

DEGRADIMI I VINCLOZOLINËS NË RRUSH DHE VLERËSIMI I NIVELIT TË MBETJEVE VINCLOZOLIN DECAY IN GRAPES AND ASSESSMENT OF THE RESIDUE LEVEL

MAGDALENA CARA^{a*}, VALDETE VORPSI^b, FATOS HARIZAJ^b, JORDAN MERKURI^a, VJOLLCA VLADI^c

^aDepartamenti i Mbrojtjes së Bimëve, Universiteti Bujqësor i Tiranës, Shqipëri

^bDepartamenti i Prodhimit Bimor, Universiteti Bujqësor i Tiranës, Shqipëri

^cInstituti i Sigurisë Ushqimore dhe Veterinarisë, Shqipëri

Email: magdacara@gmail.com

ABSTRACT

Vinclozolin is marketed by BASF, as a protectant fungicide under the trade name Ronilan (active ingredient *Vinclozolin* 50%). It is effective in the control of diseases caused by *Botrytis spp.*, etc. in grapes, fruits, etc. The purpose of this study was to investigate the decay of *Vinclozolin* used in grapes in two doses. The experiment is carried out in the experimental parcel in Durrës during 2004-2006, in three versions. The degradation of *Vinclozolin* is studied in the 1st, 3rd, 7th, 14th and 21st day after phytosanitary treatment. The determination of residues was carried out by GC-ECD. The 21st day after the last treatment, PHI day, the concentrations for the doses 0.1 % and 0.2% were respectively 0.12 µg/g and 0.23 µg/g (2004), 0.14 µg/g and 0.26 µg/g (2005) and 0.17 µg/g and 0.28 µg/g (2006).

Key words: Vinclozolin, grape, Botrytis, degradation, residue, PHI.

PËRMBLEDHJE

Vinclozolin është tregtuar nga BASF me emrin Ronilan (me lëndë aktive *Vinclozolin* 50%), si një fungicid preventiv dhe efektiv për kontrollin e sëmundjeve *Botrytis spp.*, etj. në vresht, fruta, etj. Qëllimi i punimit ishte studimi i degradimit të *Vinclozolinës* të përdorur në vresht në dy doza. Eksperimenti është kryer në parcelën eksperimentale në Durrës në vitet 2004-2006, në tre variante. Degradimi i *Vinclozolinës* është parë në ditët 1, 3, 7, 14, 18 dhe 21 pas trajtimit të fundit. Analizat e mbetjeve janë bërë me GC-ECD. Në ditën e 21-të pas trajtimit të fundit dita e PHI, përqëndrimet për dozat 0.1 % dhe 0.2% ishin respektivisht 0.12 µg/g dhe 0.23 µg/g (2004), 0.14 µg/g dhe 0.26 µg/g (2005) dhe 0.17 µg/g dhe 0.28 µg/g (2006).

Fjalët kyçe: *Vinclozolin*, vresht, *Botrytis*, degradim, mbetje, PHI.

HYRJE

Mbrojtja e hardhisë nga sëmundjet dhe dëmtuesit është nga segmentet më të rëndësishme të punës gjithëvjetore që kërkon hardhia. Përdorimi pa kriter i pesticideve sidomos në kohën e vjeljes pa marrë parasysh rrezikshmërinë e tyre, sidomos toksicitetin akut bazuar në LD₅₀, (Doza Letale, vdekjeprurëse), PHI (Intervalin e Pritshmërisë para Vjeljes), MRL (Nivelin Maksimal të Mbetjeve) etj., i bëhen të dëmshme për konsumatorin dhe punonjësit që i përdorin ose punojnë me to.

Vinclozolin është një fungicid jo sistemik i grupit të *dicarboximide*, i regjistruar për të kontrolluar në fruta, perime dhe ornamentale *Botrytis spp.*, *Sclerotinia spp.*, *Monilia fruiticola* dhe *Gloeosporium* [1].

MATERIALET DHE METODAT

Eksperimenti u ngrit në parcelën eksperimentale në Rrushbull, Durrës gjatë viteve 2004-2006 për të kontrolluar sëmundjen *Botrytis cinerea* dhe për të parë degradimin e *Vinclozolinës*. Eksperimenti është ngritur në 3 variante ku çdo variant kishte 20 bimë.

V1 – Varianti i parë, kontroll është lënë i patrajtuar.

V2 – Varianti dytë, është trajtuar me Ronilan DF 50 (*Vinclozolin*), me dozën minimale 0.1 %.

V3 – Varianti tretë është trajtuar me Ronilan DF 50, me dozën maksimale 0.2 %.

