

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ – Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ
ΝΩΠΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΑΕΡΙΑΣ
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ (GC-FPD)
ΚΑΙ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ - ΔΙΔΥΜΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ
(LC-MS-MS)

ΚΟΥΤΟΥΓΕΡΑ ΜΑΡΙΑ

Ιωάννινα, 2008



την αφιερώνω στον πατέρα μου,



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Ερευνητική Εργασία του Διπλώματος Ειδίκευσης πραγματοποιήθηκε στο Ε΄ Τμήμα της Δ΄ Χημικής Υπηρεσίας Αθηνών στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Γενικού Χημείου του Κράτους και αφορά στον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών. Η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας ήταν αποτέλεσμα δουλειάς, αλλά και μεγάλης στήριξης από μία σειρά ανθρώπων τους οποίους θα ήθελα ονομαστικά να ευχαριστήσω:

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην Δ. Τσίπη (προϊσταμένη του εργαστηρίου), στην Ε. Μποτίτση και στον Σπ. Αντωνίου μόνιμο προσωπικό του εργαστηρίου, καθώς και στον Α. Οικονόμου, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, πρώην μέλος του εργαστηρίου. Η καθοδήγηση και η στήριξή τους αποτέλεσαν καθοριστικό παράγοντα για την περάτωση της έρευνας και την τελική αποτύπωση των αποτελεσμάτων.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον κ. Καθηγητή Τρ. Αλμπάνη, Πρόεδρο του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και υπεύθυνο καθηγητή της ερευνητικής μου εργασίας για την έμπρακτη στήριξη και τη βοήθειά του, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής Γ. Μάνο καθηγητή του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου και Γ. Παπαδόπουλο, καθηγητή του Τμήματος Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου, για το χρόνο που διέθεσαν και τις πολύτιμες συμβουλές τους.

Κλείνοντας, θα αποτελούσε παράληψη να μην αναφερθώ στις πολύτιμες πληροφορίες που μου διέθεσε το προσωπικό του Ε.Φ.Ε.Τ. (Ενιαίος Φορέας Ελέγχου Τροφίμων), σχετικά με τον τρόπο δειγματοληψίας των νωπών φρούτων και λαχανικών από τις λαϊκές αγορές.



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών στην ελληνική αγορά. Δεδομένου ότι τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά κατέχουν σημαντικό ποσοστό στη διαίτα του ελληνικού πληθυσμού, ο διαρκής έλεγχος δειγμάτων για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων κρίνεται μεγίστης σημασίας. Η διασφάλιση της υγείας του καταναλωτικού κοινού από τα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων απαιτεί τη συνεχή διεύρυνση των ελέγχων προσδιορισμού της υπολειμματικότητας των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται καθώς και τον διαρκή εκσυγχρονισμό των αντίστοιχων τεχνολογιών.

Η παρούσα εργασία αποτελεί ένα εγχείρημα της εκτίμησης, σε τοπικό επίπεδο, του κινδύνου της υγείας των καταναλωτών από την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων καταλοίπων φυτοφαρμάκων στα νωπά φρούτα και λαχανικά. Ένας μεγάλος αριθμός νωπών φρούτων και λαχανικών εξετάστηκε με λήψη αντιπροσωπευτικών δειγμάτων από δύο μεγάλες περιφερειακές λαϊκές αγορές της Αθήνας - λαϊκή αγορά Καλλιθέας και λαϊκή αγορά Νέου Κόσμου - και από την Κεντρική Λαχαναγορά Αθηνών. Αξίζει να σημειωθεί πως η περιοχή της Αθήνας έχει βρεθεί πολλές φορές στο επίκεντρο των μέσων μαζικής ενημέρωσης, τα οποία έχουν επανηλλειμένα τονίσει τα ελλείμματα στους διεξαγόμενους ελέγχους τροφίμων στο λεκανοπέδιο.

Οι φυτοπροστατευτικές ενώσεις που μελετήθηκαν υπάγονται στις κατηγορίες των οργανοφωσφορικών, καρβαμιδικών φυτοφάρμακων και των βενζοϊμιδαζολών. Ο προσδιορισμός μέρους των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων πραγματοποιήθηκε με χρήση αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή (GC-FPD), ενώ για τον προσδιορισμό των υπολοίπων οργανοφωσφορικών, των καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζοϊμιδαζολών χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών (LC/tandemMS).

Η οργανολογία της υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών αποτελεί ένα από τα πλέον σύγχρονα και ακριβά αναλυτικά συστήματα που διατίθενται παγκοσμίως στον τομέα της ενόργανης ανάλυσης με δυνατότητες ταυτόχρονης ανάλυσης πολλών ενώσεων. Το Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Γενικού Χημείου του Κράτους είναι ένα από τα πρώτα εργαστήρια που προμηθεύτηκε και χρησιμοποίησε οργανολογία υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών στην Ελλάδα.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, ένας εκτεταμένος αριθμός δειγμάτων νωπών φρούτων



και λαχανικών (90 δείγματα) εξετάστηκε με χρήση υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών και αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων 30 καρβαμιδικών και οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και βενζοϊμιδαζολών.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν την παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο ένα τρίτο περίπου των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών που συλλέχθηκαν και εξετάστηκαν (39 θετικά δείγματα). Στα δείγματα προσδιορίστηκαν 14 διαφορετικές ουσίες. Περισσότερο επιβαρυνμένα σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων εμφανίστηκαν τα φυλλώδη λαχανικά και οι κράμβες (λάχανο, μαρούλι, σπανάκι) και οι βολβοί και ρίζες λαχανικών (καρότο, κρεμμύδι), ενώ οι καρποί λαχανικών (ντομάτα, αγγούρι, μελιτζάνα, κολοκύθι, πιπεριά) παρουσίασαν τη μικρότερη υπολειμματικότητα σε φυτοφάρμακα από όλα τα δείγματα λαχανικών που εξετάστηκαν. Όσον αφορά στα φρούτα, περισσότερο επιβαρυνμένα εμφανίστηκαν τα εσπεριδοειδή (μανταρίνι, πορτοκάλι) και λιγότερο τα πυρηνόκαρπα (βερύκοκο, ροδάκινο, νεκταρίνι, κεράσι) και τα γιγαρτόκαρπα (μήλο, αχλάδι). Οι ουσίες που ανιχνεύθηκαν στα περισσότερα δείγματα ήταν τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα chlorpyrifos και methacrifos και τα βενζοϊμιδαζολικά carbendazim και benomyl.



ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	2
 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	4
1.1 Η ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΟΤΗΤΑ	4
1.2 ΧΡΗΣΗ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ – ΣΥΝΕΙΔΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΩΝ	4
1.3 ΑΓΡΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	5
1.4 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	5
1.5 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	6
1.6 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΥΠΟΓΕΙΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	7
1.7 ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΝΙΔΑ	9
1.8 ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ	15
2.1 Η ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	15
2.1.1 ΟΡΙΟ ΕΞ' ΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΑ ΟΡΙΑ	16
2.1.2 ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ, ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΓΗΣΗ MLR	17
2.2 ΑΝΩΤΑΤΑ ΟΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	25
3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	25
3.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	26
3.2.1 ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΑ	27
3.2.2 ΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΑ	33
3.2.3 BENZO-ΙΜΙΔΑΖΟΛΕΣ	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ	38
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ	38



ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ		
4.2	ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	39
4.3	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	39
4.3.1	ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΟΞΙΚΟ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ	40
4.3.2	ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΑΚΕΤΟΝΗ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΟ ΑΙΘΕΡΑ	40
4.4	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΤΑΥΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ	40
4.5	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	42
4.5.1	ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ	42
4.5.1.1	ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ	43
4.5.2	ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ	44
4.5.3	ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ	47
4.5.3.1	ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΣ ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΜΑΖΑΣ	48
4.5.3.2	ΛΗΨΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΑΖΑΣ	49
4.5.4	ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ (ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΗΛΕΚΤΡΟΨΕΚΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΡΙΠΛΟΥ ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΜΑΖΩΝ)	50

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ		55
5.1	ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	55
5.1.1	ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ	55
5.1.2	ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	56
5.2	ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	57
5.2.1	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	57
5.2.2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ	59
5.2.3	ΣΥΣΚΕΥΕΣ	60
5.2.4	ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ (GC-FPD)	60
5.2.5	ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΗ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (LC/MS/MS)	62
5.3	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	64
5.3.1	ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ	64
5.3.2	ΤΥΦΛΑ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	67
5.4	ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	68



5.5	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ		
6.1	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	70
6.2	ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	72
6.3	ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΥΦΛΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	76
6.4	ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΘΟΤΗΤΑΣ	77
6.5	ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΙΣΤΟΤΗΤΑΣ	102
6.6	ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑΣ	104
6.7	ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΟΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ (LOD) ΚΑΙ ΟΡΙΟΥ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ (LOQ)	111
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΩΠΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ		
7.1	ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	112
7.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΞΕΤΑΣΗ ΣΤΟ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	113
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ		
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		
ΠΕΡΙΛΗΨΗ		
SUMMARY		



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ περιλαμβάνει πληροφορίες σχετικά με τη χρήση των φυτοφαρμάκων και τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων τους στα δείγματα των νωπών φρούτων και λαχανικών. Αρχικά, πραγματοποιείται αναφορά στις επιδράσεις της χρήσης των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία, ενώ ακολουθεί περιληπτική αναφορά στην Κοινοτική νομοθεσία και παρατίθενται τα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια και τα Όρια Ανίχνευσης των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων, όπως ορίζονται βάσει των Κοινοτικών Οδηγιών. Στη συνέχεια, γίνεται αναφορά και σύντομη περιγραφή των φυτοφαρμάκων που μελετήθηκαν, μέσω της παράθεσης πινάκων καταγραφής των βασικών χαρακτηριστικών τους, όπως οι χημικές δομές και οι φυσικοχημικές ιδιότητές τους και περιγράφονται τα βασικά στάδια ανάλυσης για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα δείγματα. Στο τέλος, περιγράφεται η αρχή λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και του υγρού χρωματογράφου - φασματογράφου μάζας, που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα.

Στο ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ παρουσιάζονται αρχικά οι αναλυτικές τεχνικές, μέθοδοι και συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα και πραγματοποιείται εκτεταμένη αναφορά στον τρόπο ελέγχου των μεθόδων ανάλυσης για τις προσδιοριζόμενες ενώσεις. Ο έλεγχος των μεθόδων (method performance-check) εντοπίζεται κυρίως στον υπολογισμό της ορθότητας με υπολογισμό της ανάκτησης και στον υπολογισμό της ακρίβειας με υπολογισμό της επαναληψιμότητας. Στη συνέχεια, ακολουθούν πίνακες καταγραφής των δειγμάτων που συλλέχθηκαν, ανά είδος και ανά εποχή, ώστε να καθοριστεί το εύρος των εξεταζόμενων υποστρωμάτων. Κατά την παρουσίαση των πειραματικών αποτελεσμάτων επιχειρείται εκτίμηση του κινδύνου που εγκυμονεί η κατανάλωση των νωπών φρούτων και λαχανικών που εξετάστηκαν βάσει της σύγκρισης των προσδιοριζόμενων συγκεντρώσεων με τα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια που ορίζει η ευρωπαϊκή νομοθεσία. Τα κοινά αποτελέσματα για ορισμένες κατηγορίες ειδών ενισχύουν την παραδοχή πως οι ουσίες που προσδιορίστηκαν στα εν λόγω δείγματα χρίζουν ευρείας εφαρμογής στις συγκεκριμένες καλλιέργειες.



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Σύντμηση	Όρος
WHO	World Health Organization
FAO	Food & Agriculture Organization
MRL	Maximum Residue Limit
LOD	Limit Of Detection
LOQ	Limit Of Quantification
GC	Gas Chromatography
LC	Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometry
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
RT	Retention Time
mmc	matrix match calibration
RSD	Relative Standard Deviation
RF	Resolution Factor
PGF	Peak Gaussian Factor
RRT	Relative Retention Time

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

1.1 Η ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΟΤΗΤΑ

Η χρήση φυτοπροστατευτικών για τις καλλιέργειες ουσιών εμφανίστηκε από τα αρχαία χρόνια άρρηκτα συνδεδεμένη με τη γεωργική παραγωγή. Οι πρώτες γραπτές αναφορές για τη χρήση φυτοπροστατευτικών ουσιών σημειώθηκαν στα ομηρικά χρόνια, γύρω στο 1.000 π.Χ. και αφορούσαν κυρίως το κάψιμο του θειαφιού, ενώ πολύ αργότερα, την περίοδο 23-79 μ.Χ. καταγράφηκε από τον Πλίνιο το Δεύτερο στην εγκυκλοπαίδειά του «Natural History» ένας μεγάλος αριθμός εντομοκτόνων ουσιών. Αναντίρρητα, οι αρχαίοι είχαν αναπτύξει το δικό τους σύστημα φυτοπροστασίας, το οποίο στηριζόταν κυρίως στη χρήση απλών σκευασμάτων όπως ο καπνός, ο ασβέστης, το σαπουνόνερο, το αλατόνερο, το ξύδι και τα φυτικά εκχυλίσματα (αιθέρια έλαια). [5]

1.2 ΧΡΗΣΗ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ - ΣΥΝΕΙΔΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΩΝ

Περνώντας στην πρόσφατη ιστορία, η ανακάλυψη των μηχανών και η βιομηχανική επανάσταση που ακολούθησε άνοιξαν το δρόμο για τη ραγδαία ανάπτυξη της χημικής γεωργίας. Το 1840 ο Justus von Liebig δημοσίευσε τη θεωρία του για την ανόργανη θρέψη των φυτών και το 1913 ο Haber κατόρθωσε με τη βιομηχανική δέσμευση του αζώτου να επιτύχει την παραγωγή αζωτούχων λιπασμάτων. Μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '40 η χρήση των φυτοφαρμάκων περιοριζόταν κυρίως στη χρήση της νικοτίνης, των αρσενικών αλάτων, του υδροκυανίου, του θειαφιού, της ροτενόνης, του πύρεθρου και ορισμένων πετρελαϊκών κλασμάτων.

Το βιομηχανικό άλμα στην παραγωγή συνθετικών φυτοπροστατευτικών ουσιών πραγματοποιήθηκε το 1939 από τον εντομολόγο Paul Miller με την ανακάλυψη του συνθετικού εντομοκτόνου DDT - ανακάλυψη για την οποία ο P. Miller τιμήθηκε με το βραβείο Nobel. Το DDT άνοιξε το δρόμο για την παραγωγή μιας πληθώρας οργανικών σκευασμάτων μυκητοκτόνου, εντομοκτόνου και ζιζανιοκτόνου δράσης, τα οποία διαδόθηκαν ευρέως και εφαρμόζονταν σε υψηλές δόσεις στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις. Τα πρώτα δυσάρεστα αποτελέσματα έγιναν ορατά στο τέλος της δεκαετίας του '70 και στις αρχές της δεκαετίας του '80. Η αλόγιστη χρήση λιπασμάτων και οι συνεχείς επεμβάσεις με φυτοφάρμακα οδήγησαν στην υποβάθμιση των καλλιεργειών, των εδαφών και του υδροφόρου ορίζοντα προκαλώντας σοβαρές περιβαλλοντικές αλλοιώσεις. [7]



1.3 ΑΓΡΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Η γεωργική δραστηριότητα αφορά στην παραγωγή αγαθών που είναι απαραίτητα για την επιβίωση του ανθρώπου αποτελώντας γι' αυτό μία από τις βασικότερες ανθρώπινες δραστηριότητες. Συχνά, ο άνθρωπος τείνει να καταφεύγει στην ευρεία χρήση αγροχημικών προκειμένου να επιτύχει την αύξηση του οικονομικού κέρδους του, μέσω της βελτίωσης των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του εδάφους, της καταπολέμησης των εχθρών, των ασθενειών και των ζιζανίων που απειλούν τις καλλιέργειες, μέσω της αύξησης των αποδόσεων και της ποιότητας της παραγωγής.

Τα αγροχημικά σκευάσματα όμως, εξαιτίας των χημικών ιδιοτήτων τους – οι οποίες καθορίζουν και τον τρόπο δράσης τους – και λόγω του τρόπου χρησιμοποίησης και εφαρμογής τους από τον καλλιεργητή, συχνά αποτελούν σοβαρές πηγές ρύπανσης, όχι μόνο για το αγροοικοσύστημα, αλλά και για το ευρύτερο περιβάλλον και τη δημόσια υγεία.

Οι καλλιέργειες φρούτων και λαχανικών αποτελούν αποδέκτες υψηλών ποσοτήτων ενός μεγάλου αριθμού φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων τα οποία εφαρμόζονται συνδυαστικά. Αυτό οφείλεται κυρίως στο ότι τα προϊόντα αυτών των καλλιεργειών ως επί τω πλείστον διοχετεύονται φρέσκα στην αγορά, οπότε δεν υφίστανται περαιτέρω κατεργασία. Οι καταναλωτές συχνά βασίζουν την επιλογή τους στην αρτιότητα της εξωτερικής εμφάνισης των φρέσκων φρούτων και λαχανικών, γεγονός που καθιστά ιδιαίτερα επιζήμια για τον παραγωγό την εμφάνιση ατελειών, ως αποτέλεσμα προσβολών από παθογόνα. Η απουσία προσβολών στην καλλιέργεια, καθώς και μετασυλλεκτικά είναι αυτή που κυρίως καθορίζει τα επίπεδα πώλησης των προϊόντων, δηλαδή το καθαρό κέρδος του παραγωγού.[17]

Οι φυσικές, χημικές και βιολογικές διαδικασίες που υφίστανται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα μετά την εφαρμογή και απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον οδηγούν σε διατάραξη της οικολογικής ισορροπίας των οικοσυστημάτων, σε ρύπανση του εδάφους, της ατμόσφαιρας και των υδάτινων αποδεκτών, ενώ ορισμένα από αυτά παρουσιάζονται σε υψηλές και επικίνδυνες συγκεντρώσεις στα τρόφιμα και κατά συνέπεια στον ανθρώπινο οργανισμό. Παρά την εντοπισμένη δηλαδή εφαρμογή τους, η δράση τους δύναται να επεκτείνεται και πέραν του επιδιωκόμενου στόχου και του τόπου και χρόνου χρησιμοποίησής τους (αθροιστικά εντομοκτόνα, βιοσυσώρευση, βιομεγέθυνση).[10]

1.4 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Κατά την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, ένα μέρος της εφαρμοζόμενης ποσότητας παρασύρεται άμεσα από τον άνεμο, εξατμίζεται ή εξαχνώνεται από τις φυτικές



επιφάνειες και το έδαφος. Οι ποσότητες διαφεύγουν στην ατμόσφαιρα και παρασυρόμενες από τον άνεμο ή τη βροχή, μεταφέρονται ρυπαίνοντας νέες περιοχές.

Στον αέρα των αστικών κέντρων συχνά ανιχνεύονται συγκεντρώσεις φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο εντοπισμός υψηλών συγκεντρώσεων DDT στον αέρα στο Νέο Δελχί καθώς και σε τέσσερις πόλεις της Καλιφόρνιας, ενώ η ίδια ουσία ανιχνεύθηκε σε απομακρυσμένες περιοχές του Καναδά, καθώς και στους πάγους της Ανταρκτικής όπου η συγκέντρωσή της προσδιορίστηκε στο επίπεδο των 40ppt. Στην Ευρώπη, ανιχνεύθηκαν σε δείγματα βρόχινου νερού δύο περιοχών του Λονδίνου υπολείμματα DDT και dieldrin, γεγονός που καταδεικνύει την ευρεία κινητικότητα που εμφανίζουν οι εν λόγω ουσίες, καθώς και την εμμονή τους στο περιβάλλον που τις κατατάσσει στα POP (Persistent Organic Pollutants). Ειδικά το DDT παρασύρεται εύκολα κατά την εξάτμιση, με αποτέλεσμα να ανιχνεύεται στα σύννεφα, απ' όπου μέσω των ανέμων και της βροχής διασκορπίζεται σε ολόκληρο τον πλανήτη.[9]

1.5 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες που καταλήγουν στο έδαφος υφίστανται πέντε βασικές διεργασίες, οι οποίες αφορούν στην εξάτμιση, στην έκπλυση, στην προσρόφηση, στη χημική διάσπαση και στη μικροβιακή αποσύνθεση αυτών.

Η **έκπλυση** πραγματοποιείται μέσω της καθοδικής κίνησης του ύδατος διαμέσου του εδάφους και είναι μεγαλύτερη στα αμμώδη, φτωχά σε οργανική ουσία εδάφη.

Όσον αφορά στην **προσρόφηση** από τα ανόργανα και οργανικά συστατικά του εδάφους, αυτή εξαρτάται κυρίως από την παρουσία στο μόριό τους δραστικών ομάδων, όπως: $-CH_3$, NH_2 , NHR , $-CONH_2$, $-COOR$ και $-NR_3$. Μικρός αριθμός φυτοφαρμάκων, όπως τα ζιζανιοκτόνα paraquat και diquat, που παράγονται υπό μορφή κατιόντων προσροφώνται σχεδόν αποκλειστικά από τα ανόργανα κolloειδή του εδάφους, ενώ το parathion αναπτύσσει τόσο ισχυρούς δεσμούς με αυτά, ώστε καθίσταται σχεδόν αδύνατη η απόσπαση των δραστικών παραγόντων των εν λόγω φυτοφαρμάκων.

Η **χημική διάσπαση** αναφέρεται ως επί τω πλείστον στη φωτοδιάσπαση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων (πχ: DDT, diquat, τριαζίνες), ενώ σε αρκετές περιπτώσεις αφορά και στην καταλυτική δράση του εδάφους η οποία οδηγεί σε διάσπαση χωρίς την μεσολάβηση της δράσης ενζύμων ή μικροβίων. Σε όξινα εδάφη τα οργανοφωσφορικά



εντομοκτόνα και οι τριαζίνες που προσροφώνται στα ανόργανα κολλοειδή του εδάφους, αρχικά υδρολύονται και στη συνέχεια διασπώνται.

Η απομάκρυνση των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων από το έδαφος κυρίως συντελείται μέσω της **μικροβιακής αποσύνθεσης**. Ο χρόνος αποσύνθεσης επηρεάζεται από την παρουσία στο μόριο της ένωσης χημικών ομάδων, όπως: $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$. Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμδικά φυτοφάρμακα διασπώνται με γρήγορους ρυθμούς υπό την ταυτόχρονη επίδραση πλήθους μικροοργανισμών.[15]

Όλες οι ανωτέρω διεργασίες καθορίζουν την υπολειμματικότητα και το χρόνο παραμονής και δράσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο έδαφος, ενώ σημαντικές είναι οι διαφορές στην υπολειμματικότητα που παρατηρούνται μεταξύ των διαφόρων ομάδων φυτοπροστατευτικών ενώσεων. Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα διασπώνται μέσα σε λίγες μόλις ημέρες στο έδαφος σε αντιδιαστολή με τους οργανοχλωριωμένους υδρογονάνθρακες που παραμένουν στο έδαφος από 3 έως 15 χρόνια. Κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στο έδαφος τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα δύναται να διαταράσσουν τους μικροβιακούς πληθυσμούς, επιδρώντας κατά αυτόν τον τρόπο στη διάσπαση της οργανικής ουσίας του εδάφους και στους κύκλους των στοιχείων N, S και P.[39] Έχει αποδειχθεί πως η παρουσία του καρβαμδικού φυτοφαρμάκου carbaryl στο έδαφος ευθύνεται για τη μείωση των πληθυσμών ωφέλιμων μικροαρθρόποδων του εδάφους, ενώ η εφαρμογή των βενζο-ιμιδαζολικών benomyl και carbendazim – με μυκητοκτόνο δράση - οδηγούν σε ταχεία εξαφάνιση των γαιοσκωλήκων και σε μείωση των πληθυσμών τους αντίστοιχα. Όσον αφορά γενικά στα οργανοφωσφορικά και καρβαμδικά εντομοκτόνα, αυτά εμφανίζουν υψηλή τοξικότητα για τους γαιοσκώληκες και γι' αυτό δε συνίσταται η χρησιμοποίησή τους σε εδάφη πλούσια σε πληθυσμούς γαιοσκωλήκων.[9]

1.6 ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΥΠΟΓΕΙΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Η παρουσία υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο υδάτινο περιβάλλον διαπιστώθηκε από τις αρχές της δεκαετίας του '50 μέσω της παρατήρησης εκτεταμένων θανάτων ψαριών σε ποταμούς, λίμνες και εκβολές ποταμών έπειτα από τη χρήση εντομοκτόνων για την προστασία γειτονικών καλλιεργειών. Πολλές έρευνες κατέδειξαν την παρουσία εντομοκτόνων υπολειμμάτων τόσο στη λάσπη, όσο και στη χλωρίδα και την πανίδα του υδάτινου περιβάλλοντος των ευρύτερων περιοχών.

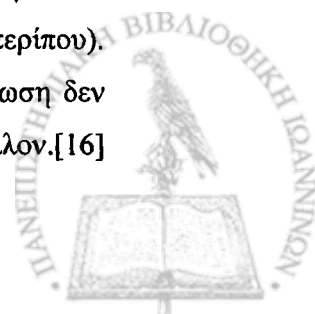


Η ρύπανση των επιφανειακών υδάτων συντελείται - εκτός της βροχής - είτε μέσω της απευθείας εφαρμογής στην επιφάνεια των υδάτων λιμνών και παράκτιων περιοχών - προκειμένου να καταπολεμηθούν επιβλαβή είδη εντόμων (κυρίως κουνούπια) ή να καταστραφούν υδροχαρή φυτά -, είτε μέσω των νερών αποστράγγισης ρυπασμένων εδαφών τα οποία καταλήγουν στους υδάτινους αποδέκτες (όπως: λίμνες, ποτάμια, θάλασσες), είτε μέσω των ρεόντων ρυπασμένων υδάτων. Τα ρέοντα ύδατα είναι αποτέλεσμα των βροχοπτώσεων και των αλόγιστων αρδεύσεων και κυλούν επιφανειακά, διερχόμενα από εδάφη που έχουν δεχθεί επεμβάσεις με φυτοφάρμακα, ρυπαίνοντας τους τελικούς φυσικούς αποδέκτες.[39]

Πέραν της ρύπανσης των επιφανειακών υδάτων δύναται να προκληθεί μέσω του νερού άρδευσης και εκτεταμένη ρύπανση των υπογείων υδάτων, ως αποτέλεσμα της βαθιάς διήθησης του νερού. Η βαθιά διήθηση εξαρτάται κυρίως από την εφαρμοζόμενη δόση άρδευσης, από τη σύσταση του εδάφους και από την υδατοδιαλυτότητα του φυτοπροστατευτικού σκευάσματος..

Αξιίζει να σημειωθεί πως σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στον ελλαδικό χώρο ετησίως αποβάλλονται στη λεκάνη του Πηνειού 1800 τόνοι περίπου φυτοπροστατευτικών προϊόντων εκ των οποίων οι 1000 τόνοι είναι εντομοκτόνα, οι 100 τόνοι είναι μυκητοκτόνα και οι 700 τόνοι είναι ζιζανιοκτόνα. Στον Παγασητικό κόλπο προσδιορίστηκε πως καταλήγουν ετησίως περίπου 200 τόνοι φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Όλα τα ανωτέρω στοιχεία καταδεικνύουν την εμφανή επιβάρυνση του περιβάλλοντος και κυρίως του υδροφόρου ορίζοντα από την αλόγιστη χρήση των φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων στην καλλιεργητική πρακτική.[14]

Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, τα καρβαμιδικά, τα πυρεθροειδή - φυτοφάρμακα νέας γενιάς - δεν φαίνεται να ευθύνονται για την εμφάνιση βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης, διότι έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να αποδομούνται ταχέως, σε αντίθεση με τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα - φυτοφάρμακα πρώτης γενιάς - τα περισσότερα εκ των οποίων απαγορεύθηκαν ακριβώς λόγω της έντασης / έκτασης των δύο αυτών φαινομένων. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο fenitrothion αποικοδομείται μέσα σε 2-4 ημέρες και γι' αυτό χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση εντόμων σε λίμνες και έλη, ενώ το πυρεθροειδές εντομοκτόνο deltamethrin χρησιμοποιείται ευρέως για τον επιφανειακό ψεκασμό υδάτων εξαιτίας της ταχύτατης αποικοδόμησής του (1 ώρα περίπου). Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί πως οι παραπάνω αναφορές σε καμία περίπτωση δεν παραγνωρίζουν την επικινδυνότητα των φυτοφαρμάκων νέας γενιάς για το περιβάλλον.[16]



Χαρακτηριστικά, οι οργανοφωσφορικές ενώσεις parathion και parathion-methyl στο υδάτινο περιβάλλον υδρολύονται προς σχηματισμό π-νιτροφαινόλης, η οποία παρουσία χλωρίου μετατρέπεται στην ιδιαίτερα επιβλαβή π-νιτροχλωροφαινόλη. Ο κίνδυνος δηλαδή από τη χρήση φυτοφαρμάκων δεν περιορίζεται στις αρχικές δραστικές ενώσεις, αλλά επεκτείνεται και στην παρουσία των μεταβολιτών – προϊόντων αποικοδόμησης, τα οποία δύναται να εμφανίζουν υψηλότερη δραστικότητα και τοξικότητα από τη μητρική ένωση.[2]

1.7 ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΝΙΔΑ

Οι αρνητικές επιδράσεις της εκτεταμένης χρήσης των φυτοφαρμάκων δεν αφορούν μόνο στη ρύπανση του αβιοτικού περιβάλλοντος, αλλά επεκτείνονται όπως ήδη αναφέρθηκε και στους έμβιους οργανισμούς.

Κατά την εφαρμογή φυτοπροστατευτικών προϊόντων δύναται συχνά να εμφανιστούν δευτερογενείς επιδράσεις στα φυτά αποδέκτες. Οι δευτερογενείς αυτές επιδράσεις συνήθως σχετίζονται είτε με την μερική ή ολική νέκρωση φυτικών οργάνων (όπως: κλαδίσκων, φύλλων, ανθοταξιών κλπ.) - η οποία σε ορισμένες περιπτώσεις εξελίσσεται με τελικό αποτέλεσμα την ξήρανση ολόκληρου του φυτικού σώματος -, είτε με την παρεμπόδιση της αύξησης του φυτικού στελέχους ή της βλάστησης των σπόρων. Σε κάθε περίπτωση, η τοξική ιδιότητα που εμφανίζει ένας παράγοντας στα φυτά αποδίδεται με τον όρο φυτοτοξικότητα (phytotoxicity). Υπεύθυνη για την εμφάνιση φυτοτοξικότητας δεν είναι πάντοτε η δραστική ουσία του φυτοπροστατευτικού σκευάσματος. Έχει αποδειχθεί πως η εμφάνιση φυτοτοξικότητας πολλές φορές συνδέεται με την προσθήκη συγκεκριμένων γαλακτωματοποιητικών ή προσκολλητικών ουσιών στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, καθώς και με τη μη κατάλληλη ανάμιξη μη φυτοτοξικών ουσιών, ο συνδυασμός των οποίων ωστόσο δύναται να επάγει φυτοτοξικότητα στα φυτά.[13]

Επιπλέον, πολλά φυτοπροστατευτικά προϊόντα έχουν κατηγορηθεί για τη μείωση της ανθεκτικότητας των φυτών απέναντι στα παθογόνα και τους ζωικούς εχθρούς, κυρίως μέσω της διατάραξης του φυτικού μεταβολισμού που προκαλείται από την εφαρμογή (π.χ. υψηλές συγκεντρώσεις αμινοξέων και μονοσακχαριτών που επηρεάζουν άμεσα τον πρωτεϊνικό μεταβολισμό). Χαρακτηριστικό παράδειγμα για την Ελλάδα αποτελεί η αύξηση των προσβολών των αμπέλων από ωίδιο έπειτα από επαναλαμβανόμενους ψεκασμούς με τα μυκητοκτόνα maneb και zineb.[14]



Όσον αφορά στα μη καλλιεργούμενα φυτικά είδη που απαντώνται στις καλλιέργειες παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη των καλλιεργούμενων (ζιζάνια), οι επανειλημμένες εφαρμογές ζιζανιοκτόνων για την καταπολέμησή τους συνεπάγονται τη διατάραξη της ισορροπίας του οικοσυστήματος, τη μείωση της βιοποικιλότητας και την επικράτηση ανθεκτικών ειδών και βιοτύπων.

Το πρόβλημα της διατάραξης των οικοσυστημάτων δεν περιορίζεται στη διατάραξη της ισορροπίας των φυτικών ειδών, αλλά επεκτείνεται και στους ζωικούς οργανισμούς που σχετίζονται με αυτά. Η αλόγιστη καταστροφή όλων των ζιζανίων ακόμη και εκείνων που δεν επιβαρύνουν σημαντικά την ανάπτυξη των καλλιεργούμενων φυτών συχνά είναι υπεύθυνη για την εξόντωση ή εκδίωξη πολλών ωφέλιμων οργανισμών (π.χ. έντομα ανταγωνιστές) τα οποία διαβιούν σε αυτά.

Η πολυπλοκότητα της μελέτης και κατανόησης της λειτουργίας των οικοσυστημάτων καθιστά πρακτικά αδύνατο τον πλήρη καθορισμό των συνεπειών της χρήσης φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων σε μία περιοχή. Η αλόγιστη εφαρμογή εντομοκτόνων ευθύνεται για την εξαφάνιση μεγάλου μέρους των ωφέλιμων εντόμων, ενώ δύναται να οδηγήσει στην εμφάνιση ανθεκτικότητας του επιβλαβούς εντόμου (ή μύκητα όταν πρόκειται για εφαρμογή μυκητοκτόνων σκευασμάτων) ή στην επικράτηση νέων εχθρών ως αποτέλεσμα του αφανισμού των φυσικών εχθρών τους [9]. Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί πολλές αντίστοιχες παρατηρήσεις. Στην περιοχή της Νάουσας οι εκτεταμένες επεμβάσεις με DDT για την καταπολέμηση της καρπόκαψας των μήλων είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των πληθυσμών των τετρανύχων, λόγω της θανάτωσης των φυσικών εχθρών τους, ενώ οι αεροψεκασμοί που πραγματοποιούνταν στο παρελθόν για την καταπολέμηση του δάκου στην ελιά, στην πεδιάδα της Μεσσάρας στην Κρήτη οδήγησαν στον αφανισμό πολλών ειδών εντομοφάγων πτηνών, μεταξύ των οποίων και τα είδη: *Luscinia mecarhynchos* (αηδόνη), *Otus scops* (γκιώνης) και *Hirundo rustica* (σταυροχελιδόνα).[20]

1.8 ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Όσον αφορά στις επιδράσεις της χρήσης φυτοφαρμάκων στην υγεία του ανθρώπου θα αποτελούσε παράλειψη να μην αναγνωριστεί ο διττός χαρακτήρας των επαγόμενων αποτελεσμάτων. Οι εκτεταμένες επεμβάσεις με φυτοφάρμακα, παρά τις βλαβερές συνέπειές τους για το περιβάλλον, σε πολλές περιπτώσεις επενέργησαν θετικά στην ασφάλεια της ανθρώπινης υγείας. Ο περιορισμός της ελονοσίας, της χολέρας, του επιδημικού τύφου, του κίτρινου πυρετού και άλλων σοβαρών απειλών για τη δημόσια υγεία επιτεύχθηκε μέσω της



καταπολέμησης των εντόμων φορέων των εν λόγω ασθενειών. Σήμερα, αποτελεί πλέον κοινώς παραδεκτή διαπίστωση τόσο η εξαφάνιση, όσο και η εμφάνιση νοσηρών φαινομένων για την ανθρώπινη υγεία ως αποτέλεσμα της ευρείας χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων [8].

Οι αρνητικές επιδράσεις συνοψίζονται κυρίως στις οξείες-άμεσες δηλητηριάσεις (acute effects) και στις χρονίως εμφανιζόμενες επιδράσεις (long term effects). Έρευνες στην Ελλάδα καταδεικνύουν πως οι οξείες δηλητηριάσεις που παρατηρούνται οφείλονται κυρίως στη χρήση οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων, ενώ το 76% των κρουσμάτων αφορά σε ενήλικες. Οι δηλητηριάσεις είναι κατά κανόνα βαρείας μορφής και παρουσιάζουν υψηλή θνησιμότητα. Από στοιχεία του Κέντρου Δηλητηριάσεων προκύπτει ότι για το έτος 1997, το 12,5% των περιστατικών οξείας δηλητηρίασης αφορούσε απόπειρες αυτοκτονίας, το 47% ατυχήματα κατά την εφαρμογή και το 41% έκθεση κατά την εργασία. Μελέτες που διεξήχθησαν στον ελλαδικό χώρο την τελευταία δεκαετία καταλήγουν πως η χρήση φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων από τον αγροτικό πληθυσμό της χώρας πραγματοποιείται με ελλιπή μέτρα προφύλαξης, ενώ πιθανώς να συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση διαταραχών στο κεντρικό νευρικό σύστημα, με τη μεταβολή των επιπέδων της ακετυλοχολινεστεράσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, με την αύξηση της συχνότητας εμφάνισης διόγκωσης του ήπατος και βρογχοκήλης των παιδιών, καθώς και με την εμφάνιση χρωμοσωμικών ανωμαλιών των ψεκαστών. Η μακροχρόνια έκθεση σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα ειδικά στα θερμοκήπια, χωρίς κατάλληλη χρήση των μέσων προσωπικής προστασίας, φαίνεται να έχει τοξική επίδραση στο ήπαρ αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης κακοήθειας.[9]

Τα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά φυτοφάρμακα εμφανίζουν αντιστεραστική δράση (δρουν ως παρεμποδιστές της ακετυλοχολινεστεράσης, ενώ έχει αποδειχθεί και η επίδρασή τους στην D.N. (Delayed Neurotoxicity-εστεράση) με αποτέλεσμα την εμφάνιση περιφερειακής πολυνευροπάθειας έπειτα από οξεία δηλητηρίαση. Οι βλάβες εντοπίζονται στα περιφερειακά νεύρα και το νωτιαίο μυελό και εκδηλώνονται αρχικά υπό τη μορφή ήπιας κινητικής αδυναμίας η οποία στη συνέχεια εξελίσσεται σε έντονη αδυναμία και σταδιακή παράλυση των άκρων. Οι επιπτώσεις που προκαλούνται στο ενζυμικό σύστημα δεν περιορίζονται εδώ. Πολλές φυτοπροστατευτικές ουσίες θεωρούνται υπεύθυνες για τη διατάραξη του ανθρώπινου μεταβολισμού (κυρίως των επιπέδων των οιστρογόνων) έπειτα από χρόνια έκθεση ή από δηλητηρίαση.[3]

Όσον αφορά στην κατανάλωση νερού ή τροφίμων που περιέχουν κατάλοιπα φυτοπροστατευτικών προϊόντων, αυτή έχει λάβει σημαντικές διαστάσεις στη σύγχρονη εποχή



ως αποτέλεσμα της αναβάθμισης του μορφωτικού επιπέδου του πληθυσμού, κυρίως όμως εξαιτίας των διατροφικών σκανδάλων που διαρκώς αναδεικνύονται από τα μέσα μαζικής ενημέρωσης. Τα κατάλοιπα φυτοφαρμάκων ορίζονται από το Συμβούλιο των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων ως τα υπολείμματα των φυτοφαρμάκων καθώς και των προϊόντων, που προκύπτουν από το μεταβολισμό, την αποσύνθεση ή την αντίδρασή τους και ευρίσκονται στο εσωτερικό ή την επιφάνεια των τροφίμων [78]. Τα κατάλοιπα που βρίσκονται στο εσωτερικό των λαχανικών σε αρκετές περιπτώσεις απομακρύνονται από τα τρόφιμα κατά το μαγείρεμα λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται, ενώ αυτά που εντοπίζονται στην επιφάνεια δύναται να απομακρυνθούν με το καθάρισμα και το πλύσιμο. Ωστόσο, η πλειοψηφία των φυτοφαρμάκων που κυρίως χρησιμοποιούνται εμφανίζουν διασυστηματική δράση, ενώ πολλά είδη λαχανικών, καθώς και τα φρούτα καταναλώνονται άμεσα μετά από πλύσιμο ή/και καθάρισμα, με αποτέλεσμα τα κατάλοιπα φυτοφαρμάκων που περιέχουν να περνούν στον ανθρώπινο οργανισμό [20].

Έντονη ανησυχία προκαλείται σήμερα γύρω από τις χρονίως εμφανιζόμενες επιδράσεις (long term effects) που δύναται να εκδηλωθούν και αφορούν όχι μόνον τους άμεσους καταναλωτές αλλά και τους φυσικούς απογόνους τους. Όσον αφορά στο ανοσοποιητικό σύστημα, έχει διαπιστωθεί η επίδραση πολλών εντομοκτόνων ουσιών στα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα του οργανισμού (συγκεκριμένα στα κύτταρα του αναπαραγωγικού, του αιμοποιητικού και του λεμφικού συστήματος). Το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της πιθανότητας ανάπτυξης λοιμώξεων, καθώς και η εμφάνιση σε ορισμένες περιπτώσεις μεταλλάξεων ή καρκινογένεσεων. Ειδικά τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα και οι διθειοκαρβαμιδικοί εστέρες επιδρούν στο αναπαραγωγικό σύστημα, μέσω της καταστολής της σπερματογένεσης στους άνδρες και τη διατάραξη της ωορρηξίας στις γυναίκες. Αν και από τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που έχουν ελεγχθεί δεν έχει αποδειχθεί η εμφάνιση τερατογόνου ή μεταλλαξιογόνου δράσης στον άνθρωπο, πειράματα σε ζώα καταδεικνύουν πως η συνεργιστική δράση τους με μικρές συγκεντρώσεις περιβαλλοντικών ρυπαντών δύναται να προκαλέσει εμβρυοτοξικότητα και τερατογένεση. Οι χρόνιες επιπτώσεις τους αναφέρονται σε νευρικές και νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις, πόνο και παραισθήσεις, μυϊκή αδυναμία, σύνδρομο Parkinson, διαταραχές μνήμης και γενετήσιας λειτουργίας, συναισθηματική αστάθεια και άγχος [3].

Η καρκινογόνος δράση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων δεν έχει πλήρως εξακριβωθεί για όλα τα σκευάσματα. Ενδεικτικά, καταγράφεται στον Πίνακα 1.8 που ακολουθεί ένα μικρό τμήμα των αποτελεσμάτων της έρευνας του Τμήματος Τροφίμων και Αγροτικής Παραγωγής των Η.Π.Α. στην Καλιφόρνια, που πραγματοποιήθηκε το 1986 [14].



Ισχυρές ενδείξεις καρκίνου	Μεσαίες ενδείξεις καρκίνου	Ελαφρές ενδείξεις καρκίνου
Alachlor	Aldrin	Dimethoate
Captan	Dieldrin	Paraquat
Chlorothalonil	Endrin	Permethrin
Folpet	Heptachlor	Profluralin

Πίνακας 1.8: Φυτοφάρμακα που θεωρούνται υπεύθυνα για την εμφάνιση καρκίνου.

Ιδιαίτερη ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα προκαλούν τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα λόγω της μεγάλης υπολειμματικής διάρκειας και της υψηλής λιποδιαλυτότητας που εμφανίζουν. Τα φυτοφάρμακα αυτά αποθηκεύονται στο υποδόριο λίπος και έπειτα από εκτεταμένη συσσώρευσή τους, απελευθερώνονται στο αίμα, με αποτέλεσμα την εκδήλωση καρκινογόνου δράσης (η οποία αποδίδεται στον υψηλό αριθμό ιόντων χλωρίου που περιέχουν στο μόριό τους).[1] Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων συνήθως ανιχνεύονται σε δείγματα φρούτων και λαχανικών, λόγω των ιδιαιτέρων απαιτήσεων που εμφανίζουν οι συγκεκριμένες καλλιέργειες και ειδικά όσον αφορά στις αναπτυσσόμενες χώρες σε αρκετές περιπτώσεις υπερβαίνουν κατά πολύ τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που ισχύουν στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη [20].

Ο προσδιορισμός υπολειμμάτων DDT - η χρήση του οποίου στην Ελλάδα έχει απαγορευθεί από το 1974 - και endosulfan sulfate το τελευταίο έτος σε δείγματα μητρικού γάλακτος αρκετών Ελληνίδων δείχνει να ανησυχεί έντονα την κοινή γνώμη, που διαρκώς πιέζει την πολιτεία να λάβει αυστηρότερα μέτρα ελέγχου και να επεκτείνει τη δράση της επιβάλλοντας αυστηρότερες κυρώσεις στους παρανομούντες παραγωγούς.

Οι σαφείς περιορισμοί που θέτουν οι διεθνείς οργανισμοί προστασίας των τροφίμων στη χρήση οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων συχνά ωθεί τους παραγωγούς στην υπερβολική εφαρμογή οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και βενζοϊμιδαζολών. Ενδεικτικά αναφέρεται πως για το έτος 2007 οι εντός Ευρωπαϊκής Ένωσης συναγερμοί, που έχουν ξεσπάσει για τον προσδιορισμό υψηλών συγκεντρώσεων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών αφορούν εκτός των άλλων: την ανίχνευση methomyl και oxamyl σε πράσινες πιπεριές και αγγούρια, την ανίχνευση fenitrothion σε πορτοκάλια, την ανίχνευση methomyl και carbofuran σε σταφύλια, την ανίχνευση carbendazim σε φράουλες, την ανίχνευση carbendazim σε μήλα και αχλάδια, την



ανίχνευση dimethoate και methomyl σε μαρούλια, την ανίχνευση chlorpyrifos και dimethoate σε πεπόνια, την ανίχνευση oxamyl σε ντομάτες και κολοκύθια, την ανίχνευση dimethoate σε ροδάκινα και την ανίχνευση methamidophos σε μελιντζάνες.[40]

Η αύξηση των δόσεων εφαρμογής των φυτοπροστατευτικών ενώσεων οδήγησε την Ευρωπαϊκή Κοινότητα τις τελευταίες δεκαετίες στη θέσπιση Ανώτατων Επιτρεπόμενων Ορίων για τις ενώσεις αυτές, καθώς και στην επέκταση των ελέγχων και των κυρώσεων σε περίπτωση υπέρβασης των προβλεπόμενων συγκεντρώσεων. Στην Ελλάδα η δημοσιοποίηση πολλών διατροφικών σκανδάλων, ιδίως την τελευταία πενταετία, εντείνει την ανησυχία των πολιτών οι οποίοι ζητούν τη λήψη αυστηρότερων μέτρων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλιστεί η προστασία της δημόσιας υγείας και να εξασφαλιστεί η ποιότητα των παραγόμενων γεωργικών προϊόντων.[12]



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

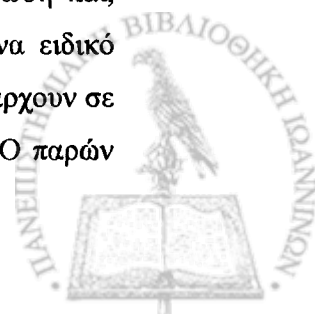
2.1 Η ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Οι σοβαρότατες δυσμενείς επιδράσεις για τη δημόσια υγεία και το περιβάλλον που συντρέχουν εξαιτίας της αλόγιστης χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων έχουν αναγκάσει τα διεθνή όργανα να επεκτείνουν τα μέτρα ελέγχου και περιορισμού της εφαρμογής τους. Σε διεθνές επίπεδο (διεθνές εμπόριο) ισχύουν τα όρια για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που περιέχονται στον Codex Alimentarius, τα οποία βρίσκονται σε συνεχή αναθεώρηση βάσει των πορισμάτων των αντίστοιχων διεθνών επιστημονικών οργάνων του Διεθνούς Οργανισμού Υγείας (FAO/WHO).[33] Τα ευρωπαϊκά νομοθετικά όργανα (Συμβούλιο Υπουργών, Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο, Επιτροπή) έχουν ορίσει αυστηρότερα όρια υπολειμματικότητας και επιμένουν να επιβάλλουν αυξημένες κυρώσεις σε περίπτωση μη συμμόρφωσης των παραγωγών.

Ως φυτοφάρμακο ορίζεται - βάσει του Κανονισμού 721/77/EK - κάθε σκεύασμα το οποίο περιέχει τη δραστική ουσία και τις διάφορες βοηθητικές, όπως σταθεροποιητές σκευάσματος, προσκολλητικές και άλλες και χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας, για τον έλεγχο και την απώθηση των παρασίτων, για την προστασία από ασθένειες και τη θεραπεία ασθενειών με στόχο τη βελτίωση της γεωργικής παραγωγής.[12]

Η σύντομη αναφορά στο νομοθετικό πλαίσιο που ακολουθεί και αφορά στην ασφάλεια των τροφίμων σχετικά με τα κατάλοιπα γεωργικών φαρμάκων δεν αποσκοπεί στη συνολική απαρίθμηση όλων των Οδηγιών που συνέχουν την έννομη ρύθμιση της διαδικασίας παραγωγής και τον έλεγχο των προϊόντων, αλλά στην καταγραφή των Οδηγιών που αποτέλεσαν τις απαρχές και που αποτελούν την οργανωτική βάση για την περαιτέρω θεμελίωση των αρχών της ασφάλειας των τροφίμων για τα κατάλοιπα γεωργικών φαρμάκων, όπως αυτές διαμορφώνονται σήμερα.

Οι ανώτατες εγκεκριμένες ποσότητες υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων που επιτρέπεται να ευρίσκονται στα προϊόντα ζωικής ή φυτικής προέλευσης που προορίζονται για ανθρώπινη ή ζωική κατανάλωση προβλέπονται από τον Κανονισμό 396/2005/EK από τις Οδηγίες 2007/7/EK και 90/642/EOK. Τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων αφορούν, αφενός, ειδικά MRL για ορισμένα τρόφιμα που προορίζονται για ανθρώπινη ή ζωική κατανάλωση και, αφετέρου, ένα γενικό όριο που εφαρμόζεται εφόσον δεν έχει καθοριστεί κανένα ειδικό MRL. Ο στόχος είναι να εξασφαλιστεί ότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που υπάρχουν σε τρόφιμα δεν συνιστούν κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών και των ζώων. Ο παρών



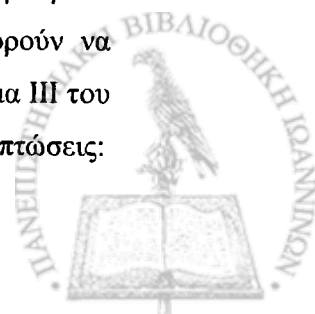
κανονισμός καταργεί όλες τις προηγούμενες Οδηγίες, προτείνοντας εναρμονισμένα ανώτατα όρια για όλα τα προϊόντα διατροφής. Επίσης, περιλαμβάνει την ίδια προστασία για τα προϊόντα διατροφής που προορίζονται για τα ζώα. Είναι η πρώτη φορά που θα θεσπιστεί ένα τέτοιο κοινό όριο σε ευρωπαϊκό επίπεδο για όλα τα είδη φυτοφαρμάκων, χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ κατηγοριών τροφίμων.[78]

Ο Κανονισμός 396/2005 καλύπτει το σύνολο των προϊόντων που προορίζονται για ανθρώπινη ή ζωική κατανάλωση, ιδίως τα τρόφιμα που καλύπτονται από τις καταργηθείσες Οδηγίες 76/895/ΕΟΚ (περί καθορισμού των ανωτάτων περιεκτικοτήτων των καταλοίπων φυτοφαρμάκων επί και εντός των οπωροκηπευτικών), 86/362/ ΕΟΚ (περί καθορισμού των ανωτάτων περιεκτικοτήτων των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων επί και εντός των σιτηρών), 86/363/ΕΟΚ (περί καθορισμού των ανωτάτων περιεκτικοτήτων των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων επί και εντός των τροφίμων ζωικής προέλευσης), 90/642/ ΕΟΚ (περί καθορισμού των ανωτάτων περιεκτικοτήτων των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων επί και εντός διαφόρων προϊόντων φυτικής προέλευσης) καθώς και το μέλι.[12] Αυτά τα προϊόντα συμπεριλαμβάνονται στο Παράρτημα Ι, που θεσπίστηκε με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 178/2006 και δεν υπόκεινται στα καθιερωμένα όρια όταν προορίζονται για τη σπορά ή τη φύτευση, για εγκεκριμένες δοκιμές όσον αφορά τις δραστικές ουσίες, για την παρασκευή άλλων προϊόντων εκτός από τρόφιμα ή ακόμα για την εξαγωγή εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι επίσης η καθιέρωση της "αποδεκτής ημερήσιας λήψης" (Κανονισμός 396/2005). Η αποδεκτή ημερήσια λήψη ορίζεται ως η κατ' εκτίμηση ποσότητα της ουσίας στην τροφή, εκφραζόμενη βάσει του σωματικού βάρους, η οποία μπορεί να προσλαμβάνεται ημερησίως σε όλη τη διάρκεια της ζωής, χωρίς αξιόλογο κίνδυνο για οποιονδήποτε καταναλωτή βάσει όλων των γνωστών κατά τη στιγμή της αξιολόγησης στοιχείων, λαμβανομένων υπόψη των ομάδων του πληθυσμού που είναι ευάλωτες.

