



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

Σχολή Θετικών Επιστημών – Τμήμα Χημείας

Τομέας Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΕΡΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΩΝ

Διδακτορική διατριβή

Ηλίας Α. Κάζος

Χημικός, MSc



ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2009



Προς την Γραμματεία του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ κ. ΗΛΙΑ ΚΑΖΟΥ

Σήμερα 5 Νοεμβρίου 2009 και ώρα 7:00 μ.μ. η επταμελής εξεταστική επιτροπή αποτελούμενη από τους:

1. **Κων/να Κονιδάρη**, Επίκ. Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Επιβλέπουσα Καθηγήτρια
2. **Κων/νο Σταλίκας**, Αναπλ. Καθηγητή, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της συμβουλευτικής και της εξεταστικής επιτροπής
3. **Χρήστο Νάνο**, Λέκτορα, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της συμβουλευτικής και της εξεταστικής επιτροπής
4. **Τριαντάφυλλο Αλμπάνη**, Καθηγήτη, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της εξεταστικής επιτροπής
5. **Γεώργιο Πηλίδη**, Καθηγητή, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της εξεταστικής επιτροπής
6. **Αθανάσιο Βλεσσίδη**, Επίκ. Καθηγητή, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της εξεταστικής επιτροπής
7. **Μάμα Προδρομίδη**, Επίκ. Καθηγητή, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος της εξεταστικής επιτροπής

σύμφωνα με την απόφαση του Τμήματος Χημείας (Συνεδρίαση 761^Α/23-10-2009), συνήλθε στην αίθουσα Χ2-097, του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και παρακολούθησε τη δημόσια παρουσίαση της διατριβής του υποψήφιου διδάκτορα κ. Ηλία Κάζου του Αθανασίου, με θέμα:

"Ανάπτυξη Μεθόδων Δειγματοληψίας και Ανάλυσης Επιλεγμένων Φυτοφαρμάκων στον Αέρα Θερμοκηπίων"

Πριν την έναρξη της συνεδρίασης η Επιβλέπουσα Καθηγήτρια ενημέρωσε τα μέλη για τη διαδικασία σύμφωνα με το άρθρο 12, 13 του νόμου 2083/92. Ο κ. Ηλίας Κάζος ανέπτυξε επί μία περίπου ώρα τα κυριότερα αποτελέσματα της διατριβής του, απάντησε σε ερωτήσεις του ακροατηρίου και της εξεταστικής επιτροπής.

Στη συνέχεια ο κ. Ηλίας Κάζος και το ακροατήριο αποχώρησαν, ενώ η επταμελής εξεταστική επιτροπή μετά από σύσκεψη και λεπτομερή συζήτηση έκρινε ότι η διατριβή είναι πρωτότυπη και συμβάλλει στην εξέλιξη της επιστήμης και έτσι αποφάσισε ομόφωνα να προτείνει την απονομή του τίτλου του διδάκτορα στον κ. Ηλία Κάζο με βαθμό "Άριστα" από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η Εξεταστική Επιτροπή

1. Κων/να Κονιδάρη

2. Κων/νος Σταλίκας

3. Χρήστος Νάνος

4. Τριαντάφυλλος Αλμπάνης

5. Γεώργιος Πηλίδης

6. Αθανάσιος Βλεσσίδης

7. Μάμας Προδρομίδης

A little knowledge is a dangerous thing. So is a lot.

- Albert Einstein

στην οικογένεια μου

Αθανάσιο, Αρχόντισσα και Ιωσήφ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο σύνολό της στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με επιβλέπουσα την Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Κωνσταντίνα Κονιδάρη. Την τριμελή συμβουλευτική επιτροπή πλαισιώνουν ο Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Κωνσταντίνος Σταλίκας, καθώς και ο Λέκτορας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Χρήστος Νάνος.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Ιδιαίτερα θερμές ευχαριστίες εκφράζονται στην επιβλέπουσά μου, Επίκουρη Καθηγήτρια κ.Κωνσταντίνα Κονιδάρη, για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την ανεκτίμητη και συνεχή καθοδήγησή της, τις εύστοχες υποδείξεις, καθώς και για την αμέριστη συμπαράσταση και τις γνώσεις που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά και τα υπόλοιπα δύο μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Σταλικά, για τις σημαντικές υποδείξεις του, τα εύστοχα σχόλια, το συνεχές ενδιαφέρον και την άμεση συνεργασία σε όλη τη διάρκεια της παρούσας εργασίας, καθώς και τον Λέκτορα κ. Χρήστο Νάνο για την ποικιλόμορφη και πολύτιμη βοήθειά του.

Οφείλω επίσης να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον Καθηγητή του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών κ. Γεώργιο Πηλίδη για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου και με ενέταξε σε πλήθος ερευνητικών προγραμμάτων, στον Καθηγητή του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Τριαντάφυλλο Αλμπάνη για την παραχώρηση προτύπων ουσιών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, στον Dr. Kevin L. Armbrust (Mississippi State Chemical Laboratory, Mississippi State University, USA) για την παραχώρηση ποσότητας της πρότυπης ουσίας 4-hydroxychlorothalonil καθώς επίσης και στον Dr. Don Waite (Environment Canada, Saskatchewan, Canada) για την παραχώρηση ρητινών XAD-2 και Tenax.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω και στον κ. Γκόλια Δημήτριο, κάτοικο Λογγάδων Ιωαννίνων, ο οποίος μας παραχώρησε το θερμοκήπιο του για την πραγματοποίηση των πειραμάτων της παρούσας διατριβής σε πραγματικές συνθήκες.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου Δρ. Ιωάννη Φιαμέγκο, Δρ. Ελένη Γιώτη, Παρασκευή Μπέζα, Βικτώρια Δασκάλου και Ανδρέα

Καραταπάνη για τις επικοδομητικές συζητήσεις, την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση και άριστη συνεργασία που μου προσέφεραν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου Αθανάσιο και Αρχόντισσα και τον αδερφό μου Ιωσήφ για την ηθική, οικονομική και ψυχολογική στήριξη που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της διατριβής.

Ηλίας Α. Κάζος
Ιωάννινα, Σεπτέμβριος 2009

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
Κεφάλαιο 1 - Φυτοφάρμακα.....	1
1.1 Εισαγωγή.....	1
1.2 Χρήση των φυτοφαρμάκων.....	5
1.3 Τοξικότητα των φυτοφαρμάκων.....	10
1.4 Κατηγορίες φυτοφαρμάκων.....	13
1.4.1 Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες (Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα).....	13
1.4.2 Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα (Οργανοφωσφορικοί εστέρες).....	15
1.4.3 Καρβαμιδικά φυτοφάρμακα.....	17
1.4.4 Διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα.....	18
1.4.5 Πυρεθροειδή και φυσικές πυρεθρίνες.....	20
1.4.6 Ενώσεις των χλωρο- και αμινο- τριαζινών.....	22
1.5 Τρόποι εφαρμογής των φυτοφαρμάκων.....	23
1.6 Τύχη των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον.....	24
1.6.1 Διεργασίες μεταφοράς των φυτοφαρμάκων.....	25
1.6.1.1 Εξάτμιση.....	25
1.6.1.2 Μεταφορά με τον αέρα.....	26
1.6.1.3 Έκπλυση.....	26
1.6.1.4 Επιφανειακή απορροή.....	27
1.6.1.5 Πρόσληψη από τα φυτά.....	28
1.6.2 Διεργασίες διάσπασης των φυτοφαρμάκων.....	29
1.6.2.1 Φωτοδιάσπαση ή φωτόλυση.....	29
1.6.2.2 Μικροβιακή διάσπαση.....	30
1.6.2.3 Υδρόλυση.....	31
Κεφάλαιο 2 – Φυτοφάρμακα στον αέρα.....	33
2.1 Εισαγωγή.....	33
2.2 Μεταφορά και κατανομή των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα.....	33
2.2.1 Παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα.....	34
2.2.2 Εξάτμιση των φυτοφαρμάκων.....	38
2.2.3 Ξηρή και Υγρή εναπόθεση.....	43
2.2.3.1 Ξηρή εναπόθεση.....	44
2.2.3.2 Υγρή εναπόθεση.....	46
2.2.4 Χημική διάσπαση.....	47
2.2.5 Θερμοκήπια.....	49
2.2.5.1 Γενικά.....	49
2.2.5.2 Φυτοφάρμακα στον αέρα των θερμοκηπίων.....	51
2.2.5.3 Έκθεση σε φυτοφάρμακα εργαζομένων στα θερμοκήπια.....	55
2.2.6 Δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων στον αέρα.....	57
2.2.7 Σκοπός και αντικείμενο της διατριβής.....	60
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	63
Κεφάλαιο 3 – Ταυτόχρονος προσδιορισμός του φυτοφαρμάκου Chlorothalonil και του κύριου μεταβολίτη του 4- Hydroxychlorothalonil.....	63
3.1 Εισαγωγή.....	63
3.2 Μέθοδοι προσδιορισμού του CTN και του HCTN.....	66
3.3 Δειγματοληψία του CTN στον αέρα.....	67
3.4 Αντιδραστήρια – Διαλύτες – Υλικά.....	67
3.5 Διαλύματα.....	68

3.6 Όργανα – Συσκευές	68
3.7 Προσδιορισμός του CTN και του HCTN	69
3.7.1 Γενική πειραματική πορεία	69
3.7.2 Χρωματογραφικές συνθήκες HPLC	69
3.7.3 Επιλογή χρωματογραφικής στήλης και κινητής φάσης	70
3.7.4 Αναλυτικά χαρακτηριστικά μεθόδου.....	72
3.8 Επιλογή προσροφητικού υλικού για τη συλλογή των CTN και HCTN από την αέρια φάση.....	74
3.9 Επιλογή διαλύματος εκχύλισης - Επιλογή του όγκου του διαλύματος εκχύλισης για την ανάκτηση των CTN και HCTN από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel και μικροφίλτρα υαλονημάτων	75
3.10 Μελέτη της ανάκτησης διαφορετικών συγκεντρώσεων των CTN και HCTN από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel και μικροφίλτρα υαλονημάτων	76
3.11 Μελέτη της σταθερότητας των CTN και HCTN σε εμβολιασμένα φίλτρα κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους.....	78
3.12 Μελέτη της ικανότητας συλλογής των CTN και HCTN από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων silica gel	80
3.13 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από φίλτρα GF/A και silica gel, μετά τη διέλευση αέρα υγρασίας 10 και 80 %	81
3.13.1 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων μετά τη διέλευση αέρα	82
3.13.2 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από φίλτρα silica gel μετά τη διέλευση αέρα	88
3.13.3 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel μετά τη διέλευση αέρα	90
3.14 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου.....	92
3.14.1 Περιγραφή δειγματοληψίας.....	94
3.14.2 Αποτελέσματα δειγματοληψίας.....	98
3.14.3 Εκτίμηση της έκθεσης σε CTN των εργαζομένων σε θερμοκήπια.....	101
3.15 Αποτελέσματα-Συζήτηση.....	101

Κεφάλαιο 4 – Ταυτόχρονος προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων Chlorpyrifos, Diazinon, Pirimiphos-methyl, Fenthion και

Parathion-methyl	105
4.1 Εισαγωγή.....	105
4.1.1 Chlorpyrifos.....	105
4.1.2 Diazinon	108
4.1.3 Pirimiphos-methyl.....	110
4.1.4 Fenthion	112
4.1.5 Parathion-methyl	113
4.2 Μέθοδοι προσδιορισμού οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων	115
4.3 Δειγματοληψία οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στον αέρα	116
4.4 Αντιδραστήρια – Διαλύτες – Υλικά.....	117
4.5 Διαλύματα	118
4.6 Όργανα – Συσκευές	118
4.7 Προσδιορισμός των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων.....	119
4.7.1 Γενική πειραματική πορεία	119
4.7.2 Χρωματογραφικές συνθήκες HPLC	119
4.7.3 Επιλογή χρωματογραφικής στήλης και κινητής φάσης	120
4.7.4 Αναλυτικά χαρακτηριστικά μεθόδου.....	121
4.8 Επιλογή προσροφητικού υλικού για τη συλλογή των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση-Επιλογή διαλύματος εκχύλισης.....	124

4.9 Επιλογή του όγκου του διαλύματος εκχύλισης για την ανάκτηση των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 και μικροφίλτρα υαλονημάτων	129
4.10 Μελέτη της ανάκτησης διαφορετικών ποσοτήτων των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 και μικροφίλτρα υαλονημάτων	130
4.11 Μελέτη της σταθερότητας των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων σε εμβολιασμένα φίλτρα κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους	131
4.12 Μελέτη της ικανότητας συλλογής των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων XAD-2	133
4.13 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα GF/A και XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα υγρασίας 10 και 80 %.....	134
4.13.1 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων, μετά τη διέλευση αέρα	135
4.13.2 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα	137
4.13.3 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα	140
4.14 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου	143
4.14.1 Περιγραφή δειγματοληψίας.....	143
4.14.2 Αποτελέσματα δειγματοληψίας.....	144
4.14.3 Εκτίμηση της έκθεσης στα επιλεγμένα φυτοφάρμακα των εργαζομένων σε θερμοκήπια	149
4.15 Αποτελέσματα-Συζήτηση.....	150
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	155
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	183
SUMMARY	187

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Χημικές δομές αερίων χημικού πολέμου.....	2
Σχήμα 1.2: Παγκόσμια κατανάλωση φυτοφαρμάκων κατά το έτος 2001.....	6
Σχήμα 1.3: Κατανάλωση φυτοφαρμάκων στην Ε.Ε. κατά το έτος 2003.....	6
Σχήμα 1.4: Συνολική κατανάλωση φυτοφαρμάκων ανά κατηγορία χρήσης τους στις 15 χώρες της Ε.Ε. κατά την περίοδο 1992-2003.	7
Σχήμα 1.5: Πωλήσεις γεωργικών φαρμάκων ανά κατηγορία χρήσης τους εκφρασμένες σε ποσοστό %, για τις 15 χώρες της Ε.Ε. κατά το έτος 1999.....	9
Σχήμα 1.6: Χημικές δομές των σημαντικότερων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων.....	15
Σχήμα 1.7: Γενική μοριακή δομή των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές μερικών από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα.....	16
Σχήμα 1.8: Γενική μοριακή δομή των καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές μερικών από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα καρβαμιδικά φυτοφαρμάκα.....	18
Σχήμα 1.9: Γενική μοριακή δομή των διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές ορισμένων αντιπροσωπευτικών ενώσεων της κατηγορίας.....	20
Σχήμα 1.10: Δομή των φυσικών πυρεθρινών pyrethrin I και pyrethrin II και των πυρεθροειδών permethrin και cypermethrin.....	22
Σχήμα 1.11: Σημαντικότεροι εκπρόσωποι της κατηγορίας των τριαζινών.....	23
Σχήμα 1.12: Σχηματική παρουσίαση της τύχης των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον σύμφωνα με τις βασικές διεργασίες μεταφοράς και διάσπασής τους.....	25
Σχήμα 2.1: Παράγοντες που επιδρούν στο ρυθμό εξάτμισης των φυτοφαρμάκων από το έδαφος. Τα βέλη αναπαριστούν τις διαφορετικές αλληλεπιδράσεις. Επειδή η τάση ατμών, η διαλυτότητα και η σταθερά προσρόφησης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, το πλαίσιο με τις “μετεωρολογικές συνθήκες” συνδέεται με το πλαίσιο “χαρακτηριστικά της ενεργού ουσίας”.....	40
Σχήμα 2.2: Μεταφορά των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα στο έδαφος και τα επιφανειακά νερά μέσω των διεργασιών ξηρής και υγρής εναπόθεσης.....	44
Σχήμα 2.3: Το σύμπλεγμα θερμοκηπίων Royal Greenhouses of Laeken στο Βέλγιο.....	50
Σχήμα 2.4: Χημικές δομές των: A- XAD και B-Tenax.....	58
Σχήμα 2.5: Κατακράτηση των ατμών των φυτοφαρμάκων σε προσροφητικά υλικά.....	59
Σχήμα 3.1: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου chlorothalonil.....	64
Σχήμα 3.2: Δομή του μεταβολίτη 4-hydroxychlorothalonil.....	65
Σχήμα 3.3: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,10 µg/ml των HCTN (1) και CTN (2), που λαμβάνεται με τη στήλη Hypesil BDS C18.....	71
Σχήμα 3.4: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,10 µg/ml των HCTN (1) και CTN (2), που λαμβάνεται με τη στήλη Kromasil C8.....	72
Σχήμα 3.5: Καμπύλες αναφοράς του HCTN (1) και του CTN(2).....	73
Σχήμα 3.6: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10%.....	83
Σχήμα 3.7: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %...84	84
Σχήμα 3.8: Επίδραση του όγκου και της ταχύτητας ροής του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel, A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	86
Σχήμα 3.9: Επίδραση του όγκου και της ταχύτητας ροής του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel, A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	87
Σχήμα 3.10: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από φίλτρα silica gel A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	88

Σχήμα 3.11: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από φίλτρα silica gel A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	89
Σχήμα 3.12: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	91
Σχήμα 3.13: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	92
Σχήμα 3.14: Τρόπος σύνδεσης της μικροστήλης με το silica gel (A) και του υποδοχέα μικροφίλτρων υαλονημάτων (B).....	93
Σχήμα 3.15: Υποδοχέας από Teflon στον οποίο προσαρμόζεται το μικροφίλτρο υαλονημάτων. α. Πλαστικός δακτύλιος, β. Κύριο τμήμα του υποδοχέα, γ. Διάτρητος δίσκος κατασκευασμένος από ανοξείδωτο ατσάλι, δ. Μικροφίλτρο υαλονημάτων, ε. Δακτύλιος από Teflon, ζ. Βιδωτό καπάκι.....	94
Σχήμα 3.16: Σύστημα δειγματοληψίας 1. Αντλίες αερίων, 2. Ψηφιακό ροόμετρο, 3. Πλαστικοί σωλήνες Tygon®, 4. Μικροστήλες που περιέχουν silica gel, 5. Υάλινοι σωλήνες, 6. Υποδοχείς μικροφίλτρων υαλονημάτων.....	95
Σχήμα 3.17: Χρωματογραφήματα της ανάλυσης των HCTN (1) και CTN (2) A. Πρότυπο διάλυμα, B. Δείγμα από μικροφίλτρα υαλονημάτων, Γ. Δείγμα από φίλτρα silica gel. α τυφλό και β δείγμα.....	97
Σχήμα 4.1: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos.....	106
Σχήμα 4.2: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου diazinon.....	108
Σχήμα 4.3: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου pirimiphos-methyl.....	110
Σχήμα 4.4: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου fenthion.....	112
Σχήμα 4.5: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου parathion-methyl.....	114
Σχήμα 4.6: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων (parathion-methyl:0,54 μg/ml, fenthion:0,55 μg/ml, diazinon:1,20 μg/ml, pirimiphos-methyl:0,28 μg/ml και chlorpyrifos: 0,78 μg/ml) λ=250 nm.....	121
Σχήμα 4.7: Καμπύλες αναφοράς των μελετώμενων φυτοφαρμάκων 1: pirimiphos-methyl, 2: fenthion, 3: parathion-methyl, 4: chlorpyrifos και 5: diazinon.....	122
Σχήμα 4.8: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	136
Σχήμα 4.9: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	137
Σχήμα 4.10: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα XAD-2. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	138
Σχήμα 4.11: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα XAD-2. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.....	139
Σχήμα 4.12: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %..	141
Σχήμα 4.13: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %..	142
Σχήμα 4.14: Χρωματογραφήματα των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων A. Πρότυπο διάλυμα, B. Δείγμα από μικροφίλτρα υαλονημάτων, Γ. Δείγμα από φίλτρα XAD-2. α τυφλό και β δείγμα.....	147

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Πωλήσεις φυτοφαρμάκων, ανά κατηγορία χρήσης τους, εκφρασμένες σε τόνους δραστικής ουσίας, για τις 15 χώρες της Ε.Ε. κατά το έτος 2003.....	9
Πίνακας 1.2: Κατηγορίες τοξικότητας των φυτοφαρμάκων.....	12
Πίνακας 2.1: Επίδραση του μεγέθους των σταγονιδίων στην απόσταση που μπορούν να διανύσουν πριν κατακαθίσουν.....	35
Πίνακας 2.2: Χρόνος που απαιτείται για την εξάτμιση του νερού από σταγονίδια διαμέτρου 20 έως 200 μm και η διάμετρος των σωματιδίων που προκύπτουν μετά την εξάτμιση του νερού.....	37
Πίνακας 3.1: Ανάκτηση του CTN και του HCTN από τα εμβολιασμένα υλικά μετά από χρόνο παραμονής 10 και 30 min στο λουτρό υπερήχων (ποσότητα κάθε ουσίας 5,0 μg ανά φίλτρο).....	75
Πίνακας 3.2: Επίδραση του όγκου του διαλύματος εκχύλισης στην ανάκτηση του CTN και του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel (ποσότητα κάθε ουσίας 5,0 μg).....	74
Πίνακας 3.3: Ανακτήσεις των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα silica gel, σε διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού.....	77
Πίνακας 3.4: Μελέτη της σταθερότητας του CTN και του HCTN σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα silica gel κατά την αποθήκευσή τους σε διαφορετικές συνθήκες.....	79
Πίνακας 3.5: Μελέτη της ικανότητας συλλογής των CTN και HCTN από την αέρια φάση, με φίλτρα silica gel.....	81
Πίνακας 3.6: Συγκεντρώσεις των CTN και HCTN στα δείγματα της αέριας δειγματοληψίας..	98
Πίνακας 4.1: Εξισώσεις ευθείας και συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων.....	122
Πίνακας 4.2: Επαναληψιμότητα της προτεινόμενης μεθόδου την ίδια ημέρα και μεταξύ διαφορετικών ημερών.....	123
Πίνακας 4.3: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της προτεινόμενης μεθόδου.....	124
Πίνακας 4.4: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από διάφορα υλικά, μετά από χρόνο παραμονής 10, 15 και 30 min στο λουτρό υπερήχων.....	125
Πίνακας 4.5: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από τα εμβολιασμένα υλικά Tenax και XAD-2, με τη χρήση διαφορετικών διαλυτών εκχύλισης και για χρόνους παραμονής στο λουτρό υπερήχων 10, 15 και 30 min.....	128
Πίνακας 4.6: Επίδραση του όγκου του διαλύματος εκχύλισης στην ανάκτηση των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2.....	130
Πίνακας 4.7: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα XAD-2, σε διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού.....	131
Πίνακας 4.8: Μελέτη της σταθερότητας των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα XAD-2 κατά την αποθήκευσή τους σε διαφορετικές συνθήκες.....	132
Πίνακας 4.9: Μελέτη της ικανότητας συλλογής των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση, με φίλτρα XAD-2.....	134
Πίνακας 4.10: Συγκεντρώσεις των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στα δείγματα της αέριας δειγματοληψίας.....	146
Πίνακας 4.11: Ποσότητες των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων που προσλαμβάνονται μέσω της εισπνοής από τον άνθρωπο ανα ώρα εργασίας	150

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1 - Φυτοφάρμακα

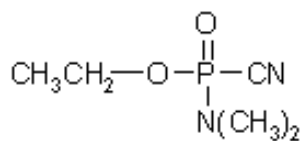
1.1 Εισαγωγή

Ο όρος φυτοφάρμακα ή γεωργικά φάρμακα είναι γενικός και αναφέρεται σε ουσίες ή μίγματα ουσιών, τα οποία χρησιμοποιούνται για την πρόληψη, καταστροφή, απομάκρυνση ή περιορισμό οποιουδήποτε επιβλαβούς οργανισμού, όπως έντομα, τρωκτικά, ανεπιθύμητα φυτά, μύκητες, βακτήρια και ιοί. Επίσης, στα φυτοφάρμακα περιλαμβάνονται και ουσίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως ρυθμιστές της ανάπτυξης των φυτών και ως αποφυλλωτικά. Με βάση τη δράση τους τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα κ.λ.π. (EPA, 2006).

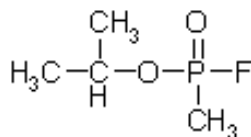
Από τα αρχαία χρόνια οι άνθρωποι χρησιμοποιούσαν διάφορες ουσίες για την προστασία των καλλιεργειών. Ως πρώτο φυτοφάρμακο μπορεί να θεωρηθεί το στοιχειακό θείο, το οποίο αναφέρεται ότι χρησιμοποιήθηκε από τους Σουμέριους το 2500 π.Χ. Κατά τη διάρκεια του 15^{ου} αιώνα, τοξικές ουσίες, όπως άλατα χαλκού, αρσενικού, υδραργύρου και μολύβδου, εφαρμόζονται στις καλλιέργειες για να εξοντώσουν επιβλαβείς οργανισμούς. Δύο αιώνες αργότερα ανακαλύπτεται ότι η νικοτίνη (nicotine), η οποία εκχυλίζεται από φύλλα καπνού, παρουσιάζει εντομοκτόνο δράση. Στα μέσα του 18^{ου} αιώνα χρησιμοποιούνται ακόμα δύο ουσίες με παρόμοια δράση, το πύρεθρο (pyrethrum), το οποίο απομονώνεται από τα χρυσάνθεμα και η ροτενόνη (rotenone), η οποία εξάγεται από τις ρίζες τροπικών φυτών του γένους *Lonchocarpus* και *Derris* (Wikipedia, 2007a, b).

Στη δεκαετία του 1930 επιστήμονες προσπαθούν να παρασκευάσουν συνθετικά φυτοφάρμακα. Οι πρώτες έρευνες πραγματοποιούνται στη Γερμανία από το χημικό Gerhard Schrader, ο οποίος εργάζεται για τη βιομηχανία I.G. Farben. Κατά τη διάρκεια πειραμάτων με οργανοφωσφορικές ενώσεις, των οποίων ήταν γνωστή η εντομοκτόνος δράση, ο Gerhard Schrader παρασκευάζει τυχαία το 1936 την ένωση $C_5H_{11}N_2O_2P$, γνωστή ως Tabun (Κατσαρός, 2003). Το Tabun δεν χρησιμοποιείται ως φυτοφάρμακο γιατί αποδεικνύεται ότι είναι πολύ τοξικό και θανατηφόρο όχι μόνο για τα έντομα αλλά και για τα θηλαστικά. Συνεχίζοντας την έρευνα συνθέτει και άλλες οργανοφωσφορικές ενώσεις με παρόμοια τοξική δράση, όπως την $C_4H_{10}FO_2P$ (1938) και την $C_7H_{16}FO_2P$ (1944), γνωστές με τα εμπειρικά ονόματα Sarin και Soman, αντίστοιχα. Στο σχήμα 1.1 απεικονίζονται οι χημικές δομές των ενώσεων Tabun, Sarin και Soman, γνωστές ως αέρια χημικού πολέμου (Κατσαρός, 2002).

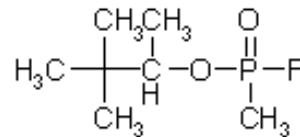
Στις αρχές της δεκαετίας του 1940 ο Gerhard Schrader συνθέτει το parathion, ένα από τα πρώτα εντομοκτόνα, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως.



Tabun



Sarin



Soman

Σχήμα 1.1: Χημικές δομές αερίων χημικού πολέμου.

Το 1939, ο Ελβετός εντομολόγος Paul Müller, μελετώντας την εντομοκτόνο δράση διαφόρων ουσιών, ανακαλύπτει ότι το διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (dichloro-diphenyltrichloroethane, DDT) παρουσιάζει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα. Η ένωση αυτή ήταν γνωστή από το 1874, όταν ο Γερμανός χημικός Othmar Zeidler την παρασκεύασε εργαζόμενος για το διδακτορικό του. Ο Paul Müller για την ανακάλυψη αυτή, η οποία ήταν σωτήρια για εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον κόσμο, τιμάται με το βραβείο Nobel Ιατρικής το 1948. Η ανακάλυψη της εντομοκτόνου δράσης του DDT θεωρείται ως “θαύμα” για τους εξής λόγους:

- i. Είναι τοξικό για πολλά είδη εντόμων, ενώ παρουσιάζει χαμηλή τοξικότητα για τα θηλαστικά.
- ii. Είναι σταθερό στο περιβάλλον με αποτέλεσμα να μην είναι απαραίτητη η συχνή εφαρμογή του.
- iii. Η διαλυτότητά του στο νερό είναι πολύ μικρή και έτσι δεν απομακρύνεται εύκολα με το νερό της βροχής, με αποτέλεσμα να μην απαιτείται συχνή εφαρμογή του.
- iv. Το κόστος παραγωγής του είναι σχετικά χαμηλό και ο τρόπος εφαρμογής του εύκολος.

Το DDT αρχικά έγινε γνωστό το 1942-43, όταν χρησιμοποιήθηκε από αμερικανικά στρατεύματα σε ελώδεις περιοχές της Ευρώπης και της Ασίας. Η πιο σημαντική επιτυχία της χρήσης του DDT υπήρξε η καταπολέμηση της επιδημίας του τύφου στην Νάπολη τον Ιανουάριο του 1944. Ένα εκατομμύριο κάτοικοι ραντίζονται με το εντομοκτόνο και η επιδημία εξαφανίζεται. Είναι η πρώτη φορά που μια παρασιτική ασθένεια σταματάει σε τόσο σύντομο διάστημα με την εφαρμογή χημικών εντομοκτόνων. Η φήμη του DDT επεκτείνεται και με τη χρήση του για την καταπολέμηση της ελονοσίας στις μάχες του Νότιου Ειρηνικού, χωρίς να προκαλεί άμεσα συμπτώματα στα στρατεύματα που ραντίζονται με την άσπρη σκόνη.

Μετά το 1945 το DDT χρησιμοποιείται συστηματικά για την καταπολέμηση των κουνουπιών και άλλων εντόμων στην Ευρώπη, στην Ινδία, τη Σρι Λάνκα και τη Νότιο Αμερική. Το 1955 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO) αρχίζει να χρησιμοποιεί το DDT ευρύτατα για την καταπολέμηση της ελονοσίας σε όλο τον κόσμο λόγω της αποτελεσματικότητας, της εύκολης εφαρμογής και της φθηνής τιμής του.

Από τη χρήση του DDT σώζονται εκατομμύρια άνθρωποι και σχεδόν εξαλείφεται η ελονοσία και άλλες παρασιτικές ασθένειες από τις περιοχές, οι οποίες ψεκάζονται με αυτή την ουσία. Παράλληλα, το DDT χρησιμοποιείται ευρέως και στις γεωργικές καλλιέργειες και μάλιστα σε όλο και πιο μεγάλες δόσεις γιατί τα έντομα αρχίζουν σταδιακά να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα. Η χρήση του DDT, ως χρήσιμου εντομοκτόνου στη γεωργία των αναπτυσσόμενων χωρών και ιδιαίτερα των Η.Π.Α., αυξήθηκε αλόγιστα και με αλματώδη ρυθμό, ενώ οι επιπτώσεις στο περιβάλλον εμφανίζονται κατά τις επόμενες δεκαετίες. Τα πρώτα συμπτώματα των επιδράσεων του DDT στο περιβάλλον, όπως νεκρά ψάρια σε ποτάμια ή λίμνες μετά από ραντίσματα, μείωση των ωφέλιμων εντόμων και αναπόφευκτα των πουλιών που τρέφονται με αυτά στις γεωργικές περιοχές εμφανίζονται τις δεκαετίες 1950 και 1960. Ανάλογες παρατηρήσεις κάνουν και ορνιθολόγοι, οι οποίοι διαπιστώνουν μείωση των αρπακτικών πουλιών σε διάφορες αγροτικές περιοχές (Βαλαβανίδης και Ευσταθίου, 2006). Τα περιβαλλοντικά προβλήματα, που παρατηρούνται από τη χρήση του DDT, οφείλονται στο γεγονός, ότι ως πολυχλωριωμένη ένωση είναι ιδιαίτερα σταθερή με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή της στο περιβάλλον. Έτσι, λόγω των σοβαρών περιβαλλοντικών προβλημάτων, από το τέλος της δεκαετίας του 1960, αρχίζει σταδιακά ο περιορισμός και τελικά η απαγόρευση της χρήσης του DDT.

Όμως, σήμερα 300-500 εκατομμύρια άνθρωποι νοσούν από ελονοσία κάθε χρόνο σε χώρες της Αφρικής, της Λατινικής Αμερικής και της Ασίας και περίπου ένα εκατομμύριο πεθαίνουν, ιδιαίτερα παιδιά κάτω των 5 ετών στην Αφρική (Βαλαβανίδης και Ευσταθίου, 2006). Έτσι παρά την απαγόρευση της χρήσης του DDT ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας και διάφορες οργανώσεις καταπολέμησης της ελονοσίας (Malaria Foundation International, United Nations, Decade to Roll Back Malaria, Africa Fighting Malaria) πέτυχαν την άρση της απαγόρευσης, τουλάχιστον για έκτακτες ανάγκες, όπως επιδημίες από έντομα ιδιαίτερα σε χώρες με υψηλά ποσοστά περιπτώσεων ελονοσίας. Προσπάθειες να βρεθούν άλλα εντομοκτόνα για την καταπολέμηση των κουνουπιών, αλλά χωρίς τις αρνητικές επιπτώσεις του DDT, δεν έχουν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Η χρήση εντομοαπωθητικών καθώς επίσης και ανθελονοσιακά φάρμακα έχουν περιορισμένα αποτελέσματα. Η χρήση των δύο φαρμάκων της chloroquine (φθινό φάρμακο με εκτεταμένη χρήση στην Αφρική) και του sulfadoxine-pyrimethamine είχαν αρχικά αρκετή επιτυχία, αλλά με την πάροδο του χρόνου

ξεπεράστηκε η αποτελεσματικότητά τους λόγω της ανθεκτικότητας που ανέπτυξε το παράσιτο της ελονοσίας (Roberts et al., 1997, Βαλαβανίδης και Ευσταθίου, 2006).