Gjatë ciklit vegjetativ në vresht, janë bërë 3 trajtime në intervale 10 - 12 ditore dhe mostrat janë marrë pas trajtimit të fundit; 1, 3, 7, 14, 18 dhe 21 ditë.

Mostrat u morën në përputhje me *Codex Alimentarius* "Udhëzues për marrjen e mostrave të frutave, perimeve dhe kulturave të tjera bujqësore për

përcaktimin e mbetjeve kimike”. [2] Kampionet e marra rastësisht, në të tre variantet janë vendosur në qese plastike janë etiketuar dhe dërguar në laborator. Përgatitja e mostrës ka filluar që në momentin që ajo ka mbërritur në laborator. Madhësia e kampionit ka qenë rreth 2 kg (minimumi 5 njësi). Fillimisht rrushit i kemi hequr frenjat dhe pastruar pjesët e huaja, nga e gjithë mostra mëmë kemi marrë një porcion përfaqësues 200 g të cilin e kemi kaluar në *blender*. Materialin homogjen të mostrës, kur nuk kemi pasur mundësi ta analizojmë direkt e kemi vënë në një enë qelqi të mbyllur mirë, në frigorifer në ngrirje (-20° C). Në momentin e analizës mostra është nxjerrë nga ngrirja dhe është lënë që të arrijë në mënyrë natyrale temperaturën e dhomës. Mostrat janë ri homogjenizuar në *blender* së bashku me ujërat e shkrijes. Kemi peshuar porcionin e pulpës (W_g) që përfaqëson 5 g mostër në një havan. Kemi shtuar Florisil (W_f) për të përfutur mostër të pluhurosuar me rrjedhje të lirë.

Pesha për pulpën e mostrës (W_g) që kemi marrë për ekstraktim dhe sasinë e Florisil (W_f) e kemi llogaritur :

$$W_p = (200+W_f)/40$$

$$W_f = 1.6 \times W_p$$

Në përputhje me lagështinë e mostrës, në bazë të llogaritjeve sasia e Florisilit ka dalë 8 g.

Për analizën e mbetjeve të *Vinclozolinës* në rrush kemi përdorur një metodë MRM (*Multiresidju*) dhe konkretisht atë që njihet si Kadenczki et al [3]. Pulpa homogjene të mostrës adsorbohet në sipërfaqe të aktivizuar të Florisilit të përgatitur me rrjedhje të lirë të pluhurit. *Vinclozolina* ekstraktohet me acetone në një kolonë kromatografike qelqi me PTFE ku njëkohësisht edhe purifikohet, pastaj koncentrohet në avullues rotativ në vakuum ose në pajisje Kuderna Danish deri në të thatë dhe merret me n-hekzan për tu injektuar në GC ECD.

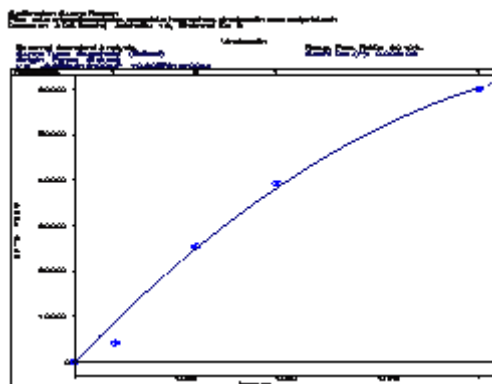
Për ekstraktimi purifikimin kemi vendosur 5 mm shtresë të Sulfatit të Natriumit anhidër në kolonën ekstraktuesve me rubinet PTFE. Kemi kaluar përzierjen e pluhuruar të mostrës në kolonë në mënyrë uniforme. Kemi shpëlarë havanin dhe shtypësin e havanit me rreth 20 ml solvent ekstraktues, acetone, kemi përshtatur rrjedhën e rrymës 5 ml/min. Ekstraktimin dhe purifikimin e kemi përfunduar duke shtuar solvent, 50 ml komplet. Ekstraktin e kemi koncentruar deri në të thatë me anën e Avulluesit Rotativ në vakuum.. Ekstraktin e thatë e kemi tretur në n-hezan.