2.1.1 ΟΡΙΟ ΕΞ' ΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΑ ΟΡΙΑ

Η ανώτατη περιεκτικότητα σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα ανέρχεται σε 0,01 mg/kg. Αυτό το γενικό όριο ισχύει «εξ ορισμού», δηλαδή για όλες τις περιπτώσεις για τις οποίες δεν έχει καθοριστεί MRL κατά συγκεκριμένο τρόπο για ένα προϊόν ή για ένα είδος προϊόντος. Τα ειδικά MRL παρατίθενται στο Παράρτημα ΙΙ του Κανονισμού και μπορούν να είναι υψηλότερα από το εξ ορισμού όριο. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορούν να θεσπιστούν προσωρινά MRL τα οποία στη συνέχεια καταχωρίζονται στο Παράρτημα ΙΙΙ του Κανονισμού. Προσωρινά MRL μπορούν να καθοριστούν ιδίως στις ακόλουθες περιπτώσεις:



- για το μέλι ή τα ροφήματα
- σε ορισμένες εξαιρετικές περιστάσεις μόλυνσης από φαρμακευτικά προϊόντα
- για τα εθνικά MRL που δεν έχουν ακόμα εναρμονιστεί
- όταν καταχωρίζονται νέα προϊόντα στο παράρτημα I και ένα κράτος μέλος υποβάλλει σχετικό αίτημα, προκειμένου να υπάρξει ο απαραίτητος χρόνος για τη λεπτομερή επιστημονική αξιολόγηση και υπό τον όρο ότι δεν προκύπτει κανένας κίνδυνος για τον καταναλωτή.

Απαγορεύεται η αραίωση προϊόντων που δεν τηρούν τα καθορισμένα όρια, εκτός από την περίπτωση ορισμένων επεξεργασμένων ή/και σύνθετων προϊόντων που απαριθμούνται από την Επιτροπή (παράρτημα VI).

Ορισμένες ουσίες που απαριθμούνται από την Επιτροπή (Παράρτημα VII) μπορούν να εγκριθούν, παρόλο που υπερβαίνουν τα MRL που τους έχουν καθορισθεί, εάν ικανοποιούνται οι ακόλουθες προϋποθέσεις:

- τα εν λόγω προϊόντα δεν προορίζονται για άμεση κατανάλωση
- πραγματοποιούνται έλεγχοι για να αποφευχθεί η διάθεση των προϊόντων αυτών στον καταναλωτή
- τα λοιπά κράτη μέλη και η Επιτροπή ενημερώνονται για αυτά τα μέτρα.

Σε εξαιρετικές περιπτώσεις, προϊόντα που δεν τηρούν τα καθορισμένα όρια στα Παραρτήματα II και III μπορούν να εγκριθούν από ένα κράτος μέλος, εάν αυτά τα προϊόντα δεν αντιπροσωπεύουν απαράδεκτο κίνδυνο. Το κράτος μέλος πρέπει να ενημερώσει αμέσως την Επιτροπή, τα άλλα κράτη μέλη και την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) με σκοπό να καθοριστούν όσο το δυνατόν γρηγορότερα τα κατάλληλα μέτρα.

Ορισμένες δραστικές ουσίες δεν υπόκεινται σε κανένα όριο υπολειμμάτων. Πρόκειται για δραστικές ουσίες που υπάρχουν σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα που αξιολογούνται σύμφωνα με την οδηγία 91/414/ΕΟΚ (σχετικά με τη διάθεση στην αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων) και για τις οποίες δεν έχει κριθεί αναγκαία καμία τιμή MRL. Παρατίθενται στο παράρτημα IV του παρόντος Κανονισμού.

2.1.2 ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ, ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΓΗΣΗ MRL

Προκειμένου ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν να μπορεί να διατεθεί στην αγορά σύμφωνα με την οδηγία 91/414/ΕΟΚ, οι δραστικές ουσίες που περιέχει πρέπει να αποτελέσουν



αντικείμενο αξιολόγησης, με σκοπό να καθοριστεί το κατώτατο όριο πέρα από το οποίο η συγκέντρωσή τους στα τρόφιμα παρουσιάζει κίνδυνο για τον άνθρωπο ή τα ζώα.[78]

Την ευθύνη για την αξιολόγηση των κινδύνων έχει η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA – European Food Safety Authority). Αυτή πρέπει να αποφανθεί για κάθε νέο MRL τροποποίηση ή προβλεπόμενη κατάργηση (πλην κατάργησης για λόγους ανάκλησης της έγκρισης που ισχύει για ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν). Η EFSA εκδίδει γνώμη που περιλαμβάνει, ιδίως, το αναμενόμενο όριο προσδιορισμού για το συνδυασμό φυτοφαρμάκων/προϊόντος καθώς και αξιολόγηση των κινδύνων σε περίπτωση υπέρβασης της επιτρεπόμενης καθημερινής δόσης. Με βάση τη γνώμη της EFSA, η Επιτροπή εκδίδει Κανονισμό ο οποίος θεσπίζει ένα νέο MRL ή ο οποίος τροποποιεί ή καταργεί ένα υφιστάμενο MRL.[12]

Με βάση πολυετή και εθνικά προγράμματα που επικαιροποιούνται κάθε χρόνο, τα κράτη μέλη διεξάγουν ελέγχους υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, για να επαληθεύσουν την τήρηση των MLR. Αυτοί οι έλεγχοι συνίστανται ειδικότερα στη λήψη δειγμάτων, στην υποβολή τους σε αναλύσεις και στον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων που είναι παρόντα σε αυτά καθώς και των αντίστοιχων επιπέδων υπολειμμάτων τους.[11]

Η χρησιμοποίηση δραστικών ουσιών σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα συνιστά μια από τις καταλληλότερες μεθόδους για την προστασία των φυτών από επιβλαβείς οργανισμούς. Αυτή η χρησιμοποίηση μπορεί εντούτοις να ευθύνεται για την παρουσία υπολειμμάτων σε επεξεργασμένα προϊόντα, στα ζώα που τρέφονται με αυτά τα προϊόντα και στο μέλι που παράγεται από μέλισσες που εκτίθενται σε αυτές τις ουσίες. Είναι απαραίτητο επομένως να εξασφαλιστεί ότι τα επίπεδα αυτών των υπολειμμάτων δεν παρουσιάζουν απαράδεκτο κίνδυνο για τον άνθρωπο και, αναλόγως, για τα ζώα.[6]

Κλείνοντας, στο μακρύ νομοθετικό κατάλογο θα μπορούσε επίσης να προστεθεί ο Κανονισμός 2092/91, περί του βιολογικού τρόπου παραγωγής - ο οποίος χαίρει ειδικής επιδότησης από την Ευρωπαϊκή Ένωση, καθώς και ο Κώδικας Ορθής Γεωργικής Πρακτικής (ΟΓΠ). Ως ορθή γεωργική πρακτική ορίζεται η σε εθνικό επίπεδο συνιστώμενη, εγκεκριμένη ή καταχωρισμένη ασφαλής χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων υπό πραγματικές συνθήκες σε οποιοδήποτε στάδιο της παραγωγής, της αποθήκευσης, της μεταφοράς, της διανομής και της μεταποίησης τροφίμων και ζωοτροφών και συνεπάγεται την εφαρμογή - σύμφωνα με τις διατάξεις της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ - των αρχών του ολοκληρωμένου ελέγχου παρασίτων σε συγκεκριμένη κλιματική ζώνη, καθώς και τη χρήση της ελάχιστης



ποσότητας φυτοφαρμάκων και τον καθορισμό των ελαχίστων επιπέδων καταλοίπων που μπορούν να επιτύχουν το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα.[12]

Αποτυπώνεται, δηλαδή, μέσω της πολιτικής βούλησης της Ευρωπαϊκής Ένωσης η αναγκαιότητα διαμόρφωσης ενός ασφαλούς και ελεγχόμενου συστήματος παραγωγής τροφίμων με σκοπό την προστασία της δημόσιας υγείας, αναγκαιότητα που εκφράζεται σχεδόν ομόφωνα από τους πολίτες-καταναλωτές των κρατών-μελών, ιδιαίτερα με αφορμή τα διατροφικά σκάνδαλα που αποκαλύπτονται στη δημοσιότητα. Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα παρέχει τη δικαιοδοσία στα κράτη μέλη, μέσω της Οδηγίας 2001/42/ΕΕ, για τη διενέργεια δειγματοληψιών και την ανάλυση των δειγμάτων για διερεύνηση και προσδιορισμό των υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων.

2.2 ΑΝΩΤΑΤΑ ΟΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι Διεθνείς Οργανισμοί αποσκοπώντας στην προστασία της Δημόσιας Υγείας έχουν θεσπίσει Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs), κυρίως στα πρωτογενή προϊόντα. Δεδομένου ότι τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά λόγω των θρεπτικών και βιολογικών τους ιδιοτήτων αποτελούν βασικό συστατικό της μεσογειακής διαίτας, ο συνεχής έλεγχος δειγμάτων για την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων είναι πρωτεύουσας σημασίας.

Η Επιτροπή Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων έχει περιλάβει στις δραστηριότητές της, τη θέσπιση Ανωτάτων Ορίων Υπολειμμάτων εντάσσοντάς τη στο γενικότερο πλαίσιο της Συνθήκης Ευρωπαϊκής Ενοποίησης και της ελεύθερης διακίνησης των αγαθών. Τα όρια προτείνονται έπειτα από επιστημονική επεξεργασία στο Ευρωπαϊκό Συμβούλιο το οποίο αποφασίζει για την επικύρωσή τους βάσει της αρχής της εξειδικευμένης πλειοψηφίας (qualified majority).

Σε περίπτωση υπέρβασης των Ανωτάτων Επιτρεπόμενων Ορίων τα δείγματα χαρακτηρίζονται ως «μη κανονικά» για κατανάλωση με αποτέλεσμα την επιβολή κυρώσεων στους παραγωγούς. Τα δείγματα βιολογικών προϊόντων εξαιρούνται της ανωτέρω ανοχής, διότι βάσει της νομοθεσίας που διέπει τον βιολογικό τρόπο παραγωγής η χρήση συνθετικών φυτοφαρμάκων ρητά απαγορεύεται (Κανονισμός 2092/91). Η απουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα προϊόντα βιολογικής παραγωγής σημαίνει πως η δυνητική παρουσία σε αυτά υπολειμμάτων θα πρέπει να περιορίζεται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, δηλαδή να βρίσκεται κάτωθι των ορίων ανίχνευσης των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό.



Στους πίνακες που ακολουθούν καταγράφονται τα Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων και τα Όρια Ανίχνευσης με συγκέντρωση εκφρασμένη σε mg/kg για τα προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα, βάσει της Κοινοτικής νομοθεσίας (Οδηγίες: για τα υποστρώματα που εξετάστηκαν:[78])

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗΚΑΝ	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD
	ΜΑΝΤΑΡΙΝΙ		ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ		ΜΗΛΟ		ΑΧΛΑΔΙ	
1. Acephate	1	0,02	1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
2. Aldicarb	0,2	0,05	0,2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
3. Aldicarb-sulfone								
4. Aldicarb-sulfoxide								
5. Carbaryl	1	-	1	-	3	-	3	-
6. Carbendazim / Benomyl	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
7. Carbofuran	0,3	0,1	0,3	0,1	0,1	0,02	0,1	0,02
8. 3-Hydroxy-carbofuran								
9. Chlorpyrifos	2	0,05	0,3	0,05	0,5	0,05	0,5	0,05
10. Chlorpyrifos-methyl	1	0,05	0,5	0,05	0,5	0,05	0,5	0,05
11. Diazinon	0,02	0,02	1	0,02	0,3	0,02	0,3	0,02
12. Dichlorvos	0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-
13. Dimethoate	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
14. Etrifos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
15. Fenitrothion	2	-	2	-	0,5	-	0,5	-
16. Malathion	2	-	2	-	0,5	-	0,5	-
17. Methacrifos	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
18. Methamidophos	0,2	0,01	0,2	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
19. Methidathion	2	0,05	2	0,05	0,3	0,05	0,3	0,05
20. Methomyl	1	0,05	0,5	0,05	0,2	0,05	0,2	0,05
21. Monocrotophos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
22. Omethoate	0,2	-	0,2	-	0,2	-	0,2	-
23. Oxamyl	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
24. Parathion	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
25. Parathion methyl	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02
26. Pirimicarb	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
27. Pirimiphos-methyl	2	0,05	1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
28. Thiabendazole	5	0,05	5	0,05	5	0,05	5	0,05
29. Triazophos	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Πίνακας 2.2.α: Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs) και Όρια Ανίχνευσης (LOD) φυτοφαρμάκων για δείγματα φρούτων.

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗΚΑΝ	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD
	ΒΕΡΙΚΟΚΟ		ΡΟΔΑΚΙΝΟ		ΝΕΚΤΑΡΙΝΙ		ΚΕΡΑΣΙ	
1. Acephate	0,02	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,02	0,02
2. Aldicarb	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
3. Aldicarb-sulfone								
4. Aldicarb-sulfoxide								
5. Carbaryl	3	-	3	-	3	-	1	-
6. Carbendazim / Benomyl	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1
7. Carbofuran	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02
8. 3-Hydroxy-carbofuran								
9. Chlorpyrifos	0,05	0,05	0,2	0,05	0,2	0,05	0,3	0,05
10. Chlorpyrifos-methyl	0,05	0,05	0,5	0,05	0,5	0,05	0,05	0,05
11. Diazinon	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,3	0,02
12. Dichlorvos	0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-
13. Dimethoate	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	1	0,02
14. Etrimfos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
15. Fenitrothion	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-
16. Malathion	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-
17. Methacrifos	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
18. Methamidophos	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
19. Methidathion	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,02	0,02
20. Methomyl	0,2	0,05	0,2	0,05	0,2	0,05	0,1	0,05
21. Monocrotophos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
22. Omethoate	0,2	-	0,2	-	0,2	-	0,4	-
23. Oxamyl	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
24. Parathion	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
25. Parathion methyl	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02
26. Pirimicarb	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
27. Pirimiphos-methyl	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
28. Thiabendazole	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
29. Triazophos	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Πίνακας 2.2.α (συνέχεια): Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs) και Όρια Ανίχνευσης (LOD) φυτοφαρμάκων για δείγματα φρούτων.

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗΚΑΝ	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD
	ΚΑΡΟΤΟ		ΚΡΕΜΜΥΔΙ		ΣΠΑΝΑΚΙ		ΜΑΡΟΥΔΙ		ΛΑΧΑΝΟ	
1. Acephate	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	1	0,02	2	0,02
2. Aldicarb	0,1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
3. Aldicarb-sulfone										
4. Aldicarb-sulfoxide										
5. Benomyl	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	5	0,1	3	0,1
6. Carbaryl	1	-	1	-	1	-	3	-	3	-
7. Carbendazim (+Benomyl)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	5	0,1	3	0,1
8. Carbofuran	0,3	0,02	0,3	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02
9. 3-Hydroxy-carbofuran										
10. Chlorpyrifos	0,1	0,05	0,2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	1	0,1
11. Chlorpyrifos-methyl	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,1	0,05
12. Diazinon	0,2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,05	0,05
13. Dichlorvos	0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,1	-
14. Dimethoate	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,5	0,02	1	0,05
15. Etrifos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
16. Fenitrothion	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-
17. Malathion	0,5	-	3	-	3	-	3	-	3	-
18. Methacrifos	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
19. Methamidophos	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,2	0,01	0,5	0,01
20. Methidathion	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
21. Methomyl	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,3	0,05	0,05	0,02
22. Monocrotophos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
23. Omethoate	0,1	0,1	0,2	-	0,4	-	0,2	-	0,2	-
24. Oxamyl	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
25. Parathion	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
26. Parathion methyl	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02
27. Pirimicarb	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
28. Pirimiphos-methyl	1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,02	0,02
29. Thiabendazole	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
30. Triazophos	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Πίνακας 2.2.β: Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs) και Όρια Ανίχνευσης (LOD) φυτοφαρμάκων για δείγματα νοπών λαχανικών.

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗΚΑΝ	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD	MRL	LOD
	ΤΟΜΑΤΑ		ΑΓΓΟΥΡΙ		ΠΙΠΕΡΙΑ		ΚΟΛΟΚΥΘΙ		ΜΕΛΙΤΖΑΝΑ	
1. Acephate	0,5	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
2. Aldicarb	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
3. Aldicarb-sulfone										
4. Aldicarb-sulfoxide										
5. Benomyl	0,5	0,1	1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,5	0,1
6. Carbaryl	1	-	1	-	1	-	0,01	-	1	-
7. Carbendazim (+Benomyl)	0,5	0,1	1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,1
8. Carbofuran	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02	0,1	0,02
9. 3-Hydroxy-carbofuran										
10. Chlorpyrifos	0,5	0,05	0,05	0,05	0,5	0,05	0,05	0,05	0,5	0,05
11. Chlorpyrifos-methyl	0,5	0,05	0,05	0,05	0,5	0,05	0,05	0,05	0,5	0,05
12. Diazinon	0,5	0,02	0,02	0,02	0,5	0,02	0,02	0,02	0,5	0,02
13. Dichlorvos	0,1	-	0,1	-	0,1	-	0,01	-	0,1	-
14. Dimethoate	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
15. Etrifos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
16. Fenitrothion	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,01	-	0,5	-
17. Malathion	3	-	3	-	3	-	0,01	-	3	-
18. Methacrifos	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
19. Methamidophos	0,5	0,01	1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,2	0,01
20. Methidathion	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
21. Methomyl	0,2	0,05	0,05	0,05	0,2	0,05	0,05	0,05	0,2	0,05
22. Monocrotophos	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
23. Omethoate	0,2	-	0,2	-	0,2	-	0,01	-	0,2	-
24. Oxamyl	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
25. Parathion	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
26. Parathion methyl	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02	0,2	0,02
27. Pirimicarb	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-
28. Pirimiphos-methyl	1	0,05	0,1	0,05	1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
29. Thiabendazole	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
30. Triazophos	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Πίνακας 2.2.β (συνέχεια): Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs) και Όρια Ανίχνευσης (LOD)

φυτοφαρμάκων για δείγματα νωπών λαχανικών.

Η Ευρωπαϊκή Νομοθεσία συχνά εμφανίζει κενά στη θέσπιση Ανώτατων Ορίων Υπολειμμάτων και Ορίων Ανίχνευσης για αρκετές φυτοπροστατευτικές ουσίες, γεγονός που κυρίως οφείλεται στον υψηλό αριθμό των χρησιμοποιούμενων φυτοφαρμάκων. Προκειμένου να καλυφθούν τα υπάρχοντα νομοθετικά κενά, το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο πρόσφατα (13/11/2007) πρότεινε την ενοποίηση και τον επανακαθορισμό των περιοριστικών μέτρων και των μέτρων ελέγχου της ρύπανσης του περιβάλλοντος σε μία νέα Οδηγία για το περιβάλλον, με σκοπό τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας και την αποσαφήνιση των μέτρων.



Όσον αφορά στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών που εξετάστηκε, η Ευρωπαϊκή Νομοθεσία δεν προβλέπει Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων και Όρια Ανίχνευσης για όλα τα προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα. Όπως φαίνεται και από τους Πίνακες 2.3.α και 2.3.β για τις ουσίες etrimfos, oxamyl και pirimicarb δεν προβλέπονται Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων και αντίστοιχα Όρια Ανίχνευσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

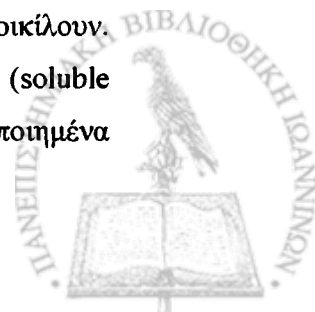
Ο αυξημένος αριθμός των χρησιμοποιούμενων φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων οδήγησε στην κατηγοριοποίηση των φυτοπροστατευτικών ενώσεων. Η ομαδοποίηση των δραστικών ενώσεων βασίζεται κυρίως στον τρόπο παρασκευής τους, στο χημικό χαρακτήρα τους, στο φάσμα και στον τρόπο δράσης τους.

Βάσει του τρόπου παρασκευής τους οι δραστικές ουσίες διακρίνονται: α) στις φυσικώς παραγόμενες και β) στις χημικώς συντιθέμενες. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ουσίες που προέρχονται από ανώτερα φυτά ή μικροοργανισμούς και εμφανίζουν θεραπευτικές για τις ασθένειες ιδιότητες, εντομοκτόνο ή ζιζανιοκτόνο δράση, ενώ στη δεύτερη κατηγορία υπάγονται ανόργανες ή οργανικές ενώσεις των οποίων η σύνθεση πραγματοποιείται εργαστηριακά. Αυτά τα φυτοφάρμακα είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα, ενώ στην καθημερινότητα η χρήση του όρου φυτοφάρμακα έχει επικρατήσει να αναφέρεται σε αυτή την κατηγορία φυτοπροστατευτικών ουσιών.[18]

Η κατηγορία των συνθετικών εντομοκτόνων περιλαμβάνει μία πληθώρα οργανικών ενώσεων. Τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σύμφωνα με το χημικό χαρακτήρα τους σε: οργανοφωσφορικά, οργανοχλωριωμένα, πυρεθρινοειδή, πυριδινικά, καρβαμιδικά, παράγωγα βενζοϋλουρίας, χλωροφαινόλες, νιτροφαινόλες, πυραζόλες, τριαζόλες, βενζιμιδαζόλες και λοιπές χημικές τάξεις.[16]

Μία περαιτέρω διάκριση αφορά στο φάσμα δράσης τους. Αναλόγως του είδους των φυτοπαρασίτων που καταπολεμούν τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε: Ακαρεοκτόνα (Acaricides), Βακτηριοκτόνα (Bactericides), Εντομοκτόνα (Insecticides), Ζιζανιοκτόνα (Herbicides), Μυκητοκτόνα (Fungicides), Νηματοδοκτόνα (Nematicides) και Τρωκτικοκτόνα (Rodenticides), ενώ βάσει του τρόπου δράσης του φαρμάκου χωρίζονται σε: αποφυλλωτικά, απωθητικά, ελκυστικά, ρυθμιστές ανάπτυξης, συνεργιστικά και φυτορυθμιστικά.[13]

Οι μορφές με τις οποίες απαντώνται τα συνθετικά φυτοφάρμακα στο εμπόριο ποικίλουν. Υπάρχουν: υδατοδιαλυτές σκόνες (water soluble powders), διαλυτοί κόκκοι (soluble granules), υδατικά διαλύματα (aqueous solution / soluble concentrates), γαλακτοποιημένα



υγρά (emulsifiable concentrates), βρέξιμες σκόνες (wetable powders), εναιωρούμενα συμπυκνώματα (suspension concentrates), κοκκώδη σκευάσματα (granules) και αιωρήματα καψουλών (capsule suspensions).

Τα φυτοφάρμακα διακρίνονται ακόμη: α) σε φυλλώματος ή εδάφους, αναλόγως της θέσεως απορρόφησής τους από τα φυτά, β) σε προσπαρτικά, προφυτρωτικά ή μεταφυτρωτικά, αναλόγως του χρόνου εφαρμογής τους, γ) σε επαφής ή διασυστηματικά, αναλόγως της αποστάσεως εκδήλωσης της δράσης τους από τη θέση απορρόφησης και δ) σε εκλεκτικά ή μη εκλεκτικά, αναλόγως της ικανότητάς τους να θανατώνουν ευρύ ή περιορισμένο φάσμα εχθρών.[20]

Εκτός της τοξικότητας, που επάγουν για πολλούς έμβιους οργανισμούς, τα συνθετικά φυτοφάρμακα συνήθως χαρακτηρίζονται και από υψηλή αντοχή στους αποικοδομητικούς μηχανισμούς της φύσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, σταθερών στη φυσική αποικοδόμηση φυτοφαρμάκων, αποτελούν τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα. Ίχνη DDT και άλλων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων έχουν εντοπιστεί στην Αρκτική και Ανταρκτική, εντός των πολικών πάγων, των ψαριών και των θηλαστικών, ενώ ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί η ανίχνευση των ενώσεων αυτών σε δείγματα μητρικού γάλακτος. Η αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων, ακόμη και όταν συντελείται στο φυσικό περιβάλλον, συχνά συνεπάγεται την απελευθέρωση παράγωγων ενώσεων οι οποίες εμφανίζουν ίδια ή και υψηλότερη τοξικότητα από την μητρική ένωση.

Η διασπορά των φυτοφαρμάκων και των μεταβολιτών τους στους βιοτικούς και αβιοτικούς αποδέκτες καθορίζεται από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ενώσεων. Οι πτητικές ουσίες τείνουν να κατανεμηθούν περισσότερο στην ατμόσφαιρα σε αντίθεση με τις λιγότερο πτητικές, ενώ οι ουσίες που εμφανίζουν υψηλή υδατοδιαλυτότητα διαχέονται ταχύτατα στους υδάτινους αποδέκτες, εισβάλλοντας στο σώμα των υδρόβιων οργανισμών. Η βιοσυσσώρευση των φυτοφαρμάκων στο σώμα των έμβιων αποδεκτών εξαρτάται κυρίως από τη λιποδιαλυτότητα των ενώσεων και από τη διαπερατότητά τους από το δέρμα.[39]

3.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Η επιλογή των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων βασίστηκε κυρίως σε βιβλιογραφικά δεδομένα, προκειμένου να συσταθεί μία ομάδα των αντιπροσωπευτικότερων ουσιών που συνιστώνται για την καταπολέμηση των εχθρών και των παθογόνων των καλλιεργειών που επιλέχθηκαν να εξεταστούν.[13][18][20]

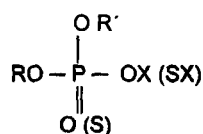


Τα φυτοφάρμακα που προσδιορίστηκαν ανήκουν στις κατηγορίες των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζο-ιμιδαζολών. Παρακάτω καταγράφονται οι ουσίες που εξετάστηκαν και πραγματοποιείται σύντομη αναφορά στις χαρακτηριστικές ιδιότητες αυτών.

3.2.1 ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΑ

Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα (organophosphorus pesticides) αποτελούν την ευρύτερα διαδεδομένη και εκτενή κατηγορία φυτοφαρμάκων. Πρόκειται για εντομοκτόνα επαφής, ενώ ορισμένα εμφανίζουν και διασυστηματική δράση.

Η σύνθεσή τους ακολούθησε την ανακάλυψη των αερίων νεύρων του 2^{ου} Παγκοσμίου Πολέμου, στα οποία ομοιάζουν στη δομή και τη δράση. Είναι οργανικές ενώσεις του φωσφόρου και κυρίως των εστέρων του φωσφορικού οξέος και των παραγώγων του. Η μεγάλη επιτυχία της δράσης τους οφείλεται στην αδρανοποίηση του ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης, το οποίο συμμετέχει στον έλεγχο της μετάδοσης των νευρικών ώσεων. Η αδρανοποίηση του ενζύμου οδηγεί σε συσσώρευση ακετυλοχολίνης στις νευρικές συνάψεις. Τα συμπτώματα εκδηλώνονται συνήθως με την ακόλουθη σειρά: υπερδιέγερση, σπασμοί, παράλυση και θάνατος. Σε αυτή την κατηγορία χημικών ενώσεων ανήκουν μερικά από τα τοξικότερα για τα έντομα, τα θερμόαιμα και τον άνθρωπο εντομοκτόνα. Περιλαμβάνονται ενώσεις, που έχουν γενική δομή:

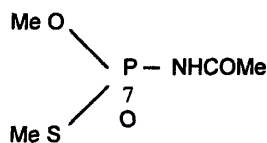


Η τοξικότητα της οργανοφωσφορικής ένωσης επηρεάζεται από τις ομάδες R και R'. Έχει παρατηρηθεί πως μακρύτερες ανθρακικές αλυσίδες τείνουν να ελαττώνουν την τοξικότητα, αυξάνοντας παράλληλα τη σταθερότητα του μορίου. Η υδατοδιαλυτότητα του φυτοφαρμάκου επηρεάζεται από τη φύση της ομάδας X και τη σταθερότητα της ένωσης.[32]

Στη συνέχεια, καταγράφονται τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα που προσδιορίστηκαν, οι χημικές δομές των ενώσεων και βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους:[67][69]

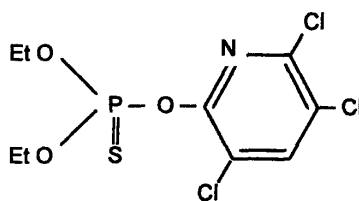
1. ACEPHATE

Μοριακός τύπος	$C_4H_{10}NO_3PS$
Μοριακό βάρος	183,16
Σημείο τήξεως	183,16 °C
Τάση ατμών	0,226 mPa στους 24°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 790 g/lt
K _{oc}	2
Log _{K_{ow}}	-0,89



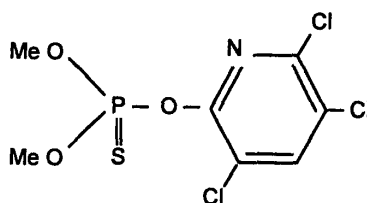
2. CHLORPYRIFOS

Εμπορική ονομασία	Chlorpyrifos
Μοριακός τύπος	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$
Μοριακό βάρος	350,62
Σημείο τήξεως	42 – 43,5°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 2mg/l
K _{oc}	6.000
Log _{K_{ow}}	4,7



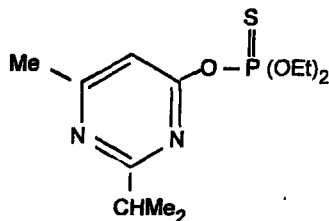
3. CHLORPYRIFOS-METHYL

Εμπορική ονομασία	Chlorpyrifos-methyl
Μοριακός τύπος	$C_7H_7Cl_3NO_3PS$
Μοριακό βάρος	322,5
Σημείο τήξεως	45,5 – 46,5°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 2mg/l
K _{oc}	1.190 – 8.100
Log _{K_{ow}}	4,24



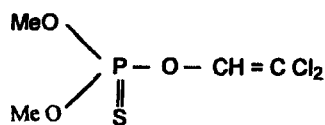
4. DIAZINON

Ελληνική ονομασία	Diazinon
Μοριακός τύπος	$C_{12}H_{12}N_2O_3PS$
Μοριακό βάρος	304,35
Σημείο βρασμού	125°C σε 1mmHg
Διαλυτότητα στο νερό	Στους 20 °C, 40mg/l
K _{ow}	500
log ₁₀ K _{ow}	3.3



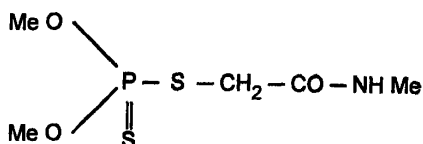
5. DICHLORVOS

Ελληνική ονομασία	Dichlorvos
Μοριακός τύπος	$C_4H_7Cl_2O_4P$
Μοριακό βάρος	220,98
Σημείο βρασμού	74°C σε 1mmHg
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 10gr/l
K _{ow}	150
log ₁₀ K _{ow}	1.9



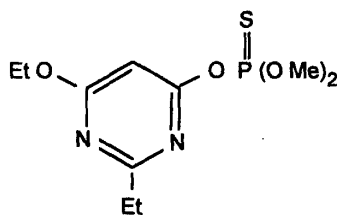
6. DIMETHOATE

Ελληνική ονομασία	Dimethoate
Μοριακός τύπος	$C_5H_{12}NO_3PS_2$
Μοριακό βάρος	229,28
Σημείο τήξεως	49°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 21°C, 25gr/l
K _{ow}	30
log ₁₀ K _{ow}	0.7



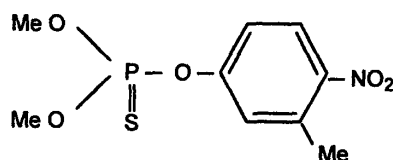
7. ETRIMFOS

Ελληνική ονομασία	Ετρίμφος
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_{17}N_2O_4PS$
Μοριακό βάρος	292,29
Σημείο τήξεως	-3,35°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 23-24°C, 40mg/l
K _{oc}	420
Log _{K_{ow}}	3,4



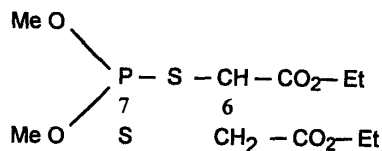
8. FENITROTHION

Ελληνική ονομασία	Φενιτροθιόν
Μοριακός τύπος	$C_9H_{12}NO_5PS$
Μοριακό βάρος	277,24
Σημείο βρασμού	164 °C σε 1mmHg
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 21°C, 30mg/l
K _{oc}	
Log _{K_{ow}}	



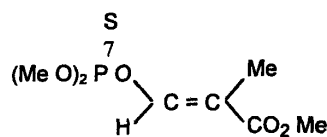
9. MALATHION

Ελληνική ονομασία	Μαλαθιόν
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$
Μοριακό βάρος	330,36
Σημείο τήξεως	2,85°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 145mg/l
K _{oc}	405
Log _{K_{ow}}	2,75



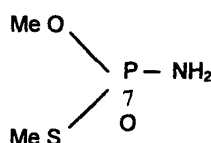
10. METHACRIFOS

Ελληνική ονομασία	Methacrifos
Μοριακός τύπος	$C_7H_{13}O_5PS$
Μοριακό βάρος	240,2
Σημείο βρασμού	90°C σε 0,01mmHg
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 400mg/l
K _{oc}	
Log _{K_{ow}}	



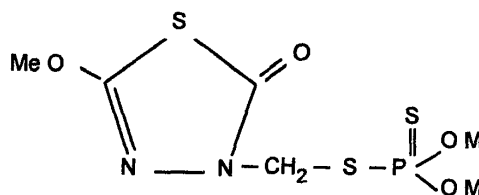
11. METHAMIDOPHOS

Μοριακός τύπος	$C_2H_5NO_2PS$
Μοριακό βάρος	141,13
Σημείο τήξεως	46,1 °C
Τάση ατμών	2,3 mPa στους 20°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, >2kg/l
K _{oc}	5
Log _{K_{ow}}	-0,8



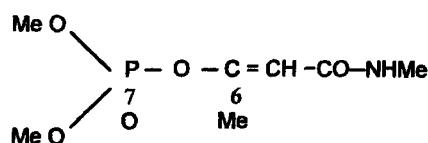
12. METHIDATHION

Ελληνική ονομασία	Methidathion
Μοριακός τύπος	$C_6H_{11}N_2O_4PS_3$
Μοριακό βάρος	302,33
Σημείο τήξεως	39 – 40°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 240 mg/l
K _{oc}	460
Log _{K_{ow}}	2,2



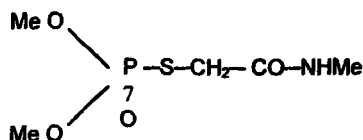
13. MONOCROTAPHOS

Μοριακός τύπος	
Μοριακό βάρος	223,2
Σημείο τήξεως	54 - 55°C
Πάση ατμών	0,29 mPa στους 20°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 1kgr/kg ??
Κοο	6
log ₁₀ K _{ow}	-0,22



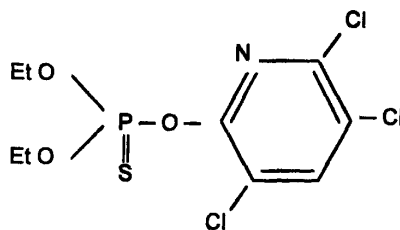
14. OMETHOATE

Μοριακός τύπος	
Μοριακό βάρος	213,19
Σημείο βρασμού	135 °C
Πάση ατμών	3,2 mPa στους 20°C
Διαλυτότητα	διαλύεται πλήρως σε H ₂ O, -OH, ακετόνη
Κοο	21 - 87
log ₁₀ K _{ow}	-0,74



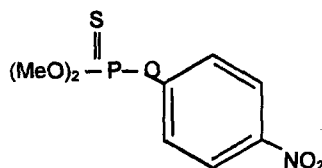
15. PARATHION

Ελληνική ονομασία	Parathion
Μοριακός τύπος	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS
Μοριακό βάρος	291.27
Σημείο τήξεως	6.1°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 24mg/l
Κοο	1.750 - 4.800
log ₁₀ K _{ow}	3.38



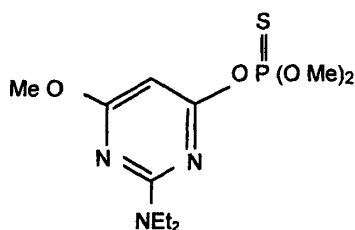
16. PARATHION-METHYL

Κοινή ονομασία	Parathion-methyl
Μοριακός τύπος	$C_8H_{10}NO_5PS$
Μοριακό βάρος	263,2
Διαλυτότητα στο νερό	Στους 20 °C, 55mg/l
Koc	240
Log _{kow}	3,0



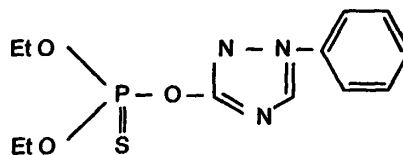
17. PIRIMIPHOS-METHYL

Κοινή ονομασία	Pirimiphos-methyl
Μοριακός τύπος	$C_{11}H_{20}N_3O_3PS$
Μοριακό βάρος	305,34
Σημείο τήξεως	15°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 30°C, 5mg/l
Koc	1.100
Log _{kow}	4,2



18. TRIAZOPHOS

Κοινή ονομασία	Triazophos
Μοριακός τύπος	$C_{12}H_{16}N_3O_3PS$
Μοριακό βάρος	313,31
Σημείο τήξεως	2-5°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 20°C, 30-40mg/l
Koc	318 – 425
Log _{kow}	3,34



3.2.2 ΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΑ

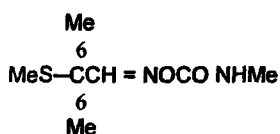
Η ομάδα των καρβαμιδικών (carbamates) φυτοφαρμάκων περιλαμβάνει ενώσεις παράγωγα του καρβαμιδικού οξέος. Ο τρόπος δράσης τους είναι κυρίως χολινεργικός, παρεμποδίζουν δηλαδή τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης κατά τρόπο ανάλογο εκείνου των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων. Τα περισσότερα είναι εντομοκτόνα επαφής, ενώ ορισμένα εμφανίζουν και διασυστηματική δράση. Η οξεία (από στόματος) τοξικότητά τους

για τα θερμόαιμα ποικίλλει από μέτρια έως πολύ μεγάλη. Ορισμένα από αυτά είναι ισχυρά μελισσοτοξικά, ενώ τα περισσότερα δεν διαπερνούν εύκολα το δέρμα των θηλαστικών, χωρίς ωστόσο να είναι σπάνιες οι δηλητηριάσεις αγροτών κατά τη χρησιμοποίηση επικίνδυνων μελών της ομάδας αυτής (πχ. methomyl, carbofuran, aldicarb).[32]

Παρακάτω, καταγράφονται τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα που προσδιορίστηκαν, οι χημικές δομές των ενώσεων και βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους:[67][69]

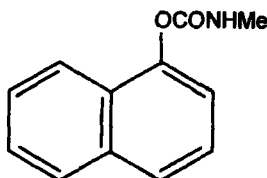
1. ALDICARB

Μοριακός τύπος	$C_7H_{14}N_2O_2S$
Μοριακό βάρος	190,3
Σημείο βρασμού	
Τάση ατμών	$1,3 \cdot 10^{-2}$ Pa στους $25^{\circ}C$
Διαλυτότητα	Στο νερό στους $20^{\circ}C$, 4,9 g/l σε pH = 7
Koc	25 – 79
LogKow	1,15



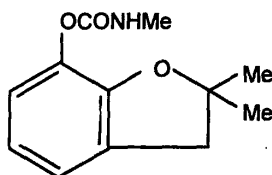
2. CARBARYL

Εμπορική ονομασία	Carbaryl
Μοριακός τύπος	$C_{12}H_{11}NO_2$
Μοριακό βάρος	201,23
Σημείο τήξεως	$142^{\circ}C$
Διαλυτότητα	Στο νερό στους $30^{\circ}C$, 40mg/l
Koc	100 – 600
LogKow	1,6



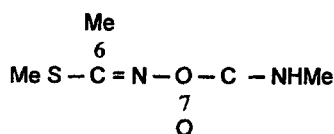
3. CARBOFURAN

Λατινική ονομασία	Carbofuran
Μοριακός τύπος	$C_{12}H_{15}NO_3$
Μοριακό βάρος	221,25
Σημείο τήξεως	153-154°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 320mg/l
Koc	22
LogKow	1,52



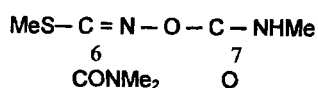
4. METHOMYL

Λατινική ονομασία	Methomyl
Μοριακός τύπος	$C_5H_{10}N_2O_2S$
Μοριακό βάρος	162,21
Σημείο τήξεως	78-79°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 57,9gr/l
Koc	9 - 157
LogKow	1,24 (pH=7, 25°C)



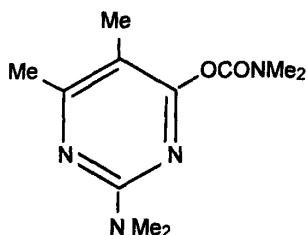
5. OXAMYL

Μοριακός τύπος	$C_7H_{13}N_3O_4S$
Πάση ατμών	31 mPa στους 25°C
Σημείο τήξεως	100 - 120 °C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 280g/l
Koc	< 1 - 41
LogKow	-0,44 σε pH=5 στους 25°C



6. PIRIMICARB

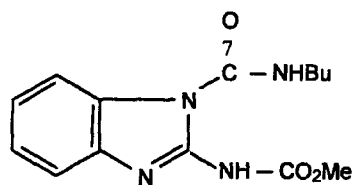
Ελληνική ονομασία	Pirimicarb
Μοριακός τύπος	$C_{11}H_{18}N_4O_2$
Μοριακό βάρος	238,3
Σημείο τήξεως	90,5°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 2,7gr/l
Koc	45 – 730
Log _{kow}	1,7



3.2.3 BENZOΪΜΙΔΑΖΟΛΕΣ

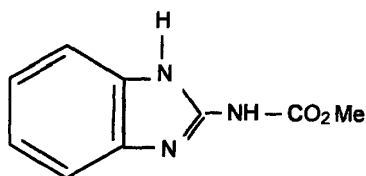
1. BENOMYL

Ελληνική ονομασία	Benomyl
Μοριακός τύπος	$C_{14}H_{18}N_4O_3$
Μοριακό βάρος	290,62
Σημείο τήξεως	Διασπάται κατά τη θέρμανση
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 25°C, 2mg/l
Koc	950 – 3.600
Log _{kow}	1,37



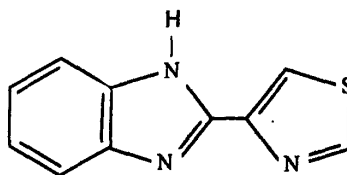
2. CARBENDAZIM (μεταβολίτης του benomyl)

Ελληνική ονομασία	Carbendazim
Μοριακός τύπος	$C_9H_9N_3O_2$
Μοριακό βάρος	191,19
Σημείο τήξεως	302-307°C
Διαλυτότητα	Στο νερό στους 24°C, 28mg/l
Koc	20 – 1.888
Log _{kow}	1,48



3. THIABENDAZOLE

Επωνυμία	Thiabendazole
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_7N_3S$
Μοριακό βάρος	201,25
Σημείο τήξεως	304-305°C
Διαλυτότητα	Στο νερό για $5 < PH < 12$, 50mg/
Κωδ.	—
Επωνυμία	2,2



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Η τεχνολογική εξέλιξη στον τομέα της αναλυτικής χημείας επιτρέπει τον προσδιορισμό πλήθους φυτοπροστατευτικών ουσιών και την ορθότερη εκτίμηση της έκτασης της προκαλούμενης ρύπανσης.

Ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων αποτελεί ιδιαίτερα δαπανηρή και εξειδικευμένη διαδικασία. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων που επιδιώκονται για τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό συχνά ανήκουν στις τάξεις των $\mu\text{g/l}$ ή ng/l , απαίτηση που επιβάλλει τη χρήση ακριβούς εξοπλισμού, υψηλής ακρίβειας για την ανάλυση των δειγμάτων. Η ταυτόχρονη δυνατή παρουσία ενός σχετικά εκτεταμένου αριθμού ενώσεων στο ίδιο δείγμα - ειδικά στην περίπτωση των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών - απαιτεί την ανάπτυξη και εφαρμογή πολυ-υπολειμματικών μεθόδων ανάλυσης (multi-residue methods), ενώ συχνά κρίνεται απαραίτητη και η εφαρμογή εξειδικευμένων μεθόδων για ορισμένες ουσίες (π.χ. διθειο-καρβαμιδικά φυτοφάρμακα).[66]

Εξαιτίας των αυξημένων δυσκολιών που εμφανίζουν οι εν λόγω αναλύσεις, δύναται σε αρκετές περιπτώσεις να πραγματοποιούνται αναλυτικά λάθη κατά την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων. Οι επιπτώσεις λαθών κατά την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό συνήθως κρίνονται εξαιρετικά σοβαρές, δεδομένου ότι μέσω των αποτελεσμάτων των αναλύσεων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων κρίνεται η επικινδυνότητα της κατανάλωσης γεωργικών προϊόντων και διασφαλίζεται η υγεία των καταναλωτών. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί πως δεν υπάρχει αναλυτική μέθοδος η οποία με βεβαιότητα να αποδεικνύει την απόλυτη απουσία των προς προσδιορισμό ενώσεων στο δείγμα, γι' αυτό και κατά την εξαγωγή των αποτελεσμάτων γίνεται αναφορά σε «μη ανιχνεύσιμα» υπολείμματα και όχι σε μηδενική συγκέντρωση της ένωσης στο δείγμα.[21][22]

Η διαδικασία συλλογής, επεξεργασίας και εξέτασης των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών που διεξάχθηκε περιλάμβανε τα ακόλουθα επιμέρους στάδια: α) δειγματοληψία και αποθήκευση των δειγμάτων, β) επεξεργασία των προς εξέταση δειγμάτων (εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες), γ) ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό.

4.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η δειγματοληψία - αν και συχνά υποβιβάζεται η σημασία της - αποτελεί ιδιαίτερα κρίσιμο στάδιο. Αυτό οφείλεται στην αδυναμία απόλυτης εξασφάλισης της αντιπροσωπευτικότητας των συλλεγμένων δειγμάτων. Σύμφωνα με διεθνείς εκτιμήσεις, είναι υπεύθυνη για το 20 – 25% της διακύμανσης στο τελικό αποτέλεσμα του προσδιορισμού. Στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής Ένωσης κάθε κράτος μέλος υποχρεούται να εξετάζει επαρκή αριθμό και φάσμα δειγμάτων ώστε τα αποτελέσματα να είναι αντιπροσωπευτικά της αγοράς, λαμβανομένων υπόψη των αποτελεσμάτων προηγούμενων προγραμμάτων ελέγχου. Η δειγματοληψία αυτή διενεργείται, όσο είναι ευλόγως δυνατό, πλησίον του σημείου διάθεσης, ώστε να μπορούν να λαμβάνονται τα οποιαδήποτε συνακόλουθα μέτρα.[25]

Οι μέθοδοι δειγματοληψίας που απαιτούνται για τη διενέργεια των ελέγχων καταλοίπων φυτοφαρμάκων σε προϊόντα, εκτός από εκείνες που προβλέπονται στην οδηγία 2002/63/EK, θα καθορίζονται με τη διαδικασία του άρθρου 45 παράγραφος 2 του Κανονισμού 396/2005.

Προκειμένου να μειωθεί η πιθανότητα εσφαλμένης επιλογής η λήψη δείγματος ήταν τυχαία, ενώ ο χρόνος μεταφοράς και αποθήκευσης του δείγματος στο εργαστήριο περιορίζεται στο ελάχιστο. Όσον αφορά στη συλλογή δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή κατά τη δειγματοληψία, ώστε να αποφευχθεί η συλλογή τραυματισμένων, αλλοιωμένων ή/και προσβεβλημένων από παθογόνα δειγμάτων. Η λήψη δείγματος βάρους ενός κιλού από κάθε πάγκο παραγωγού κρίθηκε ικανοποιητική και τα συλλεγμένα δείγματα αποθηκεύτηκαν - έπειτα από ομογενοποίηση τους - σε καταψύκτη σε θερμοκρασία 18-20°C για χρονικό διάστημα δέκα ημερών, χωρίς κίνδυνο αλλοίωσης ή διάσπασης των περιεχομένων σε αυτά καταλοίπων φυτοφαρμάκων.[56]

4.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Βάσει της Οδηγίας 93/58/ΕΟΚ, όπως αυτή τροποποιήθηκε από την Οδηγία 90/642/EK σχετικά με τα τμήματα των προϊόντων στα οποία αναφέρονται οι ανώτατες περιεκτικότητες καταλοίπων φυτοφαρμάκων:

- Από τα δείγματα των εσπεριδοειδών εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν
- Από τα δείγματα των μηλοειδών και των πυρηνοκάρπων εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από την αφαίρεση του μίσχου
- Από τα δείγματα ριζωδών λαχανικών (καρότα) εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από αφαίρεση των κορυφών και του προσκολλημένου χώματος (το χώμα αφαιρείται ξεπλένοντας με καθαρό νερό ή βουρτσίζοντας ελαφρά το προϊόν)



- Από τα δείγματα βολβών λαχανικών (κρεμμύδια) εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από αφαίρεση του χρώματος και του τμήματος του φλοιού που εύκολα αποκολλάται
- Από τα δείγματα καρπών λαχανικών εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από την αφαίρεση του μίσχου
- Από τα δείγματα των φυλλωδών λαχανικών εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από την αφαίρεση των μαραμένων εξωτερικών φύλλων, της ρίζας και του προσκολλημένου χρώματος.
- Από τα δείγματα των κραμβών (λάχανα) εξετάστηκε ολόκληρο το προϊόν έπειτα από την αφαίρεση των μαραμένων εξωτερικών φύλλων, των κορυφών και του προσκολλημένου χρώματος.[78]

Η χρήση διαφορετικών τεχνικών ανάλυσης - ως αποτέλεσμα των διαφορετικών χημικών κατηγοριών-οικογενειών των προσδιοριζόμενων ουσιών - οδήγησε στην εκχύλιση των δειγμάτων με διαφορετικούς οργανικούς διαλύτες. Δοκιμάστηκαν δύο εκχυλίσσεις: 1) εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα 2) εκχύλιση με ακετόνη διχλωρομεθάνιο, και πετρελαϊκό αιθέρα.[23][38][55]

4.3.1 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΟΞΙΚΟ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Στην περίπτωση των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών η εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα γίνεται με προσθήκη στο δείγμα άνυδρου θειικού νατρίου που βοηθά στη συγκράτηση των υψηλών ποσοστών υγρασίας που περιέχουν τα εν λόγω δείγματα. Ακολουθεί διήθηση σε Buchner. Ο περιορισμένος χρόνος που δαπανάται για την επεξεργασία αποτελεί πλεονέκτημα, ενώ μειονέκτημα αποτελεί η μεγάλη κατανάλωση διαλύτη.

4.3.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΑΚΕΤΟΝΗ, ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΟ ΑΙΘΕΡΑ

Η προετοιμασία των δειγμάτων περιελάμβανε εκχύλιση του δείγματος με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο, και πετρελαϊκό αιθέρα με διαρκή ανάδευση σε λουτρό υπερήχων παρουσία άνυδρου θειικού νατρίου. Ο διαχωρισμός του διαλύματος του δείγματος πραγματοποιήθηκε με φυγοκέντριση, όπου λαμβάνεται η υπερκείμενη οργανική φάση.

4.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΤΑΥΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο προσδιορισμός των περισσότερων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων πραγματοποιήθηκε με χρήση αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό



ανιχνευτή (GC-FPD) ενώ για τον προσδιορισμό των υπολοίπων οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζο-ιμιδαζολών έγινε χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών (LC/tandemMS).

Ο απλούστερος τρόπος αναγνώρισης μιας άγνωστης χρωματογραφικής κορυφής αφορά στη σύγκριση του χρόνου κατακράτησής της (retention time) με τους αντίστοιχους χρόνους κατακράτησης προτύπων ουσιών υπό ταυτόσημες χρωματογραφικές συνθήκες, δηλαδή ο προσδιορισμός του σχετικού χρόνου ανασχέσεώς της ως προς μια ένωση αναφοράς, ο οποίος παρουσιάζει καλύτερη επαναληψιμότητα.[70][71]

Η ταύτιση, ωστόσο, των χρόνων κατακράτησης δύο ουσιών δεν εξασφαλίζει επαρκώς και τη χημική τους ταύτιση, εξαιτίας του ότι αρκετές ενώσεις δύναται να εμφανίζουν ίδιους χρόνους κατακράτησης. Ο ακριβής προσδιορισμός της ταυτότητας μιας ουσίας απαιτεί συχνά τη λήψη επιπλέον στοιχείων, όπως τη χρησιμοποίηση διαφορετικής χρωματογραφικής μεθόδου, με αλλαγή των χρωματογραφικών παραμέτρων ή τη χρησιμοποίηση φασματομετρικής ανάλυσης (π.χ. με φασματόμετρο UV, MS). [46][47]

Τον προσδιορισμό της ταυτότητας μιας ουσίας ακολουθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός της. Η συγκέντρωση της ουσίας στο δείγμα εμφανίζει αναλογική σχέση με το ύψος και την επιφάνεια της λαμβανόμενης χρωματογραφικής κορυφής. Η μέτρηση του εμβαδού της επιφάνειας της χρωματογραφικής κορυφής (μέσω της μαθηματικής ολοκλήρωσης της κορυφής) θεωρείται περισσότερο ακριβής.[42]

Στις αναλύσεις μικροποσοτήτων (trace analysis), όπως η ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, συχνά παρατηρούνται σημαντικά σφάλματα στον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων στα δείγματα κατά τη σύγκριση της απόκρισης των ανιχνευτών για το δείγμα με την απόκριση των ανιχνευτών για τα πρότυπα διαλύματα σε οργανικό διαλύτη. Το φαινόμενο αυτό έχει αποδοθεί στην επίδραση του υποστρώματος του δείγματος στην απόκριση των ανιχνευτών (matrix effect).