Στα χρόνια που ακολουθούν, λόγω της αύξησης του πληθυσμού και κατά συνέπεια της ανάγκης εξασφάλισης μεγαλύτερης και καλύτερης παραγωγής, εντείνεται η έρευνα για την ανάπτυξη νέων συνθετικών φυτοφαρμάκων. Από το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο και μετέπειτα, η βιομηχανία παραγωγής φυτοφαρμάκων είναι από τις πιο αναπτυσσόμενες και υπολογίζεται ότι έχουν παρασκευαστεί περίπου 1.350 χημικές ενώσεις από τις οποίες 750 εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σε διάφορα εμπορικά σκευάσματα φυτοφαρμάκων (Tomlin, 1997).

Στα τελευταία 50 χρόνια η συμβολή των φυτοφαρμάκων στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής είναι ιδιαίτερα σημαντική. Η εντατική και συχνά αλόγιστη χρήση τους όμως προκαλεί την εμφάνιση διαφόρων περιβαλλοντικών προβλημάτων, όπως ρύπανση των υδάτων, του εδάφους και της ατμόσφαιρας. Ακόμα, συνέπεια της αλόγιστης χρήσης τους είναι η αύξηση του κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία, που προέρχεται είτε από την απευθείας έκθεση του ανθρώπου στα φυτοφάρμακα κατά την παρασκευή, διακίνηση και εφαρμογή τους είτε από τα υπολείμματά τους στις τροφές, στο πόσιμο νερό και στην ατμόσφαιρα. Επίσης, ένα άλλο πρόβλημα το οποίο παρατηρείται, είναι ότι ορισμένα έντομα και παράσιτα αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στις ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμησή τους και έτσι απαιτούνται όλο και μεγαλύτερες ποσότητες φυτοφαρμάκων, καθώς και χρήση τοξικότερων ουσιών. Τέλος, η χρήση τους πολλές φορές καταστρέφει και ωφέλιμα έντομα, όπως οι μέλισσες και άλλα έντομα που είναι απαραίτητα στην επικονίαση των φυτών.

Το 1962 η συγγραφέας Rachel Carson εκδίδει το βιβλίο της "Silent spring" στο οποίο αναφέρει τους κινδύνους από την εκτεταμένη χρήση των φυτοφαρμάκων και προβλέπει μαζικές καταστροφές οικοσυστημάτων του πλανήτη εάν δεν ληφθούν άμεσα μέτρα (Rachel Carson, 1962). Το συγκεκριμένο βιβλίο αποτελεί το έναυσμα για τη δημιουργία του περιβαλλοντικού κινήματος. Τα παραπάνω προβλήματα, που προέρχονται από την υπέρμετρη χρήση φυτοφαρμάκων, υποχρεώνουν τις κυβερνήσεις διαφόρων χωρών στη λήψη μέτρων, όπως την απαγόρευση της παραγωγής και χρήσης ορισμένων φυτοφαρμάκων, κυρίως των οργανοχλωριωμένων (στις Η.Π.Α. το 1969 και στην Ελλάδα το 1972). Σήμερα, στα αναπτυγμένα κράτη η παραγωγή, η διακίνηση και η χρήση των φυτοφαρμάκων διέπεται από αυστηρές νομοθετικές διατάξεις και συνεχώς εκδίδονται νέες οδηγίες για τα μέγιστα επιτρεπτά όρια των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στο πόσιμο νερό και στα τρόφιμα.

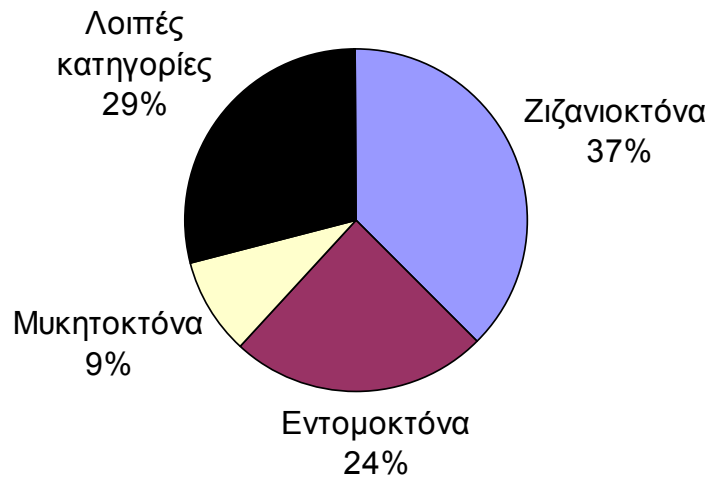
1.2 Χρήση των φυτοφαρμάκων

Η παγκόσμια βιομηχανία των φυτοφαρμάκων άρχισε να αναπτύσσεται ραγδαία στο δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα. Ο αριθμός των εγκεκριμένων για χρήση δραστικών ουσιών, από μερικές δεκάδες τη δεκαετία του 1950, έφτασε τις 750 τη δεκαετία του 1990 και οι συγκεκριμένες δραστικές ουσίες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χιλιάδων διαφορετικών σκευασμάτων. Από τη δεκαετία του 1950, παρατηρείται ότι η χρήση των φυτοφαρμάκων διπλασιάζεται κάθε δέκα χρόνια (Tomlin, 1997).

Κατά τη διάρκεια του 1995 η παγκόσμια κατανάλωση φυτοφαρμάκων αγγίζει τα $2,59 \times 10^9$ kg δραστικής ουσίας (Kolpin et al., 1998). Οι λόγοι που επιβάλλουν την αύξηση των χρησιμοποιούμενων ποσοτήτων φυτοφαρμάκων είναι η εντατικοποίηση των καλλιεργειών, η απόκτηση και διατήρηση υψηλών επιπέδων απόδοσης, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε πολλά είδη εντόμων και ζιζανίων και η επίτευξη μείωσης του κόστους παραγωγής με τον περιορισμό των εργατικών χεριών. Ο σημαντικότερος όμως λόγος της αυξημένης χρήσης των φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειες θεωρείται η επιδίωξη για επίτευξη, κάθε χρόνο, όλο και μεγαλύτερων ποσοτήτων γεωργικών προϊόντων σε ανταγωνιστικές τιμές. Ωστόσο, η εντατική χρήση των φυτοφαρμάκων έχει οδηγήσει σε μία σειρά προβλημάτων, τα οποία σχετίζονται τόσο με την υγεία του ανθρώπου όσο και με το περιβάλλον. Καθημερινά, ο άνθρωπος προσλαμβάνει φυτοφάρμακα με την τροφή, το πόσιμο νερό και τον αέρα. Το πρόβλημα εστιάζεται κυρίως στην περίπτωση των αγρωτών, οι οποίοι εκτίθενται σε μεγάλες ποσότητες φυτοφαρμάκων εξαιτίας της φύσης της εργασίας τους και της ελλιπούς ενημέρωσης για την χρήση προστατευτικών μέσων. Για τις υπόλοιπες πληθυσμιακές ομάδες είναι δύσκολο να εκτιμηθεί ο συνολικός κίνδυνος που απορρέει από την έκθεσή τους στα φυτοφάρμακα. Για αυτό το λόγο, για κάθε φυτοφάρμακο έχει θεσπιστεί η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης (Acceptable Daily Intake, ADI), δηλαδή η ποσότητα του φυτοφαρμάκου που μπορεί να προσλαμβάνεται καθημερινά εφόρου ζωής χωρίς την εμφάνιση ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων. Στην περίπτωση του περιβάλλοντος, λόγω της εκτεταμένης χρήσης των φυτοφαρμάκων, παρατηρείται μείωση του αριθμού καθώς επίσης και της βιοποικιλότητας των ειδών της πανίδας και της χλωρίδας που ζούνε κοντά σε αγροτικές καλλιέργειες, σε σχέση με τις οργανικές καλλιέργειες στις οποίες δεν χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα (Krebs et al., 1999).

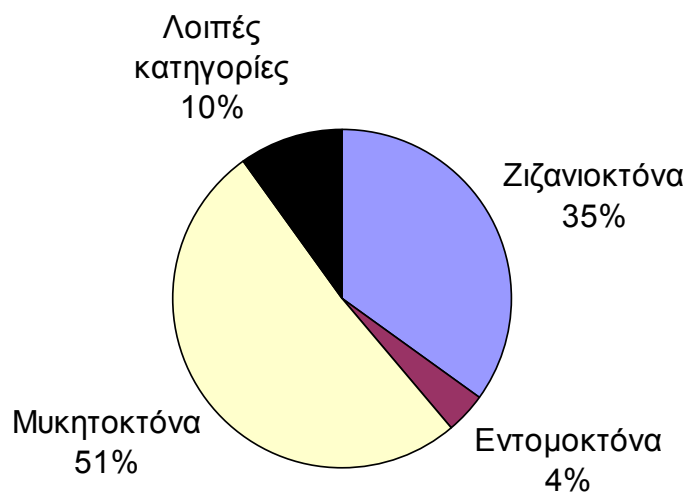
Τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται περισσότερο σε παγκόσμιο επίπεδο είναι τα ζιζανιοκτόνα και τα εντομοκτόνα ενώ ακολουθούν τα μυκητοκτόνα, τα ακαρεοκτόνα, οι ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών κ.α.. Στο σχήμα 1.2 φαίνεται η ποσοστιαία κατανάλωση των διαφόρων κατηγοριών φυτοφαρμάκων παγκόσμια για το έτος 2001. Τα ζιζανιοκτόνα αντιστοιχούν στο 37 % της παγκόσμιας αγοράς των φυτοφαρμάκων, τα εντομοκτόνα στο 24

%, τα μυκητοκτόνα στο 9 % και οι λοιπές κατηγορίες φυτοφαρμάκων στο 29 % (Kiely et al., 2004).

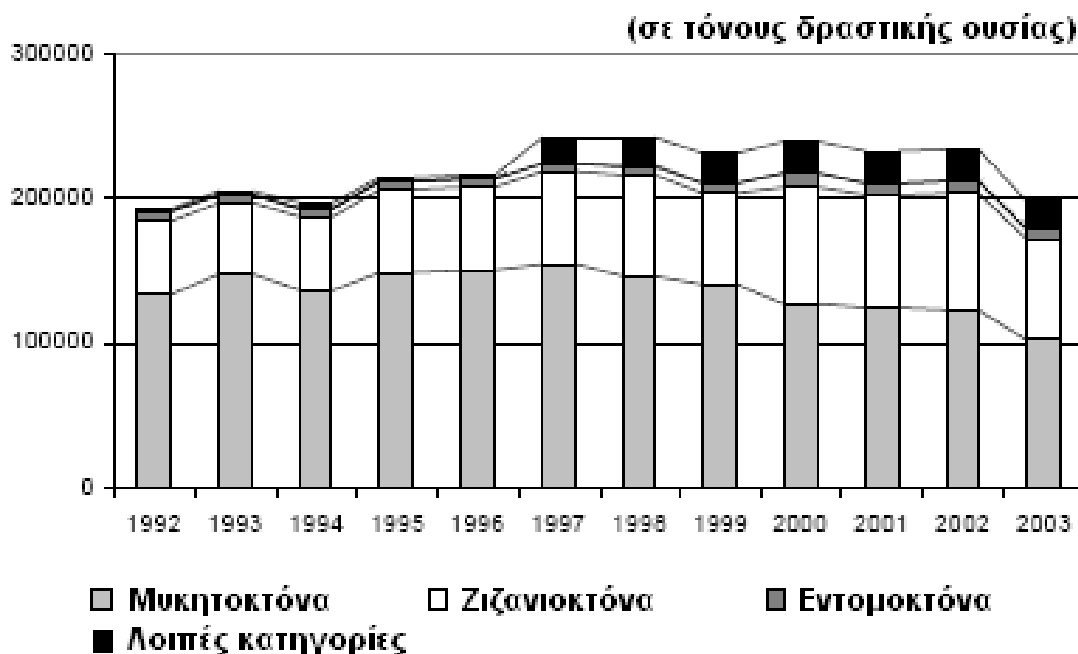


Σχήμα 1.2: Παγκόσμια κατανάλωση φυτοφαρμάκων κατά το έτος 2001.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.) αντιπροσωπεύει το ένα τέταρτο της παγκόσμιας αγοράς φυτοφαρμάκων. Οι κυριότερες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ε.Ε. είναι τα μυκητοκτόνα (51%), τα ζιζανιοκτόνα (35%), τα εντομοκτόνα (4%) και άλλα φυτοφάρμακα (10%), όπως φαίνεται στο σχήμα 1.3 (Eurostat, 2007a). Η συνολική κατανάλωση φυτοφαρμάκων ανά κατηγορία χρήσης τους στις 15 χώρες της Ε.Ε. κατά την περίοδο 1992-2003, εκφρασμένη σε τόνους δραστικής ουσίας, παρουσιάζεται στο σχήμα 1.4 (Eurostat, 2007a).



Σχήμα 1.3: Κατανάλωση φυτοφαρμάκων στην Ε.Ε. κατά το έτος 2003.



Σχήμα 1.4: Συνολική κατανάλωση φυτοφαρμάκων ανά κατηγορία χρήσης τους σε 15 χώρες της Ε.Ε. κατά την περίοδο 1992-2003.

Σύμφωνα με τα στοιχεία της Ευρωπαϊκής Στατιστικής Υπηρεσίας (Eurostat) κατά την περίοδο 1992-1998 η συνολική κατανάλωση φυτοφαρμάκων στην Ε.Ε. παρουσιάζει αυξητική τάση ενώ μικρή μείωση, κατά 10578 τόνους, παρατηρείται το 1999. Αυτή η μικρή μείωση αποδίδεται στην εφαρμογή της αγροτικής μεταρρύθμισης, η οποία είναι γνωστή ως Κοινή Αγροτική Πολιτική - Κ.Α.Π. (Common Agricultural Policy - C.A.P.). Με βάση την Κ.Α.Π. ο κύριος παράγοντας, ο οποίος καθορίζει την επιλογή και την ποσότητα των εφαρμοζόμενων φυτοφαρμάκων είναι η μείωση του κόστους παραγωγής. Μετά την αρχική ανασφάλεια για τις επιπτώσεις της Κ.Α.Π. στην παραγωγή και αφού αποδεικνύεται στην πράξη ότι με την εφαρμογή της οι τιμές των παραγόμενων αγροτικών προϊόντων μειώνονται, η κατανάλωση των φυτοφαρμάκων κατά το έτος 1999 αυξάνεται σε σχέση με το 1992.

Από το έτος 1999 μέχρι το 2003, παρατηρείται συνεχής μείωση στις ποσότητες των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ε.Ε. Η μείωση αυτή οφείλεται κυρίως στη μείωση της κατανάλωσης των μυκητοκτόνων, της κατηγορίας που χρησιμοποιείται σε μεγαλύτερο ποσοστό στην Ε.Ε. και στη μείωση της κατανάλωσης του ανόργανου θείου αλλά και στην αντικατάσταση φυτοφαρμάκων, που εφαρμόζονται σε υψηλές δόσεις με άλλα προϊόντα που χρησιμοποιούνται σε μικρότερες δόσεις.

Από τα χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα στην Ε.Ε. η κατηγορία που κατέχει το μεγαλύτερο μερίδιο της αγοράς είναι τα μυκητοκτόνα με ποσοστό 51 % (2003). Σε ορισμένες

χώρες το ποσοστό χρήσης μυκητοκτόνων είναι ακόμη μεγαλύτερο (Πορτογαλία 84 %, Ελλάδα 61 % και Ιταλία 59 %). Η εκτεταμένη χρήση τους οφείλεται στη μεγάλη συχνότητα εφαρμογής τους, στα πλαίσια διαφόρων προγραμμάτων καταπολέμησης των παρασίτων σε συγκεκριμένες καλλιέργειες και στην κυρίαρχη θέση που κατέχει το ανόργανο θείο, το οποίο εφαρμόζεται σε πολύ υψηλές δόσεις. Για παράδειγμα, στους αμπελώνες καταναλώνεται το 76% των συνολικών μυκητοκτόνων, με τη μορφή ανόργανη θείου.

Η κατανάλωση ζιζανιοκτόνων καλύπτει, κατά μέσο όρο, το 35 % της αγοράς της Ε.Ε. αν και σε ορισμένες χώρες το ποσοστό χρήσης τους είναι αρκετά μεγαλύτερο (Σουηδία 85 %, Φινλανδία 77%, Γερμανία 53 %). Από το σύνολο των εφαρμοζόμενων ζιζανιοκτόνων το 57 % χρησιμοποιείται στις καλλιέργειες δημητριακών και το 24 % σε καλλιέργειες καλαμποκιού.

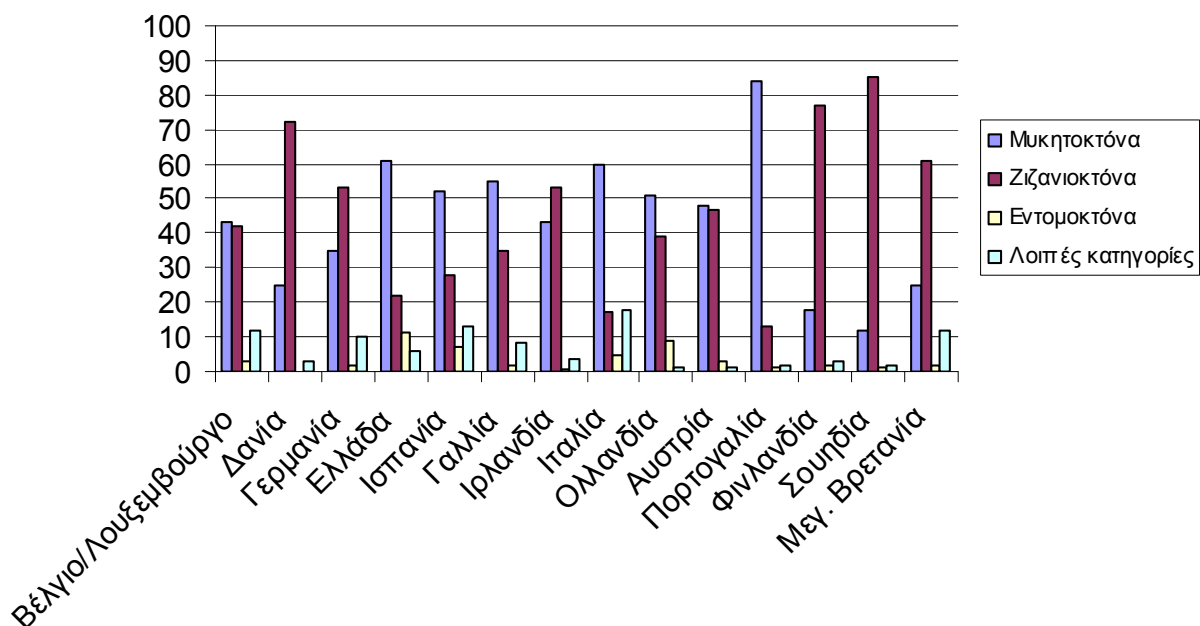
Τελευταία, από τις κύριες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ε.Ε., αποτελούν τα εντομοκτόνα με ποσοστό 4%. Το 31% των εντομοκτόνων χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες δημητριακών, το 20% σε καλλιέργειες εσπεριδοειδών και το 18% στους αμπελώνες.

Στον πίνακα 1.1 (Eurostat, 2007a) φαίνονται οι συνολικές και οι ανά κατηγορία πωλήσεις φυτοφαρμάκων στις δεκαπέντε χώρες της Ε.Ε., καθώς επίσης και το ποσοστό συμμετοχής της κάθε χώρας στη συνολική κατανάλωση φυτοφαρμάκων το έτος 2003. Η κατανομή των συνολικών πωλήσεων των φυτοφαρμάκων δείχνει ότι στις Μεσογειακές χώρες γίνεται η υψηλότερη κατανάλωση φυτοφαρμάκων (για το έτος 2003 οι πωλήσεις στις Μεσογειακές χώρες ανέρχεται στο 41,3 % επί των συνολικών) ενώ η Γαλλία (31,1% επί των συνολικών για το 2003) αποτελεί την πιο σημαντική αγορά φυτοφαρμάκων στην Ευρώπη. Η Ισπανία (16,0 %) είναι η δεύτερη πιο σημαντική Ευρωπαϊκή αγορά φυτοφαρμάκων και ακολουθούν η Ιταλία (15,5 %), η Γερμανία (11,7 %), η Μεγάλη Βρετανία (7,5 %) και η Πορτογαλία (6,7 %).

Οι πωλήσεις των επιμέρους κατηγοριών των φυτοφαρμάκων παρουσιάζονται στο σχήμα 1.5 (Eurostat, 2007a), στο οποίο παρατηρείται ότι τα μυκητοκτόνα αποτελούν την κύρια κατηγορία φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ε.Ε. Ωστόσο αυτή η εικόνα διαφοροποιείται από χώρα σε χώρα εξαιτίας των διαφορετικών κλιματικών συνθηκών και των διαφορετικών ειδών καλλιέργειας. Στις Μεσογειακές χώρες η χρήση μυκητοκτόνων υπερτερεί έναντι των άλλων κατηγοριών, ενώ στις χώρες της Βόρειας και Κεντρικής Ευρώπης παρατηρείται μεγαλύτερη χρήση ζιζανιοκτόνων.

Πίνακας 1.1: Πωλήσεις φυτοφαρμάκων, ανά κατηγορία χρήσης τους, εκφρασμένες σε τόνους δραστικής ουσίας, για τις 15 χώρες της Ε.Ε. κατά το έτος 2003.

Χώρα	Μυκητοκτόνα	Ζιζανιοκτόνα	Εντομοκτόνα	Λοιπές κατηγορίες	Σύνολο	%
Ε.Ε.	102149	70050	6960	19553	198712	100,0
Βέλγιο/ Λουξεμβούργο	1542	1534	117	446	3639	1,8
Δανία	635	1809	4	72	2520	1,3
Γερμανία	8106	12529	493	2112	23240	11,7
Ελλάδα	3692	1292	680	333	6057	3,1
Ισπανία	16664	8877	2121	4154	31819	16,0
Γαλλία	33983	21681	1274	4815	61753	31,1
Ιρλανδία	537	653	6	43	1239	0,6
Ιταλία	18435	5298	1526	5570	30829	15,5
Ολλανδία	2396	2398	166	70	5030	2,5
Αυστρία	737	704	45	14	1500	0,8
Πορτογαλία	11242	1720	133	227	13322	6,7
Φινλανδία	182	786	17	32	1017	0,5
Σουηδία	219	1610	22	43	1894	1,0
Μεγάλη Βρετανία	3781	9161	356	1622	14920	7,5



Σχήμα 1.5: Πωλήσεις γεωργικών φαρμάκων ανά κατηγορία χρήσης τους εκφρασμένες σε ποσοστό %, για 15 χώρες της Ε.Ε. κατά το έτος 1999

Στην Ελλάδα, με βάση τα στοιχεία της Eurostat για το έτος 2003, τα μυκητοκτόνα αποτελούν το μεγαλύτερο κομμάτι της αγοράς των φυτοφαρμάκων με ποσοστό 61 % και χρησιμοποιούνται κυρίως στους αμπελώνες. Το ανόργανο θείο βρίσκεται πρώτο στην κατανάλωση μεταξύ των μυκητοκτόνων που χρησιμοποιούνται στους αμπελώνες και ακολουθούν τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα mancozeb και prolineb. Δεύτερη κατηγορία σε κατανάλωση στην Ελλάδα αποτελούν τα ζιζανιοκτόνα με ποσοστό 22 %, από τα οποία τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα είναι τα glyphosate, amitrol και paraquat. Τέλος, τα εντομοκτόνα είναι τα φυτοφάρμακα που καταναλώνονται λιγότερο στην Ελλάδα με ποσοστό 11 %. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι κατά το έτος 2003 τα εντομοκτόνα που κυρίως χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα είναι τα fenthion, chlorpyrifos, parathion-methyl και methidathion (Eurostat, 2007a).

Σύμφωνα με στοιχεία της Eurostat για το χρονικό διάστημα από το 1992 μέχρι 1999, η κατανάλωση φυτοφαρμάκων στην Ελλάδα, εκφρασμένη σε τόνους δραστικής ουσίας, παρουσιάζει αύξηση κατά 10 %. Αντίθετα, κατά τα έτη 1999-2000 και 2000-2003 παρατηρείται σημαντική μείωση της κατανάλωσης φυτοφαρμάκων στην Ελλάδα, της τάξης του 30 % και 32 %, αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, ενώ η κατανάλωση φυτοφαρμάκων ανέρχεται στους 12.690 τόνους δραστικής ουσίας το έτος 1999, το 2003 μειώνεται στους 6.057 τόνους. Το συγκεκριμένο γεγονός, οφείλεται στη δραστική μείωση της χρήσης του ανόργανου θείου ως μυκητοκτόνου, κυρίως στις καλλιέργειες αμπελιών και η αντικατάστασή του από άλλου είδους σκευάσματα, τα οποία είναι αποτελεσματικά σε μικρότερες ποσότητες. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι ενώ κατά το έτος 1999 το ανόργανο θείο χρησιμοποιείται στα αμπέλια σε δόση 8 kg ανά στρέμμα, το 2003 η αντίστοιχη δόση μειώνεται στα 2 kg ανά στρέμμα.

1.3 Τοξικότητα των φυτοφαρμάκων

Η έκθεση των ζωντανών οργανισμών σε τοξικές και επικίνδυνες ουσίες μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της επαφής, με το δέρμα, με την εισπνοή, την κατάποση ή μέσω της διατροφής. Οι βλάβες που μπορούν να προκληθούν εξαρτώνται από τη συγκέντρωση των τοξικών ουσιών και τη διάρκεια έκθεσης των οργανισμών σε αυτές, τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, τις μεταβολικές διεργασίες και την τοξικότητα των παραγώγων καθώς επίσης και την κατάσταση υγείας του οργανισμού που εκτίθεται. Ανάλογα με τον χρόνο εμφάνισης των συμπτωμάτων η τοξικότητα διακρίνεται σε οξεία και χρόνια.

Η οξεία τοξικότητα αναφέρεται στο πόσο “δηλητηριώδες” είναι κάποιο φυτοφάρμακο για ένα ζωντανό οργανισμό μετά από μία ενιαία βραχυπρόθεσμη έκθεσή του σε αυτό και ο όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα συμπτώματα, τα οποία εμφανίζονται σχετικά γρήγορα ή μέσα σε 24 ώρες από τη στιγμή της έκθεσης. Ένα φυτοφάρμακο με μεγάλη οξεία

τοξικότητα μπορεί να αποδειχθεί θανατηφόρο ακόμη και στην περίπτωση πρόσληψης πολύ μικρής ποσότητας. Η οξεία τοξικότητα χρησιμοποιείται ως δείκτης για την επισήμανση και ταξινόμηση σε διάφορες κατηγορίες τοξικότητας των εμπορικών προϊόντων των φυτοφαρμάκων.

Ανάλογα με τον τρόπο πραγματοποίησης των τοξικολογικών δοκιμών υπάρχουν τρεις διαφορετικοί τρόποι έκφρασης της οξείας τοξικότητας:

- α. *οξεία τοξικότητα δια του στόματος* (acute oral toxicity) κατά την οποία σε μία ομάδα πειραματόζων (συνήθως αρουραίοι) χορηγείται μαζί με την τροφή, σε μία δόση, συγκεκριμένη ποσότητα από το εξεταζόμενο φυτοφάρμακο. Στην περίπτωση που προκαλείται θανάτωση του 50% των πειραματόζων, τότε η οξεία τοξικότητα δια του στόματος αποδίδεται με τον όρο 'θανατηφόρος δόση των 50 %' και συμβολίζεται ως LD₅₀ (Lethal Dose for 50 % mortality). Η οξεία τοξικότητα δια του στόματος εκφράζεται ποσοτικά σε μονάδες mg/kg σωματικού βάρους.
- β. *οξεία τοξικότητα μέσω του δέρματος* (acute dermal toxicity) κατά την οποία μία ομάδα πειραματόζων εκτίθεται μέσω δερματικής επαφής στο φυτοφάρμακο. Στην περίπτωση που προκαλείται η θανάτωση του 50% των πειραματόζων, τότε η οξεία τοξικότητα μέσω του δέρματος εκφράζεται ποσοτικά, όπως και στην περίπτωση της οξείας τοξικότητας δια του στόματος, με τον όρο LD₅₀ σε μονάδες mg/kg σωματικού βάρους.
- γ. *οξεία τοξικότητα μέσω της εισπνοής* (acute inhalation toxicity) κατά την οποία τα πειραματόζωα εκτίθεται σε ατμόσφαιρα που περιέχει το φυτοφάρμακο. Η τοξικότητα σε αυτήν την περίπτωση αποδίδεται με τον όρο 'θανατηφόρος συγκέντρωση των 50 %', συμβολίζεται ως LC₅₀ (Lethal Concentration for 50 %) και εκφράζεται ποσοτικά σε μονάδες mg/l αέρα (Nesheim et.al, 2005, WHO, 2005).

Στον πίνακα 1.2 φαίνεται η κατάταξη των φυτοφαρμάκων σε κατηγορίες ανάλογα με την τοξικότητά τους καθώς επίσης και το εύρος τιμών LD₅₀ και LC₅₀ της κάθε κατηγορίας. Οι επαγγελματικές ομάδες που κυρίως κινδυνεύουν από την οξεία τοξικότητα των φυτοφαρμάκων είναι οι γεωργοί, οι χειριστές μηχανημάτων ψεκασμού και οι εργάτες σε βιομηχανίες παραγωγής φυτοφαρμάκων. Επιπλέον θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι στη βιβλιογραφία αναφέρονται πολλά περιστατικά δηλητηριάσεων, αυτοκτονιών ακόμα και τυχαίων θανάτων από την έκθεση ή πρόσληψη φυτοφαρμάκων (Tsatsakis et al., 1996, Vougiouklakis et al., 2006, Mishara, 2007, Solomon et al., 2007, Soltaninejad et al., 2007).

Πίνακας 1.2: Κατηγορίες οξείας τοξικότητας των φυτοφαρμάκων.

		Κατηγορίες οξείας τοξικότητας		
		LD ₅₀	LD ₅₀	LC ₅₀
Κατηγορία	Επισήμανση	Στοματική Χορήγηση mg/kg	Δερματική Επαφή mg/kg	Εισπνοή mg/l
I. Πολύ τοξικό	Κίνδυνος, Δηλητήριο (Danger, Poison)	< 50	< 200	< 0,2
II. Μέτρια τοξικό	Προσοχή (Warning)	50 - 500	200 - 2.000	0,2 - 2,0
III. Λίγο τοξικό	Προειδοποίηση (Caution)	500 - 5.000	2.000 - 20.000	2,0 - 20
IV. Πρακτικά μη τοξικό	Χωρίς επισήμανση	>5.000	>20.000	>20

Στην περίπτωση της χρόνιας τοξικότητας παρατηρείται βραδύτερη εκδήλωση των συμπτωμάτων της δηλητηρίασης από φυτοφάρμακα, η οποία οφείλεται στη βαθμιαία συσσώρευση των τοξικών ουσιών στον οργανισμό. Η χρόνια τοξικότητα των φυτοφαρμάκων επηρεάζει όχι μόνο τους επαγγελματίες, που σχετίζονται άμεσα με τη χρήση ή την παραγωγή τους, αλλά και το ευρύτερο κοινό λόγω της πιθανής έκθεσής του σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων, που υπάρχουν στην τροφή, στο νερό και στον αέρα. Η εκτίμηση της χρόνιας τοξικότητας πραγματοποιείται εκθέτοντας πειραματόζωα σε μικρές επαναλαμβανόμενες δόσεις του φυτοφαρμάκου για χρονικό διάστημα τριών μηνών (Nesheim et.al, 2005). Οποιαδήποτε επιβλαβή αποτελέσματα εμφανιστούν στη συγκεκριμένη χρονική περίοδο καλούνται χρόνια αποτελέσματα, τα κυριότερα από τα οποία είναι η εμφάνιση καρκινογεννήσεων (Jurewicz and Hanke, 2006), τερατογεννήσεων (Tian et al., 2005, Papis et al, 2006), δυσλειτουργιών του αναπαραγωγικού συστήματος (Younqlai et al, 2006) καθώς και δυσμορφίες ζωτικών οργάνων (Richardson and Gangolli, 1997).

Σε μελέτες, οι οποίες διεξάγονται σε πειραματόζωα, το φυτοφάρμακο, το οποίο εξετάζεται, προστίθεται σε συγκεκριμένες ποσότητες στην καθημερινή τροφή με την οποία τρέφονται τα πειραματόζωα από πολύ μικρή μέχρι μεγάλη ηλικία. Ο σκοπός των συγκεκριμένων πειραμάτων είναι η εύρεση του ορίου που δεν παρατηρείται καμία επίδραση (No Observable Effect Level, NOEL), δηλαδή η εύρεση της συγκέντρωσης του φυτοφαρμάκου στη συνολική

διατροφή που δεν προκαλεί καμία δυσμενή συνέπεια στα πειραματόζωα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Το όριο NOEL εκφράζεται ως mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Με βάση την τιμή του NOEL ορίζεται και η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI για τους ανθρώπους, η οποία ισούται με το ποσό του φυτοφαρμάκου που μπορεί να προσλαμβάνει καθημερινά κάποιος για όλη τη διάρκεια της ζωής του χωρίς να παρατηρηθεί η εμφάνιση ανεπιθύμητων φαινομένων. Η τιμή του ADI ισούται με το 1/100 της τιμής του NOEL (Lu, 1995, Holland, 1996), επειδή θεωρείται ότι ο άνθρωπος είναι δέκα φορές πιο ευαίσθητος από τα πειραματόζωα και επιπλέον λαμβάνεται υπόψη και ένας συντελεστής ασφαλείας 10.

