορτισμένα ιόντα διαχωρίζονται σε ένα μαγνητικό πεδίο και καταγράφονται ποσοτικά. Ο διαχωρισμός των ιόντων βασίζεται στη σχέση μάζας-ηλεκτρικού φορτίου, και άρα στη μάζα της ουσίας. Η όλη διαδικασία οδηγεί στην καταγραφή του φάσματος μάζας (mass spectrum).

4.4. Αξιολόγηση (validation) των μεθόδων προσδιορισμού υπολειμμάτων

Οποιαδήποτε μέθοδος προσδιορισμού υπολειμμάτων, ακόμα και αν χρησιμοποιείται ευρέως, πρέπει να αξιολογείται και να ελέγχεται από τον αναλυτή ή το εργαστήριο που πρόκειται να την χρησιμοποιήσει για πρώτη φορά. Ο έλεγχος αυτός γίνεται με πειράματα ανάκτησης και με την καταγραφή της καμπύλης αναφοράς του ανιχνευτή. Στα πειράματα ανάκτησης γνωστή ποσότητα του υπό μελέτη φαρμάκου προστίθεται σε ένα αλεσμένο δείγμα που είναι γνωστό ότι δεν περιέχει τέτοια υπολείμματα και ακολούθως το δείγμα αναλύεται με την υπό δοκιμή μέθοδο. Η ποσότητα που θα προσδιορισθεί συγκρίνεται με τη ποσότητα που έχει προστεθεί και προκύπτει το ποσοστό ανάκτησης ή η ορθότητα (accuracy) της μεθόδου. Ποσοστό ανάκτησης 100% είναι η ιδανική περίπτωση. Όμως αυτό δεν είναι πάντα δυνατό. Τα αποδεκτά εύρη επανάκτησης κυμαίνονται από 70-110% ([http 7](http://7)).

Άλλες παράμετροι που αξιολογούν τη μέθοδο είναι :

Ακρίβεια (precision). Ακρίβεια της μεθόδου είναι η δυνατότητα να επιτυγχάνονται επαναλήψιμα αποτελέσματα από τον ίδιο αναλυτή, κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Για τον έλεγχο της πρέπει να γίνουν τουλάχιστον 3-5 επαναλήψεις των πειραμάτων ανάκτησης. Η επαναληψιμότητα εκτιμάται με την % σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) που είναι η ικανότητα της αναπαραγωγής των αποτελεσμάτων από άλλα ανεξάρτητα εργαστήρια. Για τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας συνήθως το ίδιο δείγμα διαιρείται σε υποδείγματα και αναλύεται από δύο ή περισσότερα εργαστήρια. Εκτιμάται η % σχετική τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων.

Γραμμικότητα του ανιχνευτή.

Όριο ανίχνευσης και Όριο ποσοτικού προσδιορισμού. Οι διάφορες μέθοδοι επιτρέπουν την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό υπολειμμάτων που υπάρχουν στο δείγμα πάνω από κάποια συγκέντρωση. Αν το όργανο δεν αποκρίνεται για κάποιο φυτοφάρμακο σε κάποιο δείγμα, αυτό δεν σημαίνει ότι το δείγμα δεν περιέχει καθόλου το εν λόγω φυτοφάρμακο, αλλά ότι ίσως είναι τέτοια η συγκέντρωσή του που δεν μπορεί να ανιχνευθεί. Σε αυτή τη περίπτωση μιλάμε για μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα.

Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD ή LD), είναι η ελάχιστη συγκέντρωση στο δείγμα που μπορεί να ανιχνευθεί ποιοτικά με την εν χρήσει μέθοδο. Πρακτικά θεωρούμε ως όριο ανίχνευσης τη ποσότητα του συστατικού που μας δίνει σήμα τριπλάσιο από το θόρυβο του σήματος. Όριο ποσοτικού προσδιορισμού (Limit of Quantitation, LOQ), είναι η ελάχιστη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιορισθεί ποσοτικά με αξιοπιστία (ακρίβεια και ορθότητα).

Ως όριο ποσοτικού προσδιορισμού ορίζεται η ποσότητα εκείνη του συστατικού που μας δίνει σήμα δεκαπλάσιο από το θόρυβο.

4.5. Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των φαρμάκων στα φυτικά προϊόντα

Το πλύσιμο των φρούτων και των 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. Υπολείμματα του pyrimicarb και των δύο 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% (deltamethrin σε σιτάρι) μέχρι και 96% (malathion σε ντομάτες) (Λέντζα-Ρίζου, 1997^β).

Πολλές ουσίες παραμένουν στο φλοιό. Ιδιαίτερα στα εσπεριδοειδή οι λιποδιαλυτές ουσίες έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στα αιθέρια έλαια του φλοιού. Το γεγονός αυτό καθιστά ασφαλέστερο για τον καταναλωτή το εδάδιμο μέρος των καρπών. Πρόβλημα μπορεί να δημιουργηθεί αν ο φλοιός χρησιμοποιηθεί κατά την παρασκευή μαρμελάδας ή την εξαγωγή των αιθέρων ελαίων. Σε γενικές γραμμές, τα μη διασυστηματικά φάρμακα παραμένουν κατά ένα μεγάλο μέρος ή και αποκλειστικά εντοπισμένα στο φλοιό των καρπών ή τα εξωτερικά μέρη των λαχανικών και μπορούν να απομακρυνθούν με αποφλοιώση ή των εξωτερικών μερών. Αντίθετα τα διασυστηματικά διεισδύουν στο εσωτερικό του φλοιού και των ιστών τόσο κατά τους ψεκασμούς του υπέργειου μέρους των φυτών όσο και κατά τις επεμβάσεις στο έδαφος, οπότε με την αποφλοιώση ελάχιστα υπολείμματα απομακρύνονται. Η θερμική επεξεργασία των νωπών γεωργικών προϊόντων προκαλεί σημαντική μείωση των υπολειμμάτων πολλών φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα αυτών που υδρολύονται σχετικά εύκολα. Πέρα από τη χημική σταθερότητα των μορίων μια άλλη ιδιότητα που επηρεάζει την τύχη των υπολειμμάτων με το βρασμό, είναι η υδατοδιαλυτότητά τους. Τα υδατοδιαλυτά εντομοκτόνα dimethoate και omethoate (μεταβολίτης του πρώτου) μειώνονται σε ποσοστό 60-100% με το βρασμό σε φασολάκια, λάχανο, κουνουπίδι, πιπεριές και ντομάτες (FAO 1985). Αντίθετα, τα υπολείμματα του ελάχιστα υδατοδιαλυτού flucythrinate, το οποίο επιπλέον έχει την ιδιότητα να προσροφάται ισχυρά στους φυτικούς ιστούς, παραμένουν στα βρασμένα προϊόντα στην ίδια συγκέντρωση που περιείχαν και τα νωπά. Ιδιαίτερα πρέπει να προσεχθούν ορισμένες ουσίες που με το βρασμό μετατρέπονται σε άλλες περισσότερο τοξικές από τα μητρικά μόρια.

Στην οινοποίηση τα υπολείμματα των φυτοφαρμάκων πρέπει να εξετάζονται : α) για πιθανή αρνητική επίδραση ορισμένων μυκητοκτόνων στους ζυμομύκητες με αποτέλεσμα την αναστολή της 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 προκαλούν σοβαρότατα εμπορικά προβλήματα. Το 1990 σημειώθηκε εμπορικός πόλεμος μεταξύ Η.Π.Α. και Γαλλίας με συνέπεια τη δραματική μείωση των εξαγωγών γαλλικών κρασιών στις Η.Π.Α. Αφορμή ήταν η ανίχνευση σε ορισμένα κρασιά πολυτελείας, υπολειμμάτων του μυκητοκτόνου procymidone το οποίο δεν έχει έγκριση στις Η.Π.Α. για τα αμπέλια και ως εκ τούτου σαν Ανώτατη Αποδεκτή περιεκτικότητα είχε καθοριστεί το όριο ανίχνευσης (Λέντζα-Ρίζου, 1994) με αποτέλεσμα την ύπαρξη θετικών ευρημάτων.

Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, ορισμένα μυκητοκτόνα όπως τα δικαρβοξιμιδικά (iprodione, procymidone, vinclozin) και τα maneb, zineb, mancozeb δεν έχουν αρνητική δράση στη ζύμωση όταν εφαρμοσθούν στη σωστή δόση. Αντίθετα, τα φθαλιμίδια (folpet, captan, captafol) καθώς και το dichlofluanid έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν αρνητικά τη ζύμωση αναστέλλοντας τη δράση των ζυμομυκήτων. Η ζύμωση μπορεί να λάβει χώρα μόνο όταν η συγκέντρωση των παραπάνω μυκητοκτόνων μειωθεί με υδρόλυση σε επίπεδο <0.1 mg/kg. (Cabras *et al.*, 1987).

Η αποξήρανση είναι από τις διαδικασίες που απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή όσο αφορά το ύψος των υπολειμμάτων στα τελικά προϊόντα. Στις περισσότερες περιπτώσεις με την αποξήρανση των φρούτων ή των λαχανικών λαμβάνει χώρα αύξηση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων λόγω απώλειας νερού και μείωσης του βάρους του προϊόντος ενώ η ποσότητα της ουσίας παραμένει ίδια.

4.6. Υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα σταφύλια και στο κρασί

Τα προϊόντα που λαμβάνονται από την άμπελο είναι τα σταφύλια και η επεξεργασμένη σταφίδα, ο χυμός σταφυλιών, το κρασί, το κονιάκ, το grappa κ.ά. Οι περισσότερες μελέτες για τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων εξετάζουν την πορεία τους από την άμπελο στο κρασί, ενώ μόνο μερικές μελέτες έχουν αφιερωθεί στο χυμό φρούτων, τις σταφίδες ή τα οινοπνευματώδη ποτά.

Η διαδικασία οινοποίησης αρχίζει με τη συμπίεση των σταφυλιών. Από αυτήν τη στιγμή, το φυτοφάρμακο που βρίσκεται στην επιφάνεια των σταφυλιών έρχεται σε επαφή με

το μούστο. Το φυτοφάρμακο βρίσκεται επομένως, στη διαχωριστική επιφάνεια ενός διαφασικού συστήματος αποτελούμενο από μια υγρή φάση (μούστος) και μία στερεή φάση (στέμφυλα και κατακάθια). Στον παραγωγικό κύκλο του κρασιού δύο ζυμωτικές διαδικασίες λαμβάνουν χώρα: η αλκοολική ζύμωση (με τη δράση των ζυμών) και η μηλογαλακτική ζύμωση (με τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων). Σε μερικές περιπτώσεις η παρουσία φυτοφαρμάκων έχει επηρεάσει τους ζυμομύκητες, ειδικά το *Kloeckera apiculata*, για να παράγουν περισσότερο οινόπνευμα. Μετά από τη ζύμωση, παρατηρήθηκε ότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στο κρασί ήταν πάντα μικρότερα από εκείνα στα σταφύλια.