Μια άλλη μέθοδος που εφαρμόζεται, προκειμένου να ελεγχθεί η ακριβής επίδραση του matrix effect στην μέθοδο ενόργανης ανάλυσης, αφορά στην καμπύλη των προτύπων διαλυμάτων που παρασκευάζονται μέσα σε blank matrix (matrix match calibration). Αρχικά, πραγματοποιείται εμβολιασμός των προτύπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή της καμπύλης των προτύπων σε υποστρώματα δειγμάτων τα οποία εμφανίζονται καθαρά υπολειμμάτων (blank samples) και στη συνέχεια εξάγεται από την εξέτασή τους η



καμπύλη «matrix-matched» βαθμονόμησης. Μέσω της σύγκρισης της καμπύλης των προτύπων διαλυμάτων και της καμπύλης των «matrix-matched» διαλυμάτων, που έχουν την ίδια συγκέντρωση με τα πρότυπα διαλύματα, προσδιορίζεται η επίδραση του υποστρώματος στο χρωματογραφικό σύστημα για τα συγκεκριμένα φυτοφάρμακα.[43][64][58]

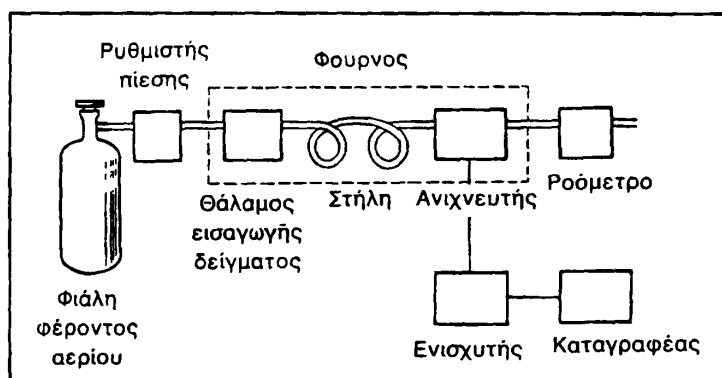
4.5 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

4.5.1 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Η χρωματογραφική ανάλυση χαρακτηρίζει μία σειρά μεθόδων διαχωρισμού μιγμάτων ανόργανων ή οργανικών ουσιών στα συστατικά τους. Ο διαχωρισμός πραγματοποιείται μέσω της κατανομής των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής.

Στην αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω της διαβίβασης των συστατικών του δείγματος - η μεταφορά συντελείται μέσω της διαρκούς διαβίβασης στο σύστημα φέροντος αερίου (κινητή φάση) - διαμέσου ειδικής αεριοχρωματογραφικής στήλης (στατική φάση). Εξαιτίας της αλληλεπίδρασης μεταξύ κινητής και στατικής φάσης η έξοδος των συστατικών του μίγματος από τη στήλη λαμβάνει χώρα σε διαφορετικούς χρόνους και με διαφορετική ταχύτητα. Βάσει της χαρακτηριστικής συμπεριφοράς των συστατικών, όσον αφορά στην κατακράτησή τους από τη στήλη, πραγματοποιείται ο διαχωρισμός τους.[22]

Στο σχήμα 4.5.1 παριστάνεται η βασική διάταξη του αεριοχρωματογραφικού συστήματος:



Σχήμα 4.5.1: Διάταξη αεριοχρωματογραφικού συστήματος.

Κύρια μέρη ενός αεριοχρωματογραφικού συστήματος, όπως φαίνεται και στο παραπάνω σχήμα, αποτελούν ο θάλαμος εισαγωγής του δείγματος (injector), ο φούρνος (oven) και η ζώνη των ανιχνευτών (detector). Εντός του φούρνου βρίσκεται η αεριοχρωματογραφική στήλη επί της οποίας πραγματοποιείται ο διαχωρισμός με τη διαβίβαση φέροντος αερίου (συνήθως αζώτου, ηλίου ή υδρογόνου).

Το διάλυμα του δείγματος εισάγεται με μικροσύριγγα και κατά την έκχυσή του στον εισαγωγέα εξαερώνεται απευθείας εξαιτίας της υψηλής θερμοκρασίας του injector, ενώ στη συνέχεια παρασυρόμενο από τη ροή του φέροντος αερίου καταλήγει στη στήλη.

Οι αεριοχρωματογραφικές στήλες είναι ελικοειδείς στήλες μικρής διαμέτρου, γυάλινες τριχοειδείς ή χαλύβδινες, αναλόγως του είδους του ανιχνευτή. Συνήθως, χρησιμοποιούνται τριχοειδείς στήλες μήκους 30 έως 60m των οποίων οι διάμετροι ποικίλουν από 0,25mm έως 0,32mm, ή 0,53mm (megabore), ενώ δύναται ανάλογα των απαιτήσεων της ανάλυσης να γίνει χρήση ακόμη λεπτότερων στηλών (narrow bore: 0,10mm). Η επίστρωση της στήλης - αφορά στο είδος και το πάχος του χρησιμοποιούμενου υμενίου (film thickness) - που θα επιλεγεί εξαρτάται κυρίως από τα συστατικά του μίγματος που επιθυμείται να προσδιοριστούν. Στον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων χρησιμοποιούνται στήλες διαφορετικής πολικότητας, οι οποίες αποτελούνται από πολυμερή υλικά με πλευρικές ομάδες (όπως: cyanopropyl, methyl, phenyl, trifluoropropyl ή cyanopropylphenyl), το είδος των οποίων και το ποσοστό υποκατάστασης καθορίζουν την πολικότητα της στατικής φάσης.[70]

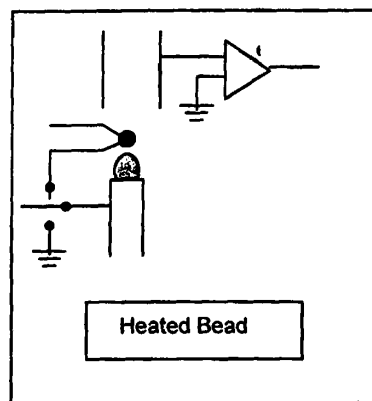
Κατά το πέρασμά του από τη στήλη κατανομής το αέριο μίγμα αλληλεπιδρά με αυτή κατά τρόπο που εξαρτάται από το υλικό επίστρωσης του υμενίου της στήλης και διαχωρίζεται στα συστατικά του. Ο διαχωρισμός επηρεάζεται σημαντικά από την θερμοκρασία του φούρνου, γεγονός που επιβάλλει τη χρήση φούρνων ακριβείας, που εξασφαλίζουν αυστηρά επαναλήψιμες συνθήκες. Ο διαχωρισμός των κλασμάτων του μίγματος καθορίζεται βάσει της πτητικότητας και της κατανομής των συστατικών στο υλικό πλήρωσης της στήλης και βάσει της ροής του φέροντος αερίου (η ρύθμιση της πίεσης και της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης ειδικών ηλεκτρονικών συστημάτων). Τα διαχωρισμένα κλάσματα, αναλόγως του χρόνου και της ταχύτητας εξόδου τους από τη στήλη, παράγουν διαφορετικά σήματα στο σύστημα ανίχνευσης. Τα σήματα αυτά ανιχνεύονται, ενισχύονται και τελικά καταγράφονται από έναν υπολογιστή, ο οποίος είναι μόνιμα συνδεδεμένος με το αεριοχρωματογραφικό σύστημα.[30][62]

4.5.1.1 ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ

Η λειτουργία του φλογοφωτομετρικού ανιχνευτή (Flame Photometric Detector, FPD) βασίζεται στη χημειοφωταύγεια, που παρατηρείται κατά την καύση των οργανικών ενώσεων σε φλόγα υδρογόνου.

Η βασική διάταξή του παριστάνεται στο σχήμα 4.5.1.1 που ακολουθεί:





Σχήμα 4.5.1.1: Διάταξη φλογοφωτομετρικού ανιχνευτή.

Το άνω τμήμα της φλόγας, που δημιουργείται κατά την καύση του υδρογόνου στο εσωτερικό του ανιχνευτή, παρακολουθείται από φωτομετρικό σύστημα και η εκπομπή της επικεντρώνεται σε έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Όταν η ένωση περιέχει θείο ή φώσφορο παράγεται δέσμη εκπομπής των στοιχείων αυτών.

Η εκλεκτικότητα του FPD αυξάνεται με τη χρήση φίλτρων. Το θείο μετράται στα 394nm και ο φώσφορος στα 526nm. Ο φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής είναι εκλεκτικός ανιχνευτής και χρησιμοποιείται ευρύτατα για την ανίχνευση οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και μιγμάτων θείου και φωσφόρου.[10][62]

4.5.2 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Η υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) είναι ευρέως διαδεδομένη αναλυτική τεχνική διαχωρισμού. Οι λόγοι της ευρύτατης παραδοχής της συγκεκριμένης τεχνικής είναι η υψηλή ευαισθησία της, η εύκολη προσαρμογή της σε ακριβείς ποσοτικούς προσδιορισμούς, η καταλληλότητά της για διαχωρισμούς μη πτητικών ή θερμικά ευαίσθητων συστατικών και η εφαρμογή της σε προσδιορισμούς ουσιών βιολογικού και διατροφικού ενδιαφέροντος, όπως τα αμινοξέα, οι πρωτεΐνες, τα φαρμακευτικά προϊόντα, τα φυτοφάρμακα και τα αντιβιοτικά.[57]

Η ανάπτυξη αναλυτικής μεθοδολογίας με χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας εμφανίζεται πολυπλοκότερη συγκριτικά με την ανάπτυξη μεθοδολογίας με αεριοχρωματογραφικό σύστημα, εξαιτίας της αλληλεπίδρασης των συστατικών του δείγματος και με τις δύο φάσεις (στατική και κινητή). Στην αέρια χρωματογραφία δεν παρατηρείται ανάλογη αλληλεπίδραση, δεδομένου ότι η αέρια φάση (φέρον αέριο) δεν μετέχει στον μηχανισμό διαχωρισμού των συστατικών του δείγματος.[59]

Η ανάπτυξη ικανοποιητικών ταχυτήτων ροής του υγρού έκλουσης επιτυγχάνεται με τη χρήση υλικών πλήρωσης αποτελούμενων από σωματίδια πολύ μικρού μεγέθους, της τάξεως των 2 έως 10μm, ενώ οι απαιτούμενες πιέσεις κυμαίνονται μεταξύ δεκάδων ή και εκατοντάδων bar. Ως συνέπεια των υψηλών πιέσεων η οργανολογία των συστημάτων υγρής χρωματογραφίας εμφανίζεται περισσότερο σύνθετη και πιο δαπανηρή συγκριτικά με την οργανολογία άλλων χρωματογραφικών συστημάτων.

Οι στήλες υγρής χρωματογραφίας κατασκευάζονται ως επί το πλείστον από σωλήνες ανοξείδωτου χάλυβα μικρής διαμέτρου. Οι συνήθεις στήλες είναι ευθύγραμμες, μήκους 10 έως 30cm. Η εσωτερική διάμετρος των στηλών κυμαίνεται από 4 έως 10mm. Σήμερα κυκλοφορούν στο εμπόριο και στήλες μικρότερου μήκους (<15cm), οι οποίες εμφανίζουν μικρότερη διάμετρο (1-4,6mm) και μικρότερο μέγεθος σωματιδίων υλικού πλήρωσης (3-5μm). Το υλικό πλήρωσης που ευρύτερα χρησιμοποιείται είναι πορώδη σωματίδια που αποτελούνται από SiO₂, αλουμίνα, συνθετικές ρητίνες πολυστυρενίου-διβινυλοβενζολίου ή άλλες ιονανταλλακτικές ρητίνες.

Πριν από την αναλυτική στήλη συχνά παρεμβάλλεται μικρή προστατευτική στήλη (guard-column) ή προστήλη (pre-column), για την απομάκρυνση των αιωρούμενων σωματιδίων, των προσμίξεων του διαλύτη και των συστατικών του δείγματος που συνδέονται μη αντιστρεπτά με τη στατική φάση. Το υλικό πλήρωσης της προστήλης ομοιάζει με το υλικό πλήρωσης της στήλης, ωστόσο το μέγεθος των σωματιδίων του υλικού πλήρωσης της προστήλης είναι συνήθως μεγαλύτερο από το μέγεθος του υλικού πλήρωσης της αναλυτικής στήλης, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πτώση πίεσης.

Τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η εφαρμογή χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης. Σε αντίθεση με τη χρωματογραφία κανονικής φάσης, το μίγμα των διαλυτών είναι περισσότερο πολικό από το υλικό πλήρωσης της στήλης. Με τη χρήση των εν λόγω συστημάτων επιτυγχάνεται ταχύτερη αποκατάσταση της ισορροπίας και μειώνεται η ποσότητα των απαιτούμενων διαλυτών.[21]

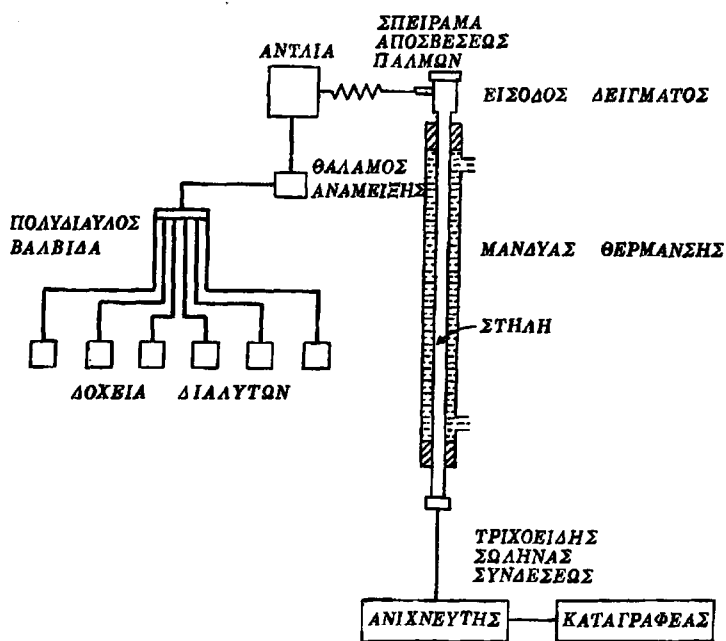
Τα λιγότερο πολικά συστατικά του δείγματος κατακρατούνται ισχυρότερα στη σχετικά μη πολική στήλη και εκλούνται αργότερα από τα πολικά. Στη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης η επιφάνεια του silica gel καλύπτεται κυρίως με αλκυλομάδες αλυσίδας 8 ή 18 ατόμων άνθρακα, οι οποίες μετατρέπουν την πολική επιφάνεια της silica σε μη πολική. Λιγότερο



συνηθισμένη είναι η δέσμευση στην επιφάνεια του silica gel πλευρικών αλυσίδων με 1, 2, 4 ή 12 άτομα άνθρακα, καθώς και η δέσμευση νιτριλομάδων (-CN) ή αζωτούχων ομάδων (-NO₂).

Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνει σύστημα απαέρωσης των διαλυτών (με χρήση αερίων όπως He ή N₂ ή με εφαρμογή κενού), μονάδα διαλυτών (συνήθως 2-4 διαλύτες), σύστημα ανάμιξης και προώθησης των διαλυτών (παλινδρομική αντλία υψηλής πίεσης), βαλβίδα έγχυσης του δείγματος συνδεδεμένη με βρόγχο πλήρωσης σταθερού όγκου (πλεονεκτεί έναντι της χρήσης μικροσύριγγας, διότι δεν διακόπτει τη ροή του εκλουστικού), μονάδα θερμοστάτησης (τύπου Peltier συνήθως) για την προστήλη και την κύρια στήλη, σωλήνες μεταφοράς και σύνδεσης, σύστημα ανίχνευσης και μονάδα καταγραφής και επεξεργασίας των αποτελεσμάτων (PC).[22][36]

Η βασική διάταξη ενός συστήματος υγρής χρωματογραφίας απεικονίζεται στο σχήμα 4.5.2, που ακολουθεί:



Σχήμα 4.5.2: Διάταξη συστήματος υγρής χρωματογραφίας.

4.5.3 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ

Η φασματομετρία μάζας (MS: Mass Spectrometry) αποτελεί μία τεχνική κατά την οποία άτομα ή μόρια ενός δείγματος ιοντίζονται, θραυσματοποιούνται και τα ιοντικά θραύσματά τους διαχωρίζονται σύμφωνα με το λόγο της μάζας προς το φορτίο τους (m/z). Χαρακτηριστικός για την οργανική ανάλυση είναι ο προσδιορισμός θετικά φορτισμένων ιόντων. Ο απλός ιοντισμός ενός μορίου περιγράφεται από την αντίδραση:

$M : \rightarrow M^+ + e^-$, και το παραγόμενο ιόν το οποίο διαθέτει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο καλείται μοριακό ιόν. Αν και η ενέργεια ιονισμού των περισσότερων οργανικών ενώσεων κυμαίνεται στην περιοχή 8-15eV, η ενέργεια που παρέχεται κατά τον ιονισμό συχνά είναι κατά πολύ υψηλότερη της ενέργειας ιονισμού με αποτέλεσμα τη θραυσματοποίηση του μοριακού ιόντος.

Οι μέθοδοι ιονισμού που κυρίως χρησιμοποιούνται στα συστήματα αέριας χρωματογραφίας είναι ο ιονισμός με ηλεκτρόνια (Electron Impact ή Electron Ionization, EI) και ο χημικός ιονισμός (Chemical Ionization, CI).

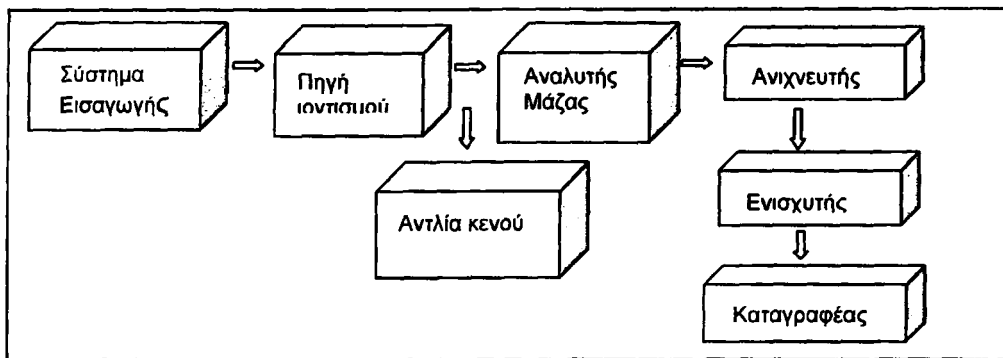
Όσον αφορά στον **ιονισμό με ηλεκτρόνια (EI)**, το δείγμα υπό μορφή αερίου ή ατμών εισάγεται στο θάλαμο ιονισμού, όπου βομβαρδίζεται από δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής κινητικής ενέργειας - η διαφορά δυναμικού που εφαρμόζεται είναι συνήθως 70eV - κάθετη στη διαδρομή του δείγματος. Η κατιονική ρίζα M^+ , που παράγεται κατά τον ιονισμό διασπάται ταχύτατα δίνοντας ποικιλία θραυσμάτων, όπως ουδέτερα μόρια (πχ. H_2O , C_2H_4 , NH_3), κατιόντα και ελεύθερες ρίζες. Λόγω της μεγάλης αστάθειας που εμφανίζουν συνήθως τα πρωτογενή αυτά θραύσματα εξαιτίας της υψηλής εσωτερικής τους ενέργειας, διασπώνται ακολούθως προς παραγωγή νέων θραυσμάτων.

Η διάσπαση κάθε ιόντος δύναται να πραγματοποιηθεί με ποικίλους τρόπους, με αποτέλεσμα τη διαμόρφωση αντίστοιχων πορειών θραυσματοποίησης, ενώ ένα ποσοστό των ιδίων θραυσμάτων δύναται να μην εμφανίσει περαιτέρω διάσπαση. Η πορεία θραυσματοποίησης ενός ιόντος εξαρτάται από την εσωτερική ενέργεια του ιόντος, τη σταθερότητά του και τις ενέργειες ενεργοποίησης των προϊόντων του. Τα κατιονικά θραύσματα που προκύπτουν κατά τη θραυσματοποίηση ευθυγραμμίζονται μέσω φακών εστίασης - με αποτέλεσμα το σχηματισμό δέσμης ιόντων, επιταχύνονται, υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, και ακολούθως εκτρέπονται σε μαγνητικό πεδίο, όπου διαχωρίζονται αναλόγως του λόγου m/z . Το τελικό φάσμα μάζας που λαμβάνεται εξαρτάται από τη μέθοδο ιονισμού που ακολουθείται.



Κατά το **χημικό ιονισμό** ο ιοντισμός των μορίων πραγματοποιείται μέσω διαβίβασης αερίου στην πηγή ιονισμού, όπου τα ιονισμένα μόρια του αερίου που παράγονται αλληλεπιδρούν με τα μόρια του εισαγόμενου δείγματος και τα ιονίζουν. Κατά τη μέθοδο του χημικού ιονισμού παρατηρείται κατά κανόνα μικρότερης έκτασης θραυσματοποίηση συγκριτικά με τη μέθοδο ιοντισμού με δέσμη ηλεκτρονίων.[31]

Η βασική συνδεσμολογία του φασματογράφου μάζας, που απεικονίζεται στο Σχήμα 4.5.3, αποτελείται από το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, την πηγή ιοντισμού, τον αναλυτή μάζας, τον ανιχνευτή των ιόντων, τον ενισχυτή του σήματος και το σύστημα επεξεργασίας των δεδομένων:



Σχήμα 4.5.3: Διάταξη φασματογράφου μάζας.

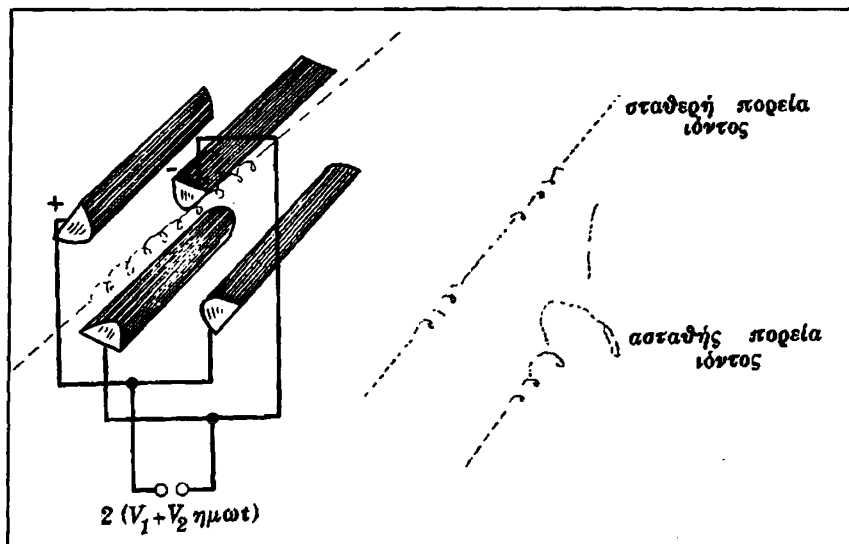
4.5.3.1 ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΣ ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΜΑΖΑΣ

Ο τετραπολικός αναλυτής μάζας (quadrupole mass analyzer), ή τετραπολικό φίλτρο μάζας, παρέχει τη δυνατότητα διαχωρισμού των προϊόντων της θραυσματοποίησης βάσει του λόγου m/z , απουσία μαγνητικού πεδίου. Ο τετραπολικός αναλυτής αποτελείται από τέσσερις, στοιχιζόμενες παράλληλα, μεταλλικές ράβδους τοποθετημένες κατάλληλα ώστε η παραγόμενη δέσμη θραυσμάτων να διέρχεται από το κέντρο της διάταξης (Σχήμα 4.5.3.2). Η διάμετρος της κάθε ράβδου είναι περίπου 6mm και το μήκος της κυμαίνεται περί τα 10cm. Οι μεταλλικές ράβδοι ενώνονται διαγωνίως ηλεκτρικά μεταξύ τους και κάθε ζεύγος συνδέεται με τον αντίθετο πόλο πηγής συνεχούς ρεύματος και με ταλαντωτή ραδιοσυχνοτήτων, μέσω του οποίου εφαρμόζεται εναλλασσόμενο δυναμικό.

Κατά τη διαβίβασή τους στο σύστημα διαχωρισμού τα θραύσματα ταλαντώνονται κατά μήκος του παράλληλου του τετραπόλου νοητού άξονα, με μέγιστο εύρος ταλάντωσης μικρότερο της αποστάσεως των μεταλλικών ράβδων. Βάσει των παραμέτρων του εναλλασσόμενου δυναμικού, της έντασης του συνεχούς ρεύματος και του εύρους του πεδίου

καθορίζεται ο λόγος m/z των θραυσμάτων, που τελικώς θα εξέλθουν από το φίλτρο μάζας. Τα θραύσματα με λόγους εκτός του εύρους πεδίου m/z προσκρούουν στις μεταλλικές ράβδους, χάνουν το φορτίο τους και απομακρύνονται από το σύστημα με εφαρμογή ισχυρού κενού.[61]

Στο Σχήμα 4.5.3.1 που ακολουθεί απεικονίζεται η διάταξη του τετραπολικού αναλυτή μάζας και παριστάνονται οι πιθανές πορείες των ιόντων:



Σχήμα 4.5.3.1: Τετραπολικός αναλυτής μάζας.

4.5.3.2 ΛΗΨΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΜΑΖΑΣ

Οι ανιχνευτές φασματομετρίας μαζών λειτουργούν με δυο κύριες μορφές, η επιλογή μεταξύ των οποίων καθορίζεται από την φύση και τον αντικειμενικό σκοπό της ανάλυσης. Αυτές είναι η ολική σάρωση (Full Scan) και ο έλεγχος επιλεγμένων ιόντων (Selected Ion Monitoring, SIM). Στη δίδυμη-διαδοχική φασματομετρία μαζών δύναται να εφαρμοστεί και ο έλεγχος επιλεγμένων αντιδράσεων (Selected Reaction Monitoring, SRM).

- **Ολική σάρωση (Full Scan):** Κατά τη μέθοδο αυτή εξάγεται ένα ολόκληρο φάσμα μάζας για κάθε αναλύτη μέσω της σάρωσης της περιοχής μαζών που ενδιαφέρει με ή χωρίς διακοπή σε δεδομένο χρονικό διάστημα σάρωσης. Η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό και την επιβεβαίωση της ταυτότητας αγνώστων ουσιών σε ένα μίγμα ενώσεων. Η μέθοδος της ολικής σάρωσης δίνει περισσότερες ποιοτικές πληροφορίες για έναν αναλύτη (χημική δομή/ταυτότητα) από τη μέθοδο ελέγχου επιλεγμένων ιόντων SIM. Το βασικό μειονέκτημα έγκειται στο ότι η ολική σάρωση δεν εμφανίζει την ευαισθησία που επιτυγχάνεται με τις άλλες δυο μεθόδους.

- **Παρακολούθηση επιλεγμένων ιόντων (Selected Ion Monitoring, SIM):** Κατά την τεχνική αυτή, παρακολουθούνται συγκεκριμένα ιόντα και γι' αυτό χρησιμοποιείται για ανίχνευση μικρών ποσοτήτων της προς προσδιορισμό ουσίας σε ένα μίγμα, όταν το φάσμα μάζας της ουσίας είναι γνωστό. Η SIM είναι χρήσιμη για την ανάλυση ουσιών που απαντώνται σε ίχνη και για τη γρήγορη παρακολούθηση μεγάλου αριθμού δειγμάτων της προς προσδιορισμό ουσίας. Τα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και η μεγαλύτερη ταχύτητα που εμφανίζει η SIM σε σχέση με την ολική σάρωση οφείλεται ακριβώς στον έλεγχο και την παρατήρηση ενός πολύ μικρού αριθμού ιόντων, γι' αυτό και χρησιμοποιείται περισσότερο στην ποσοτική ανάλυση.
- **Παρακολούθηση επιλεγμένων αντιδράσεων (Selected Reaction Monitoring, SRM):** Κατά την τεχνική αυτή παρακολουθούνται συγκεκριμένες αντιδράσεις θραυσματοποίησης ενός ιόντος (κυρίως του μοριακού ιόντος),. Η SRM ελέγχει έναν περιορισμένο αριθμό ζευγών αρχικού και τελικού ιόντος (parent/product-ion pairs). Συνήθως δύο αντιδράσεις για κάθε ουσία αρκούν για την ταυτοποίησή της. Η τεχνική της SRM είναι ιδιαίτερα εκλεκτική και γι' αυτό χρησιμοποιείται ευρέως στις αναλύσεις μικροποσοτήτων (trace analysis) (συντά απαιτείται ο προσδιορισμός ιδιαίτερα χαμηλών επιπέδων συγκέντρωσης, πχ: της τάξης των ppb ή και ppt).[29][51]

4.5.4 ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ (ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΗΛΕΚΤΡΟΨΕΚΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΡΙΠΛΟΥ ΤΕΤΡΑΠΟΛΙΚΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΜΑΖΩΝ)

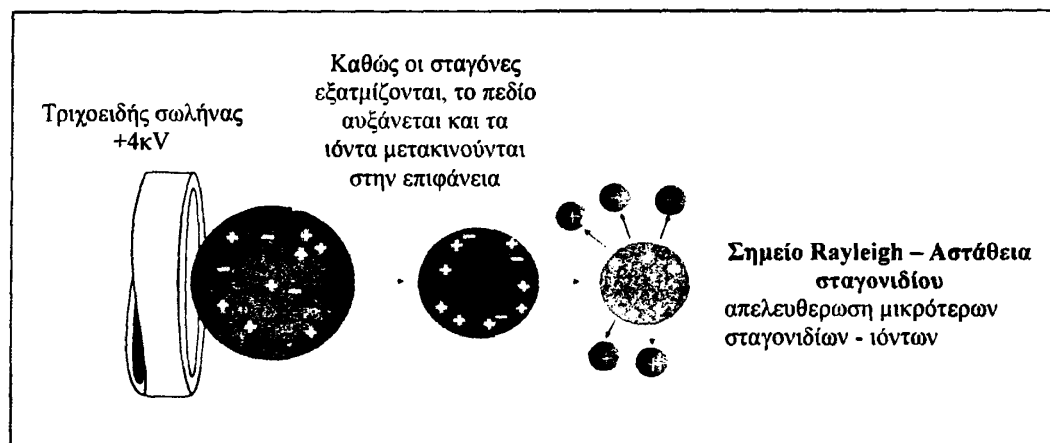
Στα σύγχρονα συστήματα υγρής χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας ο ιονισμός των ενώσεων πραγματοποιείται μέσω ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization, ESI) ή/και χημικού ιονισμού (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI) υπό ατμοσφαιρική πίεση. Συχνότερα χρησιμοποιείται ο Electrospray Ionization, ESI . Ηλεκτρονέφος παράγεται κατά την εφαρμογή ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου σε υγρό που διέρχεται διαμέσου τριχοειδούς σωλήνα με μικρή ροή. Το έκλουσμα της χρωματογραφικής στήλης διέρχεται (υπό ατμοσφαιρική πίεση) διαμέσου τριχοειδούς σωλήνα (μεταλλικού ή silica) στη βελόνα ιονισμού (ESI needle), στην οποία εφαρμόζεται υψηλό δυναμικό της τάξης των 3-4 kV. Η βελόνα ιονισμού ψεκάζει το διάλυμα του δείγματος δημιουργώντας πλήθος φορτισμένων σταγόνων.

Η πυκνότητα ηλεκτρικού φορτίου στην επιφάνεια των σταγόνων αυξάνεται σταδιακά κατά την εξάτμιση του διαλύτη των σταγόνων μέσω της διαβίβασης ρεύματος N_2 . Η πυκνότητα ηλεκτρικού φορτίου αυξάνεται μέχρι ένα κρίσιμο σημείο (Rayleigh stability limit), στο οποίο



οι απωθητικές δυνάμεις εξισώνονται με τις δυνάμεις συνοχής. Η υπέρβαση του stability limit συνεπάγεται τη διάσπαση των σταγόνων και το σχηματισμό νέων μικρότερων σταγονιδίων. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται προκειμένου να εμφανιστεί πληθώρα μικρών σταγονιδίων (droplets). Τα μικρά και υψηλά φορτισμένα σταγονίδια στη συνέχεια, εξαιτίας των πανίσχυρων απωθητικών δυνάμεων που αναπτύσσονται μετατρέπονται σε μοριακά ιόντα σε αέρια φάση, τα οποία εισέρχονται στο φασματόμετρο μαζών μέσω του ηλεκτρικού πεδίου. Με τη βοήθεια φακών εστίασης (lenses) δημιουργείται δέσμη ιόντων η οποία εισέρχεται στον αναλυτή μαζών.[27]

Στο σχήμα 4.5.4.α παριστάνονται τα στάδια που λαμβάνουν χώρα κατά τον ηλεκτροψεκασμό:[44]



Σχήμα 4.5.4.α: Ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI).

Η μέθοδος ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό ESI είναι ήπια τεχνική ιονισμού και παρέχει φάσματα που συνήθως αποτελούνται από μοριακά ή ψευδομοριακά ιόντα. Ενώσεις, όπως π.χ. οι αμίνες, πρωτονιώνονται και φορτίζονται θετικά $[M+H]^+$ και ο παρακολουθούμενος λόγος m/z είναι $M+1$, όπου M το μοριακό βάρος της ένωσης. Αντίθετα, τα οξέα αποπρωτονιώνονται και φορτίζονται αρνητικά $[M-H]^-$ και ο λόγος είναι $M-1$. Τα ιόντα προϋπάρχουν στο διάλυμα καθώς οι κινητές φάσεις της υγρής χρωματογραφικής ανάλυσης εμπεριέχουν είτε οξέα (π.χ. φορμικό οξύ) που δίνουν (H^+) ή βάσεις (π.χ. NH_3). Το σύστημα δύναται να λειτουργεί σε positive ή negative mode αναλόγως των ενώσεων που πρόκειται να προσδιοριστούν.[28]

Η πορεία του ESI είναι σύνθετη και επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους. Η σύνθεση και η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης που χρησιμοποιείται για τον υγροχρωματογραφικό διαχωρισμό επηρεάζουν σημαντικά την παραγωγή των ιόντων, καθώς ο ιονισμός εξαρτάται από την κινητή φάση. Η αποδιαλύτωση των σταγόνων και ο ιονισμός των ουσιών ενισχύεται

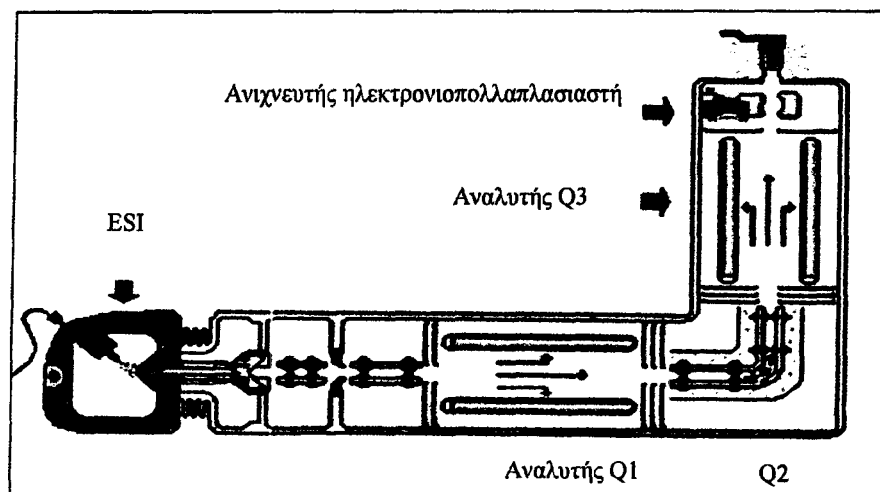
με τον αρχικό σχηματισμό μικρών σταγόνων. Γι' αυτό, η κινητή φάση δεν πρέπει να έχει υψηλή επιφανειακή τάση και μεγάλο ιξώδες (πχ. καθαρό νερό). Η συγκέντρωση των ρυθμιστικών διαλυμάτων επίσης επηρεάζει το μέγεθος των σταγόνων. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των ρυθμιστικών διαλυμάτων τόσο μικρότερες είναι οι σχηματιζόμενες σταγόνες. Σε υψηλές, ωστόσο, συγκεντρώσεις ρυθμιστικών ($>10^{-3}M$) επηρεάζεται η ικανότητα ιονισμού και η σχέση της απόκρισης ανιχνευτή και της συγκέντρωσης παύει να είναι γραμμική. Τα ρυθμιστικά διαλύματα πρέπει να χαρακτηρίζονται από υψηλή πτητικότητα και γι' αυτό συχνά χρησιμοποιούνται το οξικό οξύ, το φορμικό οξύ, το υδροξείδιο αμμωνίου, το οξικό αμμώνιο ή το φορμικό αμμώνιο, που είναι πτητικές ενώσεις.

Το ESI είναι επιρρεπές σε φαινόμενα συναγωνισμού και καταστολής. Όλα τα πολικά και ιοντικά χημικά είδη που βρίσκονται στο αερόλυμα, είτε προέρχονται από την προσδιοριζόμενη ουσία είτε από ρυθμιστικά διαλύματα και τροποποιητές, είναι εν δυνάμει ικανά να ιονιστούν. Όταν υπάρχει περίσσεια ηλεκτρολυτών, υπάρχει συναγωνισμός για την απόκτηση φορτίου. Η ικανότητα ιονισμού της μελετώμενης ουσίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση των υπόλοιπων ειδών και από τη σχετική ικανότητα του καθενός από αυτά να μεταβούν στην αέρια φάση.[26]

Στην περίπτωση της δίδυμης διαδοχικής φασματομετρίας μαζών (tandemMS) η διάταξη του φασματομέτρου μάζας περιλαμβάνει τρία τετράπολα. Τα μοριακά ιόντα που παράγονται κατά τον ηλεκτροψεκασμό εισέρχονται στο πρώτο τετράπολο Q1 (αναλυτής μαζών αρχικών ιόντων), το οποίο μεταφέρει ιόντα ενός επιλεγμένου m/z . Τα αρχικά ιόντα (parent ions) που επιλέγονται εισέρχονται στο δεύτερο τετράπολο Q2, όπου γίνεται η θραυσματοποίηση παρουσία αερίου (συνήθως αργού ή αζώτου). Τα παράγωγα ιόντα (product ions) σχηματίζονται βάσει της ρύθμισης των συνθηκών της αντίδρασης θραυσματοποίησης (ρύθμιση ενέργειας και πίεσης: collision energy, pressure). Στη συνέχεια, τα παραγόμενα θραύσματα εισέρχονται στο τρίτο τετράπολο Q3 (αναλυτής μαζών τελικών ιόντων) όπου πραγματοποιείται το δεύτερο στάδιο ανάλυσης μαζών. Στο φάσμα μάζας που τελικώς λαμβάνεται αποτυπώνονται οι σχετικές αφθονίες των ιόντων που προέκυψαν από τη θραυσματοποίηση των αρχικά επιλεγμένων ιόντων.[60]

Η βασική διάταξη του τετραπολικού αναλυτή μάζας, που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των καρβαμιδικών ενώσεων στα δείγματα (TSQ: Triple Stage Quadrupole) παριστάνεται στο σχήμα 4.5.4.β:[45]





Σχήμα 4.5.4.β: Διάταξη τριτολικού ανιχνευτή μάζας

DocuColor 2240

Banner Sheet

Date/Time : 27/02/2008 10:43 AM

User Name :

KLekka\RIG-TTY

File Name :

Start Page



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

5.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Οι μέθοδοι ανάλυσης που εφαρμόζονται για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων ποικίλουν ανάλογα με την χημική ομάδα των ουσιών που πρόκειται να αναλυθούν. Όπως ήδη αναφέρθηκε, εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των ουσιών που συνήθως προσδιορίζονται, έχει επικρατήσει η ανάπτυξη και εφαρμογή από τα αναλυτικά εργαστήρια πολυ-υπολειμματικών μεθόδων (multiresidue methods) προσδιορισμού. Η εξαγωγή των φυτοφαρμάκων επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης οργανικών διαλυτών κατάλληλης πολικότητας. Για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών που συλλέχθηκαν, όπως ήδη αναφέρθηκε χρησιμοποιήθηκαν δύο εκχυλίσσεις, που περιελάμβαναν: α) εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα β) εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

5.1.1 ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Κατά την εκχύλιση για την απομόνωση των προσδιοριζόμενων ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν οργανικοί διαλύτες κατάλληλης πολικότητας, το συλλεγόμενο έκλουσμα εξατμίστηκε σε συσκευή ταχείας απόσταξης κενού (Rotary Evaporator) και στη συνέχεια αναδιαλύθηκε σε ορισμένο όγκο οργανικού διαλύτη. Η συγκράτηση της υδατικής φάσης έγινε με την προσθήκη σε αυτά άνυδρου θεικού νατρίου. Ακολούθησε χρωματογραφικός - φασματομετρικός προσδιορισμός της ταυτότητας και ποσότητας των υπολειμμάτων των βενζο-ιμιδαζολών, των καρβαμιδικών και μερικών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στο σύστημα υγρής χρωματογραφίας με συζευγμένη χρωματογραφία μαζών LC-ESI-MS-MS, εξοπλισμένο με σύστημα τριών τετραπολικών ανιχνευτών μαζών (QqQ)-MS/MS με δυνατότητα παραγωγής ιόντων με ηλεκτροψεκασμό (electro spray ionization - ESI). Οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκχύλιση ήταν ο οξικός αιθυλεστέρας, ενώ για την παραλαβή του τελικού εκχυλίσματος μετά την εξάτμιση χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη. Τα διαλύματα των δειγμάτων που παρελήφθησαν αραιώθηκαν (αραίωση 1/5) σε υπερκάθαρο νερό, προτού εισαχθούν για ανάλυση στο σύστημα LC-ESI-MS-MS. Για τον προσδιορισμό των υπολοίπων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή (GC-FPD). Προκειμένου να εξασφαλιστεί η αξιοπιστία των εξαγόμενων αποτελεσμάτων όλες οι πρότυπες ουσίες των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, καθώς και τα δείγματα που εμφανίστηκαν θετικά στις ουσίες αυτές ταυτοποιήθηκαν και από δεύτερη στήλη αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή.



Η δεύτερη εκχύλιση πραγματοποιήθηκε παρουσία άνυδρου θειικού νατρίου και περιλάμβανε εκχύλιση του δείγματος με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο, και πετρελαϊκό αιθέρα και ανάδευση σε λουτρό υπερήχων, ενώ ο τελικός διαχωρισμός του διαλύματος του δείγματος έγινε με φυγοκέντριση. Η υπερκείμενη φάση που συλλέχθηκε εξατμίστηκε σε συσκευή ταχείας απόσταξης κενού (Rotary Evaporator) και στη συνέχεια ακολούθησε αναδιάλυση σε οξικό αιθυλεστέρα για τα δείγματα που εξετάστηκαν από το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και σε μεθανόλη για τα δείγματα που εξετάστηκαν από το σύστημα της υγρής χρωματογραφίας με συζευγμένη χρωματογραφία μαζών (LC-ESI-MS-MS). Στα διαλύματα των δειγμάτων που εξετάστηκαν από το σύστημα LC-ESI-MS-MS έγινε αραιώση 1/5 σε υπερκάθαρο νερό, προτού εισαχθούν για ανάλυση στο σύστημα.[50][75]

5.1.2 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ο μεγάλος αριθμός υποστρωμάτων οδήγησε στην ομαδοποίηση των υποστρωμάτων των δειγμάτων σε οκτώ κατηγορίες αντιπροσωπευτικών υποστρωμάτων. Η ομαδοποίηση βασίστηκε στην περιεκτικότητα των υποστρωμάτων σε σάκχαρα και ύδωρ και κυρίως στο pH των δειγμάτων, χαρακτηριστικά που σε αρκετές περιπτώσεις συμβαδίζουν με τη συστηματική ταξινόμηση των φρούτων και λαχανικών.[54][19]

Στον Πίνακα 5.1.2 που ακολουθεί καταγράφονται οι έξι κατηγορίες αντιπροσωπευτικών υποστρωμάτων που επιλέχθηκαν και τα αντίστοιχα εύρη pH για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα:

	Εσπεριδοειδή	Φυλλώδη λαχανικά, Κράμβες	Βολβοί, Ρίζες	Γιγαρτόκαρπα	Πυρηνόκαρπα	Καρποί λαχανικών
	πορτοκάλι μανταρίνι	λάχανο σπανάκι μαρούλι	κρεμμύδι καρότο	μήλο αχλάδι	ροδάκινο βερίκοκο νεκταρίνι κεράσι	ντομάτα πιπεριά αγγούρι μελιτζάνα κολοκύθι
pH	≤ 4,0	6 – 7,5	5,2 – 5,5	4,1 – 4,7	≤ 3,8	4,0 – 5,5

Πίνακας 5.1.2: Αντιπροσωπευτικά υποστρώματα για τα εξεταζόμενα δείγματα

Προκειμένου να ελεγχθεί η επίδραση κάθε αντιπροσωπευτικού υποστρώματος δείγματος (matrix effect) στην ανάλυση παρασκευάστηκαν σειρές εμβολιασμένων αντιπροσωπευτικών δειγμάτων (spiked samples) δύο επιπέδων συγκέντρωσης στα οποία εφαρμόστηκαν και οι



δύο τρόποι εκχύλισης. Ο έλεγχος της απόκρισης της χρησιμοποιούμενης μεθόδου για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα βασίστηκε στη σύγκριση των αποτελεσμάτων της εξέτασης των εμβολιασμένων δειγμάτων με τα αποτελέσματα της εξέτασης προτύπων διαλυμάτων αντίστοιχων επιπέδων συγκέντρωσης.[77]

5.2 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Το πειραματικό σκέλος της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Γενικού Χημείου Του Κράτους. Στη συνέχεια, αναφέρονται τα αντιδραστήρια και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν.

5.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Οξικός αιθυλεστέρας ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) της εταιρίας LABSCAN
- Ακετονιτρίλιο (CH_3CN) της εταιρίας LABSCAN
- Ακετόνη (CH_3COCH_3) της εταιρίας LABSCAN
- Διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2) της εταιρίας LABSCAN
- Πετρελαϊκός αιθέρας (40%-60%) της εταιρίας LABSCAN
- Άνδρο θειικό νάτριο (Na_2SO_4) της εταιρίας Sigma
- Μεθανόλη (CH_3OH) pesticide grade της εταιρείας LABSCAN
- Φορμικό οξύ (HCOOH) της εταιρίας Sigma
- Ακετονιτρίλιο (CH_3CN) Lichrosolv της εταιρείας Merck (καθαρότητας 99,9%)
- Νερό υψηλής καθαρότητας, από συσκευή υπερκάθαρου ύδατος ειδικής αντίστασης 18,2 +/- 0,2 MΩ.cm της εταιρείας Millipore
- Πρότυπες ουσίες των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων που προσδιορίστηκαν της εταιρίας Dr. Ehrenstorfer GmbH, Metrolab, Laboratory products & Services της υψηλότερης δυνατής καθαρότητας κατά περίπτωση

➤ Πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης (stock solutions)

Παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα παρακαταθήκης (stock solutions) συγκέντρωσης 200mg/L στα οποία περιέχονταν οι πρότυπες ουσίες των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που προσδιορίστηκαν από το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή (FPD). Η επιλογή των προτύπων ουσιών για κάθε μίγμα προτύπων ήταν τέτοια, ώστε να μην παρατηρείται αλληλοεπικάλυψη των κορυφών των προτύπων ουσιών στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα ως αποτέλεσμα της μικρής διαφοράς των χρόνων κατακράτησής τους. Στον Πίνακα 5.2.1α που ακολουθεί καταγράφονται οι πρότυπες ουσίες κάθε προτύπου διαλύματος παρακαταθήκης:

Μίγματα προτύπων ουσιών των διαλυμάτων παρακαταθήκης που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στο GC-FPD	
Μίγμα Νο1	Μίγμα Νο2
Dichlorvos	Diazinon
Methacrifos	Chlorpyrifos
Etrimfos	Chlorpyrifos-methyl
Pirimiphos-methyl	Parathion
Malathion	Dimethoate
Fenitrothion	Methidathion
Triazophos	

Πίνακας 5.2.1.α: Μίγματα προτύπων ουσιών των διαλυμάτων παρακαταθήκης

Για τις πρότυπες ουσίες των βενζοϊμιδαζολών, των καρβαμιδικών και των υπολοίπων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που προσδιορίστηκαν από το σύστημα της υγρής χρωματογραφίας με συζευγμένη χρωματογραφία μαζών παρασκευάστηκαν μονήρη διάλυματα παρακαταθήκης συγκέντρωσης 100-600mg/L. Όλα τα πρότυπα διαλύματα διατηρήθηκαν σε σκουρόχρωμες φιάλες υπό ψύξη στους -20°C, χωρίς κίνδυνο διάσπασης.[24]

➤ Διαλύματα εργασίας (working solutions)

Από το διάλυμα παρακαταθήκης συγκέντρωσης 200mg/L παρασκευάστηκε διάλυμα (μίγμα) εργασίας (working solution) συγκέντρωσης 8mg/L (αραίωση 1/25 σε οξικό αιθυλεστέρα) και στη συνέχεια από αυτό με διαδοχικές αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα υπόλοιπα διαλύματα εργασίας που χρησιμοποιήθηκαν για το σύστημα GC-FPD. Τα διαλύματα παρακαταθήκης των προτύπων ουσιών που ταυτοποιήθηκαν στο LC-MS-MS αναμίχθηκαν και αραιώθηκαν

κατάλληλα προκειμένου να παρασκευαστεί πρότυπο διάλυμα των προς ανάλυση ενώσεων συγκέντρωσης 10mg/L. Από το πρότυπο των 10mg/L με διαδοχική αραιώση 1/10 παρασκευάστηκε διάλυμα εργασίας συγκέντρωσης 1mg/L και στη συνέχεια από αυτό με διαδοχικές αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα υπόλοιπα διαλύματα εργασίας που χρησιμοποιήθηκαν. Τα διαλύματα εργασίας διατηρήθηκαν σε σκουρόχρωμες φιάλες, για χρονικό διάστημα δύο μηνών υπό ψύξη στους -20°C, χωρίς κίνδυνο διάσπασης.

Στους Πίνακες 5.2.1.β και 5.2.1.γ που ακολουθούν καταγράφονται τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στο σύστημα της αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και για τον προσδιορισμό των βενζοϊμιδαζολών, των καρβαμιδικών και των υπολοίπων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στο σύστημα της υγρής χρωματογραφίας με συζευγμένη χρωματογραφία μαζών:

Πρότυπα διαλύματα εργασίας που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στο GC-FPD				
8mg/L	1.28mg/L	0.512mg/L	0.205mg/L	0.082mg/L
διαδοχικές αραιώσεις σε οξικό αιθυλεστέρα	1/2.5	1/2.5	1/2.5	1/2.5

Πίνακας 5.2.1.β: Πρότυπα διαλύματα εργασίας για το GC-FPD

Πρότυπα διαλύματα εργασίας που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών και των καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων στο LC/MS/MS									
1 mg/L	0.2 mg/L	0.1 mg/L	0.05 mg/L	0.02 mg/L	0.01 mg/L	0.005 mg/L	0.002 mg/L	0.001 mg/L	0.0005 mg/L
διαλύτης μεθανόλη	αραίωση 1/5	διαδοχικές αραιώσεις 1/2							

Πίνακας 5.2.1.γ: Πρότυπα διαλύματα εργασίας για το LC/MS/MS

5.2.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

- Υάλινοι ογκομετρικοί κύλινδροι των 1000 mL, 50 mL και 10mL
- Ογκομετρικές φιάλες A grade των 50mL, 25mL, 10mL και 5mL
- Υάλινα φιαλίδια (vials) των 2mL
- Μικροπιπέττες διακριβωμένες των 200μL, 100μL και 50μL με τριχοειδή υάλινα ακροφύσια
- pH-μετρικός χάρτης εύρους 1-5



- Υάλινες πιπέττες Pasteur
- Σιφόνια των 1 mL, 2 mL και 5 mL
- Ηθμός για διήθηση (glass fiber filter-GF/F 0,45 μ m) της εταιρείας Whatman
- Σύριγγες του 1 mL
- Σφαιρικές φιάλες των 250ml με εσφυρισμένο πώμα
- Συσκευή διήθησης Buchner
- Φίλτρα διήθησης PVDF Millex 0,22 μ m της Millipore για την υγρή χρωματογραφία

5.2.3 ΣΥΣΚΕΥΕΣ

- Ομογενοποιητής (blender)
- Αναλυτικός ζυγός τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (ακρίβειας 0,0001g)
- Αναλυτικός ζυγός δύο δεκαδικών ψηφίων (ακρίβειας 0.01g)
- Σπάτουλες ζύγισης
- Φυγόκεντρος 2000στροφών/min
- Βαθμονομημένοι πλαστικοί περιέκτες χωρητικότητας 50ml
- Λουτρό υπερήχων
- Αντλία κενού
- Συσκευή ταχείας απόσταξης κενού (Rotary Evaporator) με θερμοστατούμενο υδατόλουτρο

5.2.4 ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ (GC-FPD)

- Αέριος χρωματογράφος μοντέλο MEGA 2 Series 8530 (Fisons), με ανιχνευτή FPD, εισαγωγέα δείγματος split/splitless και αυτόματο δειγματολήπτη A200S, συνδεδεμένος με PC εφοδιασμένο με το λογισμικό πρόγραμμα CromCard, για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Η στήλη ήταν τύπου J&W DB-1701, στατικής φάσης: 14% cyanopropyl-phenyl, 86% dimethylpolysiloxane, μήκους 30m, εσωτερικής διαμέτρου 0.53mm και πάχους υμενίου (film) 1 μ m. Ο όγκος του δείγματος (injection volume) ήταν 1 μ l σε splitless mode.
- Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή FPD, συνδεδεμένος με PC εφοδιασμένο με λογισμικό πρόγραμμα για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Η στήλη του ανιχνευτή ήταν τύπου DB-SI με μήκος 30m, εσωτερική διάμετρο 0.32mm και πάχος υμενίου 0.25mm. Ο όγκος του δείγματος (injection volume) ήταν 1 μ l σε splitless mode.