1.4 Κατηγορίες φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα, ανάλογα με τη δραστική ουσία που περιέχουν, κατατάσσονται στις ακόλουθες κατηγορίες (Αλμπάνης, 1997):

- I. Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες
- II. Οργανοφωσφορικοί εστέρες
- III. Καρβαμιδικά και αλειφατικά οξέα και οι εστέρες τους
- IV. Ενώσεις των χλωρο- και αμινο- τριαζινών
- V. Ενώσεις της ουρίας
- VI. Συνθετικά πυρεθρινοειδή και φυσικές πυρεθρίνες
- VII. Φερομόνες
- VIII. Ανόργανα άλατα των μετάλλων As, Zn, Cu

Στα κεφάλαια που ακολουθούν περιγράφονται οι σημαντικότερες από τις παραπάνω κατηγορίες φυτοφαρμάκων.

1.4.1 Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες (Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα)

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται ευρέως ως εντομοκτόνα κατά τη διάρκεια των δεκαετιών 1950 και 1960. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το DDT, ο κυριότερος εκπρόσωπος της κατηγορίας των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων, που με τη χρήση του εξαλείφεται η ελονοσία σε πολλές περιοχές και σώζονται εκατομμύρια άνθρωποι από το θάνατο. Στα χρόνια που ακολουθούν, η χρήση των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων απαγορεύεται σε πολλές χώρες. Ο λόγος της απαγόρευσής τους είναι η

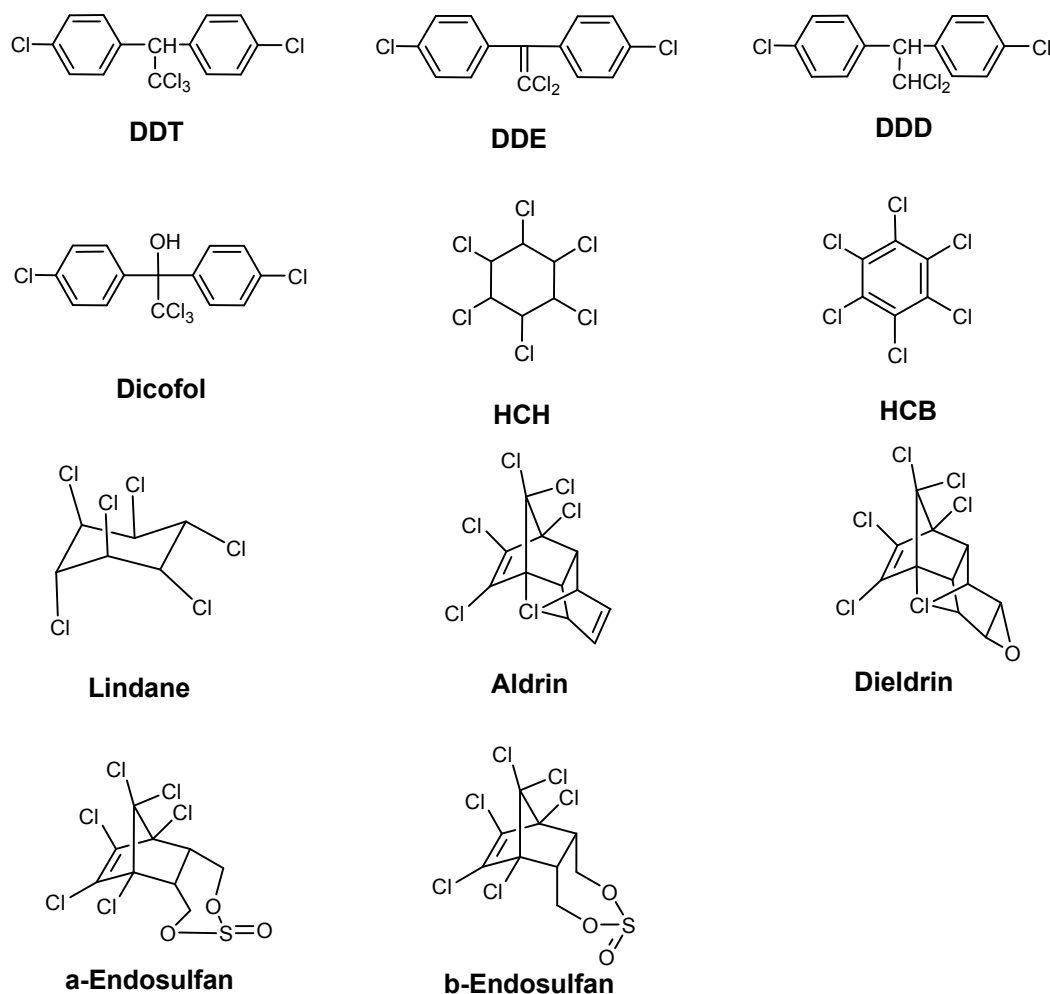
διαπίστωση ότι οι ενώσεις αυτές δεν αποικοδομούνται εύκολα στο περιβάλλον και γι' αυτό χαρακτηρίζονται ως παραμένοντες οργανικοί ρύποι (Persistent Organic Pollutants, POPs).

Ανάλογα με τη χημική δομή τους, τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα διακρίνονται στις υποομάδες:

- i. Ισομερή του εξαχλωροβενζολίου, όπως το lindane
- ii. Κυκλοδιένια, όπως τα aldrin, dieldrin, endrin, chlordane, heptachlor και endosulfan
- iii. DDT και ανάλογα του, όπως methoxychlor, dicofol και chlorobenzylate

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα είναι ουσίες που συνδυάζουν μεγάλη εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα και μικρή τοξικότητα στα θηλαστικά. Όμως, η υπέρμετρη και αλόγιστη χρήση τους, στο παρελθόν, οδήγησε στην καταστροφή ευαίσθητων οικοσυστημάτων, στην εκτεταμένη ρύπανση του εδάφους και των φυσικών νερών και στη βιοσυσσώρευσή τους (bioaccumulation) στους οργανισμούς καθώς και στη βιομεγέθυνσή (biomagnification) τους κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας με αποτέλεσμα την ανίχνευσή τους σε ανώτερους οργανισμούς, ακόμα και στον άνθρωπο, σε υψηλές συγκεντρώσεις. Σε πολλές χώρες, παρότι τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα έχουν απαγορευτεί πριν από πολλά χρόνια, εξακολουθούν να ανιχνεύονται σε ανθρώπινους ιστούς καθώς επίσης στο αίμα και τα ούρα (Tordoir and Van Sittert, 1994).

Η οξεία τοξικότητα των περισσότερων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων, είναι χαμηλή και γι' αυτό κατατάσσονται στις κατηγορίες τοξικότητας II και III που έχουν θεσπιστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας. Εξάιρεση αποτελούν τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα endrin, aldrin και dieldrin, η χρήση των οποίων έχει απαγορευτεί, που κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας I με τιμές LD₅₀ μικρότερες από 10 mg/kg σωματικού βάρους. Όσον αφορά στον τρόπο δράσης τους, τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα δρουν κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Ο κύριος μηχανισμός δράσης τους σχετίζεται με την παρεμπόδιση της μεταφοράς των νευρικών παλμών κατά μήκος των νευρικών κυττάρων (Kaushik and Kaushik, 2007). Έχει βρεθεί ότι το dieldrin σχετίζεται και με την εμφάνιση της νόσου του Parkinson (Kanthasamy et al., 2005). Στο σχήμα 1.6 απεικονίζονται οι δομές των κυριότερων φυτοφαρμάκων που ανήκουν στην κατηγορία των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων.



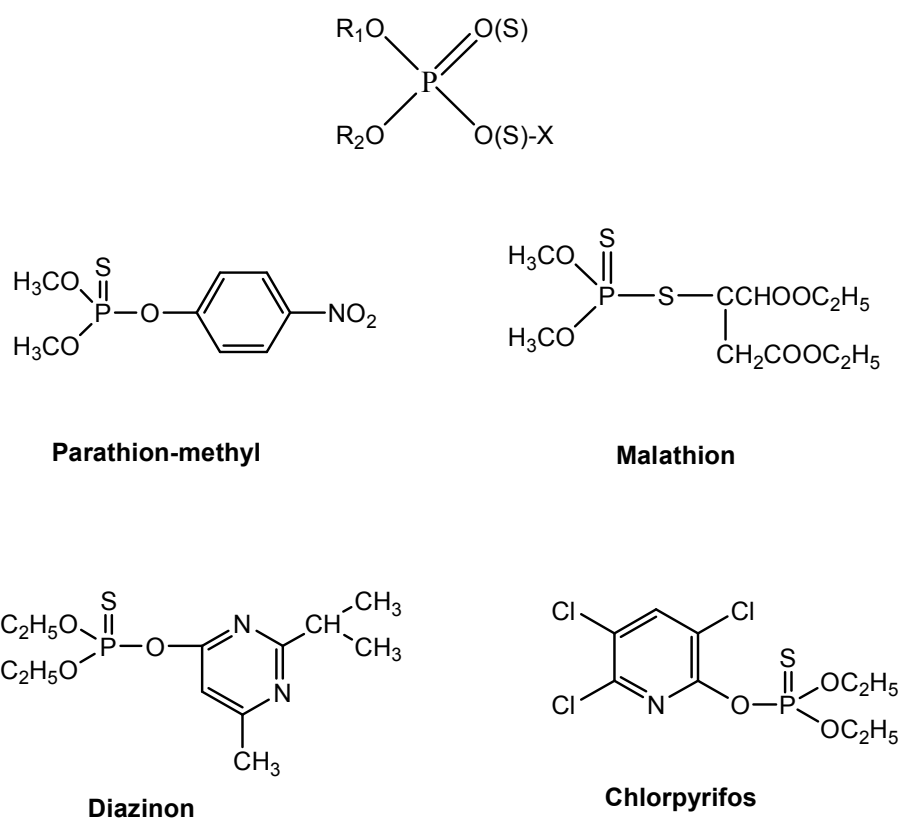
Σχήμα 1.6: Χημικές δομές των σημαντικότερων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων.

1.4.2 Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα (Οργανοφωσφορικοί εστέρες)

Τα οργανοφωσφορικά όπως και τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα είναι από τις πρώτες κατηγορίες οργανικών φυτοφαρμάκων που παρασκευάστηκαν και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα. Είναι ενώσεις μεγάλης τοξικότητας, σχετικά ασταθείς σε αλκαλικό περιβάλλον και έχουν μικρό βαθμό βιοσυσσώρευσης (Walker, 2001).

Χρησιμοποιούνται κυρίως ως εντομοκτόνα και σε μικρότερη έκταση ως ζιζανιοκτόνα. Η χρήση των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων άρχισε να αυξάνει κατά τη δεκαετία του 1970 προκειμένου να αντικαταστήσουν τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, τα οποία αποσύρονται σταδιακά από την αγορά. Στην πορεία όμως διαπιστώθηκε ότι τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα προκαλούν περιβαλλοντικά προβλήματα λόγω της υψηλής οξείας τοξικότητας που παρουσιάζουν (Galloway and Handy, 2003).

Τα περισσότερα από τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα είναι παράγωγα του φωσφορικού και του θειοφωσφορικού οξέος και μπορούν να απεικονιστούν με το γενικό τύπο που φαίνεται στο σχήμα 1.7, όπου R1 και R2 είναι αλκοξυ, αμινο, θειοαλκυλο, φαινυλο ή άλλος υποκαταστάτης και το X είναι η χαρακτηριστική ομάδα των διαφόρων οργανοφωσφορικών ενώσεων. Στο σχήμα 1.7 απεικονίζονται οι δομές μερικών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται συχνότερα στη γεωργία (Storm et al., 2000).



Σχήμα 1.7: Γενική μοριακή δομή των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές μερικών από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα.

Τα φυτοφάρμακα της κατηγορίας των οργανοφωσφορικών απορροφούνται αμέσως από το δέρμα, τους πνεύμονες και το γαστρεντερικό σωλήνα και μεταφέρονται στο αίμα και στους ιστούς του ανθρωπίνου σώματος. Ορισμένες ενώσεις των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, όπως για παράδειγμα τα azinphos-ethyl, dimefos, ethyl-parathion, methyl-parathion, fonofos, methamidophos και monocrotophos είναι ενώσεις πολύ τοξικές και κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας I (LD₅₀ σε αρουραίους μικρότερο από 50 mg/kg σωματικού βάρους). Για τα υπόλοιπα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, το LD₅₀ κυμαίνεται

από 50 έως 500 mg/kg σωματικού βάρους, οπότε κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας II (NPIC, 2007).

Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα επιδρούν στο νευρικό σύστημα των ζωντανών οργανισμών δεσμεύοντας το ένζυμο ακετυλο-χολινεστεράση. Η ακετυλο-χολινεστεράση φυσιολογικά συμμετέχει στην υδρόλυση του νευροδιαβιβαστή ακετυλο-χολίνη στις νευρικές συνάψεις των κυττάρων και με αυτό τον τρόπο τερματίζεται η μεταφορά του νευρικού παλμού. Στην περίπτωση που η ακετυλο-χολινεστεράση δεσμεύεται, η υδρόλυση της ακετυλοχολίνης περιορίζεται και έτσι συσσωρεύεται στο νευρικό σύστημα με αποτέλεσμα τη συνεχή αποστολή νευρικών παλμών προς τα όργανα του οργανισμού. Συνέπεια αυτού είναι η εμφάνιση σπασμών μέχρι και θάνατος του οργανισμού (WHO, 1986, Kamanyire and Karalliedde, 2004).

1.4.3 Καρβαμιδικά φυτοφάρμακα

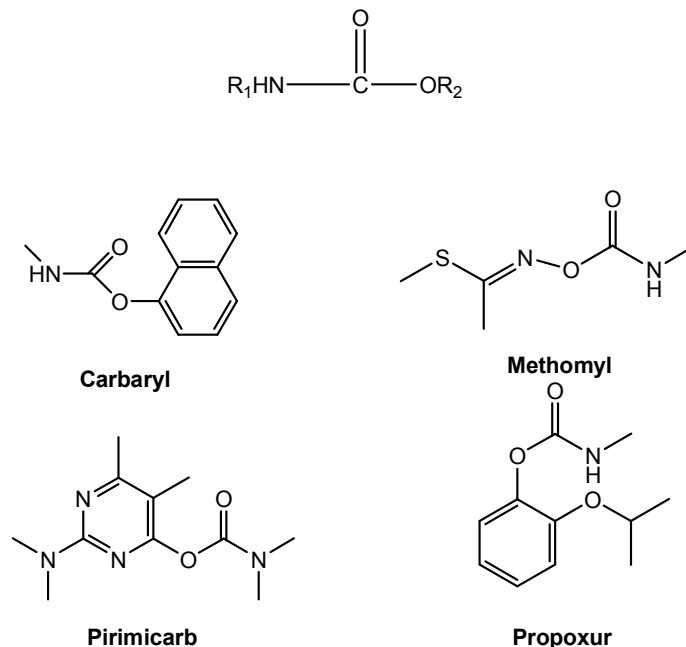
Η κατηγορία των καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων περιλαμβάνει ενώσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα και ζιζανιοκτόνα. Σε πολλές περιπτώσεις, αντικατέστησαν τα χλωριωμένα εντομοκτόνα λόγω της μικρής υπολειμματικότητάς τους (υδρολύονται στο έδαφος και σε αλκαλικό περιβάλλον).

Τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι εστέρες ή οξίμες του καρβαμιδικού οξέος. Στο σχήμα 1.8 απεικονίζεται η γενική μοριακή δομή τους και οι κυριότεροι εκπρόσωποί τους. Ο υποκαταστάτης R2 είναι αρωματική ή αλειφατική ομάδα. Στα καρβαμιδικά εντομοκτόνα ο υποκαταστάτης R1 είναι μεθυλομάδα, στα ζιζανιοκτόνα αρωματική ομάδα και στα μυκητοκτόνα βενζιμιδαζόλιο (Baron, 1991).

Σχετικά με την τοξικότητα τους, τα περισσότερα από τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας II. Εξαιρέση αποτελούν τα methomyl και aldicarb τα οποία κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας I. Συγκεκριμένα, το aldicarb θεωρείται το πιο επικίνδυνο από όλα τα φυτοφάρμακα που έχουν κυκλοφορήσει μέχρι σήμερα, καθώς η τιμή LD₅₀ για τους αρουραίους ισούται με 1 mg/kg σωματικού βάρους. Ακόμα, τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι πολύ τοξικά τόσο για τις μέλισσες όσο και για τα ψάρια, μερικά δε απ' αυτά είναι πολύ τοξικά και για τον άνθρωπο (Machemer and Pickel, 1994, Αλμπάνης, 1997).

Η δράση τους ως εντομοκτόνα είναι παρόμοια με αυτή των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, δηλαδή δεσμεύουν το ένζυμο ακετυλο-χολινεστεράση με αποτέλεσμα τη δημιουργία προβλημάτων στη λειτουργία του νευρικού συστήματος, ενώ ως μυκητοκτόνα και ζιζανιοκτόνα έχουν διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης. Η αναστολή της δράσης της ακετυλο-χολινεστεράσης από τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι μικρής διάρκειας και αντιστρεπτό φαινόμενο, σε αντίθεση με την αναστολή της δράσης της από τα

οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα που είναι μη αντιστρεπτό φαινόμενο. Αποτέλεσμα είναι η επαναλαμβανόμενη χορήγηση δόσεων καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων να μην προκαλεί αθροιστική δέσμευση της ακετυλο-χολινεστεράσης (Maroni et al., 2000).



Σχήμα 1.8: Γενική μοριακή δομή των καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές μερικών από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα καρβαμιδικά φυτοφαρμάκα.

1.4.4 Διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα

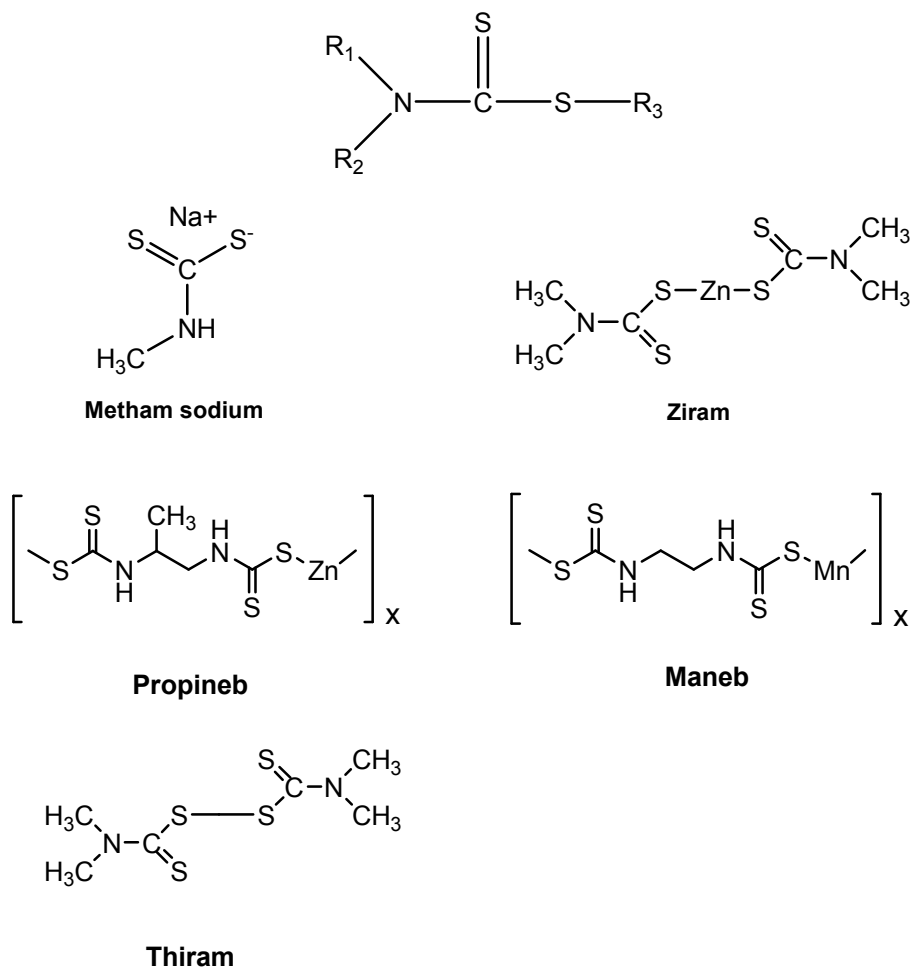
Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται στη γεωργία κυρίως ως μυκητοκτόνα και σε μικρότερη έκταση ως εντομοκτόνα και ζιζανιοκτόνα. Στη βιομηχανία ζάχαρης και χαρτιού χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στα συστήματα ψύξης, ενώ στη βιομηχανία ελαστικού ως αντιοξειδωτικά και ως επιταχυντές του βουλκανισμού (Kumar Malik and Faubel, 1999). Ακόμα λόγω των συμπλεκτικών-χηλικών ιδιοτήτων τους χρησιμοποιούνται στην κατεργασία των υδατικών αποβλήτων για την απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων (WHO, 1988). Το disulfiram, το οποίο ανήκει στη συγκεκριμένη κατηγορία, αλλά δεν εφαρμόζεται στις καλλιέργειες, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του χρόνιου αλκοολισμού (Johnson et al., 1998).

Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι διθειούχα ανάλογα των καρβαμιδικών εστέρων. Ανάλογα με τον τύπο των αμινών, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή τους και τον τρόπο σύνδεσης των ατόμων θείου, τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα χωρίζονται στις πέντε παρακάτω κατηγορίες (Van Lishaut et al., 2000):

- i. *N*-μεθυλοδιθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (N-methyldithiocarbamate, MDTC), τα οποία περιέχουν πρωτοταγή αμίνη. Μοναδικός εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το metham-sodium.
- ii. *N,N*-διμεθυλοδιθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (N,N-dimethyl-dithiocarbamate, DMDTC), τα οποία περιέχουν δευτεροταγείς αμίνες. Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι το ziram και το ferbam.
- iii. Αιθυλενο-δισ-διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (ethylenebis-dithiocarbamate, EBDTC), τα οποία περιέχουν αιθυλενοδιαμίνη. Εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι τα nabam, maneb, zineb, mancozeb και metiram.
- iv. Προπυλενο-δισ-διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (propylenebis-dithiocarbamate, PBDTC), τα οποία περιέχουν 1-μεθυλοαιθυλενοδιαμίνη και ο μοναδικός εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το propineb.
- v. Τετρα-αλκυλοθειουραμοδισουλφίδια (tetra-alkylthiouamdisulfides, TATD), τα οποία έχουν στο μόριό τους ένα δεσμό μεταξύ δύο ατόμων θείου. Μοναδικός εκπρόσωπος είναι το thiram.

Η γενική μοριακή δομή τους, καθώς επίσης και ορισμένες αντιπροσωπευτικές ενώσεις της κατηγορίας αυτής απεικονίζονται στο σχήμα 1.9.

Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι ακίνδυνες ουσίες, με χαμηλή οξεία τοξικότητα και κατατάσσονται στις κατηγορίες τοξικότητας IV και V. Η υπολειμματικότητα των διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων είναι μικρή, διότι είναι ασταθείς ενώσεις παρουσία υγρασίας, φωτός και υψηλής θερμοκρασίας. Οι μεταβολίτες που παράγονται από τη διάσπασή τους, όπως ο διθειάνθρακας, η αιθυλενοθειουρία, η προπυλενοθειουρία και τα βαρέα μέταλλα (Mn, Zn) εμφανίζουν μεγαλύτερη τοξικότητα από τις αρχικές μητρικές ενώσεις. Συγκεκριμένα, ο διθειάνθρακας, ο οποίος είναι κοινός μεταβολίτης για όλα τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα, όταν εισέρχεται στους ζωντανούς οργανισμούς, δημιουργεί διασταυρούμενες συνδέσεις με τις χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες, που περιέχονται στα κύτταρα του νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση νευροτοξικότητας (Valentine et al., 1995). Οι μεταβολίτες αιθυλενοθειουρία και προπυλενοθειουρία συσσωρεύονται στον θυρεοειδή αδένα με αποτέλεσμα την εμφάνιση καρκίνου του θυρεοειδούς (Graham et al., 1973, JMPR-731, 1985). Πολλές μελέτες σε πειραματόζωα αποδεικνύουν ότι τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα έχουν τερατογόνες, καρκινογόνες και μεταλλαξογόνες ιδιότητες (WHO, 1988).



Σχήμα 1.9: Γενική μοριακή δομή των διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και χημικές δομές ορισμένων αντιπροσωπευτικών ενώσεων της κατηγορίας.

1.4.5 Πυρεθροειδή και φυσικές πυρεθρίνες

Οι φυσικές πυρεθρίνες είναι χημικές ενώσεις που παρουσιάζουν εντομοκτόνο δράση και περιέχονται στα χρυσάνθεμα (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Η πρόκληση αναισθησίας στα έντομα σε συνδυασμό με την πολύ χαμηλή τοξικότητά τους κάνουν τις πυρεθρίνες ιδανικά οικιακά εντομοκτόνα παρότι η αναισθησία στα έντομα δεν σημαίνει και θάνατο. Συνήθως χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κάποιο άλλο εντομοκτόνο (οργανοφωσφορικό, καρβαμιδικό) για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Οι φυσικές πυρεθρίνες περιλαμβάνουν τρεις εστέρες του χρυσανθεμικού οξέος (Pyrethrin I, Cinerin I και Jasmolin I) και τρεις εστέρες του πυρεθρικού οξέος (Pyrethrin II, Cinerin II και Jasmolin II).

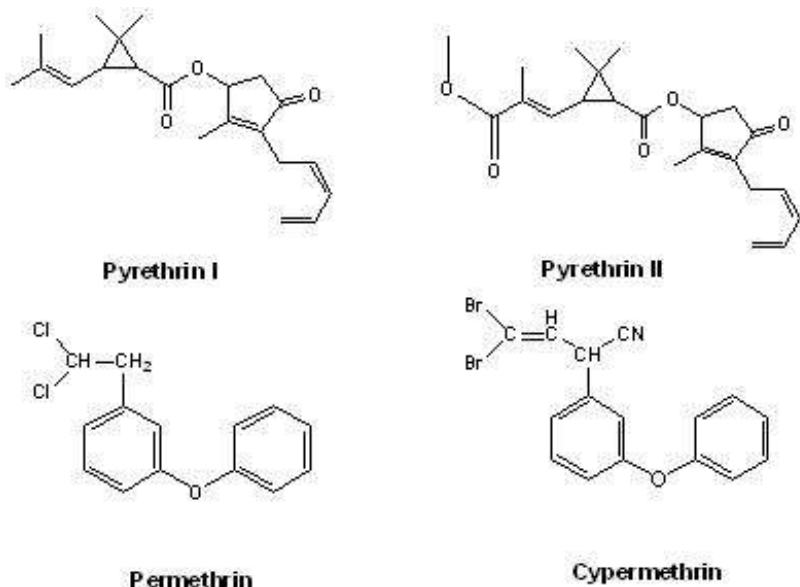
Η χημική δομή των φυσικών πυρεθρινών αποτελεί τη βάση για τη σύνθεση ουσιών με παρόμοιες ιδιότητες, οι οποίες αναφέρονται ως πυρεθροειδή. Η χρήση των πυρεθροειδών γίνεται σε μεγάλο βαθμό στις καλλιέργειες εξαιτίας της σχετικά χαμηλής τους τοξικότητας για

τον άνθρωπο και γενικά για τα θηλαστικά καθώς επίσης και της μικρής τους υπολειμματικότητας. Από χημικής πλευράς, είναι εστέρες κάποιων «ιδιαιτέρων» οξέων, όπως το χρυσανθεμικό οξύ, το αλογονοϋποκατεστημένο χρυσανθεμικό οξύ και το 2-[4-χλωροφαινυλο]-3-μεθυλοβουτυρικό οξύ και των αλκοολών αλεθρόνη και 3-φαινοξυβενζυλική αλκοόλη. Ανάλογα με τη δομή τους διακρίνονται σε δύο ομάδες, οι οποίες προκαλούν διαφορετικά συμπτώματα δηλητηρίασης:

- i. Πυρεθροειδή τύπου I, τα οποία δεν περιέχουν κυανομάδα στο μόριο τους. Οι πιο αντιπροσωπευτικές ενώσεις αυτής της ομάδας είναι τα φυτοφάρμακα permethrin, allethrin, tetramethrin, and D-phenothrin.
- ii. Πυρεθροειδή τύπου II, τα οποία περιέχουν κυανομάδα στη θέση του α-άνθρακα και περιλαμβάνει τα deltamethrin, fenvalerate and cypermethrin.

Στο σχήμα 1.10 απεικονίζονται οι δομές του permethrin και του cypermethrin που ανήκουν αντίστοιχα στις ομάδες i και ii, καθώς επίσης και των φυσικών πυρεθρινών pyrethrin I και pyrethrin II.

Οι πυρεθρίνες και τα πυρεθροειδή είναι ενώσεις μέτριας τοξικότητας και κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας II, σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας (WHO, 1989, WHO, 1992). Τα κύρια συμπτώματα δηλητηρίασης από φυτοφάρμακα της πρώτης ομάδας των πυρεθροειδών είναι τρεμούλιασμα, ευερεθιστικότητα, σύγχυση, σπασμοί και σε σοβαρές περιπτώσεις παράλυση, ενώ από τις ενώσεις της δεύτερης ομάδας υπερβολική έκκριση σιέλου, υπερευαισθησία σε εξωτερικά ερεθίσματα και παράλυση. Οι ενώσεις και των δύο ομάδων δρουν στις μεμβράνες των νευρικών κυττάρων, κρατώντας ανοικτά τα κανάλια νατρίου με αποτέλεσμα τη συνεχή εισροή ιόντων νατρίου μέσα στο κύτταρο. Η συνεχής εισροή ιόντων νατρίου μέσα στο κύτταρο έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του θετικού δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης σε σχέση με το εξωκυτταρικό διάλυμα και τη διατάραξη της φυσιολογικής λειτουργία του κυττάρου. Το συγκεκριμένο φαινόμενο στη βιολογία ονομάζεται αποπόλωση (depolarization) των κυττάρων (Maroni et al., 2000).



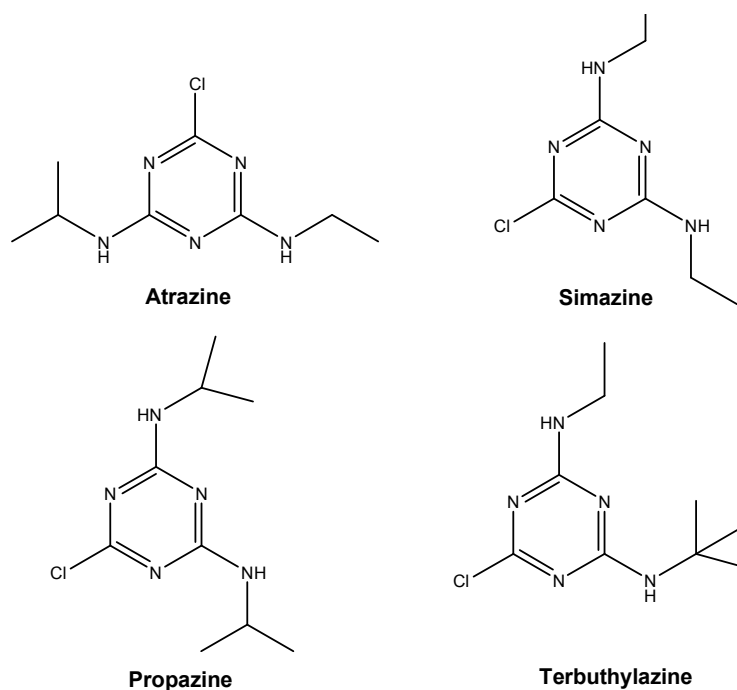
Σχήμα 1.10: Δομή των φυσικών πυρεθρινών pyrethrin I και pyrethrin II και των πυρεθροειδών permethrin και cypermethrin.

1.4.6 Ενώσεις των χλωρο- και αμινο- τριαζινών

Οι τριαζίνες είναι ενώσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως ζιζανιοκτόνα είτε στις καλλιέργειες πριν τη σπορά ή μετά τη συγκομιδή είτε σε χώρους που δεν υπάρχουν καλλιέργειες για την καταστροφή των ζιζανίων. Οι πιο σημαντικές ενώσεις αυτής της κατηγορίας, οι οποίες απεικονίζονται στο σχήμα 1.11, είναι οι atrazine, simazine, propazine και terbutylazine.

Από χημικής πλευράς, οι τριαζίνες ανήκουν στις αρωματικές ετεροκυκλικές ενώσεις του αζώτου, υποκατεστημένες στις θέσεις 2, 4 και 6 του δακτυλίου. Σε υδατικά διαλύματα, οι τριαζίνες συμπεριφέρονται ως βάσεις και θεωρούνται από τις πιο ανθεκτικές δραστικές ουσίες φυτοφαρμάκων σε διεργασίες διάσπασης, όπως υδρόλυση, φωτόλυση και βιοδιάσπαση, με αποτέλεσμα να ανιχνεύονται στα εδάφη και στα επιφανειακά και υπόγεια νερά.