Matjet u kryen me GC Varian 3400, kolonë kapilare DB-1.32 m, trashësi filmi 0.25 mm. Detektimi u krye me ECD. U përdorën reagentët e mposhtëm:

- (a) Solventët - Ujë i distiluar në qelq. Aceton, n - hekzan, të cilësisë për analiza mbetjesh, i distiluar në qelq.
- (b) Florisil 60 - 100 Mesh, i aktivizuar në 130° C.
- (c) Sulfat Natriumi anhidër Na_2SO_4 i aktivizuar në 600° C

Përcaktimi në GC ECD është bere me gaz kromatograf me temperaturë të programueshme, i pajisur me detektor me kapje elektronesh (ECD), kolonë kapilare dhe injektor splitless. Kolona kapilare ishte prej silice të shkrirë, DB-5, me diametër të brendshëm 0.32 mm, gjatësi 30 m, trashësi të filmit 0.25 µm. Prurja e gazit bartës helium ishte 1 ml/min. Programi i temperaturës së furrës ishte 140°C për 1 min, rritje me 4.7°C/min deri në 250°C. Temperatura e injektorit: 250°C, koha e mbylljes së splitit ishin 1 min dhe temperatura e detektorit ishte 350°C. Gaz *make-up* për ECD ishte azot me 30 ml/min. Është bërë kalibrimi i sistemit, ose është verifikuar kurba e kalibrimit çdo ditë. Koha e mbajtjes për *Vinclozolinën* ishte 14,34 minuta.

Për përgatitjen e kurbës së kalibrimit të *Vinclozolinës*, u përgatitën tretësirat e punës nga tretësira mëmë. Me qëllim që të arrinin në zonën lineare të punës, u përgatitën tretësirat standarde në zonën e pritshme të përqendrimeve të ekstrakteve të mostrave. Është ndërtuar kurba standarte, brenda zonës ku punohet. (Grafiku 1). Piku i standardit të *Vinclozolinës* është paraqitur në Grafikon 2. Është dhënë ekuacioni përkatës i varësisë si dhe koeficienti i korrelacionit.

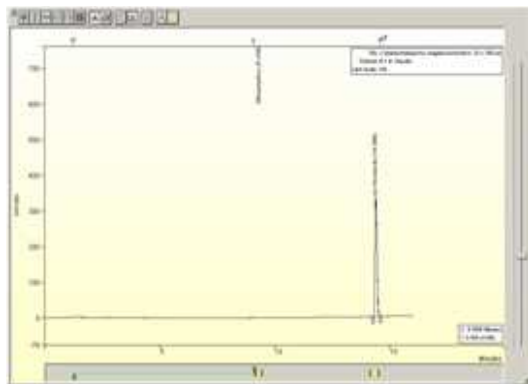


Grafiku 1. Kurba standarte, e Vinclozolinës.

REZULTATET DHE DISKUTIMET

Metoda e shumëmbetjeve (Metoda Kadenczki), që kryen njëkohësisht dy etapat ekstraktimin dhe purifikimin në një kolonë kromatografike me PTFE të përgatitur nga ne, është një metodë e thjeshtë për tu aplikuar, ka një konsum minimal reagentësh në krahasim me metodat e tjera po kështu ka dhe një konsum minimal kohe. Në rastet kur nuk arrihet një

pastrim i mirë bëhet edhe një hap shtesë pastrimi në kolonën kromatografike me Florisil i cili është shoqëruar me validimin përkatës. Koeficientët e rifitimit kanë rezultuar në kufijtë 86 – 92 %, kufij këta të pranueshëm për metodikën në fjalë.[3].



Grafiku 2. Piku i Standartit të Vinclozolinës

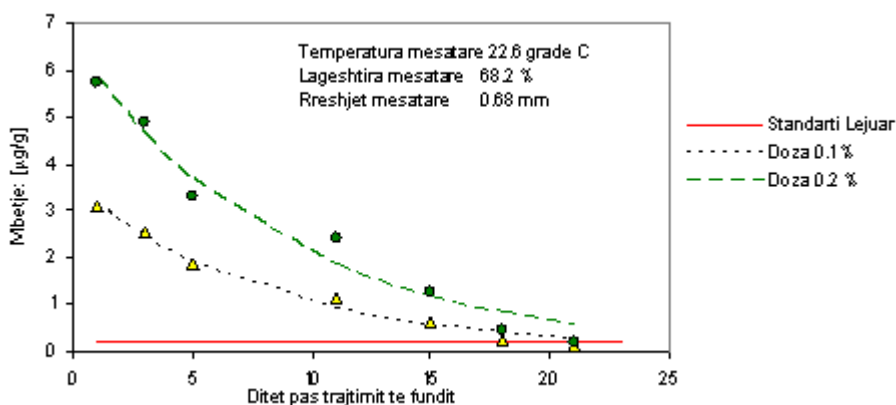
Limiti i detektimit është 0.002 µg/g, pra shumë më i ulët se MRL 0.2 µg/g, e vendosur nga Komuniteti European [1,4]. RSD (Relative Standard Deviation) ka rezultuar 5.5. Ekuacioni i kurbës standarde është $[y = 9.296781e + 0.004x]$ dhe koeficienti i korrelacionit është $r = 0.992$.