Τα αναφερόμενα εντομοκτόνα ανήκουν στην οικογένεια των οργανοφωσφορικών και είναι μεταξύ των συχνότερα χρησιμοποιημένων φυτοφαρμάκων για τον έλεγχο της ευδεμίδας, του κυριότερου εχθρού της αμπέλου. Τα ποσοστά αποσύνθεσής τους είναι πολύ γρήγορα, επομένως τα υπολείμματα στη συγκομιδή ήταν πολύ χαμηλά ή μη ανιχνεύσιμα. Σε έρευνα για τη συμπεριφορά των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα σταφύλια, από την εφαρμογή τους ως τη συγκομιδή, παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό αποσύνθεσης των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων ήταν πολύ γρήγορο με $t_{1/2}$ να κυμαίνεται μεταξύ 0,97 και 3,84 ημερών. Το dimethoate διασπάστηκε γρήγορα κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας, αλλά ήταν σταθερό τις επόμενες δύο. Επίσης, το azinphos-methyl ήταν σταθερό στις δύο πρώτες εβδομάδες μετά από την εφαρμογή (Cabras and Angioni 2000).

Η οινοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί με ή χωρίς στέμφυλα. Στην πρώτη περίπτωση το κρασί θα γίνει με όλα τα υπολείμματα που υπάρχουν στα σταφύλια, στη δεύτερη περίπτωση η διαδικασία θα περιλάβει μόνο τα υπολείμματα που έχουν περάσει στο μούστο. Μετά από τη ζύμωση, τα επίπεδα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο κρασί είναι τις περισσότερες φορές χαμηλότερα από εκείνα στα σταφύλια και του μούστου, εκτός από εκείνα τα φυτοφάρμακα που δεν έχουν ένα προνομιακό χάρισμα μεταξύ των υγρών και στερεών φάσεων (όπως είναι τα azoxystrobin, dimethoate, και pyrimethanil) και είναι παρόντα στο κρασί σχεδόν στην ίδια συγκέντρωση με τα σταφύλια. Σε μερικές περιπτώσεις (meranipyrim, fluazinam, και chlorpyrifos) στο τέλος της ζύμωσης κανένα υπόλειμμα δεν ανιχνεύθηκε στα κρασιά. Εάν συγκρίνουμε τα υπολείμματα στο κρασί που ελήφθησαν με τις δύο τεχνικές οινοποίησης (με στέμφυλα ή χωρίς στέμφυλα) (Πίνακες 8 και 9), μπορούμε να δούμε ουσιαστικά παρόμοιες τιμές. Το fludioxonil είναι μια εξαίρεση και δεν άφησε κανένα υπόλειμμα στο κρασί που λαμβάνεται με στέμφυλα, ενώ στο κρασί που λήφθηκε χωρίς στέμφυλα τα υπολείμματα ήταν το ήμισυ αυτών στον αρχικό μούστο.

Τα στοιχεία που αναφέρονται στους πίνακες 8 και 9 δείχνουν ότι το azoxystrobin, το dimethoate, το kresoxim-methyl και τα υπολείμματα του pyrimethanil στον κρασί, είναι τα ίδια με αυτά στα σταφύλια. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις τα υπολείμματα στο μούστο ήταν εντυπωσιακά χαμηλότερα στα προϊόντα μεταποίησης από εκείνα στα σταφύλια, και σε κάποια περίπτωση κανένα υπόλειμμα (myclobutanil και tetraconazole) δεν ήταν ανιχνεύσιμο στο μούστο. Αυτό επισημαίνει μια μεγάλη συγγένεια για αυτά τα φυτοφάρμακα με τη στερεά φάση. Αυτή η τάση επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ο διαχωρισμός του μούστου με φυγοκέντρηση μειώνει τα υπολείμματα και στην περίπτωση μερικών φυτοφαρμάκων (cyprodinil, tebuconazole, fludioxonil και chlorpyrifos) πραγματοποιείται σχεδόν πλήρης αποβολή.

Πίνακας 8. Υπολείμματα μυκητοκτόνων (mg /Kg ± SD) σε προς οινοποίηση σταφύλια, στον παραγόμενο μούστο και στο κρασί που προήλθε από οινοποίηση με στέμφυλα και χωρίς στέμφυλα (Cabras *et al.*, 1987)

Φυτοφάρμακο	Σταφύλια	Μούστος	Μούστος μετά από φυγοκέντρηση	Οινοποίηση χωρίς στέμφυλα	Οινοπ. με στέμφυλα
Azoxystrobin	0,19±0,24	0,13	0,13	0,13	0,09
Cyprodinil	1,03±0,24	0,36	<0,02	0,18	0,21
Fenarimol	0,83±0,19	0,31±0,03			0,14±0,03
Fluazinam	1,21±0,30	0,30	0,08	<0,01	<0,01
Fludioxonil	0,78±0,13	0,39	<0,05	0,23	<0,05
Kresoxim-methyl	0,15±0,05	0,13	0,05	0,18	0,09
Mepanipyrim	0,31±0,06	0,16	0,07	<0,01	<0,001
Myclobutanil	0,27	<0,01			<0,01
Penconazole	0,58±0,06	0,18±0,02			0,09±0,09
Penconazole	0,02	0,01			<0,002
Penconazole	0,9			0,47	
Propiconazole	0,44	0,28			0,13
Pyrimethanil	1,11±0,18	1,03	0,94	1,02	1,01
Tebuconazole	0,42±0,06	0,20	<0,05	0,16	0,22
Tetraconazole	0,14±0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Πίνακας 9. Υπολείμματα εντομοκτόνων (mg / Kg \pm SD) σε προς οινοποίηση σταφύλια, στον παραγόμενο μούστο και στο κρασί που προήλθε από οινοποίηση με στέμφυλα και χωρίς στέμφυλα (Cabras *et al.*, 1987)

Φυτοφάρμακο	Σταφύλια	Μούστος	Μούστος μετά από φυγοκέντρηση	Οινοποίηση χωρίς στέμφυλα	Οινοποίηση με στέμφυλα
Azimphos-methyl	0,63 \pm 0,37				0,04
Azimphos-methyl	0,77 \pm 0,38				0,52
Chlorpyrifos	0,73 \pm 0,21	0,02	0,01	0,03	0,03
Chlorpyrifos	1,86 \pm 0,30	0,09	<0,01	<0,01	<0,01
Chlorpyrifos	2,00 \pm 0,26	0,34 \pm 0,02			0,02 \pm 0,00
Chlorpyrifos-methyl	0,16 \pm 0,07	0,06	0,02	0,03	0,03
Dimethoate	0,28 \pm 0,08	0,26	0,23	0,17	0,20
Dimethoate		1,2		1,03	
Fenitrothion	1,37\pm0,13	0,17\pm0,03	0,10\pm0,01	0,04\pm0,01	0,07\pm0,01
Fenthion	0,06 \pm 0,02	0,04	0,04	0,03	0,04
Methidathion	0,56 \pm 0,13	0,26	0,25	0,21	0,21
Parathion/methyl	0,37 \pm 0,04	0,13	0,05	0,05	0,05
Parathion/methyl	0,28 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	0,01 \pm 0,00
Quinalphos	0,39 \pm 0,04	0,16	0,04	0,07	0,07

Όσον αφορά το **fenitrothion** σε πείραμα (Sala *et al.*, 1996) που έγινε στη Σχολή Οινολογίας της Tarragona στην Καταλονία της Ισπανίας σε αμπέλια της ποικιλίας Cabernet Sauvignon προορισμένα για ερυθρή οινοποίηση και σε αμπέλια της ποικιλίας Macabeo για λευκή οινοποίηση, προέκυψε ότι το fenitrothion μειώνεται συνέχεια κατά τη διάρκεια της οινοποίησης. Στην ερυθρή και στη λευκή οινοποίηση βρέθηκε ότι τα υπολείμματα του fenitrothion μειώνονται σε ποσοστό 89% και 68 %, αντίστοιχα στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης. Συγκεκριμένα οι συγκεντρώσεις του fenitrothion στο τελικά παραγόμενο κρασί που προήλθε από οινοποίηση σταφυλιών συλλεχθέντων δύο ημέρες μετά την εφαρμογή του σκευάσματος Sumithion, βρέθηκαν 0,039 και 0,021 mg/L για το κόκκινο και το λευκό κρασί, αντίστοιχα (Cabras and Conte 2001).

5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1. Πείραμα αγρού

Το πειραματικό μέρος αγρού πραγματοποιήθηκε σε αμπελώνα ποικιλίας λευκού Ροδίτη και ποικιλίας μαύρου σταφυλιού Cabernet στην περιοχή Νέα Αγχίαλος του Νομού Μαγνησίας. Τα πρέμνα του αμπελιού απείχαν 1,2m πάνω στη γραμμή και 1,8m μεταξύ των γραμμών. Κατά τη διάρκεια του πειράματος ακολουθήθηκαν οι καθιερωμένες καλλιεργητικές φροντίδες στο αμπέλι. Σε κάθε επέμβαση στα πειραματικά τεμάχια των 48 (4 x 12) πρέμων το καθένα, έγιναν τρεις επαναλήψεις με τα δύο σκεύασματα και τον αφέκαστο μάρτυρα.

Στο πείραμα αγρού του 2002 ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε στις 10-9-2002 με το σκεύασμα IPM 40% CS στη συνιστώμενη δόση 190 mL/100L ψεκαστικού υγρού. Το πείραμα αγρού του 2003 περιελάμβανε δύο επεμβάσεις που έγιναν στις 28-8-2003, η μία με το σκεύασμα IPM 40% CS στη συνιστώμενη δόση 190 mL/100L ψεκαστικού υγρού και η άλλη με το σκεύασμα Fenthron EC 50% στη συνιστώμενη δόση 150 mL/100L ψεκαστικού υγρού. Ο ψεκασμός των σταφυλιών έγινε μέχρι απορροής με χειροκίνητο ψεκαστήρα πλάτης σε ρυθμό που αντιστοιχεί σε περίπου 100 L ψεκαστικού υγρού το στρέμμα.

Οι εφαρμογές του εντομοκτόνου έγιναν μετά την πλήρη ολοκλήρωση της ανάπτυξης της ράγας των σταφυλιών και 20-30 ημέρες πριν την αναμενόμενη συγκομιδή για οινοποίηση των σταφυλιών. Στην περίπτωση αυτή ελαχιστοποιείται το φαινόμενο της μείωσης των υπολειμμάτων που οφείλεται στην αραίωση λόγω μεγέθυνσης του καρπού.