Τα αεριοχρωματογραφικά συστήματα περιελάμβαναν ακόμη:

- Προσωπικό υπολογιστή PC486, με λογισμικό ChemStation για τη λήψη, επεξεργασία και αποθήκευση των δεδομένων



- Εκτυπωτή της Hewlett-Packard
- Οβίδες αερίων: He: φέρον αέριο (1.19 ml/min), H₂: καύσιμο αέριο (4 ml/min), Συνθετικό αέρα για την καύση (120 ml/min), N₂: βοηθητικό αέριο (30 ml/min).

Ο αέριος χρωματογράφος μοντέλο MEGA 2 Series 8530 (Fisons) χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα δείγματα των νωπών φρούτων και λαχανικών, ενώ ο άλλος αέριος χρωματογράφος χρησιμοποιήθηκε μόνο για την ταυτοποίηση των προσδιοριζόμενων ενώσεων στα δείγματα.

Στους Πίνακες 5.2.4.α και 5.4.2.β που ακολουθούν καταγράφονται τα θερμοκρασιακά προγράμματα που εφαρμόστηκαν στα δύο αεριοχρωματογραφικά συστήματα:[75][76]

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα του αερίου χρωματογράφου με φλογόφωτομετρικό ανιχνευτή, που χρησιμοποιήθηκε για ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα (MEGA 2 Series 8530 (Fisons))	Τιμές
Αρχική θερμοκρασία (°C) / χρόνος παραμονής (min)	100/1
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / (min)	35
1 ^η θερμοκρασιακή βαθμίδα (°C) / χρόνος παραμονής (min)	140/0
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / min	5
2 ^η θερμοκρασιακή βαθμίδα (°C) / χρόνος παραμονής (min)	220/0
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / min	10
Τελική θερμοκρασία (°C) / χρόνος παραμονής (min)	255/25
Θερμοκρασία εισόδου (°C)	250

Πίνακας 5.2.4.α: Θερμοκρασιακό πρόγραμμα GC-FPD που χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα.

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα του αερίου χρωματογράφου με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή, που χρησιμοποιήθηκε μόνο για ταυτοποίηση των φυτοφαρμάκων στα δείγματα	Τιμές
Αρχική θερμοκρασία (°C) / χρόνος παραμονής (min)	100/1
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / min	30
1 ^η θερμοκρασιακή βαθμίδα (°C) / χρόνος παραμονής (min)	150/2
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / min	3
2 ^η θερμοκρασιακή βαθμίδα (°C) / χρόνος παραμονής (min)	205/0
Ρυθμός ανόδου θερμοκρασίας (°C) / min	2
Τελική θερμοκρασία (°C) / χρόνος παραμονής (min)	260/1
Θερμοκρασία εισόδου (°C)	250
Θερμοκρασία ανιχνευτή (°C)	280

Πίνακας 5.2.4.β: Θερμοκρασιακό πρόγραμμα GC-FPD που χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση των φυτοφαρμάκων στα δείγματα.

5.2.5 ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΗ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ (LC/MS/MS)

- Υγρός χρωματογράφος LC (Surveyor της εταιρείας Thermo Finnigan) με αντλία (Finnigan Surveyor LC Pump) βαθμιδωτής έκλουσης τεσσάρων διαλυτών και με σύστημα απαέρωσης υπό κενό.

Ο διαχωρισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε με στήλη υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης XTerra MS C₁₈ διαστάσεων 2.1 x 150mm x 3,5μm (μήκος x εσωτερική διάμετρος x πάχος στατικής φάσης) και προστήλη Guard column XTerra MS C₁₈ διαστάσεων 2.1 x 10mm x 3,5μm της εταιρείας Waters USA.

Για την εισαγωγή του δείγματος χρησιμοποιήθηκε αυτόματος δειγματολήπτης Surveyor-AS της εταιρείας ThermoFinnigan.[45]



Εικόνα 5.2.5.α: Υγρός χρωματογράφος Finnigan Surveyor

- Φασματόμετρο μαζών (TSQ Quantum Ultra της εταιρείας Thermo Finnigan):
 - ο Με σύστημα τριών τετραπολικών ανιχνευτών μαζών (triple stage quadrupole, QqQ), με δυνατότητα λήψης φασμάτων ολικής σάρωσης (full scan), επιλεγμένων ιόντων (selected ion monitoring-SIM) και επιλεγμένων αντιδράσεων (selected reaction monitoring-SRM), αποκλειόμενων από τις συγκρούσεις των μοριακών ιόντων $[M+H]^+/[M-H]^-$ με άτομα αργού (Ar) υπό συνθήκες ελεγχόμενης πίεσης (collision pressure) για ορισμένες ενέργειες (collision energy).

Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την υγρή χρωματογραφία ήταν:

- Όγκος εισαγωγής δείγματος: 20 μ L
- Κινητή φάση A: 0,1% φορμικό οξύ σε νερό
- Κινητή φάση B: 0.1% φορμικό οξύ σε ακετονιτρίλιο
- Ροή κινητής φάσης: 0.2 mL/min

Στον Πίνακα 5.2.5 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά ανάμιξης των κινητών φάσεων που χρησιμοποιήθηκαν στη βαθμιδωτή έκλυση (gradient) των ανωτέρω κινητών φάσεων:

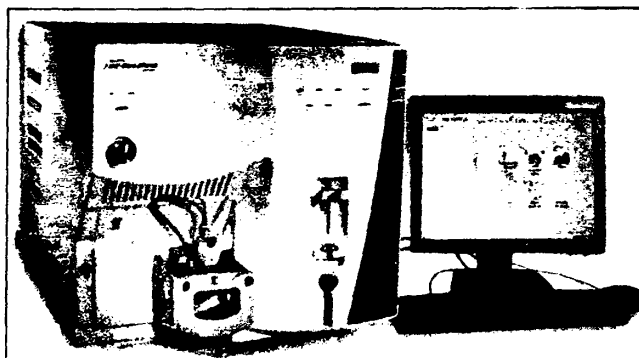
Χρόνος (min)	Κινητή φάση A (%)	Κινητή φάση B (%)
0	90	10
4	90	10
10	10	90
20	10	90
30	90	10
40	90	10

Πίνακας 5.2.5: Ανάμιξη κινητών φάσεων βαθμιδωτής έκλυσης

- ο Με σύστημα παραγωγής θετικών και αρνητικών ιόντων σε αέρια φάση (API ION MAX της Thermo Finnigan) με ηλεκτροψεκασμό (electrospray ionization-ESI). Το έκλυσμα της χρωματογραφικής στήλης υφίσταται σταδιακή εκνέφωση με διαβίβαση αερίου

αζώτου (γεννήτρια αζώτου) ώστε το υγρό έκλουσμα να μετατρέπεται σε εκνέφωμα (spray) μοριακών ιόντων.[44]

- ο Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό πρόγραμμα XCalibur (version 1.4) της Thermo Finnigan.



Εικόνα 5.2.5.β: Φασματόμετρο μαζών TSQ Quantum Ultra

Για τη μελέτη των βενζοϊμιδαζολών, των καρβαμδικών και των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων χρησιμοποιήθηκε θετικός ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό (ESI(+)). Το σύστημα LC/MS/MS διαθέτει διαδικασία βελτιστοποίησης των αναγκαίων παραμέτρων για το φαινόμενο του ηλεκτροψεκασμού. Οι συνθήκες ηλεκτροψεκασμού που εφαρμόστηκαν ήταν:

- Δυναμικό ηλεκτροψεκασμού (spray voltage): 4000V
- Πίεση ξηραντικού αερίου N_2 (sheath gas): 40 a.u. (arbitrary units)
- Πίεση βοηθητικού αερίου N_2 (auxiliary gas): 15 a.u. (arbitrary units)
- Θερμοκρασία τριχοειδούς (capillary temperature): 350°C

Η πίεση του αερίου θραυσματοποίησης Ar (collision gas) ήταν 1.0 mTorr.

Τα διαγνωστικά ιόντα των ουσιών για ορισμένες ενέργειες θραυσματοποίησης (collision energy) καθορίστηκαν από τα λαμβανόμενα φάσματα μαζών.[53][41]

5.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η πειραματική διαδικασία μετά τη δειγματοληψία και την προετοιμασία του δείγματος περιελάμβανε εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες και στη συνέχεια αεριοχρωματογραφική και υγροχρωματογραφική – φασματομετρική ανάλυση.

5.3.1 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

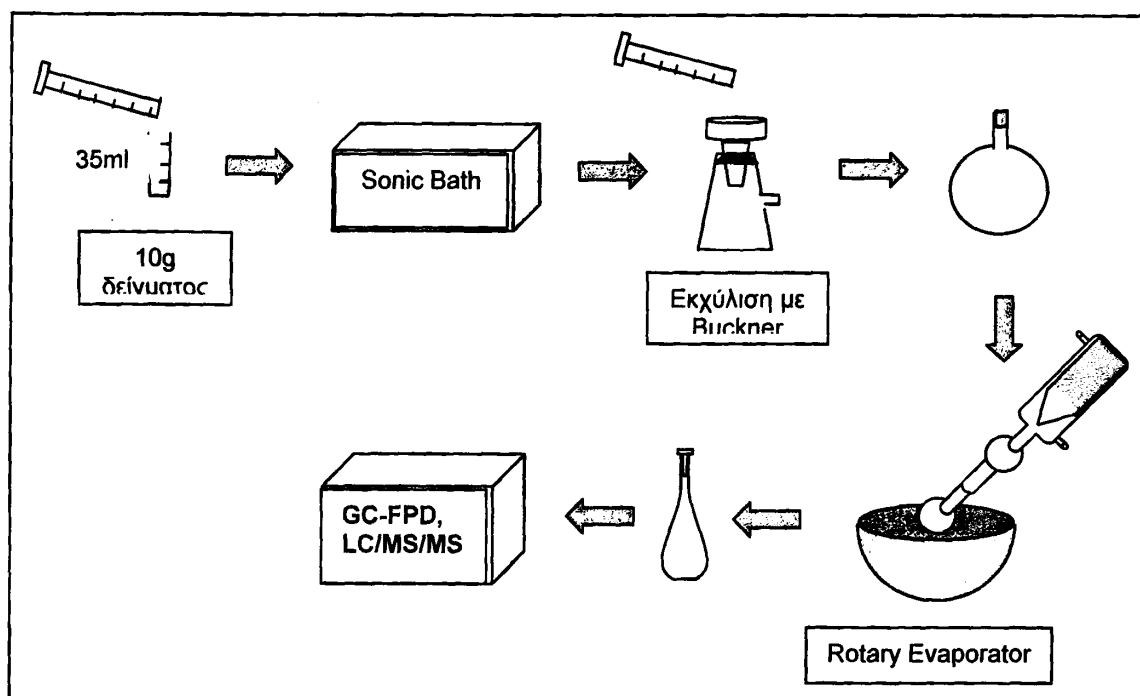
Στη συνέχεια περιγράφονται οι δύο τρόποι επεξεργασίας των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα δείγματα:



A. Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα:

10g (± 0.2 g) ομογενοποιημένου δείγματος ζυγίστηκαν μέσα σε πλαστικό περιέκτη στο ζυγό ακριβείας και ακολούθησε πλήρωση με οξικό αιθυλεστέρα σε τελικό όγκο 35mL. Στο διάλυμα προστέθηκαν 10gr άνυδρου θειικού νατρίου και στη συνέχεια το διάλυμα του δείγματος αναδεύτηκε σε λουτρό υπερήχων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για χρονικό διάστημα 15 λεπτών. Στο χωνί Buchner τοποθετήθηκε ηθμός για διήθηση (glass fiber filter-GF/F 0,45 μ m) και προστέθηκαν 20gr άνυδρου θειικού νατρίου.

Στα δείγματα μετά την εξαγωγή τους από το λουτρό υπερήχων εφαρμόστηκε εκχύλιση στο χωνί Buchner με 2x10mL οξικού αιθυλεστέρα. Η φάση του οργανικού διαλύτη συλλέχεται σε σφαιρική φιάλη και συμπυκνώθηκε σε συσκευή ταχείας απόσταξης κενού (Rotary Evaporator) στους 35°C. Τα δείγματα που προορίζονταν για αεριοχρωματογραφική ανάλυση και για υγροχρωματογραφική - φασματομετρική ανάλυση παρελήφθησαν στα 5mL με μεθανόλη και ακολούθησε αραίωση 1/5 σε υπερκάθαρο νερό και διήθηση σε φίλτρα (PVDF Millex διαμέτρου 0.22 μ m) για την υγροχρωματογραφική - φασματομετρική ανάλυση. Στο Σχήμα 5.3.1.β, που ακολουθεί παριστάνονται τα στάδια επεξεργασίας των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανι. Στο Σχήμα 5.3.1.α, που ακολουθεί παριστάνονται τα στάδια επεξεργασίας των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα:

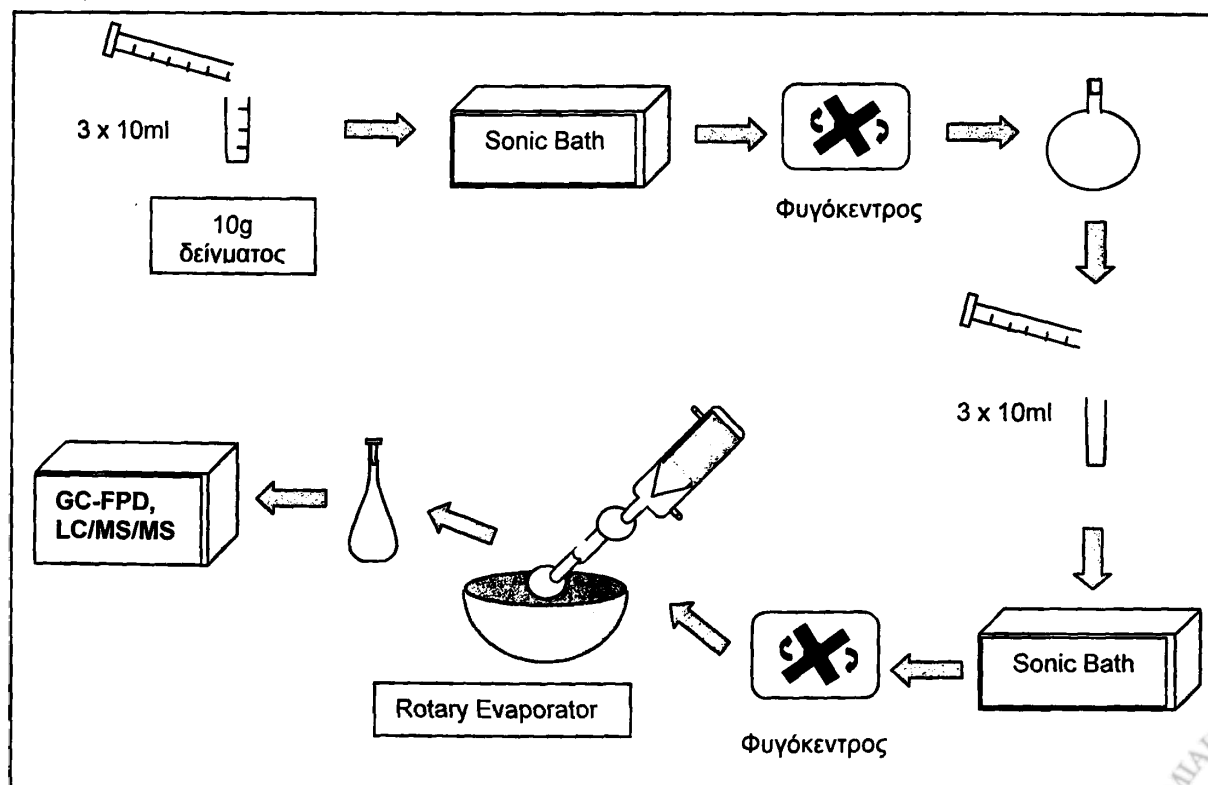


Σχήμα 5.3.1.α: Στάδια επεξεργασίας εξεταζόμενων δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών με εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και ακετονιτρίλιο.

Β. Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα

10g (± 0.2 g) ομογενοποιημένου δείγματος ζυγίστηκαν μέσα σε πλαστικό περιέκτη στο ζυγό ακριβείας και ακολούθησε προσθήκη ακετόνης, διχλωρομεθανίου και πετρελαϊκού αιθέρα. Οι όγκοι που προστέθηκαν ήταν 10mL για κάθε διαλύτη. Στο διάλυμα του δείγματος προστέθηκαν 10gr άνυδρου θειικού νατρίου και στη συνέχεια το διάλυμα του δείγματος αναδεύτηκε σε λουτρό υπερήχων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για χρονικό διάστημα 20min και φυγοκέντριση στις 2500στροφές/min για 5min. Η φάση των οργανικών διαλυτών συλλέχεται σε σφαιρική φιάλη και στο δείγμα προστέθηκαν εκ νέου 10mL από κάθε οργανικό διαλύτη και επαναλήφθηκε η ανάδευση στο λουτρό υπερήχων και η φυγοκέντριση. Η φάση των οργανικών διαλυτών που διαχωρίστηκε προστέθηκε στη σφαιρική φιάλη και ακολούθησε συμπύκνωση σε συσκευή ταχείας απόσταξης κενού (Rotary Evaporator) στους 35°C.

Τα δείγματα που προορίζονταν για αεριοχρωματογραφική ανάλυση και για υγροχρωματογραφική - φασματομετρική ανάλυση παρελήφθησαν στα 5mL με μεθανόλη και ακολούθησε αραιώση 1/5 σε υπερκάθαρο νερό και διήθηση σε φίλτρα (PVDF Millex διαμέτρου 0.22μm) για την υγροχρωματογραφική - φασματομετρική ανάλυση. Στο Σχήμα 5.3.1.β, που ακολουθεί παριστάνονται τα στάδια επεξεργασίας των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα:



Σχήμα 5.3.1.β: Στάδια επεξεργασίας εξεταζόμενων δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών με εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

5.3.2 ΤΥΦΛΑ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Προκειμένου να ελεγχθεί η απόκριση των οργάνων παρασκευάστηκαν και εξετάστηκαν τυφλά και εμβολιασμένα διαλύματα δειγμάτων δύο επιπέδων συγκέντρωσης:

Τυφλά δείγματα (blank samples): Δείγματα με μη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση των αναλυτών ($S/N < 3$), που χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες και παρασκευάζονται ακολουθώντας την ίδια μέθοδο παρασκευής με αυτή των προς εξέταση δειγμάτων. Τα τυφλά δείγματα θα πρέπει να μην εμφανίζουν παρεμποδίζουσες κορυφές στους χρόνους κατακράτησης των αναλυτών. Στην περίπτωση, ωστόσο, που εξαιτίας του υποστρώματος του δείγματος εμφανίζονται παρεμποδίζουσες κορυφές, αυτές θα πρέπει να έχουν εμβαδόν τουλάχιστον 5 φορές μικρότερο από το μέγεθος των προς προσδιορισμό ουσιών. Τυφλά δείγματα εξετάστηκαν για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα δείγματος.

Εμβολιασμένα δείγματα (spiked samples): Χρησιμοποιήθηκαν για να ελεγχθεί η επίδραση κάθε αντιπροσωπευτικού υποστρώματος στην απόκριση του αεριοχρωματογραφικού και του υγροχρωματογραφικού - φασματομετρικού συστήματος μέσω του υπολογισμού της ανάκτησης. Η ανάκτηση (%Recovery) εκφράζει την απώλεια στην ανίχνευση ανάμεσα στο εμβολιασμένο δείγμα και σε ένα πρότυπο διάλυμα, που έχει την ίδια συγκέντρωση με αυτό και υπολογίζεται ως το επί τοις εκατό ποσοστό του λόγου του εμβαδού της κορυφής της ουσίας στο εμβολιασμένο δείγμα προς το εμβαδόν της κορυφής της ουσίας στο πρότυπο διάλυμα της ίδιας συγκέντρωσης (external recovery).

Κατά κύριο λόγο η ανάκτηση δεν εμφανίζεται ικανοποιητική στα χαμηλά επίπεδα εμβολιασμού, γι' αυτό και συνηθίζεται κατά τον έλεγχο της απόκρισης των μεθόδων ως προς την ανάλυση δειγμάτων διαφόρων υποστρωμάτων να ελέγχεται αρχικά η ανάκτηση για δύο σχετικά χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης. Όταν η ανάκτηση που υπολογίζεται δεν είναι ικανοποιητική τότε είναι απαραίτητος ο έλεγχος της επίδρασης υποστρώματος για περισσότερα επίπεδα εμβολιασμού (απαραίτητη η εξαγωγή καμπυλών «matrix-matched» βαθμονόμησης).

Ως χαμηλότερο επίπεδο εμβολιασμού (low level) επιλέγει το όριο ανίχνευσης 0.02mg/kg για την οργανολογία της αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και η συγκέντρωση των 0.01mg/kg για την οργανολογία της υγρής χρωματογραφίας – δίδυμης φασματομετρίας μαζών. Η υγρή χρωματογραφία – δίδυμη φασματομετρία μαζών εμφανίζει υψηλή ευαισθησία και επιτρέπει τον ακριβή προσδιορισμό πολύ χαμηλότερων επιπέδων συγκέντρωσης συγκριτικά με την αεριοχρωματογραφία με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή, γι'



αυτό και επιλέχθηκε ως χαμηλότερο επίπεδο συγκέντρωσης υποδεκαπλάσια συγκέντρωση.[52]

Το υψηλό επίπεδο εμβολιασμού (high level) ήταν η συγκέντρωση των 0.10mg/kg για το αεριοχρωματογραφικό σύστημα και η συγκέντρωση των 0.05mg/kg για το υγροχρωματογραφικό – φασματομετρικό σύστημα.

Στον Πίνακα 5.3.2 που ακολουθεί καταγράφονται τα επίπεδα εμβολιασμού που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ανάκτησης για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα δείματος:

Εμβολιασμένα δείγματα που εξετάστηκαν στο GC-FPD		Εμβολιασμένα δείγματα που εξετάστηκαν στο LC-MS-MS	
High Level 0.10mg/kg	Low Level 0.02mg/kg	High Level 0.05mg/kg	Low Level 0.01mg/kg

Πίνακας 5.3.2: Εμβολιασμένα δείγματα

Τα δείγματα μετά τον εμβολιασμό αναμιγνύονταν καλά και παρέμεναν σε ηρεμία για 5 περίπου min. Η αυτή μέθοδος εμβολιασμού εφαρμόστηκε και για την παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων ίδιας συγκέντρωσης (external recovery) που εξετάστηκαν μαζί με τα εμβολιασμένα δείγματα προκειμένου να υπολογιστεί η ανάκτηση στα δύο επίπεδα εμβολιασμού για κάθε προσδιοριζόμενη ουσία κάθε αντιπροσωπευτικού υποστρώματος.

5.4 ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Ο έλεγχος της γραμμικότητας της καμπύλης των προτύπων διαλυμάτων, ο προσδιορισμός της επίδρασης του υποστρώματος του δείματος (matrix effect) και ο έλεγχος της επαναληψιμότητας των αποτελεσμάτων για το ίδιο δείγμα ελέγχου αποτελούν κρίσιμα δεδομένα για τον έλεγχο της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων τόσο στο αεριοχρωματογραφικό, όσο και στο υγροχρωματογραφικό – φασματομετρικό σύστημα.

Η ταυτοποίηση των προσδιοριζόμενων ενώσεων στα δείγματα και από δεύτερη στήλη αεριοχρωματογράφου επιβεβαιώνει την ύπαρξη των φυτοφαρμάκων στα δείγματα διευκολύνοντας στην ταυτοποίηση των κορυφών.

5.5 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στη χρωματογραφική – φασματομετρική ανάλυση το φάσμα μάζας αποτελεί χαρακτηριστικό αποτύπωμα της κάθε ουσίας βοηθώντας στην ορθή ταυτοποίησή της. Ο ιονισμός των ουσιών και κατά συνέπεια η απόκριση του ανιχνευτή επηρεάζεται από τις παραμέτρους υγροχρωματογράφου (σύσταση κινητής φάσης και ροή), καθώς και από τις παραμέτρους του φασματομέτρου μαζών (πίεση και ενέργεια θραυσματοποίησης) και του spray (θερμοκρασία και δυναμικό τριχοειδούς).[65]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

6.1 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η ταυτοποίηση των προς προσδιορισμό ουσιών στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα βασίζεται στο χρόνο κατακράτησης τους από τη στήλη. Ως χρόνος κατακράτησης (Retention Time) ορίζεται ο χρόνος που μεσολαβεί από τη στιγμή της εξόδου της ουσίας από το σύστημα έως την εμφάνιση του μεγίστου της κορυφής. Ο χρόνος κατακράτησης της κάθε ουσίας προσδιορίζεται έπειτα από την εξέταση προτύπων διαλυμάτων των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων. Η ταυτοποίηση των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων στα δείγματα εμφανίζει δυσκολίες όταν αυτά είναι θετικά σε φυτοφάρμακα που εμφανίζουν παραπλήσιους χρόνους κατακράτησης ή περιέχουν ουσίες υποστρώματος οι οποίες επίσης κατακρατούνται από τη στήλη. Για να εξασφαλιστεί η ύπαρξη των φυτοφαρμάκων στα δείγματα, τα θετικά δείγματα εξετάστηκαν και από δεύτερο αεριοχρωματογραφικό σύστημα ώστε να γίνει ταυτοποίηση των ουσιών και από αεριοχρωματογραφική δεύτερη στήλη.[42]

Στον Πίνακα 6.1 που ακολουθεί καταγράφονται οι μέσοι χρόνοι κατακράτησης των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και η σχετική απόκλιση (RSD: Relative Standard Deviation) στα δύο συστήματα αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή που χρησιμοποιήθηκαν:

Πρότυπα διαλύματα	Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα	GC-FPD ₁ (ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός)		GC-FPD ₂ (ποιοτικός προσδιορισμός)
		RT	%RSD	RT
Μίγμα Νο1	1. Dichlorvos	5,29	0.1	7,56
	2. Etrifos	15,36	0.1	18,65
	3. Fenitrothion	19,69	0.1	21,25
	4. Malathion	19,37	0.2	21,36
	5. Methacrifos	9,3	0.0	12,10
	6. Pirimiphos-methyl	17,9	0.0	20,98
	7. Triazophos	26,3	0.1	27,93
Μίγμα Νο2	8. Chlorpyrifos	18,57	0.2	21,80
	9. Chlorpyrifos-methyl	17,01	0.1	20,05
	10. Diazinon	14,41	0.1	17,99
	11. Dimethoate	17,32	0.2	17,80
	12. Methidathion	22,17	0.2	24,34
	13. Parathion	20,37	0.1	22,07

Πίνακας 6.1: Μέσοι χρόνοι κατακράτησης των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και σχετικές τυπικές αποκλίσεις αυτών στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα.



Στην αεριοχρωματογραφική ανάλυση τόσο η ταυτοποίηση, όσο και ο ποσοτικός προσδιορισμός των ουσιών στα δείγματα βασίζεται στη μελέτη των κορυφών των προσδιοριζόμενων ουσιών. Ο έλεγχος της συμμετρίας των κορυφών καθώς και ο έλεγχος της ικανότητας του συστήματος να διαχωρίζει επιτυχώς τις κορυφές ουσιών που εκλύονται η μία δίπλα στην άλλη αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για την ορθή ταυτοποίηση των φυτοφαρμάκων και τον έλεγχο της απόκρισης του συστήματος.

Ο έλεγχος της συμμετρίας των κορυφών πραγματοποιείται μέσω του υπολογισμού του συντελεστή PGF (Peak Gaussian Factor). Ο PGF εκφράζει το βαθμό συμμετρίας της κορυφής για το σύστημα. Υπολογίζεται αρχικά για την κορυφή που εμφανίζει τη χειρότερη συμμετρία. Η κορυφή αυτή είναι η τελευταία και αυτό γιατί η ουσία που τελευταία εξέρχεται από τη στήλη είναι εκείνη, που εμφανίζει και τη μεγαλύτερη συγγένεια με αυτή. Η κορυφή της τελευταίας ουσίας εμφανίζει μεγαλύτερο εύρος βάσης από τις υπόλοιπες ως αποτέλεσμα της βραδύτερης εξόδου της από τη στήλη. Ο υπολογισμός του Peak Gaussian Factor γίνεται βάσει του τύπου: $PGF = 1.83 \times W_{(1/2)} / W_{(1/10)}$, όπου τα $W_{(1/2)}$ και $W_{(1/10)}$ εκφράζουν τα αντίστοιχα ποσοστά του εύρους της κορυφής. Η κορυφή είναι συμμετρική όταν $0.8 < PGF < 1.2$. Η ουσία που εκλύονταν τελευταία και από τα δύο αεριοχρωματογραφικά συστήματα ήταν το φυτοφάρμακο triazophos. Ο συντελεστής PGF υπολογίστηκε για το πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 1.28mg/kg που εξετάστηκε από το αεριοχρωματογραφικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών ενώσεων στα δείγματα και βρέθηκε ίσος με 1.0.

Ο έλεγχος της ικανότητας του συστήματος να διαχωρίζει επιτυχώς τις κορυφές ουσιών που εκλύονται η μία δίπλα στην άλλη πραγματοποιείται μέσω του υπολογισμού του συντελεστή RF (Resolution Factor). Ο συντελεστής RF εκφράζει την ικανότητα του συστήματος να διαχωρίζει επιτυχώς δύο ουσίες οι οποίες εμφανίζουν μικρή διαφορά στον χρόνο κατακράτησής τους (διαφέρουν λιγότερο από 1.00min). Ο υπολογισμός γίνεται βάσει του τύπου: $RF = 2(t_2 - t_1) / (w_2 + w_1)$, όπου t_2 και t_1 οι αντίστοιχοι χρόνοι κατακράτησης και w_2 και w_1 τα αντίστοιχα εύρη των κορυφών. Για να είναι ικανοποιητικός ο διαχωρισμός των ουσιών πρέπει $RF > 0.7$. Ο Resolution Factor υπολογίστηκε για το πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 1.28mg/kg που εξετάστηκε από το αεριοχρωματογραφικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών ενώσεων στα δείγματα. Από τα φυτοφάρμακα του Πίνακα 6.1 διαφορά στους χρόνους κατακράτησης τους μικρότερη του 1.00min εμφανίζουν οι ουσίες fenitrothion και malathion από το ένα μίγμα προτύπων και chlorpyrifos methyl και dimethoate από το άλλο μίγμα προτύπων. Για τις ουσίες fenitrothion και malathion ο συντελεστής RF υπολογίστηκε ίσος με 0.88, ενώ για τις ουσίες chlorpyrifos methyl και dimethoate υπολογίστηκε ίσος με 0.92. [22][75]



6.2 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ- ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Κατά τον υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό προσδιορισμό η ταυτοποίηση των ουσιών πραγματοποιείται μέσω της θραυσματοποίησης των μοριακών ιόντων και της λήψης χαρακτηριστικών καμπυλών θραυσματοποίησης για κάθε ουσία. Οι καμπύλες θραυσματοποίησης είναι οι καμπύλες της σχετικής αφθονίας των παραγόμενων ιόντων από τη θραυσματοποίηση ως προς την ενέργεια που εφαρμόζεται για τη θραυσματοποίηση των ιόντων αυτών. Για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών επιλέχθηκε για κάθε ουσία ένα χαρακτηριστικό ιοντικό θραύσμα το οποίο παρουσίαζε τη μεγαλύτερη ένταση - σχετική αφθονία (abundance) και παρήχθη κατά τη θραυσματοποίηση των μοριακών ιόντων στην αντίστοιχη ενέργεια θραυσματοποίησης. Από τη μελέτη της θραυσματοποίησης των φυτοφαρμάκων προσδιορίστηκαν τα ιοντικά θραύσματα με τη μεγαλύτερη αφθονία και οι βέλτιστες ενέργειες θραυσματοποίησης.[68][73] Στον Πίνακα 6.2.α παρατίθενται οι μέσοι χρόνοι κατακράτησης (Retention Time) των φυτοφαρμάκων στην υγροχρωματογραφική στήλη, ενώ στον Πίνακα 6.2.β καταγράφονται τα ιόντα που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των φυτοφαρμάκων στα δείγματα και οι αντίστοιχες ενέργειες θραυσματοποίησης (collision energy):

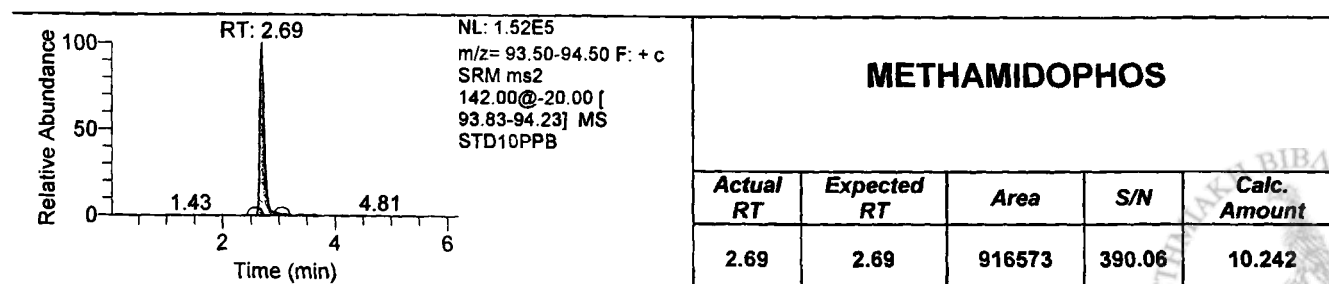
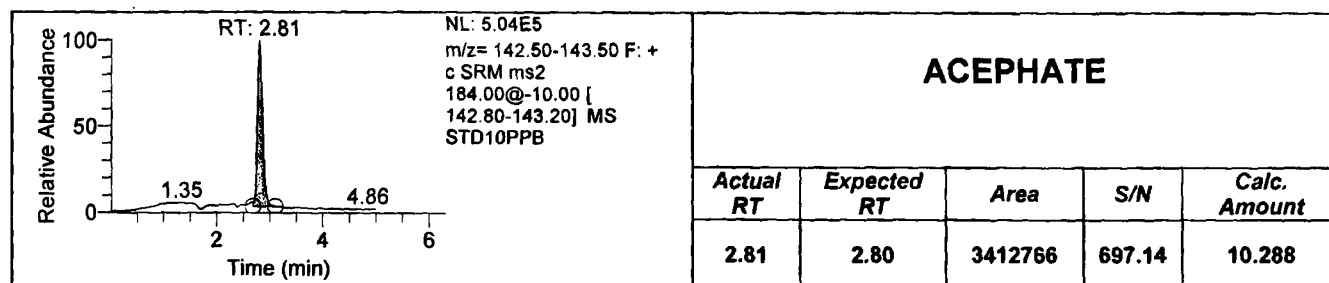
Φυτοφάρμακα, που προσδιορίστηκαν από το υγροχρωματογραφικό – φασματομετρικό σύστημα		RT
Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα	1. methamidophos	2,69
	2. acephate	2,81
	3. omethoate	3,02
	4. paraoxon-methyl	22,16
	5. monocrotophos	6,14
Καρβαμιδικά φυτοφάρμακα και λοιπά	6. thiabendazole	3,93
	7. oxamyl	5,25
	8. aldicarb-sulfoxide	3,30
	9. carbendazim/benomyl	3,27
	10. methomyl	6,46
	11. aldicarb	20,34
	12. pirimicarb	10,39
	13. 3-hydroxy-carbofuran	16,19
	14. aldicarb-sulfone	5,29
	15. carbofuran	23,58
	16. carbaryl	24,67

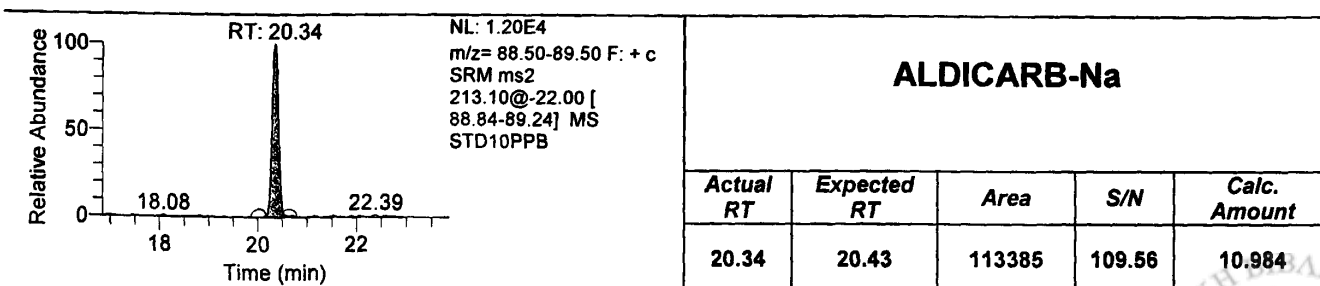
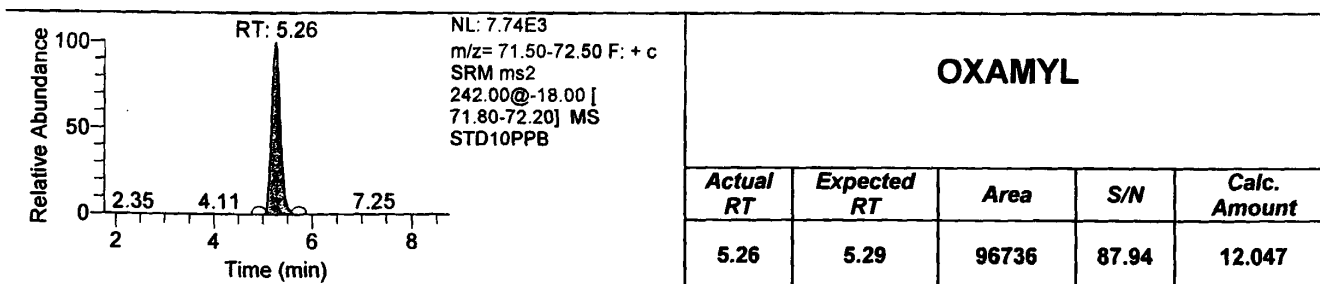
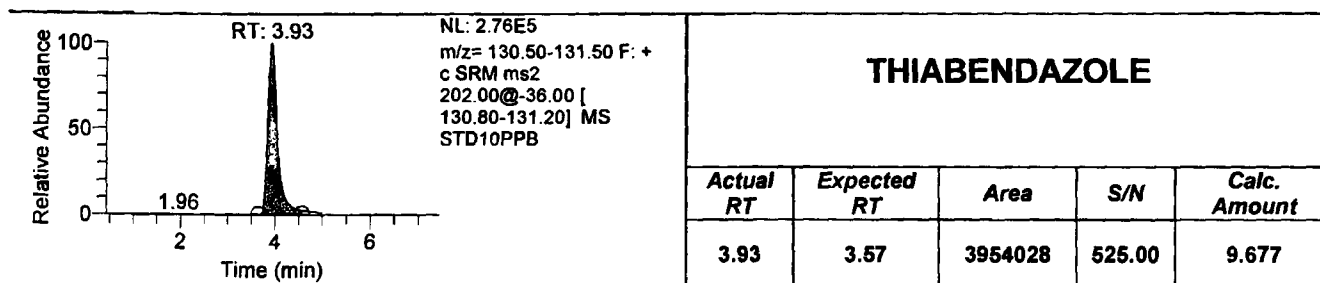
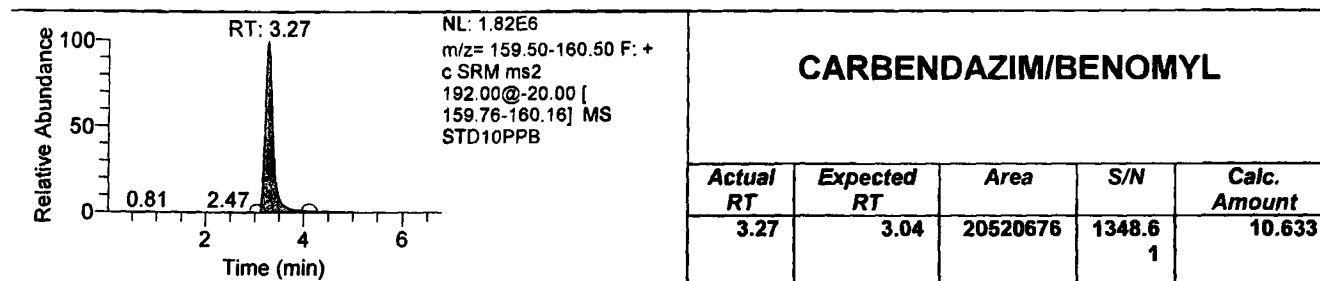
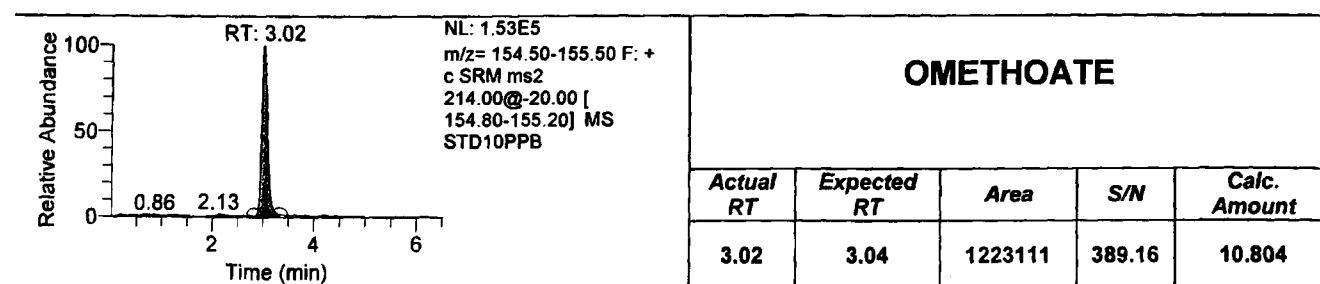
Πίνακας 6.2.α: Μέσοι χρόνοι κατακράτησης των φυτοφαρμάκων στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα.

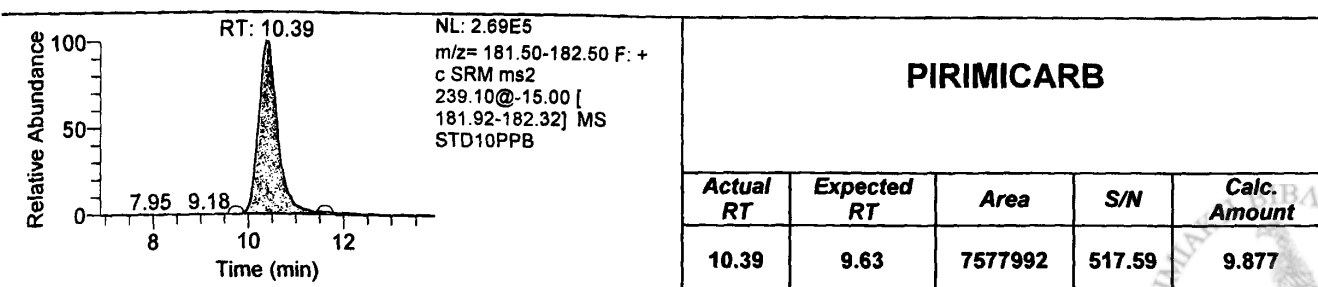
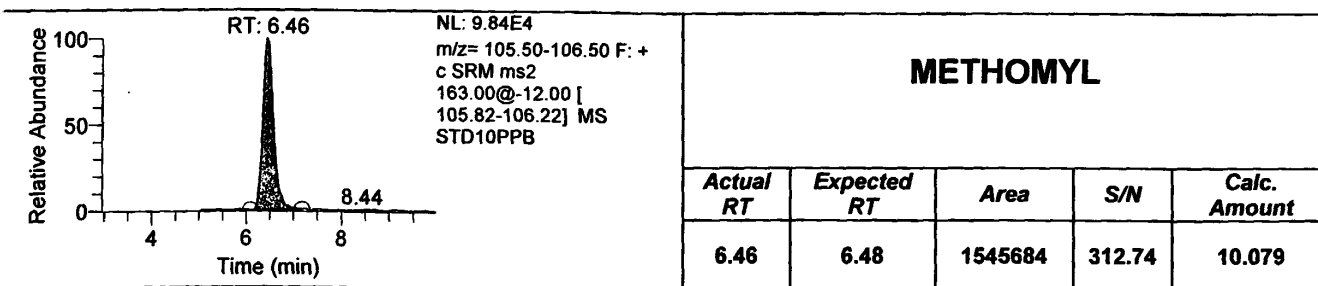
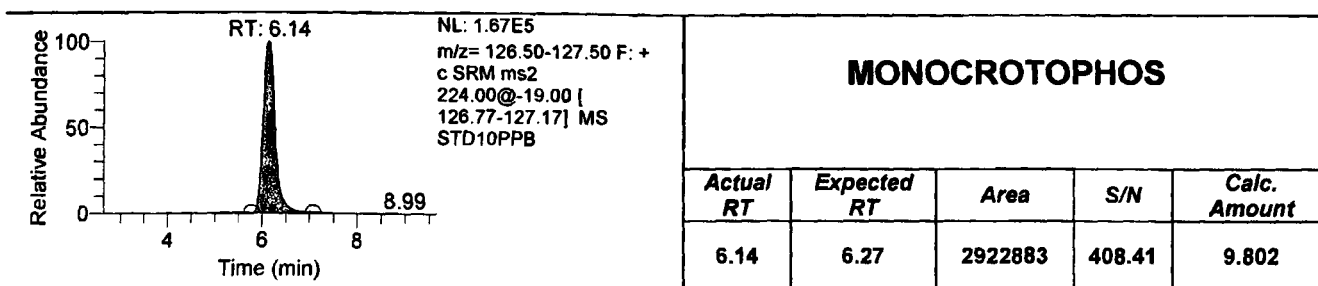
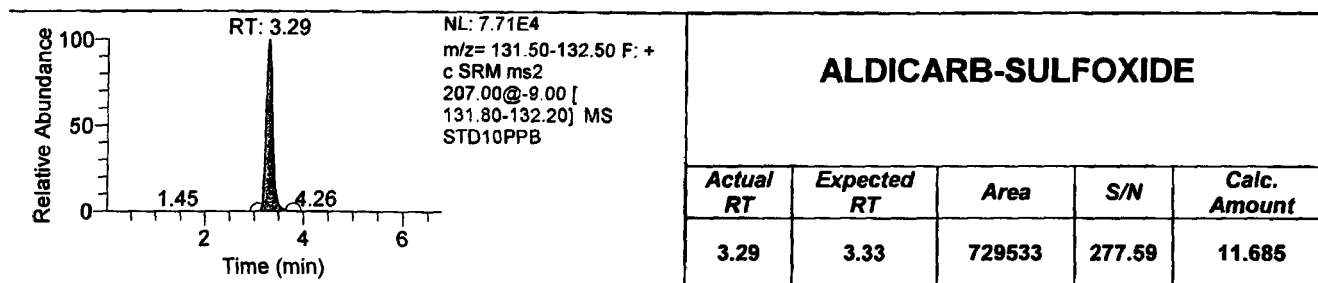
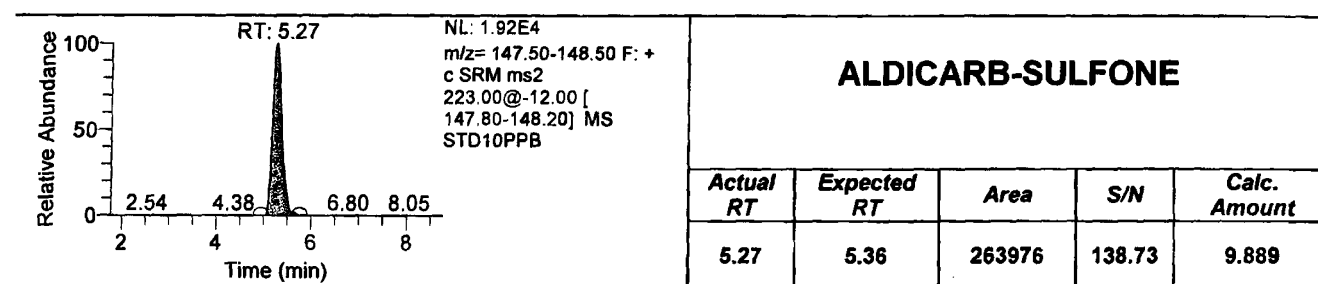
Φυτοφάρμακα, που προσδιορίστηκαν από το υγροχρωματογραφικό – φασματομετρικό σύστημα		Μοριακό ιόν	Ιόν	Ενέργεια θραυσματοποίησης
Οργανοφωσφορικά	1. methamidophos	142	93,8 – 94,2	20 V
	2. acephate	184	142,8 – 143,2	10 V
	3. omethoate	214	154,8 – 155,2	20 V
	4. paraoxon-methyl	248	201,8 – 202,2	23 V
	5. monocrotophos	224	126,8 – 127,2	19 V
Καρβαμιδικά	6. aldicarb	213	88,84 – 89,24	22 V
	7. aldicarb-sulfoxide	207	131,8 – 132,2	9 V
	8. aldicarb-sulfone	223	147,8 – 148,2	12 V
	9. oxamyl	242	71,8 – 72,2	18 V
	10. methomyl	163	105,8 – 106,2	12 V
	11. pirimicarb	239,1	181,9 – 182,3	15 V
	12. carbofuran	222,1	122,8 – 123,2	24 V
	13. 3-hydroxy-carbofuran	220	162,9 – 163,3	15 V
	14. carbaryl	202,1	144,8 – 145,2	12 V
Βενζοϊμιδαζολικά	15. carbendazim/benomyl	192	159,8 – 160,1	20 V
	16. thiabendazole	202	130,8 – 131,2	36 V

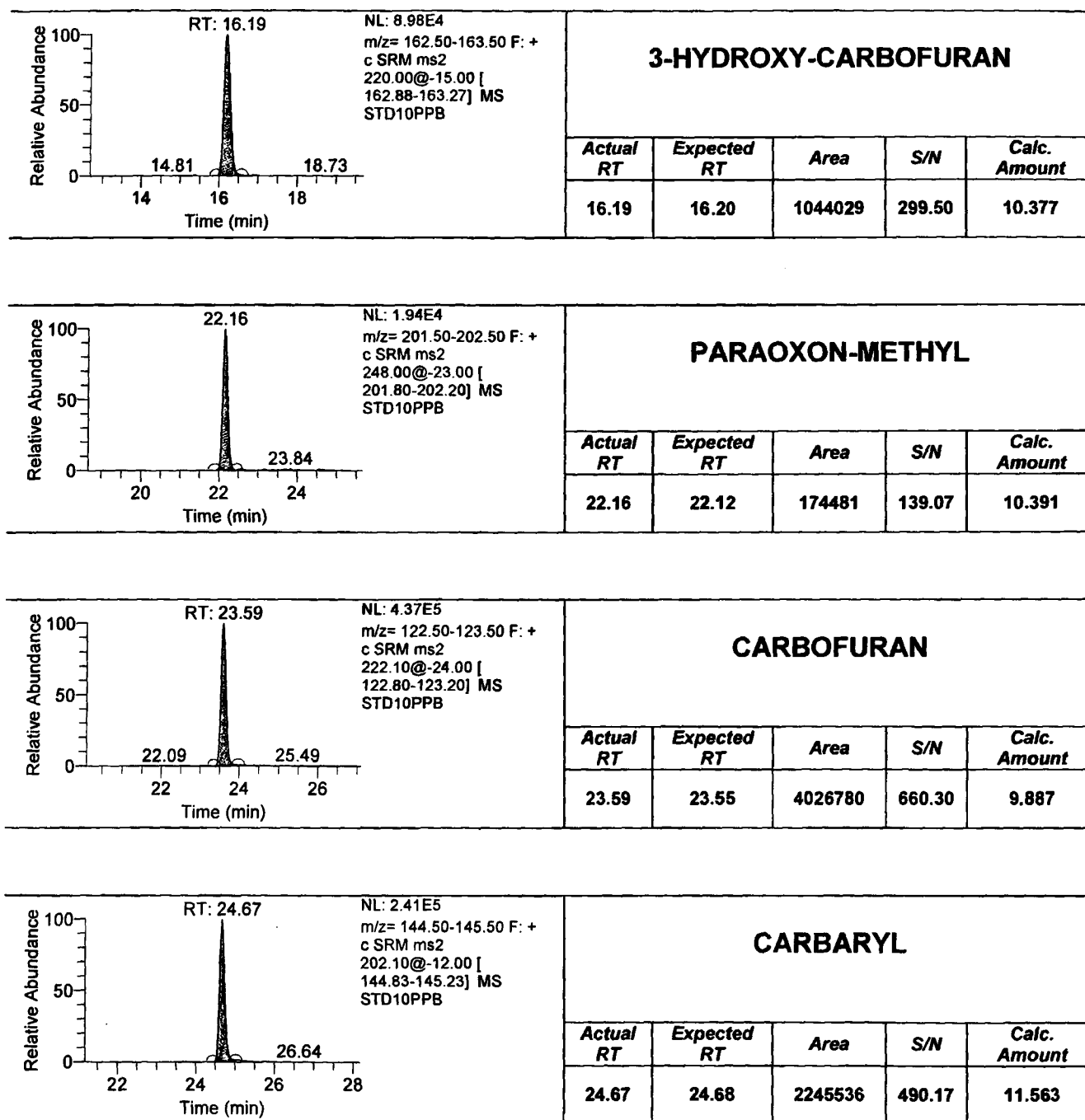
Πίνακας 6.2.β: Μοριακά ιόντα, εύρος παράγωγων ιοντικών θραυσμάτων που επιλέχθηκαν και εφαρμοζόμενες ενέργειες θραυσματοποίησης.

Στη συνέχεια παρατίθενται χρωματογραφήματα των προσδιοριζόμενων ενώσεων του προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,01mg/L των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζοϊμιδαζολών που προσδιορίστηκαν από το σύστημα υγρής χρωματογραφίας-δίδυμης φασματομετρίας μαζών:









Εικόνα 6.2: Χρωματογραφήματα προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων από το σύστημα υγρής χρωματογραφίας-δίδυμης φασματομετρίας μαζών για το πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 0,01mg/L.

