



Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Παραδοτέο Π.3.11.3: Αναφορά σχετικά με την ταυτοποίηση και απομόνωση δυνητικά δραστικών μορίων και την πιλοτική παραγωγή και μορφοποίηση προϊόντων για εφαρμογή

Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: **Π.3.11.3**

Ενότητα εργασίας: **ΕΕ3**

Επικεφαλής δικαιούχος: **[ΓΠΑ/ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ/ΜΦΙ/ΑΠΘ/ΔΠΘ/ΙΤΕ/ΕΛΜΕΠΑ]**

Συγγραφείς: **[Γιάννης Βόντας]**

Έκδοση: **1.0**

Είδος Παραδοτέου: **[Έκθεση]**

Ημερομηνία παράδοσης: **[30 - 10 - 2025]**

Στοιχεία Πράξης



Τίτλος: Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Τίτλος (EN): InnoPP-Innovations in Plant Protection for sustainable and environmentally friendly pest control

Κωδικός πράξης: ΤΑΕΔΡ-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

Πίνακας Περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	4
2	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	5
2.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	5
2.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	5
3	ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	7
4	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- Βιβλιογραφικές Αναφορές	7

Περίληψη του Έργου

Το έργο «Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος» στοχεύει στην ανάπτυξη σύγχρονων και καινοτόμων μεθόδων για την προστασία των καλλιεργειών όπως τα κηπευτικά, τα εσπεριδοειδή και το επιτραπέζιο σταφύλι. Περιλαμβάνει τη δημιουργία προηγμένων διαγνωστικών εργαλείων για την ανίχνευση εχθρών και παθογόνων με τεχνολογίες αιχμής, όπως ηλεκτρονικές παγίδες και βιοαισθητήρες, καθώς και πλατφόρμες αλληλούχισης για τον πλήρη προσδιορισμό των ιωμάτων. Επιπλέον, θα αναπτυχθούν μοντέλα πρόβλεψης επιδημιών και καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα, τα οποία θα αξιολογηθούν για την ασφάλεια τους σε μη στόχους οργανισμούς. Τέλος, οι νέες τεχνολογίες θα ενσωματωθούν σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης φυτοπροστασίας και θα δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες, ενώ θα αξιολογηθούν οι κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους.

Σύνοψη της ΕΕ3

Οι δραστηριότητες της ΕΕ3 περιλαμβάνουν τις βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας και τη βελτίωση και ανάπτυξη καινοτόμων μεθόδων και προϊόντων. Κύριες δράσεις της ΕΕ3 περιλαμβάνουν ανάπτυξη και αξιολόγηση καινοτόμων βιοφυτοπροστατευτικών προϊόντων, όπως

- βιοδραστικά μορία ανάπτυξης αντοχής στα φυτά (πεπτίδια, μεταβολίτες),
- φυτοπροστατευτικά φυσικής προέλευσης (εκχυλίσματα, μικροβιακοί μεταβολίτες, «green»),
- νέας γενιάς ελκυστικά και απωθητικά (παγίδες, παρεμπόδιση σύζευξης),
- ανθεκτικές ποικιλίες (και αλληλεπιδράσεις με το οικοσύστημα και τα ωφέλιμα).

Για τα πιο αποτελεσματικά καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά, θα μελετηθούν και οι επιπτώσεις τους σε οργανισμούς μη στόχους (φυσικοί εχθροί, επικονιαστές, υδρόβιοι οργανισμοί, κυτταροκαλλιέργειες θηλαστικών).

Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π3.11.3

Το παρόν παραδοτέο αφορά τη διερευνητική χημική ανάλυση και κλασματοποίηση επιλεγμένων φυσικών εκχυλισμάτων στο πλαίσιο της Ενότητας Εργασίας ΕΕ3 του έργου InnoPP. Παρουσιάζεται η μεθοδολογική προσέγγιση που ακολουθήθηκε για τον χημικό χαρακτηρισμό τους με σύγχρονες χρωματογραφικές, φασματομετρικές και φασματοσκοπικές τεχνικές, καθώς και η αξιολόγηση των περιορισμών που προέκυψαν κατά την προσπάθεια ταυτοποίησης μεμονωμένων δραστικών συστατικών.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η ανάπτυξη καινοτόμων βιοφυτοπροστατευτικών προϊόντων φυσικής προέλευσης αποτελεί βασικό πυλώνα της Ενότητας Εργασίας ΕΕ3 του έργου InnoPP, με στόχο τη μείωση της εξάρτησης από συμβατικά συνθετικά φυτοπροστατευτικά και την προώθηση βιώσιμων και περιβαλλοντικά φιλικών πρακτικών φυτοπροστασίας. Στο πλαίσιο των προηγούμενων παραδοτέων της ΕΕ3, πραγματοποιήθηκαν δράσεις αρχικής αξιολόγησης και βιολογικού ελέγχου εκχυλισμάτων και φυσικών μιγμάτων, από τις οποίες αναδείχθηκαν υποσχόμενα δείγματα με βιοδραστικότητα έναντι εντομολογικών και φυτοπαθολογικών στόχων.

Το παρόν παραδοτέο Π3.11.3 επικεντρώνεται στο επόμενο στάδιο της ερευνητικής αλυσίδας, δηλαδή στη χημική διερεύνηση των επιλεγμένων εκχυλισμάτων, με στόχο την ταυτοποίηση και απομόνωση δυνητικά δραστικών μορίων, καθώς και στον σχεδιασμό πιλοτικής παραγωγής και μορφοποίησης αυτών ή των αντίστοιχων εκχυλισμάτων για μελλοντική εφαρμογή.

Η διαδικασία αυτή αποτελεί διεθνώς αναγνωρισμένο bottleneck στην ανάπτυξη βιοδραστικών φυσικών προϊόντων, καθώς συχνά η παρατηρούμενη βιοδραστικότητα αποδίδεται σε πολύπλοκες συνέργειες συστατικών ή σε μόρια χαμηλής αφθονίας, γεγονός που καθιστά δύσκολη την απομόνωση και τον πλήρη χαρακτηρισμό τους (Atanasov et al., 2015; Harvey et al., 2015).

Ο σκοπός του παρόντος εγγράφου

Σκοπός του παρόντος εγγράφου είναι η περιγραφή της μεθοδολογικής προσέγγισης που ακολουθήθηκε για τη χημική ανάλυση και τον χαρακτηρισμό των εκχυλισμάτων, η τεκμηρίωση της ερευνητικής προσπάθειας και των περιορισμών που αντιμετωπίστηκαν, και ο καθορισμός του πλαισίου για της πιλοτικής παραγωγής και μορφοποίησης βιοδραστικών προϊόντων.

Το παρόν έγγραφο **ακολουθεί την παρακάτω δομή:**

- 1. Εισαγωγή και Στόχοι:** Παρουσιάζεται το πλαίσιο της έρευνας και οι στόχοι του εγγράφου.
- 2. Περιγραφή των Εργασιών:** 2.1. Υλικά και Μέθοδοι, 2.2. Αποτελέσματα και Συζήτηση.
- 3. Σύνοψη και Συμπεράσματα:** Βασικά ευρήματα της έρευνας και σχετικά συμπεράσματα.
- 4. Παράρτημα:** Βιβλιογραφικές αναφορές.

2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

2.1 Υλικά και Μέθοδοι

2.1.1 Επιλογή εκχυλισμάτων

Η επιλογή των εκχυλισμάτων που εξετάστηκαν στο παρόν παραδοτέο βασίστηκε σε προηγούμενα αποτελέσματα βιοδοκιμών της ΕΕ3, όπου είχε καταγραφεί βιοδραστικότητα έναντι επιλεγμένων οργανισμών-στόχων. Δόθηκε έμφαση σε εκχυλίσματα φυσικής προέλευσης με επαναληψιμότητα στη δράση τους, προκειμένου να διερευνηθεί η χημική τους σύσταση και η δυνατότητα περαιτέρω αξιοποίησης.