Οι ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα των τριαζινών είναι μέτριας τοξικότητας και κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας III. Βραχυπρόθεσμη από του στόματος πρόσληψη ατραζίνης από αρουραίους προκαλεί προβλήματα στην καρδιά, στους πνεύμονες και στο ήπαρ, χαμηλή πίεση, μυϊκούς σπασμούς και βλάβη στα επινεφρίδια, ενώ η μακροπρόθεσμη έκθεση προκαλεί απώλεια βάρους, καρδιαγγειακά προβλήματα, βλάβη στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του οφθαλμού και καρκίνο (EPA, 2003). Η ζιζανιοκτόνος δράση τους οφείλεται στο γεγονός ότι παρεμποδίζουν τη ροή των ηλεκτρονίων στο φωτοσύνστημα II των χλωροπλαστών με αποτέλεσμα να σταματά η φωτοσύνθεση του φυτού (Ohki et al., 1999).



Σχήμα 1.11: Σημαντικότεροι εκπρόσωποι της κατηγορίας των τριαζινών.

1.5 Τρόποι εφαρμογής των φυτοφαρμάκων

Η εφαρμογή των φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται είτε επάνω στα φυτά είτε στο έδαφος. Υπάρχουν πέντε κύριοι τρόποι εφαρμογής των φυτοφαρμάκων:

1. Αεροψεκασμός: Στη συγκεκριμένη τεχνική, το εμπορικό σκεύασμα διαλύεται σε νερό και στη συνέχεια ψεκάζεται από αέρος με αεροπλάνο ή ελικόπτερο. Συνήθως, ο αεροψεκασμός χρησιμοποιείται για την εφαρμογή φυτοφαρμάκων σε καλλιέργειες μεγάλης έκτασης. Ο τρόπος αυτός χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλο βαθμό κατά τις δεκαετίες 1950, 1960 και 1970. Σήμερα, ο αεροψεκασμός χρησιμοποιείται ελάχιστα, γιατί αφενός οδηγεί σε μεγάλες απώλειες της ποσότητας του εφαρμοζόμενου φυτοφαρμάκου, εξαιτίας της παράσυρσής του από τον αέρα και αφετέρου επειδή προκαλεί εκτεταμένες ζημιές στο ευρύτερο φυσικό περιβάλλον.
2. Ψεκασμός: Αποτελεί το συνηθέστερο τρόπο εφαρμογής των φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειες. Το διάλυμα του φυτοφαρμάκου ψεκάζεται χειροκίνητα ή με τη χρήση ειδικών μηχανημάτων, τα οποία είναι εφοδιασμένα με κατάλληλα ακροφύσια, ώστε τα φυτοφάρμακα να κατευθύνονται απευθείας επάνω στα καλλιεργούμενα φυτά. Η απώλεια

των φυτοφαρμάκων λόγω παράσυρσης από τον άνεμο, σε αυτή την περίπτωση, είναι περίπου πέντε φορές μικρότερη συγκρινόμενη με εκείνη που παρατηρείται κατά τον αεριοψεκασμό.

3. Διασπορά σκόνης ή κόκκων επάνω στα φυτά ή στο έδαφος: Με βάση την τεχνική αυτή, τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται απευθείας επάνω στα φυτά ή στο έδαφος της καλλιέργειας. Οι απώλειες των φυτοφαρμάκων είναι πολύ μικρές συγκρινόμενες με τις απώλειες που συμβαίνουν με τις δύο προηγούμενες τεχνικές.
4. Ενσωμάτωση στο έδαφος: Τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται αρχικά στην επιφάνεια του εδάφους και στη συνέχεια αναμιγνύονται με αυτό ή εγχέονται μέσα στην μάζα του εδάφους. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται στις περιπτώσεις των φυτοφαρμάκων, τα οποία χρησιμοποιούνται ως καπνογόνα (fumigant) και έχουν μεγάλη τάση ατμών.
5. Απευθείας χρήση αιωρημάτων φυτοφαρμάκων: Η τεχνική χρησιμοποιείται στην περίπτωση των υδροπονικών καλλιεργειών σε θερμοκήπια. Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, αφού παρασκευαστεί το αιώρημα των φυτοφαρμάκων κατάλληλα, διοχετεύεται μέσω σωληνώσεων και χρήση αντλιών στις ρίζες των φυτών. Με τον τρόπο αυτό παρατηρούνται οι μικρότερες απώλειες και κατά συνέπεια η μέγιστη αποτελεσματικότητα του φυτοφαρμάκου γιατί απορροφάται απευθείας από τις ρίζες του φυτού.

1.6 Τύχη των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον

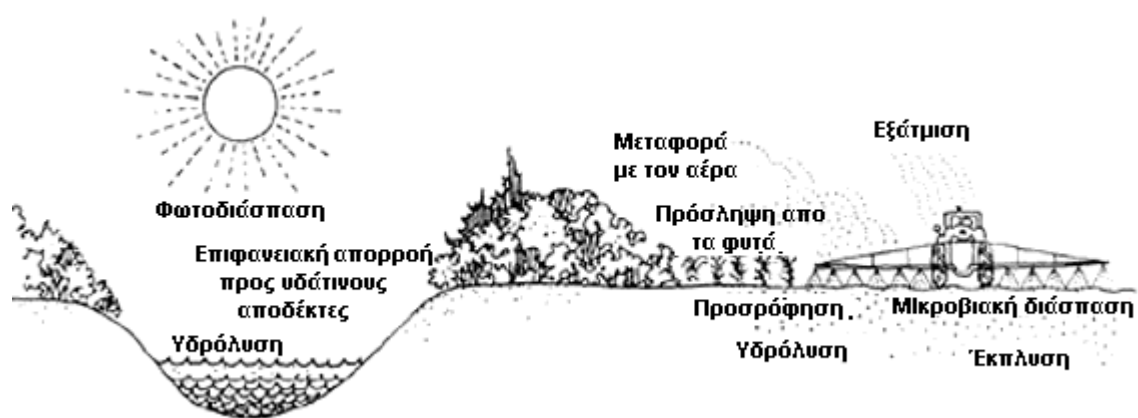
Τα φυτοφάρμακα, μετά την εφαρμογή τους στα φυτά ή στο έδαφος, υφίστανται μια σειρά φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών, όπως υδρόλυση, οξείδωση, διάσπαση, μεταφορά, εξάτμιση, ριζική πρόσληψη από τα φυτά κ.α. ενώ παράλληλα ρυπαίνουν την ατμόσφαιρα, το έδαφος, τα νερά των ποταμών, των λιμνών και των θαλασσών με αποτέλεσμα να εμφανίζονται σε επικίνδυνες συγκεντρώσεις στα τρόφιμα και τους ζωντανούς οργανισμούς (Αλμπάνης, 2005).

Γενικά, οι περιβαλλοντικές διεργασίες από τις οποίες εξαρτάται η συμπεριφορά και η τύχη των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες (Gavrilescu, 2005):

- Διεργασίες μεταφοράς. Με τις διεργασίες μεταφοράς τα φυτοφάρμακα απομακρύνονται από το σημείο εφαρμογής και κατανέμονται στα επιφανειακά και υπόγεια νερά, στο χώμα, στα ιζήματα και στην ατμόσφαιρα. Οι διεργασίες μεταφοράς των φυτοφαρμάκων περιλαμβάνουν μεταφορά με τον αέρα, εξάτμιση, έκπλυση, επιφανειακή απορροή, προσρόφηση και πρόσληψη από τα φυτά.

- **Διεργασίες διάσπασης.** Με τις διεργασίες αυτές τα φυτοφάρμακα μετατρέπονται σε απλούστερες ενώσεις, οι οποίες ονομάζονται μεταβολίτες ή προϊόντα διάσπασης, ή αποικοδομούνται πλήρως προς ανόργανες ενώσεις. Οι διεργασίες διάσπασης των φυτοφαρμάκων περιλαμβάνουν τη φωτοδιάσπαση, την υδρόλυση και τη μικροβιακή διάσπαση.

Στο σχήμα 1.12 απεικονίζονται οι κυριότερες από τις διεργασίες μεταφοράς και διάσπασης των φυτοφαρμάκων από τις οποίες εξαρτάται η τύχη τους στο περιβάλλον. Στα υποκεφάλαια που ακολουθούν αναλύονται σύντομα οι παραπάνω διεργασίες.



Σχήμα 1.12: Σχηματική παρουσίαση της τύχης των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον σύμφωνα με τις βασικές διεργασίες μεταφοράς και διάσπασής τους.

1.6.1 Διεργασίες μεταφοράς των φυτοφαρμάκων

1.6.1.1 Εξάτμιση

Η μεταφορά ενός φυτοφαρμάκου από το έδαφος, τα φυτά ή το νερό στον αέρα γίνεται κατά κύριο λόγο με την εξάτμιση (volatilization). Η τάση μετάβασης ενός φυτοφαρμάκου στην αέρια φάση εξαρτάται από τη σταθερά του Henry (H), η οποία ορίζεται ως ο λόγος της τάσης ατμών του φυτοφαρμάκου προς τη διαλυτότητά του στο νερό. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της σταθεράς του Henry τόσο πιο πτητικό είναι το φυτοφάρμακο. Σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διεργασία μεταφοράς των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα παίζουν και διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η υψηλή θερμοκρασία, η χαμηλή υγρασία και η ταχύτητα του αέρα. Η απώλεια των φυτοφαρμάκων προς την ατμόσφαιρα λόγω εξάτμισης είναι πολύ σημαντική και μπορεί να φτάσει μέχρι και το 90 % για φυτοφάρμακα με μεγάλη πτητικότητα. Οι απώλειες των φυτοφαρμάκων λόγω εξάτμισης, αναλύονται εκτενώς στο 2^ο Κεφάλαιο.

1.6.1.2 Μεταφορά με τον αέρα

Η παράσυρση (spray drift) των σχηματιζόμενων σταγονιδίων του φυτοφαρμάκου από τον αέρα κατά τη διάρκεια εφαρμογής του παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην απόσταση που μπορούν να διανύσουν τα φυτοφάρμακα από το σημείο εφαρμογής τους. Οι κυριότερες παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται η μεταφορά των φυτοφαρμάκων με τον αέρα είναι το μέγεθος των σχηματιζόμενων σταγονιδίων, η ταχύτητα του ανέμου και η απόσταση του ακροφυσίου του ψεκαστικού συστήματος από τα φυτά ή το έδαφος – όσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των σταγονιδίων που μπορούν να παρασυρθούν από τον άνεμο. Το σημαντικότερο πρόβλημα, το οποίο δημιουργείται από τη μεταφορά των φυτοφαρμάκων με τον αέρα, είναι ο κίνδυνος που ελλοχεύει για τους ανθρώπους και τα ζώα που ζουν στην περιοχή. Επίσης, τα παρασυρόμενα φυτοφάρμακα προκαλούν ρύπανση και ζημιές σε γειτονικές καλλιέργειες που περιέχουν φυτά ή καρπούς έτοιμα για συγκομιδή.

Η μεταφορά των φυτοφαρμάκων με τον αέρα εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το μέγεθος των παραγόμενων σταγονιδίων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Plimmer, 1990, Majewski and Capel, 1995, Huskes and Levsen., 1997) εάν τα παραγόμενα σταγονίδια του φυτοφαρμάκου κατά τη διάρκεια του ψεκασμού έχουν διάμετρο μικρότερη από 150 μm είναι δυνατόν να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις πριν κατακαθίσουν. Γι' αυτό το λόγο τα σύγχρονα συστήματα ψεκασμού κατασκευάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να παράγουν σταγονίδια μεγάλης διαμέτρου (>150 μm) και να αποφεύγεται έτσι η μεταφορά τους σε μεγάλες αποστάσεις. Η διεργασία μεταφοράς των φυτοφαρμάκων με τον αέρα αναλύεται εκτενώς στο 2^ο Κεφάλαιο.

1.6.1.3 Έκπλυση

Η έκπλυση (leaching) είναι το φαινόμενο της μεταφοράς ενός φυτοφαρμάκου προς τα βαθύτερα στρώματα του εδάφους υπό την επίδραση του νερού. Η συγκεκριμένη διεργασία παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον γιατί υπάρχει κίνδυνος ρύπανσης του υδροφόρου ορίζοντα. Ο βαθμός έκπλυσης ενός φυτοφαρμάκου εξαρτάται τόσο από τις χημικές του ιδιότητες (κυρίως τη διαλυτότητά του στο νερό, το συντελεστή προσρόφησης της ουσίας στην οργανική ύλη του εδάφους, K_{oc} και την ανθεκτικότητά του στη διάσπαση) όσο και από τις υδραυλικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους (διαπερατότητα, κλίση, pH, ποσοστό της περιεχόμενης οργανικής ύλης). Ακόμα άλλες παράμετροι, όπως η συχνότητα και η ένταση της βροχόπτωσης καθώς και ο τρόπος και η συχνότητα άρδευσης, παίζουν σημαντικό ρόλο στην έκπλυση των φυτοφαρμάκων. Γενικά, φυτοφάρμακα με μικρή

διαλυτότητα στο νερό και μεγάλη ικανότητα προσρόφησης στην οργανική ύλη του εδάφους έχουν μικρό βαθμό έκπλυσης και παραμένουν στα ανώτερα στρώματα του εδάφους ενώ φυτοφάρμακα ανθεκτικά στη διάσπαση εμφανίζουν μεγάλο βαθμό έκπλυσης γιατί παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο έδαφος. Επίσης, η έκπλυση είναι μεγαλύτερη στα αμμώδη εδάφη, τα οποία χαρακτηρίζονται από χαλαρή δομή και μεγάλη διαπερατότητα, σε αντίθεση με τα αργιλώδη, τα οποία είναι πιο συνεκτικά και έχουν μικρότερη διαπερατότητα (Gavrilescu, 2005).

1.6.1.4 Επιφανειακή απορροή

Η απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από τις καλλιέργειες μπορεί να συμβεί με το νερό της επιφανειακής απορροής (runoff). Με τον όρο επιφανειακή απορροή εννοείται η μεταφορά του νερού από τις καλλιέργειες δια μέσου φυσικών υδατορευμάτων προς τους υδάτινους αποδέκτες με την επίδραση της βαρύτητας. Τα φυτοφάρμακα, τα οποία βρίσκονται διαλυμένα στο νερό ή προσροφημένα σε συστατικά του εδάφους, παρασύρονται από το νερό και απομακρύνονται από την περιοχή της εφαρμογής τους. Αυτό το φαινόμενο μπορεί να εμφανιστεί και στην περίπτωση που ένα χωράφι αρδεύεται με μεγαλύτερο ρυθμό από αυτόν που μπορεί να απορροφήσει το έδαφος. Το μέγεθος της επιφανειακής απορροής εξαρτάται από τη διαλυτότητα του φυτοφαρμάκου στο νερό, τη συχνότητα, την ένταση και τη χρονική διάρκεια των βροχοπτώσεων, τη συχνότητα άρδευσης, το είδος της καλλιέργειας και τον τύπο και την κλίση του εδάφους.

Ένας τρόπος ελάττωσης της επιφανειακής απορροής είναι η αποφυγή εφαρμογής φυτοφαρμάκων σε περιόδους έντονων βροχοπτώσεων καθώς επίσης και η χρήση ουσιών, οι οποίες έχουν μικρή διαλυτότητα στο νερό (Reichenberger et al., 2007). Η επιφανειακή απορροή μπορεί επίσης να περιοριστεί χρησιμοποιώντας κατάλληλη μέθοδο για την άρδευση της καλλιεργούμενης έκτασης. Για παράδειγμα, η επιφανειακή άρδευση με αυλάκια ή παράλληλες λωρίδες θα πρέπει να αποφεύγεται γιατί, εκτός της απομάκρυνσης των φυτοφαρμάκων λόγω επιφανειακής απορροής, προκαλεί και έκπλυση των θρεπτικών συστατικών του εδάφους, μεγάλη κατανάλωση νερού και ανομοιόμορφο πότισμα. Στην περίπτωση εδαφών με κλίση 2 έως 3 % έχουμε μεγάλες απώλειες νερού από επιφανειακή απορροή. Μείωση της επιφανειακής απορροής επιτυγχάνεται με την τεχνητή βροχή, γιατί με το σύστημα αυτό το νερό εφαρμόζεται σε όλο το χωράφι ομοιόμορφα. Ο ρυθμός με τον οποίο πρέπει να γίνεται η άρδευση πρέπει να είναι ίδιος με το ρυθμό που το έδαφος απορροφά το νερό ώστε να μην έχουμε επιφανειακή απορροή. Ένας άλλος τρόπος μείωσης της επιφανειακής απορροής είναι η άρδευση με σταγόνες. Η άρδευση με σταγόνες εφαρμόζεται σε μέρος του εδάφους και συγκεκριμένα στην περιοχή του ριζικού συστήματος

του φυτού. Η παροχή του νερού από τους σταλακτήρες είναι πολύ μικρή, 2 έως 3 λίτρα την ώρα, με αποτέλεσμα όλη η ποσότητα του νερού να απορροφάται από το έδαφος και να μην απορρέει επιφανειακά. Δεδομένου ότι η άρδευση επαναλαμβάνεται καθημερινά για 2 έως 3 ώρες, ώστε να αναπληρώνεται το νερό που εξατμίζεται, δεν υπάρχουν απώλειες νερού από βαθιά διήθηση (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2003).

Γενικά, όταν δεν υπάρχουν έντονα καιρικά φαινόμενα, οι απώλειες των φυτοφαρμάκων από τις καλλιέργειες, λόγω της επιφανειακής απορροής, έχει βρεθεί ότι είναι μικρές και πλησιάζουν περίπου το 2 % της συνολικής εφαρμοζόμενης ποσότητας των φυτοφαρμάκων (Holvoet et al, 2007).

1.6.1.5 Πρόσληψη από τα φυτά

Ένα ποσοστό του εφαρμοζόμενου φυτοφαρμάκου σε μία καλλιέργεια προσροφάται από τα φυτά μέσω του φυλλώματος και του ριζικού τους συστήματος (Inoue et al., 1998, Pfafflin and Ziegler, 2006, Wang and Liu, 2007). Επειδή η συγκεκριμένη διεργασία είναι αρκετά περίπλοκη και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι συνεισφέρουν και στη διάσπαση του φυτοφαρμάκου (θερμοκρασία, υγρασία, pH, περιεχόμενη οργανική ύλη και μικροοργανισμοί του εδάφους) είναι δύσκολο να εκτιμηθεί η ακριβής ποσότητα του φυτοφαρμάκου που προσλαμβάνεται από τα φυτά. Μετά την πρόσληψή τους από τα φυτά, τα φυτοφάρμακα μπορεί να διασπαστούν παράγοντας μεταβολίτες, οι οποίοι πολλές φορές είναι περισσότερο τοξικοί από τις αρχικές μητρικές ουσίες ή να παραμείνουν αδιάσπαστα. Η πρόσληψη των φυτοφαρμάκων από τα φύλλα του φυτού εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως την επιφάνεια και τα χαρακτηριστικά τους, την ποσότητα και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των εφαρμοζόμενων φυτοφαρμάκων και τις περιβαλλοντικές συνθήκες ενώ η πρόσληψη από τις ρίζες του φυτού εξαρτάται από τη διαλυτότητα των φυτοφαρμάκων στο νερό και τη διαπερατότητα της μεμβράνης των επιφανειακών κυττάρων από τα μόρια του φυτοφαρμάκου (Sicbaldi et al., 1997).

Όπως γίνεται κατανοητό, η πρόσληψη των φυτοφαρμάκων από τα φυτά παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά τους, μέσω της τροφικής αλυσίδας, στα ζώα και τελικά στον άνθρωπο, γεγονός που είναι ανεπιθύμητο, λόγω των τοξικών επιδράσεων των φυτοφαρμάκων στους ζωντανούς οργανισμούς. Αντίθετα, σε ορισμένες περιπτώσεις η ικανότητα πρόσληψης φυτοφαρμάκων από τα φυτά χρησιμοποιείται προς όφελος του ανθρώπου και του περιβάλλοντος. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται στην απορρύπανση εδαφών, που περιέχουν φυτοφάρμακα σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Η τεχνική είναι ευρέως γνωστή ως *φυτοαποικοδόμιση* (phytoremediation). Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το τροπικό τριαντάφυλλο

(*canna hybrida*) έχει την ικανότητα να απορροφήσει από διάλυμά του το ζιζανιοκτόνο simazine σε ποσοστό 80% (Wilson et al., 1999).

1.6.2 Διεργασίες διάσπασης των φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα στο περιβάλλον, όπως όλες οι οργανικές ενώσεις, διασπώνται με την επίδραση διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι κυριότερες διεργασίες διάσπασης των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον είναι η φωτοδιάσπαση ή φωτόλυση, η μικροβιακή διάσπαση και η υδρόλυση. Στη συνέχεια, αναλύεται καθένας από τους παράγοντες αυτούς συνοπτικά.

1.6.2.1 Φωτοδιάσπαση ή φωτόλυση

Η φωτοδιάσπαση ή φωτόλυση (photodegradation or photolysis) αναφέρεται στην αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων με την επίδραση του ηλιακού φωτός και μπορεί να συμβεί σε φυτοφάρμακα που βρίσκονται στην ατμόσφαιρα, στα επιφανειακά νερά, στα φύλλα των φυτών ή στην επιφάνεια του εδάφους. Η φωτόλυση των φυτοφαρμάκων μπορεί να είναι άμεση ή έμμεση. Κατά την άμεση φωτόλυση, το μόριο απορροφά ενέργεια ($\lambda=290-400$ nm) με τη μορφή φωτονίων, διεγείρεται και στη συνέχεια ακολουθούν χημικές αντιδράσεις διάσπασης, οι οποίες εξαρτώνται από τη δομή του μορίου. Αντίθετα, στην έμμεση φωτόλυση, η οποία είναι και η πιο συνηθισμένη διαδικασία φωτοδιάσπασης στο περιβάλλον, το ηλιακό φως δεν απορροφάται ευθέως από τα φυτοφάρμακα αλλά από άλλες ενώσεις, οι οποίες ονομάζονται φωτοευαισθητοποιητές και οι οποίες είτε αντιδρούν άμεσα με τα μόρια του φυτοφαρμάκου είτε παράγουν δραστικά ενδιάμεσα, όπως ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, υδροξυλίου ή υπεροξειδίου, που αντιδρούν με τα φυτοφάρμακα (Racke et al., 1997). Η ταχύτητα της φωτοδιάσπασης εξαρτάται από την ενέργεια που απαιτείται για τη διάσπαση των χημικών δεσμών του μορίου, την ένταση του φωτός και κυρίως από την παρουσία των φωτοευαισθητοποιητών, που καθιστούν εφικτή την έμμεση φωτόλυση.

Η φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων, που λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια του εδάφους, καθώς επίσης και ο ρυθμός της εξαρτάται από την περιεχόμενη οργανική ύλη και από το χρόνο έκθεσης των φυτοφαρμάκων στο ηλιακό φως. Στα επιφανειακά νερά ο ρυθμός της φωτοδιάσπασης εξαρτάται από το βάθος, τη θολερότητα και την αλατότητα του νερού, όπως επίσης και από την παρουσία αιωρούμενων σωματιδίων, που ενδεχομένως απορροφούν ακτινοβολία. Για νερά μέτριας θολερότητας, η ένταση της ακτινοβολίας με μήκος κύματος μικρότερο από 380 nm εξασθενεί πλήρως μετά από βάθος 1-2 m, σε αντίθεση με τα πολύ καθαρά νερά, που η ένταση της ακτινοβολίας μειώνεται στο 90 % σε βάθος 20 m (Sakkas et

al, 2006). Στην ατμόσφαιρα, η φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων είναι έμμεση και εξαρτάται κυρίως από την παρουσία ελευθέρων ριζών υδροξυλίου, $\text{OH}^\bullet$ και, σε μικρότερο βαθμό, από την παρουσία άλλων ριζών, όπως $\text{HO}_2^\bullet$ και $\text{NO}_3^\bullet$ και μορίων όζοντος (Klöpffer, 1992, Unsworth, et al., 1999).

1.6.2.2 Μικροβιακή διάσπαση

Η μικροβιακή διάσπαση (microbial breakdown) είναι το αποτέλεσμα του μεταβολισμού των φυτοφαρμάκων από μικροοργανισμούς και αποτελεί την κύρια αιτία της αποικοδόμησής τους στο έδαφος (Waldman and Shevah, 1993). Συμβαίνει όταν οι μύκητες, τα βακτήρια και άλλοι μικροοργανισμοί του εδάφους χρησιμοποιούν τα φυτοφάρμακα ως πηγή άνθρακα και ενέργειας ή καταναλώνουν τα μόρια των φυτοφαρμάκων μαζί με άλλες πηγές τροφής. Εκτιμάται, ότι σε ένα γραμμάριο χώματος περιέχονται 5000 έως 7000 διαφορετικά είδη βακτηρίων. Ο πληθυσμός των βακτηρίων σε ένα γραμμάριο χώματος ξεπερνά τα εκατό εκατομμύρια, ενώ ο πληθυσμός των αποικιών των μυκητών είναι περίπου δέκα χιλιάδες. Οι παράγοντες, οι οποίοι επιδρούν στη μικροβιακή διάσπαση των φυτοφαρμάκων, είναι η υγρασία, η περιεχόμενη οργανική ύλη του έδαφος, η θερμοκρασία, το pH, το είδος του μικροοργανισμού (αναερόβιος ή αερόβιος). Η μικροβιακή δραστηριότητα είναι αυξημένη σε θερμά και υγρά εδάφη, τα οποία έχουν ουδέτερο pH. Από μελέτες προκύπτει ότι για τη διάσπαση των φυτοφαρμάκων πολλές φορές συνεργάζονται διάφορα είδη μικροοργανισμών.

Η μικροβιακή διάσπαση των φυτοφαρμάκων χρησιμοποιείται για την απορρύπανση εδαφών και αποτελεί έναν απλό, οικονομικό και το κυριότερο φιλικό προς το περιβάλλον τρόπο απορρύπανσης εδαφών σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους. Η συγκεκριμένη τεχνική είναι γνωστή ως βιοδιάσπαση (bioremediation). Ο ακριβής μηχανισμός μεταβολισμού των φυτοφαρμάκων από τους μικροοργανισμούς δεν έχει κατανοηθεί πλήρως. Η πιθανότερη εξήγηση είναι ότι οι μικροοργανισμοί τροποποιούν το γενετικό τους υλικό ώστε να δημιουργήσουν κατάλληλους βιοχημικούς μηχανισμούς απαραίτητους για το μεταβολισμό των μορίων των φυτοφαρμάκων. Μετά την πρόσληψη των φυτοφαρμάκων από τους μικροοργανισμούς, ο μεταβολισμός τους ξεκινάει με τη διάσπασή τους από εξειδικευμένα ένζυμα. Στην περίπτωση που ο μικροοργανισμός δεν έχει αναπτύξει τα κατάλληλα ένζυμα, ο μεταβολισμός των φυτοφαρμάκων προχωράει με αργούς ρυθμούς ή δεν πραγματοποιείται καθόλου (Gavrilescu, 2005).

1.6.2.3 Υδρόλυση

Η υδρόλυση (hydrolysis) είναι μια χημική αντίδραση κατά την οποία συμβαίνει διάσπαση των χημικών δεσμών ενός μορίου λόγω της αντίδρασής του με το νερό. Οι αντιδράσεις υδρόλυσης συνήθως καταλύονται από την παρουσία υδρογονοκατιόντων και γι' αυτό το λόγο εξαρτώνται άμεσα από το pH. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την υδρόλυση είναι η θερμοκρασία και η παρουσία μεταλλικών ιόντων, τα οποία δρουν καταλυτικά (Gavrilescu, 2005). Στην περίπτωση της υδρόλυσης των φυτοφαρμάκων στο έδαφος η διεργασία εξαρτάται επιπλέον από την υγρασία, την περιεχόμενη οργανική ύλη και την παρουσία μεταλλικών ιόντων. Η προσρόφηση ενός φυτοφαρμάκου στην οργανική ύλη μπορεί να μειώσει σημαντικά το ρυθμό υδρόλυσής του σε σχέση με αυτόν σε διάλυμα. Σχεδόν όλες οι κατηγορίες των φυτοφαρμάκων υφίστανται υδρολυτική διάσπαση με χρόνους ημιζωής που ποικίλουν από μερικά λεπτά (εστέρες του φωσφορικού οξέος) μέχρι πολλούς μήνες (αμίδια) (Yaron et al., 1985).

Κεφάλαιο 2 – Φυτοφάρμακα στον αέρα

2.1 Εισαγωγή

Η ατμόσφαιρα, η οποία αποτελεί μέρος της υδρόσφαιρας, συμμετέχει στον υδρολογικό κύκλο ως ένας καθοριστικός παράγοντας μεταφοράς και κατανομής των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον. Τα φυτοφάρμακα αναγνωρίζονται ως εν δυνάμει αέριοι ρύποι για πρώτη φορά το 1946 (Daines, 1952). Δύο δεκαετίες αργότερα, το θέμα της παράσυσσης των φυτοφαρμάκων από τον αέρα μακριά από το σημείο εφαρμογής τους απασχολεί σοβαρά τους ερευνητές (Yates and Akesson, 1973) και αρχίζουν να πραγματοποιούνται πολλές μελέτες με σκοπό την κατανόηση των παραγόντων που την επηρεάζουν και την εύρεση τρόπων ελέγχου της.

Μέχρι τη δεκαετία του 1960, η ρύπανση της ατμόσφαιρας από τα φυτοφάρμακα θεωρείται ότι αποτελεί τοπικό πρόβλημα, το οποίο επηρεάζει τις περιοχές που βρίσκονται κοντά στο σημείο εφαρμογής τους. Η μεταφορά τους σε μεγάλες αποστάσεις εκτιμάται ότι είναι αμελητέα εξαιτίας των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων – χαμηλή πτητικότητα και διαλυτότητα στο νερό (τα κυριότερα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται την περίοδο αυτή είναι τα οργανοχλωριωμένα). Όμως, η ανίχνευση του DDT και άλλων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε ψάρια και θηλαστικά στην Αρκτική και στην Ανταρκτική, δηλαδή σε περιοχές που ουδέποτε είχαν χρησιμοποιηθεί φυτοφάρμακα, αλλάζει την άποψη των ερευνητών για τη μεταφορά και την τύχη των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον. Η παρουσία υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων θα μπορούσε σε ορισμένες περιπτώσεις να αποδοθεί στη μεταφορά τους με τα επιφανειακά νερά καθώς και στην κατανομή τους μέσω της τροφικής αλυσίδας, αλλά η μεταφορά τους μέσω της ατμόσφαιρας θεωρείται ο κύριος τρόπος ρύπανσης πολλών απομακρυσμένων περιοχών. Στις ημέρες μας η ατμόσφαιρα θεωρείται ως η κύρια οδός μέσω της οποίας φυτοφάρμακα και ανόργανες ουσίες μεταφέρονται και αποτίθενται σε απομακρυσμένες περιοχές από το σημείο εφαρμογής τους (Majewski and Capel, 1995).

2.2 Μεταφορά και κατανομή των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα

Τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται στη γεωργία εφαρμόζονται είτε στο χώμα ή απευθείας στα καλλιεργούμενα φυτά. Η εφαρμογή τους πραγματοποιείται με διάφορες τεχνικές, η επιλογή των οποίων εξαρτάται από τη μορφή του σκευάσματος (γαλακτωματοποιησιμο αιώρημα, βρέξιμη σκόνη ή κόκκοι) και από το είδος των παρασίτων,

τα οποία πρέπει να καταπολεμηθούν. Τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται ως καπνογόνα (fumigant) εγχέονται μέσα στο έδαφος, λόγω της μεγάλης τους πτητικότητας, ενώ τα γαλακτωματοποιήσιμα αιωρήματα αραιώνονται με νερό και στη συνέχεια ψεκάζονται τα φυτά ή το χώμα. Οι βρέξιμες σκόνες και οι κόκκοι απλώνονται στην επιφάνεια του εδάφους και στη συνέχεια αναμιγνύονται με αυτό (Van den Berg et al., 1999). Κατά την εφαρμογή τους, ένα μέρος των φυτοφαρμάκων διαφεύγει στην ατμόσφαιρα. Οι απώλειες αυτές εκφράζονται ως το κλάσμα της εφαρμοζόμενης ποσότητας, η οποία δε φτάνει στο στόχο (φυτά ή χώμα).

Οι κυριότερες διεργασίες που επηρεάζουν τη μεταφορά και την κατανομή των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα είναι οι εξής:

- α. Παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα κατά την εφαρμογή τους
- β. Εξάτμιση των φυτοφαρμάκων από το έδαφος και τα φύλλα των φυτών
- γ. Υγρή ή Ξηρή εναπόθεση (Wet/Dry deposition)

Στα κεφάλαια που ακολουθούν αναλύονται η κάθε μια από τις παραπάνω διεργασίες καθώς και οι παράγοντες που τις επηρεάζουν.

2.2.1 Παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα

Η μεταφορά των φυτοφαρμάκων με τον αέρα μπορεί να συμβεί με δύο τρόπους:

- α. Με την παράσυρση των σχηματιζόμενων σταγονιδίων του αερολύματος που δημιουργείται κατά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων με ψεκασμό
- β. Με τη μεταφορά σωματιδίων χώματος ή σκόνης, τα οποία δημιουργούνται από τη διάβρωση των επιφανειακών στρωμάτων του εδάφους από τον αέρα και στα οποία βρίσκονται προσροφημένα τα φυτοφάρμακα.