6.3 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΥΦΛΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Για τον έλεγχο της πιστότητας της αναλυτικής διαδικασίας, προσδιορίζεται η συνεισφορά των αντιδραστηρίων και του εξοπλισμού στο εργαστήριο αναλύοντας το έκλουσμα δείγματος που έχει υποστεί όλη τη διαδικασία ανάλυσης και εμφανίζεται ελεύθερο υπολειμμάτων. Στην περίπτωση που ανιχνευθούν κορυφές στο τυφλό δείγμα, διερευνάται η πηγή της μόλυνσης.



προσδιορίζονται και διορθώνονται τα λάθη στην επεξεργασία και την ανάλυση των δειγμάτων.

6.4 ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΡΘΟΤΗΤΑΣ

Η ορθότητα (trueness) αναφέρεται στη διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής μιας σειράς μετρήσεων και της τιμής που γίνεται αποδεκτή ως η αληθής ή ορθή τιμή της μετρούμενης ποσότητας. Αποτελεί δηλαδή ένα μέτρο ελέγχου της διασποράς των αποτελεσμάτων των προσδιορισμών διαφορετικών τμημάτων του ίδιου δείγματος με εφαρμογή όλων των σταδίων της αναλυτικής μεθόδου σε διάφορους χρόνους. Η αληθής τιμή μπορεί να ληφθεί: α) από την ποσότητα που προστίθεται σε ειδικά παρασκευασμένο (εμβολιασμένο) δείγμα, β) από το αποτέλεσμα μιας άλλης μεθόδου γνωστής ορθότητας και ακρίβειας και γ) από το υλικό αναφοράς γνωστής ή γενικής σύνθεσης. [3]

Οι κύριοι περιορισμοί στην ορθότητα είναι τα τυχαία και τα συστηματικά σφάλματα. Τα τυχαία σφάλματα οφείλονται σε απροσδιόριστα αίτια και στο «στατιστικό» θόρυβο που εμφανίζεται σε κάθε μέτρηση. Τα συστηματικά σφάλματα οφείλονται σε ένα ή περισσότερα αίτια γνωστής προέλευσης, όπως: ακαθαρσίες αντιδραστηρίων, σφάλματα αναλύτη, οργανολογικά προβλήματα. [8]

Η ορθότητα εκφράζεται με το % ποσοστό ανάκτησης που υπολογίζεται από το λόγο της επιφάνειας της κορυφής του αναλύτη στο εμβολιασμένο δείγμα (A2) προς το λόγο της επιφάνειας της κορυφής του ίδιου αναλύτη στο πρότυπο μίγμα των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων (A1):

$$\%R = (A2 / A1) \times 100.$$

Βάσει της Οδηγίας SANCO 3131/2007 (Guidelines for pesticide residues analysis), κατά την ανάπτυξη μεθοδολογίας προκειμένου να διασφαλίζεται η ορθότητα των αποτελεσμάτων η ανάκτηση πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 70% και 120%, εκτός και αν η σχετική τυπική απόκλιση της είναι μικρότερη του 20%, οπότε μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 60% και 120%. Κατά την εφαρμογή της μεθοδολογίας τα αποδεκτά επίπεδα ανάκτησης είναι μεταξύ 60% και 130%.

Η επαναληψιμότητα διακρίνεται στην ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα και στην διεργαστηριακή επαναληψιμότητα ή αναπαραγωγιμότητα. Ο έλεγχος της ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας (repeatability within laboratory precision), δηλαδή της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών μετρήσεων στο ίδιο δείγμα κάτω από τις ίδιες συνθήκες (μέθοδος, αναλύτης, συσκευή) για σύντομο χρονικό διάστημα, πραγματοποιείται μέσω του υπολογισμού των τιμών της τυπικής απόκλισης σε συνθήκες ενδοεργαστηριακής



αναπαραγωγιμότητας και μέσω του υπολογισμού της σχετικής τυπικής απόκλισης για μικρό αριθμό μετρήσεων. Η τυπική απόκλιση για μικρό αριθμό μετρήσεων δίνεται από τον τύπο: $SD = \sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 / n - 1}$, όπου x η μέση τιμή των μετρήσεων και n ο αριθμός των μετρήσεων. Η σχετική τυπική απόκλιση υπολογίζεται βάσει του τύπου: $RSD = (SD / \bar{x}) 100\%$.

Παρασκευάστηκαν δύο ζεύγη προτύπων διαλυμάτων και δύο ζεύγη εμβολιασμένων δειγμάτων (spiked samples) της αυτής συγκέντρωσης για κάθε ένα από τα έξι αντιπροσωπευτικά υποστρώματα που επιλέχθηκαν. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης και για τις δύο αναλυτικές μεθόδους που δοκιμάστηκαν. Τα εμβολιασμένα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ανάκτησης στην αεριοχρωματογραφική ανάλυση ήταν συγκέντρωσης 0.10mg/kg (high level) και 0.02mg/kg (low level), ενώ τα εμβολιασμένα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ανάκτησης στην υγροχρωματογραφική-φασματομετρική ανάλυση ήταν συγκέντρωσης 0.01mg/kg (high level) και 0.05mg/kg (low level). Τα εμβολιασμένα δείγματα παρασκευάστηκαν με εφαρμογή και των δύο εκχύλισεων που περιγράφησαν προκειμένου να γίνει σύγκριση της ανάκτησης των φυτοφαρμάκων για κάθε εκχύλιση, ώστε να επιλεγεί για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα η εκχύλιση που δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα και να εφαρμοστεί κατά την εξέταση των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών που συλλέχθηκαν.

Το κάθε ζεύγος προτύπων διαλυμάτων και εμβολιασμένων δειγμάτων παρασκευάστηκε από δύο διαφορετικά πρότυπα διαλύματα, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα σφάλματος λόγω κακής ποιότητας του αρχικού πυκνού διαλύματος και η πιθανότητα σφάλματος του αναλυτή. Τα εμβολιασμένα δείγματα παρασκευάστηκαν από διαφορετικά τμήματα ομογενοποιημένου τυφλού δείγματος (blank sample), το οποίο επίσης εξετάστηκε μαζί με τα πρότυπα και τα εμβολιασμένα δείγματα. Πραγματοποιήθηκαν δύο ημερήσιες επαναλήψεις της εξέτασης της σειράς των προτύπων διαλυμάτων και δειγμάτων στα συστήματα GC-FPD και LC/MS/MS επί τρεις διαφορετικές ημέρες και ακολούθησε υπολογισμός της μέσης ανάκτησης κάθε προσδιοριζόμενης ουσίας.

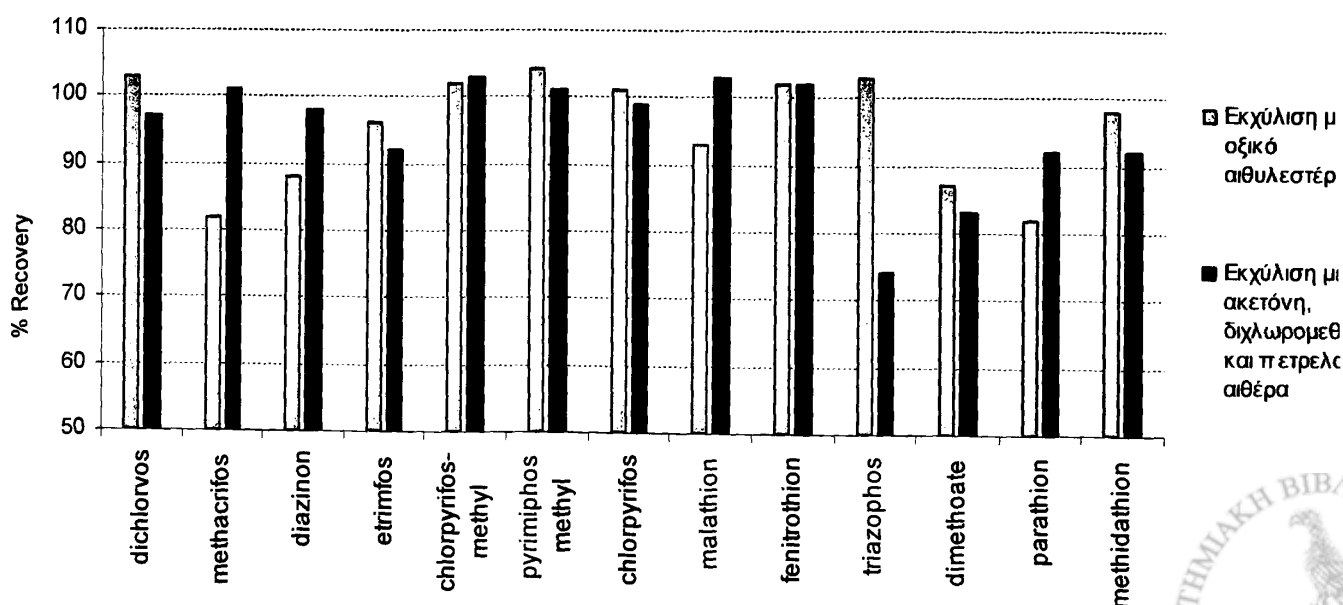
Οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις των πειραμάτων ανάκτησης των Πινάκων 6.4(α1→α6) και 6.4(β1→β6) που ακολουθούν είναι ένδειξη της ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας της μεθόδου. Οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι χαμηλότερες του 20% στα πειράματα ανάκτησης που πραγματοποιήθηκαν για όλες τις ουσίες που μελετήθηκαν.[48]



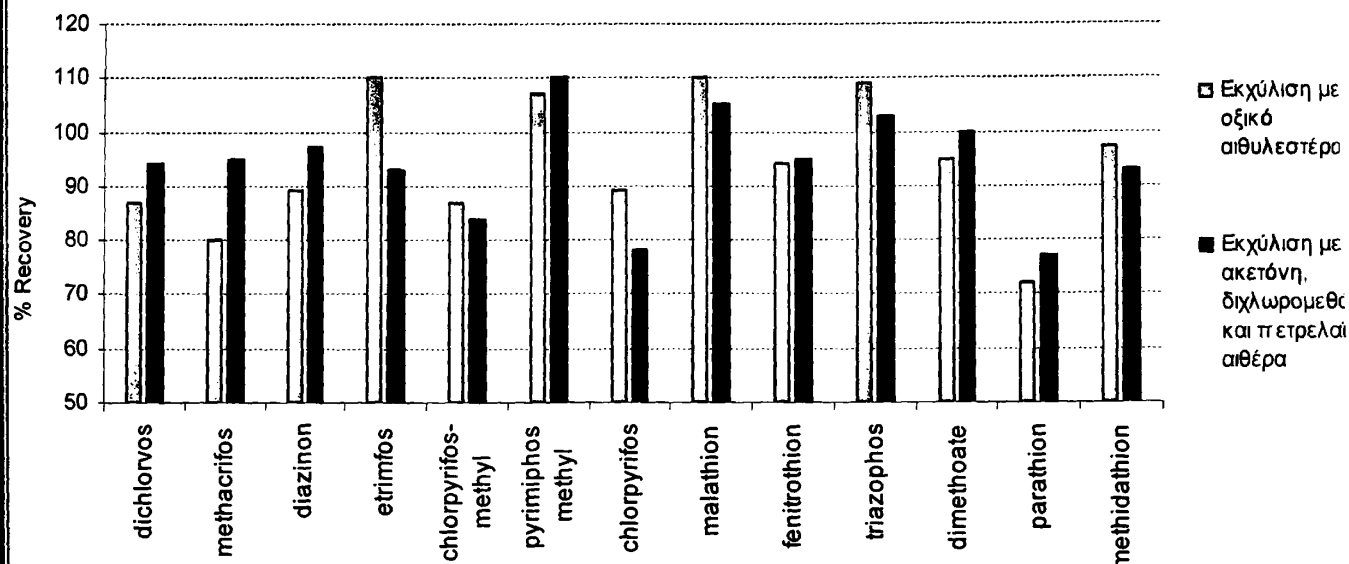
ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΓΙΓΑΡΤΟΚΑΡΠΑ			
dichlorvos	103±12,3	87±8,6	97±13,1	94±10,5
methacrifos	82±8,4	80±4,2	101±12,5	95±9,7
diazinon	88±16,1	89±9,7	98±14,7	97±12,2
etrimfos	96±11,7	110±10,2	92±9,8	93±10,1
chlorpyrifos-methyl	102±11,5	87±4,6	103±8,5	84±7,9
pirimiphos methyl	104±9,4	107±8,8	101±6,8	110±5,0
chlorpyrifos	101±7,2	89±9,0	99±11,3	78±10,7
malathion	93±13,3	110±7,4	103±12,0	105±12,6
fenitrothion	102±8,7	94±6,5	102±9,5	95±7,1
triazophos	103±18,6	109±14,9	74±18,4	103±13,6
dimethoate	87±10,2	95±6,4	83±11,7	100±7,4
parathion	82±14,6	72±7,1	92±16,1	77±11,2
methidathion	98±17,0	97±15,3	92±15,0	93±14,3

Πίνακας 6.4.α1: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα γιγάρτοκαρπα

Υπόστρωμα Γιγάρτοκαρπα: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Γιγάρτοκαρπα: 0.10mg/kg



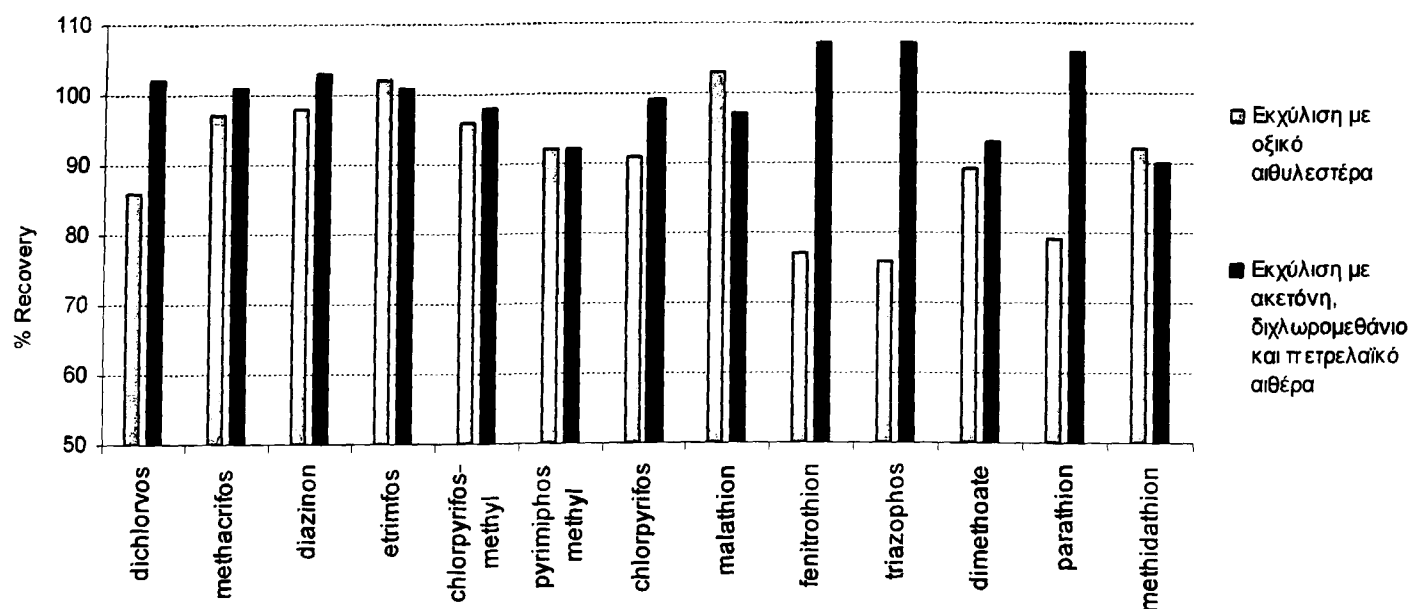
Διαγράμματα 6.4.α1: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα γιγάρτοκαρπα

ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΚΑΡΠΟΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ			
dichlorvos	86±11,7	89±9,5	102±12,6	105±10,8
methacrifos	97±9,0	104±5,5	101±11,6	92±7,3
diazinon	98±14,3	74±8,7	103±15,1	94±13,2
etrimfos	102±11,9	110±9,8	101±7,8	110±9,3
chlorpyrifos-methyl	96±10,6	91±6,6	98±8,5	109±7,9
pirimiphos methyl	92±10,2	98±9,6	92±7,0	108±5,0
chlorpyrifos	91±8,0	80±10,2	99±10,8	86±8,3
malathion	103±10,4	110±8,6	97±10,3	110±7,7
fenitrothion	77±9,0	104±8,8	107±5,2	108±3,4
triazophos	76±17,6	109±12,5	107±12,6	102±12,5
dimethoate	89±13,5	107±12,7	93±11,8	100±9,9
parathion	79±15,9	78±8,3	106±10,7	80±9,0
methidathion	92±14,6	96±14,8	90±16,7	97±15,4

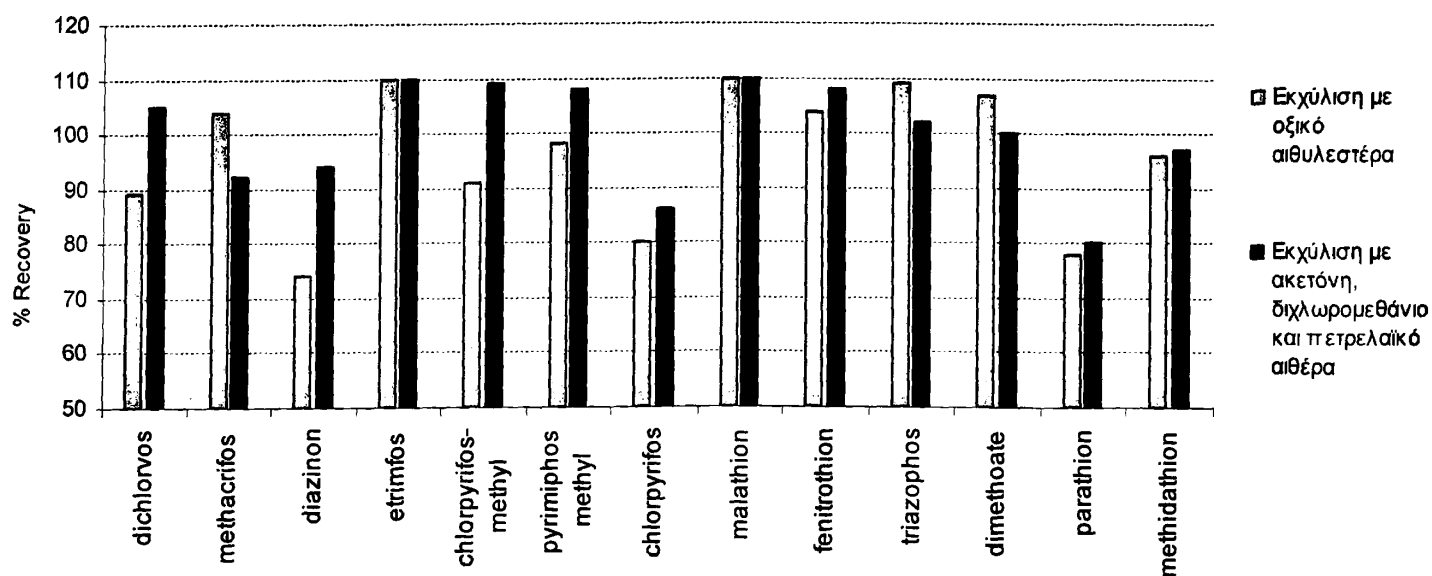
Πίνακας 6.4.α2: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα καρποί λαχανικών



Υπόστρωμα Καρποί Λαχανικών: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Καρποί Λαχανικών: 0.10mg/kg

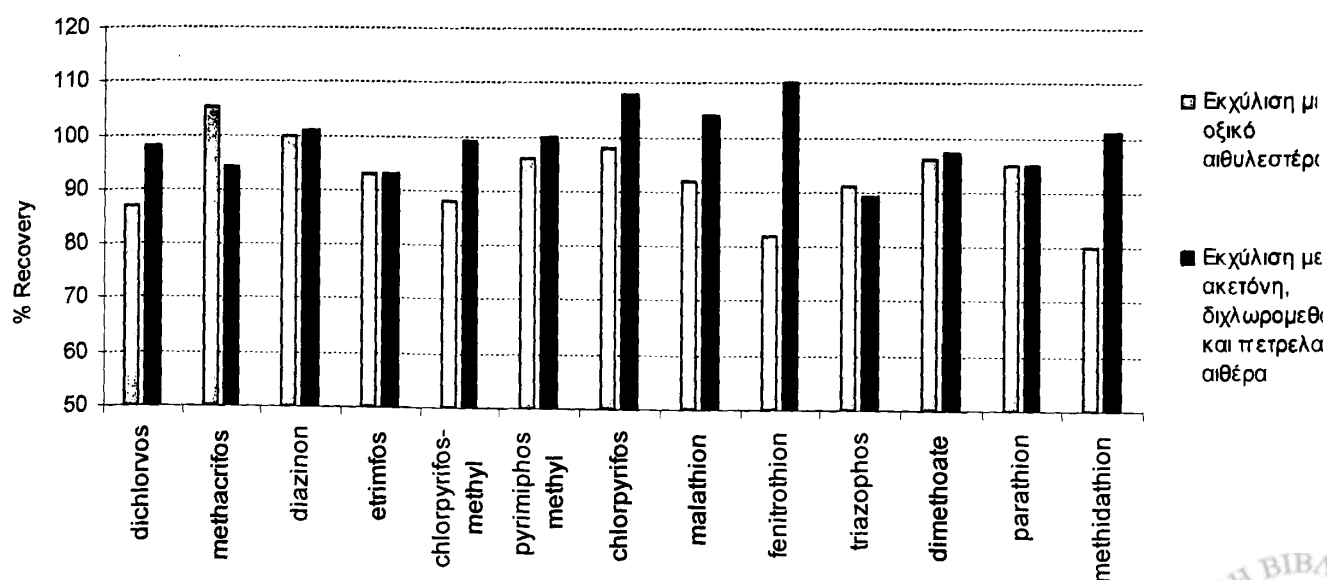


Διαγράμματα 6.4.α2: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα καρποί λαχανικών

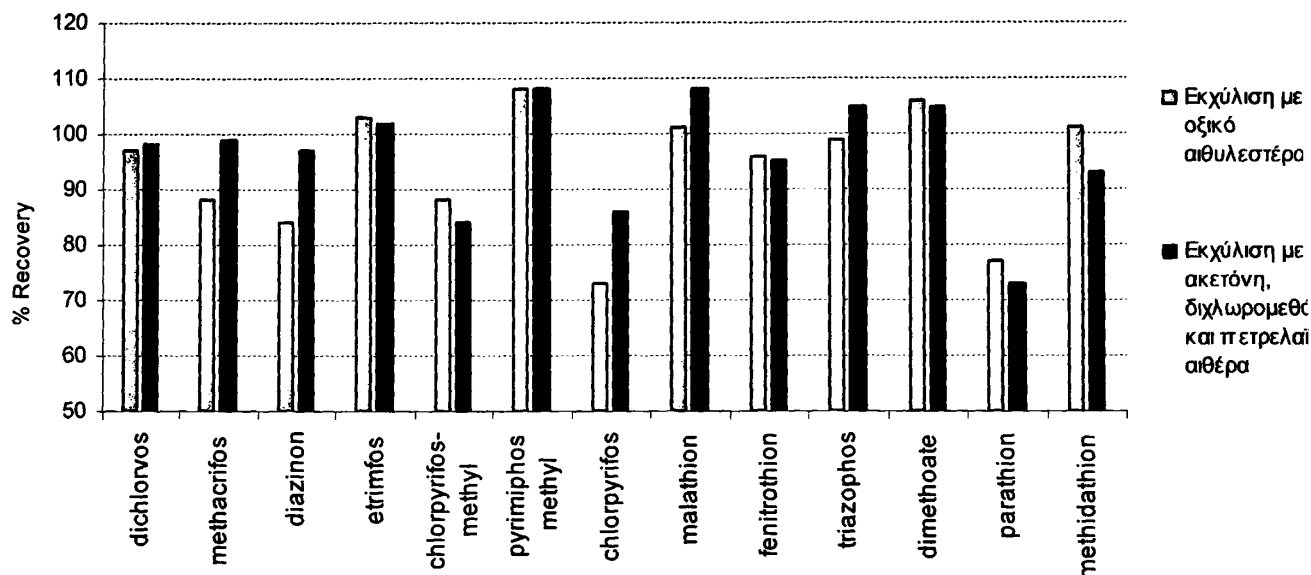
ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΦΥΛΛΩΔΗ ΛΑΧΑΝΙΚΑ - ΚΡΑΜΒΕΣ			
dichlorvos	87±9,6	97±10,1	98±12,1	98±6,5
methacrifos	105±14,5	88±12,0	94±9,6	99±7,8
diazinon	100±8,5	84±6,3	101±7,1	97±7,8
etrimfos	93±17,3	103±16,5	93±17,8	102±13,0
chlorpyrifos-methyl	88±10,0	88±9,7	99±12,1	84±9,4
pirimiphos methyl	96±13,9	108±12,8	100±11,4	108±10,7
chlorpyrifos	98±6,8	73±5,2	108±6,4	86±4,7
malathion	92±13,7	101±12,4	104±10,8	108±11,0
fenitrothion	82±16,3	96±15,8	110±18,2	95±14,5
triazophos	91±18,6	99±17,2	89±15,8	105±14,9
dimethoate	96±9,8	106±10,5	97±11,6	105±8,5
parathion	95±10,3	77±4,1	95±9,6	73±5,2
methidathion	80±12,6	101±11,4	101±16,8	93±15,3

Πίνακας 6.4.α3: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα φυλλώδη λαχανικά - κράμβες

Υπόστρωμα Φυλλώδη Λαχανικά – Κράμβες: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Φυλλώδη Λαχανικά - Κράμβες: 0.10mg/kg



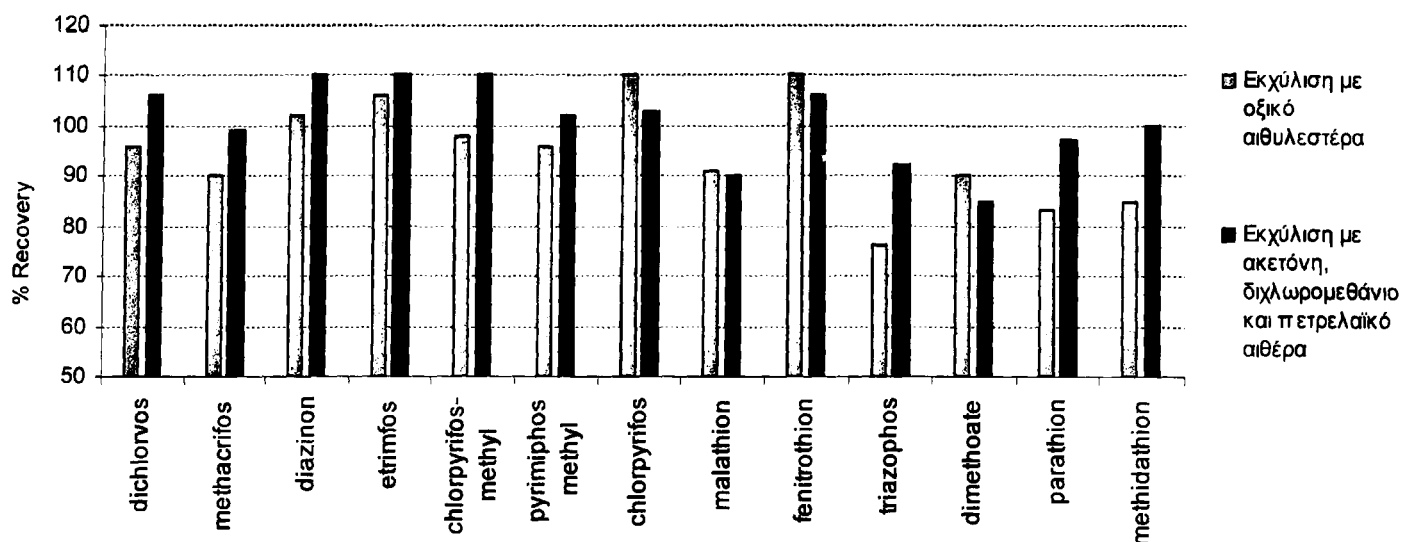
Διαγράμματα 6.4.α3: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα φυλλώδη λαχανικά - κράμβες

ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαιοαιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ			
dichlorvos	96±10,5	93±8,6	106±9,8	102±9,3
methacrifos	90±10,6	88±9,9	99±11,3	97±10,6
diazinon	102±14,0	84±12,3	110±15,7	82±16,1
etrimfos	106±18,3	110±16,2	110±14,1	97±11,9
chlorpyrifos-methyl	98±8,9	87±7,4	110±6,9	94±3,3
pirimiphos methyl	96±10,2	91±9,8	102±7,6	97±6,5
chlorpyrifos	110±8,4	97±7,5	103±6,7	78±7,2
malathion	91±10,2	90±7,7	90±14,0	108±13,8
fenitrothion	110±18,3	96±16,4	106±15,2	109±14,5
triazophos	76±17,9	100±16,3	92±17,6	94±15,1
dimethoate	90±11,8	102±6,9	85±10,1	60±8,4
parathion	83±12,0	82±11,8	97±10,6	87±11,2
methidathion	85±9,7	75±9,2	100±10,8	98±8,6

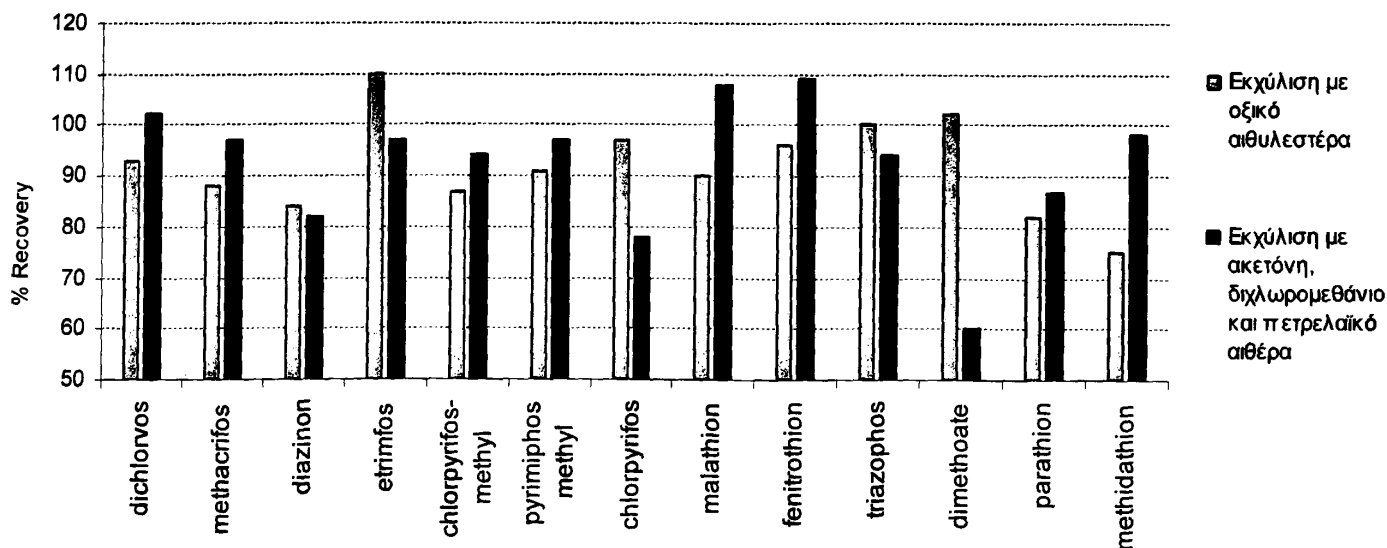
Πίνακας 6.4.α4: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα εσπεριδοειδή



Υπόστρωμα Εσπεριδοειδή: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Εσπεριδοειδή: 0.10mg/kg

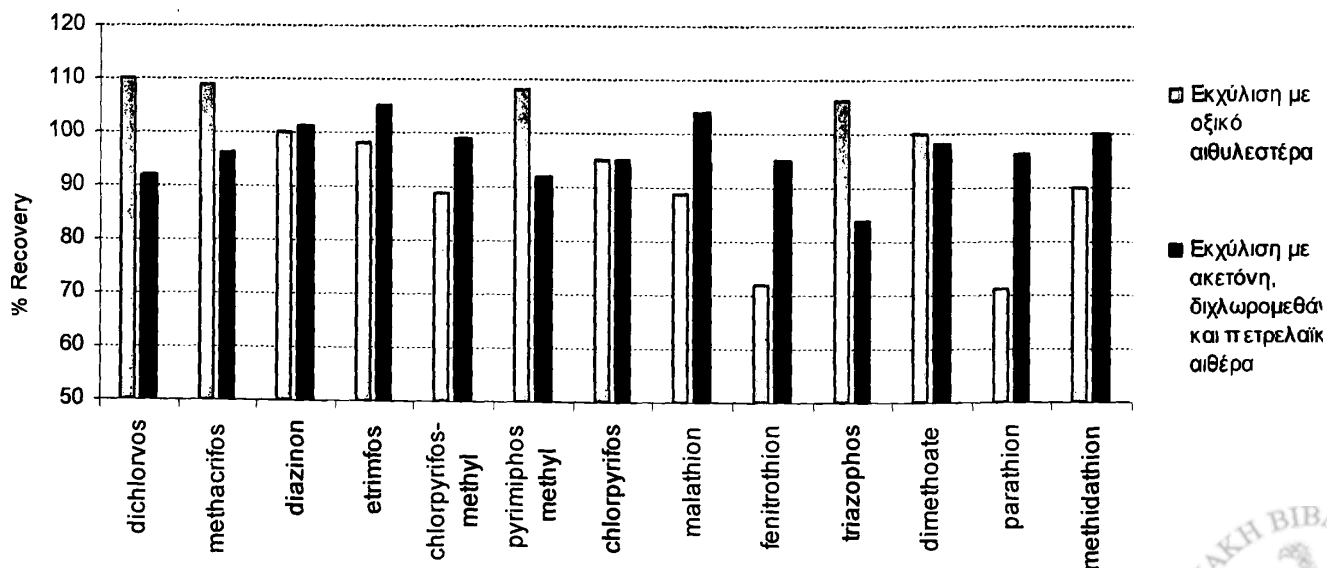


Διαγράμματα 6.4.α4: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα εσπεριδοειδή

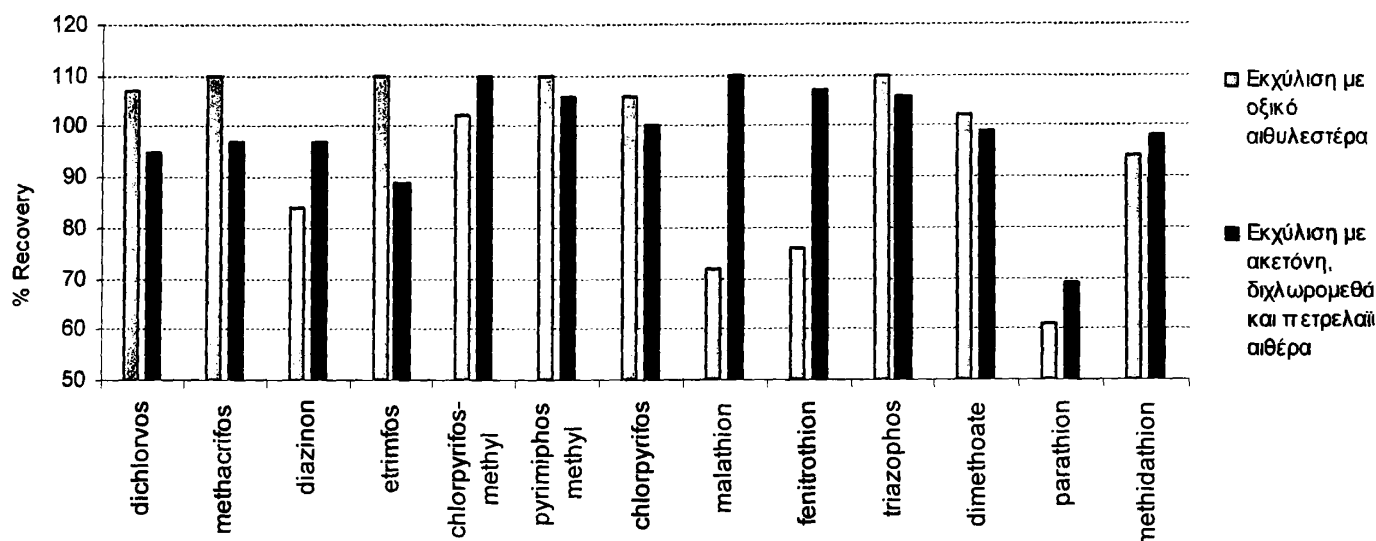
ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΠΥΡΗΝΟΚΑΡΠΑ			
dichlorvos	110±14,1	107±13,7	92±16,2	95±17,0
methacrifos	109±13,6	110±9,7	96±12,8	97±9,6
diazinon	100±8,3	84±7,0	101±10,5	97±8,1
etrimfos	98±15,4	110±12,3	105±14,7	89±9,2
chlorpyrifos-methyl	89±11,5	102±9,7	99±8,3	110±5,5
pirimiphos methyl	108±10,3	110±11,1	92±9,8	106±8,6
chlorpyrifos	95±9,2	106±8,8	95±7,3	100±4,6
malathion	89±10,7	72±9,5	104±12,3	110±9,6
fenitrothion	72±18,3	76±17,4	95±15,2	107±15,9
triazophos	106±19,0	110±16,5	84±18,0	106±17,0
dimethoate	100±11,7	102±9,6	98±8,7	99±6,2
parathion	71±12,1	61±10,8	96±9,4	69±5,5
methidathion	90±10,7	94±11,3	100±14,7	98±15,0

Πίνακας 6.4.α5: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα πυρηνόκαρπα

Υπόστρωμα Πυρηνόκαρπα: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Πυρηνόκαρπα: 0.10mg/kg



Διαγράμματα 6.4.α5: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα πυρηνόκαρπα

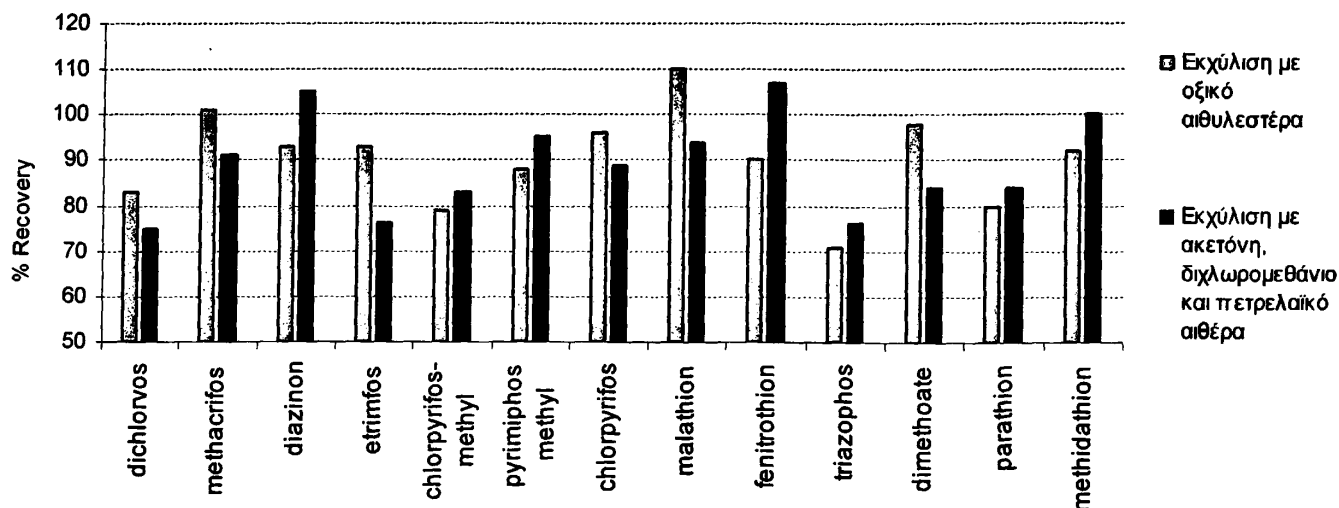
ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg	(R ± RSD)% 0.10mg/kg	(R ± RSD)% 0.02mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΒΟΛΒΟΙ - ΡΙΖΕΣ			
dichlorvos	83±8,6	91±9,7	75±10,4	95±9,1
methacrifos	101±8,3	86±9,7	91±10,6	86±9,4
diazinon	93±11,1	96±10,3	105±12,5	94±12,2
etrimfos	93±18,4	109±17,9	76±16,4	105±15,7
chlorpyrifos-methyl	79±4,5	96±6,8	83±5,6	89±9,9
pirimiphos methyl	88±12,3	110±11,6	95±9,7	110±14,0
chlorpyrifos	96±11,0	81±8,5	89±7,7	79±6,4
malathion	110±13,9	103±11,4	94±10,8	104±6,5
fenitrothion	90±16,2	101±17,8	107±18,4	101±17,2
triazophos	71±19,3	110±18,9	76±17,1	109±14,3
dimethoate	98±10,1	102±9,8	84±11,0	100±12,3
parathion	80±15,4	68±7,7	84±12,6	80±9,3
methidathion	92±9,9	77±10,5	100±13,7	97±12,0

Πίνακας 6.4.α6: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα

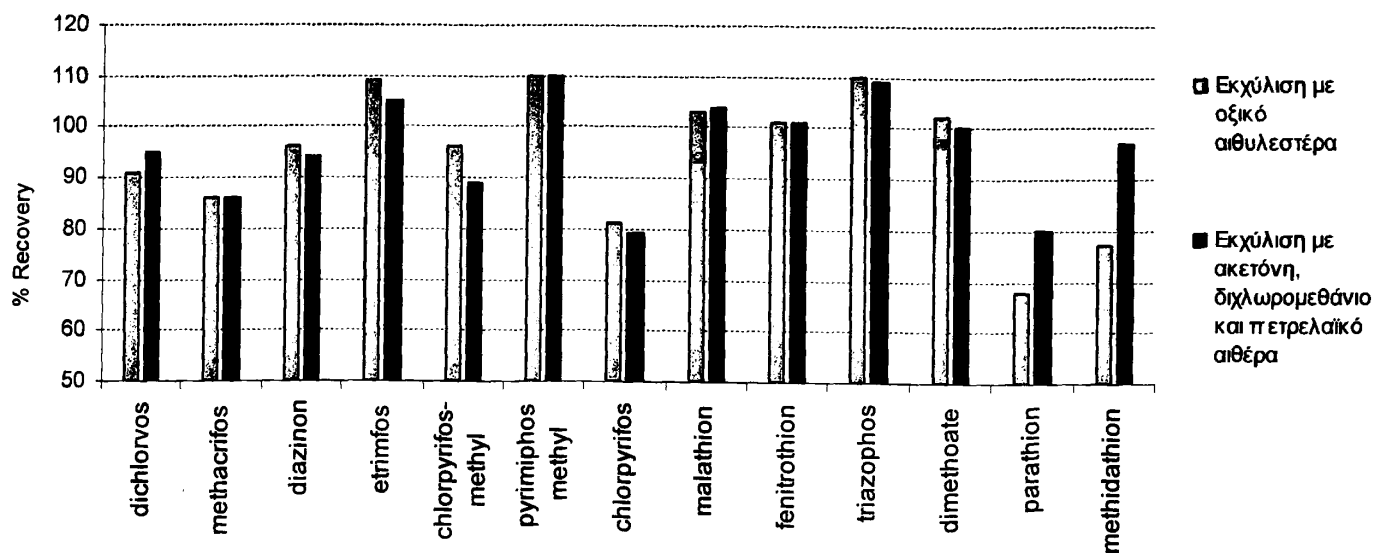
βολβοί - ρίζες



Υπόστρωμα Βολβοί – Ρίζες: 0.02mg/kg



Υπόστρωμα Βολβοί – Ρίζες: 0.10mg/kg



Διαγράμματα 6.4.α6: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα βολβοί - ρίζες

Όπως προκύπτει από τα ανωτέρω διαγράμματα και πίνακες οι δύο εκχύλισεις που δοκιμάστηκαν δεν έδωσαν την ίδια μέση ανάκτηση για κάθε ουσία σε κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα αν και γενικά και οι δύο μέθοδοι έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Αξιόλογες διαφορές στη μέση ανάκτηση σε κάθε εκχύλιση παρουσίασαν:

1) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «γυγαρτόκαρπα»:

- οι ουσίες triazophos, etrimfos και chlorpyrifos που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα
- οι ουσίες methacrifos, malathion, diazinon και parathion που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισε η ουσία triazophos στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.02mg/kg για την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα, στα δείγματα γυγαρτόκαρπων που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.

2) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «καρποί λαχανικών»:

- οι ουσίες methacrifos και dimethoate που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες dichlorvos, chlorpyrifos, fenitrothion, triazophos, parathion, diazinon, chlorpyrifos methyl και pirimiphos methyl που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισαν οι ουσίες fenitrothion, triazophos και parathion στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.02mg/kg και η ουσία diazinon στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.10mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα καρπών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

3) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «φυλλώδη λαχανικά - κράμβες»:

- η ουσία methacrifos που απομονώθηκε με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες dichlorvos, chlorpyrifos methyl, chlorpyrifos, malathion, fenitrothion και diazinon που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.



Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισε η ουσία chlorpyrifos στα εμβολιασμένα δείγματα συγκέντρωσης 0.02mg/kg και 0.10mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα φυλλωδών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

4) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «εσπεριδοειδή»:

- οι ουσίες etrimfos, dimethoate και chlorpyrifos που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες dichlorvos, methacrifos, chlorpyrifos methyl, malathion, fenitrothion, triazophos, parathion και methidathion που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Αν και η εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα λειτούργησε καλύτερα για τις περισσότερες από τις προσδιοριζόμενες ουσίες, εξαιτίας της χαμηλής ανάκτησης που υπολογίστηκε για την ουσία dimethoate στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.10mg/kg (%Recovery $\approx$ 60%) στα δείγματα εσπεριδοειδών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.

5) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «πυρηνόκαρπα»:

- οι ουσίες dichlorvos, methacrifos, etrimfos, pirimiphos methyl και triazophos που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες chlorpyrifos methyl, malathion, fenitrothion, diazinon και parathion που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισαν οι ουσίες fenitrothion, malathion και parathion στα εμβολιασμένα δείγματα συγκέντρωσης 0.02mg/kg και 0.10mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα πυρηνοκάρπων που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

6) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «βολβοί – ρίζες»:

- οι ουσίες methacrifos, etrimfos και dimethoate που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες fenitrothion, methidathion, diazinon και parathion που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισε η ουσία parathion στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.10mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα



δείγματα βολβών και ριζών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

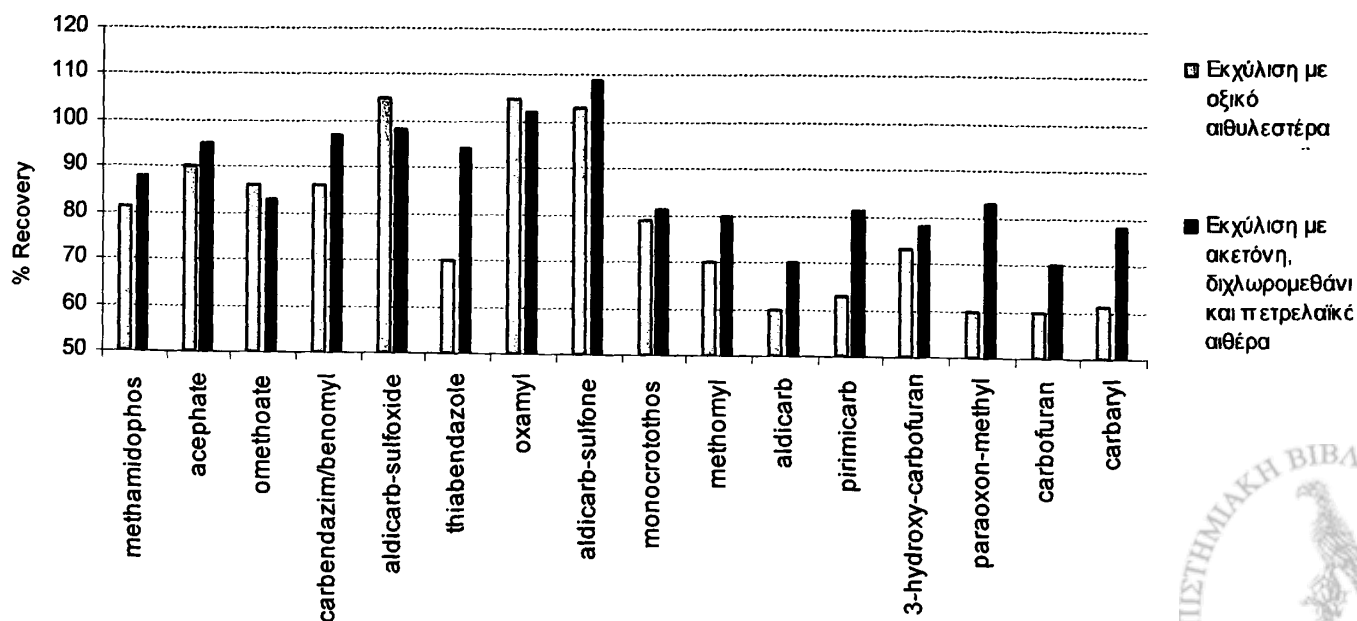
Από τις ουσίες που παρουσίαζαν τις μεγαλύτερες διαφορές στην ανάκτηση για κάθε επίπεδο εμβολιασμού στα διάφορα αντιπροσωπευτικά υποστρώματα οι περισσότερες από αυτές απομονώνονταν ικανοποιητικά κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα. Από τις ουσίες που αναφέρθηκαν ανωτέρω τα φυτοφάρμακα diazinon, parathion, fenitrothion και chlorpyrifos methyl απομονώθηκαν επιτυχώς κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα, ενώ ικανοποιητικά ήταν τα αποτελέσματα που έδωσε η ίδια εκχύλιση για τα φυτοφάρμακα methidathion, malathion και dichlorvos.

Η εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα έδωσε υψηλότερα επίπεδα ανάκτησης για τις ουσίες etrimfos και dimethoate, ενώ η ανάκτηση για τα φυτοφάρμακα triazophos, chlorpyrifos και pirimiphos methyl αν και αποδεκτή εμφανίστηκε εξαρτώμενη του αντιπροσωπευτικού υποστρώματος.