Οι κλιματολογικές συνθήκες που επικράτησαν την περίοδο των δειγματοληψιών παρουσιάζονται στον Πίνακα 10. Παρατηρείται ότι το 2002 ήταν μια χρονιά με υψηλή υγρασία στην Αγχίαλο, όπως συνέβη και στο σύνολο της Ελλάδας και για το λόγο αυτό παρατηρήθηκαν πολλές μυκητολογικές προσβολές στην αμπελοπαραγωγή της χώρας μας.

Πίνακας 10: Κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούσαν στον αμπελώνα κατά τις χρονικές περιόδους του πειράματος

Έτος	Μέση ημερήσια Θερμοκρασία °C	Ύψος βροχής mm	Μέση ημερήσια σχετική υγρασία %
2002	19,2	14,8	81,9
2003	20,2	6,8	62,9

5.2. Δειγματοληψία στον αγρό

Η δειγματοληψία σταφυλιών για ανάλυση υπολειμμάτων έγινε σύμφωνα με τις απαιτήσεις FAO/WHO. Το λαμβανόμενο δείγμα από κάθε πειραματικό τεμάχιο ήταν τουλάχιστον 1kg και κάθε δείγμα περιελάμβανε τμήμα από τουλάχιστον 12 τσαμπιά σταφυλιών διαφορετικών πρέμων. Τα δείγματα τοποθετούνταν σε χάρτινες σακούλες, μεταφέρονταν αυθημερόν στο εργαστήριο όπου ομογενοποιούνταν (ράγες και κοτσάνια) και αποθηκεύονταν σε κατάψυξη -18°C μέχρι την ανάλυσή τους. Για τη μελέτη της αποικοδόμησης του fenitrothion στα σταφύλια συλλέχθηκαν δείγματα από τα πειραματικά τεμάχια ακριβώς πριν την εφαρμογή (-0 ημέρες) και μερικές ώρες μετά τον ψεκασμό από στεγνά πρέμνα (δείγμα 0 ημερών) και σε διάφορα χρονικά διαστήματα (2, 7, 11, 15, 20, 25 και 30 ημέρες) μετά την εφαρμογή.

Για τη μελέτη της τύχης των υπολειμμάτων του fenitrothion κατά τη διαδικασία της οινοποίησης από το σταφύλι στο μούστο και στο παραγόμενο κρασί, συλλέχθηκαν δείγματα περίπου 30Kg σταφυλιού από τα πρέμνα του πειραματικού (μάρτυρα και ψεκασμένα) στο διάστημα 15-20 ημερών από την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων τα οποία μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για άμεση οινοποίηση.

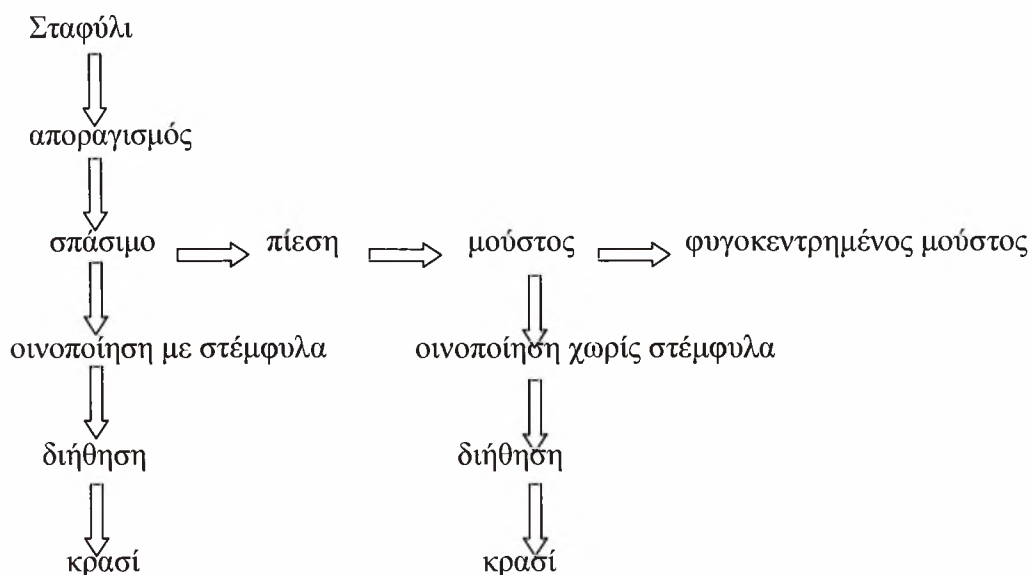
5.3. Διαδικασία οινοποίησης

Η οινοποίηση έγινε σε εργαστηριακή κλίμακα με τη συνηθισμένη διαδικασία παραγωγής κρασιού με στέμφυλα και χωρίς στέμφυλα (Σχήμα 6). Μετά την απομάκρυνση των βοστρύχων, ακολούθησε το σπάσιμο των ραγών, η πίεση του σταφυλοπολτού και η συλλογή του παραγόμενου μούστου. Κατόπιν προστέθηκε 0,1g/L sodium metabisulfite και 0,2g/L καλλιέργειας ζυμομύκητα (*Saccharomyces cerevisiae* -Zymaflore VL1 της Laffort) στο μούστο, ο οποίος αφέθηκε να ζυμωθεί σε θερμοκρασία δωματίου.

Ποσότητα 200ml από τον παραγόμενο μούστο φυγοκεντρήθηκε στις 4000 στρ/min για 10min. Ποσότητα μούστου καθώς και φυγοκεντρημένου μούστου αποθηκεύτηκαν σε πλαστικές φιάλες στους -18°C μέχρι την ανάλυσή τους. Η διαδικασία της φυγοκέντρησης πραγματοποιήθηκε για να μελετηθεί η κατανομή του fenitrothion στην υγρή και στη σωματιδιακή φάση του μούστου ώστε να εκτιμηθεί η τύχη του fenitrothion στη διάρκεια της οινοποίησης που οφείλεται μόνο στην κατανομή του μεταξύ οινολάσπης και κρασιού και όχι στην αποικοδόμηση του.

Μετά την παρέλευση 20 ημερών ολοκληρώθηκε η αλκοολική ζύμωση και ο μούστος μετατράπηκε σε κρασί. Ακολούθησε η μετάγγιση και η αποθήκευση του κρασιού σε

σκουρόχρωμες φιάλες για διάστημα περίπου ενός μηνός για να «καθαρίσει». Ακολούθως φιλτραρίστηκε και μέρος του κρασιού αναλύθηκε για τα υπολείμματα του fenitrothion.



Σχήμα 6 Διάγραμμα εργαστηριακής μικροοινοποίησης.

5.4. Υλικά-χημικά αντιδραστήρια-διαλύματα

Πρότυπη ουσία : Χρησιμοποιήθηκε πρότυπη ουσία fenitrothion (καθαρότητας 97,6%) της εταιρείας Riedel de Haen.

Πρότυπα διαλύματα : Παρασκευάστηκε μητρικό (stock) πρότυπο διάλυμα 1000μg/mL σε ακετόνη το οποίο αποθηκεύτηκε στους -20°C . Από το μητρικό πρότυπο διάλυμα παρασκευάστηκαν σε ογκομετρικές φιάλες με τις κατάλληλες αραιώσεις, ενδιάμεσα διαλύματα εργασίας σε ακετόνη για τα πειράματα ανάκτησης. Επίσης παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή της καμπύλης αναφοράς.



Ογκομετρικές φιάλες

Διαλύτες: Ακετόνη, διχλωρομεθάνιο, πετρελαϊκός αιθέρας, ισοοκτάνιο, τολουόλιο, οξικός αιθυλεστέρας. Οι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες ήταν βαθμού καθαρότητας Pestiscan της Lab-Scan.

5.5. Μέθοδος εκχύλισης για το σταφύλι και το μούστο.

Σε υάλινο σωλήνα φυγοκέντρου ζυγίστηκαν με ακρίβεια 15g ομογενοποιημένου δείγματος ιστού σταφυλιού ή μούστου, προστέθηκαν 30mL ακετόνης και ομογενοποιήθηκαν σε ομογενοποιητή Ultra Turrax (Παράπλευρη Εικόνα) σε χαμηλές στροφές για 30sec. Κατόπιν προστέθηκαν 30mL διχλωρομεθάνιο και 30mL πετρελαϊκού αιθέρα και ομογενοποιήθηκαν για επιπλέον 30sec. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 3500 στρ/min για 3 min.



Στη συνέχεια, 25 mL από την υπερκείμενη φάση μεταφέρθηκαν σε σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκαν μέχρι ξηρού σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα υπό κενό (Παράπλευρη Εικόνα), με μειωμένη πίεση, σε θερμοκρασία 40°C. Το ξηρό υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε σε 5mL μίγματος ισοοκτάνιο/τολουόλιο (9/1) (ενέσιμο διάλυμα) και ποσότητα του διαλύματος μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο προς έγχυση στον αέριο χρωματογράφο.



Ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία εκχύλισης των δειγμάτων σταφυλιού και μούστου, ο συντελεστής συμπύκνωσης του υποστρώματος είναι 0,83 gr/mL, δηλαδή αντιστοιχούν 0,83 gr υποστρώματος σε 1 mL ενέσιμου διαλύματος.

5.6. Μέθοδος εκχύλισης για το κρασί.

Η μεθοδολογία εκχύλισης του κρασιού ακολουθεί την τεχνική των Oliva et al. (9) με μικρές τροποποιήσεις.

Ποσότητα 10 gr κρασιού εκχυλίζεται με 10mL ακετόνης με ανακίνηση για 10 min σε υάλινο φιαλίδιο με πάμα teflon. Κατόπιν προστίθενται 10mL διχλωρομεθάνιου και 0,2gr άνυδρου χλωριούχου νατρίου και συνεχίζεται η ανακίνηση για επιπλέον 20 min. Το φιαλίδιο

αφήνεται για να ηρεμήσει το εκχύλισμα και η οργανική φάση του εκχυλίσματος συλλέγεται δια μέσου άνυδρου θειικού νάτριου. 10 mL της οργανικής φάσης συμπυκνώνονται σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό μέχρι ξηρού. Το υπόλειμμα παραλαμβάνεται με 1 mL οξικό αιθυλεστέρα (ενέσιμο διάλυμα) και οδηγείται σε φιαλίδια χρωματογραφίας για την ανάλυση.

Ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία εκχύλισης των δειγμάτων κρασιού, ο συντελεστής συμπύκνωσης του υποστρώματος είναι 5 gr/mL, δηλαδή αντιστοιχούν 5 gr υποστρώματος σε 1 mL ενέσιμου διαλύματος.

5.7. Χρωματογραφική ανάλυση

Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων του fenitrothion στα εκχυλίσματα των δειγμάτων σταφυλιού, μούστου και κρασιού έγινε με αέριο χρωματογραφία.

Χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος Hewlett Packard 6890 με ανιχνευτή NPD (Παράπλευρη Εικόνα) και στήλη τύπου BPX-5 30m x 0,32mm x 0,25μm. Η θερμοκρασία του εκχυτή ρυθμίστηκε στους 230°C και του ανιχνευτή στους 310°C.



Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το ακόλουθο: αρχική θερμοκρασία 60°C για 1,2min, άνοδος της θερμοκρασίας με ρυθμό αύξησης 14°C/min μέχρι τους 220°C (παραμονή για 2min) και ακολούθως με ρυθμό 30°C/min μέχρι τους 290°C και παραμονή στη θερμοκρασία αυτή για 5min. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο με ροή 1,4 mL/min. Ο ενέσιμος όγκος ήταν 2μL σε σύστημα έκχυσης pulsed splitless και η επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος γινόταν με το πρόγραμμα Chemstation της Hewlett Packard μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή.

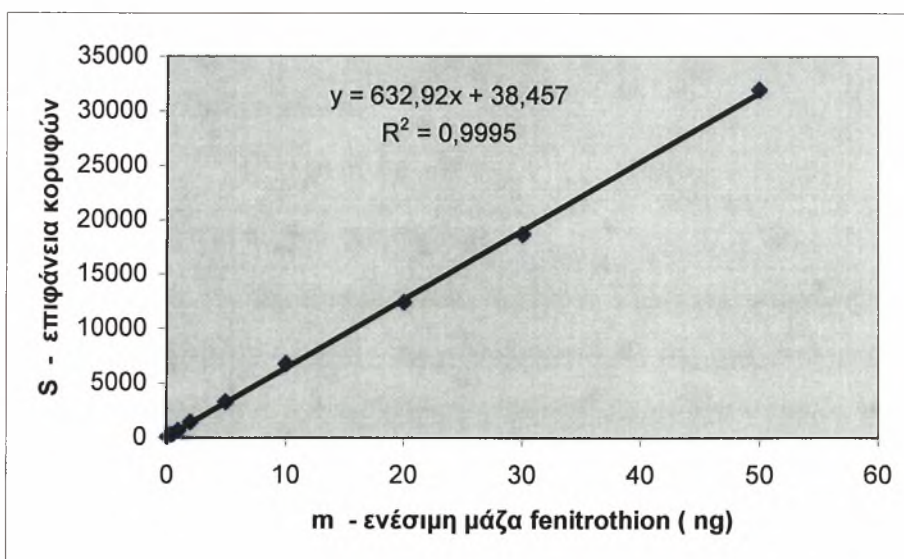
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ –ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6. 1. Ποιοτικός προσδιορισμός.

Η ταυτοποίηση του εντομοκτόνου στα χρωματογραφήματα έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής του. Ο χρόνος κατακράτησης του fenitrothion με τις εφαρμοζόμενες χρωματογραφικές συνθήκες είναι 15,10 min (Σχήματα 10,12). Τα δείγματα του μάρτυρα δεν εμφάνισαν καμία παρεμπόδιση στο χρόνο κατακράτησης του fenitrothion τόσο στα σταφύλια όσο και στα δείγματα κρασιού (Σχήματα 9, 11).

6. 2. Ποσοτικός προσδιορισμός.

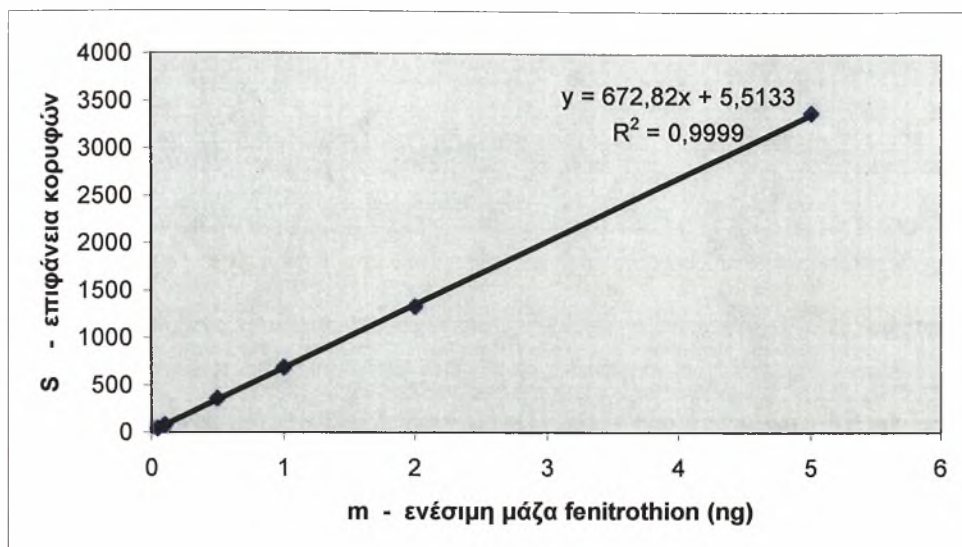
Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης του fenitrothion στα δείγματα έγινε με την τεχνική του εξωτερικού προτύπου με χρήση καμπύλης αναφοράς (Σχήμα 7).



Σχήμα 7: Καμπύλη αναφοράς για το fenitrothion σε εκχύλισμα σταφυλιού στο σύστημα GC-NPD

Η απόκριση του ανιχνευτή στην περιοχή από 0,01 - 50ng fenitrothion, που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων στα εκχυλίσματα των δειγμάτων σταφυλιού και μούστου, βρέθηκε γραμμική, με τιμή του συντελεστή συσχέτισης $r = 0,999$ (Σχήμα 7).

Η απόκριση του ανιχνευτή στην περιοχή από 0,05 – 5 ng fenitrothion που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης στα εκχυλίσματα των δειγμάτων κρασιού, βρέθηκε γραμμική με τιμή του συντελεστή συσχέτισης $r = 0,999$ (Σχήμα 8).



Σχήμα 8: Καμπύλη αναφοράς για το fenitrothion σε εκχύλισμα κρασιού στο σύστημα GC-NPD

Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων του υποστρώματος στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση :

$$C = m / (F_c \cdot V) \quad \text{όπου}$$

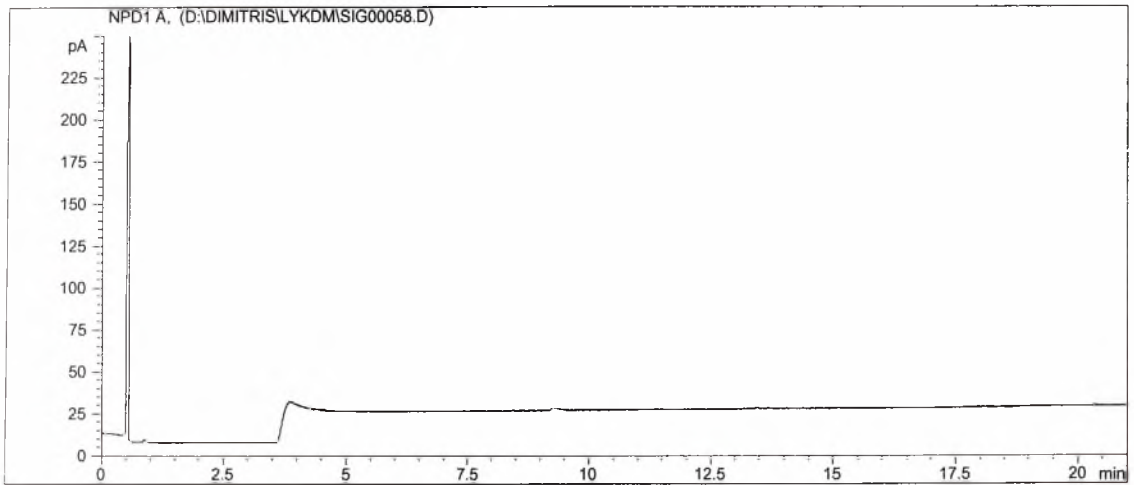
C = η συγκέντρωση στο δείγμα σε (mg/kg)

m = η ενέσιμη μάζα του fenitrothion, όπως προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς, που είναι $m = (S - 38,46) / 632,92$, όπου S η επιφάνεια της χρωματογραφικής κορυφής την οποία μετράμε για τον προσδιορισμό fenitrothion στο σταφύλι και στο μούστο και είναι $m = (S - 5,51)/672,82$ για τον προσδιορισμό fenitrothion στο κρασί .

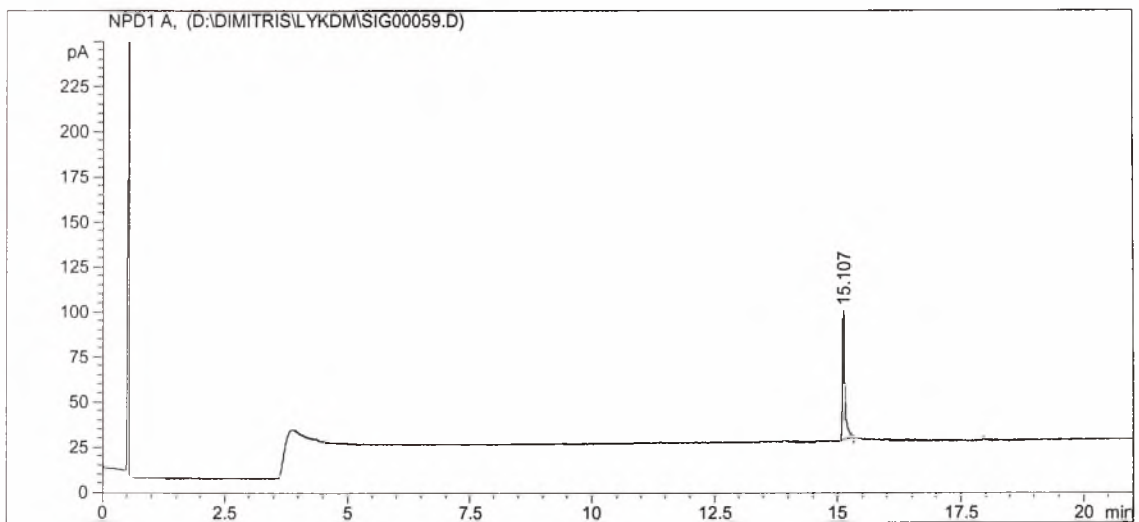
F_c = ο συντελεστής συμπύκνωσης του υποστρώματος , που είναι 0,83