Η πρώτη περίπτωση είναι και η πιο σημαντική γιατί ευθύνεται για το 20 - 50 % των συνολικών απωλειών που παρατηρούνται κατά τον ψεκασμό (Gil et al., 2007) με αποτέλεσμα να απαιτείται η εφαρμογή μεγαλύτερων ποσοτήτων των φυτοφαρμάκων. Οι κυριότεροι παράγοντες, που επηρεάζουν τη συγκεκριμένη διεργασία, είναι οι ακόλουθοι:

- i. *Μέγεθος σταγονιδίων.* Το μέγεθος των παραγόμενων σταγονιδίων κατά τη διάρκεια του ψεκασμού αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα από τον οποίο εξαρτάται η παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα. Κατά τον ψεκασμό, η διάμετρος των παραγόμενων σταγονιδίων του αερολύματος κυμαίνεται από 0,1 έως 1000 μm . Τα σταγονίδια με διάμετρο

μικρότερη από 10 μm ενδέχεται να μεταφερθούν αρκετά χιλιόμετρα πριν εναποτεθούν, ακόμα και όταν οι άνεμοι που επικρατούν έχουν χαμηλή ταχύτητα (Plimmer, 1990). Αντίθετα, έχει βρεθεί, ότι μόνο το 1 % των σταγονιδίων με διάμετρο μεγαλύτερη από 150 μm μπορεί να παρασυρθεί και μάλιστα σε μικρή απόσταση (20 m) από το σημείο εφαρμογής, όταν η ταχύτητα των ανέμων είναι 5 m/s (Huskes and Levsen, 1997). Με βάση αυτές τις διαπιστώσεις και προκειμένου να περιοριστεί η παράσυρση των φυτοφαρμάκων, τα ακροφύσια των σημερινών συστημάτων ψεκασμού κατασκευάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε τα παραγόμενα σταγονίδια να είναι μεγάλης διαμέτρου, μεγαλύτερης από 150 μm . Ένας άλλος τρόπος αύξησης του μεγέθους των σταγονιδίων είναι η χρήση βοηθητικών ουσιών, οι οποίες προστιθέμενες στο διάλυμα του φυτοφαρμάκου, αυξάνουν το ιξώδες του με αποτέλεσμα τη δημιουργία σταγονιδίων μεγάλης διαμέτρου. Υπολογίζεται ότι, με τον τρόπο αυτό, η μείωση της παράσυρσης των φυτοφαρμάκων από τον αέρα κυμαίνεται από 50 έως 80 % (Hofman and Solseng, 2001, Carlsen et al., 2006a, Stainer et al., 2006). Εντούτοις από τη βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι σταγονίδια διαμέτρου μικρότερης από 50 μm είναι αποτελεσματικότερα στην καταπολέμηση των παρασίτων στις καλλιέργειες (Plimmer, 1990). Στην πράξη, το πρόβλημα των μεγάλων απωλειών των φυτοφαρμάκων λόγω παράσυρσης, γεγονός που επιδρά τόσο στη ρύπανση του περιβάλλοντος όσο και στην αποτελεσματικότητα των φυτοφαρμάκων, αντιμετωπίζεται με τη χρήση μηχανημάτων ψεκασμού που παράγουν σταγονίδια διαμέτρου μεταξύ 200 και 300 μm και τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται σε υψηλότερες δοσολογίες για την κάλυψη μεγαλύτερης επιφάνειας του φυτού (Majewski and Capel, 1995). Στον πίνακα 2.1 φαίνεται η επίδραση του μεγέθους των σταγονιδίων στην απόσταση που μπορούν να διανύσουν πριν εναποτεθούν (Dexter, 1993).

Πίνακας 2.1: Επίδραση του μεγέθους των σταγονιδίων στην απόσταση που μπορούν να διανύσουν πριν κατακαθίσουν.

Διάμετρος σταγόνας (μm)	Χρόνος που απαιτείται για να μετατοπιστεί η σταγόνα κατακόρυφα κατά 3 m (Ταχύτητα ανέμου: 0 m/s)	Απόσταση (m) που διανύει η σταγόνα καθώς μετατοπίζεται κατακόρυφα κατά 3 m (Ταχύτητα ανέμου: 1,3 m/s)
5	66 min	4820
20	4,2 min	335
100	10 sec	13
240	6 sec	9
400	2 sec	3
1000	1 sec	1

ii. *Κλιματολογικές συνθήκες*. Οι κλιματολογικές συνθήκες, όπως θερμοκρασία, ταχύτητα και διεύθυνση του ανέμου, που επικρατούν στην περιοχή κατά τη διάρκεια της εφαρμογής του φυτοφαρμάκου, επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα. Η θερμοκρασία του αέρα παίζει σημαντικό ρόλο στο μέγεθος των παραγομένων σταγονιδίων και, όπως αναφέρεται προηγουμένως, το μέγεθος είναι ο καθοριστικός παράγοντας από τον οποίο εξαρτάται η παράσυρση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα. Αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων λόγω της εξάτμισης του νερού που αυτά περιέχουν με συνέπεια την παράσυρσή τους σε μεγαλύτερες αποστάσεις. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το φυτοφάρμακο, που περιέχεται στα σταγονίδια, κατά τη σταδιακή εξάτμιση του νερού, συγκεντρώνεται σιγά-σιγά στο κέντρο των σταγονιδίων και, μετά την πλήρη απομάκρυνση του νερού, δημιουργούνται αιωρούμενα σωματίδια, που αποτελούνται από μόρια του φυτοφαρμάκου (Holterman et al., 1997). Ένας τρόπος μείωσης της επίδρασης της θερμοκρασίας είναι η προσθήκη στο μίγμα του φυτοφαρμάκου μη πτητικών ή άλλων βοηθητικών ουσιών, οι οποίες ελαττώνουν το ρυθμό εξάτμισης του νερού και επομένως επηρεάζουν το μέγεθος των σταγονιδίων και κατά συνέπεια την τροχιά και την απόσταση που αυτά διανύουν (Hall et al., 1994). Στον πίνακα 2.2 φαίνεται ο χρόνος που απαιτείται για την εξάτμιση του νερού από σταγονίδια διαμέτρου από 20 έως 200 μm καθώς επίσης και η αντίστοιχη διάμετρος των σωματιδίων που προκύπτουν μετά την εξάτμιση του νερού (Hofman and Solseng, 2001).

Επίσης, η μεταβολή της θερμοκρασίας επηρεάζει και την ατμοσφαιρική σταθερότητα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία στροβιλισμών ή θερμοκρασιακής αναστροφής. Θερμοκρασιακή αναστροφή συμβαίνει στην περίπτωση που επικρατεί άπνοια ή πολύ ήπιοι άνεμοι και η θερμοκρασία του αέρα κοντά στο έδαφος είναι χαμηλή, αυξάνεται με το ύψος μέχρι ενός σημείου και στη συνέχεια μειώνεται ξανά. Αυτές οι συνθήκες έχουν ως αποτέλεσμα τα σταγονίδια του φυτοφαρμάκου να παραμένουν αιωρούμενα στην ατμόσφαιρα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και να κινούνται με πολύ μικρή ταχύτητα. Όπως γίνεται κατανοητό, η παράσυρση των φυτοφαρμάκων με τον αέρα προς μία κατοικημένη περιοχή σε συνδυασμό με τη δημιουργία θερμοκρασιακής αναστροφής ενέχει μεγάλο κίνδυνο για τον πληθυσμό εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσής τους στην ατμόσφαιρα (Majewski and Capel, 1995, Australian Government, 2004).

Η ταχύτητα και διεύθυνση του ανέμου είναι παράμετροι, οι οποίες πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη κατά τον ψεκασμό των φυτοφαρμάκων. Γενικά, αντενδεικνύεται ο ψεκασμός όταν επικρατούν ισχυροί άνεμοι, διότι αφενός δεν καταλήγει το φυτοφάρμακο στο στόχο, αφετέρου κινδυνεύουν άμεσα οι ευρισκόμενοι στην ευρύτερη περιοχή. Η κατεύθυνση του αέρα θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και να αποφεύγεται ο ψεκασμός όταν ο αέρας κατευθύνεται προς κατοικημένες περιοχές, διαφορετικές καλλιέργειες, λίμνες και ποτάμια. Σε

ορισμένες περιπτώσεις ακόμα και όταν επικρατούν ήπιοι άνεμοι, οι απώλειες των φυτοφαρμάκων είναι μεγάλες. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι για τα φυτοφάρμακα alachlor και atrazine μετρούνται απώλειες 38 και 46 %, αντίστοιχα, όταν κατά την εφαρμογή τους η μέση ταχύτητα του ανέμου που επικρατεί στην περιοχή κυμαίνεται από 2,5 έως 3,0 m/s (Ravier et al., 2005).

Πίνακας 2.2: Χρόνος που απαιτείται για την εξάτμιση του νερού από σταγονίδια διαμέτρου 20 έως 200 μm και η διάμετρος των σωματιδίων που προκύπτουν μετά την εξάτμιση του νερού.

Συνθήκες: Θερμοκρασία = 32 °C, Σχετική υγρασία = 36 %, Συγκέντρωση διαλύματος φυτοφαρμάκου = 3,75 % w/v

Διάμετρος σταγόνας (μm)	Διάμετρος σωματιδίου μετά την εξάτμιση του νερού (μm)	Χρόνος που απαιτείται για την εξάτμιση (sec)
20	7	0,3
50	17	1,8
100	33	7,0
150	50	16,0
200	67	29,0

iii. *Σταθερότητα φυτοφαρμάκων στον αέρα.* Στην ατμόσφαιρα, η πιο σημαντική διεργασία που συμβαίνει από χημικής πλευράς και συμβάλει στην αποδόμηση των φυτοφαρμάκων, είναι η φωτοδιάσπαση. Φυτοφάρμακα, τα οποία είναι ευπαθή σε φωτοχημικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα το trifluralin, έχουν πολύ μικρούς χρόνους ημιζωής στην ατμόσφαιρα, οι οποίοι κυμαίνονται από μερικά λεπτά μέχρι μερικές ώρες. Αποτέλεσμα αυτού είναι οι συγκεκριμένες ουσίες να μεταφέρονται σε μικρές αποστάσεις από το σημείο εφαρμογής τους. Αντίθετα, ουσίες, οι οποίες είναι ανθεκτικές στη φωτοδιάσπαση, όπως για παράδειγμα τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα, ανιχνεύονται σε μεγάλες αποστάσεις από το σημείο εφαρμογής τους. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί το DDT, του οποίου ο χρόνος ημιζωής στην ατμόσφαιρα κυμαίνεται από 1 έως 7 ημέρες (Foreman et al., 2000). Για το φυτοφάρμακο terbutylazine ο χρόνος ημιζωής του στην ατμόσφαιρα υπολογίζεται ότι είναι περίπου μία ημέρα. Σε μελέτη αναφέρεται ότι το terbutylazine μπορεί να μεταφερθεί σε απόσταση από

250 έως 500 km, πριν την πλήρη διάσπασή του, όταν οι άνεμοι που επικρατούν έχουν ταχύτητες από 3 έως 5 m/s (Huskes and Levsen, 1997).

Ένας διαφορετικός τρόπος εισαγωγής των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα λαμβάνει χώρα, όταν ο αέρας παρασύρει σωματίδια χώματος, στα οποία βρίσκονται προσροφημένα φυτοφάρμακα. Η συγκεκριμένη διεργασία, γενικά, θεωρείται ελάσσονος σημασίας σε σχέση με την παράσυρση των σταγονιδίων του αερολύματος που σχηματίζεται κατά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων και την εξάτμιση. Οι απώλειες που παρατηρούνται στην περίπτωση αυτή είναι πολύ μικρές και αποτελούν το 1 έως 3 % της συνολικά εφαρμοζόμενης ποσότητας του φυτοφαρμάκου (Glottfelty et al., 1989, Cessna et al., 1996). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διάβρωση του εδάφους είναι η οριζόντια κίνηση του ανέμου, η θερμοκρασία, ο τύπος του εδάφους και το είδος της καλλιέργειας (Majewski and Capel, 1995). Μεγάλα σωματίδια χώματος με διάμετρο, που κυμαίνεται από 500 έως 1000 μm , τείνουν να μετακινούνται στην επιφάνεια του εδάφους διανύοντας μεγάλες αποστάσεις, δεν περνούν στην ατμόσφαιρα γιατί η μετακίνησή τους καθ' ύψος είναι σχετικά μικρή, σπανίως ξεπερνά το ένα μέτρο, αλλά μπορεί να διασπαστούν σε μικρότερα σωματίδια. Αντίθετα, σωματίδια χώματος διαμέτρου από 100 έως 500 μm εισάγονται στην ατμόσφαιρα παρασυρόμενα από τον άνεμο με αναπήδηση, διαδικασία που είναι πολύ σημαντική γιατί έτσι παρασύρονται μεγάλες ποσότητες εδάφους, ιδιαίτερα όταν οι επικρατούντες άνεμοι είναι ισχυροί. (Nicholson, 1988).

Γενικά, στην ατμόσφαιρα σχηματίζονται σωματίδια των οποίων η διάμετρος κυμαίνεται από 0,002 έως 10 μm . Τα ενδιάμεσης διαμέτρου σωματίδια, δηλαδή αυτά που έχουν διάμετρο από 0,08 έως 1-2 μm , σχηματίζονται από τη συμπύκνωση ουσιών που έχουν χαμηλή τάση ατμών ή από τη συσσωμάτωση μικρότερων σωματιδίων, δεν επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τη βαρύτητα και απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα με αργούς ρυθμούς μέσω της διεργασίας της ξηρής ή υγρής εναπόθεσης. Έτσι, τα σωματίδια αυτά είναι δυνατό να παραμένουν στην ατμόσφαιρα για μεγάλο χρονικό διάστημα και να παρασύρονται σε μεγάλες αποστάσεις (Bidleman, 1988). Αιωρούμενα σωματίδια διαμέτρου μικρότερης από 2 μm δημιουργούνται από εδάφη, τα οποία είναι πλούσια σε άργιλο και συσχετίζονται με παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος (Schwartz and Neas, 2000, Cessna et al., 2006).

2.2.2 Εξάτμιση των φυτοφαρμάκων

Οι απώλειες των φυτοφαρμάκων, που οφείλονται στην εξάτμιση, είναι συγκρίσιμες με εκείνες που παρατηρούνται κατά τη χημική και μικροβιακή διάσπασή τους. Η εξάτμιση των φυτοφαρμάκων από τις επιφάνειες, στις οποίες εφαρμόζονται, διαρκεί για πολλές ημέρες ή ακόμη και εβδομάδες μετά την εφαρμογή τους, ιδιαίτερα των ανθεκτικών στη διάσπαση

φυτοφαρμάκων, όπως είναι για παράδειγμα τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα. Αποτέλεσμα της εξάτμισης είναι να εισάγονται στην ατμόσφαιρα μεγάλες ποσότητες φυτοφαρμάκων (Bedos et al., 2002a).

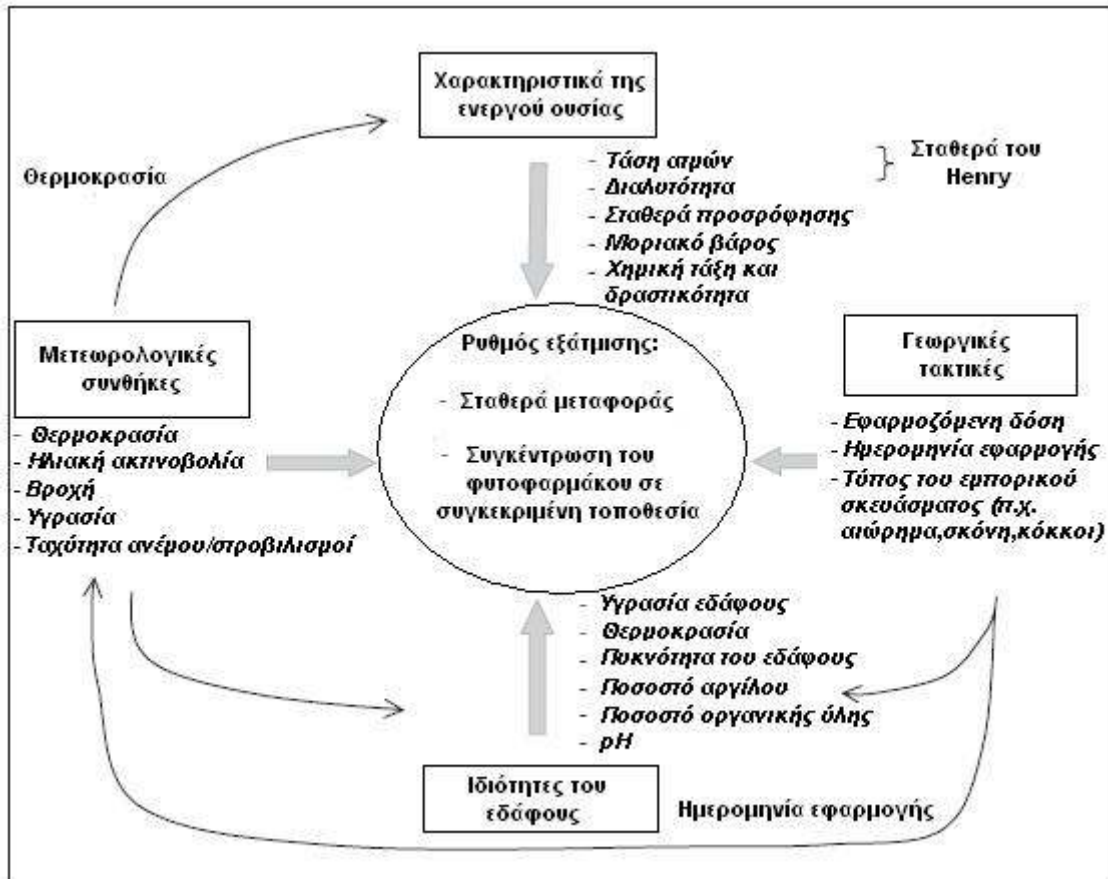
Επειδή η τάση ατμών των φυτοφαρμάκων είναι γενικά χαμηλή, μικρότερη από 10 Pa, τα φυτοφάρμακα θεωρούνται ενώσεις χαμηλής πτητικότητας. Βέβαια υπάρχουν και εξαιρέσεις, όπως για παράδειγμα τα καπνογόνα φυτοφάρμακα βρωμιούχο μεθύλιο, chloropicrin και methyl isothiocyanate, τα οποία έχουν μεγάλη τάση ατμών (190.000, 3.170 και 2.130 Pa, αντίστοιχα).

Το θέμα της εξάτμισης των φυτοφαρμάκων απασχολεί ιδιαίτερα τους ερευνητές και η παγκόσμια βιβλιογραφία στο θέμα είναι εκτενής (Müller et al., 1997, Rüdel, 1997, Bedos et al., 2002b, Briand et al., 2002, Wu et al., 2002, Wolters et al., 2003, Carlsen et al., 2006, Schlotz and Bidleman, 2006, Leistra and Van de Berg, 2007, Zhang and Wang, 2007). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι απώλειες που παρατηρούνται μέσω της συγκεκριμένης διεργασίας κυμαίνονται από 0,02 % στην περίπτωση του chlorothalonil σε χρονικό διάστημα 9 ημερών (Wu et al., 2002) και φτάνουν μέχρι το 90 % στην περίπτωση του trifluralin σε χρονικό διάστημα 7 ημερών (Majewski and Capel, 1995).

Οι κυριότεροι παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν την εξάτμιση των φυτοφαρμάκων από το έδαφος, είναι η τάση ατμών και η διαλυτότητα του φυτοφαρμάκου στο νερό (δηλαδή η σταθερά του Henry), το ποσοστό της περιεχόμενης στο έδαφος οργανικής ύλης, η υγρασία του εδάφους και του αέρα, η θερμοκρασία, το pH στην περίπτωση ουσιών που ιονίζονται και τέλος ο τρόπος με τον οποίο γίνεται η εφαρμογή του φυτοφαρμάκου, δηλαδή εάν το φυτοφάρμακο ψεκάζεται στην επιφάνεια του εδάφους ή ενσωματώνεται μέσα σε αυτό. Στο σχήμα 2.1 απεικονίζονται οι παράμετροι, οι οποίες καθορίζουν το ρυθμό εξάτμισης των φυτοφαρμάκων από το έδαφος (Bedos et al., 2002a).

Ο σημαντικότερος παράγοντας που επιδρά στην εξάτμιση των φυτοφαρμάκων είναι η θερμοκρασία, γιατί επηρεάζει άμεσα την τάση ατμών του φυτοφαρμάκου και κατά συνέπεια τη σταθερά του Henry. Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση της πτητικότητας του φυτοφαρμάκου, γεγονός που οδηγεί σε υψηλούς ρυθμούς εξάτμισης. Υψηλότερος ρυθμός εξάτμισης λαμβάνει χώρα μόλις αρχίζει η άνοδος της θερμοκρασίας, ο οποίος σταδιακά μειώνεται όσο η θερμοκρασία αυξάνεται. Η μείωση του ρυθμού εξάτμισης των φυτοφαρμάκων με την αύξηση της θερμοκρασίας οφείλεται στο γεγονός ότι αυξανόμενης της θερμοκρασίας η επιφάνεια του εδάφους ξηραίνεται. Από δημοσιευμένες μελέτες προκύπτει ότι η υγρασία του εδάφους διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο ρυθμό με τον οποίο τα φυτοφάρμακα εξατμίζονται από αυτό και επίσης παρατηρείται το φαινόμενο ότι καθώς μειώνεται η υγρασία του εδάφους μειώνεται και ο ρυθμός εξάτμισης των φυτοφαρμάκων (Glottelty et al., 1989, Majewski and Capel, 1995, Bedos et al., 2002a). Η εξήγηση που

δίνεται είναι ότι καθώς απομακρύνεται το νερό, δημιουργούνται περισσότερες ελεύθερες θέσεις στη δομή του εδάφους, οι οποίες προηγουμένως περιείχαν μόρια νερού και στη συνέχεια καταλαμβάνονται από μόρια του φυτοφαρμάκου, τα οποία προσροφώνται ισχυρά.



Σχήμα 2.1: Παράγοντες που επιδρούν στο ρυθμό εξάτμισης των φυτοφαρμάκων από το έδαφος. Τα βέλη αναπαριστούν τις διαφορετικές αλληλεπιδράσεις. Επειδή η τάση ατμών, η διαλυτότητα και η σταθερά προσρόφησης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, το πλαίσιο με τις “μετεωρολογικές συνθήκες” συνδέεται με το πλαίσιο “χαρακτηριστικά της ενεργού ουσίας”.

Η περιεχόμενη στο έδαφος οργανική ύλη επηρεάζει την εξάτμιση των φυτοφαρμάκων επειδή η προσρόφηση των μορίων του φυτοφαρμάκου σε αυτήν είναι ισχυρή (Bedos et al., 2002a). Σε αυτή την περίπτωση, η έκταση της προσρόφησης των φυτοφαρμάκων στο έδαφος εκτιμάται με το συντελεστή κατανομής (K_d) και το συντελεστή προσρόφησης οργανικού άνθρακα (K_{oc}). Ως συντελεστής κατανομής K_d ορίζεται ο λόγος της συγκέντρωσης του φυτοφαρμάκου στα σωματίδια του εδάφους προς τη συγκέντρωσή του στο νερό που περιέχεται στο έδαφος ενώ ο συντελεστής προσρόφησης οργανικού άνθρακα K_{oc} ορίζεται ως ο λόγος του συντελεστή κατανομής K_d προς το ποσοστό της περιεχόμενης οργανικής ύλης

στο έδαφος. Κατά συνέπεια, όσο μεγαλύτερες είναι οι τιμές K_d και K_{oc} για ένα φυτοφάρμακο, τόσο ισχυρότερα αυτό προσροφάται στο έδαφος και επομένως τόσο ο ρυθμός εξάτμισής του είναι μικρότερος.

Η υγρασία του αέρα ευνοεί την εξάτμιση των φυτοφαρμάκων από το έδαφος. Ο Grass και οι συνεργάτες του παρατηρούν ότι σε ποσοστά σχετικής υγρασίας 31, 49 και 78 %, σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, το ποσοστό του trifluralin που εξατμίζεται κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας είναι 64, 66 και 96 %, αντίστοιχα (Grass et al., 1994). Η επίδραση της υγρασίας του αέρα στην εξάτμιση των φυτοφαρμάκων είναι μια περίπλοκη διεργασία, γιατί δεν εξαρτάται μόνο από την απόλυτη τιμή της σχετικής υγρασίας του αέρα, αλλά και από τη σχετική υγρασία του εδάφους. Εάν κατά τη διάρκεια της εφαρμογής ενός φυτοφαρμάκου σε μια καλλιέργεια, η σχετική υγρασία του αέρα είναι χαμηλή προκαλείται γρήγορη ξήρανση του εδάφους, με αποτέλεσμα να ευνοείται η προσρόφηση των μορίων του φυτοφαρμάκου στο έδαφος. Αντίθετα, αν επικρατεί υψηλή σχετική υγρασία στον αέρα, αυτή συμβάλλει στην εκρόφηση και στην εξάτμιση των μορίων του φυτοφαρμάκου από το έδαφος.

Ένας άλλος παράγοντας, που επιδρά στην εξάτμιση των φυτοφαρμάκων και την είσοδό τους στην ατμόσφαιρα, είναι ο τρόπος εφαρμογής τους. Όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 1, τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται κύρια είτε με ψεκασμό πάνω στην επιφάνεια του εδάφους και των φυτών είτε με ενσωμάτωσή τους στο έδαφος. Στην περίπτωση, που τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται στην επιφάνεια του εδάφους, οι παρατηρούμενες απώλειες αρχικά είναι υψηλές αλλά μειώνονται στη συνέχεια γιατί μειώνεται και η ποσότητα του φυτοφαρμάκου που υπάρχει διαθέσιμη στην επιφάνεια του εδάφους. Όταν χρησιμοποιούνται καπνογόνα φυτοφάρμακα ή φυτοφάρμακα με υψηλή τάση ατμών μετά την εφαρμογή τους ακολουθεί κάλυψη του εδάφους με μεμβράνες από πλαστικό για τη συγκράτηση των δραστικών συστατικών τους στο έδαφος. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι οι απώλειες του βρωμιούχου μεθυλίου, όταν το έδαφος δεν καλύπτεται με πλαστικό, αγγίζουν το 89 % σε χρονικό διάστημα πέντε ημερών. Ο τρόπος εφαρμογής των καπνογόνων ή των φυτοφαρμάκων με υψηλή πτητικότητα πραγματοποιείται με έγχυση μέσα στη μάζα του εδάφους, σε βάθος που κυμαίνεται από 25 έως 70 cm (Zhang and Wang, 2007). Η ενσωμάτωση των φυτοφαρμάκων στο έδαφος μειώνει τις απώλειές τους τόσο κατά τη διάρκεια όσο και αμέσως μετά την εφαρμογή τους. Όμως, οι απώλειες λόγω εξάτμισης των ενσωματωμένων στο έδαφος φυτοφαρμάκων, μακροπρόθεσμα, είναι παρόμοιες με αυτές των υπόλοιπων φυτοφαρμάκων, τα οποία εφαρμόζονται επιφανειακά. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο ρυθμός εξάτμισης των ενσωματωμένων στο έδαφος φυτοφαρμάκων με την πάροδο του χρόνου παραμένει σταθερός σε αντίθεση με τα επιφανειακά εφαρμοζόμενα φυτοφάρμακα, τα οποία ενώ στην αρχή παρουσιάζουν υψηλό ρυθμό εξάτμισης, μετά μειώνεται λόγω της μείωσης της

δραστικής ουσίας του φυτοφαρμάκου, που βρίσκεται στην επιφάνεια του εδάφους (Majewski and Capel, 1995).

Κατά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων ένα μέρος τους εναποτίθεται στα φύλλα των φυτών. Οι κύριοι παράγοντες από τους οποίους επηρεάζεται η εξάτμιση των φυτοφαρμάκων από τα φυτά είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων, ο χρόνος παραμονής τους στην επιφάνεια των φύλλων και οι ατμοσφαιρικές συνθήκες (ταχύτητα ανέμου, θερμοκρασία και υγρασία). Ο χρόνος παραμονής των φυτοφαρμάκων στην επιφάνεια των φύλλων των φυτών εξαρτάται από διάφορες διεργασίες, οι κυριότερες από τις οποίες είναι η φωτοδιάσπαση (Walia et al., 1988, Fukushima and Kataqi, 2006), η έκπλυση των φυτοφαρμάκων από την επιφάνεια των φύλλων με τη βροχή ή την άρδευση (Gaston et al., 2003, Hunsche et al., 2007) και η προσρόφησή τους από το φύλλωμα (Lytle and Lytle, 2002, Wang and Liu, 2007). Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η τύχη των φυτοφαρμάκων στην επιφάνεια των φύλλων των φυτών δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως. Οι κυριότεροι απ' αυτούς θεωρούνται οι φυσικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων, το είδος, η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του φύλλου, όπως ύπαρξη ή απουσία κηρώδους στρώματος (waxy layer), το ύψος των φυτών καθώς επίσης και η πυκνότητά τους στην καλλιέργεια (Stevens and Baker, 1987, Stevens et al., 1988, Wang and Liu, 2007). Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα συσχέτισης της επίδρασης του εμπορικού τύπου του σκευάσματος του φυτοφαρμάκου στο κηρώδες στρώμα της επιφάνειας των φύλλων, το οποίο μπορεί να καταστραφεί μερικώς με τη χρήση συγκεκριμένων τύπων εμπορικών σκευασμάτων. Το κηρώδες στρώμα βρίσκεται στην επιφάνεια των επιδερμικών κυττάρων των φύλλων και επιτρέπει την είσοδο του ηλιακού φωτός ενώ ταυτόχρονα μειώνει την εξάτμιση του νερού από το φυτό. Σε φυτά που αναπτύσσονται σε θερμά κλίματα, το κηρώδες στρώμα είναι παχύτερο.

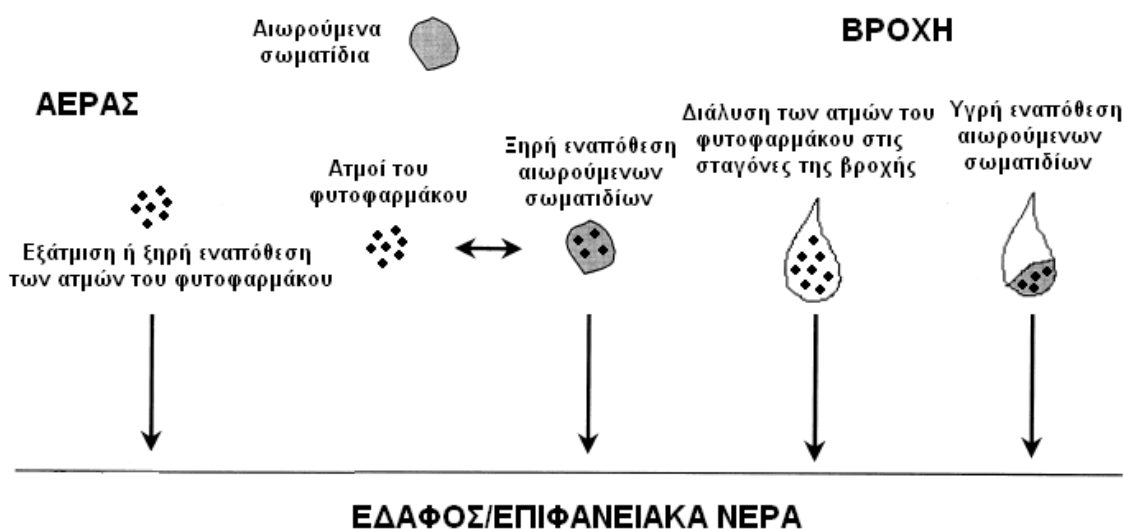
Ένα μεγάλο ποσοστό του φυτοφαρμάκου, που αποτίθεται στην επιφάνεια των φύλλων, ενδέχεται να προσροφηθεί στο κηρώδες στρώμα ή, στην περίπτωση απουσίας κηρώδους στρώματος, να προσροφηθεί από διάφορες οργανικές ουσίες που βρίσκονται στην επιφάνεια των φύλλων. Η εξάτμιση των φυτοφαρμάκων μπορεί να επηρεαστεί από την αρχική κατανομή τους στην επιφάνεια των φύλλων. Αναλόγως με τον τύπο του εμπορικού σκευάσματος, που χρησιμοποιείται κατά τον ψεκασμό, το φυτοφάρμακο μπορεί να κατανεμηθεί σε όλη την επιφάνεια των φύλλων ή να συγκεντρωθεί σε έναν αριθμό θέσεων που αποτελούν μικρό ποσοστό της συνολικής επιφάνειας του φύλλου. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες για διάφορα φυτοφάρμακα, στις οποίες έχουν εκτιμηθεί οι απώλειες που οφείλονται στην εξάτμισή τους από την επιφάνεια των φύλλων των φυτών (Leistra et al., 2006, Jensen et al., 2007). Όπως φαίνεται από τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα, οι απώλειες των φυτοφαρμάκων από την επιφάνεια των φυτών λόγω εξάτμισης κυμαίνονται σε

ευρύτατα όρια και σε ορισμένες περιπτώσεις είναι ιδιαίτερα υψηλές. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι οι συνολικές απώλειες εκτιμώνται στο 7 % για το φυτοφάρμακο fenpropimorph ενώ αγγίζουν το 80 % για το φυτοφάρμακο prosulfocarb (Haith et al., 2002, Leistra et al., 2006, Jensen et al., 2007).

2.2.3 Ξηρή και Υγρή εναπόθεση

Μετά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων και την είσοδό τους στην ατμόσφαιρα, ένας παράγοντας, ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη μεταφορά και την κατανομή τους όσο και στην απομάκρυνσή τους από αυτή, είναι η μορφή με την οποία βρίσκονται στην ατμόσφαιρα. Συγκεκριμένα, τα φυτοφάρμακα στην ατμόσφαιρα μπορεί να υπάρχουν υπό μορφή ατμών ή αιωρουμένων σωματιδίων όπως επίσης προσροφημένα σε αιωρούμενα σωματίδια. Ο χρόνος παραμονής τους στην ατμόσφαιρα καθορίζεται από το πόσο γρήγορα τα φυτοφάρμακα απομακρύνονται από αυτή, διεργασία η οποία πραγματοποιείται με κατακράτηση ή με χημική διάσπαση (Barrie and Schemenauer, 1986).