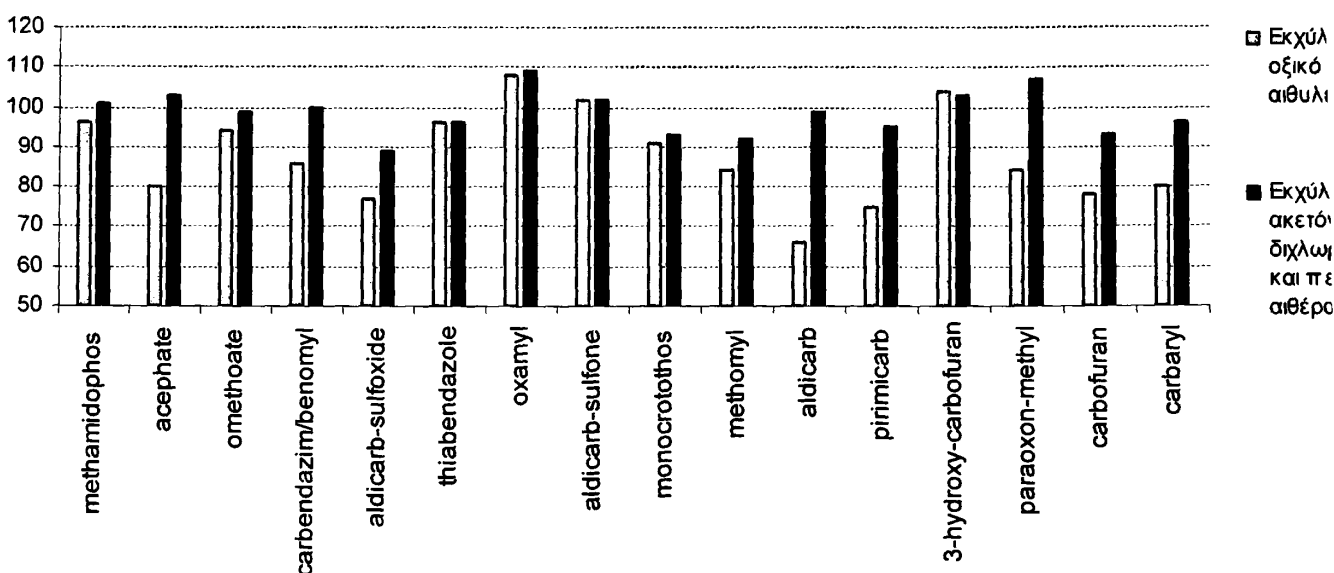
ΥΠΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD)% 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD)% 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΓΥΓΑΡΤΟΚΑΡΠΑ			
methamidophos	81±17,3	96±18,4	88±16,8	101±15,3
acephate	90±12,8	80±15,8	95±17,0	103±11,2
omethoate	86±16,5	94±15,1	83±14,7	99±12,5
carbendazim/benomyl	86±19,3	86±16,7	97±13,8	100±9,0
aldicarb	60±18,8	66±15,9	70±17,4	99±16,9
aldicarb-sulfoxide	105±18,0	77±19,2	98±15,2	89±16,1
aldicarb-sulfone	103±11,3	102±15,0	109±12,7	102±13,1
thiabendazole	70±17,4	96±14,3	94±10,2	96±11,5
oxamyl	105±10,8	108±8,9	102±9,9	109±8,6
monocrotothos	79±17,6	91±12,9	81±16,8	93±14,3
methomyl	70±11,2	84±14,2	80±6,5	92±7,1
pirimicarb	63±19,4	75±19,0	81±18,3	95±17,6
carbofuran	60±16,7	78±16,1	70±18,7	93±17,3
3-hydroxy-carbofuran	73±11,7	104±12,6	78±10,9	103±9,5
paraoxon-methyl	60±18,9	84±17,3	83±15,6	107±14,4
carbaryl	61±14,4	80±14,1	78±15,9	96±16,3

Πίνακας 6.4.β1: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα γυγάρτοκαρπα

Υπόστρωμα Γυγάρτοκαρπα: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Γιγαρτόκαρπα: 0.05mg/kg

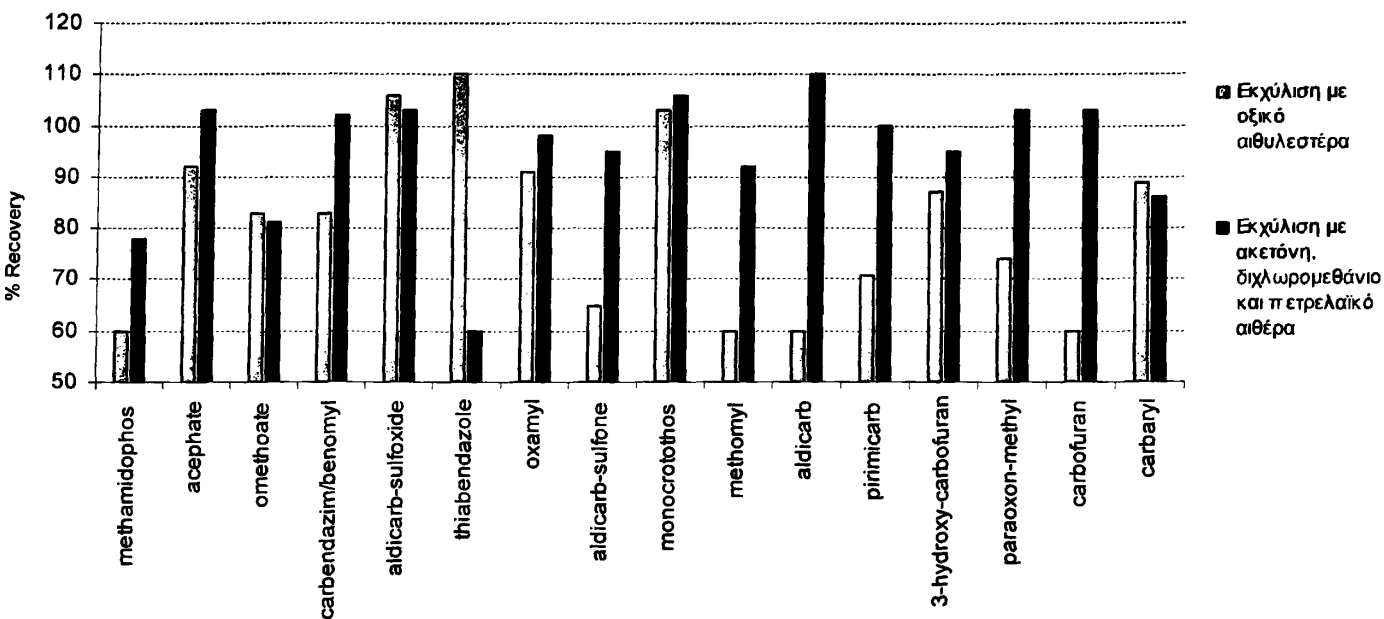


Διαγράμματα 6.4.β1: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα γιγαρτόκαρπα

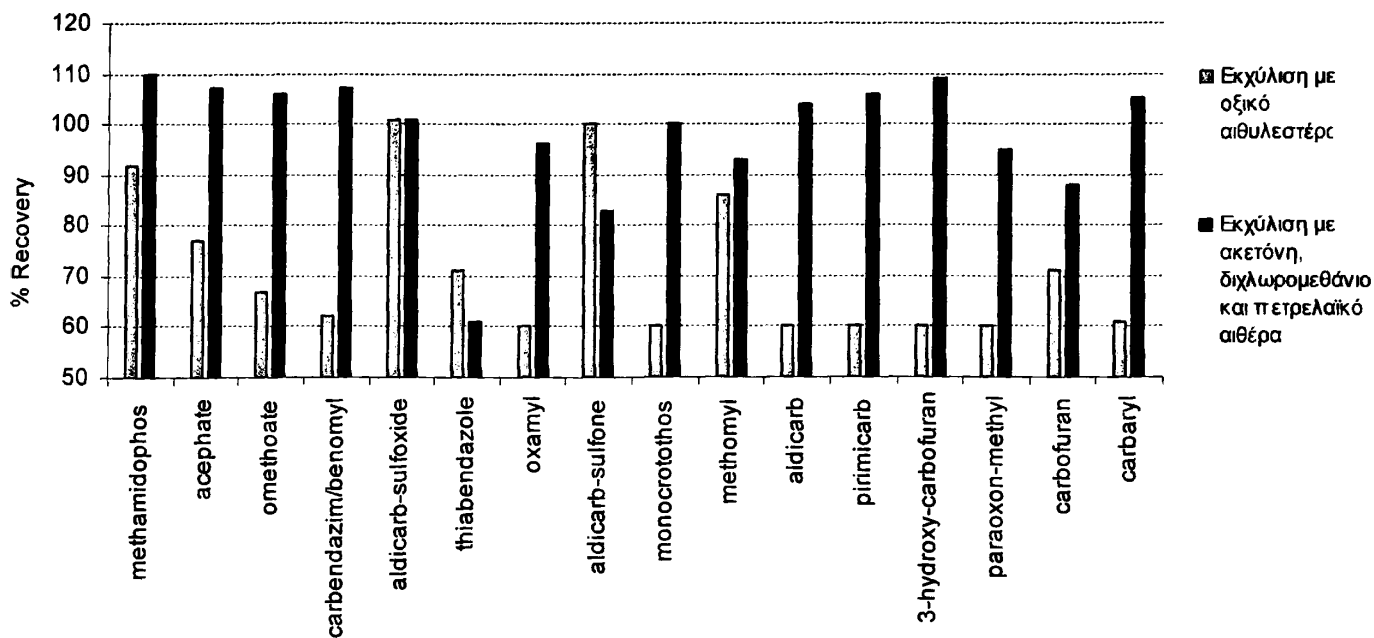
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ - ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαιοειδή	
	(R ± RSD)% 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD)% 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΚΑΡΠΟΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ			
methamidophos	60±17,9	92±14,3	78±16,1	110±9,8
acephate	92±13,7	77±12,6	103±14,0	107±14,7
omethoate	83±11,9	67±9,3	81±13,7	106±12,5
carbendazim/benomyl	83±18,2	62±17,6	102±16,0	107±17,1
aldicarb	60±18,2	60±17,5	110±16,4	104±16,7
aldicarb-sulfoxide	106±18,4	101±18,8	103±14,6	101±16,3
aldicarb-sulfone	65±18,7	100±13,2	95±12,9	83±15,5
thiabendazole	110±11,0	71±13,4	60±18,9	61±19,3
oxamyl	91±12,2	60±9,5	98±8,3	96±7,6
monocrotothos	103±9,4	60±8,6	106±7,2	100±7,9
methomyl	60±12,1	86±13,2	92±9,5	93±6,4
pirimicarb	71±18,8	60±19,1	100±17,3	106±18,1
carbofuran	60±15,8	71±14,0	103±17,1	88±9,7
3-hydroxy-carbofuran	87±12,4	60±9,9	95±8,5	109±7,4
paraoxon-methyl	74±13,9	60±14,6	103±14,2	95±11,0
carbaryl	89±17,2	61±16,5	86±16,3	105±15,4

Πίνακας 6.4.β2: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα καρποί λαχανικών

Υπόστρωμα Καρποί Λαχανικών: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Καρποί Λαχανικών: 0.05mg/kg

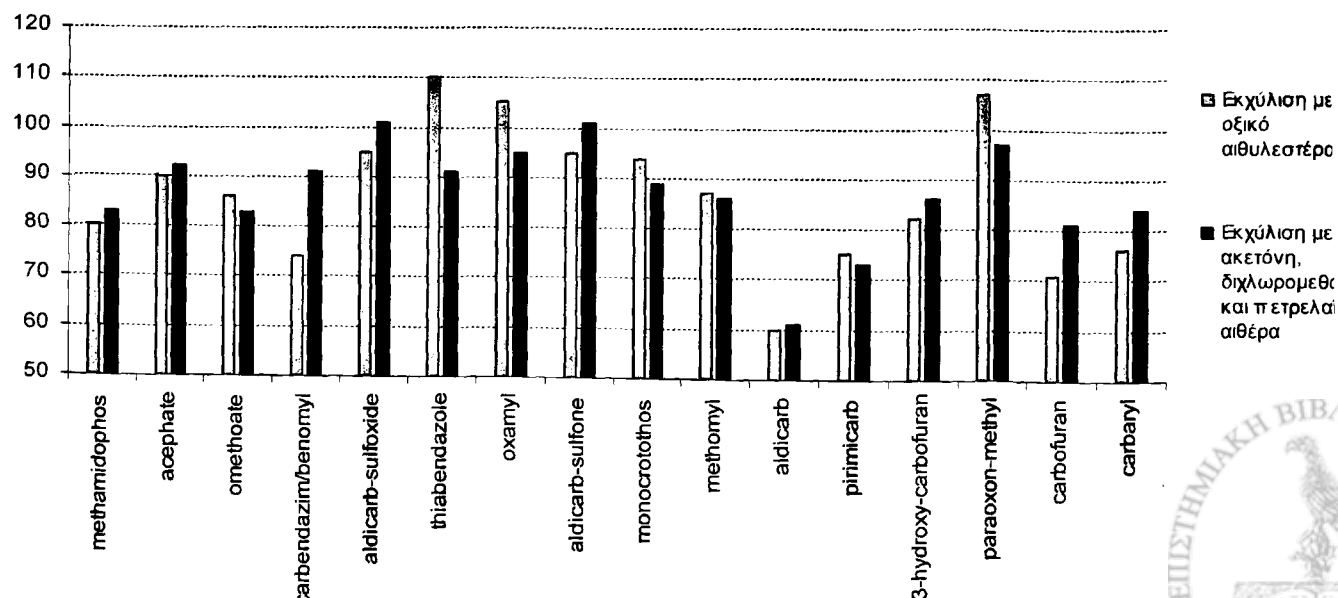


Διαγράμματα 6.4.82: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα καρποί λαχανικών

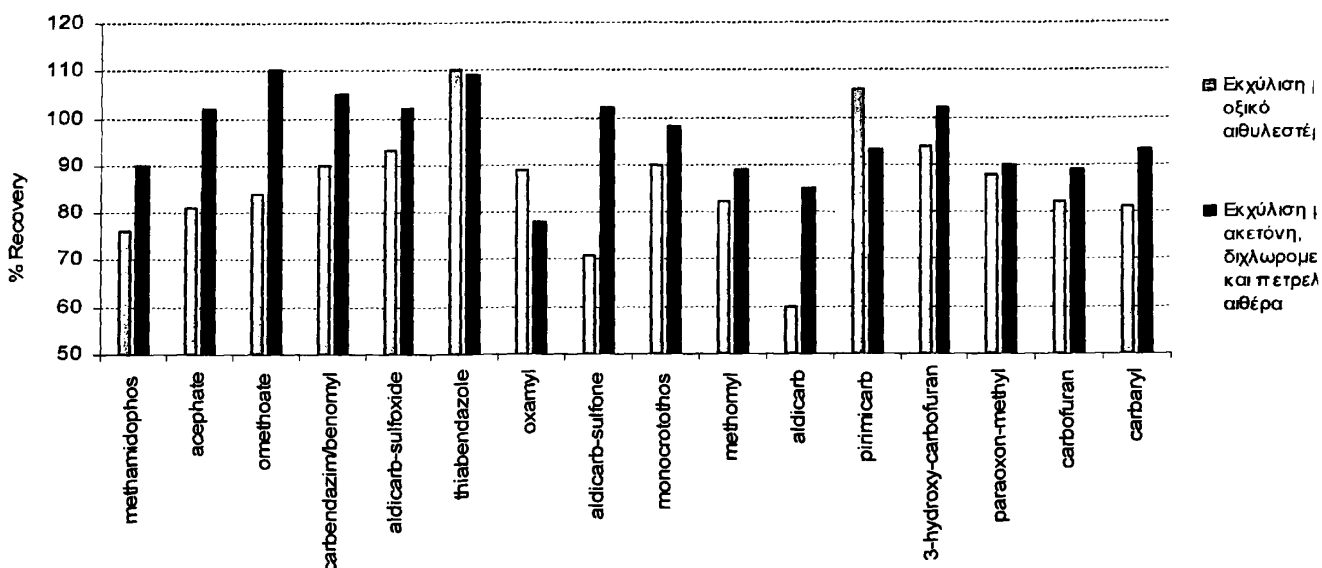
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΠΥΡΗΝΟΚΑΡΠΑ			
methamidophos	80±10,9	76±7,3	83±12,6	90±11,1
acephate	90±15,7	81±16,4	92±14,0	102±14,8
omethoate	86±12,1	84±14,5	83±16,3	110±10,6
carbendazim/benomyl	74±19,4	90±18,7	91±18,6	105±17,2
aldicarb	60±19,5	60±18,1	61±17,2	85±16,7
aldicarb-sulfoxide	95±18,6	71±19,0	101±19,4	102±19,2
aldicarb-sulfone	95±18,9	93±19,2	101±19,1	102±17,8
thiabendazole	110±11,7	110±9,5	91±13,0	109±12,4
oxamyl	105±15,2	89±14,7	95±16,3	78±17,7
monocrothos	94±16,2	90±15,8	89±14,5	98±13,9
methomyl	87±11,3	82±14,0	86±13,7	89±12,5
pirimicarb	75±17,1	106±17,9	73±13,8	93±14,5
carbofuran	71±13,3	82±11,7	81±14,6	89±14,1
3-hydroxy-carbofuran	82±16,4	94±14,8	86±15,2	102±16,0
paraoxon-methyl	107±13,7	88±12,0	97±11,8	90±9,5
carbaryl	76±12,8	81±11,9	84±13,4	93±12,5

Πίνακας 6.4.β3: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα πυρηνόκαρπα

Υπόστρωμα Πυρηνόκαρπα: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Πυρηνόκαρπα: 0.05mg/kg

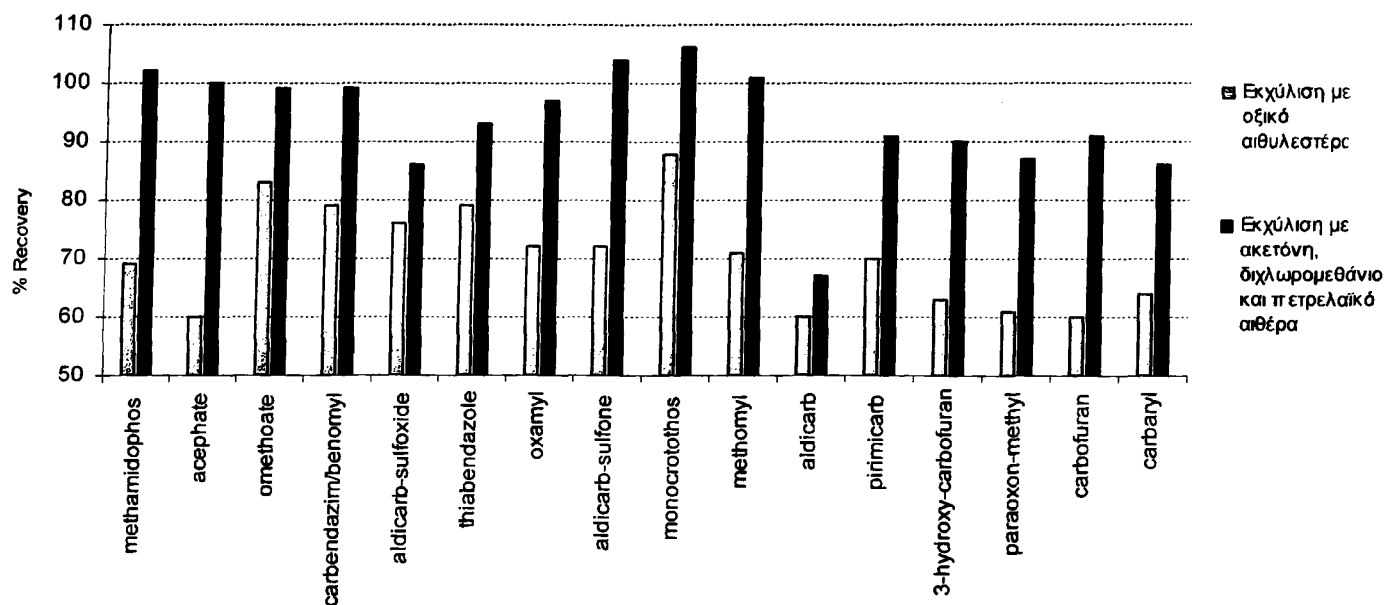


Διαγράμματα 6.4.β3: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα πυρηνόκαρπα

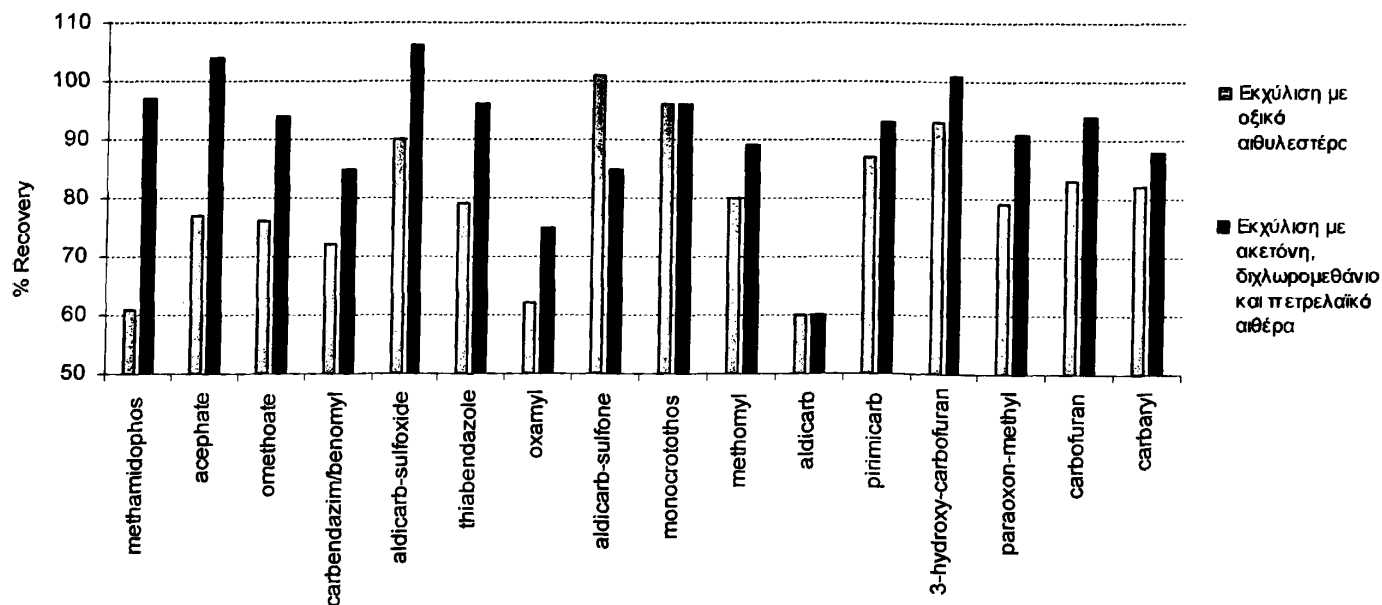
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ - ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελ αιθέρα	
	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ			
methamidophos	69±16,1	61±17,2	102±14,1	97±13,5
acephate	60±10,5	77±9,8	100±11,2	104±11,7
omethoate	83±9,3	76±5,7	99±8,3	94±13,0
carbendazim/benomyl	79±19,4	72±18,2	99±17,3	85±16,4
aldicarb	60±18,9	60±17,7	67±16,9	60±18,3
aldicarb-sulfoxide	72±17,3	101±14,2	104±15,5	85±15,7
aldicarb-sulfone	76±18,6	90±17,9	86±16,9	106±16,3
thiabendazole	79±12,2	79±11,3	93±13,4	96±12,8
oxamyl	72±11,9	62±12,0	97±12,8	75±13,1
monocrotothos	88±16,2	96±13,5	106±11,0	96±9,2
methomyl	71±13,8	80±10,1	101±9,6	89±14,1
pirimicarb	70±16,4	87±15,8	91±18,1	93±19,0
carbofuran	60±18,5	83±17,2	91±16,3	94±14,2
3-hydroxy-carbofuran	63±17,4	93±15,5	90±16,2	101±11,8
paraoxon-methyl	61±19,1	79±14,3	87±10,6	91±9,7
carbaryl	64±15,7	82±16,1	86±11,9	88±13,3

Πίνακας 6.4.β4: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα εσπεριδοειδή

Υπόστρωμα Εσπεριδοειδή: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Εσπεριδοειδή: 0.05mg/kg

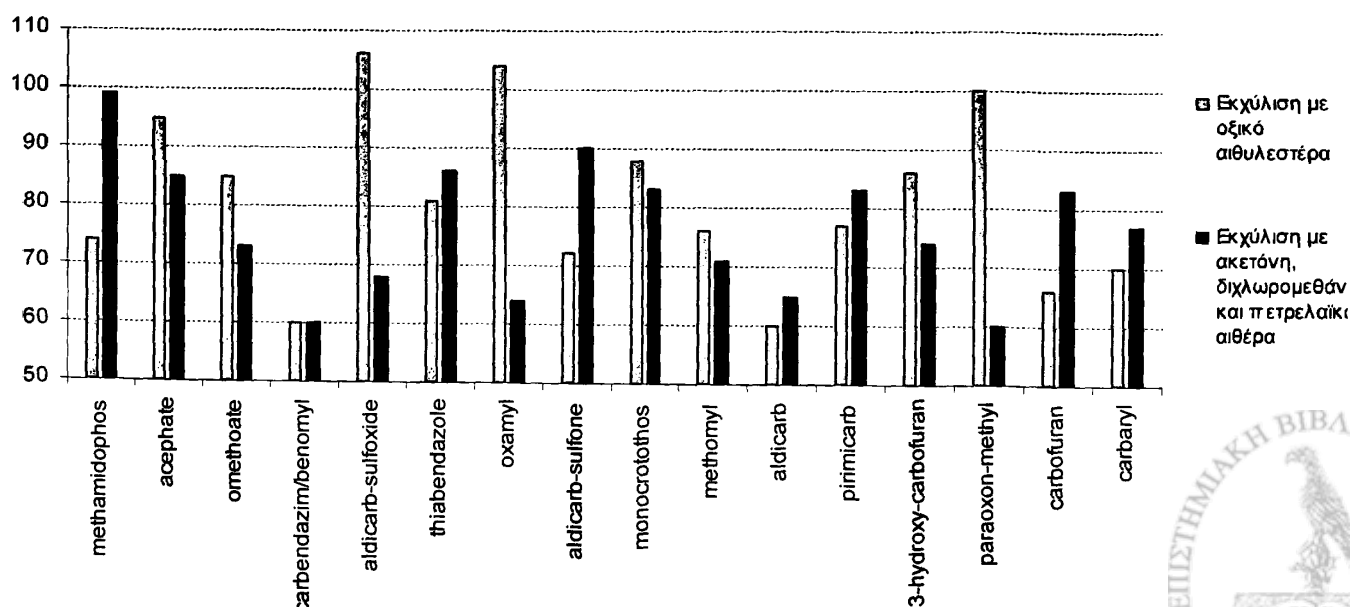


Διαγράμματα 6.4.β4: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα εσπεριδοειδή

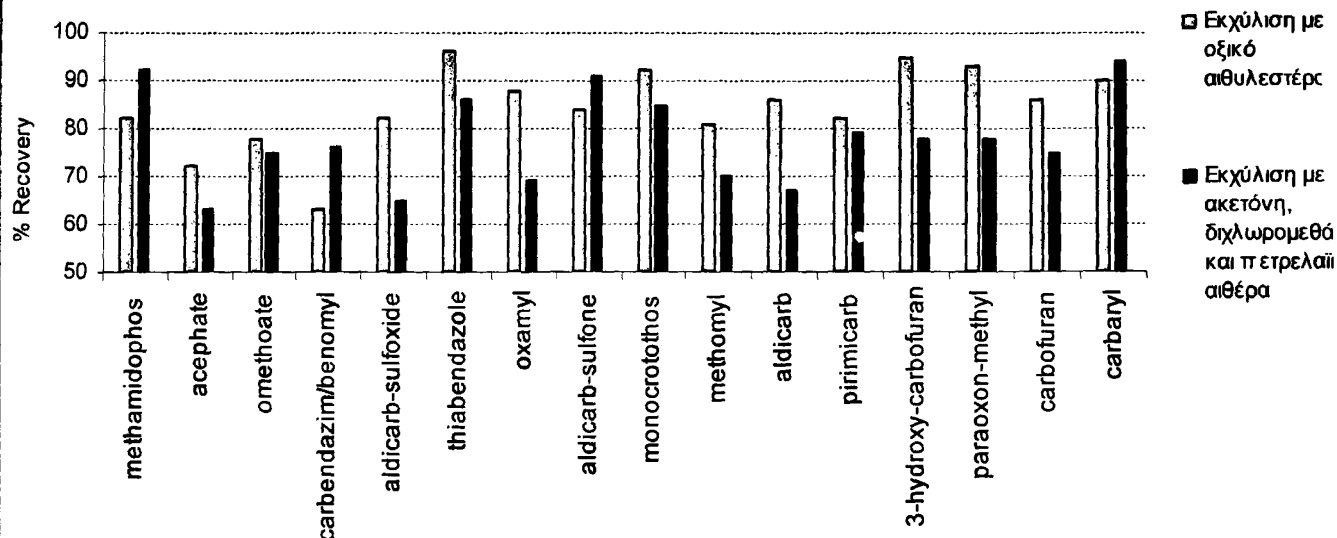
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΦΥΛΛΩΔΗ ΛΑΧΑΝΙΚΑ - ΚΡΑΜΒΕΣ			
methamidophos	74±17,1	82±13,6	99±10,5	92±9,8
acephate	95±11,8	72±12,4	85±15,6	63±18,7
omethoate	85±13,2	78±11,5	73±12,0	75±14,3
carbendazim/benomyl	60±19,4	63±18,7	60±17,4	76±18,2
aldicarb	60±19,6	86±17,3	65±19,4	67±18,0
aldicarb-sulfoxide	72±17,3	84±18,8	90±18,0	91±18,4
aldicarb-sulfone	106±18,6	82±15,0	68±18,3	65±19,1
thiabendazole	81±10,5	96±13,1	86±14,2	86±13,6
oxamyl	104±9,0	88±9,3	64±8,7	69±10,5
monocrothos	88±16,7	92±14,5	83±15,1	85±15,7
methomyl	76±13,8	81±8,2	71±12,9	70±11,8
pirimicarb	77±18,2	82±17,9	83±18,0	79±16,2
carbofuran	66±18,0	86±12,1	83±15,5	75±14,6
3-hydroxy-carbofuran	86±14,7	95±9,9	74±11,3	78±10,5
paraoxon-methyl	100±15,9	93±14,7	60±18,2	78±13,3
carbaryl	70±14,3	90±11,7	77±16,0	94±16,5

Πίνακας 6.4.β5: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα φυλλώδη λαχανικά - κράμβες

Υπόστρωμα Φυλλώδη Λαχανικά - Κράμβες: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Φυλλώδη Λαχανικά - Κράμβες: 0.05mg/kg

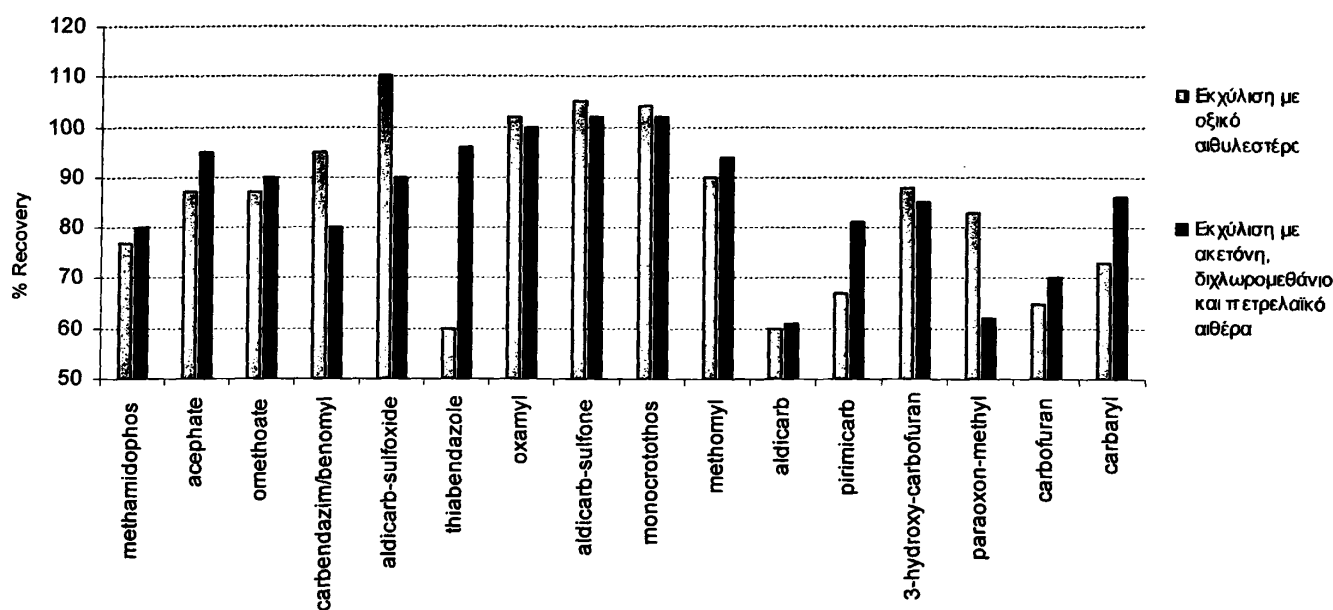


Διαγράμματα 6.4.β5: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα φυλλώδη λαχανικά - κράμβες

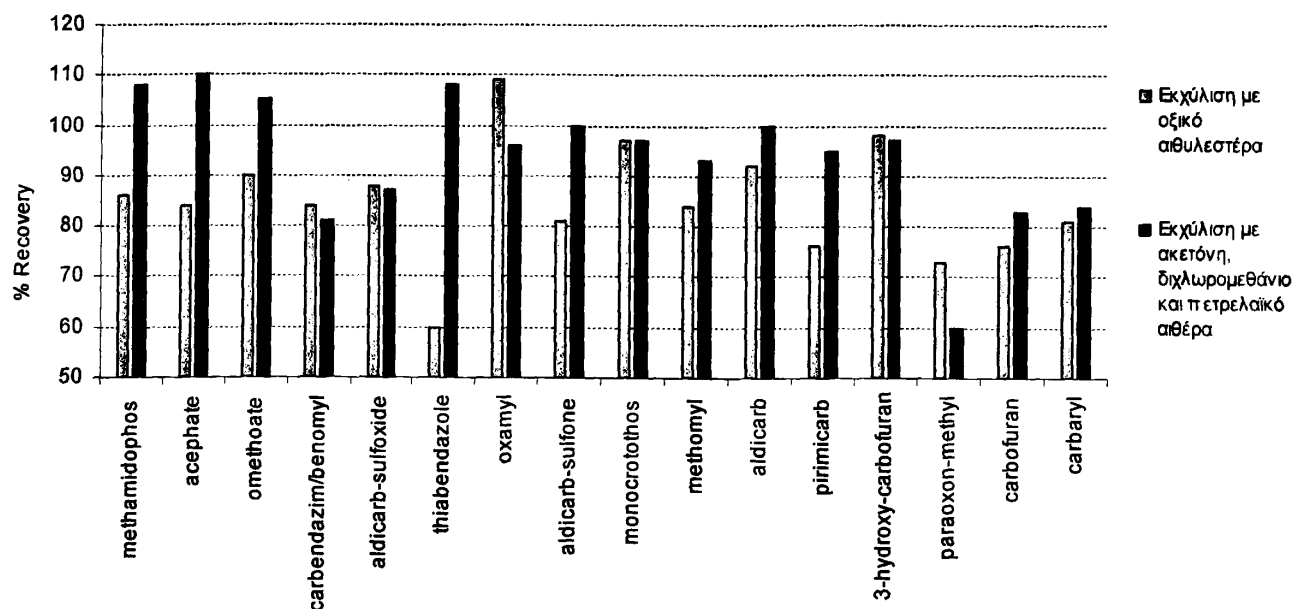
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ - ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ				
ΟΥΣΙΑ	Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα		Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα	
	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg	(R ± RSD) 0.01mg/kg	(R ± RSD)% 0.05mg/kg
ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΒΟΛΒΟΙ - ΡΙΖΕΣ			
methamidophos	77±12,3	86±9,7	80±8,6	108±7,4
acephate	87±11,9	84±8,8	95±6,3	110±5,9
omethoate	87±14,8	90±12,0	90±14,2	105±13,1
carbendazim/benomyl	95±19,2	84±17,9	80±16,9	81±16,8
aldicarb	64±17,9	92±15,1	71±16,5	100±13,3
aldicarb-sulfoxide	105±17,5	81±12,6	102±13,6	100±9,6
aldicarb-sulfone	110±18,7	88±15,3	90±17,8	87±16,7
thiabendazole	60±17,6	60±19,0	96±15,5	108±14,3
oxamyl	102±13,0	109±10,4	100±9,7	96±11,2
monocrotothos	104±16,3	97±11,5	102±12,3	97±5,0
methomyl	90±14,1	84±12,3	94±9,5	93±8,7
pirimicarb	67±18,0	76±15,8	81±16,0	95±16,9
carbofuran	65±14,5	76±11,4	70±9,2	83±6,7
3-hydroxy-carbofuran	88±10,2	98±6,7	85±7,8	97±5,4
paraoxon-methyl	83±9,6	73±4,2	62±17,3	60±16,8
carbaryl	73±12,7	81±9,9	86±10,0	84±4,3

Πίνακας 6.4.β6: Μέσες ανακτήσεις και αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις για το υπόστρωμα βολβοί - ρίζες

Υπόστρωμα Βολβοί – Ρίζες: 0.01mg/kg



Υπόστρωμα Βολβοί – Ρίζες: 0.05mg/kg



Διαγράμματα 6.4.Β6: Μέσες ανακτήσεις από τον έλεγχο ορθότητας για το υπόστρωμα βολβοί - ρίζες



Όπως προκύπτει από τα ανωτέρω διαγράμματα και πίνακες οι δύο εκχύλισεις που δοκιμάστηκαν δεν έδωσαν την ίδια μέση ανάκτηση για κάθε ουσία σε κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα. Αξιόλογες διαφορές στη μέση ανάκτηση σε κάθε εκχύλιση παρουσίασαν:

1) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «γιγαρτόκαρπα»:

- οι ουσίες acephate, carbendazim/benomyl, thiabendazole, methomyl, pirimicarb, paraoxon methyl, carbofuran, carbaryl, aldicarb και aldicarb sulfoxide που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της χαμηλής ανάκτησης (%Recovery $\approx$ 60%) που εμφάνισαν οι ουσίες pirimicarb, paraoxon methyl, carbofuran, aldicarb και carbaryl στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.01mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και της χαμηλής ανάκτησης (%Recovery $\approx$ 60%) που παρουσίασε η ουσία aldicarb στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.05mg/kg για την ίδια εκχύλιση, στα δείγματα γιγαρτόκαρπων που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

2) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «καρποί λαχανικών»:

- η ουσία thiabendazole που απομονώθηκε με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες methamidophos, acephate, carbendazim/benomyl, methomyl, pirimicarb, paraoxon methyl, carbofuran και 3-hydroxy-carbofuran, carbaryl, aldicarb, oxamyl, monocrotophos που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της χαμηλής ανάκτησης (%Recovery $\approx$ 60%) που εμφάνισαν οι ουσίες methamidophos, aldicarb, methomyl και carbofuran στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.01mg/kg και οι ουσίες carbendazim/benomyl, aldicarb, pirimicarb, carbaryl, 3-hydroxy-carbofuran, oxamyl, monocrotophos και paraoxon methyl στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.05mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα καρπών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

3) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «πυρηνόκαρπα»:



- οι ουσίες thiabendazole, oxamyl, pirimicarb και paraoxon methyl που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα
- οι ουσίες carbendazim/benomyl, aldicarb, methamidophos, acephate, carbaryl και aldicarb sulfone που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της χαμηλής ανάκτησης (%Recovery $\approx$ 60%) που παρουσίασε η ουσία aldicarb στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.05mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα πυρηνοκάρπων που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

4) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «εσπεριδοειδή»:

Η εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα έδωσε υψηλότερη ανάκτηση για όλες τις προσδιοριζόμενες ενώσεις στο χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού, ενώ στο υψηλό επίπεδο εμβολιασμού η εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα έδωσε υψηλότερη ανάκτηση μόνο για το φυτοφάρμακο monocrotophos. Στα δείγματα εσπεριδοειδών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

5) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «φυλλώδη λαχανικά - κράμβες»:

- οι ουσίες acephate, omethoate, aldicarb, aldicarb sulfoxide, 3-hydroxy-carbofuran, paraoxon methyl, thiabendazole, oxamyl και methomyl που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.
- οι ουσίες carbendazim/benomyl, methamidophos, carbaryl και aldicarb sulfone που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισε η ουσία paraoxon methyl στο εμβολιασμένο δείγμα συγκέντρωσης 0.01mg/kg για την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα. στα δείγματα φυλλωδών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα.

6) Στο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα «βολβοί – ρίζες»:

- οι ουσίες carbendazim/benomyl, aldicarb sulfoxide, paraoxon methyl και oxamyl που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα .
- οι ουσίες carbaryl, methomyl, aldicarb sulfone, omethoate, acephate, methamidophos, pirimicarb και thiabendazole που απομονώθηκαν με μεγαλύτερη επιτυχία κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Εξαιτίας της συγκριτικά χαμηλής ανάκτησης που εμφάνισε η ουσία paraoxon methyl στα εμβολιασμένα δείγματα συγκέντρωσης 0.01mg/kg και 0.05mg/kg για την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα στα δείγματα βολβών και ριζών λαχανικών που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε κατά την επεξεργασία εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Από τις ουσίες που παρουσίαζαν τις μεγαλύτερες διαφορές στην ανάκτηση για κάθε επίπεδο εμβολιασμού στα διάφορα αντιπροσωπευτικά υποστρώματα οι περισσότερες από αυτές απομονώνονταν ικανοποιητικά κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα. Από τις ουσίες που αναφέρθηκαν ανωτέρω κατά την εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα απομονώθηκαν επιτυχώς τα φυτοφάρμακα carbendazim/benomyl, methomyl, pirimicarb, carbofuran, carbaryl, acephate, aldicarb, aldicarb sulfone, methamidophos και monocrotophos.

Η εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα έδωσε ικανοποιητικότερα επίπεδα ανάκτησης για το φυτοφάρμακο oxamyl, ενώ η ανάκτηση για τα φυτοφάρμακα thiabendazole, paraoxon methyl, aldicarb, aldicarb sulfoxide, 3-hydroxy-carbofuran και omethoate αν και αποδεκτή εμφανίστηκε εξαρτώμενη του αντιπροσωπευτικού υποστρώματος.

6.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΙΣΤΟΤΗΤΑΣ

Η πιστότητα (precision) εκφράζει τη διασπορά των αποτελεσμάτων, όταν η αναλυτική μεθοδολογία επαναλαμβάνεται σε ένα δείγμα. Ένα μέτρο της πιστότητας είναι η επαναληψιμότητα, η οποία εκφράζεται με την τυπική απόκλιση (Standard Deviation, SD και τη σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD).[29]

Ο προσδιορισμός της πιστότητας μέτρησης στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 10 ανεξάρτητες ενέσεις των δύο προτύπων μιγμάτων συγκέντρωσης 0.10mg/kg ενώ για τον προσδιορισμό της πιστότητας μέτρησης στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα χρησιμοποιήθηκαν 10 ανεξάρτητες ενέσεις του προτύπου μίγματος συγκέντρωσης 0.05mg/kg.

Στους Πίνακες 6.5.α και 6.5.β που ακολουθούν καταγράφονται οι τυπικές και οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις που υπολογίστηκαν για το εμβαδόν της κορυφής του αναλύτη από τον έλεγχο της πιστότητας στο αεριοχρωματογραφικό και στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα. Οι κατωτέρω τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων σαν ένδειξη της επαναληψιμότητας του οργάνου, είναι χαμηλότερες του 14% για όλες τις ουσίες που μελετήθηκαν.[48]



Προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα φρούτων και λαχανικών με χρήση αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και υγρής χρωματογραφίας-δίδυμης φασματομετρίας μαζών

ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
Ουσία	SD	RSD
dichlorvos	0,02	2,3
methacrifos	0,02	2,2
diazinon	0,03	3,8
etrimfos	0,02	2,4
chlorpyrifos-methyl	0,01	1,1
pyrimiphos-methyl	0,03	3,7
chlorpyrifos-ethyl	0,02	2,2
malathion	0,03	3,7
fenitrothion	0,03	4,3
triazophos	0,06	6,3
methidathion	0,05	6,1
parathion-ethyl	0,02	1,8
dimethoate	0,11	12,0

Πίνακας 6.5α: Τυπικές και σχετικές τυπικές αποκλίσεις που υπολογίστηκαν από τον έλεγχο της πιστότητας στο GC-FPD.

ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
Ουσία	SD	RSD
acephate	0,50	1,0
methamidophos	1,50	3,0
aldicarb sulfoxide	1,81	3,7
omethoate	1,86	3,8
thiabendazole	1,14	2,3
carbendazim/benomyl	1,51	3,2
oxamyl	0,62	1,3
aldicarb sulfone	1,54	3,1
monocrotophos	0,86	1,7
methomyl	0,52	1,1
pirimicarb	0,38	0,8
aldicarb	0,71	1,5
3-hydroxy-carbofuran	2,23	4,4
paraoxon methyl	0,80	1,6
carbaryl	0,59	1,2
carbofuran	0,57	1,1

Πίνακας 6.5β: Τυπικές και σχετικές τυπικές αποκλίσεις που υπολογίστηκαν από τον έλεγχο της πιστότητας στο LC-MS-MS



6.6 ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑΣ

Ο έλεγχος της γραμμικότητας πραγματοποιείται μέσω της μελέτης της δυναμικής γραμμικής περιοχής απόκρισης του συστήματος για κάθε αναλύτη. Για τον έλεγχο χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα των προσδιοριζόμενων ουσιών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η γραμμικότητα πρέπει να αποδεικνύεται με οπτική εξέταση του διαγράμματος των αναλυτικών σημάτων ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της ουσίας. Αν υπάρχει γραμμική σχέση, τα αποτελέσματα ελέγχου αξιολογούνται με κατάλληλες στατιστικές μεθόδους, όπως με τον υπολογισμό της ευθείας παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Η εξίσωση της ευθείας των προτύπων διαλυμάτων που προκύπτει είναι μία συνάρτηση της μορφής $y=ax+\beta$, όπου το y εκφράζει τα Area των κορυφών των προτύπων ουσιών του διαλύματος και το x την αντίστοιχη συγκέντρωση. Από τη συγκέντρωση των προτύπων ουσιών και τα Area αυτών υπολογίζονται οι συντελεστές α και β (κανόνας των ελαχίστων τετραγώνων), κατασκευάζεται η γραφική παράσταση της συνάρτησης και υπολογίζεται ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης R^2 (correlation coefficient) βάσει του τύπου:

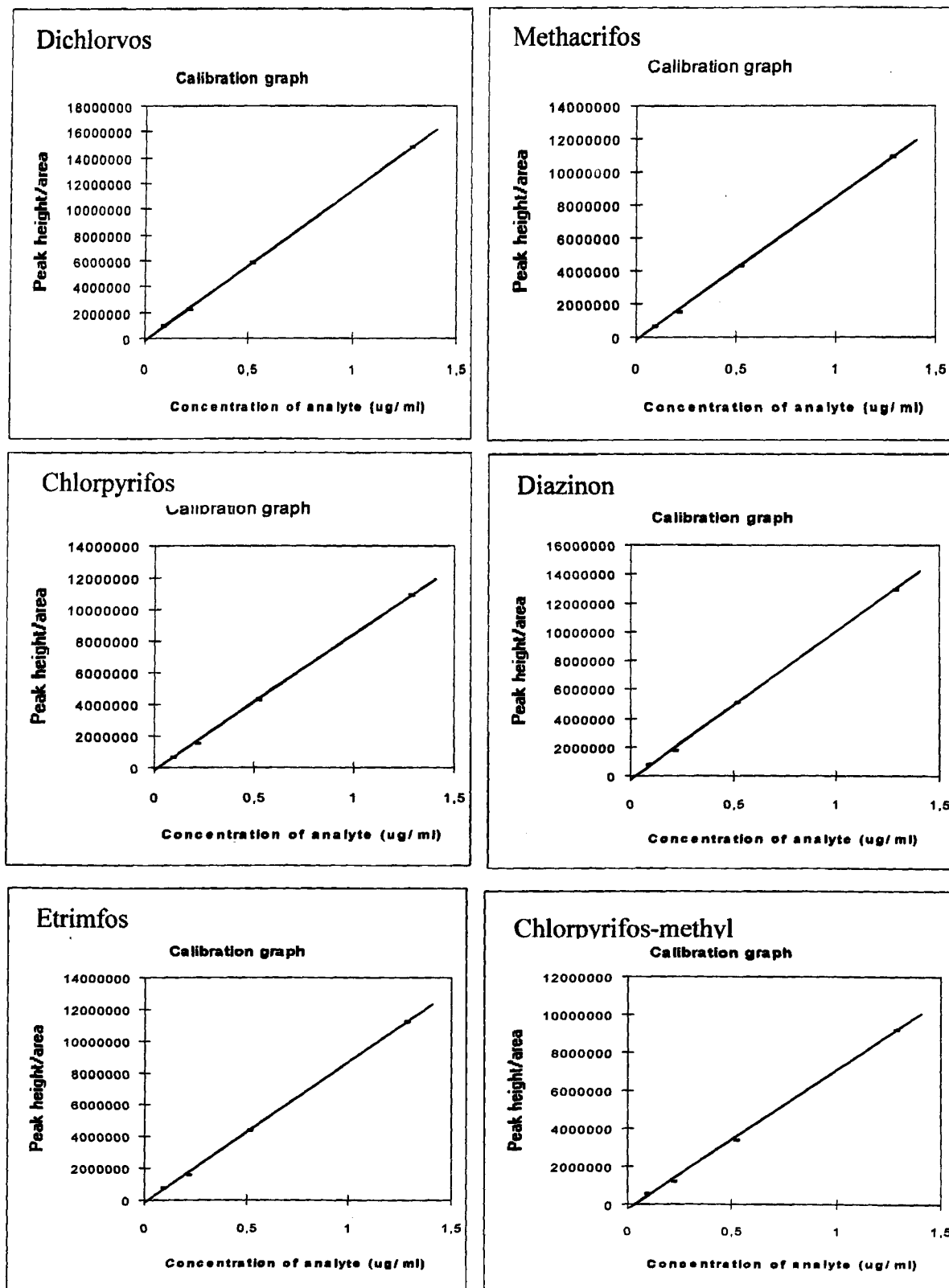
$$R^2 = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}}.$$

Η γραμμικότητα θεωρείται ικανοποιητική όταν $R^2 > 0,98$. [37][63][76]

Για τον έλεγχο της γραμμικότητας του αεριοχρωματογραφικού συστήματος χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα εργασίας (standard working solutions) των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που μελετήθηκαν συγκεντρώσεων 0.033, 0.082, 0.205, 0.512 και 1.28 mg/L, ενώ για τον έλεγχο της γραμμικότητας του υγροχρωματογραφικού-φασματομετρικού συστήματος χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα εργασίας (standard working solutions) των καρβαμιδικών και οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που μελετήθηκαν συγκεντρώσεων 1, 2, 5, 10, 20 και 50 µg/L

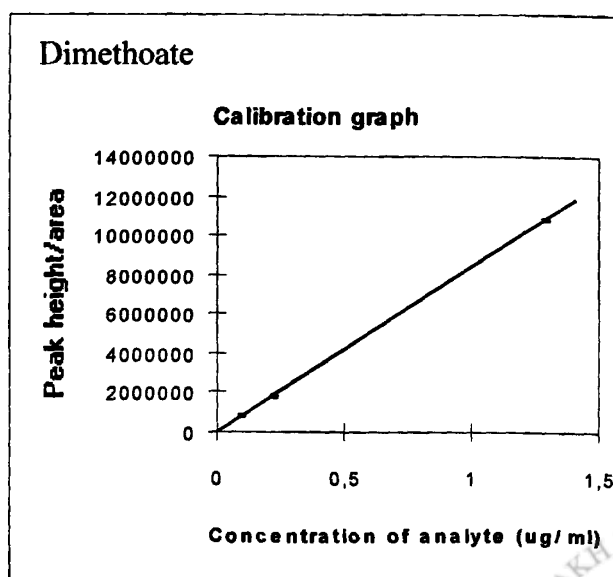
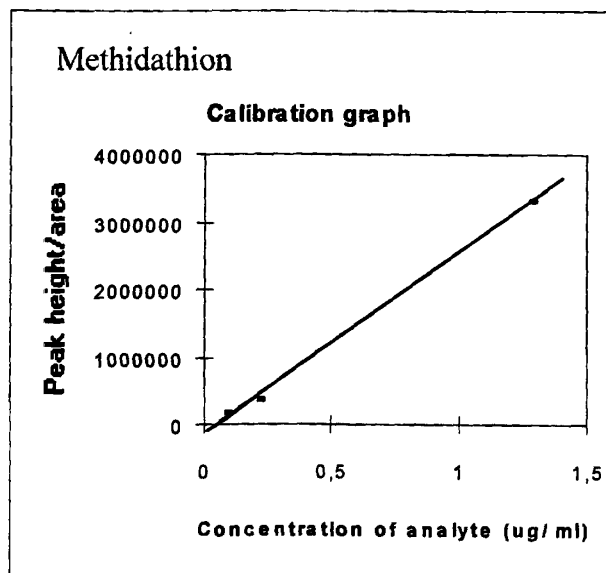
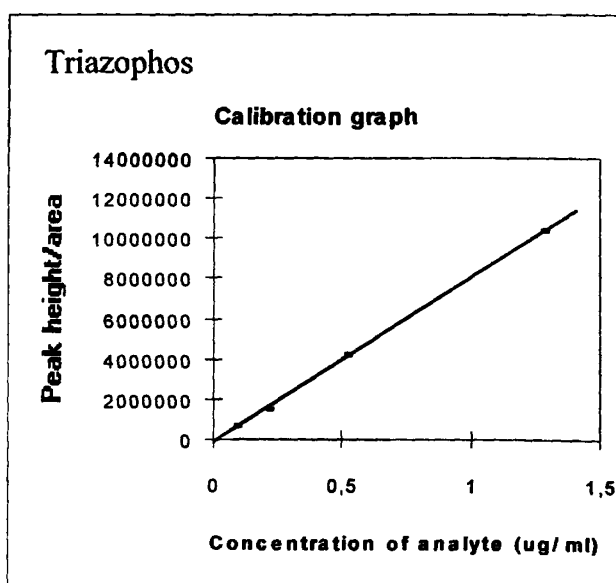
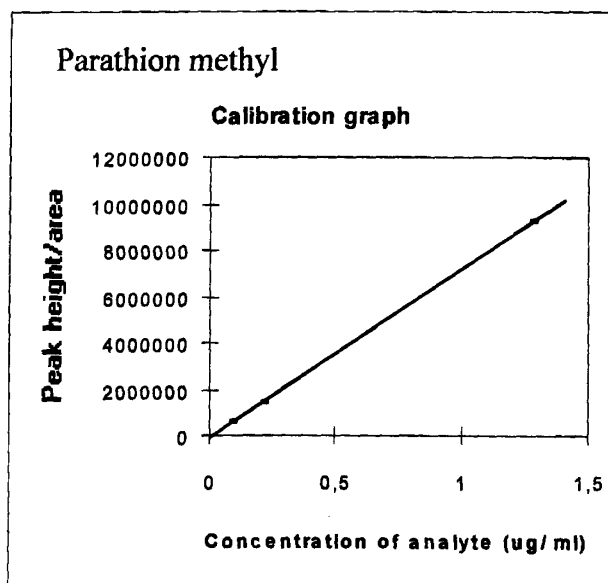
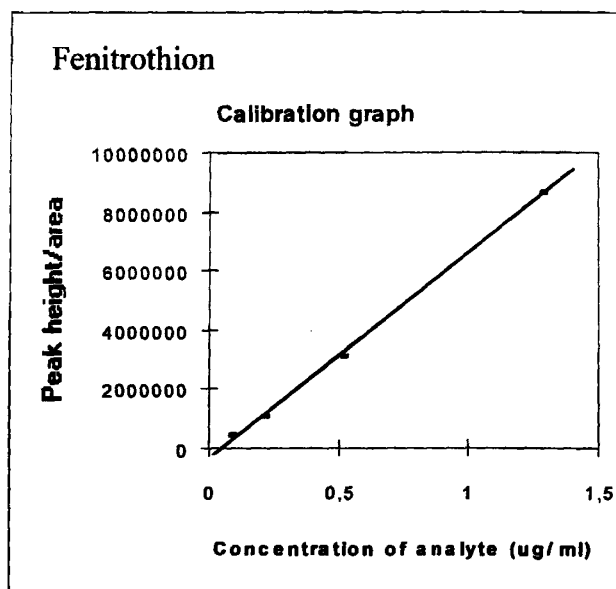
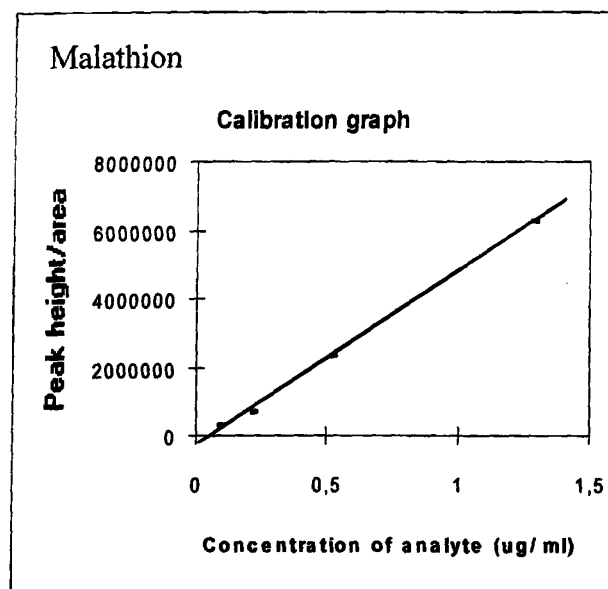
Στα Διαγράμματα 6.6.α και 6.6.β που ακολουθούν δίνονται οι καμπύλες βαθμονόμησης για τις ουσίες που μελετήθηκαν:

ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



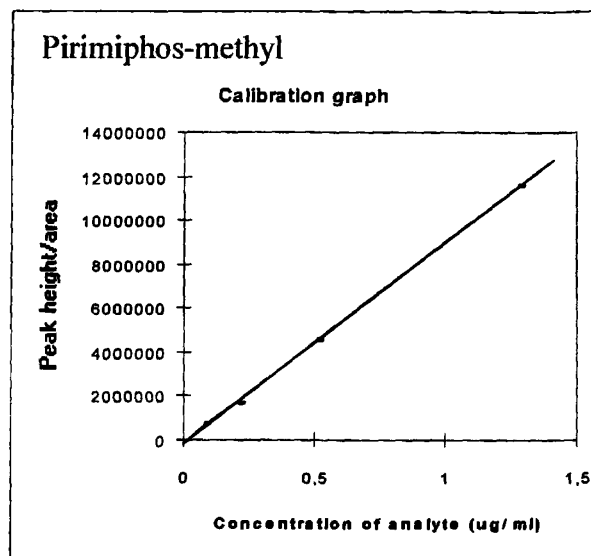
Διαγράμματα 6.6.α: Καμπύλες αναφοράς αεριοχρωματογραφικού συστήματος.