V = ο ενέσιμος όγκος του εκχυλίσματος του δείγματος, που είναι 2 μL

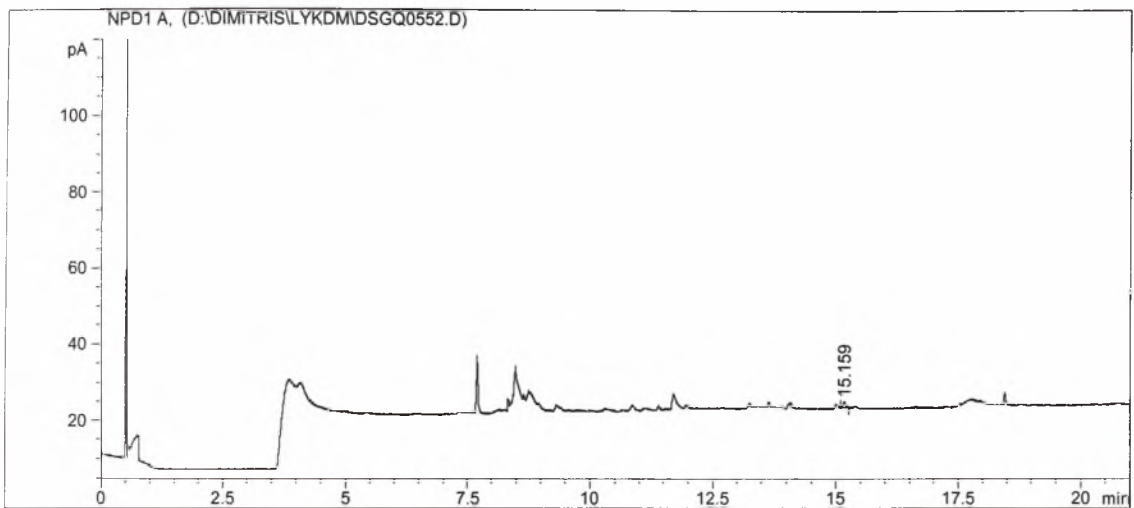
Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού για το fenitrothion στα σταφύλια εκτιμήθηκε σε 0,01 mg/kg και στο μούστο και το κρασί σε 0,002 mg/kg αντίστοιχα.



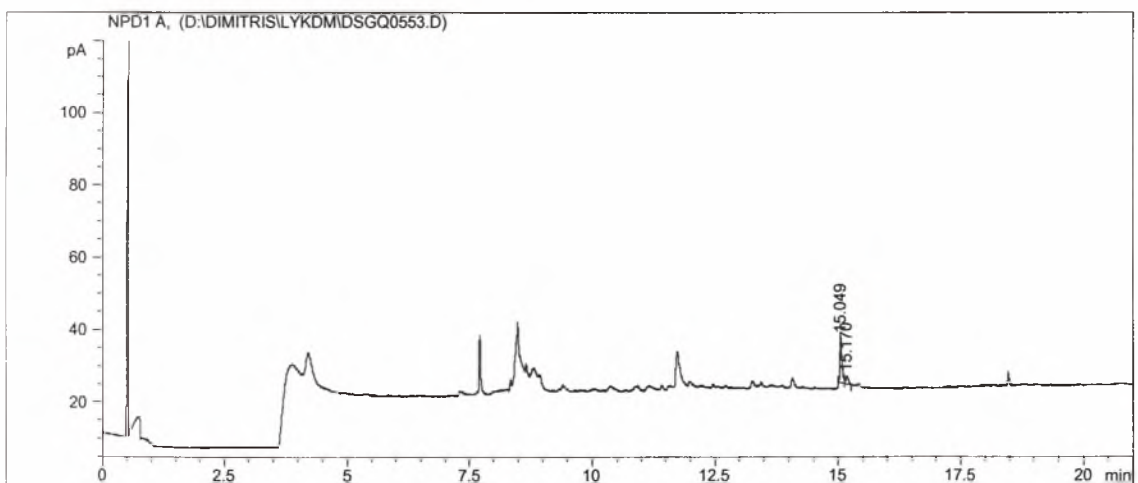
Σχήμα 9: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από δείγμα σταφυλιού μάρτυρα.



Σχήμα 10: Χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος fenitrothion σε εκχύλισμα σταφυλιού.



Σχήμα 11: Χρωματογράφημα εκχύλισματος από δείγμα κρασιού μάρτυρα



Σχήμα 12 : Χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος fenitrothion 0,10 mg/kg σε εκχύλιση κρασιού .

6. 3. Έλεγχος της μεθόδου.

Η μέθοδος εκχύλισης και χρωματογραφικού προσδιορισμού του fenitrothion ελέγχθηκε ως προς την αξιοπιστία της με πειράματα ανάκτησης. Δείγματα μάρτυρα φορτίστηκαν με γνωστή ποσότητα προτύπου διαλύματος fenitrothion έτσι ώστε να προκύψουν εμβολιασμένα δείγματα σε διάφορα επίπεδα συγκεντρώσεων. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν οι προαναφερόμενες για κάθε τύπο υποστρώματος τεχνικές εκχύλισης και χρωματογραφικής ανάλυσης και προσδιορίστηκε η ποσότητα της δραστικής ουσίας που ανακτήθηκε σε σχέση με αυτή που εφαρμόστηκε με τη φόρτιση.

Οι δοκιμές ανάκτησης έγιναν εις πενταπλούν και τα αποτελέσματα, δηλαδή η % ανάκτηση και η επαναληψιμότητα (ως σχετική τυπική απόκλιση, ΣΤΑ) της μεθόδου παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 11: Ανακτήσεις fenitrothion (Μέσος όρος Ανακτήσεων του fenitrothion - % ± Σχετική Τυπική Απόκλιση – ΣΤΑ) σε σταφύλια, μούστο και κρασί για διάφορα επίπεδα φόρτισης.

Υπόστρωμα	Εκχυλιστικό μέσο	0,01 mg/Kg	0,10 mg/Kg	0,50 mg/Kg	5,0 mg/Kg
Σταφύλι	AC / DCM / PE	92 ± 4	94 ± 3	101 ± 3	96 ± 4
Μούστος	AC / DCM / PE	94 ± 5	95 ± 3	98 ± 5	---
Κρασί	AC / DCM	89 ± 4	91 ± 3	89 ± 4	---

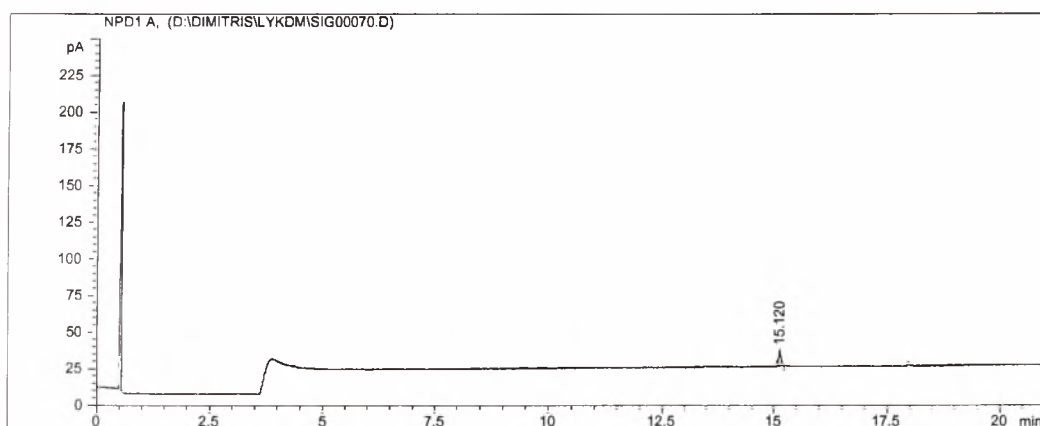
AC:Ακετόνη, DCM:Διχλωρομεθάνιο, PE:Πετρελαϊκός αιθέρας,

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 εφαρμόστηκε παρουσιάζει καλή επαναληψιμότητα.

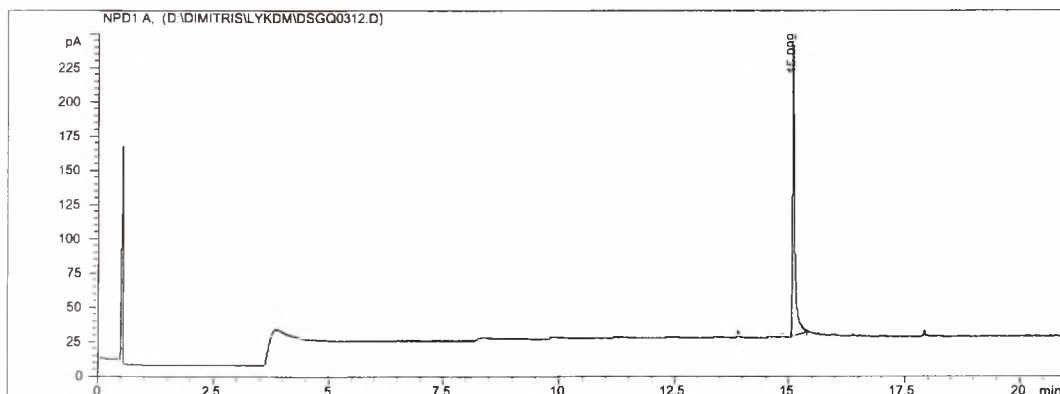
6. 4. Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenitrothion σε σταφύλια

Στα Σχήματα 7 και 8 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα από ανάλυση δειγμάτων σταφυλιού, που συλλέχθηκαν 15 ΗΑΕ από τα πειραματικά τεμάχια που ψεκάστηκαν με Fenthron 50 EC και με Fenitrothion IPM 40 CS αντίστοιχα. Από τη διαφορετική απόκριση του ανιχνευτή διαφαίνεται η μεγάλη διαφορά των επιπέδων των μετρούμενων υπολειμμάτων, με εμφανή τη μεγαλύτερη παρουσία τους στα δείγματα από το πειραματικό τεμάχιο που δέχθηκε ψεκάσμο με το σκεύασμα της μικροκάψουλας.

Συνολικά τα αποτελέσματα της ανάλυσης των δειγμάτων σταφυλιών του πειράματος για τα έτη 2002 και 2003 για χρονικό διάστημα μέχρι και 50 ημέρες μετά την εφαρμογή του fenitrothion, παρουσιάζονται στον Πίνακα 12 και στο Σχήμα 15 που ακολουθούν.



Σχήμα 13 : Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος σταφυλιού 15 ΗΑΕ από το πειραματικό τεμάχιο αμπελιού που δέχθηκε ψεκάσμο με Fenthron 50 EC.



Σχήμα 14 : Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος σταφυλιού 15 ΗΑΕ από το πειραματικό τεμάχιο αμπελιού που δέχθηκε ψεκάσμο με Fenitrothion IPM 40 CS.