Koha e marrjes së mostrave, temperaturat, reshjet dhe nivelet e mbetjeve, rezultate të studimit janë të paraqitura në Grafikët 3-5.

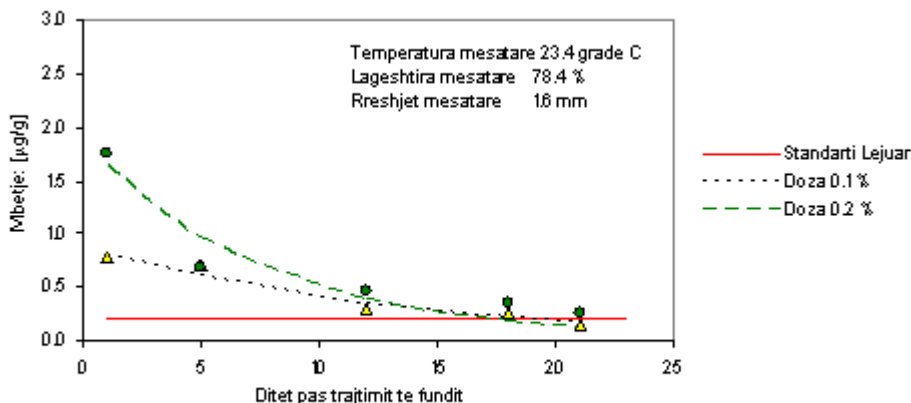
Degradimi i Vinclozolinës është modeluar në baze të një funksioni eksponencial. Modeli është paraqitur më poshtë.

$$Y = b_0 \exp(b_1d) + e$$

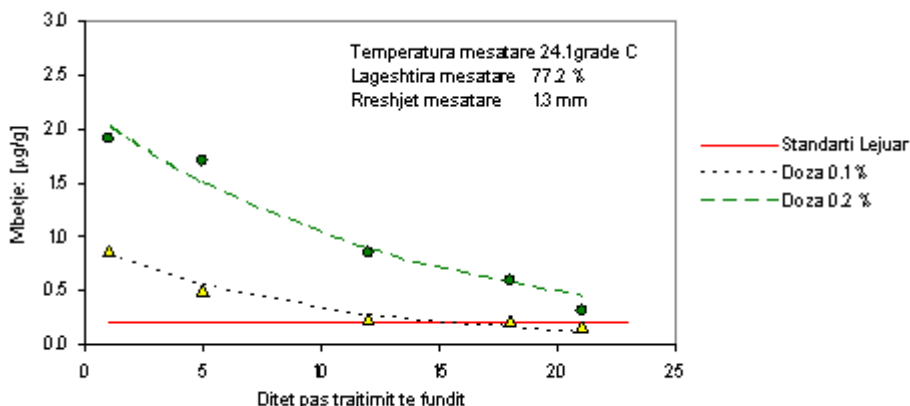
Y paraqet nivelet e mbetjeve, b_0 është niveli i mbetjeve menjëherë pas trajtimit (intercept), b_1 është ritmi i degradimit, d përfaqëson ditën pas trajtimit, ndërsa e përfaqëson gabimin.



Grafiku 3. Degradimi i Vinclozolinës në vresht për vitin 2004.



Grafiku 4. Degradimi i *Vinclozolinës* në vresht për vitin 2005.



Grafiku 5. Degradimi i *Vinclozolinës* në vresht për vitin 2006.

Secili vit dhe secila dozë janë analizuar në mënyrë të veçantë. Koefficientet e determinacionit në të gjitha rastet kanë qenë 0.9, gjë që tregon se modeli eksponencial i përdorur ka qenë i përshtatshëm. Vlerësuesit e parametrave janë paraqitur në Tabelën 1 së bashku me limitet e sigurisë. Niveli i sigurisë është 95%. Në këtë tabelë janë gjithashtu paraqitur edhe numri i ditëve që të arrihet standardi i lejuar i

mbetjeve prej 0.2% si dhe limitet e sigurisë. Në disa raste numri i ditëve të parashikuara tejkalon numrin e ditëve që janë mbledhur të dhënat eksperimentale. Ekstrapolimi i përdorur në këto raste është bazuar në supozimin që forma e degradimit dhe modeli i përdorur janë të vlefshëm edhe për periudhën kur nuk janë grumbulluar të dhëna eksperimentale.