Η απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα με κατακράτηση είτε αυτά βρίσκονται υπό μορφή ατμών είτε προσροφημένα σε αιωρούμενα σωματίδια, πραγματοποιείται με σχετικά παρόμοιες διεργασίες, οι οποίες όμως διαφέρουν ως προς την ταχύτητα με την οποία πραγματοποιούνται. Η κατακράτηση μπορεί να συμβεί είτε με κατακρήμνιση με τη βροχή, γνωστή ως υγρή εναπόθεση (wet deposition) είτε με την επίδραση της βαρύτητας, η οποία αναφέρεται ως ξηρή εναπόθεση (dry deposition). Ακόμα, τα φυτοφάρμακα απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα με την ομίχλη, το χιόνι και τη δροσιά, διαδικασία, η οποία, αν και ταξινομείται μεταξύ της ξηρής και της υγρής εναπόθεσης, μοιάζει περισσότερο με την ξηρή εναπόθεση (Majewski and Capel, 1995, Wania et al., 1998). Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από τον αέρα είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων, οι μετεωρολογικές συνθήκες και τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας εναπόθεσης. Στο σχήμα 2.2 παρουσιάζονται συνοπτικά οι διεργασίες απομάκρυνσης των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα (Cousins et al., 1999). Στη συνέχεια αναλύονται οι διεργασίες της ξηρής και υγρής εναπόθεσης.



Σχήμα 2.2: Μεταφορά των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα στο έδαφος και τα επιφανειακά νερά μέσω των διεργασιών ξηρής και υγρής εναπόθεσης.

2.2.3.1 Ξηρή εναπόθεση

Η διεργασία της ξηρής εναπόθεσης περιλαμβάνει την κατακρήμνιση αιωρούμενων σωματιδίων με την επίδραση της βαρύτητας και την εναπόθεσή τους σε διάφορες επιφάνειες, όπως για παράδειγμα στο έδαφος, στα φυτά και στα επιφανειακά νερά. Ο ρυθμός εναπόθεσης των αιωρούμενων σωματιδίων εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος, την επιφάνεια και τη μάζα τους. Τα μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια επηρεάζονται περισσότερο από την ταχύτητα του ανέμου και έχουν την τάση να καθιζάνουν γρηγορότερα σε σχέση με τα μικρότερα σωματίδια. Όμως, τα φυτοφάρμακα βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα αιωρούμενα σωματίδια μικρότερης διαμέτρου εξαιτίας της μεγαλύτερης επιφάνειάς τους σε σχέση με τον όγκο τους συγκρινόμενα με τα σωματίδια μεγαλύτερης διαμέτρου (Majewski and Capel, 1995).

Οι συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων στα αιωρούμενα σωματίδια σε ορισμένες περιπτώσεις είναι υψηλές και επηρεάζουν την υγεία των κατοίκων στις συγκεκριμένες περιοχές. Από σχετικές μελέτες σε κατοικημένες περιοχές κοντά στη θάλασσα της Αράλης, υπολογίζεται ότι η μηνιαία κατακάθιση αιωρούμενων σωματιδίων κυμαίνεται από 5 έως 168 kg/στρέμμα και ότι το 23 % αυτών αποτελούνται από αιωρούμενα σωματίδια διαμέτρου μικρότερης από 10 μm (PM10). Στα σωματίδια είναι προσροφημένο το οργανοφωσφορικό φυτοφάρμακο phosalone, η συγκέντρωση του οποίου κυμαίνεται από 1,8 έως 30 mg/kg αιωρούμενων σωματιδίων, ενώ σε μία περίπτωση αναφέρεται συγκέντρωση 126 mg/kg αιωρούμενων σωματιδίων (O' Hara et al., 2000). Στη συγκεκριμένη περιοχή, η κυριότερη

αιτία λοιμώξεων και θανάτων σε όλες τις ηλικίες οφείλεται κυρίως σε ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος, ενώ στα παιδιά το ποσοστό των αναπνευστικών λοιμώξεων φτάνει στο 50 % επί του συνόλου των ασθενειών (Ο' Hara et al., 2000).

Η διεργασία της ξηρής εναπόθεσης λαμβάνει χώρα και στην περίπτωση των φυτοφαρμάκων, που βρίσκονται στην ατμόσφαιρα υπό τη μορφή ατμών. Η συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων στην αέρια φάση εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία τόσο της επιφάνειας του εδάφους όσο και του αέρα. Αυτό το γεγονός έχει ως αποτέλεσμα αυξημένες συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκων στις θερμότερες περιοχές του πλανήτη σε σχέση με τις ψυχρότερες με αποτέλεσμα τη μεταφορά τους από τις θερμότερες προς τις ψυχρότερες περιοχές. Έτσι ανιχνεύονται φυτοφάρμακα σε μέρη στα οποία ουδέποτε χρησιμοποιούνται, όπως για παράδειγμα στην Αρκτική, στην Ανταρκτική (Unsworth et al., 1999) καθώς επίσης και σε βουνά μεγάλου υψομέτρου στην Ευρώπη, στον Καναδά και στη Βόρεια Αμερική (Daly and Wania, 2005, Daly et al., 2007). Ο τρόπος με τον οποίο πραγματοποιείται η κατακάθιση των ατμών των φυτοφαρμάκων στις ψυχρές περιοχές είναι ο εξής: όταν οι ατμοί των φυτοφαρμάκων φθάσουν από τις θερμότερες στις ψυχρότερες περιοχές, λόγω της χαμηλότερης θερμοκρασίας του αέρα, οι ατμοί συμπυκνώνονται σχηματίζοντας συσσωματώματα. Τα συσσωματώματα αυτά καθιζάνουν είτε με την επίδραση της βαρύτητας είτε δρουν ως πυρήνες κρυστάλλωσης της υγρασίας της ατμόσφαιρας με αποτέλεσμα τη δημιουργία χιονιού με τη μορφή του οποίου στη συνέχεια τα φυτοφάρμακα καθιζάνουν στην επιφάνεια του εδάφους (Simonich and Hites, 1995, Blais et al., 1998).

Η ξηρή εναπόθεση των φυτοφαρμάκων είναι η σημαντικότερη διεργασία, η οποία ευθύνεται για τη ρύπανση των επιφανειακών υδάτων με φυτοφάρμακα. Για μεγάλο αριθμό φυτοφαρμάκων, η ξηρή εναπόθεση επηρεάζεται κυρίως από τις ιδιαίτερες συνθήκες της ατμόσφαιρας και όχι από τις διεργασίες προσρόφησης ή διάχυσης μεταξύ της επιφάνειας του νερού και του αέρα. Αυτό συμβαίνει γιατί η διαλυτότητα των περισσότερων φυτοφαρμάκων στο νερό είναι μικρή. Έχει υπολογιστεί ότι η αντίσταση που συναντούν τα μόρια των φυτοφαρμάκων, κατά την έξοδό τους από την επιφάνεια του νερού προς τον αέρα είναι πολύ μικρή συγκρινόμενη με την αντίσταση που συναντούν κατά την είσοδό τους από τον αέρα προς το νερό (Van Pul et al., 1998). Όμως, η διεργασία της ξηρής εναπόθεσης για τα φυτοφάρμακα, που βρίσκονται στα επιφανειακά νερά, εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους στα νερά. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όταν η συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων στα νερά είναι υψηλή, η διεργασία αντιστρέφεται και παρατηρείται επανεκπομπή των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα (Van Pul et al., 1999).

2.2.3.2 Υγρή εναπόθεση

Εκτός της ξηρής εναπόθεσης, η απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα πραγματοποιείται και με τις σταγόνες της βροχής μέσω της διεργασίας που ονομάζεται υγρή εναπόθεση. Με τη συγκεκριμένη διεργασία απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα τόσο τα φυτοφάρμακα που βρίσκονται στην αέρια φάση όσο και τα φυτοφάρμακα που είναι προσροφημένα στα αιωρούμενα σωματίδια. Η υγρή εναπόθεση μπορεί να συμβεί με δύο διαφορετικές διεργασίες, οι οποίες σχετίζονται με τον τρόπο που πραγματοποιείται η κατακρήμνιση των φυτοφαρμάκων. Στην πρώτη διεργασία (rainout) τα φυτοφάρμακα εγκλωβίζονται στα σταγονίδια του νερού, τα οποία δημιουργούν τα σύννεφα και στη συνέχεια με τη μορφή βροχής κατακρημνίζονται στο έδαφος ή στους υδάτινους αποδέκτες. Στην δεύτερη διεργασία (wash out) τα φυτοφάρμακα συγκεντρώνονται κάτω από τα σύννεφα και με τη βροχή «εκπλύνονται» από την ατμόσφαιρα (Majewski and Capel, 1995).

Η συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων στις σταγόνες της βροχής εξαρτάται τόσο από την απόσταση που αυτές διανύουν, κατά την πτώση τους, όσο και από τη συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα. Ο Slinn και οι συνεργάτες του, σε σχετική μελέτη, υπολογίζουν ότι μια σταγόνα βροχής φτάνει σε κορεσμό με τους ατμούς του φυτοφαρμάκου που υπάρχουν στην ατμόσφαιρα, όταν διανύσει κατά την πτώση της απόσταση ίση με 10 m, θεωρώντας ότι η συγκέντρωση των ατμών του φυτοφαρμάκου είναι σταθερή σε όλη τη διάρκεια της διαδρομής της σταγόνας (Slinn et al., 1978).

Για τα αιωρούμενα σωματίδια μικρής διαμέτρου, η απομάκρυνσή τους με κατακρήμνιση είναι σημαντικότερη διεργασία συγκρινόμενη με την απομάκρυνσή τους μέσω της ξηρής εναπόθεσης, γιατί παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην ατμόσφαιρα σε σχέση με τα σωματίδια μεγαλύτερης διαμέτρου και διανύουν μεγάλες αποστάσεις.

Οι κύριοι παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν την απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα μέσω της διεργασίας της υγρής εναπόθεσης, είναι το μέγεθος των σύννεφων και των σταγονιδίων της βροχής, τα χαρακτηριστικά του ανέμου και η σταθερά Henry των φυτοφαρμάκων. Στην περίπτωση φυτοφαρμάκων που βρίσκονται στην αέρια φάση, αυτά ενδέχεται να συγκεντρωθούν στο σύννεφο ή να διαλυθούν στα σταγονίδια της βροχής, γεγονός που ελαττώνει το ρυθμό απευθείας «παγίδευσής» τους από την ατμόσφαιρα και μπορεί να οδηγήσει, ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους στην ατμόσφαιρα, στην επανεκπομπή τους από τα σταγονίδια της βροχής. Στην περίπτωση φυτοφαρμάκων που βρίσκονται προσροφημένα σε αιωρούμενα σωματίδια, αυτά παρασύρονται και απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα με τη βροχή (Van Pul et al., 1999).

Για τα επίπεδα των φυτοφαρμάκων στο νερό της βροχής υπάρχουν πολλές επιστημονικές μελέτες. Ενδεικτικά αναφέρεται η μελέτη του Coupe και των συνεργατών του, οι οποίοι

αναλύουν δείγματα βροχής για την παρουσία των φυτοφαρμάκων atrazine, chlorpyrifos, cyanazine, diazinon, methyl-parathion, molinate, propanil και trifluralin σε αγροτικές περιοχές, που βρίσκονται κοντά στον ποταμό Μισισσιπή. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων δείχνουν ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων είναι 0,83, 0,04, 0,32, 0,013, 22,9, 0,37, 1,8 και 0,024 µg/l, αντίστοιχα (Coupe et al., 2000). Σε ανάλογη ελληνική μελέτη, ο Charizopoulos και η Papadopoulou-Mourkidou, αναλύουν δείγματα βροχής που λαμβάνονται από τη λεκάνη του Αξιού ποταμού, στην οποία υπάρχουν καλλιεργούμενες εκτάσεις. Τα φυτοφάρμακα, τα οποία ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συχνότητα, είναι τα alachlor, lindane, parathion-methyl, atrazine, quintozone, metolachlor, prometryne και molinate με μέγιστες συγκεντρώσεις 2,2, 1,03, 1,65, 1,81, 2,8, 1,08, 2,9 και 6,82 µg/l, αντίστοιχα (Charizopoulos and Papadopoulou-Mourkidou, 1999).

2.2.4 Χημική διάσπαση

Η κύρια διεργασία χημικής διάσπασης των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα είναι η φωτοδιάσπαση. Στην ατμόσφαιρα και μέχρι ύψους 10 έως 15 km (τροπόσφαιρα), η έμμεση φωτόλυση είναι σημαντικότερη διεργασία διάσπασης των φυτοφαρμάκων σε σχέση με την άμεση φωτόλυση. Η έμμεση φωτόλυση περιγράφεται από τη γενική αντίδραση



Όπου M είναι το μόριο του φυτοφαρμάκου ενώ με X αναπαριστάται ένα αντιδρών μόριο ή μια ελεύθερη ρίζα, η οποία παράγεται είτε φωτοχημικά είτε από μια δευτερεύουσα αντίδραση στο σκοτάδι, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με το $\text{NO}_3^\cdot$, το οποίο είναι δραστικό μόνο κατά τη διάρκεια της νύχτας επειδή φωτοδιασπάται πολύ γρήγορα. Τα σημαντικότερα αντιδρώντα είναι οι ρίζες υδροξυλίου, τα μόρια του όζοντος και ρίζες $\text{NO}_3^\cdot$. Επίσης και άλλα αντιδρώντα είδη όπως για παράδειγμα ρίζες OOH , Cl , O και μόρια N_2O_5 συμβάλουν, αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό, στη διαδικασία της φωτοχημικής διάσπασης των φυτοφαρμάκων (Klöpffer, 1992).

Για τα φυτοφάρμακα τα οποία δεν υδρολύονται εύκολα η φωτοδιάσπαση είναι η κυριότερη διεργασία διάσπασής τους στην ατμόσφαιρα. Ενώ η υδρόλυση μπορεί να μελετηθεί εύκολα υπό εργαστηριακές συνθήκες, η φωτοδιάσπαση στον αέρα είναι μια σύνθετη διεργασία η οποία είναι δύσκολο να μελετηθεί στο εργαστήριο (Unsworth et al., 1999).

Η φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα μπορεί να συμβεί είτε με άμεση είτε με έμμεση φωτόλυση (ECETOC, 1981, Bossan et al., 1995). Ο ρυθμός διάσπασης των φυτοφαρμάκων στην περίπτωση της άμεσης φωτόλυσης, κατά την οποία τα μόρια του

φυτοφαρμάκου διασπώνται με την απευθείας απορρόφηση φωτός, εξαρτάται από την ένταση του φωτός, τη διάρκεια της ηλιοφάνειας και την κατανομή του φάσματος του φωτός – κυρίως εξαρτάται από την υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος μικρότερου από 310 nm (Van den Berg et al., 1999). Ο ρυθμός και ο μηχανισμός της διάσπασης των φυτοφαρμάκων με την άμεση φωτόλυση εξαρτάται από τη μορφή των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα, τα οποία μπορεί να βρίσκονται με τη μορφή μορίων, προσροφημένα σε αιωρούμενα σωματίδια ή με τη μορφή ομογενούς αερολύματος. Οι παράγοντες που αναφέρονται προηγουμένως συμβάλουν κατά κύριο λόγο στην απομάκρυνση των φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα συγκρινόμενοι με την ξηρή εναπόθεση, την προσρόφηση, τη διάλυσή τους στο νερό και στην κατακρήμνισή τους με το νερό της βροχής (Unsworth et al., 1999).

Στην έμμεση φωτόλυση, η αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται κατά την αντίδρασή τους με ρίζες οι οποίες παράγονται φωτοχημικά. Στις περισσότερες περιπτώσεις η έμμεση φωτόλυση λαμβάνει χώρα με την αντίδρασή τους με ρίζες υδροξυλίου οι οποίες αντιδρούν ταχέως με την πλειοψηφία των φυτοφαρμάκων (Atkinson, 1986). Η αντίδραση με μόρια όζοντος είναι δευτερεύουσας σημασίας και μόνο στην περίπτωση μικρού μοριακού βάρους ακόρεστων αλειφατικών φυτοφαρμάκων είναι πιο γρήγορη συγκρινόμενη με την αντίδρασή τους με τις ρίζες υδροξυλίου (Unsworth et al., 1999). Η έμμεση φωτόλυση αποτελεί την κύρια διεργασία διάσπασης των φυτοφαρμάκων στην ατμόσφαιρα, κυρίως αυτών που δεν απορροφούν το ηλιακό φως και κατά συνέπεια δεν μπορούν να διασπαστούν με την άμεση φωτόλυση (Crosby, 1969). Κατά την έμμεση φωτόλυση, οι ρίζες υδροξυλίου αντιδρούν με άτομα υδρογόνου του μορίου του φυτοφαρμάκου, προστίθενται σε μη αρωματικούς πολλαπλούς δεσμούς καθώς επίσης και σε αρωματικούς δακτυλίους και αντιδρούν με τα μέρη του μορίου τα οποία περιέχουν υποκαταστάτες με άζωτο, θείο και φωσφόρο. Μετά την αντίδραση της ρίζας υδροξυλίου με τα άτομα του υδρογόνου παράγεται νερό και μία αλκυλική ρίζα η οποία στη συνέχεια αντιδρά με οξυγόνο παράγοντας μία αλκυλοπεροξυ ρίζα που οδηγεί στο σχηματισμό της αντίστοιχης αλδεύδης ή κετόνης. Τα τμήματα τα οποία προκύπτουν αντιδρούν στη συνέχεια με τις ρίζες υδροξυλίου παράγοντας διοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του αζώτου και μονο- και δι-καρβοξυλικές ενώσεις. Η προσθήκη των ριζών υδροξυλίου σε αρωματικούς δακτυλίους έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υδροξυαρωματικών ενώσεων, υδροξυπεροξυ ριζών ή ακόμη και διάσπαση του αρωματικού δακτυλίου. Οι ρίζες που σχηματίζονται ενδέχεται να αντιδράσουν με οξείδια του αζώτου και του θείου τα οποία βρίσκονται στην ατμόσφαιρα. Τα προϊόντα που σχηματίζονται είναι περισσότερο πολικά από το ίδιο το φυτοφάρμακο και ενδέχεται να προσροφηθούν σε αιωρούμενα σωματίδια και στη συνέχεια να διασπαστούν ή να διαλυθούν στο νερό της βροχής (Unsworth et al., 1999).

Η βιβλιογραφία σχετικά με τη φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων στον αέρα είναι περιορισμένη. Ενδεικτικά, ο Carter και οι συνεργάτες του μελετούν τη φωτοδιάσπαση του φυτοφαρμάκου chloropicrin σε ειδικά κατασκευασμένο θάλαμο στον οποίο περιέχονται και NO, NO₂, O₃ καθώς επίσης και αιθάνιο και n-βουτάνιο και υπολογίζουν το χρόνο ημίσειας ζωής του στο αέρα στις 18 ώρες (Carter et al., 1997). Σε άλλη μελέτη, ο Bossan και οι συνεργάτες του μελετούν τη φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων alachlor, pendimethalin, trifluralin και malathion τα οποία βρίσκονται προσροφημένα σε ιπτάμενη τέφρα μέσα σε εργαστηριακό θάλαμο στον οποίο υπάρχει καθαρό άζωτο. Από τη συγκεκριμένη μελέτη προκύπτει ότι μετά από 40 min ακτινοβόλησής τους, έχει διασπαστεί το 70 % της αρχικής τους ποσότητας (Bossan et al., 1995).

2.2.5 Θερμοκήπια

2.2.5.1 Γενικά

Η πρώτη ιστορική αναφορά για την καλλιέργεια φυτών υπό ελεγχόμενες συνθήκες, ανάγεται στην αρχαία Ρώμη. Σύμφωνα με περιγραφές του ιστορικού Πλίνιου του Πρεσβύτερου, ο ρωμαίος αυτοκράτορας Τιβέριος περιλάμβανε στην καθημερινή του διατροφή εδέσματα με βάση το αγγούρι, το οποίο είναι λαχανικό που αναπτύσσεται φυσιολογικά τους καλοκαιρινούς μήνες. Όμως, προκειμένου να είναι διαθέσιμο όλες τις εποχές του έτους, οι ρωμαίοι κηπουροί επινοούν και χρησιμοποιούν μεθόδους ανάπτυξης, οι οποίες προσομοιάζουν με το σύστημα καλλιέργειας φυτών σε θερμοκήπια. Έτσι, τα φυτά, τα οποία φυτεύονται και αναπτύσσονται σε δοχεία τοποθετημένα επάνω σε χειράμαξες, την ημέρα εκτίθενται στο ηλιακό φως, αλλά το βράδυ αποθηκεύονται σε κλειστούς χώρους, όπου καλύπτονται με πανιά εμποτισμένα με λάδι ή με φύλλα από μίκα (πυριτικό ορυκτό με τη μορφή φύλλων που χρησιμοποιείται για μόνωση) για να τα προστατέψουν από το κρύο.

Τα πρώτα σύγχρονα θερμοκήπια κατασκευάζονται στην Ιταλία κατά τη διάρκεια του 13^{ου} αιώνα και στεγάζουν τα εξωτικά φυτά, τα οποία φέρνουν μαζί τους οι εξερευνητές από τις τροπικές περιοχές. Η αρχική τους ονομασία δεν είναι θερμοκήπια αλλά βοτανικοί κήποι. Τα συγκεκριμένα θερμοκήπια απαιτούν για τη λειτουργία τους μεγάλο αριθμό εργατών, γιατί η τότε τεχνολογία κατασκευής του γυαλιού δεν επιτρέπει την κατασκευή μεγάλων υαλοπινάκων, με αποτέλεσμα να απαιτούνται πολλά εργατικά χέρια αλλά και πολύς χρόνος για το άνοιγμα την ημέρα και το κλείσιμο το βράδυ των μικρών υαλοπινάκων της οροφής. Η χρήση των θερμοκηπίων σταδιακά εξαπλώνεται στην Ολλανδία, την Αγγλία και τη Γαλλία. Μάλιστα, τα πρώτα θερμοκήπια της Γαλλίας αποκαλούνται πορτοκαλώνες, γιατί χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη και προστασία από την παγωνιά δέντρων πορτοκαλιάς. Η εξέλιξη στην κατασκευή των θερμοκηπίων συνεχίζεται και κατά τη διάρκεια του 17^{ου} αιώνα

καθώς βελτιώνονται οι τεχνικές κατασκευής και η τεχνολογία παραγωγής του γυαλιού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της προόδου που συντελείται, αποτελεί το θερμοκήπιο του παλατιού των Βερσαλλιών με διαστάσεις 150 μέτρα μήκος, 13 μέτρα πλάτος και 14 μέτρα ύψος.

Κατά τη διάρκεια του 19^{ου} αιώνα χτίζονται τα μεγαλύτερα θερμοκήπια από σίδηρο και γυαλί, τα οποία αποτελούν πραγματικά έργα τέχνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η κατασκευή του συμπλέγματος θερμοκηπίων Royal Greenhouses of Laeken στο Βέλγιο για τον βασιλιά Λεοπόλδο τον 2^ο, του οποίου η κατασκευή διαρκεί 21 χρόνια (1874-1895). Το σύμπλεγμα θερμοκηπίων Royal Greenhouses of Laeken απεικονίζεται στο σχήμα 2.3 (Wikipedia, 2007c).



Σχήμα 2.3: Το σύμπλεγμα θερμοκηπίων Royal Greenhouses of Laeken στο Βέλγιο.

Στον 20^ο αιώνα αρχίζουν να εφαρμόζονται πολλές τεχνικές βελτιώσεις στην κατασκευή των θερμοκηπίων, όπως για παράδειγμα η αντικατάσταση του γυαλιού από φύλλα πλαστικού, η χρήση συστημάτων θέρμανσης και κλιματισμού καθώς επίσης και η χρήση τεχνητού φωτισμού για την ανάπτυξη των φυτών. Στην Ελλάδα, οι πρώτες συστηματικές εγκαταστάσεις θερμοκηπίων εμφανίζονται το 1955 και αποτελούνται από απλές υαλόφρακτες κατασκευές, οι οποίες φιλοξενούν καλλωπιστικά φυτά. Η μεγάλη ανάπτυξη όμως συμβαίνει μετά το 1961, οπότε αρχίζει να εξαπλώνεται η χρήση φύλλων πολυαιθυλενίου ως υλικό κάλυψης, το οποίο σε σύγκριση με το γυαλί έχει πολύ μικρότερο κόστος, μεγαλύτερη ανθεκτικότητα και είναι πιο εύχρηστο.

Σήμερα, οι εγκαταστάσεις των θερμοκηπίων αποτελούνται από μεγάλες οργανωμένες μονάδες, στις οποίες η θερμοκρασία, η υγρασία και ο φωτισμός ελέγχονται πλήρως και ρυθμίζονται από αυτοματοποιημένα συστήματα. Σύμφωνα με τα στοιχεία της Eurostat, υπολογίζεται ότι στην Ευρωπαϊκή Ένωση το έτος 2005 1.260.000 στρέμματα καλλιεργούμενης γης είναι με τη μορφή θερμοκηπίων. Το 81 % των καλλιεργειών είναι λαχανικά και φρούτα ενώ το υπόλοιπο 19 % άνθη και καλλωπιστικά φυτά (Eurostat, 2007b). Στην Ελλάδα, τα θερμοκήπια καλύπτουν έκταση ίση με 55.000 στρέμματα, από τα οποία τα 44.000 είναι καλλιέργειες λαχανικών και τα υπόλοιπα 11.000 καλλωπιστικών φυτών (Ε.Σ.Υ., 2007).

Το περιβάλλον των θερμοκηπίων παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα για την ανάπτυξη φυτών, με αποτέλεσμα να διατίθενται στην αγορά φρούτα και λαχανικά, τα οποία αναπτύσσονται υπό κανονικές συνθήκες σε διαφορετικές εποχές του χρόνου. Όμως, οι συνθήκες που επικρατούν στα θερμοκήπια, αυξημένη θερμοκρασία και υγρασία καθώς επίσης και κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα, αποτελούν ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξη παρασίτων. Οι φυσικοί εχθροί των παρασίτων, οι οποίοι κρατούν τον πληθυσμό τους υπό έλεγχο στο εξωτερικό περιβάλλον, απουσιάζουν μέσα στο θερμοκήπιο. Γι' αυτούς τους λόγους προβλήματα, που σχετίζονται με τα παράσιτα, εμφανίζονται γρηγορότερα και σε μεγαλύτερη έκταση στα θερμοκήπια. Ο κυριότερος τρόπος ελέγχου των παρασίτων και κατά συνέπεια της αύξησης της παραγωγής είναι η χρήση φυτοφαρμάκων. Ένα σοβαρό πρόβλημα, το οποίο προκύπτει από τη χρήση των φυτοφαρμάκων στο θερμοκήπιο, είναι η εμφάνιση φυτοτοξικότητας στα καλλιεργούμενα φυτά. Η εμφάνιση φυτοτοξικότητας οφείλεται στο γεγονός ότι, επειδή τα φυτά αναπτύσσονται γρηγορότερα στα θερμοκήπια, δεν προλαβαίνουν να αναπτύξουν επαρκείς αμυντικούς μηχανισμούς και έτσι είναι περισσότερο επιρρεπή σε βλάβες, που μπορεί να προκληθούν από τα φυτοφάρμακα. Γι' αυτό το λόγο η επιλογή των φυτοφαρμάκων θα πρέπει να γίνεται προσεκτικά και η εφαρμογή τους να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης που αναγράφονται στο σκεύασμα (Bessin et al., 1997).

2.2.5.2 Φυτοφάρμακα στον αέρα των θερμοκηπίων

Η χρήση φυτοφαρμάκων στα θερμοκήπια είναι απαραίτητη για την καταπολέμηση των παρασίτων που αναπτύσσονται μέσα σε αυτά. Όμως, ένα σημαντικό πρόβλημα, το οποίο δημιουργείται από την εφαρμογή φυτοφαρμάκων σε κλειστά συστήματα, όπως είναι τα θερμοκήπια, είναι η έκθεση των εργαζομένων σε αυξημένες συγκεντρώσεις τοξικών ουσιών, πρόβλημα το οποίο εντείνεται εξαιτίας της αυξημένης θερμοκρασίας και υγρασίας καθώς και

της στεγανότητας των θερμοκηπίων. Η έκθεση των εργαζομένων στα θερμοκήπια μπορεί να συμβεί τόσο μέσω της αναπνευστικής οδού όσο και μέσω του δέρματος.

Οι συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων στον αέρα των θερμοκηπίων εξαρτώνται από τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα και σε μεγάλο βαθμό από την τεχνική που χρησιμοποιείται για την εφαρμογή τους. Η εφαρμογή των φυτοφαρμάκων στα θερμοκήπια πραγματοποιείται συνήθως χειροκίνητα (De Vreede et al., 1998, Aprea et al., 2002, Machera et al., 2003, Segura Carretero et al., 2003) ή με την χρήση αυτοματοποιημένων συστημάτων ψεκασμού (Austerweil and Grinstein, 1997, Rowe et al., 2000). Οι τεχνικές εφαρμογής τους, ανάλογα με τον όγκο του εφαρμοζόμενου διαλύματος του φυτοφαρμάκου ανά στρέμμα καλλιεργήσιμης γης, διακρίνονται σε τεχνικές μικρού όγκου (Low-Volume techniques, LV techniques) και σε τεχνικές μεγάλου όγκου (High-Volume techniques, HV techniques). Στις τεχνικές μικρού όγκου ο χρησιμοποιούμενος όγκος φυτοφαρμάκου ανά στρέμμα είναι μικρότερος από 5 λίτρα και η διάμετρος των παραγόμενων σταγονιδίων κυμαίνεται από 1 έως 150 μm ενώ αντίστοιχα στις τεχνικές μεγάλου όγκου είναι μεγαλύτερος από 5 l/στρέμμα και η διάμετρος των παραγόμενων σταγονιδίων κυμαίνεται από 150 έως 1000 μm (Matthews, 2000). Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φυτοφαρμάκων στον αέρα των θερμοκηπίων παρατηρούνται στην περίπτωση που η εφαρμογή τους πραγματοποιείται με την τεχνική μικρού όγκου, γιατί τα παραγόμενα σταγονίδια είναι πολύ μικρής διαμέτρου. Ενδεικτικά, ο Brouwer και οι συνεργάτες του σε μελέτη τους αναφέρουν ότι η διάμετρος των παραγόμενων σταγονιδίων με σύστημα ψεκασμού μικρού όγκου κυμαίνεται από 14 έως 32 μm (Brouwer et al., 1992a).

Κατά τη διάρκεια αλλά και μετά την εφαρμογή, κλάσμα των φυτοφαρμάκων εναποτίθεται στις εσωτερικές επιφάνειες του θερμοκηπίου (εσωτερικά τοιχώματα θερμοκηπίου, φύλλα των φυτών, έδαφος, κ.λ.π), από τις οποίες στη συνέχεια μπορεί να επανέλθει στον αέρα του θερμοκηπίου. Αν και οι κυριότεροι παράγοντες (θερμοκρασία και υγρασία), οι οποίοι επηρεάζουν την επαναφορά των φυτοφαρμάκων στον αέρα τόσο στα θερμοκήπια όσο και τους εξωτερικούς χώρους (αγροί) είναι οι ίδιοι, οι διεργασίες επαναφοράς τους στα θερμοκήπια είναι διαφορετικές από εκείνες των εξωτερικών χώρων, επειδή οι παράγοντες αυτοί διατηρούνται σε υψηλότερα επίπεδα (Van den Berg et al., 1999). Επίσης, οι φωτολυτικές αντιδράσεις των φυτοφαρμάκων, οι οποίες συμβαίνουν στους εξωτερικούς χώρους, δεν παρατηρούνται στα θερμοκήπια επειδή η υπεριώδης ακτινοβολία μήκους κύματος 290-310 nm, η οποία είναι υπεύθυνη για τις περισσότερες φωτολυτικές αντιδράσεις στην ατμόσφαιρα, μπορεί να κατακρατηθεί από το περίβλημα του θερμοκηπίου. Όμως, επειδή σε μερικά θερμοκήπια χρησιμοποιείται τεχνητός φωτισμός για την ανάπτυξη των φυτών, μπορεί να συμβεί φωτοδιάσπαση των φυτοφαρμάκων, η οποία εξαρτάται από το φάσμα της υπεριώδους ακτινοβολίας που εκπέμπει η φωτεινή πηγή (Van den Berg et al., 1999).

Μετά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων στο θερμοκήπιο αρχίζει η διαφυγή τους προς την ατμόσφαιρα του εξωτερικού περιβάλλοντος χώρου. Ο ρυθμός διαφυγής των φυτοφαρμάκων από τα θερμοκήπια προς την ατμόσφαιρα εξαρτάται από τη συχνότητα εξαερισμού και από την εφαρμοζόμενη ποσότητα μέσα σε αυτά και μπορεί να εκτιμηθεί με βάση το ρυθμό εναλλαγής του αέρα και τη συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων. Η διαφυγή φυτοφαρμάκων από τα θερμοκήπια προς την ατμόσφαιρα θεωρείται αμελητέα σε σύγκριση με τις συνολικές εκπομπές από τις καλλιεργούμενες εκτάσεις, αφού στις περισσότερες χώρες το λιγότερο από το 1 % των συνολικών καλλιεργειών αντιστοιχεί σε θερμοκήπια. Παρόλα αυτά, η διαφυγή φυτοφαρμάκων από τα θερμοκήπια αποκτά ιδιαίτερη σημασία για τους ανθρώπους που ζουν κοντά σε αυτά καθώς επίσης και για τα γειτονικά οικοσυστήματα (Van den Berg et al., 1999). Η διαφυγή φυτοφαρμάκων από ένα θερμοκήπιο προς την ατμόσφαιρα μπορεί να περιοριστεί με διάφορους τρόπους. Για παράδειγμα, το άνοιγμα των παραθύρων και των θυρών του θερμοκηπίου πρέπει να αποφεύγεται τουλάχιστον κατά τη διάρκεια του ψεκασμού και κατά τις πρώτες ώρες μετά την εφαρμογή του φυτοφαρμάκου, που οι συγκεντρώσεις στον αέρα του θερμοκηπίου είναι υψηλές. Ένας άλλος τρόπος, με τον οποίο μπορεί να μειωθεί η διαφυγή των φυτοφαρμάκων προς την ατμόσφαιρα, είναι η τοποθέτηση ειδικών φίλτρων στο σύστημα εξαερισμού του θερμοκηπίου, το κόστος των οποίων όμως είναι σχετικά υψηλό.