Πίνακας 12: Υπολείμματα fenitrothion (Μέση τιμή και σχετική τυπική απόκλιση) σε σταφύλια ποικιλίας Ροδίτης και Cabernet σε διάφορα χρονικά διαστήματα (HAE) από την εφαρμογή των σκευασμάτων Fenitrothion IPM 40 CS στις 10-9-2002 και Fenitrothion IPM 40 CS και Fenthron 50 EC στις 28-8-2003												
HAE	2003 Fenitrothion 50 EC (Ροδίτης)			2003 Fenitrothion IPM CS (Ροδίτης)			2003 Fenitrothion IPM CS (Cabernet)			2002 Fenitrothion IPM CS (Ροδίτης)		
	Μέσος όρος mg/Kg	RSD		Μέσος όρος mg/Kg	RSD %		Μέσος όρος mg/Kg	RSD %		Μέσος όρος mg/Kg	RSD %	
0	4,6	14		4,8	7		3,0	10		5,1	6	
2	1,1	18		3,4	16		2,3	4		3,5	11	
7	0,18	21		3,1	11		2,0	11		3,0	3	
11	0,13	14		2,1	8		1,8	13		2,1	9	
15	0,06	24		1,2	13		1,2	14		1,9	6	
21	0,06	13		1,1	8		1,0	24		1,6	18	
28	0,03	13		0,92	10		1,2	12		1,4	6	
33	0,02	32		0,66	16		0,94	13		1,6	22	
40	0,01	30		0,55	14		0,46	20		1,1	22	
50	--			0,21	5		0,29	14		--	--	

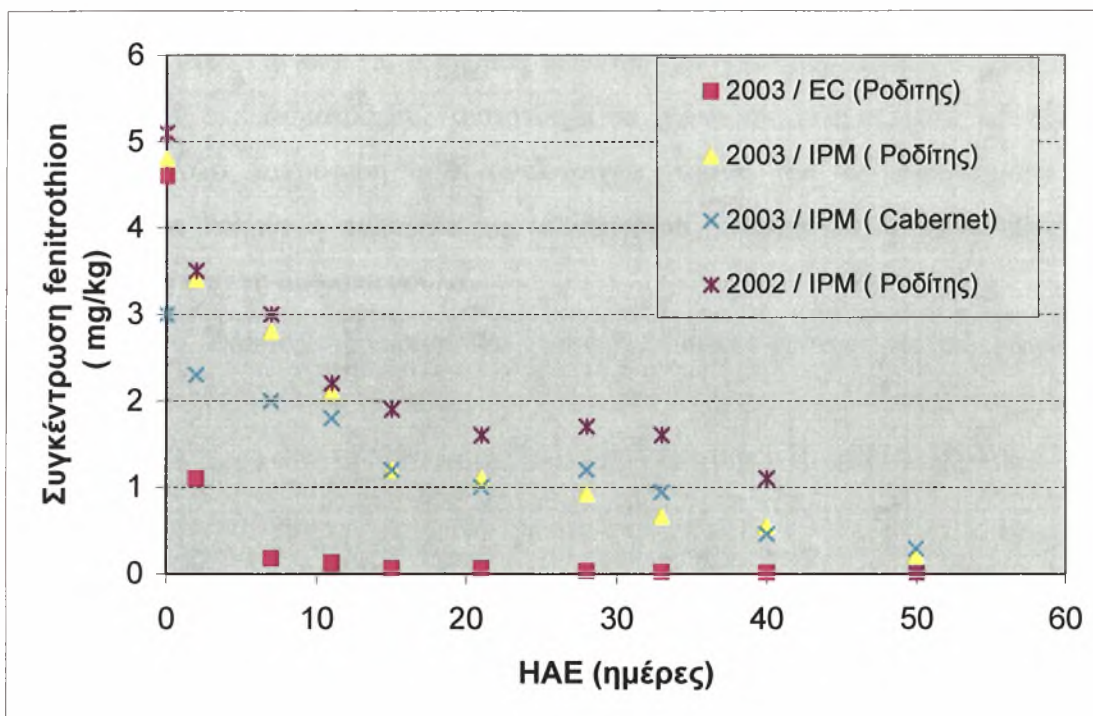
Η αρχική συγκέντρωση του fenitrothion στα σταφύλια της ποικιλίας Ροδίτης που ψεκάστηκαν με το σκεύασμα IPM CS ήταν 4,8 και 5.1 mg/Kg για το 2003 και 2002 αντίστοιχα, ενώ η συγκέντρωση στις 21 ημέρες βρέθηκε 1,1 και 1,6mg/Kg, τιμές πάνω από τα ανώτερα επιτρεπτά όρια (0,5 mg/kg) στο σταφύλι. Και για τις δύο χρονιές, παρατηρήθηκε ότι οι συγκεντρώσεις του fenitrothion στα σταφύλια δεν βρέθηκαν κάτω από την τιμή 0,5 mg/kg ούτε και μετά την παρέλευση περίπου ενός μηνός (40 ημέρες) από τον ψεκασμό οπότε και μετρήθηκαν 0,55 και 1,1 mg/kg αντίστοιχα.

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του fenitrothion, δραστικής ουσίας του σκευάσματος IPM CS στα σταφύλια της ποικιλίας Ροδίτης, παρατηρήθηκαν και στις δύο χρονιές εφαρμογής του πειράματος με αποκλίσεις που μπορούμε να τις αποδώσουμε στις διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες που επικράτησαν στην περιοχή για τις δύο χρονιές (Πίνακας 1). Σύμφωνα με πληροφόρηση από επικοινωνία με την εταιρεία που διακινεί το σκεύασμα, ο βαθμός απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας από τις μικροκάψουλες εξαρτάται από την κατάσταση σπαργής της μικροκάψουλας και κατά συνέπεια από τις κλιματολογικές συνθήκες (ιδιαίτερα την υγρασία) κατά την περίοδο της εφαρμογής. Όσο η μικροκάψουλα βρίσκεται σε υγρό περιβάλλον τόσο η αποδέσμευση της δραστικής είναι βραδύτερη, ενώ αντίθετα σε ξηρό περιβάλλον ο ρυθμός αποδέσμευσης αυξάνεται. Η διαφοροποίηση της υποβάθμισης των υπολειμμάτων για τα δύο έτη του πειράματος ακολουθεί τις κλιματολογικές συνθήκες που επικράτησαν την περίοδο του πειράματος, με αποτέλεσμα το περισσότερο υγρό 2002 να παρατηρείται μειωμένη υποβάθμιση υπολειμμάτων που αποδίδεται στη μειωμένη απελευθέρωση της δραστικής από τις μικροκάψουλες.

Οι συγκεντρώσεις του fenitrothion στα σταφύλια της ποικιλίας Ροδίτης που ψεκάστηκαν με το σκεύασμα EC ήταν 4,6 και 0,06mg/Kg για 0 και 21 ΗΑΕ αντίστοιχα. Στην περίπτωση αυτή παρατηρείται γρήγορη υποβάθμιση του fenitrothion, τέτοια που σε διάστημα μικρότερο των 7 ΗΑΕ οι μετρούμενες συγκεντρώσεις να είναι καθαρά κάτω από τα ανώτερα επιτρεπτά όρια (0,5 mg/kg) στο σταφύλι.

Αντίστοιχη συμπεριφορά των υπολειμμάτων του fenitrothion μετά από εφαρμογή του σκευάσματος της μικροκάψουλας, παρατηρήθηκε και στα σταφύλια της ποικιλίας Cabernet όπου στις 15 ΗΑΕ τα επίπεδα του fenitrothion στα σταφύλια ήταν 1,2 mg/kg και μόνο μετά από 40 ΗΑΕ καταγράφηκαν τιμές πλησίον ή χαμηλότερες του 0,5 mg/kg. Στην περίπτωση της εξέλιξης των υπολειμμάτων του fenitrothion στα σταφύλια της ποικιλίας Cabernet, αν και στην αρχή καταγράφηκαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με αυτές της ποικιλίας Ροδίτης, μετά την 11^η ΗΑΕ οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα (Σχήμα 15). Όσον αφορά τις χαμηλότερες αρχικές αποθέσεις στα σταφύλια της

ποικιλίας Cabernet σε σχέση με αυτά της ποικιλίας Ροδίτη, με τιμές 3,0 και 4,8 mg/kg αντίστοιχα αυτές πιθανόν να οφείλονται στη μικρότερη επιφάνεια που εμφανίζει συνολικά το τσαμπί (βότρυς) της ποικιλίας αυτής, λόγω της μεγαλύτερης πυκνότητας και συνεκτικότητας των ραγών του.



Σχήμα 15 : Υποβάθμιση υπολειμμάτων fenitrothion σε σχέση με το χρόνο σε σταφύλια ποικιλίας Ροδίτης και Cabernet που δέχθηκαν ψεκασμούς με διαφορετικά σκευάσματα fenitrothion (Fenitrothion IPM 40 CS στις 10-9-2002 και Fenitrothion IPM 40 CS και Fenthron 50 EC στις 28-8-2003).

Από τη μορφή της εξέλιξης των υπολειμμάτων, όπως αυτή παρουσιάζεται στο Σχήμα 15, παρατηρείται ότι στην περίπτωση της εφαρμογής με σκεύασμα μικροκάψουλας υπάρχει μια σαφής και συνεχής μείωση των υπολειμμάτων μέχρι την 11^η ή τη 15^η ΗΑΕ, τέτοια που η συγκέντρωσή τους να έχει μειωθεί πάνω από το μισό. Από την 11^η – 15^η ΗΑΕ και μέχρι την 28^η παρατηρείται μια ασθενής περαιτέρω μείωσή τους με εμφάνιση μιας περιοχής σχεδόν αμετάβλητων συγκεντρώσεων, «πλατώ». Παρόμοια περίπτωση εμφάνισης ενός «πλατώ» έχει αναφερθεί και σε ανάλογη μελέτη υποβάθμισης της δραστικής ουσίας chlorpyrifos που εφαρμόστηκε με σκεύασμα μικροκάψουλας (Pyrinex ME) σε εσπεριδοειδή (Montemurro et al, 2002). Η συμπεριφορά αυτή, μπορεί να δείχνει ότι σε αυτή τη χρονική περίοδο ο ρυθμός απελευθέρωσης του fenitrothion από τη μικροκάψουλα είναι περίπου ίσος με το ρυθμό

αποικοδόμησης του fenitrothion και επομένως παρουσιάζεται μια σχεδόν σταθερή παρουσία υπολειμμάτων fenitrothion με μια μικρή μόνο τάση εξασθένησης. Αντίθετα στην περίοδο από 0 έως 11 ΗΑΕ ο ρυθμός της απελευθερούμενης ποσότητας της δραστικής από τις μικροκάψουλες είναι μικρότερος και δεν αναπληρώνει την αποικοδομούμενη ποσότητα της δραστικής ουσίας και για το λόγο αυτή φαίνεται να υπάρχει μια σαφής μείωση των υπολειμμάτων.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 13, ο ρυθμός μείωσης των υπολειμμάτων του fenitrothion στην περίπτωση του σκευάσματος EC αντιστοιχεί σε χρόνο ημιζωής περίπου 2,5 ημερών τιμή που είναι πολύ μικρότερη των αντίστοιχων τιμών για τα σκευάσματα της μικροκάψουλας στα οποία η παρουσία του fenitrothion ενισχύεται συνεχώς μέσω της απελευθέρωσης του από τη μικροκάψουλα.