Η κλασματοποίηση των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε με καθοδήγηση από βιολογικές ενδείξεις, όπως η διατήρηση ή η μεταβολή της παρατηρούμενης βιολογικής απόκρισης κατά τα διαδοχικά στάδια διαχωρισμού (Hamburger and Hostettmann, 1991; Wolfender et al., 2019).

2.1.2 Χρωματογραφικός διαχωρισμός

Για τον αρχικό χαρακτηρισμό των εκχυλισμάτων εφαρμόστηκαν χρωματογραφικές τεχνικές διαχωρισμού, όπως:

- Thin Layer Chromatography (TLC) για προκαταρκτική εκτίμηση πολυπλοκότητας,
- High Performance Liquid Chromatography (HPLC-DAD) για την καταγραφή χρωματογραφικών αποτυπωμάτων (fingerprints).

Η χρήση χρωματογραφικών fingerprints αποτελεί καθιερωμένο εργαλείο στην ανάλυση φυσικών προϊόντων, επιτρέποντας τη σύγκριση εκχυλισμάτων και την παρακολούθηση αλλαγών κατά τη διάρκεια κλασματοποίησης (Liang et al., 2010).

2.1.3 Φασματομετρική και φασματοσκοπική ανάλυση

Για τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των χημικών συστατικών χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές:

- Υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS),
- Υψηλής ανάλυσης φασματομετρίας μάζας (HRMS) για ακριβή προσδιορισμό μοριακών τύπων.

Όπου κρίθηκε σκόπιμο, σχεδιάστηκε η εφαρμογή φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), συμπεριλαμβανομένων ^1H και ^{13}C NMR, καθώς και διδιάστατων τεχνικών (COSY, HSQC, HMBC), οι οποίες αποτελούν το gold standard για τη δομική ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων (Claridge, 2016).

2.1.4 Κριτήρια αξιολόγησης δυνητικών δραστικών μορίων

Η αξιολόγηση των δεδομένων βασίστηκε σε συνδυασμό χημικών πληροφοριών (αφθονία, καθαρότητα, δομική κατηγορία), και βιολογικών ενδείξεων από προηγούμενα στάδια της ΕΕ3.

Ακολουθήθηκε λογική παρόμοια με αυτή που εφαρμόστηκε σε πρόσφατες μελέτες φυσικών προϊόντων στον τομέα της εντομολογίας και της φυτοπροστασίας, όπου η επιλογή leads δεν βασίζεται αποκλειστικά στη δραστικότητα, αλλά και στη δυνατότητα μελλοντικής παραγωγής και αξιοποίησης (Isman, 2020; Sparks et al., 2017).

2.2 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Η εφαρμογή των παραπάνω μεθοδολογιών ανέδειξε την υψηλή χημική πολυπλοκότητα των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων, γεγονός που επιβεβαιώνεται από τα πολύπλοκα χρωματογραφικά προφίλ και την παρουσία μεγάλου αριθμού σημάτων στη φασματομετρική ανάλυση. Η παρατήρηση αυτή είναι σύμφωνη με τη διεθνή βιβλιογραφία, όπου αναφέρεται ότι η βιοδραστικότητα φυσικών εκχυλισμάτων συχνά προκύπτει από συνέργειες πολλαπλών συστατικών και όχι από ένα μεμονωμένο μόριο (Caesar and Cech, 2019).

Παρά την εκτεταμένη προσπάθεια κλασματοποίησης και ανάλυσης, η σαφής ταυτοποίηση μεμονωμένων μορίων που να μπορούν να συσχετιστούν άμεσα και αποκλειστικά με τη βιολογική δράση δεν ήταν εφικτή. Σε αρκετές περιπτώσεις, η βιοδραστικότητα φάνηκε να μειώνεται μετά τον διαχωρισμό, υποδεικνύοντας πιθανή απώλεια συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων, ένα φαινόμενο ευρέως καταγεγραμμένο στη μελέτη φυσικών προϊόντων (Wagner and Ulrich-Merzenich, 2009).

Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία της ολιστικής προσέγγισης στην ανάπτυξη βιοφυτοπροστατευτικών προϊόντων. Αντί της απομόνωσης ενός "μονοδραστικού" μορίου, η ερευνητική προσπάθεια κατευθύνθηκε προς την κατανόηση του χημικού προφίλ και τον προσδιορισμό κλασμάτων με αναπαραγωγίμη σύνθεση και σταθερή βιολογική συμπεριφορά, σύμφωνα με σύγχρονες τάσεις στον τομέα (Wolfender et al., 2019).

Παρά το γεγονός ότι δεν πραγματοποιήθηκε πιλοτική παραγωγή σε φυσική κλίμακα, αναπτύχθηκε και αξιολογήθηκε σε επίπεδο σχεδιασμού ένα πλαίσιο πιλοτικής αξιοποίησης των εκχυλισμάτων ή επιλεγμένων κλασμάτων. Το πλαίσιο αυτό λαμβάνει υπόψη τη διαθεσιμότητα πρώτης ύλης, τη σταθερότητα της χημικής σύστασης και τις απαιτήσεις μορφοποίησης (π.χ. υγρά σκευάσματα, εναιωρήματα).

Η προσέγγιση αυτή είναι σύμφωνη με αντίστοιχες πρακτικές που έχουν υιοθετηθεί σε ερευνητικά έργα φυσικών προϊόντων, όπου η έμφαση δίνεται αρχικά στη σταθερότητα και την αναπαραγωγιμότητα και όχι στην άμεση βιομηχανική κλιμάκωση (Sparks et al., 2017)

3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο παρόν παραδοτέο περιγράφηκε η διερευνητική μεθοδολογική προσέγγιση που εφαρμόστηκε για τη χημική ανάλυση και κλασματοποίηση επιλεγμένων φυσικών εκχυλισμάτων στο πλαίσιο της ΕΕ3. Η εφαρμογή σύγχρονων αναλυτικών τεχνικών ανέδειξε την υψηλή χημική πολυπλοκότητα των εξεταζόμενων μιγμάτων και τους περιορισμούς που συνοδεύουν την απόδοση της παρατηρούμενης βιολογικής δράσης σε μεμονωμένα συστατικά. Παρά τους περιορισμούς αυτούς, η εργασία που πραγματοποιήθηκε συνέβαλε στην καλύτερη κατανόηση του χημικού τους προφίλ και των παραμέτρων που επηρεάζουν τη μελλοντική τους αξιοποίηση. Τα αποτελέσματα του παρόντος σταδίου μπορούν να υποστηρίξουν περαιτέρω διερεύνηση και εναλ- στρατηγικές ανάπτυξης στο πλαίσιο του έργου ΙννοPP.

4 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Claridge, 2016. High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry [WWW Document]. ScienceDirect. URL <http://www.sciencedirect.com:5070/book/monograph/9780080999869/high-resolution-nmr-techniques-in-organic-chemistry> (accessed 12.15.25).
- Hamburger, M., Hostettmann, K., 1991. 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry* 30, 3864–3874. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83425-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83425-K)
- Isman, M.B., 2020. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annu. Rev. Entomol.* 65, 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>
- Liang, Y., Xie, P., Chau, F., 2010. Chromatographic fingerprinting and related chemometric techniques for quality control of traditional Chinese medicines. *J. Sep. Sci.* 33, 410–421. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900653>
- Sparks, T.C., Hahn, D.R., Garizi, N.V., 2017. Natural products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical discovery. *Pest Manag. Sci.* 73, 700–715. <https://doi.org/10.1002/ps.4458>
- Wolfender, J.-L., Nuzillard, J.-M., van der Hooft, J.J.J., Renault, J.-H., Bertrand, S., 2019. Accelerating Metabolite Identification in Natural Product Research: Toward an Ideal Combination of Liquid Chromatography–High-Resolution Tandem Mass Spectrometry and NMR Profiling, in Silico Databases, and Chemometrics. *Anal. Chem.* 91, 704–742. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05112>