Τα επίπεδα των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στον αέρα των θερμοκηπίων, εξαιτίας του πιθανού κινδύνου για την υγεία των εργαζομένων, απασχολούν τους επιστήμονες σε παγκόσμιο επίπεδο με αποτέλεσμα να υπάρχουν πολλές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία, στις οποίες εκτιμάται η έκθεση των εργαζομένων στα φυτοφάρμακα τόσο μέσω του δέρματος όσο και μέσω της αναπνευστικής οδού (Zuskin et al., 1993, Abell et al., 2000a, Abell et al., 2000b, Aprea et al., 2002, Hatzilazarou et al., 2005).

Σε σχετικές μελέτες επιβεβαιώνεται η έκθεση σε φυτοφάρμακα των εργαζομένων σε θερμοκήπια, σε ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων, όπως:

- Οι μέγιστες συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων parathion, dichlofluanid και pirimicarb αμέσως μετά την εφαρμογή τους σε θερμοκήπιο, προσδιορίζονται ίσες προς 28, 25 και 9,9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, αντίστοιχα (Siebers and Mattusch, 1996).
- Οι μέγιστες συγκεντρώσεις για τα φυτοφάρμακα chlorothalonil και dichlofluanid, αμέσως μετά την εφαρμογή τους σε θερμοκήπιο προσδιορίζονται ίσες προς 10,9 και 2,2 mg/m^3 , αντίστοιχα (Egea González et al., 1997).
- Τα φυτοφάρμακα α - και β - endosulfan προσδιορίζονται σε συγκεντρώσεις 4,4 και 4,2 αντίστοιχα ενώ το lindane σε συγκέντρωση 3,3 mg/m^3 κατά τη διάρκεια της εφαρμογής τους σε θερμοκήπιο (Martínez Vidal et al., 1997).

- Η συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου *metamidophos* κατά τη διάρκεια της εφαρμογής του βρίσκεται ίση προς $420 \mu\text{g}/\text{m}^3$, ενώ 52 ώρες μετά την εφαρμογή μειώνεται στα $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Egea González et al., 1998).
- Τα επίπεδα των φυτοφαρμάκων *parathion-methyl* και *fenthion* προσδιορίζονται στον αέρα θερμοκηπίων και ανθοπωλείων και βρίσκεται ότι η μέγιστη συγκέντρωση του *parathion-methyl* στο θερμοκήπιο είναι $17 \text{ ng}/\text{m}^3$ ενώ στο ανθοπωλείο $14,3 \text{ ng}/\text{m}^3$. Το φυτοφάρμακο *fenthion*, αν και δεν ανιχνεύεται στον αέρα του θερμοκηπίου, ανιχνεύεται στον αέρα του ανθοπωλείου και προσδιορίζεται η μέγιστη συγκέντρωσή του ίση προς $1,5 \text{ ng}/\text{m}^3$ (Bouvier et al., 2006).
- Οι μέγιστες συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων *chlorpyrifos* και *diazinon* μετά την εφαρμογή τους σε θερμοκήπιο, στο οποίο αναπτύσσονται σε υδροπονικές συνθήκες καλλωπιστικά φυτά (ζέρμπες), είναι $7,1$ και $9,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$, αντίστοιχα (Hatzilazarou et al., 2005).
- Το φυτοφάρμακο *pirimiphos methyl* εφαρμόζεται σε θερμοκήπιο στο οποίο καλλιεργούνται τομάτες. Η μέγιστη συγκέντρωσή του στον αέρα του θερμοκηπίου είναι $165 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Adamis et al., 1985).

Οι συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων, που έχουν προσδιοριστεί στον αέρα των θερμοκηπίων, κυμαίνονται σε ευρεία κλίμακα, από μερικά ng/m^3 έως mg/m^3 . Ακόμα και στην περίπτωση, που προσδιορίζεται η συγκέντρωση του ίδιου φυτοφαρμάκου, υπάρχουν μεγάλες διαφορές στη βιβλιογραφία. Για παράδειγμα, το φυτοφάρμακο *chlorpyrifos* δεν ανιχνεύεται ένδεκα ώρες μετά τον ψεκασμό του σε θερμοκήπιο, που καλλιεργούνται τομάτες και στο οποίο έχει προηγηθεί αερισμός για χρονικό διάστημα δύο ωρών (Guardino et al., 1998). Σε άλλη μελέτη, που το *chlorpyrifos* εφαρμόζεται με ψεκασμό σε φυτά ζέρμπες, τα οποία καλλιεργούνται σε θερμοκήπιο με υδροπονικό σύστημα, η μέγιστη συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου στον αέρα βρίσκεται ίση προς $7,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Hatzilazarou et al., 2005). Τέλος, κατά την εφαρμογή του *chlorpyrifos* σε θερμοκήπιο με χρυσάνθεμα, η μέγιστη συγκέντρωσή του στον αέρα του θερμοκηπίου είναι $75 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Stamper et al., 1989a).

Η ευρεία κλίμακα συγκεντρώσεων, που καταγράφεται στη διεθνή βιβλιογραφία για τα φυτοφαρμάκων στον αέρα θερμοκηπίων, ακόμα και για το ίδιο φυτοφάρμακο, οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι:

1. Ο τρόπος εφαρμογής του φυτοφαρμάκου.
2. Η συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου στο διάλυμα, το οποίο χρησιμοποιείται για τον ψεκασμό.

3. Οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας μέσα στο θερμοκήπιο.
4. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου, κυρίως η τάση ατμών και η ανθεκτικότητά του στη φωτοδιάσπαση.
5. Η στεγανότητα και ο ρυθμός εξαερισμού του θερμοκηπίου.
6. Ο τύπος του θερμοκηπίου και ο τρόπος καλλιέργειας των φυτών, δηλαδή εάν περιέχει φυτά, τα οποία αναπτύσσονται στο χώμα σε υδροπονικές καλλιέργειες ή σε γλάστρες και αν το έδαφος είναι καλυμμένο με τσιμέντο ή με πλαστικά φύλλα.
7. Οι διάφορες δραστηριότητες των εργαζομένων μέσα στα θερμοκήπια, όπως για παράδειγμα το πότισμα, η συγκομιδή, ο καθαρισμός του θερμοκηπίου. Οι δραστηριότητες αυτές έχουν ως αποτέλεσμα την επαναφορά των φυτοφαρμάκων από τις επιφάνειες που έχουν εναποτεθεί (εσωτερικά τοιχώματα θερμοκηπίου, φυτά, έδαφος, κ.λ.π) στον αέρα του θερμοκηπίου.
8. Το είδος των φυτών που καλλιεργούνται μέσα στο θερμοκήπιο.
9. Ο χρόνος έναρξης της δειγματοληψίας μετά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων.

2.2.5.3 Έκθεση σε φυτοφάρμακα εργαζομένων στα θερμοκήπια

Οι εργασιακές συνθήκες σε ένα θερμοκήπιο εμπεριέχουν τον κίνδυνο άμεσης ή έμμεσης έκθεσης των εργαζομένων σε φυτοφάρμακα. Όμως, εκτός από τα φυτοφάρμακα, οι εργαζόμενοι σε θερμοκήπια προσλαμβάνουν με την αναπνοή και άλλες ουσίες, οι οποίες είναι προσροφημένες σε αιωρούμενα σωματίδια, όπως ενδοτοξίνες και αλλεργιογόνα που παράγονται από τα φυτά, βακτήρια, μύκητες και αέρια (κυρίως CO₂ και NO₂). Επίσης, οι συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας, έντασης φωτός καθώς και τα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα ρυθμίζονται με βάση τις απαιτήσεις ανάπτυξης των φυτών, οι οποίες διαφέρουν από τις συνθήκες που είναι απαραίτητες για ένα άνετο και υγιές εργασιακό περιβάλλον για τους εργαζόμενους (Jurewicz et al., 2007).

Σε έρευνα, που πραγματοποιήθηκε στην Κροατία, για την εμφάνιση προβλημάτων του αναπνευστικού συστήματος σε εργαζόμενους σε θερμοκήπια, βρέθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, στην εμφάνιση χρόνιου βήχα, δύσπνοιας και ρινίτιδας. Η μελέτη περιλαμβάνει δύο πληθυσμιακές ομάδες: μία ομάδα από 135 γυναίκες εργαζόμενες σε θερμοκήπια ενώ την ομάδα ελέγχου αποτελούν 51 γυναίκες που εργάζονται σε γραφεία και μια δεύτερη ομάδα από 32 άνδρες εργαζόμενους σε θερμοκήπια με ομάδα ελέγχου αποτελούμενη από 30 άνδρες, που εργάζονται σε γραφεία (Zuskin et al., 1993). Ο Monsó και οι συνεργάτες του σε μελέτες τους στην Ευρώπη και στην

Αμερική αναφέρουν ότι η ενασχόληση μέσα σε θερμοκήπιο σχετίζεται με την εμφάνιση χρόνιας βρογχίτιδας στους εργαζομένους, οι οποίοι δεν είναι καπνιστές (Monsó et al., 2003) καθώς επίσης και με την εμφάνιση άσθματος (Monsó et al., 2000). Ένα άλλο πρόβλημα, το οποίο εμφανίζεται στους εργαζομένους στα θερμοκήπια, είναι ο ερεθισμός του δέρματος και η εμφάνιση εκζεμάτων, όπως αναφέρει ο Paulsen και οι συνεργάτες τους (Paulsen et al., 1997).

Σε ορισμένες μελέτες, εκτός από τις ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος και του δέρματος, αναφέρεται ότι η έκθεση σε φυτοφάρμακα εγκύων γυναικών που εργάζονται σε θερμοκήπια επηρεάζει το βάρος του νεογνού. Συγκεκριμένα, ο Jurewicz και οι συνεργάτες του εκτιμούν τις επιπτώσεις της έκθεσης σε φυτοφάρμακα όλων των κατηγοριών, στο βάρος νεογέννητων παιδιών. Για το σκοπό αυτό, μελετάται δείγμα αποτελούμενο από 460 έγκυες γυναίκες, ηλικίας μικρότερης των 45 χρόνων, οι οποίες εργάζονται σε θερμοκήπια. Οι γυναίκες χωρίζονται σε δύο ομάδες: η μία ομάδα αποτελείται από εγκύους που εργάζονται μέσα στο θερμοκήπιο και η δεύτερη ομάδα (ομάδα ελέγχου) από εγκύους, οι οποίες εργάζονται σε χώρους έξω από τα θερμοκήπια σε απλές δουλειές. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης δείχνουν ότι το βάρος των νεογέννητων παιδιών των εγκύων εργαζομένων μέσα στα θερμοκήπια είναι κατά μέσο όρο 177 γραμμάρια μικρότερο από το βάρος των νεογέννητων παιδιών των γυναικών που εργάζονται έξω από τα θερμοκήπια (Jurewicz et al., 2005). Σε άλλη εργασία, στην οποία μελετάται δείγμα 122 ανδρών εργαζόμενων σε θερμοκήπια (44 με χαμηλό βαθμό έκθεσης σε φυτοφάρμακα, 65 με μέσο βαθμό έκθεσης και 13 με υψηλό βαθμό έκθεσης), ο Abell και οι συνεργάτες του καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των σπερματοζωαρίων είναι μειωμένος κατά 60 και 14 % στους άνδρες με υψηλό και χαμηλό βαθμό έκθεσης, αντίστοιχα. Επίσης, ο αριθμός των σπερματοζωαρίων σε άνδρες, οι οποίοι εργάζονται για περισσότερο από 10 χρόνια στα θερμοκήπια, είναι κατά 40 % μικρότερος από τους άνδρες, που εργάζονται για λιγότερο από 5 χρόνια. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι δεν παρατηρούνται αλλαγές στα επίπεδα των σεξουαλικών ορμονών και στη βιωσιμότητα των σπερματοζωαρίων (Abell et al., 2000a, Abell et al., 2000b).

Λαμβάνοντας υπόψη τα δεδομένα που αναφέρονται προηγουμένως, γίνεται κατανοητό ότι οι εργαζόμενοι στα θερμοκήπια θα πρέπει να λαμβάνουν προστατευτικά μέτρα, όπως να φέρουν ειδικές προστατευτικές στολές, γάντια και μάσκα, όχι μόνο κατά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων αλλά και γενικά κατά την εργασία τους σε αυτά. Η επιλογή του προστατευτικού εξοπλισμού θα πρέπει να γίνεται με βάση τη φύση και τα επίπεδα των ουσιών στα οποία εκτίθενται. Οι ειδικές προστατευτικές στολές και τα γάντια θα πρέπει να είναι ελαφριά και άνετα κατά την εργασία μέσα στο θερμοκήπιο εξαιτίας της αυξημένης θερμοκρασίας και υγρασίας που επικρατεί.

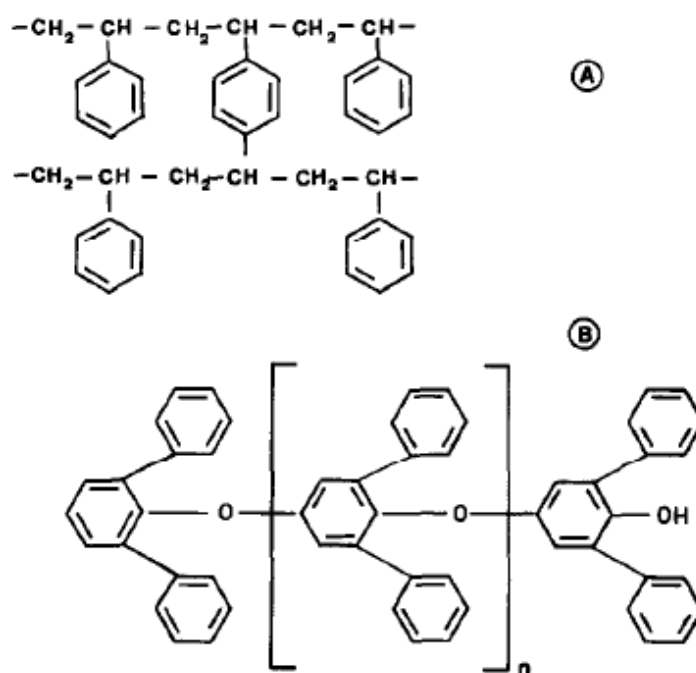
2.2.6 Δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων στον αέρα

Η δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων στον αέρα γίνεται με ειδικές αντλίες αερίων, οι οποίες εξαναγκάζουν συγκεκριμένο όγκο αέρα να διέλθει δια μέσου κατάλληλων φίλτρων. Οι αντλίες αερίων ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες αναλόγως της ποσότητας του αέρα που αντλούν. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται οι αντλίες μικρού όγκου, που αντλούν μέχρι 0,060 m³ αέρα την ώρα, οι αντλίες μεσαίου όγκου, που αντλούν από 0,060 έως 2 m³ αέρα την ώρα και οι αντλίες μεγάλου όγκου, που αντλούν περισσότερα από 2 m³ αέρα την ώρα (Baker et al., 1996, Sanusi et al., 1999, Buehler et al., 2001, Demel et al., 2001, Segura Carretero et al., 2003,). Οι αντλίες μικρού και μεσαίου όγκου χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων στον αέρα εσωτερικών χώρων (θερμοκηπίων, κατοικιών, αποθηκευτικών χώρων) στους οποίους οι συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων είναι υψηλές. Για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων στους εξωτερικούς χώρους, στους οποίους οι συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων είναι χαμηλές, χρησιμοποιούνται οι αντλίες μεγάλου όγκου (Waite et al., 2005).

Για τη συλλογή των φυτοφαρμάκων από τον αέρα, όπως αναφέρεται προηγουμένως, χρησιμοποιούνται κατάλληλα φίλτρα. Στην περίπτωση, που ενδιαφέρει ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση χρησιμοποιούνται σε σειρά ειδικά φίλτρα, όπου κατακρατούνται τα αιωρούμενα σωματίδια και προσροφητικά υλικά σε ειδικό υποδοχέα, όπου κατακρατούνται τα φυτοφάρμακα, τα οποία βρίσκονται στην αέρια φάση. Στη συνέχεια, τα φυτοφάρμακα παραλαμβάνονται από τα φίλτρα και τα προσροφητικά υλικά με εκχύλιση σε κατάλληλο διαλύτη και τα διαλύματα αναλύονται με βάση συγκεκριμένη μέθοδο.

Για την συλλογή των αιωρούμενων σωματιδίων των φυτοφαρμάκων χρησιμοποιούνται διάφοροι τύποι φίλτρων. Τα πιο συνηθισμένα υλικά, από τα οποία κατασκευάζονται τα φίλτρα, είναι το Teflon, η κυτταρίνη, οι μικροΐνες χαλαζία και οι μικροΐνες υάλου. Το μέγεθός τους εξαρτάται από τον τύπο της αντλίας, δηλαδή εάν χρησιμοποιούνται αντλίες μικρού, μεσαίου ή μεγάλου όγκου. Συνήθως, η διάμετρος των φίλτρων, που χρησιμοποιούνται στις αντλίες μικρού και μεσαίου όγκου, κυμαίνεται από 25 έως 47 mm ενώ στις αντλίες μεγάλου όγκου η συνηθέστερη διάμετρός τους είναι 102 mm (Stamper et al., 1989b, Hart and Pankow, 1994, Nilsson et al., 1996, Garrod et al., 1998, Sauret et al., 2000, Duyzer, 2003, Stout II and Mason, 2003 Kawahara et al., 2005, Yao et al., 2006). Η κατακράτηση των αιωρούμενων σωματιδίων του αέρα στα φίλτρα πραγματοποιείται με μηχανικό τρόπο ως εξής: κατά τη διέλευση του αέρα, κατακρατούνται στα φίλτρα τα αιωρούμενα σωματίδια, που έχουν διάμετρο μεγαλύτερη από τη διάμετρο των πόρων του φίλτρου, η οποία κυμαίνεται από 1 έως 10 μ m.

Για τη δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων, που βρίσκονται στην αέρια φάση, χρησιμοποιούνται διάφορα προσροφητικά υλικά. Η επιλογή του κατάλληλου προσροφητικού υλικού εξαρτάται από την κατηγορία των φυτοφαρμάκων, τα οποία προσδιορίζονται. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι οι ρητίνες XAD-2 και XAD-4 (συμπολυμερές στυρολίου-διβινυλοβεζολίου), το Tenax (πολυμερές του 2,6-διφαινυλο-*p*-φαινυλενοξειδίου), ο αφρός πολυουρεθάνης (PUF-polyurethane foam), ο ενεργός άνθρακας και το silica gel (Billings and Bidleman, 1983, Seiber et al., 1993, Kawata and Yasuhara, 1994, Kawata et al., 1995, Lu and Fenske, 1998, Watanabe, 1998, Edwards et al., 2007, Kazos et al., 2007, Scheyer et al., 2007). Πρόσφατα, αναφέρεται η χρήση μεμβρανών C8 για την δειγματοληψία φυτοφαρμάκων στον αέρα (Tollbäck et al., 2006). Αξίζει να αναφερθεί ότι οι ρητίνες XAD-2 και XAD-4 αποτελούνται από το ίδιο υλικό και στο μόνο που διαφέρουν είναι το μέγεθος των πόρων και της ειδικής επιφάνειάς τους. Επίσης, ο αφρός πολυουρεθάνης χρησιμοποιείται κυρίως στις αντλίες μεγάλου όγκου, επειδή λόγω της μικρής του πυκνότητας, 0,021 g/cm³, επιτρέπει τη διέλευση του αέρα με μεγάλη ροή. Οι δομές των ρητινών XAD και του Tenax απεικονίζονται στο σχήμα 2.4 (Namiesnik, 1988).



Σχήμα 2.4: Χημικές δομές των: A- XAD και B-Tenax

Η κατακράτηση των φυτοφαρμάκων, που βρίσκονται στην αέρια φάση, πραγματοποιείται ως εξής: Καθώς διέρχεται ο αέρας, ο οποίος περιέχει τους ατμούς του φυτοφαρμάκου, διαμέσου του προσροφητικού υλικού, οι ατμοί του συμπυκνώνονται μέσα στους πόρους της

επιφανείας του υλικού, όπου και υγροποιούνται. Στο σχήμα 2.5 απεικονίζεται ο τρόπος κατακράτησης των ατμών των φυτοφαρμάκων στα προσροφητικά υλικά (Namiesnik, 1988).



Σχήμα 2.5: Κατακράτηση των ατμών των φυτοφαρμάκων σε προσροφητικά υλικά.

Η δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων και γενικά των αερίων ρύπων με τη χρήση αντλιών ονομάζεται ενεργητική δειγματοληψία. Μία άλλη μέθοδος, που απαντάται στη βιβλιογραφία, είναι η καλούμενη παθητική δειγματοληψία. Κατά την παθητική δειγματοληψία χρησιμοποιούνται δειγματολήπτες (παθητικοί δειγματολήπτες), οι οποίοι αποτελούνται από κατάλληλους υποδοχείς μέσα στους οποίους εμπεριέχεται κάποιο προσροφητικό υλικό και, σε αντίθεση με την ενεργητική δειγματοληψία, δεν διέρχεται αέρας δια μέσου αυτών με τη χρήση αντλιών αλλά απλώς εκτίθενται στον αέρα της επιθυμητής περιοχής. Προκειμένου να υπολογιστεί ο όγκος του αέρα που διέρχεται από το προσροφητικό υλικό, απαραίτητο στοιχείο για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των ρύπων στην ατμόσφαιρα, υπολογίζεται ο ρυθμός εναλλαγής του αέρα μέσα από το προσροφητικό υλικό και επίσης καταγράφεται ο χρόνος έκθεσης. Ο ρυθμός εναλλαγής του αέρα για κάθε είδος παθητικού δειγματολήπτη υπολογίζεται θεωρητικά. Οι παράμετροι από τους οποίους εξαρτάται είναι η σταθερά μεταφοράς μάζας στον αέρα k_A , η οποία δεν εξαρτάται από την εκάστοτε ουσία και τη θερμοκρασία αλλά από την ταχύτητα του ανέμου· μεγαλύτερη ταχύτητα του ανέμου αυξάνει τη σταθερά k_A . Η βαθμονόμηση των παθητικών δειγματοληπτών πραγματοποιείται υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες και οι τιμές της σταθεράς k_A που προκύπτουν είναι συγκρίσιμες με τις τιμές της που προκύπτουν λόγω της ταχύτητας του αέρα που οφείλεται μόνο στη διάχυση. Για το λόγο αυτό οι παθητικοί δειγματολήπτες τοποθετούνται σε ειδικά κατασκευασμένους υποδοχείς ώστε η κίνηση του αέρα να οφείλεται μόνο στη διάχυση και να μην επηρεάζονται από την ταχύτητα του ανέμου. Άλλη παράμετρος είναι η σταθερά K_{PSM-A} η οποία εξαρτάται από την κατανομή της ουσίας μεταξύ του υλικού που χρησιμοποιείται για την παθητική δειγματοληψία και του αέρα. Η σταθερά K_{PSM-A} υπολογίζεται εύκολα γιατί εξαρτάται

άμεσα από τη σταθερά κατανομής οκτανόλης - αέρα, K_{OA} , η οποία είναι γνωστή για την κάθε ουσία. Τέλος, ο ρυθμός εναλλαγής του αέρα εξαρτάται από τον όγκο και την επιφάνεια του παθητικού δειγματολήπτη (Harner et al., 2004). Η παθητική δειγματοληψία χρησιμοποιείται κυρίως για τη συλλογή ρύπων, οι οποίοι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος βρίσκονται στην αέρια φάση (βενζόλιο, τολουόλιο, ξυλόλιο, CO, CO₂, NO_x, SO₂, φορμαλδεύδη, πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες) (Seethapathy et al., 2008). Στην περίπτωση των φυτοφαρμάκων, επειδή η τάση ατμών των περισσοτέρων είναι μικρή και κατά συνέπεια η συγκέντρωσή τους στην ατμόσφαιρα είναι χαμηλή, προτιμάται η ενεργητική έναντι της παθητικής δειγματοληψίας, γιατί στο ίδιο χρονικό διάστημα η ποσότητα του αέρα που συλλέγεται με τη χρήση αντλιών είναι κατά πολύ μεγαλύτερη συγκρινόμενη με την ποσότητα του αέρα που διέρχεται διαμέσου των παθητικών δειγματοληπτών. Γι αυτό το λόγο η σχετική βιβλιογραφία, που αναφέρεται στη συλλογή φυτοφαρμάκων από την ατμόσφαιρα με τη χρήση παθητικών δειγματοληπτών είναι περιορισμένη. Ενδεικτικά αναφέρεται η χρήση δίσκων από αφρό πολυουρεθάνης, οι οποίοι τοποθετούνται σε ειδικές κατασκευές από ανοξείδωτο ατσάλι για να προστατεύονται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες για τον προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε δείγματα αέρα που προέρχονται από την πόλη Toronto του Καναδά (Motelay-Massei et al., 2005), καθώς επίσης και ειδικά κατασκευασμένα ίνα που χρησιμοποιείται στην τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME) για τον προσδιορισμό του φυτοφαρμάκου procymionide στον αέρα θερμοκηπίου (Ferrari et al., 2004).

2.2.7 Σκοπός και αντικείμενο της διατριβής

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό του φυτοφαρμάκου chlorothalonil και του μεταβολίτη του 4-hydroxy-chlorothalonil καθώς επίσης και η ανάπτυξη αναλυτικής μεθόδου ταυτόχρονου προσδιορισμού των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos στον αέρα θερμοκηπίων.

Στην περίπτωση του chlorothalonil και του μεταβολίτη του αναπτύσσεται μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Λόγω της μεγάλης πολικότητας και της μικρής τάσης ατμών του μεταβολίτη δεν είναι εφικτός ο ταυτόχρονος προσδιορισμός τους με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας. Για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ανάλυσης, μελετώνται διάφορες παράμετροι, όπως η σύσταση και η αναλογία των διαλυτών της κινητής φάσης καθώς επίσης δοκιμάζονται διάφορες χρωματογραφικές στήλες. Στη συνέχεια, προκειμένου να βρεθεί το κατάλληλο προσροφητικό υλικό για τη συλλογή των

φυτοφαρμάκων που βρίσκονται στην αέρια φάση, εξετάζονται διάφορα προσροφητικά υλικά διαφορετικής πολικότητας (Tenax, XAD-2, silica gel και Florisil) και μελετώνται οι ανακτήσεις των αναλυόμενων ουσιών από αυτά. Παράλληλα, μελετώνται οι ανακτήσεις από εμβολιασμένα φίλτρα μικροϊνών υάλου (GF/A), τα οποία χρησιμοποιούνται για την κατακράτηση των αιωρούμενων σωματιδίων. Ακόμα, μελετάται η σταθερότητα των ουσιών σε εμβολιασμένα φίλτρα σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες και για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Τέλος, εξετάζεται η ικανότητα κατακράτησης των μελετώμενων ουσιών στα φίλτρα και στο επιλεγμένο προσροφητικό υλικό με διαβίβαση αέρα και υπολογισμό των ανακτήσεων. Μετά την ολοκλήρωση των παραπάνω μελετών, ακολουθεί εφαρμογή του φυτοφαρμάκου chlorothalonil σε θερμοκήπιο, στο οποίο καλλιεργούνται καλλωπιστικά φυτά, δειγματοληψία και ανάλυση των δειγμάτων.

Στο δεύτερο μέρος της διατριβής αναπτύσσεται μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos με χρήση της τεχνικής της υγρής χρωματογραφίας. Αν και η συνηθέστερη τεχνική για την ανάλυσή τους είναι η αέρια χρωματογραφία, στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιείται η υγρή χρωματογραφία με εξίσου καλά αποτελέσματα. Και στην περίπτωση αυτή, μελετώνται διάφορες παράμετροι για τη βελτιστοποίηση τόσο της αναλυτικής μέθοδος όσο και της δειγματοληψίας, ενώ μετά την ολοκλήρωση αυτών των μελετών ακολουθεί δειγματοληψία και ανάλυση των δειγμάτων.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

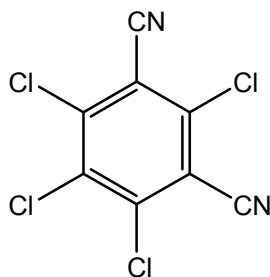
Κεφάλαιο 3 – Ταυτόχρονος προσδιορισμός του φυτοφαρμάκου Chlorothalonil και του κύριου μεταβολίτη του 4-Hydroxychlorothalonil

3.1 Εισαγωγή

Το chlorothalonil είναι μη συστηματικό μυκητοκτόνο ευρέως φάσματος και ανήκει στην κατηγορία των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων. Εκτός από τις καλλιέργειες, το chlorothalonil (εφεξής θα αναφέρεται ως CTN) χρησιμοποιείται και ως πρόσθετο στα χρώματα, τα οποία χρησιμοποιούνται στα ύφαλα των πλοίων, στις θαλάσσιες δεξαμενές πετρελαίου και στους κλωβούς των ιχθυοκαλλιεργειών για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης ανεπιθύμητων οργανισμών (Voulvoulis et al., 1999, Konstantinou and Albanis, 2004). Στο σχήμα 3.1 απεικονίζεται το μόριο του CTN καθώς επίσης και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.

Το CTN εισάγεται για πρώτη φορά στην αγορά από την εταιρία ISK Biosciences Corporation το 1966, με τις εμπορικές ονομασίες Bravo και Daconil. Μέχρι σήμερα τα εμπορικά του σκευάσματα κυκλοφορούν με την ίδια ονομασία και ανάλογα με τη σύσταση και την περιεκτικότητά τους σε chlorothalonil φέρουν διάφορους κωδικούς. Για παράδειγμα αναφέρονται τα Daconil 500SC, το οποίο είναι διάλυμα και περιέχει το ενεργό συστατικό chlorothalonil σε συγκέντρωση 50 % w/v και το Daconil 75WP, το οποίο είναι υπό μορφή σκόνης και περιέχει 75 % w/w chlorothalonil.

Το CTN χρησιμοποιείται στις καλλιέργειες για την πρόληψη και την καταπολέμηση ασθενειών, που προέρχονται από μύκητες των ειδών *Alternaria*, *Septoria*, *Botrytis*, *Rhizosphaera* και *Cercospora* και εμφανίζουν χαρακτηριστικά συμπτώματα, όπως τη γκρίζα μούχλα που προσβάλλει τα φύλλα της τομάτας, τη χνουδωτή μούχλα στην επιφάνεια των λαχανικών, καθώς επίσης και τις κηλίδες που δημιουργούνται στην επιφάνεια των καλλωπιστικών φυτών (Caux et al., 1996). Στην Ελλάδα χρησιμοποιείται ευρέως σε καλλιέργειες καπνού, αμπέλου, πατάτας, λαχανικών, ζαχαρότευτλων, εσπεριδοειδών, πυρηνόκαρπων οπωροφόρων δένδρων (ροδακινιά, βερικοκιά, δαμασκηνιά, κερασιά) και καλλωπιστικών φυτών. Επίσης, χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες μπανάνας, μάνγκο και καρύδας.



Κοινή ονομασία: Chlorothalonil (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- tetrachloroisophthalonitrile (I.U.P.A.C.)
- 2,4,5,6-tetrachloro-1,3-benzenedicarbonitrile (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Bravo, Daconil, Bombardier, Clortocaffaro, Clortosip, Fungiless, Repulse, Rival, Teren, Visclor

Χημική κατηγορία: Οργανοχλωριωμένα

Μοριακός τύπος: C₈Cl₄N₂

Μοριακό βάρος: 265,9

Φυσική κατάσταση: Άχρωμοι και άοσμοι κρύσταλλοι.

Σημείο τήξεως: 252,1 °C

Σημείο ζέσεως: 350 °C (σε 760 mm Hg)

Τάση ατμών: 0,076 mPa (στους 25 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP=2,89

Σχήμα 3.1: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου chlorothalonil

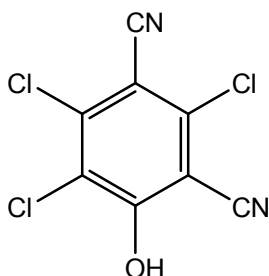
Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου CTN είναι χαμηλή και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας III, σύμφωνα με τον WHO (WHO, 1996). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση CTN δια του στόματος σε αρουραίους και ποντίκια, η τιμή LD₅₀ είναι μεγαλύτερη από 10000 και 6000 mg/kg σωματικού βάρους, αντίστοιχα (WHO, 1996). Όμως, η οξεία τοξικότητα του CTN είναι μεγαλύτερη στην έκθεση μέσω της εισπνοής. Στην περίπτωση των αρουραίων, η τιμή LC₅₀ κυμαίνεται από 0,09 έως 0,54 mg/l αέρα και κατατάσσεται στις δύο πρώτες κατηγορίες τοξικότητας σύμφωνα με τον WHO (Tomlin, 1997).