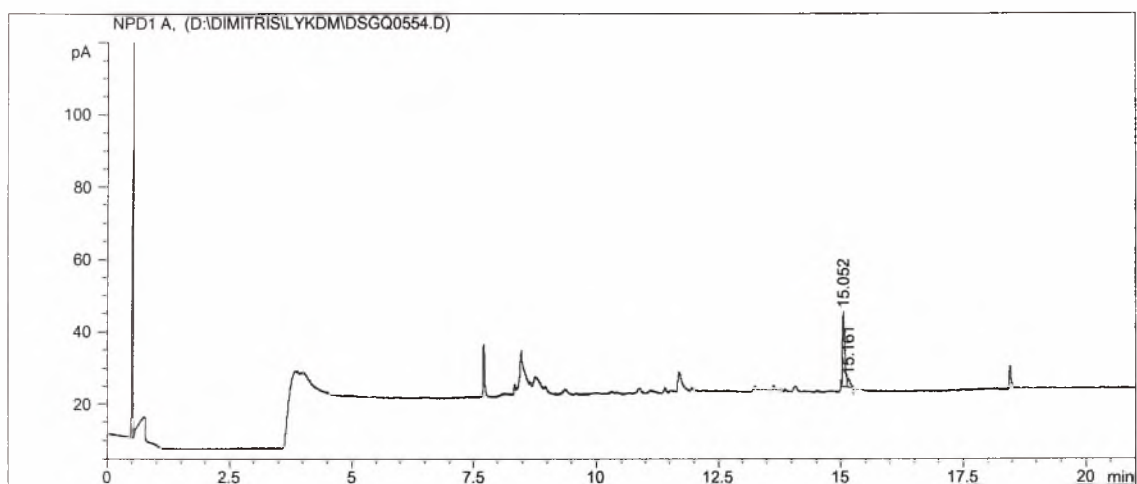
Πίνακας 13: Ρυθμός μείωσης και υπολογιζόμενοι χρόνοι ημιζωής μείωσης υπολειμμάτων fenitrothion σε σταφύλια ποικιλίας Ροδίτης και Cabernet για χρονικό διάστημα 11 ημερών από την εφαρμογή των σκευασμάτων Fenitrothion IPM 40 CS και Fenthron 50 EC .				
	2003 EC (Ροδίτης)	2003 IPM CS (Ροδίτης)	2003 IPM CS (Cabernet)	2002 IPM CS (Ροδίτης)
Ρυθμός μείωσης	0,2716	0,0823	0,0619	0,609
Χρόνος ημιζωής (ημέρες)	2,5	8,4	11,2	11,4

Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 13 φαίνεται επίσης η διαφορετική συμπεριφορά του σκευάσματος της μικροκάψουλας που εφαρμόστηκε το 2002 με αυτή που εφαρμόστηκε το 2003, όπως ήδη έχει προαναφερθεί.

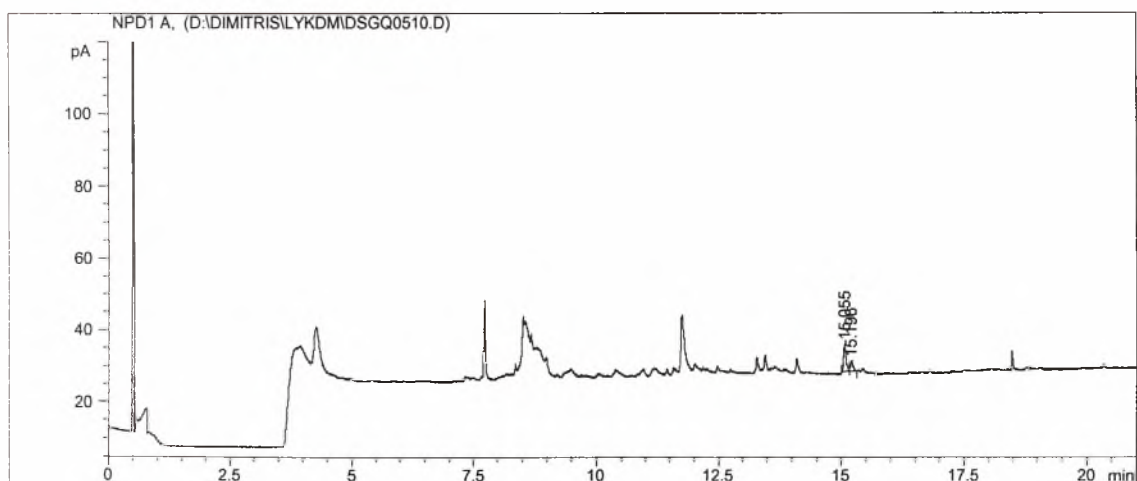
6. 5. Υποβάθμιση των υπολειμμάτων του fenitrothion στο κρασί

Στα Σχήματα 16 και 17 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα από ανάλυση φορτισμένου δείγματος λευκού κρασιού μάρτυρα και από ανάλυση δείγματος λευκού κρασιού που προέκυψε από την οινοποίηση σταφυλιών ποικιλίας Ροδίτη. Τα σταφύλια συλλέχθηκαν 15 ΗΑΕ από το πειραματικό τεμάχιο που ψεκάστηκε με Fenthron 50EC και Fenitrothion IPM 40 CS αντίστοιχα.

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αναλύσεων κρασιού που προέκυψαν από τις εργαστηριακές μικροοινοποιήσεις σταφυλιών που συλλέχθηκαν από τα πειραματικά τεμάχια που ψεκάστηκαν με fenitrothion.



Σχήμα 16: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από φορτισμένο δείγμα κρασιού σε επίπεδο 0,10 mg/kg.



Σχήμα 17: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από δείγμα κρασιού . Η κορυφή με $t_r=15,055$ αντιστοιχεί σε συγκέντρωση Fenitrothion στο κρασί ίση με 0,04mg/kg.

Πίνακας 14: Υπολείμματα (mg/Kg) fenitrothion σε σταφύλια ποικιλίας Ροδίτης και Cabernet, σε μούστο, φυγοκεντρημένο μούστο και κρασί που προήλθαν από τη διαδικασία οиноποίησης των σταφυλιών που συλλέχθηκαν 15-20 ΗΑΕ από την εφαρμογή των σκευασμάτων Fenitrothion IPM 40 CS στις 10-9-2002 και Fenitrothion IPM 40 CS και Fenthron 50 EC στις 28-8-2003 και συντελεστής συγκέντρωσης CF% από το σταφύλι στο μούστο και στο κρασί.

	2003 Fenitrothion 50 EC (Ροδίτης)	2003 Fenitrothion IPM CS (Ροδίτης)	2003 Fenitrothion IPM CS (Cabernet)	2002 Fenitrothion IPM CS (Ροδίτης)
Σταφύλι	0,06	1,2	1,7	2,1
Μούστος	0,02	0,51	0,76	0,86
Φυγοκεντρημένος μούστος	0,01	0,13	0,13	0,28
Κρασί	0,002	0,03	0,05	0,10
%CF στο μούστο	33	43	45	39
%CF στο κρασί	3,3	2,5	2,9	4,7

Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων στο κρασί βρέθηκαν να κυμαίνονται από 0,002 έως και 0,10 mg/kg . Όλα τα κρασιά που προήλθαν από οινοποιήσεις σταφυλιών που δέχθηκαν ψεκασμούς με το σκεύασμα της μικροκάψουλας, είχαν συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,03 έως 0,10 mg/kg, τιμές υψηλότερες του 0,01 mg/kg που είναι η Ανώτατη επιτρεπτή τιμή υπολειμμάτων στο κρασί για την Ιταλία όπως φαίνεται στον Πίνακα 15. (Bosio *et al.*, 2003 και Cabras and Conte, 2001)

Πίνακας 15: Ανώτατα Επιτρεπτά Όρια Υπολειμμάτων Εντομοκτόνων στα σταφύλια και στο κρασί που έχουν θεσπισθεί στην Ιταλία.		
Δραστική ουσία	Σταφύλι (mg/kg)	Κρασί (mg/kg)
Acrinathrin	0,10	0,01
Buprofezin	1,00	0,50
Chlorpyrifos	0,50	0,01
Fenitrothion	0,50	0,01
Malathion	0,50	0,01
Flufenoxuron	0,10	0,01
Tebufenozide	0,50	0,10
Teflubenzuron	1,0	0,01

Οι συντελεστές συγκέντρωσης των υπολειμμάτων του fenitrothion κατά τη διαδικασία της οινοποίησης από το σταφύλι στο κρασί, είναι χαμηλότερες του 5% για όλες τις περιπτώσεις και κυμαίνονται από 3,3 έως 4,7 %. Οι παρατηρούμενες λοιπόν υψηλότερες τιμές στο κρασί αποδίδονται στις υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης fenitrothion στα οινοποιηθέντα σταφύλια.

Δεδομένου ότι η συλλογή των προς οινοποίηση σταφυλιών έγινε σε χρονικά διαστήματα από 15 έως 22 ΗΑΕ, διαστήματα που καλύπτουν τον απαιτούμενο, σύμφωνα με την ετικέτα των σκευασμάτων, χρόνο της Τελευταίας Επέμβασης Πριν τη Συγκομιδή (ΤΕΠΣ) φαίνεται ότι χρειάζεται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ΤΕΠΣ για τα σκευάσματα της μικροκάψουλας, ώστε να αποφευχθεί η παρουσία υπολειμμάτων fenitrothion υψηλότερων από τα MRLs στο σταφύλι αλλά και στο παραγόμενο κρασί.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων σταφυλιού, κρασιού και μούστου από τον αμπελώνα μετά από επεμβάσεις με δύο διαφορετικά εμπορικά σκευάσματα (ένα βραδείας αποδέσμευσης, το IPM CS 40% σε μορφή μικροκάψουλας και το άλλο, το Fenthrion EC 50%, σε μορφή γαλακτώματος), διαπιστώνεται ότι η πορεία υποβάθμισης των υπολειμμάτων είναι διαφορετική.

Πιο συγκεκριμένα, σημειώθηκε ταχύτατος ρυθμός υποβάθμισης στην περίπτωση της επέμβασης με το Fenthrion EC 50% όπως ήταν αναμενόμενο, καθώς το fenitrothion είναι μια δραστική ουσία με μικρό χρόνο παραμονής σε φυτικούς ιστούς. Στην περίπτωση της εφαρμογής του σκευάσματος EC τα υπολείμματα στα σταφύλια στις 15 HAE ήταν περίπου το 1% των αρχικών επιπέδων fenitrothion, ενώ στην περίπτωση της εφαρμογής του σκευάσματος της μικροκάψουλας (IPM CS) βρέθηκε περίπου το 25% και 37% για τα έτη 2003 και 2002, αντίστοιχα. Στην περίπτωση λοιπόν του IPM CS 40%, παρατηρήθηκε μια εμμονή των υπολειμμάτων του fenitrothion που φαίνεται να είναι αφενός επιδιωκόμενη καθόσον το σκευάσμα είναι βραδείας αποδέσμευσης, αλλά αφ' ετέρου είναι αρκετά έντονη ώστε τα επίπεδα των υπολειμμάτων του fenitrothion ακόμη και 50 ημέρες από την επέμβαση (HAE) να μην μειώνονται κάτω από το 4% της αρχικής συγκέντρωσης τους (ποικιλία Ροδίτης 2003).