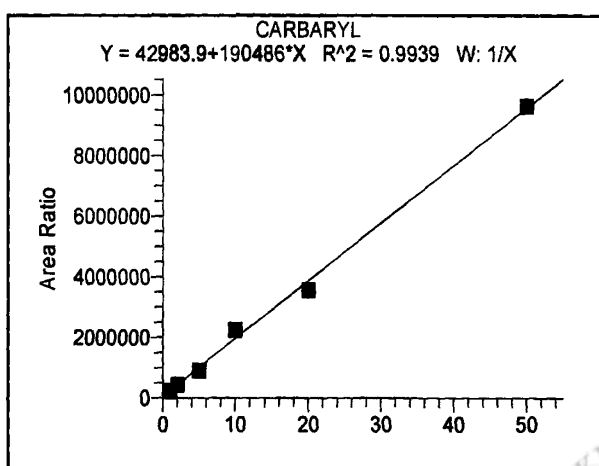
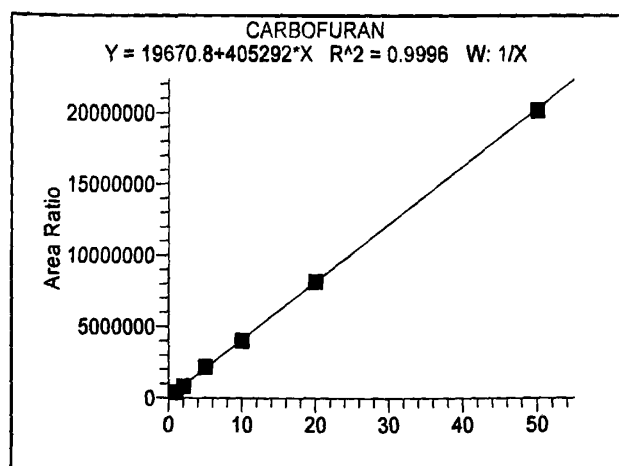
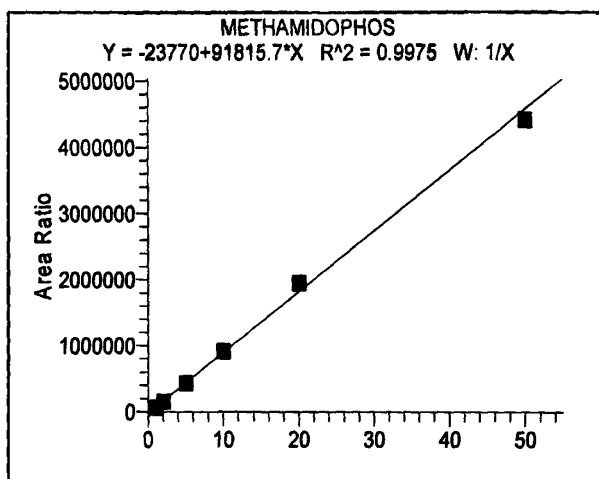
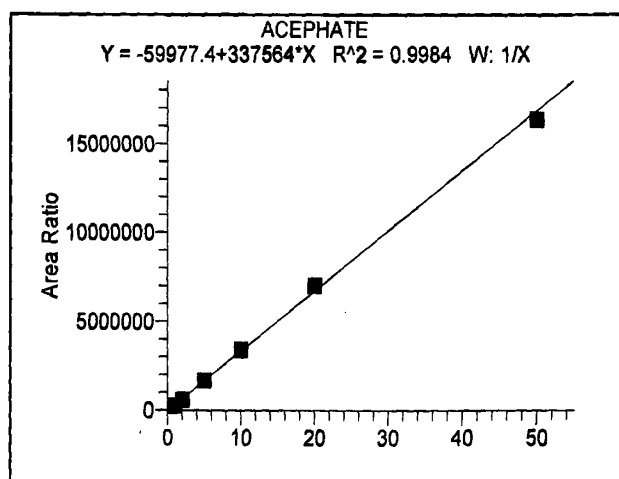
Διαγράμματα 6.6.α (συνέχεια): Καμπύλες αναφοράς αεριοχρωματογραφικού συστήματος.





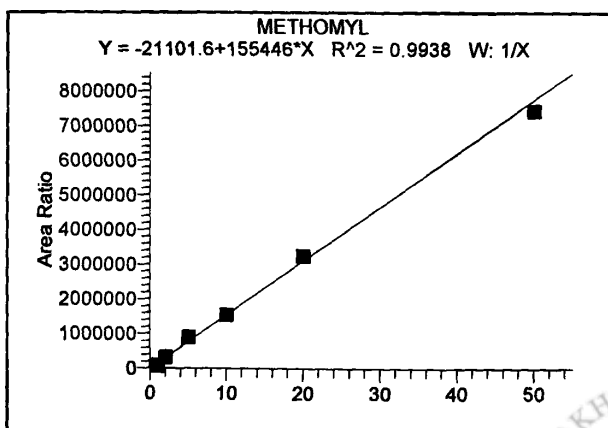
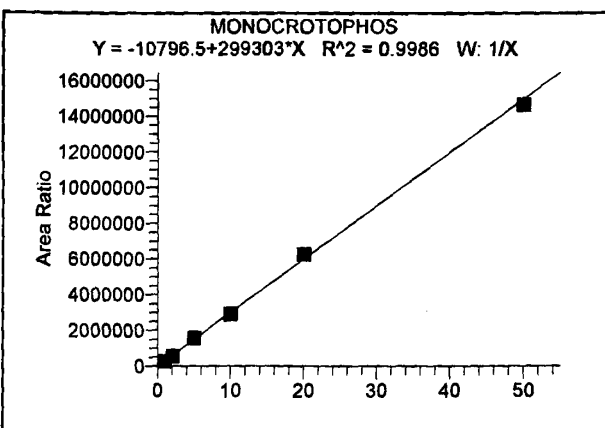
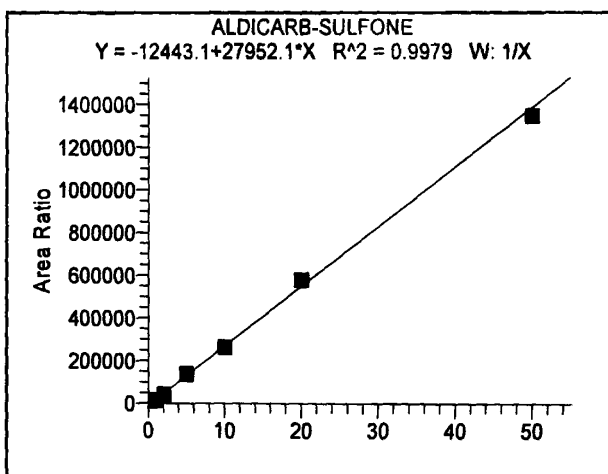
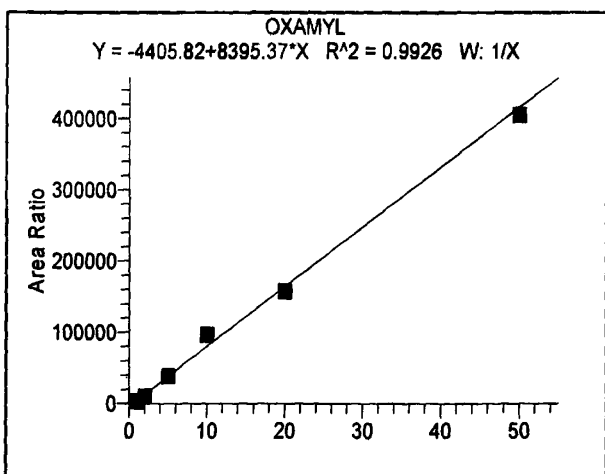
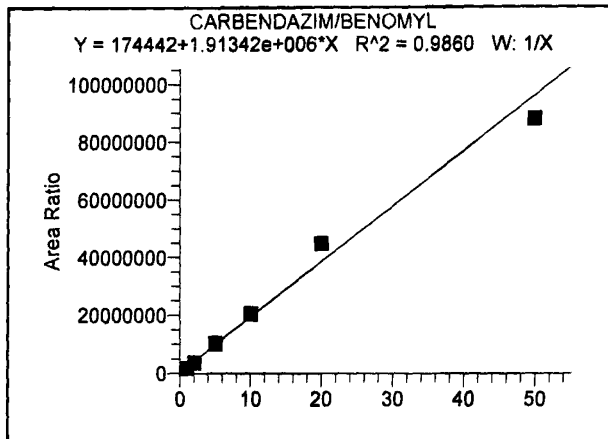
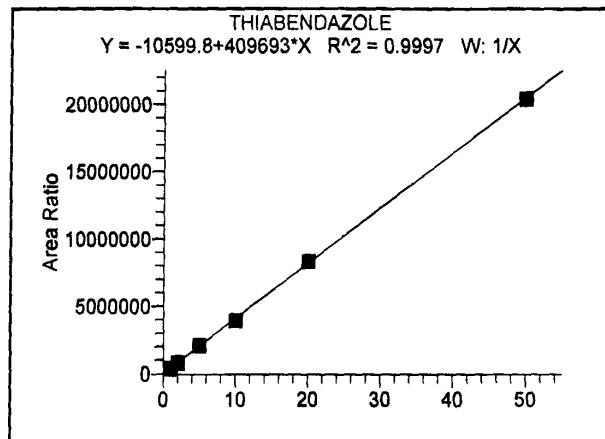
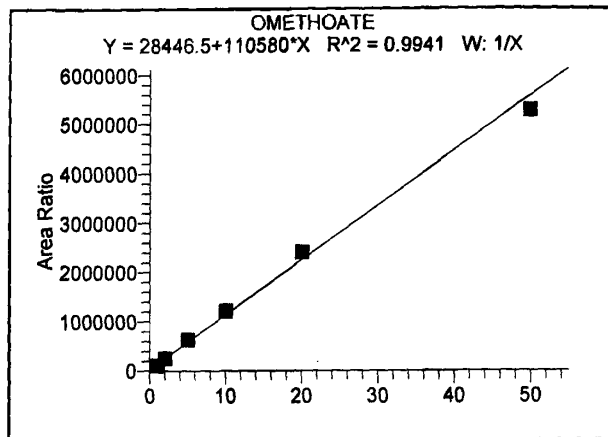
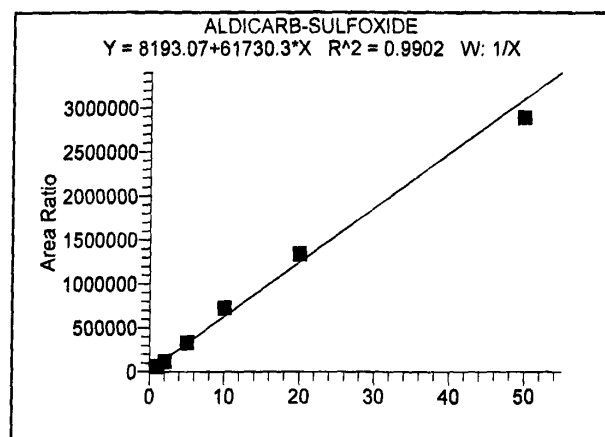
Διαγράμματα 6.6.α (συνέχεια): Καμπύλες αναφοράς αεριοχρωματογραφικού συστήματος.

ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

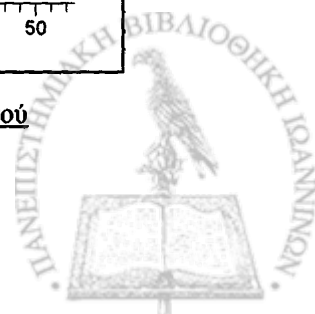


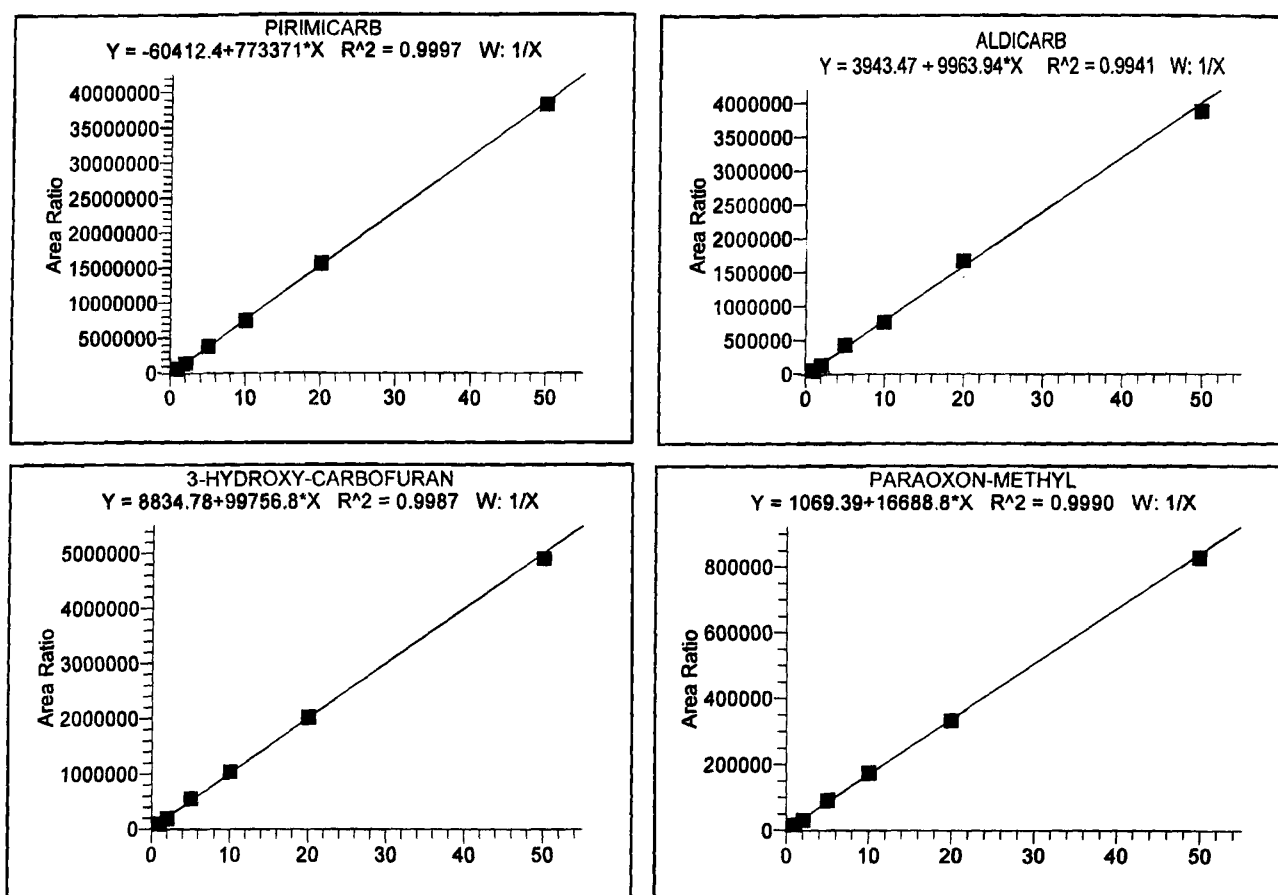
Διαγράμματα 6.6.β: Καμπύλες αναφοράς υγροχρωματογραφικού-φασματομετρικού συστήματος.





Διαγράμματα 6.6.β (συνέχεια): Καμπύλες αναφοράς υγροχρωματογραφικού-φασματομετρικού συστήματος.





Διαγράμματα 6.6.β (συνέχεια): Καμπύλες αναφοράς υγροχρωματογραφικού-φασματομετρικού συστήματος.

Οι συναρτήσεις των γραφικών παραστάσεων των καμπυλών των προτύπων διαλυμάτων και η τιμή του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης για κάθε καμπύλη προτύπου ουσίας που εξετάστηκε από το αεριοχρωματογραφικό σύστημα και από το υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα καταγράφονται στον Πίνακα 6.6 που ακολουθεί:

Προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα φρούτων και λαχανικών με χρήση αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή και υγρής χρωματογραφίας-δίδυμης φασματομετρίας μαζών

ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
Ουσία	Καμπύλη αναφοράς	Συντελεστής Συσχέτισης R ²
dichlorvos	$y=11922470.54x-87646.36$	0.9999
methacrifos	$y=11582184.43x-167612.7$	0.9998
diazinon	$y=10165483.1x-134087.4$	0.9999
etrimfos	$y=9118361.3x-142763.79$	0.9996
chlorpyrifos-methyl	$y=7224990.26x-150759.88$	0.9998
pyrimiphos-methyl	$y=9432957.21x-178529.13$	0.9996
chlorpyrifos-ethyl	$y=8915833.36x-189438.8$	0.9997
malathion	$y=5218621.25x-262204.82$	0.9982
fenitrothion	$y=7170355.17x-194365.22$	0.9992
triazophos	$y=8215637.17x-161897.94$	0.9995
methidathion	$y=2677187.1x-133260.14$	0.9993
parathion-ethyl	$y=7300177.1x-99709.54$	1.0000
dimethoate	$y=4481670.34x-279116.36$	0.9986
ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
Ουσία	Καμπύλη αναφοράς	Συντελεστής Συσχέτισης R ²
acephate	$y=337564x-59977.4$	0.9984
methamidophos	$y=91815.7x-23770$	0.9975
aldicarb sulfoxide	$y=61730.3x+8193.07$	0.9902
omethoate	$y=110580x+28446.5$	0.9941
thiabendazole	$y=409693x-10599.8$	0.9997
carbendazim/benomyl	$y=191342x+174442$	0.9860
oxamyl	$y=8395.37x-4405.82$	0.9926
aldicarb sulfone	$y=27952.1x-12443$	0.9979
monocrotophos	$y=299303x-10796.5$	0.9986
methomyl	$y=155446x-21101$	0.9938
pirimicarb	$y=773371x-60412.4$	0.9997
aldicarb	$y=9963.94x+3943.47$	0.9941
3-hydroxy-carbofuran	$y=99756.8x+8834.78$	0.9987
paraoxon methyl	$y=16688.8x+1069.39$	0.9990
carbofuran	$y=405292x+19670.8$	0.9996
carbaryl	$y=190486x+42983.9$	0.9939

Πίνακας 6.6: Εξισώσεις καμπυλών αναφοράς και συντελεστές συσχέτισης για τις προσδιοριζόμενες ουσίες στο αεριοχρωματογραφικό και στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα



6.7 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΟΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ (LOD) ΚΑΙ ΟΡΙΟΥ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ (LOQ)

Όταν ένα δείγμα περιέχει μία ουσία σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση, το αναλυτικό σήμα κατά κανόνα είναι ασθενές και είναι δύσκολο να αποφασισθεί αν το ασθενές σήμα προέρχεται από την ουσία ή από το θόρυβο που προκαλείται από τη μέθοδο ή το όργανο. [8]

Ως όριο ανίχνευσης ορίζεται το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης μιας ουσίας, το σήμα της οποίας με αξιοπιστία μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι σήμα προκαλούμενο από την ουσία αυτή. [7]

Ο υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης (LOD: Limit of Detection) πραγματοποιείται χωριστά για κάθε ουσία. και αφορά στη σύγκριση των σημάτων εμβολιασμένων (spiked) και τυφλών (blank) δειγμάτων και στον υπολογισμό του λόγου S/N (σήμα που λαμβάνεται προς τον αντίστοιχο θόρυβο). Πραγματοποιείται τρεις φορές επανάληψη της διαδικασίας στο επίπεδο του LOD της ουσίας και υπολογίζονται οι λόγοι S/N. Ο υπολογισμός του LOD κάθε ουσίας θεωρείται αποδεκτός όταν $S/N \sim 3/1$. Σε κάθε περίπτωση το όριο ανίχνευσης θα πρέπει να είναι μικρότερο του αντίστοιχου ορίου ανίχνευσης που απαιτείται βάσει της Κοινοτικής νομοθεσίας.

Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ: Limit of Quantitation) υπολογίζεται όπως και το όριο ανίχνευσης χωριστά για κάθε ουσία μέσω της εξέτασης εμβολιασμένων δειγμάτων και αφορά στον καθορισμό του ελάχιστου επιπέδου συγκέντρωσης στο οποίο δύναται η ποσότητα της ουσίας να προσδιοριστεί με ικανοποιητική ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Για τον προσδιορισμό του LOQ πραγματοποιείται σύγκριση των σημάτων των εμβολιασμένων και τυφλών δειγμάτων και υπολογίζεται ο λόγος S/N. Ο προσδιορισμός του LOQ κάθε ουσίας θεωρείται αποδεκτός όταν $S/N \sim 10/1$, δηλαδή $LOQ \sim 3,3 LOD$.

Στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα το LOQ επιλέχθηκε στα 0.020mg/kg για κάθε προσδιοριζόμενη ουσία, ενώ στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα στα 0.010mg/kg για κάθε προσδιοριζόμενη ουσία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΩΠΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ

7.1 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Συνολικά εξετάστηκαν 90 δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Συλλέχθηκαν 5 δείγματα για κάθε υπόστρωμα. Στον Πίνακα 7.1 που ακολουθεί αναγράφεται ο συνολικός αριθμός δειγμάτων ανά αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα:

Αντιπροσωπευτικά matrices						
αριθμός δειγμάτων	εξεταζόμενα φρούτα			εξεταζόμενα λαχανικά		
	εσπεριδοειδή	πυρηνόκαρπα	γυγαρτόκαρπα	Βολβοί, ρίζες	φυλλώδη λαχανικά, κράμβες	καρποί λαχανικών
	10	20	10	10	15	25
40 δείγματα φρούτων				50 δείγματα λαχανικών		

Πίνακας 7.1: Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων ανά αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα

Η συλλογή των δειγμάτων ήταν τυχαία. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από δύο μεγάλες λαϊκές αγορές στο κέντρο της Αθήνας, τη λαϊκή αγορά Καλλιθέας και τη λαϊκή αγορά Νέου Κόσμου και από την Κεντρική Λαχαναγορά Αθηνών. Από την Κεντρική Λαχαναγορά Αθηνών λήφθηκαν 2 δείγματα ανά υπόστρωμα, από τη λαϊκή αγορά Καλλιθέας λήφθηκαν 2 δείγματα ανά υπόστρωμα και από τη λαϊκή αγορά Νέου Κόσμου λήφθηκε 1 δείγμα ανά υπόστρωμα

Συνολικά λαμβάνονταν ένα κιλό δείγματος ανά υπόστρωμα, ενώ ιδιαίτερη προσοχή δίνονταν για την αποφυγή συλλογής προσβεβλημένων ή παραμορφωμένων φρούτων και λαχανικών. Τα δείγματα αμέσως μετά τη δειγματοληψία οδηγούνταν στο εργαστήριο, όπου ομογενοποιούνταν και φυλάσσονταν στην κατάψυξη στους -20°C , για την αποφυγή της διάσπασης των περιεχομένων σε αυτά φυτοφαρμάκων.

7.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΣΤΟ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Για την εξέταση των δειγμάτων στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα λαμβάνονταν από το ομογενοποιημένο δείγμα ποσότητα ίση με 10g (± 0.2 g) στο ζυγό ακριβείας και στη συνέχεια ακολουθούσε εκχύλιση του δείγματος με οργανικούς διαλύτες και το εκχύλισμα του προς ανάλυση δείγματος παραλαμβάνονταν στα 5mL με μεθανόλη .

Για κάθε ημερήσια εξέταση δειγμάτων γινόταν βαθμονόμηση του ζυγού ακριβείας με πρότυπα σταθμά, γινόταν έλεγχος των αντίστοιχων τυφλών δειγμάτων για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα, προσδιορίζονταν η καμπύλη των προτύπων διαλυμάτων και υπολογιζόταν ο συντελεστής γραμμικής παλινδρόμησης (R^2). Επίσης, ελέγχονταν η επίδραση υποστρώματος για κάθε εξεταζόμενο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα με την εξέταση εμβολιασμένων δειγμάτων συγκέντρωσης 0.10mg/kg και 0.020mg/kg και ελεγχόταν η συμμετρία των κορυφών και η ικανότητα του ανιχνευτή να διαχωρίζει επιτυχώς τις κορυφές προτύπων που παρουσίαζαν παραπλήσιους χρόνους κατακράτησης μέσω του υπολογισμού των συντελεστών PGF και RF. Η απόκριση του οργάνου ελέγχονταν ακόμη μέσω της εξέτασης στην αρχή και το τέλος της ανάλυσης προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,8mg/L (παρασκευάζονταν κάθε φορά με αραιώση 1/10 από το πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 8mg/L σε οξικό αιθυλεστέρα) και του υπολογισμού της σχετικής τυπικής απόκλισης του Area των κορυφών των προτύπων ουσιών του διαλύματος και της σχετικής τυπικής απόκλισης των χρόνων κατακράτησής τους, ώστε να προσδιοριστούν οι τυχόν μεταβολές στην ευαισθησία του οργάνου και να εντοπιστούν πιθανά σφάλματα κατά την ανάλυση.

Για την εξέταση των δειγμάτων στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα λαμβάνονταν από το ομογενοποιημένο δείγμα ποσότητα ίση με 10g (± 0.2 g) στο ζυγό ακριβείας και στη συνέχεια ακολουθούσε εκχύλιση του δείγματος με οργανικούς διαλύτες, το εκχύλισμα του προς ανάλυση δείγματος παραλαμβάνονταν στα 5mL με μεθανόλη και ακολουθούσε αραιώση 1/5 σε υπερκάθαρο νερό και διήθηση σε φίλτρα PVDF Millex διαμέτρου 0.22μm.

Για κάθε ημερήσια εξέταση δειγμάτων γινόταν βαθμονόμηση του ζυγού ακριβείας με πρότυπα σταθμά, γινόταν έλεγχος των αντίστοιχων τυφλών δειγμάτων για κάθε αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα, προσδιορίζονταν η καμπύλη των προτύπων διαλυμάτων και υπολογιζόταν ο συντελεστής γραμμικής παλινδρόμησης (R^2). Επίσης, ελέγχονταν η επίδραση υποστρώματος για κάθε εξεταζόμενο αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα με την εξέταση εμβολιασμένων δειγμάτων συγκέντρωσης 0.05mg/kg και 0.010mg/kg. Η απόκριση



του οργάνου ελέγχονταν ακόμη μέσω της προσθήκης στη σειρά ανάλυσης προτύπων διαλυμάτων συγκέντρωσης 10ng/L και 100ng/L τα οποία παρεμβάλλονταν μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικών matrices καθώς και μέσω του υπολογισμού της επί τοις εκατό διαφοράς της προσδιοριζόμενης συγκέντρωσης κάθε πρότυπης ουσίας από τη θεωρητικά ορθή συγκέντρωση για κάθε πρότυπη ουσία των προτύπων διαλυμάτων, που χρησιμοποιούνταν για την εξαγωγή της καμπύλης των προτύπων.

Η ταυτοποίηση στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα των περιεχόμενων φυτοφαρμάκων στα δείγματα των νωπών φρούτων και λαχανικών βασίστηκε στο χρόνο κατακράτησης που εμφανίζουν οι προς προσδιορισμό ενώσεις. Όταν ο χρόνος κατακράτησης μίας κορυφής στο χρωματογράφημα του δείγματος συμφωνεί με το χρόνο κατακράτησης μίας κορυφής στο χρωματογράφημα του προτύπου αναφοράς μίας ένωσης που έχει ληφθεί στις ίδιες συνθήκες, τότε η ένωση του προτύπου ταυτοποιείται στο δείγμα. Συχνά, πρότυπες ενώσεις εμφανίζουν μικρές διαφορές στο χρόνο κατακράτησής τους από μία αεριοχρωματογραφική στήλη, ενώ δύναται στο χρωματογράφημα του δείγματος να εμφανίζονται και κορυφές που οφείλονται σε ουσίες του υποστρώματος του δείγματος. Προκειμένου να διασφαλιστεί η ύπαρξη των φυτοφαρμάκων στα δείγματα τα θετικά δείγματα εξετάστηκαν και από δεύτερη στήλη αεριοχρωματογράφου. Για να είναι ένα δείγμα θετικό σε μία ουσία, αυτή θα έπρεπε να έχει ταυτοποιηθεί και από τις δύο αεριοχρωματογραφικές στήλες που χρησιμοποιήθηκαν.

Στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα η ταυτοποίηση των περιεχόμενων φυτοφαρμάκων στα δείγματα των νωπών φρούτων και λαχανικών βασίστηκε:

- Στη συμφωνία των χρόνων κατακράτησης. Όταν ο χρόνος κατακράτησης μίας κορυφής στο χρωματογράφημα του δείγματος συμφωνεί με το χρόνο κατακράτησης μίας κορυφής στο χρωματογράφημα του προτύπου αναφοράς μίας ένωσης που έχει ληφθεί στις ίδιες συνθήκες, τότε η ένωση του προτύπου ταυτοποιείται στο δείγμα.
- Στη συμφωνία του λόγου των ιόντων – προϊόντων της θραυσματοποίησης. Όταν τα παραγόμενα ιόντα θραυσματοποίησης του φάσματος ένωσης του δείγματος συμφωνούν με τα παραγόμενα ιόντα θραυσματοποίησης του φάσματος πρότυπης ένωσης τότε η πρότυπη ένωση ταυτοποιείται στο δείγμα. Τα ιοντικά θραύσματα πρέπει να είναι παρόντα στο φάσμα μάζας και η σχετική αφθονία αυτών στο φάσμα μάζας του δείγματος πρέπει να συμφωνεί με τη σχετική αφθονία της ένωσης αναφοράς. Η Οδηγία 657/2002/EK και η SANCO 3131/2007 καθορίζει απαιτήσεις για την ταυτοποίηση καταλοίπων κτηνιατρικών φαρμάκων και φυτοφαρμάκων αντίστοιχα στα τρόφιμα εισάγοντας την έννοια των «σημείων ταυτοποίησης» και αναφέροντας κριτήρια για τις σχετικές αφθονίες ιόντων στα φάσματα μάζας. Έχουν οριστεί μέγιστες ανεκτικότητες επιτρεπτής διακύμανσης για τον λόγο των ιόντων



θραυσματοποίησης.[37] Όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.2 που ακολουθεί η επιτρεπτή διακύμανση είναι μεγαλύτερη, όσο μικρότερη είναι η σχετική αφθονία ιόντων:

Σχετική αφθονία ιόντων (% του βασικού ιόντος)	Σχετική μέγιστη ανεκτικότητα (%) για LC-MS-MS
>50	± 20
20-50	± 25
10-20	± 30
<10	± 50

Πίνακας 7.2: Μέγιστη επιτρεπτή ανεκτικότητα για σχετική αφθονία ιόντων (657/2002/EC, SANCO 3131/2007)

Ο ποσοτικός προσδιορισμών των φυτοφαρμάκων που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών που εξετάστηκαν βασίστηκε στην κατασκευή της καμπύλης αναφοράς των προτύπων διαλυμάτων. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση των υποστρωμάτων των δειγμάτων στην απόκριση των οργάνων και η συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων στα δείγματα υπολογίστηκε από την εξίσωση της συνάρτησης της γραφικής παράστασης των προτύπων διαλυμάτων. Η εξίσωση της συνάρτησης της γραφικής παράστασης των προτύπων διαλυμάτων είναι μία συνάρτηση της μορφής $y=ax+\beta$ (τα a και β γνωστά, υπολογίστηκαν από το νόμο των ελαχίστων τετραγώνων), όπου y : το Area της κορυφής της ουσίας και x : η ζητούμενη συγκέντρωση της ουσίας.

Στους Πίνακες 7.2.α1, 7.2.α2, 7.2.α3, 7.2.α4, 7.2.α5 και 7.2.α6 που ακολουθούν καταγράφονται τα θετικά δείγματα ανά αντιπροσωπευτικό υπόστρωμα και οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων για κάθε εξεταζόμενο θετικό δείγμα στο αεριοχρωματογραφικό και στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα καθώς και τα Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων (MRL) όπως ορίζονται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία.

Η ένδειξη Δ/Α χρησιμοποιείται για να υποδείξει ότι δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων στο δείγμα και η ένδειξη Ο.Α. για τις ουσίες που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα, αλλά η συγκέντρωσή τους ήταν χαμηλότερη του Ορίου Ποσοτικοποίησης (L.O.Q.). Πρέπει να διευκρινιστεί πως η μη ανίχνευση υπολειμμάτων δε συνεπάγεται και την πλήρη απουσία υπολειμμάτων στο δείγμα. Το δείγμα δύναται να είναι θετικό σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων είναι ιδιαίτερα χαμηλή και βρίσκεται κάτω από το Όριο Ανίχνευσης (LOD) του οργάνου.



Στον Πίνακα 7.2.α1, 7.2.α2 και 7.2.α3 καταγράφονται οι συγκεντρώσεις των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων για τα δείγματα λαχανικών που εξετάστηκαν. Με κόκκινο χρώμα σημειώνονται οι συγκεντρώσεις καταλοίπων που υπερβαίνουν τα επιτρεπόμενα ανώτατα όρια υπολειμμάτων:

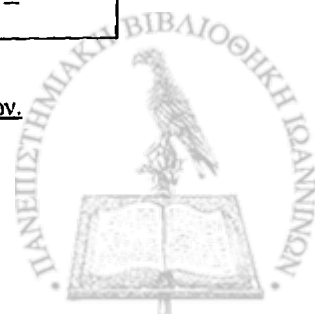
Φυλλώδη λαχανικά – Κράμβες					
Δείγματα		GC-FPD		LC-MS-MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
σπανάκι	1ο	methacrifos	0,02 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	2ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	3ο	methacrifos	< O.A. (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	4ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	5ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
μαρούλι	1ο	methacrifos	0,03 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	2ο	methacrifos	0,04 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	3ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	4ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	5ο	Δ/Α	–	methomyl	0,04 (MRL: 0,3)
λάχανο	1ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	2ο	chlorpyrifos chlorpyrifos methyl	0,44 (MRL: 1,00) 0,02 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	3ο	dichlorvos	0,22 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	4ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	5ο	chlorpyrifos	0,04 (MRL: 1,00)	Δ/Α	–

Πίνακας 7.2.α1: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα φυλλωδών λαχανικών.



Καρποί λαχανικών					
Δείγματα		GC - FPD		LC - MS - MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
αγγούρι	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
πιπεριά	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
ντομάτα	1ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,02 (MRL: 0,50)
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	methacrifos	0,01 (MRL: 0,05)	carbendazim/benomyl	0,01 (MRL: 0,50)
μελιτζάνα	1ο	dimethoate	0,03 (MRL: 0,02)	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
κολοκύθι	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—

Πίνακας 7.2.α2: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα καρπών λαχανικών.



Βολβοί – Ρίζες					
Δείγματα		GC - FPD		LC - MS - MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
καρότο	1ο	chlorpyrifos	0,06 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	2ο	chlorpyrifos	0,19 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	3ο	chlorpyrifos	0,21 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	4ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
	5ο	Δ/Α	–	Δ/Α	–
κρεμμύδι	1ο	methacrifos	0,53 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	2ο	methacrifos	0,05 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	3ο	dichlorvos	0,07 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–
	4ο	methacrifos	0,08 (MRL: 0,05)	Δ/Α	–
	5ο	methacrifos dichlorvos	0,10 (MRL: 0,05) 0,01 (MRL: 0,10)	Δ/Α	–

Πίνακας 7.2.α3: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα ριζών και βολβών λαχανικών.

Όπως φαίνεται και από τους ανωτέρω πίνακες στα δείγματα των φυλλωδών λαχανικών προσδιορίστηκε κυρίως το οργανοφωσφορικό φυτοφάρμακο methacrifos, ενώ πάνω από το Ανώτατο Όριο Υπολειμμάτων υπολογίστηκε η συγκέντρωση του οργανοφωσφορικού φυτοφαρμάκου dichlorvos σε ένα δείγμα λάχανου. Τη χαμηλότερη υπολειμματικότητα παρουσίασαν τα δείγματα καρπών λαχανικών εκτός από ένα δείγμα μελιτζάνας στο οποίο προσδιορίστηκε συγκέντρωση του οργανοφωσφορικού dimethoate υψηλότερη του αντίστοιχου MRL. Πιο επιβαρυνμένα από τα δείγματα λαχανικών εμφανίστηκαν τα δείγματα των βολβών και ριζών λαχανικών. Σε έξι από τα δέκα εξεταζόμενα δείγματα βρέθηκαν

υψηλές συγκεντρώσεις των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων chlorpyrifos και methacrifos.

Τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται ανά καλλιέργεια είναι περίπου ορισμένα σε αριθμό γεγονός που οφείλεται στο ότι στον ελληνικό χώρο παρατηρούνται εποχιακά ως ένα βαθμό συγκεκριμένες και αναμενόμενες προσβολές στα καλλιεργούμενα φυτά. Αναλόγως των εδαφοκλιματικών συνθηκών της κάθε περιοχής εμφανίζονται περιοδικά εξάρσεις προσβολών που κατά κανόνα οφείλονται σε γνωστούς, εντοπισμένους, σοβαρούς εχθρούς των καλλιεργειών.

Στους Πίνακες 7.2.α4, 7.2.α5 και 7.2.α6 καταγράφονται οι συγκεντρώσεις των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων για τα εξεταζόμενα δείγματα φρούτων:

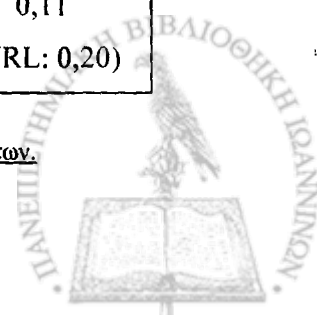
Γιγαρτόκαρπα					
Δείγματα		GC - FPD		LC - MS - MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
μήλο	1ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl thiabendazole	0,18 (MRL: 0,20) 0,02 (MRL: 5,00)
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,04 (MRL: 0,20)
αχλάδι	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	chlorpyrifos	0,12 (MRL: 0,50)	Δ/Α	—
	3ο	chlorpyrifos	0,03 (MRL: 0,50)	Δ/Α	—
	4ο	chlorpyrifos	0,04 (MRL: 0,50)	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—

Πίνακας 7.2.α4: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα γιγαρτόκαρπων φρούτων.



Πυρηνόκαρπα					
Δείγματα		GC - FPD		LC - MS - MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
κεράσι	1ο	diazinon	0,04 (MRL: 0,30)	Δ/Α	—
	2ο	diazinon	0,01 (MRL: 0,30)	Δ/Α	—
	3ο	diazinon	0,07 (MRL: 0,30)	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,01 (MRL: 0,50)
	5ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,02 (MRL: 0,50)
ροδάκινο	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	parathion	0,02 (MRL: 0,05)	Δ/Α	—
	3ο	parathion	0,03 (MRL: 0,05)	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
νεκταρίνι	1ο	parathion	0,02 (MRL: 0,05)	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,11 (MRL: 0,20)
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
βερύκοκο	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	carbendazim/benomyl	0,11 (MRL: 0,20)

Πίνακας 7.2.α5: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα πυρηνόκαρπων φρούτων.



Εσπεριδοειδή					
Δείγματα		GC-FPD		LC-MS-MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Συγκέντρωση (mg/kg)
μανταρίνι	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	fenitrothion chlorpyrifos	0,03 (MRL: 2,00) 0,02 (MRL: 2,00)	carbendazim/benomyl	0,27 (MRL: 0,10)
	3ο	malathion	0,19 (MRL: 2,00)	Δ/Α	—
	4ο	chlorpyrifos	0,12 (MRL: 2,00)	carbendazim/benomyl	0,21 (MRL: 0,10)
	5ο	Δ/Α	—	thiabendazole	1,19 (MRL: 5,00)
πορτοκάλι	1ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	2ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	3ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	4ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—
	5ο	Δ/Α	—	Δ/Α	—

Πίνακας 7.2.α6: Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και συγκεντρώσεις στα δείγματα εσπεριδοειδών.

Όπως φαίνεται και από τους παραπάνω πίνακες στα δείγματα γιγαρτοκάρπων προσδιορίστηκαν μικρές συγκεντρώσεις των βενζοϊμιδαζολών carbendazim και thiabendazole σε δύο από τα πέντε δείγματα μήλων που εξετάστηκαν. και μικρές συγκεντρώσεις του οργανοφωσφορικού φυτοφάρμακου chlorpyrifos σε τρία από τα πέντε δείγματα αχλαδιών που εξετάστηκαν. Στα δείγματα των πυρηνόκαρπων χαμηλές συγκεντρώσεις του οργανοφωσφορικού φυτοφαρμάκου diazinon ανιχνεύθηκαν σε τρία από τα πέντε δείγματα κερασιών που εξετάστηκαν, ενώ στα άλλα δύο δείγματα κερασιών ανιχνεύθηκαν ποσότητες της βενζοϊμιδαζόλης carbendazim. Σε δύο δείγματα ροδάκινου και ένα δείγμα νεκταρίνι προσδιορίστηκε το οργανοφωσφορικό φυτοφάρμακο parathion, ενώ σε ένα δείγμα νεκταρίνι προσδιορίστηκε βενζοϊμιδαζόλη carbendazim. Από τα δείγματα βερούκων που εξετάστηκαν δύο βρέθηκαν θετικά στη βενζοϊμιδαζόλη carbendazim. Από τα δείγματα εσπεριδοειδών που εξετάστηκαν σε δύο δείγματα προσδιορίστηκαν ακατάλληλες συγκεντρώσεις της βενζοϊμιδαζόλης carbendazim, ενώ οι συγκεντρώσεις των υπολοίπων

προσδιοριζόμενων ουσιών κυμάνθηκαν σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, χωρίς να παρατηρηθεί εμφάνιση υπολειμμάτων της ίδιας ουσίας σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

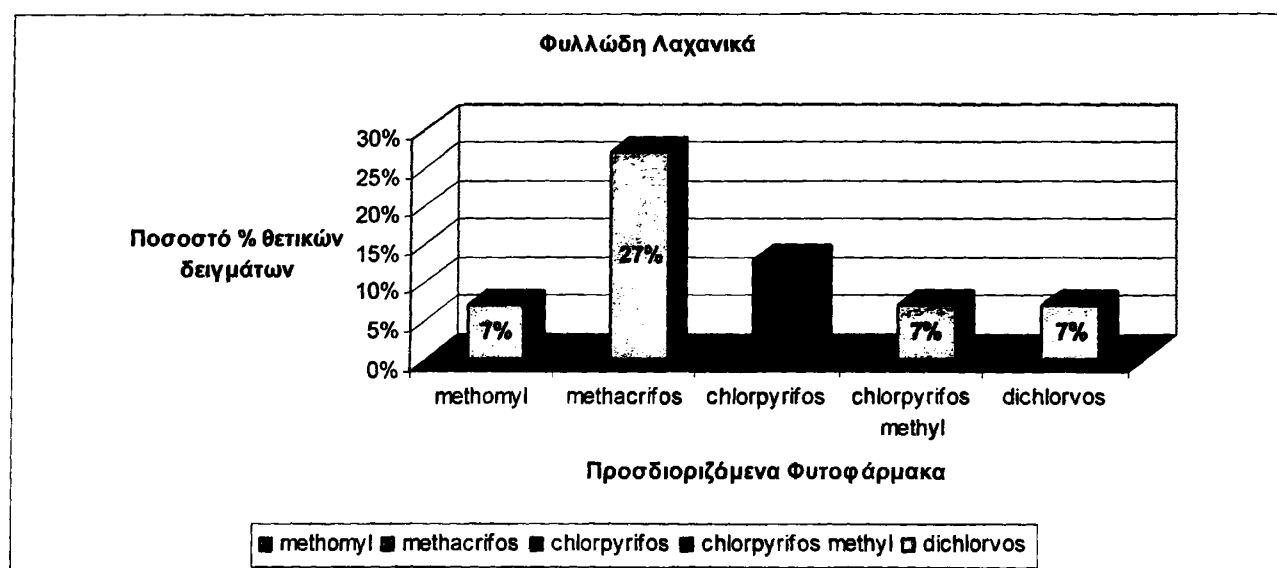
Στον Πίνακα 7.2.β που ακολουθεί καταγράφονται συγκεντρωτικά τα φυτοφάρμακα που προσδιορίστηκαν ανά υπόστρωμα καθώς και ο αριθμός των θετικών δειγμάτων και ο αριθμός των προσδιοριζόμενων ουσιών ανά υπόστρωμα:

Υπόστρωμα	Δείγματα	GC-FPD		LC-MS-MS	
		Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Θετικά δείγματα	Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα	Θετικά δείγματα
Λαχανικά					
Φυλλώδη λαχανικά - Κράμβες	15 δείγματα 8 θετικά	methacrifos dichlorvos chlorpyrifos chlorpyrifos methyl	7	methomyl	1
Βολβοί – Ρίζες	10 δείγματα 8 θετικά	methacrifos dichlorvos chlorpyrifos	8	Δ/Α	–
Καρποί	25 δείγματα 3 θετικά	methacrifos dimethoate	2	carbendazim/benomyl	2
Σύνολο	50 δείγματα 19 θετικά	5 ουσίες	17	2 ουσίες	3
Φρούτα					
Πυρηνόκαρπα	20 δείγματα 10 θετικά	diazinon parathion	6	carbendazim/benomyl	4
Εσπεριδοειδή	10 δείγματα 4 θετικά	fenitrothion chlorpyrifos malathion	3	carbendazim/benomyl thiabendazole	3
Γιγαρτόκαρπα	10 δείγματα 5 θετικά	chlorpyrifos	3	carbendazim/benomyl thiabendazole	2
Σύνολο	40 δείγματα 19 θετικά	5 ουσίες	12	2 ουσίες	9
Γενικό Σύνολο	90 δείγματα 39 θετικά	9 ουσίες	29	3 ουσίες	12

Πίνακας 7.2.β Προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα και αριθμός θετικών δειγμάτων ανά υπόστρωμα.

Από τα δείγματα φυλλωδών λαχανικών - κραμβών που εξετάστηκαν στο 47% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων. Στο 46% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL), ενώ στο 7% των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπτές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων του οργανοφωσφορικού φυτοφαρμάκου dichlorvos.

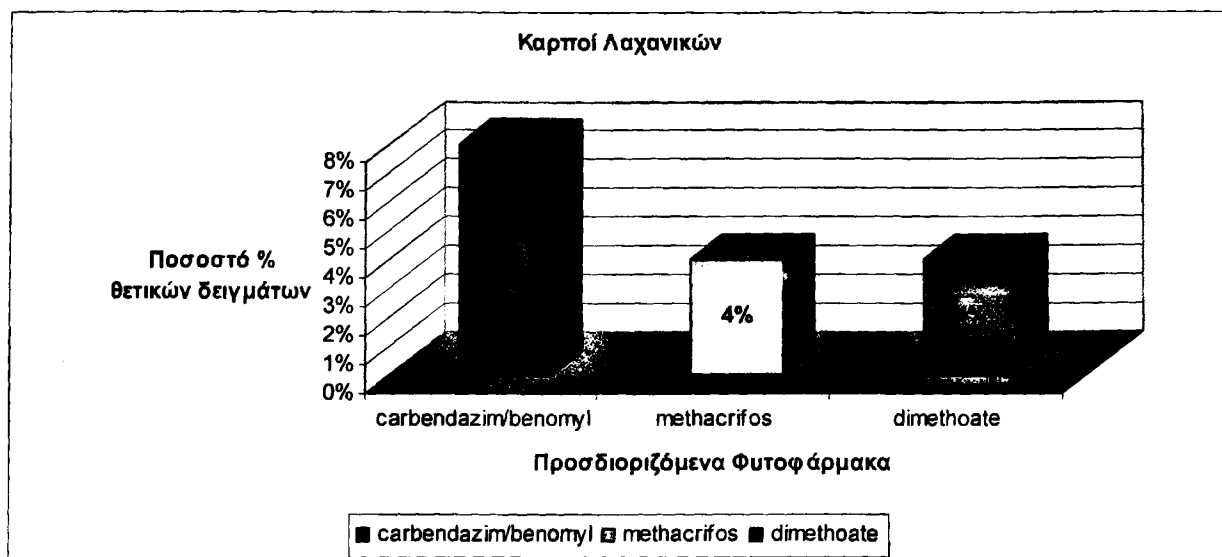
Στο Διάγραμμα 7.2.α.1 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:



Διάγραμμα 7.2.α.1: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

Από τα δείγματα καρπών λαχανικών που εξετάστηκαν στο 88% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων, ενώ στο 8% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL). Στο 4% των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπτές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων του οργανοφωσφορικού φυτοφαρμάκου dimethoate.

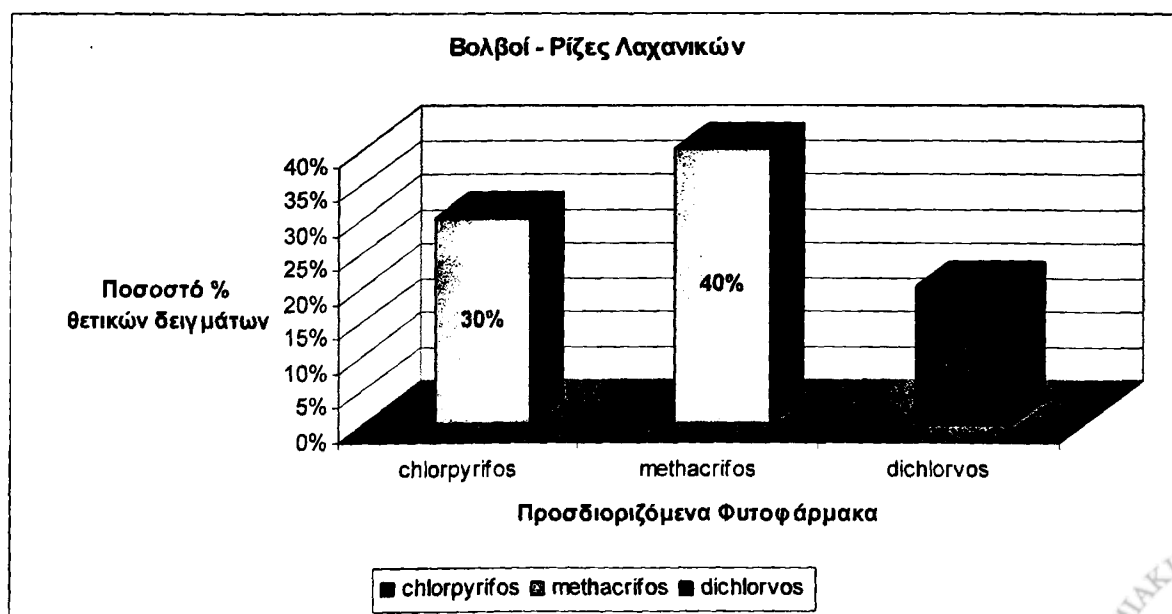
Στο Διάγραμμα 7.2.α.2 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:



Διάγραμμα 7.2.α2: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

Από τα δείγματα βολβών-ριζών λαχανικών που εξετάστηκαν στο 20% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων. Στο 20% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL), ενώ στο 60% των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπτές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων chlorpyrifos και methacrifos.