Viti	Treguesit	Doza 0.1 %			Doza 0.2 %		
		Vlera	Limiti i poshtëm	Limiti i sipërm	Vlera	Limiti i poshtëm	Limiti i sipërm
2004	Mbetjet menjëherë pas trajtimit	3.5	3.2	3.9	6.5	5.7	7.3
	Ritmi i degradimit	-0.12	-0.14	-0.10	-0.11	-0.14	-0.09
	Dite që të arrihet standardi	24.1	20.6	27.5	30.4	24.2	36.6
2005	Mbetjet menjëherë pas trajtimit	0.9	0.7	1.0	1.9	1.2	2.5
	Ritmi i degradimit	-0.08	-0.10	-0.05	-0.13	-0.22	-0.04
	Dite që të arrihet standardi	19.6	14.4	24.9	17.4	7.2	27.6
2006	Mbetjet menjëherë pas trajtimit	0.9	0.8	1.1	2.2	1.9	2.5
	Ritmi i degradimit	-0.10	-0.13	-0.06	-0.07	-0.10	-0.05
	Dite që të arrihet standardi	15.7	11.4	19.9	31.9	24.2	39.7

Tabela 1. Rezultatet e modelit statistikor

Mbetjet menjëherë pas trajtimit ndryshojnë nga viti në vit por janë gjithmonë më të larta për dozën 0.2%. Ritmet e degradimit gjithashtu ndryshojnë nga viti në vit. Megjithatë, në shumicën e rasteve, rangjet e sigurive të vlerësuesve mbivendosen gjë që tregon se ndryshimet janë rastësore ose të shkaktuara nga faktorë të lidhur me dukuritë e vitit përkatës. Ritmet e degradimit nuk varen nga doza e përdorur apo nga mbetjet fillestare menjëherë pas trajtimit. Vlerat e tyre

tregojnë që mbetjet bien me një ritëm prej 0.07 në 0.13 µg/g për ditë. Numri i ditëve që të arrihet standardi 0.2% varet nga mbetjet fillestare menjëherë pas trajtimit. Ky numër ndryshon nga rreth 15 në 32 ditë. Në disa raste, p.sh. doza 0.2% në vitin 2006, limitet e sigurisë janë shumë të mëdha për të pasur një interpretim praktik. Në fakt vlera për dozën 0.1% është më e madhe se për dozën 0.2% (19.6 vs. 17.4 ditë), por limiti i sipërm i sigurisë për dozën 0.2% është më i

madh (24.9 vs. 27.6 ditë). Një arsye për këtë është madhësia relative e gabimit eksperimental. Kjo tregon mundësinë që në eksperimentet e ardhshme të përmirësohet marrja e mostrave ose/dhe të rritet numri i përsëritjeve

Për vitin 2004, kemi nivel të mbetjeve për dozën 0.1 % në ditën e parë dhe të 21 përkatësisht 3.1 dhe 0.12 µg/g, ndërsa për dozën 0.2 % kemi 5.74 dhe 0.23 µg/g. Për vitin 2005, kemi nivel të mbetjeve për dozën 0,1 % në ditën e parë dhe të 21 përkatësisht 0.78 dhe 0.14 µg/g, ndërsa për dozën 0.2 % kemi 1.76 dhe 0.26 µg/g. Për vitin 2006, kemi nivel të mbetjeve për dozën 0.1 % në ditën e parë dhe të 21 përkatësisht 0.87 dhe 0.17 µg/g, ndërsa për dozën 0.2 % kemi 1.9 dhe 0.28 µg/g.

KONKLUZIONE

Doza e përdorimit të Ronilan (*Vinclozolin*) 0.1% rezulton me efektivitet për kufizimin e *Botritisit* në vresht sikurse edhe doza 0.2% por në dozën 0.2%

degradimi i *Vinclozolinës* zgjat më shumë. Për këtë arsye do të rekomandonim dozën 0.1 % për të rritur sigurinë ushqimore të përdorimit të këtij produkti dhe njëkohësisht të siguronim edhe mbulim të mirë të sëmundjes.

BIBLIOGRAFIA

- 1.C. M. Torres, Y. Picó, J. Mañes Determination of pesticide residues in fruit and vegetables *Journal of Chromatography A, Volume 754, Issues 1-2, 22* November 1996, Pages 301-331
- 2.Codex sampling plans for prepackaged foods (AQL 6.5)
- 3.Kadenczki et al: *Journal of AOAC International* Vol 75, No 1, 1992.
- 4.Kolaci A. *Manuali i Fitofarmacise* 2003
- 5.Special Review of Vinclozolin, Australian Pesticides and Veterinary and Medicines Authority. January 1997, NRA Special Review Series 97.1