Οι αναλύσεις των δειγμάτων των σταφυλιών του πειραματικού αμπελώνα στις δύο χρονιές εφαρμογής του σκευάσματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης, έδειξαν συγκεντρώσεις fenitrothion πάνω από τα Ανώτατα Επιτρεπτά Όρια (MRLs: 0,5mg/kg) στις 14 ημέρες που είναι το προτεινόμενο ΤΕΠΣ (τελευταία επέμβαση πριν τη συγκομιδή, **Pre-Harvest Interval**). Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων παρέμειναν υψηλές ακόμη και πέραν των 30 HAE αναδεικνύοντας την ανάγκη διαφορετικού χειρισμού στην περίπτωση του σκευάσματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης.

Ακόμα, διαπιστώθηκε η στενή συσχέτιση των καιρικών συνθηκών με το ρυθμό αποσύνθεσης του εντομοκτόνου. Φάνηκε λοιπόν πως η υψηλή υγρασία στη διάρκεια του έτους 2002, συντέλεσε στη μειωμένη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη μικροκάψουλα του σκευάσματος, με συνέπεια να έχουμε παραμονή και αυξημένες συγκεντρώσεις του fenitrothion στα φυτικά δείγματα. Όπως επίσης σημαντικό ρόλο έπαιξε και η μορφολογία του σταφυλιού (το μέγεθος του βότρυ).

Εν κατακλείδι, προκύπτει η ανάγκη για περισσότερη έρευνα πάνω στη συμπεριφορά της μικροκάψουλας. Ίσως χρειάζεται, για παράδειγμα, επέμβαση με διαφορετικό ρυθμό

ψεκασμού (L ψεκαστικού υγρού /στρ), επέμβαση με διαφορετική τεχνική ψεκασμού (π.χ. χρήση μηχανοκίνητου ψεκαστήρα υψηλής πίεσης αντί ψεκαστήρα πλάτης), επέμβαση και σε άλλες χρονικές περιόδους (π.χ. πριν το γυάλισμα της ράγας αλλά και σε πιο ξηροθερμικές συνθήκες όπως τον Ιούλιο) αλλά και επεμβάσεις σε διαφορετικές ποικιλίες αμπέλου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Αθανασόπουλος Β., 1998, Προσδιορισμός Υπολειμμάτων Δικαρβοξυμιδικών μυκητοκτόνων σε σταφύλια περιοχής Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας, Πτυχιακή Εργασία. Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος
- Αναγνωριστική Έκθεση Αμπέλι-Κρασί, Συντονιστής: ANEM Α.Ε. Βόλος, 2003
- Καρπούζας Δ., 2003, Γεωργική Φαρμακολογία, Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, Βόλος
- Λέντζα-Ρίζου, Χ., 1994, Υπολείμματα Γεωργικών φαρμάκων στα αγροτικά προϊόντα, Ρυθμίσεις στην Ε.Ε. για την προστασία καταναλωτών και την διευκόλυνση των εμπορικών συναλλαγών
- Λέντζα-Ρίζου, Χ., 1996, Έρευνα στην Ευρωπαϊκή Ένωση για υπολείμματα φυτοφαρμάκων, Γεωτεχνική Ενημέρωση, τεύχος 94, Φεβρουάριος 1997
- Λέντζα-Ρίζου, Χ., 1997^α, Γεωργικά Φάρμακα, Διδακτικές Σημειώσεις, Βόλος
- Λέντζα- Ρίζου, Χ. 1997^β, Επίδραση των μεταποιητικών διαδικασιών στα υπολείμματα των φαρμάκων στα φυτικά προϊόντα. Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα, 8 (2), 83-93
- Λιάπης, Κ. Σ. 1997, Γεωργικά Φάρμακα και υπολείμματα μετά τη χρήση τους, οικολογική απειλή οικολογική υπερβολή, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο
- Λόλας Π., 2003, Ζιζανιολογία. Ζιζάνια-Ζιζανιοκτόνα. Τύχη και συμπεριφορά στο έδαφος. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη
- Λουτσέτη Σ., 2000, Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες τον 21^ο αιώνα, Γεωπονικά, Τεύχος 386, Μάρτιος-Απρίλιος 2000
- Μηλιάδης, Γ. Ε. 1997, Παράγοντες που επηρεάζουν την τύχη των γεωργικών φαρμάκων στο περιβάλλον, Τεχνικό δελτίο Αρ. 12 Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο
- Μπρούμας Θ., Σουλιώτης Κ., Μόσχος Θ. και Τσουργιάννη Α., 1995. Καταπολέμηση της Ευδεμίδας της Αμπέλου *Lobesia botrana* με παρασκευάσματα του *Bacillus thuringiensis* και εκλεκτικά εντομοκτόνα. Πρακτικά 5^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Εντομολογίας, Αθήνα, 8-10 Νοεμβρίου 1993
- Νίκλης, Ν. Δ. 1996, Χρησιμοποιούμενες στην Ελλάδα μέθοδοι για την ανάλυση τροφίμων ως προς την περιεκτικότητά τους σε υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων (Φ. Π.) και προτάσεις για εναρμόνιση της μεθοδολογίας, Εργαστήριο

Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων, Περιφερειακό Κέντρο Προστασίας Φυτών & Ποιοτικού Ελέγχου Θεσσαλονίκης

- Νικολαΐδης Γρ., Η ασφάλεια των γεωργικών προϊόντων και η πιστοποίηση της παραγωγής τους, Γεωπονικά, τεύχος 387, Μάιος-Ιούνιος 2000
- Παναγόπουλος Χ. 1997, Ασθένειες Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα
- Παπαδοπούλου-Μουρκίδου, Ε., 1991, Γεωργικά Φάρμακα-Διδακτικές Σημειώσεις μέρος 1^ο-2^ο, Θεσσαλονίκη
- Ροδιτάκης Ν. 1987. Αξιολόγηση Εννέα Εντομοκτόνων για την Καταπολέμηση της Ευδεμίδας της Αμπέλου *Lobesia botrana*, Γεωργική Έρευνα
- Ρούμπος Ι., 1996, Σύγχρονη αμπελουργία. Βιολογική και Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση των Εχθρών και Ασθενειών της Αμπέλου, Βόλος
- Ρούμπος Ι., 1996 Οδηγός Φυτοπροστασίας Αμπέλου, Βόλος
- Σταύρακας Δ.Ε., 1997. Μαθήματα Γενικής Αμπελουργίας, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας
- Τζανακάκης Μ.– Κατσόγιαννος Β., 2003 Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου, Εκδόσεις Αγροτύπος, Αθήνα

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- AMBRUS, A. 1999, Valutazione dell' incertezza nell' analisi di residui di pesticidi: implicazioni nella valutazione dei limiti legali. *Ital. J. Food Sci. N.3, vol. 12-2000*
- Bosio G., Gremo F., Alliani N., Battaglia G., Rabino M., Bonifacio G. and Tragni R. 2003, Comportamento residuale di insetticidi usati in viticoltura contro *Scaphoideus titanus*. *Informatore Agrario*, 30, 45-49
- Cabras, P., Meloni, M., Pirisi, F.M. & Pirisi, R. 1987. Degradation of Dicarboximidic Fungicides in Wine. *Pestic. Sci.* 15, 247-252
- Cabras, P., Angioni, A., 2000, Pesticides residues in grapes, wine and their processing products. *J. Agric. Food Chem., Vol. 48, Number 4*
- Cabras P., Conte E., 2001, Pesticide Residues in grapes and wine in Italy. *Food Addit. Contam.* 18 (10), 880-885
- FAO (1976). Pesticide Residues in Food: 1979 Evaluations 20(Sup.), 253-266

- FAO (1981). Pesticide Residues in Food: *1984 Evaluations* 67, 355-373, 299-312
- FAO (1985). Pesticide Residues in Food: *1985 Evaluations, Part I, Residues* 72, 157-168.
- Geisman, J. R. 1975, Reduction of pesticide residues in food crops by processing. *Res. Rev.* 54,43-54
- Hall, D.R., Nesbitt, B.F., Marrs, G.J., Green, A.St.J., Campion, D.G. & Critchley, B.R., 1982, *Insect Pheromone Technology: Chemistry and Applications*, pp. 131-143, ACS Symposium Series No.190
- Kydonieus, A.F., 1989, *Controlled Release Technology; Methods, Theory and Application*, Vol. 1 and 2, Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.
- Marrs, G. J. & Middleton, M. R., 1973, *Outlook on Agriculture*, 7 (5), 231-5
- Montemuro N., Grieco F., Lacertosa G. and Visconti A., 2002. Chlorpyrifos Decline Curves and Residue Levels from different Commercial Formulations Applied to Oranges. *J. Agric. Food Chem.* 50, 5975-5980
- Oliva J., Barba A., Vela N., Melendreras F., Navavvo S., 2000. Multiresidue method for the rapid determination of organophosphorus insecticides in grapes, must and wine. *J. Chromatogr.*, 882, 213-220
- 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
- Scher, H. B. , *Controlled Release Pesticides*, pp. 126-44, Washington, D.C.: American Chemical Society
- Tsuda, S. , Ohtsubo, T. , Kawada, H. ,Manabe, Y. , Kishibuchi, N. , Shinjo, G. & Tsuji, K. , 1987, *Journal of Pesticide Science*, 12, 43

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

1. <http://inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr06.htm>
2. <http://extoxnet.orst.edu./pips/reflists.htm>
3. <http://www.pestmanagement.co.uk/expert/ecotox/formulat.shtml>
4. <http://www.swri.edu/3pubs/ttoday/summer95/microeng.htm>
5. <http://www.hirc.gr/services/newsletter/inn5/emap.htm>
6. <http://www.csl.gov.uk/prodserv/rds/pesticide/micro.cfm>

7. http://www.cecon/res/microencap_2.html
8. <http://www.entom.agrsci.unibo.it/Convegno%20api/Final%20programme.pdf>
9. <http://edis.ifas.ufl.edu/AA145>
10. <http://www.intox.org/databank/index.htm>
11. http://www.exosect.com/solutions/pests/grape_moth.asp
12. <http://www.inspection.gc.ca/english/sci/surv/data/lobbote.shtml>



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000074929