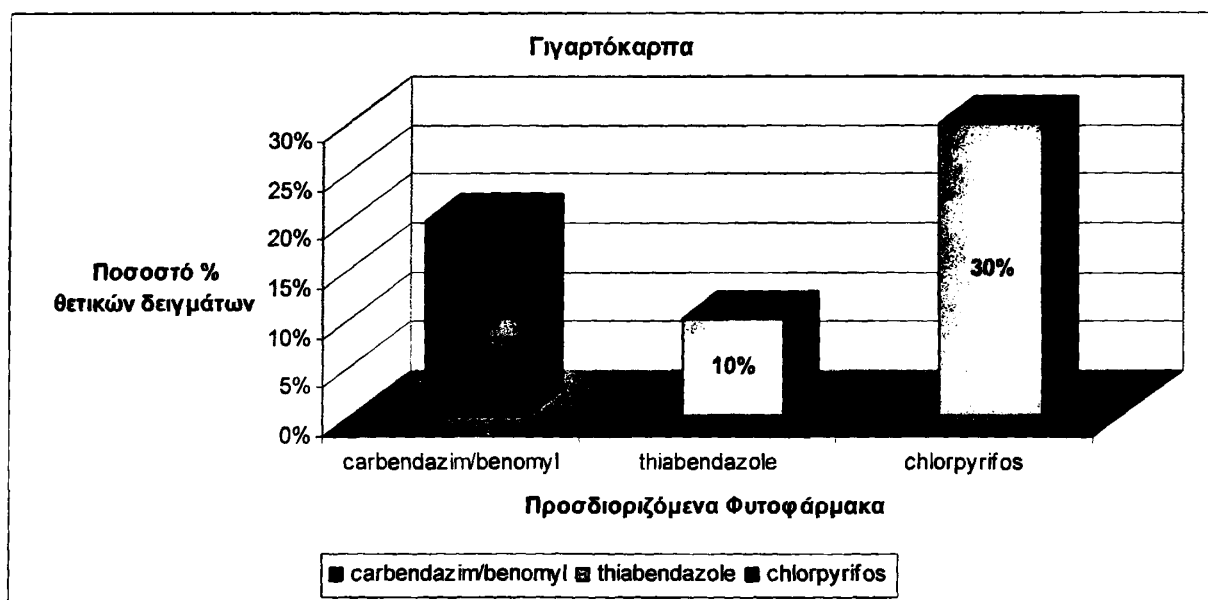
Στο Διάγραμμα 7.2.α3 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:



Διάγραμμα 7.2.α3: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

Από τα δείγματα γιγαρτόκαρπων που εξετάστηκαν στο 50% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων, ενώ στο υπόλοιπο 50% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL). Σε κανένα δείγμα γιγαρτόκαρπων δεν ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

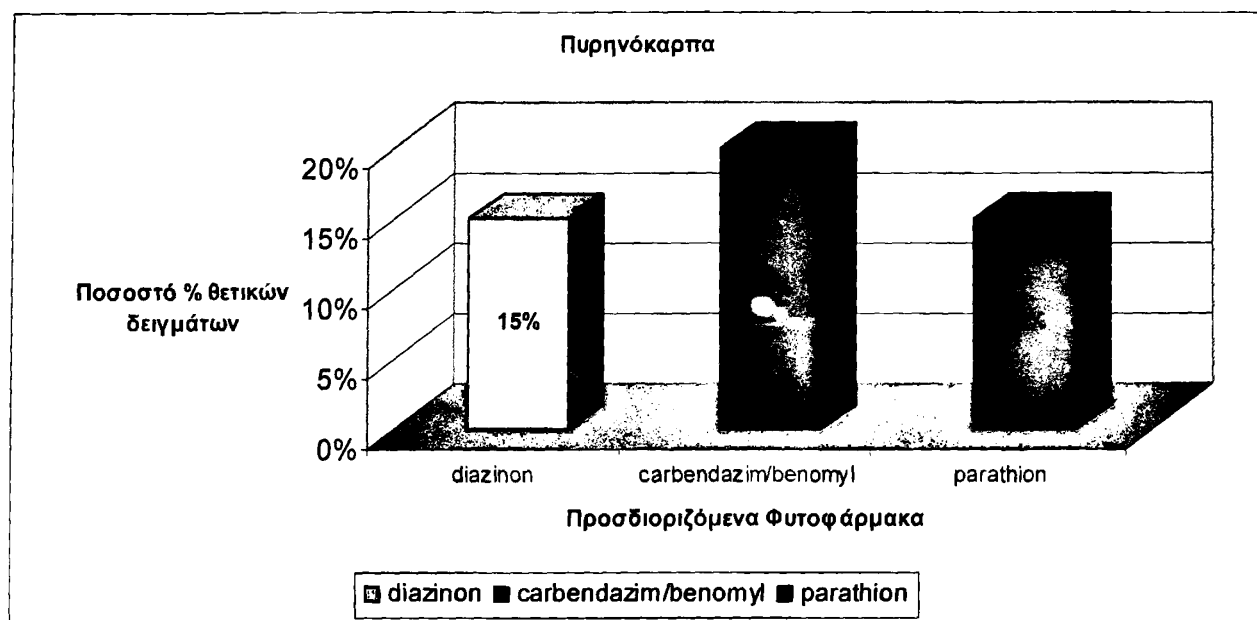
Στο Διάγραμμα 7.2.α.4 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:



Διάγραμμα 7.2.α.4: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

Από τα δείγματα πυρηνόκαρπων που εξετάστηκαν στο 50% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων, ενώ στο υπόλοιπο 50% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL). Σε κανένα δείγμα πυρηνόκαρπων δεν ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

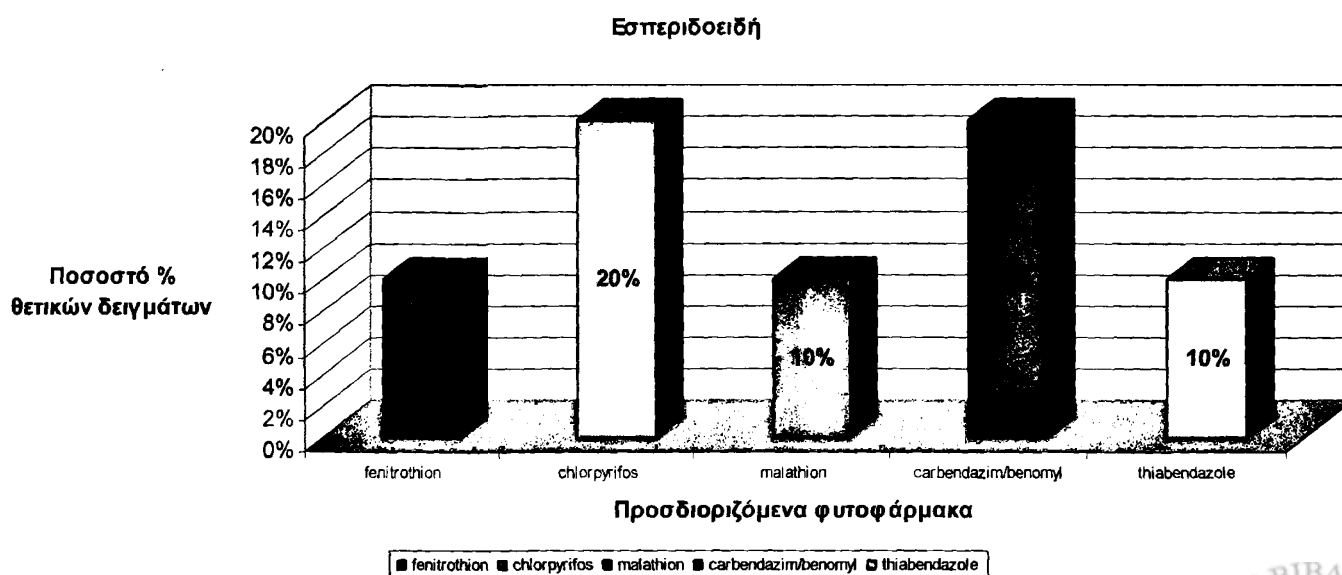
Στο Διάγραμμα 7.2.α.5 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:



Διάγραμμα 7.2.α5: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

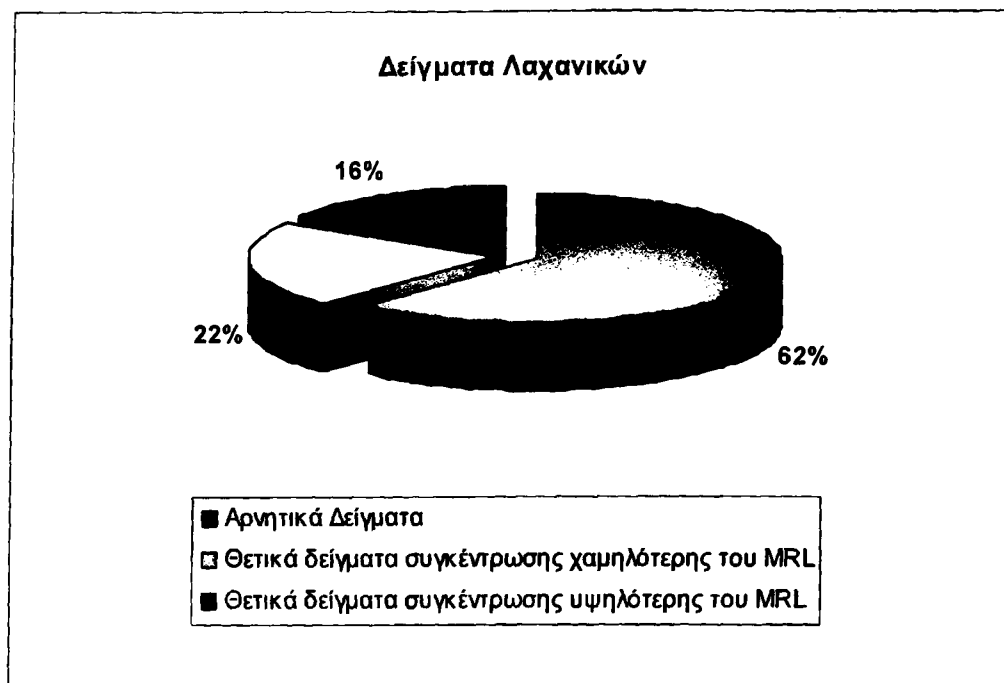
Από τα δείγματα εσπεριδοειδών που εξετάστηκαν στο 60% των δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων, στο 20% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η συγκέντρωση των οποίων δεν υπερέβαινε τα αντίστοιχα Ανώτατα Επιτρεπόμενα Όρια (MRL) και στο υπόλοιπο 20% των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν μη επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις υπολειμμάτων της βενζοϊμιδαζόλης carbendazim/benomyl.

Στο Διάγραμμα 7.2.α.6 που ακολουθεί καταγράφονται τα ποσοστά επί τοις εκατό των θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία:

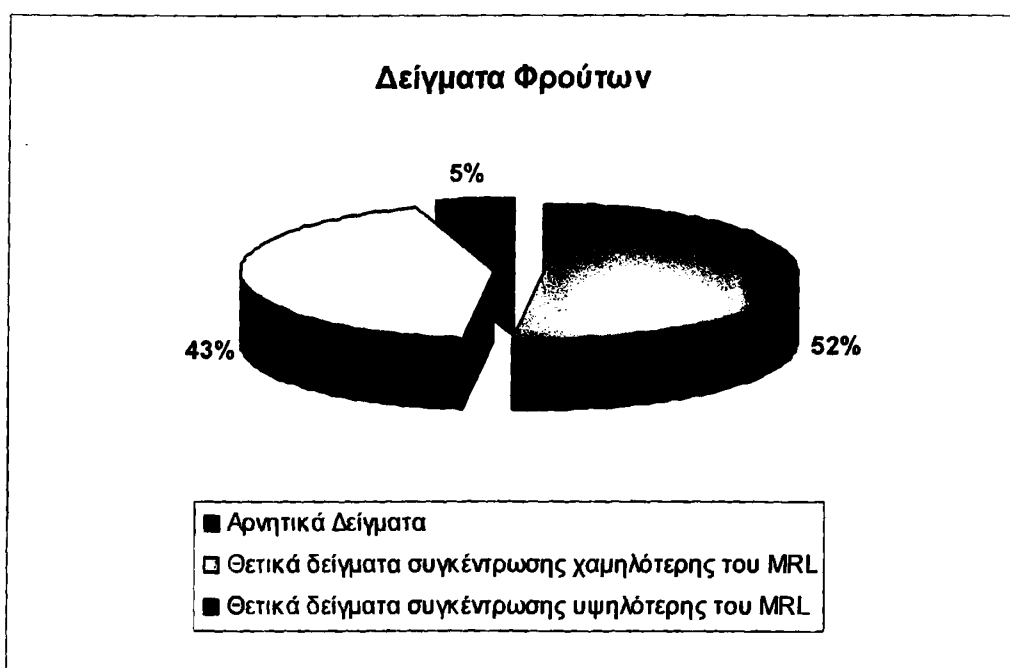


Διάγραμμα 7.2.α6: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών δειγμάτων ανά προσδιοριζόμενη ουσία.

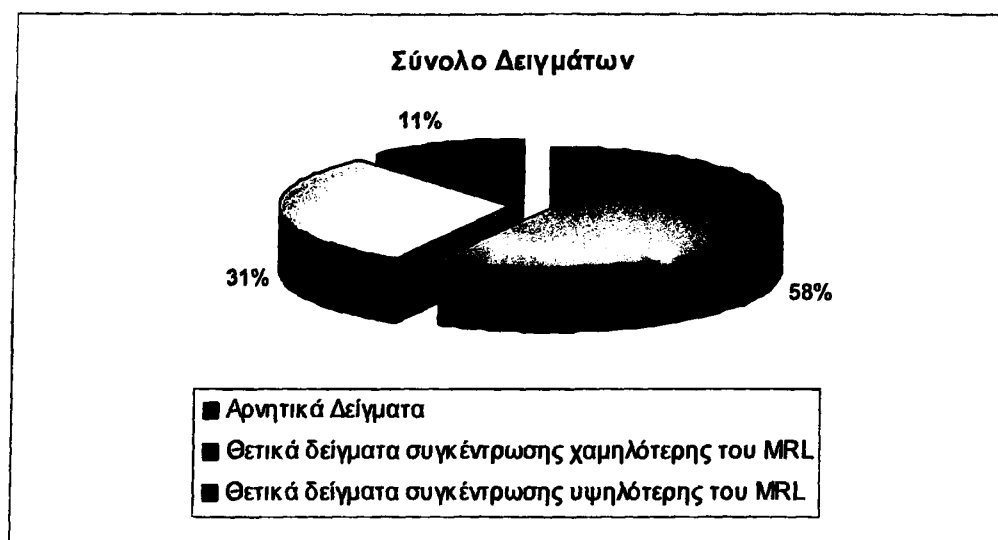
Στα Διαγράμματα 7.2.β1 και 7.2.β2 που ακολουθούν καταγράφεται το επί τοις εκατό ποσοστό των κατάλληλων και ακατάλληλων για κατανάλωση θετικών δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών καθώς και το επί τοις εκατό ποσοστό των δειγμάτων που εμφανίστηκαν ελεύθερα υπολειμμάτων. Στο διάγραμμα 7.2.γ καταγράφονται τα αντίστοιχα ποσοστά για το σύνολο των εξεταζόμενων δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών:



Διάγραμμα 7.2.β1: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών και αρνητικών δειγμάτων λαχανικών.



Διάγραμμα 7.2.β2: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών και αρνητικών δειγμάτων φρούτων.



Διάγραμμα 7.2.γ: Ποσοστά επί τοις εκατό θετικών και αρνητικών δειγμάτων φρούτων και λαχανικών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας αποτέλεσε ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών. Συλλέχθηκαν 5 δείγματα βάρους ενός κιλού το καθένα για κάθε εξεταζόμενο υπόστρωμα και στη συνέχεια αυτά χωρίστηκαν σε 6 κατηγορίες αντιπροσωπευτικού υποστρώματος (γυγαρτόκαρπα, εσπεριδοειδή, πυρηνόκαρπα, φυλλώδη λαχανικά - κράμβες, ρίζες και βολβοί λαχανικών, καρποί λαχανικών). Η πειραματική διαδικασία μετά τη δειγματοληψία και την ομογενοποίηση του δείγματος περιελάμβανε εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες και στη συνέχεια αεριοχρωματογραφική και υγροχρωματογραφική – φασματομετρική ανάλυση. Χρησιμοποιήθηκαν δύο τρόποι επεξεργασίας των δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών: 1. Εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα, και 2. Εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα.

Οι φυτοπροστατευτικές ενώσεις που μελετήθηκαν υπάγονταν στις κατηγορίες των οργανοφωσφορικών και των καρβαμιδικών φυτοφάρμακων και των βενζο-ιμιδαζολών. Ο προσδιορισμός μέρους των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων πραγματοποιήθηκε με χρήση αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή (GC-FPD), ενώ για τον προσδιορισμό των υπολοίπων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζο-ιμιδαζολών χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών (LC/tandemMS).

Κατά τον έλεγχο της απόδοσης του αεριοχρωματογραφικού συστήματος διαπιστώθηκε γραμμικότητα για εύρος περιοχής συγκεντρώσεων 0.02 – 0.05 mg/kg [Πίνακας 6.6, Διαγράμματα 6.6.α], ενώ κατά τον έλεγχο της απόδοσης του υγροχρωματογραφικού-φασματομετρικού συστήματος διαπιστώθηκε γραμμικότητα για εύρος περιοχής συγκεντρώσεων 0.002 – 0.01 mg/kg [Πίνακας 6.6, Διαγράμματα 6.6.β].

Η ορθότητα και η αναπαραγωγικότητα των μεθόδων ήταν ικανοποιητικές. Υπολογίστηκε η ανάκτηση των μεθόδων για δύο επίπεδα εμβολιασμού στα δύο συστήματα - έλεγχος ανάκτησης στα 0.02mg/kg και 0.10mg/kg για το αεριοχρωματογραφικό σύστημα και στα 0.01mg/kg και 0.05mg/kg για το υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα - με δοκιμή και των δύο τρόπων επεξεργασίας. Οι μέσες τιμές των ανακτήσεων για τις προσδιοριζόμενες ουσίες στα συστήματα GC-FPD και LC-MS-MS κυμαίνονται μεταξύ 60 και 120%, με τις αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις αυτών να μην υπερβαίνουν το 20%,



πληρώνοντας τις προϋποθέσεις που θέτει η ευρωπαϊκή νομοθεσία - Οδηγία SANCO 3131/2007 [Διαγράμματα 6.4α και 6.4.β, Πίνακες 6.4.α και 6.4.β]. Βάσει των ανακτήσεων που υπολογίστηκαν για τις δύο εκχυλίσσεις που δοκιμάστηκαν επιλέχθηκε ο τρόπος επεξεργασίας που εφαρμόστηκε στα δείγματα κάθε αντιπροσωπευτικού υποστρώματος.

Το Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ) επιλέχθηκε στα 0.02mg/kg για κάθε προσδιοριζόμενη ουσία στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα και στα 0.01mg/kg για κάθε προσδιοριζόμενη ουσία στο υγροχρωματογραφικό-φασματομετρικό σύστημα.

Ο προσδιορισμός της ταυτότητας των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών που εξετάστηκαν από το αεριοχρωματογραφικό σύστημα βασίστηκε στο χρόνο κατακράτησης των ενώσεων από τη στήλη του ανιχνευτή. Προκειμένου να διασφαλιστεί η ύπαρξη υπολειμματικότητας στα θετικά δείγματα αυτά εξετάστηκαν και από δεύτερο αεριοχρωματογράφο, ώστε να γίνει ταυτοποίηση των περιεχόμενων φυτοφαρμάκων και από δεύτερη στήλη [Πίνακας 6.1].

Ο προσδιορισμός της ταυτότητας των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζοϊμιδαζολών στα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών που εξετάστηκαν από το αεριοχρωματογραφικό σύστημα βασίστηκε στο λόγο των ιόντων θραυσματοποίησης, τα οποία ορίζονται ως σημεία ταυτοποίησης (identification points, IPs) - Οδηγία 657/2002/EK, SANCO 3131/2007 [Πίνακας 7.2].

Ενενήντα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών εξετάστηκαν για των προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Τα αποτελέσματα της εξέτασης των δειγμάτων κατέδειξαν την ύπαρξη μη επιτρεπόμενων συγκεντρώσεων υπολειμμάτων τεσσάρων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων (chlorpyrifos, methacrifos, dichlorvos, dimethoate) σε οκτώ από τα πενήντα δείγματα νωπών λαχανικών που εξετάστηκαν και την ύπαρξη μη επιτρεπόμενων συγκεντρώσεων υπολειμμάτων της βενζοϊμιδαζόλης carbendazim/benomyl σε δύο από τα σαράντα δείγματα φρούτων που εξετάστηκαν. [Πίνακες 7.2.α1, 7.2.α2, 7.2.α3, 7.2.α4, 7.2.α5, 7.2.α6] Στην πλειοψηφία των θετικών σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων δειγμάτων προσδιορίστηκαν ουσίες που υπάγονται στην κατηγορία των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, επιβεβαιώνοντας πως οι συγκεκριμένες ουσίες εξακολουθούν να χαίρουν ευρείας χρήσης στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις. [Πίνακας 7.2.β]

Όσον αφορά στα δείγματα νωπών λαχανικών στα οποία προσδιορίστηκαν συγκεντρώσεις υπολειμμάτων που υπερέβαιναν τα προβλεπόμενα MRLs:



- Υπολείμματα του φυτοφαρμάκου *dichlorvos* ανιχνεύθηκαν σε ένα δείγμα λαχάνου. Το *dichlorvos* είναι πολύ τοξική ένωση με μικρή υπολειμματική διάρκεια (η δραστηριότητα των υδατικών υπολειμμάτων του διαρκεί 1-3 ημέρες), γι' αυτό και χρησιμοποιείται ευρύτατα ως ασφυκτικό εντομοκτόνο σε αποθηκευτικούς χώρους για την καταπολέμηση πολλών εντομολογικών προσβολών.
- Υπολείμματα του φυτοφαρμάκου *dimethoate* ανιχνεύθηκαν σε ένα δείγμα μελιτζάνας. Το *dimethoate* είναι ιδιαίτερα τοξικό και αποτελεί ένα από τα ευρύτερα εφαρμοζόμενα διασυστηματικά εντομοκτόνα. Χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση πολλών σοβαρών εχθρών της μελιτζάνας, όπως τα έντομα: *Bemisia tabaci* (αλευρώδης του καπνού), *Phthorimaea operculella* (φθοριμαία της πατάτας) και *Liriomyza trifolii* (λιριόμυζα).
- Υπολείμματα του φυτοφαρμάκου *chlorpyrifos* ανιχνεύθηκαν σε δύο δείγματα καρότου. Το *chlorpyrifos* είναι σταθερό σε ουδέτερο ή ελαφρά όξινο περιβάλλον και χρησιμοποιείται στον αγρό και στο θερμοκήπιο για την καταπολέμηση σοβαρών εχθρών των λαχανικών, όπως τα έντομα που ανήκουν στο γένος *Agriotes* sp. (σιδεροσκούληκα) και τα έντομα: *Agrotis segetum* (καραφατμέ) και *Gryllotalpa gryllotalpa* (κρεμμυδοφάγος)
- Υπολείμματα του φυτοφαρμάκου *methacrifos* ανιχνεύθηκαν σε τέσσερα δείγματα κρεμμυδιού. Το *methacrifos* χρησιμοποιείται κυρίως στην καλλιέργεια του κρεμμυδιού για την καταπολέμηση του εντόμου *Thrips tabaci* (θρίπας του κρεμμυδιού).
- Υπολείμματα της βενζοϊμιδαζόλης *carbendazim* ανιχνεύθηκαν σε δύο δείγματα μανταρινιού. Η συγκεκριμένη ουσία χρησιμοποιείται στην καλλιέργεια των εσπεριδοειδών για την καταπολέμηση των μυκήτων εδάφους που προκαλούν τήξεις, όπως οι μύκητες *Botrytis cinerea* και *Rhizoctonia solani*. [18]

Όσον αφορά στις Κοινοτικές επισημάνσεις σχετικά με τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας επιβεβαιώνουν την παρουσία υπολειμμάτων *fenitrothion* σε δείγματα εσπεριδοειδών, την παρουσία υπολειμμάτων *carbendazim* σε δείγματα μήλων και την παρουσία υπολειμμάτων *methomyl* σε δείγματα μαρουλιού.[32]

Παρά τις προσπάθειες ενημέρωσης των καταναλωτών και την αναθεώρηση του νομικού πλαισίου που αφορά στην ασφάλεια και στον έλεγχο των τροφίμων, η ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα εξακολουθεί να εγκυμονεί σοβαρούς κινδύνους για τον άνθρωπο. Αν και η Ευρωπαϊκή νομοθεσία προβλέπει Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων για έναν μεγάλο αριθμό φυτοπροστατευτικών ουσιών, η ύπαρξη των MRL αδυνατεί από μόνη της να



θωρακίσει τη δημόσια υγεία. Η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε χαμηλές συγκεντρώσεις δύναται να αποδειχθεί ιδιαίτερα επιβλαβής, λόγω της αθροιστικής δράσης των προσλαμβανόμενων υπολειμμάτων. Η ημερήσια κατανάλωση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων δεν μπορεί να προσδιοριστεί, αφού σχετίζεται όχι μόνον με τα επίπεδα υπολειμματικότητας, αλλά και με τις διατροφικές συνήθειες των ατόμων. Η επαγόμενη τοξικότητα και η πιθανότητα εμφάνισης καρκινογένεσης συνδέεται άμεσα με την ημερήσια πρόσληψη επικίνδυνων ενώσεων και με τη συνεργιστική δράση τους.

Η κατανάλωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών χαρακτηρίζει τη Μεσογειακή διατροφή και η έκθεση του Έλληνα καταναλωτή σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων που περιέχονται στα νωπά αυτά προϊόντα συχνά απασχολεί την κοινή γνώμη. Η επικινδυνότητα της πρόσληψης υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων είναι δύσκολο να αξιολογηθεί αφού οι ουσίες αυτές περιέχονται σε ένα πλήθος διαφορετικών προϊόντων που καταναλώνονται καθημερινά. Αξίζει να σημειωθεί ότι πρόσφατη έρευνα κατέδειξε την παρουσία στο ελληνικό ελαιόλαδο υπολειμμάτων του οργανοχλωριωμένου φυτοφαρμάκου endosulfan και συγκεκριμένα του μεταβολίτη του endosulfan sulfate. Δεδομένου ότι το ελαιόλαδο συνδυάζεται με την κατανάλωση νωπών λαχανικών στη μεσογειακή κουζίνα στην ημερήσια πρόσληψη υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων από την κατανάλωση νωπών λαχανικών θα πρέπει να προστεθεί και η κατανάλωση υπολειμμάτων endosulfan sulfate.

Τα Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων αν και περιορίζουν τη χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων δεν την καταργούν και η αθροιστική δράση των υπολειμμάτων τους αποτελεί μείζον πρόβλημα για τη διασφάλιση της υγείας των Ευρωπαίων καταναλωτών.

Η κατάργηση της χρήσης των φυτοφαρμάκων μπορεί να επέλθει μόνο μέσω της επικράτησης του βιολογικού μοντέλου παραγωγής. Η βιολογική γεωργία μπορεί να εξασφαλίσει τη σταθερότητα στην παραγωγή και τον περιορισμό της επέκτασης των προσβολών μέσω της εφαρμογής κατάλληλων καλλιεργητικών τεχνικών, της βιολογικής καταπολέμησης των φυτοπαρασίτων και της αποκατάστασης της ισορροπίας των αγροοικοσυστημάτων. Η Ευρωπαϊκή Ένωση κατευθύνεται προς την ενίσχυση του βιολογικού μοντέλου παραγωγής με την προνομιακή επιδότηση των βιολογικών καλλιεργειών και την ενημέρωση των παραγωγών για τα οφέλη και τις προοπτικές της βιολογικής εκμετάλλευσης.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Αλεξάνδρου Ν.Ε.- Βάρβογλη Α.Γ. Οργανική χημεία. Εκδόσεις Ζήτη, 1996
2. Αλμπάνης Τρ. Ρύπανση και τεχνολογία προστασίας περιβάλλοντος. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Γ΄ Έκδοση, 2005
3. Ανθρώπινο Δίκτυο Διάδοσης της ε & Γ Γνώσης – ΕΠΕΤ II, ΑΔΕΟ, Σεμινάριο: Μεθοδολογία και προτεραιότητες στην εργαστηριακή παρακολούθηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων από τη χρήση φαρμακευτικών προϊόντων, Αθήνα Θεσσαλονίκη, 25-27 Ιουνίου 2001
4. Βαλαβανίδης Α., Βασικές Αρχές Περιβαλλοντικής Χημείας, Οικοτοξικολογίας και Εκτίμησης Οικολογικού Κινδύνου, Αθήνα 2000, κεφ. 16, σελ. 324-339
5. Γραμματικάκη Κλεοπ. Μελέτη προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε δείγματα ελαιολάδου. Μελέτη της αποικοδόμησης του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου fenthion σε ελαιόλαδο. Ερευνητική Εργασία Διπλώματος Ειδίκευσης. Ε.Κ.Π.Α. Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, 2003
6. Κασσιός Κ.Α., Σημειώσεις Επιπτώσεων στο Περιβάλλον από Τεχνικά Έργα και Προγράμματα, Ε.Μ.Π., Αθήνα 1991
7. Κουμπάρης Μ., Έλεγχος Ποιότητας Φαρμάκων, Διαπανεπιστημιακό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Παραγωγή και έλεγχος φαρμακευτικών ουσιών, 1999
8. Κουμπάρης Μ., Στατιστική Χημειομετρία, ΔΠΜΣ, Παραγωγή και έλεγχος φαρμακευτικών ενώσεων, 2001
9. Μαχαίρα Κ., Τσιτσάκης Αρ., Τσούκαλη-Παπαδοπούλου Ε., Καπετανάκης Ε., Αθανασέλης Σ. Παρακολούθηση περιβαλλοντικών επιπτώσεων από τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στη γεωργία. υφιστάμενη κατάσταση στην Ελλάδα., Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 2001
10. Μπούρου Παναγιώτα. Η χρήση της τεχνικής εκχύλισης στερεής φάσης. Προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο υδάτινο περιβάλλον. Ερευνητική Εργασία Διπλώματος Ειδίκευσης. Ε.Κ.Π.Α. Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Χημείας, 2003
11. Νικηφοράκη Μ.Γ., Μηλιάδης Γ.Ε., Διαπίστευση των εργαστηρίων υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων κατά EN ISO/IEC17025, Πρακτικά 18^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Χημείας με θέμα Ενόργανη Ανάλυση – διαπίστευση Εργαστηρίων, Πειραιάς, Μάρτιος 2001
12. Παναγόπουλος Θ. Δίκαιο Περιβάλλοντος, Δ΄ Έκδοση. Εκδόσεις Σταμούλη, 2004
13. Παναγόπουλος Χ.Γ. Ασθένειες καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Κεφ.4, 1997
14. Πολυράκης Γ.Θ. Περιβαλλοντική γεωργία. Εκδόσεις Ψύχαλου, 2003



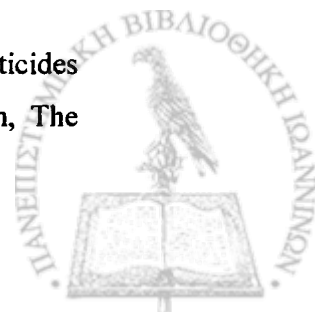
15. Ρήγας Φ., Επιστήμη και Τεχνολογία Περιβάλλοντος, Ε.Μ.Π., Αθήνα 1998, κεφ. 3, σελ. 86, 96-105
16. Σίσκος Π.Α., Σκούλλος Μ.Ι., Περιβαλλοντική Χημεία ΙΙ, Μέρος Α, Αθήνα 1990, σελ. 32-75
17. Σπάρτση Νικ.Ι., Καλτσίκη Παντ. Ι. Ανθοκηπευτικές καλλιέργειες. Τόμος Α΄, Κηπευτικές Καλλιέργειες, Ίδρυμα Ευγενίδου
18. Σταμόπουλος Δημ. Κ. Έντομα αποθηκών, μεγάλων καλλιεργειών και λαχανικών. Εκδόσεις Ζήτη, 1999.
19. Στεφανάκη - Νικηφοράκη. Συστηματική βοτανική, Αγγειόσπερμα, Τόμος Α΄
20. Τζανακάκης Μ.Ε., Κατσόγιαννος Β.Ι. Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Εκδόσεις Αγροτύπος, 1998
21. Χατζηιωάννου Θ. Π., Ευσταθίου Κ.Η., Ενόργανες τεχνικές αναλύσεως. Τόμος α΄. Ε.Κ.Π.Α. Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Χημείας
22. Χατζηιωάννου Θ.Π. - Κουμπάρης Μ.Α., Ενόργανη Ανάλυση, Ε.Κ.Π.Α., Αθήνα 2003, κεφ. 1, 2, 13, 15, 20, σελ. 9-12, 14-38, 334-363, 377-390, 479-492
23. Ana Agüera, Susana López, Amadeo R. Fernández-Alba, Mariano Contreras, Juan Crespo, Luis Piedra. One-year routine application of a new method based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry to the analysis of 16 multiclass pesticides in vegetable samples. Volume 1045, Issues 1-2, Pages 125-135. Journal of Chromatography A, August 2004
24. Anna Sannino, Luciana Bolzoni, Mirella Bandini. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. Volume 1036, Issue 2, Pages 161-169. Journal of Chromatography A, May 2004
25. Anson H. Moye. Analysis of pesticide residues. University of Florida, 1990
26. Antignac J., Wasch K., Monteau F., Brabander H., Andre F., Bizec B., The ion suppression phenomenon in liquid chromatography – mass spectrometry and its consequences in the field of residue analysis, Analytica Chimica Acta 529, 129-136, 2005
27. Ardrey B., Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: an introduction, J. Wiley & sons Ltd, West Sussex 2003, Ch. 2, 3, 5
28. Barcelo D., Application of LC-MS in Environmental Chemistry, Journal of Chromatography by library, 59, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1996, Ch. 2, 6



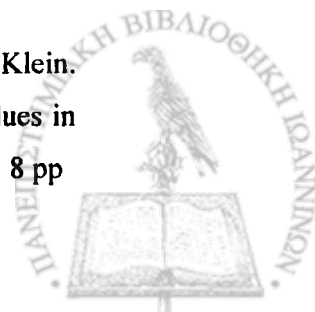
29. Barcelo D., Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality assurance, 13, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1993, Ch. 2, 15
30. Barcelo D. – Hennion M.-C., Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water: Techniques and instrumentation in analytical chemistry, 19, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1997
31. Barker J., Mass Spectrometry, 2nd edition, ACOL series, Wiley, 1999, Ch. 3, 8, pp. 55-92, 331-338
32. Brooks G.T., Roberts T.R., Pesticide chemistry and bioscience. The food – environment challenge. Royal society of chemistry, 1999
33. Codex Alimentarius, Volume 2, 2nd ed., Pesticide Residues in Food, pp. 147-365, FAO, 1993
34. Christer Jansson, Tuija Pihlström, Bengt-Göran Österdahl, Karin E. Markides, A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, Volume 1023, Issue 1, Pages 93-104. Journal of Chromatography A, January 2004
35. Christel L. Hetheron, Mark D. Sykes, Richard J. Fussell, David M. Goodall, A multi-residue screening method for the determination of 73 pesticides and metabolites in fruit and vegetables using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Volume 18, Issue 20, Pages 2443 – 2450, John Wiley & Sons, Sep 2004
36. Cristiana C. Leandro, Peter Hancock, Richard J. Fussell, Brendan J. Keely. Comparison of ultra-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography for the determination of priority pesticides in baby foods by tandem quadrupole mass spectrometry. Volume 1103, Issue 1, Pages 94-101. Journal of Chromatography A, January 2006
37. Cristina Blasco, Guillermina Font, Yolanda Picó. Multiple-stage mass spectrometric analysis of six pesticides in oranges by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–ion trap mass spectrometry. Volume 1043, Issue 2, Pages 231-238. Journal of Chromatography A, July 2004
38. Didier Ortelli, Patrick Edder, Claude Corvi, Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry, Volume 520, Issues 1-2, Pages 33-45, First International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic, August 2004
39. Emberlin J.C. Εισαγωγή στην οικολογία. Τυπωθήτω, 2002
40. European Commission. Health and Consumer Protection Directorate General. Weekly overview of notifications transmitted. The rapid alert system for food and feed, 2007



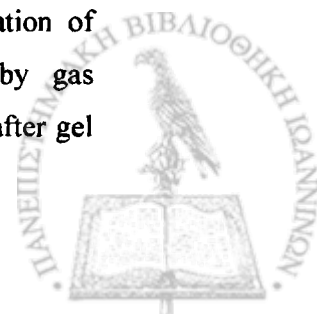
41. F. Hernández, O.J. Pozo, J.V. Sancho, L. Bijlsma, M. Barreda, E. Pitarch. Multiresidue liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 52 non gas chromatography-amenable pesticides and metabolites in different food commodities. Volume 1109, Issue 2, Pages 242-252. 19th International Symposium on MicroScale Bioseparations, Journal of Chromatography A, March 2006
42. Fajgelj A., Ambrus A., Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of chemistry, IUPAC, Cambridge, 2000, 19-28, 100-107
43. Ferrer I., Garcia-Reyes J.F., Mezcuca M., Thurman E.M., Fernandez-Alba A.r., Multi-residue pesticide analysis in fruits and vegetables by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry, Journal of Chromatography A 1082, 81-90, 2005
44. Finnigan Ion Max API source, Harware Manual, Thermo Electron Corporation, California, 2003, Ch. 1
45. Finnigan TSQ Quantum Ultra, Hardware Manual, Thermo Electron Corporation, California, 2003, Ch. 1, 2, 3
46. Gianni Sagratini, Jordi Mañes, Dario Giardiná, Pietro Damiani, Yolanda Picó. Analysis of carbamate and phenylurea pesticide residues in fruit juices by solid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2007. Volume 1147, Issue 2, Pages 135-143
47. Gordon Kearney, Lutz Alder, Anthony Newton, Jeannette Klien. A Multi-Residue LC/MS/MS Method For The Determination Of 81 Pesticide Residues In Fruit and Vegetables: PART 1, Method Overview, 2003, Volume: Page: 8pp
48. Guidelines for residues monitoring in the European Union, Quality Control Procedures for pesticide residues analysis, 2nd edition, 1999-2000
49. Hans G. J. Mol, Ruud C. J. van Dam and Odile M. Steijger. Determination of polar organophosphorus pesticides in vegetables and fruits using liquid chromatography with tandem mass spectrometry: selection of extraction solvent, Volume 1015, Issues 1-2, Pages 119-127, Journal of Chromatography A, October 2003
50. Heinig K., Henion J., Fast liquid chromatographic – mass spectrometric determination of pharmaceutical compounds, Journal of Chromatography B, 732, 445-458, 1999
51. Hernandez F., Ibanez M., Sancho J.V., Pozo O.J., Comparison of different mass spectrometric techniques combined with liquid chromatography for confirmation of pesticides in environmental water based on the use of identification points, Anal. Chem., 76, 4349-4357, 2004
52. Hernando M.D., Ferrer I., Aguera A., Fernandez-Alba A.R., Evaluation of pesticides in wastewaters – a combined (chemical and biological) analytical approach, The handbook of environmental chemistry, Vol 5, Part O, 2005, 53-77



53. Hogenboom A.C., Hofman M. P., Kok S. J., Niessen W. M. A., Brinkman U. A. Th. Determination of pesticides in vegetables using large-volume injection column liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, Volume 892, Issues 1-2, Pages 379-390, September 2000
54. J. L. Martínez Vidal, A. Garrido Frenich, T. López López, I. Martínez Salvador, L. Hajjaj el Hassani, M. Hassan Benajiba. Selection of a Representative Matrix for Calibration in Multianalyte Determination of Pesticides in Vegetables by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry, Volume 61, Numbers 3-4. *Chromatographia*, February 2005
55. Katan Patel, Richard J. Fussell, Roy Macarthur, David M. Goodall, Brendan J. Keely. Method validation of resistive heating-gas chromatography with flame photometric detection for the rapid screening of organophosphorus pesticides in fruit and vegetables. Volume 1046, Issues 1-2, Pages 225-234. *Journal of Chromatography A*, August 2004
56. Keenan Taylor J., Σίσκος Π., Διασφάλιση Ποιότητας των Χημικών Μετρήσεων, ΕΛΚΕΠΑ, Αθήνα 1996
57. Kellner R., Mermet J.-M., Otto M., Widmer H.M., *Analytical Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim 1998, ch. 5, 9, pp. 186-192, 603-623
58. Kloefer A., Quintana J.B., Reemtsma T., Operational options to reduce matrix effects in liquid chromatography – electrospray ionization – mass spectrometry analysis of aqueous environmental samples, *Journal of Chromatography A*, 1067, 153-160, 2005
59. Lutz Alder, Kerstin Greulich, Günther Kempe, Bärbel Vieth, Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS, Wiley Periodicals, Inc., Volume 25, Issue 6 , Pages 838 – 865, Jun 2006
60. Michael J. Taylor, Kenneth Hunter, Kirsty B. Hunter, David Lindsay, Soazig Le Bouhellec. Multi-residue method for rapid screening and confirmation of pesticides in crude extracts of fruits and vegetables using isocratic liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry, Volume 982, Issue 2, Pages 225-236. *Journal of Chromatography A*, December 2002
61. McLafferty F.W. and Turecek F., *Interpretation of Mass Spectra*, 4th edition, University Science Books, Sausalito, 1993, Ch. 1,4
62. Pecsok, Shields, Cairns, Mc William. Σύγχρονες μέθοδοι στην χημική ανάλυση. Δεύτερη Έκδοση. Γ.Α. Πνευματικός, 1980
63. Peter Hancock, Gordon Kearney, Anthony Newton, Lutz A l d e r, Jeannette Klein. An Enhanced LC/MS/MS Method for the Determination of 81 Pesticide Residues in Fruit and Vegetables Using the Quattro Premier Mass Spectrometer. 2004 Page: 8 pp



64. Picó Y., Font G., Moltó J. C., Mañes J. Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2000, Volume 882, Issues 1-2, Pages 153-173
65. Prichard E., Crosby N.T., Day J.A., Hardcastle W.A., Holcombe D.G., Treble R.D., *Quality in the Analytical Chemistry Laboratory, Analytical chemistry by Open learning*, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, 1998, Ch. 1, 4
66. Prichard E., Mackay G.M. and Points J., *Trace Analysis: a structured approach to obtaining reliable results*, Royal Society of Chemistry, Land & Unwin Ltd, Cambridge, 1996, Ch. 1, 6, pp. 32-39, 261-272
67. Roberts T., Hutson D. *Metabolic Pathways of agrochemicals. Part Two, (Insecticides and fungicides)*. Royal Society of Chemistry, 1999
68. Rodriguez-Mozaz S., Lopez de Alda M., Barcelo D., *Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry*, *Journal of Chromatography A*, 1045, 85-92, 2004
69. Royal society of chemistry. *The agrochemicals handbook*. Third Edition, 1992
70. Sandra P. *High resolution gas chromatography*. Third Edition. K.J. Hyver, 1989
71. Skoog D.A., Holler F.J., Nicman T.A., *Principles of Instrumental Analysis*, 5th edition, Harcourt Brace & Company, 1998, Ch. 1, 10, 20, pp. 11-18, 253-261, 498-532
72. Steven J., Lehotay André, Maurice Hiemstra, Peter van Bodegraven. *Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection*, Volume: 88, Issue: 2, Pages: 595-614, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, March 2005
73. Svetlana Grujic, Marina Radisic, Tatjana Vasiljevic, Mila Lausevic. *Determination of carbendazim residues in fruit juices by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Volume 22, Issue 11, pages 1132-1137. *Food Additives & Contaminants*, November 2005
74. Tomomi Goto, Yuko Ito, Sadaji Yamada, Hiroshi Matsumoto, Hisao Oka, Hisamitsu Nagase. *The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column*. Volume 555, Issue 2, Pages 225-232. *Analytica Chimica Acta*, January 2006
75. Ueno, E., Oshima, H., Saito, I., Matsumoto, H., Nakazawa, H. *Determination of nitrogen- and phosphorus-containing pesticide residues in vegetables by gas chromatography with nitrogen-phosphorus and flame photometric detection after gel*



- permeation chromatography and a two-step minicolumn cleanup. Journal of pesticide science, (Vol. 28) (No. 4) 422-428 Pesticide Science Society of Japan, 2003
76. Verga G. R. Improvements in flame photometric detector design and operation. Determination of organophosphorus pesticide residues at low picogram levels. Original Research Paper. Carlo Erba Instruments, 1992
77. W.M.A. Niessen, P. Manini, R. Andreoli. Matrix effects in quantitative pesticide analysis using liquid chromatography-mass spectrometry. Volume 25, Issue 6 , Pages 881 – 899. Wiley Periodicals, Inc. Jun 2006
78. www.europa.eu.int/comm/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm.
79. Y. Picó, G. Font, J. C. Moltó, J. Mañes. Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. Volume 882, Issues 1-2, Pages 153-173. Journal of Chromatography A, June 2000





ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΩΠΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΚΑΙ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ – ΔΙΔΥΜΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ

Κουτούγερα Μαρία

Ερευνητική Εργασία Διπλώματος Ειδίκευσης «Αγροχημεία και βιολογικές καλλιέργειες»,
υποβληθείσα στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Δεκέμβριος, 2007

Τα τελευταία χρόνια η εισαγωγή υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών ουσιών στο περιβάλλον έχει γίνει ένα θέμα παγκόσμιου ενδιαφέροντος, καθώς έχει δημιουργήσει σοβαρούς κινδύνους για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος συχνά βρίσκονται τα νωπά φρούτα και λαχανικά εξαιτίας της υψηλής διατροφικής αξίας και των εντατικών φυτοπροστατευτικών επεμβάσεων που εφαρμόζονται στη διαδικασία παραγωγής τους.

Στην παρούσα εργασία δύο πολυ-υπολειμματικές μέθοδοι περιγράφονται για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων 29 φυτοφαρμάκων και μεταβολιτών τους σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων νωπών φρούτων και λαχανικών. Τα προσδιοριζόμενα φυτοφάρμακα ανήκουν στις κατηγορίες των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και των βενζο-ιμιδαζολών.

Η επιτυχία της απομόνωσης των υπολειμμάτων και η επίδραση υποστρώματος μελετήθηκαν με εφαρμογή δύο τεχνικών εκχύλισης. Οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τη μία εκχύλιση ήταν ο οξικός αιθυλεστέρας και το ακετονιτρίλιο και οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την άλλη εκχύλιση ήταν η ακετόνη, το διχλωρομεθάνιο και ο πετρελαϊκός αιθέρας. Για την απομάκρυνση της υγρασίας των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε άνυδρο θειικό νάτριο και το συλλεγόμενο έκλουσμα συμπυκνώθηκε και ακολούθησε αναδιάλυση σε οξικό αιθυλεστέρα για τα δείγματα που εξετάστηκαν από το GC-FPD και σε υδατικό διάλυμα αιθανόλης για τα δείγματα που εξετάστηκαν από το LC-MS-MS.

Δεκατρία οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα εξετάστηκαν από το σύστημα αέριας χρωματογραφίας με φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή, ενώ ο ποιοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με εξέταση των δειγμάτων και από δεύτερη στήλη αεριοχρωματογράφου.



Για την ανίχνευση των υπολοίπων φυτοφαρμάκων χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας - δίδυμης φασματομετρίας μαζών εφοδιασμένο με σύστημα ηλεκτροψεκασμού (ESI(+)) και τριπλό τετραπολικό (QqQ) ανιχνευτή. Για τον προσδιορισμό της ταυτότητας και της ποσότητας των περιεχόμενων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων εφαρμόστηκε η τεχνική παρακολούθησης επιλεγμένων αντιδράσεων (SRM).

Η ευαισθησία και η εκλεκτικότητα των μεθόδων ήταν ικανοποιητικές με τα όρια ποσοτικοποίησης στα 0.04mg/kg για το σύστημα GC-FPD και στα 0.02mg/kg για το σύστημα LC-MS-MS. Οι ανακτήσεις, οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις και η ορθότητα και πιστότητα των μεθόδων πληρούν τα κριτήρια που συνήθως απαιτούνται. Προκειμένου να ελεγχθεί η επίδραση υποστρώματος στην ανάλυση επιλέχθηκαν έξι αντιπροσωπευτικά υποστρώματα φρούτων και λαχανικών και το φαινόμενο της επίδρασης υποστρώματος αξιολογήθηκε για όλα τα αντιπροσωπευτικά υποστρώματα μέσω του εμβολιασμού γνωστής συγκέντρωσης των προτύπων ουσιών σε τυφλά δείγματα ελέγχου. Η επίδραση υποστρώματος γενικά εμφανίστηκε χαμηλή, με τις μέσες τιμές ανάκτησης να κυμαίνονται μεταξύ 60-120% και για τις δύο μεθόδους και με αντίστοιχες σχετικές τυπικές αποκλίσεις μικρότερες του 20%. Η επαναληψιμότητα και η γραμμικότητα των μεθόδων για εύρος συγκεντρώσεων 1-0.03mg/kg για το σύστημα GC-FPD και για εύρος συγκεντρώσεων 100-1μg/kg για το σύστημα LC-MS-MS κρίθηκαν ικανοποιητικές.

Ενενήντα δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών συλλέχθηκαν από τρεις λαϊκές αγορές στο κέντρο της Αθήνας και εξετάστηκαν για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Πέντε δείγματα συλλέχθηκαν για κάθε εξεταζόμενο υπόστρωμα και κατηγοριοποιήθηκαν στις έξι ομάδες αντιπροσωπευτικών υποστρωμάτων που επιλέχθηκαν. Δεκατέσσερα φυτοφάρμακα και μεταβολίτες τους ανιχνεύθηκαν σε τριάντα επτά δείγματα νωπών φρούτων και λαχανικών. Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα methacrifos και chlorpyrifos και η βενζο-ιμιδαζόλη carbendazim και ο μεταβολίτης της benomyl προσδιορίστηκαν στο μεγαλύτερο μέρος των θετικών δειγμάτων. Σε οχτώ από τα πενήντα εξεταζόμενα δείγματα λαχανικών και σε δύο από τα σαράντα εξεταζόμενα δείγματα φρούτων προσδιορίστηκαν συγκεντρώσεις υπολειμμάτων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που υπερβαίνουν τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων: ακατάλληλες συγκεντρώσεις dichlorvos ανιχνεύθηκαν σε ένα δείγμα λαχάνου, ακατάλληλες συγκεντρώσεις dimethoate ανιχνεύθηκαν σε ένα δείγμα μελιτζάνας, ακατάλληλες συγκεντρώσεις chlorpyrifos ανιχνεύθηκαν σε δύο δείγματα καρότου, ακατάλληλες συγκεντρώσεις methacrifos ανιχνεύθηκαν σε τέσσερα δείγματα κρεμμυδιού και ακατάλληλες συγκεντρώσεις της βενζοϊμιδαζόλης carbendazim και του μεταβολίτη της benomyl ανιχνεύθηκαν σε δύο δείγματα μανταρινιού.



SUMMARY

DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FRESH FRUIT AND VEGETABLE SAMPLES BY USING CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY WITH FLAME PHOTOMETRIC DETECTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROMETRY

Koutougera Maria

A Msc Thesis in specialization of "Agrochemicals and Organic Agriculture",
submitted to the Department of Chemistry of University of Ioannina

December, 2007

Nowadays the presence of pesticide residues in the environment has become a subject of public concern, due to the potential of ecological and human health risks. Fresh fruits and vegetables contain a variety of healthy compounds and they are always in the centre of attention.

Two multiresidue methods are described for the determination of 29 pesticides and metabolites, including organophosphorus, carbamates and benzimidazoles fungicides and insecticides. Methods have been validated for various fruits and vegetables matrices. Six representative species from different commodity groups were chosen as matrices in order to study the influence from different matrices on recoveries.

The extraction efficiency for the selected pesticides and the influence of different representative matrices were studied using two different extractions. Extraction with ethyl acetate and acetonitrile as solvents compared with extraction with acetone, dichloromethane and petroleum benzene as solvents. Samples elution dried over anhydrous sodium sulphate and the extracts concentrated, evaporated to dryness and re-dissolved in ethyl acetate before injection on GC-FPD and in methanol before injection on LC-MS-MS.

Thirteen organophosphorus pesticides determined by GC-FPD system. A second GC column used for the qualitative confirmation of organophosphorus residues detected in samples. LC-MS-MS system used for the qualitative and quantitative confirmation of the rest determined pesticides. Analyses performed using electrospray ionization (ESI(+)) and triple quadrupole (QqQ) analyzer in selected reaction monitoring mode.



Good sensitivity and selectivity of the two methods were obtained with limits of quantification of 0.04mg/kg for GC-FPD and 0.02mg/kg for LC-MS-MS. Recoveries, RSD and accuracy values of the methods fulfilled the criteria of validation commonly admitted. Matrix effects were tested for all representative matrices by means of standard addition to blank extracts. The matrix effect - expressed as signal in solvent compared to signal in matrix - was in general found to be small. The obtained recoveries were, in the range 60–120% and relative standard deviations of the peak area measurements were less than 20%. The repeatability of the methods and the linearity in the range of 1-0.03mg/kg for GC-FPD and in the range of 100-1μg/kg for LC-MS-MS were satisfactory.

Ninety samples of fresh fruits and vegetables selected from three open markets in the center of Athens and analyzed for the determination of pesticide residues. Five samples were selected for every tested matrix and all sample matrices categorized in the six representative matrix groups. Fourteen pesticide residues and metabolites determined in thirty seven samples of fruits and vegetables. The organophosphorus pesticides methacrifos and chlorpyrifos and the benzimidazole carbendazim and its metabolite benomyl detected in most of the samples. In eight samples of vegetables determined concentrations of organophosphorus pesticide residues above MRL: dichlorvos residues in one sample of head cabbage, dimethoate residues in one sample of aubergine, chlorpyrifos residues in two samples of carrot, methacrifos residues in four samples of onion and carbendazim/benomyl residues in two mandarin samples.