Το CTN είναι σταθερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος καθώς επίσης στην υπεριώδη ακτινοβολία τόσο σε υδατικά διαλύματα όσο και σε στερεή κατάσταση. Ακόμα είναι σταθερό

σε όξινα και σε ελαφρώς αλκαλικά υδατικά διαλύματα ενώ υδρολύεται με αργό ρυθμό (ποσοστό 1,8 % την ημέρα) σε τιμή pH ίση προς 9 (Szalkowski and Stallard, 1977).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του CTN, που προσλαμβάνεται από τα μη μηρυκαστικά θηλαστικά, απεκκρίνεται χωρίς να υποστεί διάσπαση. Η ποσότητα που κατακρατείται ενώνεται με 1 έως 3 μόρια γλουταθειόνης και τα προϊόντα που προκύπτουν διασπώνται, σχηματίζοντας θειόλες και μεθυλιωμένες θειόλες (Clarke et al., 1998, Kim et al., 2004). Στα μηρυκαστικά θηλαστικά το CTN στο μεγαλύτερο ποσοστό του επίσης απεκκρίνεται αδιάσπαστο, αλλά η ποσότητα που απορροφάται μεταβολίζεται σχηματίζοντας διάφορους πολικούς μεταβολίτες με κυριότερο το 4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile (Maroni et al., 2000). Στο έδαφος σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες ο χρόνος ημιζωής του, DT₅₀, κυμαίνεται από 1 έως 36 ημέρες (Caux et al., 1996, WHO, 1996, Potter et al., 2001) και ο κύριος μεταβολίτης του είναι το 4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile, ο χρόνος ημιζωής του οποίου στο έδαφος κυμαίνεται από 6 έως 43 ημέρες (WHO, 1996). Επίσης, στην επιφάνεια και στον ιστό των φυτών έχει βρεθεί ο μεταβολίτης 4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile (Caux et al., 1996).

Ο κύριος μεταβολίτης/προϊόν διάσπασης του CTN είναι το 4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile ή 4-hydroxychlorothalonil (εφεξής θα αναφέρεται ως HCTN) η δομή του οποίου απεικονίζεται στο σχήμα 3.2.



Σχήμα 3.2: Δομή του μεταβολίτη 4-hydroxychlorothalonil

Το HCTN σχηματίζεται κυρίως εξαιτίας της μικροβιακής διάσπασης του CTN και ανιχνεύεται κυρίως σε εδάφη και στα φυτά. Στα εδάφη είναι σταθερότερο και εμφανίζει μεγαλύτερη κινητικότητα σε σχέση με το CTN. (Van der Pas et al., 1999). Στα επιφανειακά νερά το HCTN συνήθως δεν ανιχνεύεται, γιατί ο χρόνος ημιζωής του είναι περίπου 2,6 ημέρες (Armbrust, 2001b). Η οξεία τοξικότητα του HCTN είναι 30 φορές μεγαλύτερη από του CTN (Cox, 1997). Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία η χορήγηση HCTN δια του στόματος σε αρουραίους για μικρό χρονικό διάστημα, προκαλεί μείωση του βάρους, αναιμία και βλάβες στο νωτιαίο μυελό, στη σπλήνα, στους νεφρούς και στο ήπαρ ενώ χρόνια δια στόματος

χορήγηση σε αρουραίους οδηγεί στην εμφάνιση αναιμίας, όγκων στη σπλήνα και θάνατο (Cox, 1997).

3.2 Μέθοδοι προσδιορισμού του CTN και του HCTN

Ο προσδιορισμός του CTN σε διάφορα υποστρώματα, όπως νερά, χώματα, ιζήματα, τρόφιμα και αέρα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, γίνεται κυρίως με χρήση αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (Gas Chromatography-Electron Capture Detector, GC-ECD) (O'Neil, 1991, Spencer et al., 1991, Van Doorn et al., 1995, Egea Gonzalez et al., 1997, Peñuela and Barceló, 1998, Chen et al., 2000, Ismail and Ngan, 2005), με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Jongen et al., 1991, Salau et al., 1994, Klöppel and Kördel, 1997, Armbrust, 2001a, Armbrust, 2001b, Park et al., 2002, Kwon and Armbrust, 2006) καθώς επίσης και με χρήση αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή μαζών (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) (Kuang et al., 2003, Putnam et al., 2003, Egea Gonzalez et al., 2004, Ramwell et al., 2004). Ο μεταβολίτης HCTN σε διάφορα υποστρώματα προσδιορίζεται με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους (HPLC-UV) (Van der Pas et al., 1999) καθώς επίσης και με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (Diode Array Detector, DAD) (Potter et al., 2001, Kwon and Armbrust, 2006). Επίσης, ο προσδιορισμός του HCTN πραγματοποιείται και με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων, αλλά σε αυτή την περίπτωση απαιτείται παραγωγοποίηση του HCTN με χρήση διαζωμεθανίου (Mukherjee and Gopal, 1995, Van Doorn et al., 1995). Όσον αφορά στον ταυτόχρονο προσδιορισμό των CTN και HCTN, υπάρχουν ελάχιστες μέθοδοι στη βιβλιογραφία, οι οποίες εφαρμόζονται σε δείγματα χώματος και νερού και στις οποίες χρησιμοποιείται η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή μαζών (Potter et al., 2001, Kwon and Armbrust, 2006), ενώ ο ταυτόχρονος προσδιορισμός τους σε δείγματα αέρα πραγματοποιείται με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους και είναι μέρος της παρούσας διατριβής (Kazos et al., 2008).

Στο κεφάλαιο 3 της παρούσας διατριβής αναπτύσσεται μία απλή, γρήγορη και ευαίσθητη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού του φυτοφαρμάκου CTN και του μεταβολίτη του HCTN σε δείγματα αέρα από θερμοκήπιο με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης και ανιχνευτή UV. Με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία, δεν υπάρχει παρόμοια μελέτη ταυτόχρονου προσδιορισμού του CTN και του HCTN σε αέρια δείγματα.

3.3 Δειγματοληψία του CTN στον αέρα

Για τη δειγματοληψία του CTN από τον αέρα χρησιμοποιούνται μικροφίλτρα υαλονημάτων (Leonard and Yeary, 1990), φίλτρα από κυτταρίνη (Brouwer et al., 1992a, Brouwer et al., 1992b), αφρός πολυουρεθάνης (González et al., 1997), μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με μικροστήλες που περιέχουν XAD-4 (Spencer et al., 1991) και μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με αφρό πολυουρεθάνης (PUF) (Chernyak et al., 1996). Σε όλες τις περιπτώσεις, που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για τον προσδιορισμό του CTN σε δείγματα αέρα, μετριέται η συνολική ποσότητα του CTN που βρίσκεται στον αέρα, χωρίς να γίνεται διάκριση στο ποσοστό του φυτοφαρμάκου που είναι προσροφημένο στα αιωρούμενα σωματίδια και στο ποσοστό που βρίσκεται στην αέρια φάση.

3.4 Αντιδραστήρια – Διαλύτες – Υλικά

Τα αντιδραστήρια, οι διαλύτες και τα υλικά που χρησιμοποιούνται στην παρούσα εργασία είναι τα εξής:

Διαλύτες

- Ακετονιτρίλιο, καθαρότητας HPLC (Labscan, Dublin, Ireland)
- Ύδωρ, καθαρότητας HPLC (Labscan, Dublin, Ireland)

Αντιδραστήρια

- Chlorothalonil, καθαρότητας 99,2 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- 4-Hydroxychlorothalonil, καθαρότητας 98 % w/w (Παραχωρήθηκε στο εργαστήριο από τον Dr. Kevin L. Armbrust, Mississippi State Chemical Laboratory, Mississippi State University, USA)
- Δισόξινο φωσφορικό κάλιο, καθαρότητας 99,5 % w/w (BDH Chemicals Ltd, Poole, England)
- NaOH, καθαρότητας 99 % w/w (Merck, Germany)

Υλικά

- Ήλιο, καθαρότητας 99,999 %, για την απαέρωση των διαλυτών της HPLC
- Εμπορικό σκεύασμα Daconil 500SC 50 % w/v σε chlorothalonil (Syngenta, Hellas)
- Μικροφίλτρα υαλονημάτων (glass microfiber filters, GF/A) (Whatman, England)
- Silica gel, 70-230 mesh, 60 Å (Sigma-Aldrich, Germany)

- Amberlite XAD-2, 20-60 mesh (Sigma-Aldrich, Germany)
- Florisil 60-100 mesh (Sigma-Aldrich, Germany)
- Tenax 35-60 mesh (Alltech, Italy)

3.5 Διαλύματα

- Διάλυμα παρακαταθήκης του CTN και του μεταβολίτη του HCTN συγκέντρωσης 1,0 mg/ml. Ζυγίζονται 10,0 mg από την κάθε ουσία, διαλύονται σε περίπου 7 ml ακετονιτρίλιου, το διάλυμα μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με ακετονιτρίλιο. Τα διαλύματα φυλάσσονται στο ψυγείο στους +4 °C. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, τα διαλύματα παρακαταθήκης παραμένουν σταθερά για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών. Διαλύματα των ουσιών μικρότερης συγκέντρωσης παρασκευάζονται από τα διαλύματα παρακαταθήκης με κατάλληλη αραίωση με ακετονιτρίλιο.
- Διαλύματα εργασίας του CTN και του HCTN. Τα διαλύματα εργασίας των ουσιών παρασκευάζονται καθημερινά με κατάλληλη αραίωση των διαλυμάτων παρακαταθήκης με διάλυμα, το οποίο περιέχει ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (10 mM, pH=5,0) σε αναλογία 55:45.
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM. Ζυγίζονται 1,3600 g δισόξινου φωσφορικού καλίου, διαλύονται σε περίπου 900 ml δις απεσταγμένου ύδατος, ρυθμίζεται το pH σε τιμή ίση με 5,0 με προσθήκη 100 μl διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0,5 M, το διάλυμα μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με δις απεσταγμένο ύδωρ.

3.6 Όργανα – Συσκευές

1. Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Το σύστημα αποτελείται από αντλία LC-10AD, μίκτη διαλυτών FCV-10AL, σύστημα θερμοστάτησης χρωματογραφικής στήλης CTO-10Avr και ανιχνευτή ορατού–υπεριώδους (UV-Vis) SPD-10AV. Τα δεδομένα συλλέγονται και επεξεργάζονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο είναι εγκατεστημένο το πρόγραμμα Class-VP, Chromatography Data System, version 4.3. Όλες οι μονάδες της υγρής χρωματογραφίας και το πρόγραμμα συλλογής και επεξεργασίας των δεδομένων είναι της εταιρείας Shimadzu (Tokyo, Japan). Ο διαχωρισμός του CTN και του HCTN επιτυγχάνεται με στήλη Kromasil C8 μήκους 250 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μm και μεγέθους πόρων 120 Å.

2. Αντλία δειγματοληψίας αερίων με δυνατότητα ροής από 6 έως 30 l/min MCS 30 (SKC, England)
3. Αντλία δειγματοληψίας αερίων με δυνατότητα ροής από 3 έως 12 l/min MCS 10 (SKC, England)
4. Ροόμετρο με δυνατότητα μέτρησης από 0,010 έως 12 l/min DryCal® CD-Lite (Bios International, USA)
5. Αισθητήρας μέτρησης θερμοκρασίας και υγρασίας HMI 31 (Vaisala, Finland)
6. Φυγόκεντρος 1200 (Hettich Universal, Germany)
7. Υποδοχέας από Teflon για την τοποθέτηση των μικροφίλτρων υαλονημάτων Supelco (Bellefonte, USA)
8. Υάλινος σωλήνας, στον οποίο τοποθετείται ο υποδοχέας από Teflon, Supelco (Bellefonte, USA)
9. Μικροστήλες από Teflon μήκους 25 mm και διαμέτρου 10 mm (Waters, USA)

3.7 Προσδιορισμός του CTN και του HCTN

3.7.1 Γενική πειραματική πορεία

Τα υλικά δειγματοληψίας (μικροφίλτρα υαλονημάτων GF/A, διαμέτρου 25 mm και 200 mg silica gel) τοποθετούνται σε υάλινα φιαλίδια, εμβολιάζονται με διαλύματα του CTN και του HCTN κατάλληλων συγκεντρώσεων και τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min για να εξατμιστεί ο διαλύτης. Μετά την εξάτμιση του διαλύτη, ακολουθεί εκχύλιση των αναλυόμενων ουσιών από τα υλικά δειγματοληψίας. Συγκεκριμένα, στα υάλινα φιαλίδια, που περιέχουν τα υλικά δειγματοληψίας, προστίθενται 2 ml εκχυλιστικού μέσου (ακετονιτρίλιο-ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (10 mM, pH=5,0) σε αναλογία 55:45 v/v), τα φιαλίδια ανακινούνται σε vortex για 1 min και στη συνέχεια τοποθετούνται σε λουτρό υπερήχων για 10 min. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 20 min στις 3500 στροφές/min και τέλος 20 μl από το υπερκείμενο διάλυμα εγχέεται στην HPLC.

3.7.2 Χρωματογραφικές συνθήκες HPLC

Οι συνθήκες, που χρησιμοποιούνται στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης για τον προσδιορισμό του CTN και του HCTN, είναι οι εξής:

- Κινητή φάση. Η κινητή φάση αποτελείται από ακετονιτρίλιο (διαλύτης A) και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) (διαλύτης B). Ο διαχωρισμός των ουσιών επιτυγχάνεται με βαθμωτή έκλυση χρησιμοποιώντας το εξής πρόγραμμα: αρχικά η περιεκτικότητα του διαλύτη A είναι 30 % v/v και αυξάνεται γραμμικά μέχρι 70 % v/v σε 16 min, όπου και παραμένει σταθερή μέχρι τα 18 min. Στη συνέχεια, η περιεκτικότητα του διαλύτη A μειώνεται στο 30 % v/v μέχρι τα 20 min, όπου και παραμένει για 10 min ώστε να εξισορροπηθεί το σύστημα. Η ροή της κινητής φάσης είναι 0,6 ml/min. Ο χρόνος κατακράτησης του HCTN είναι 10,05 min και του CTN 19,12 min.
- Μήκος κύματος ανιχνευτή, 242 nm. Το συγκεκριμένο μήκος κύματος επιλέγεται γιατί τόσο το CTN όσο και το HCTN παρουσιάζουν μέγιστο απορρόφησης στα αντίστοιχα φάσματα.
- Θερμοκρασία στήλης, 30 °C.
- Όγκος έγχυσης, 20 μl.
- Χρωματογραφική στήλη, Kromasil C8 μήκους 250 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μm και πόρων 120 Å.

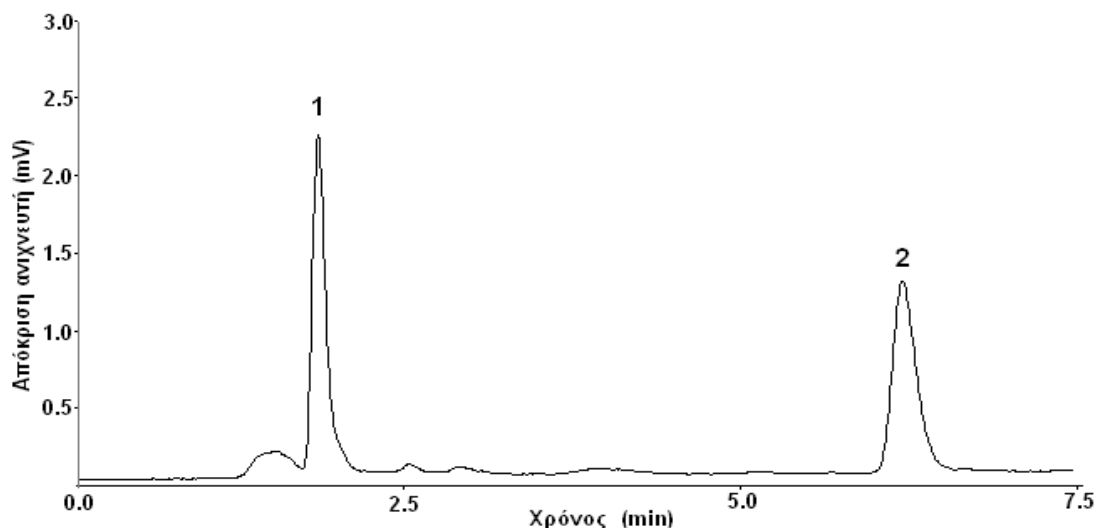
3.7.3 Επιλογή χρωματογραφικής στήλης και κινητής φάσης

Προκειμένου να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες για τον επιτυχή διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση των μελετώμενων ουσιών χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικές χρωματογραφικές στήλες, οι οποίες δοκιμάζονται κάτω από διάφορες πειραματικές συνθήκες.

Πιο συγκεκριμένα, μελετώνται οι χρωματογραφικές στήλες Kromasil C8 (μήκους 250 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μm και μεγέθους πόρων 120 Å) και Hypesil BDS C18 (μήκους 200 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μm και μεγέθους πόρων 120 Å). Αρχικά, χρησιμοποιείται η στήλη Hypesil και μεταβάλλοντας τη συγκέντρωση των φωσφορικών και το pH του ρυθμιστικού διαλύματος των φωσφορικών, καθώς επίσης και την αναλογία των διαλυτών A (ακετονιτρίλιο) και B (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών) στην κινητή φάση επιζητείται ο καλύτερος διαχωρισμός των δύο αναλυόμενων ουσιών. Από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής προκύπτει ότι ικανοποιητικός διαχωρισμός των δύο ουσιών επιτυγχάνεται με τη στήλη Hypesil BDS C18 χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση διάλυμα ακετονιτρίλιου:ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) αναλογίας 55:45 v/v σε ισοκρατικές συνθήκες. Η ροή της κινητής φάσης είναι ίση προς 1 ml/min και η στήλη θερμοστατείται στους 30 °C. Ο διαχωρισμός των δύο ουσιών, κάτω από αυτές τις συνθήκες, επιτυγχάνεται σε χρονικό διάστημα μικρότερο των επτά

λεπτών (οι χρόνοι κατακράτησης του HCTN και του CTN είναι 1,89 και 6,15 min, αντίστοιχα). Στο σχήμα 3.3 παρουσιάζεται ένα τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος των δύο ουσιών, συγκέντρωσης 0,10 µg/ml, που λαμβάνεται με τη στήλη Hypesil BDS C18.

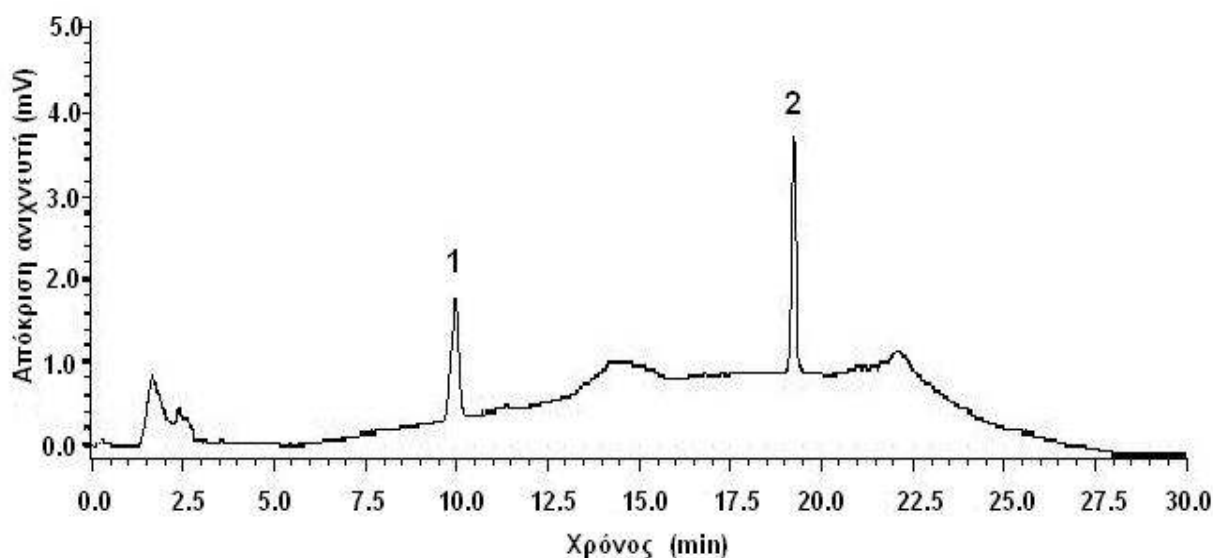
Όμως, όταν χρησιμοποιείται η στήλη Hypesil BDS C18 με τις συνθήκες που αναφέρονται προηγουμένως, για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των μελετώμενων ουσιών σε δείγματα, τα οποία λαμβάνονται από τον αέρα θερμοκηπίου, παρατηρείται ότι στο χρόνο έκλουσης του μεταβολίτη εμφανίζεται και μία άλλη κορυφή, με συνέπεια να είναι αδύνατη η ποσοτικοποίησή του. Η εμφάνιση της κορυφής, που εκλούεται μαζί με το μεταβολίτη, πιθανώς οφείλεται σε ουσίες, οι οποίες εκλύονται είτε από τα καλλιεργούμενα φυτά είτε από τα υλικά κατασκευής του θερμοκηπίου.



Σχήμα 3.3: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,10 µg/ml των HCTN (1) και CTN (2), που λαμβάνεται με τη στήλη Hypesil BDS C18

Ακολούθως, μελετάται ο διαχωρισμός των HCTN και CTN με χρήση της στήλης Kromasil C8. Και στην περίπτωση αυτή μελετάται η επίδραση της μεταβολής της συγκέντρωσης των φωσφορικών και του pH του ρυθμιστικού διαλύματος των φωσφορικών, καθώς και της αναλογίας των διαλυτών της κινητής φάσης. Τελικά, καλός διαχωρισμός των δύο ουσιών επιτυγχάνεται με τη στήλη Kromasil C8 και κινητή φάση ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0), με συνθήκες βαθμωτής έκλουσης, που περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.7.2, σε χρονικό διάστημα μικρότερο των 20 min. Επιπλέον, στην ανάλυση των δειγμάτων με τις συγκεκριμένες συνθήκες δεν παρατηρούνται παρεμποδίσεις από το υπόστρωμα (matrix effect). Στο σχήμα 3.4 απεικονίζεται ένα τυπικό

χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος των δύο ουσιών, συγκέντρωσης 0,10 µg/ml, που λαμβάνεται με τη στήλη Kromasil C8.



Σχήμα 3.4: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος συγκέντρωσης 0,10 µg/ml των HCTN (1) και CTN (2), που λαμβάνεται με τη στήλη Kromasil C8

3.7.4 Αναλυτικά χαρακτηριστικά μεθόδου

Καμπύλες αναφοράς του HCTN και του CTN

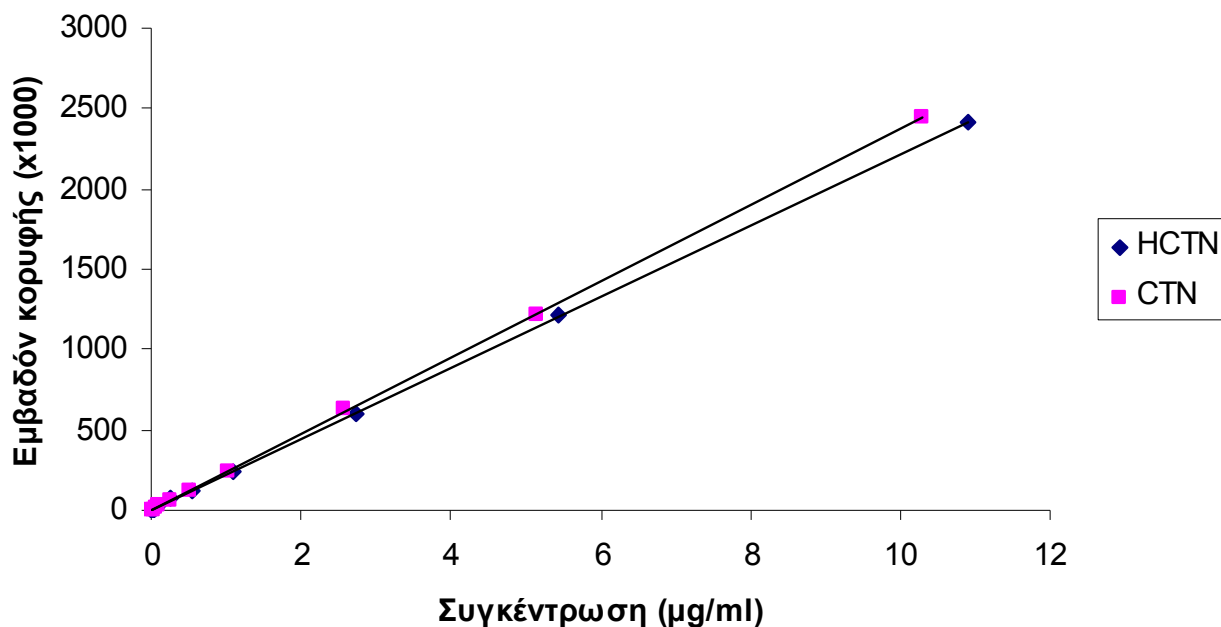
Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα η χάραξη των καμπυλών αναφοράς των δύο ουσιών. Από τα διαλύματα παρακαταθήκης, με κατάλληλες αραιώσεις, παρασκευάζονται δέκα πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0,01 έως 10,90 µg/ml για το HCTN και 0,01 έως 10,30 µg/ml για το CTN. Στα παραπάνω διαλύματα γίνεται ανάλυση στην HPLC χρησιμοποιώντας τις συνθήκες που προκύπτουν από τη βελτιστοποίηση. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο σχήμα 3.5.

Η εξίσωση ευθείας για το CTN είναι $y = 237167x + 341$ με συντελεστή γραμμικής συσχέτισης $r^2 = 0,9999$ και για το HCTN $y = 221909x - 423$ με συντελεστή γραμμικής συσχέτισης $r^2 = 0,9999$.

Επαναληψιμότητα-Όρια ανίχνευσης μεθόδου

Ο έλεγχος της επαναληψιμότητας της μεθόδου τόσο την ίδια ημέρα (intra-day) όσο και μεταξύ διαφορετικών ημερών (inter-day), πραγματοποιείται με ανάλυση πέντε πρότυπων διαλυμάτων των ουσιών συγκεντρώσεων 0,25, 1,00 και 2,50 µg/ml την ίδια ημέρα καθώς και για πέντε συνεχόμενες ημέρες. Η σχετική τυπική απόκλιση στο πείραμα της ίδιας ημέρας για το CTN, στο εύρος των συγκεντρώσεων που μελετάται, κυμαίνεται από 0,7 έως 1,7 %, ενώ

για το HCTN κυμαίνεται από 0,5 έως 3,2 %. Μεταξύ διαφορετικών ημερών, η σχετική τυπική απόκλιση για το CTN κυμαίνεται από 1,0 έως 6,5 %, ενώ για το HCTN κυμαίνεται από 0,7 έως 4,9 %. Σε κάθε περίπτωση η επαναληψιμότητα της μεθόδου είναι ιδιαίτερα ικανοποιητική.



Σχήμα 3.5: Καμπύλες αναφοράς του HCTN (1) και του CTN (2).

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου υπολογίζονται ως η τιμή της συγκέντρωσης για την οποία το σήμα του ανιχνευτή είναι αντίστοιχα τριπλάσιο και δεκαπλάσιο του θορύβου, που υπολογίζεται από την ανάλυση τριών τυφλών δειγμάτων. Τα όρια ανίχνευσης για το CTN και το HCTN είναι 0,3 και 1,3 ng/ml αντίστοιχα, ενώ τα όρια ποσοτικοποίησης 1,0 και 4,2 ng/ml, αντίστοιχα. Λαμβάνοντας υπόψη όλη τη μεθοδολογία, δηλαδή τον εμβολιασμό και τις εκχυλίσσεις των φίλτρων, τα όρια ποσοτικοποίησης είναι 2,1 και 4,9 ng/ml (τα οποία αντιστοιχούν σε 4,2 και 9,8 ng/φίλτρο) για το CTN και το HCTN, αντίστοιχα. Τα συγκεκριμένα όρια ποσοτικοποίησης ισοδυναμούν με 8,4 και 19,6 ng/m³ για το CTN και το HCTN, αντίστοιχα, θεωρώντας ότι η δειγματοληψία διαρκεί 4 ώρες με ροή 2 l/min (δηλαδή ο συνολικός όγκος που συλλέγεται ισοδυναμεί περίπου με 500 l).

3.8 Επιλογή προσροφητικού υλικού για τη συλλογή των CTN και HCTN από την αέρια φάση

Προκειμένου να βρεθεί το κατάλληλο προσροφητικό υλικό για τη συλλογή των CTN και HCTN, τα οποία βρίσκονται στην αέρια φάση (ατμοί), μελετώνται τα υλικά Tenax, XAD-2, Silica Gel και Florisil. Η επιλογή του κατάλληλου προσροφητικού υλικού βασίζεται στη μελέτη της ανάκτησης των αναλυόμενων ουσιών από τα μελετώμενα υλικά, τα οποία εμβολιάζονται με τον εξής τρόπο: 200 mg Tenax, 250 mg XAD-2, 400 mg Florisil και 200 mg Silica gel τοποθετούνται, ξεχωριστά, σε καθαρά υάλινα φιαλίδια με πώμα από Teflon και εμβολιάζονται με 100 μl από πρότυπο διάλυμα που περιέχει τις προς μελέτη ουσίες, σε συγκέντρωση 50,0 μg/ml (5,0 μg από την κάθε ουσία). Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης και στη συνέχεια προστίθενται 2 ml εκχυλιστικού μέσου (ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 55:45 v/v), ανακινούνται στο vortex για 1 min και τοποθετούνται στο λουτρό υπερήχων για χρονικό διάστημα 10 και 30 min. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 20 min και στη συνέχεια 20 μl από το υπερκείμενο διάλυμα εγχέονται στην HPLC. Η ποσοτικοποίηση των ουσιών πραγματοποιείται με σύγκριση του εμβαδού της κορυφής με καμπύλη αναφοράς που κατασκευάζεται από πρότυπα διαλύματα των ουσιών. Το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Στον πίνακα 3.1 παρουσιάζονται οι ανακτήσεις του CTN και του HCTN από τα υλικά που μελετούνται για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων 10 και 30 min.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 3.1 φαίνεται ότι η ανάκτηση του CTN από τα υλικά Tenax, XAD-2 και Florisil είναι χαμηλή, $33,1 \pm 6,0$, $20,6 \pm 7,0$ και $70,3 \pm 4,1$ %, αντίστοιχα, ενώ αντίθετα στην περίπτωση του silica gel η ανάκτηση είναι ποσοτική και ίση προς $98,7 \pm 0,8$ %, για χρόνο παραμονής των υλικών 10 min στο λουτρό υπερήχων. Μεγαλύτερος χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων δε βελτιώνει σημαντικά την ανάκτηση του CTN από το Tenax, το XAD-2 και το Silica gel, σε αντίθεση με το Florisil που τα 30 min παραμονής στο λουτρό υπερήχων οδηγούν σχεδόν στην ποσοτική ($92,9 \pm 2,5$ %) ανάκτησή του. Η ανάκτηση του μεταβολίτη HCTN από όλα τα υλικά και με όλες τις συνθήκες που μελετώνται είναι μεγαλύτερη από 90,2 %, με την καλύτερη ανάκτηση να λαμβάνεται στην περίπτωση του silica gel. Με βάση αυτά τα πειραματικά δεδομένα, επιλέγεται το silica gel ως το καταλληλότερο υλικό για τη συλλογή και των δύο ουσιών ταυτόχρονα από την αέρια φάση. Ως χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων επιλέγονται τα 10 min γιατί μεγαλύτερο χρονικό διάστημα δε βελτιώνει σημαντικά τις ανακτήσεις των μελετώμενων ουσιών.

Πίνακας 3.1: Ανάκτηση του CTN και του HCTN από τα εμβολιασμένα υλικά μετά από χρόνο παραμονής 10 και 30 min στο λουτρό υπερήχων (ποσότητα κάθε ουσίας 5,0 µg ανά φίλτρο)

Υλικό	Ανάκτηση ± RSD (%) (10 min στο λουτρό υπερήχων)		Ανάκτηση ± RSD (%) (30 min στο λουτρό υπερήχων)	
Tenax	HCTN	91,3 ± 3,0	HCTN	90,2 ± 3,5
	CTN	33,1 ± 6,0	CTN	41,7 ± 5,0
Florisil	HCTN	97,1 ± 1,0	HCTN	98,3 ± 0,7
	CTN	70,3 ± 4,1	CTN	92,9 ± 2,5
XAD-2	HCTN	93,6 ± 1,2	HCTN	95,4 ± 1,2
	CTN	20,6 ± 7,0	CTN	22,3 ± 7,0
Silica gel	HCTN	101,1 ± 0,5	HCTN	100,4 ± 0,5
	CTN	98,7 ± 0,8	CTN	101,1 ± 0,7

3.9 Επιλογή διαλύματος εκχύλισης - Επιλογή του όγκου του διαλύματος εκχύλισης για την ανάκτηση των CTN και HCTN από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel και μικροφίλτρα υαλονημάτων

Η ποσοτική εκχύλιση των προσδιοριζόμενων ουσιών από το προσροφητικό υλικό είναι σημαντική παράμετρος και σχετίζεται τόσο με τη φύση όσο και με την ποσότητα του διαλύματος εκχύλισης. Στην παρούσα εργασία, αρχικά δοκιμάζεται ως εκχυλιστικό μέσο το διάλυμα της κινητής φάσης (ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) = 55:45 v/v). Τα αποτελέσματα δείχνουν ποσοτική ανάκτηση και των δύο αναλυόμενων ουσιών τόσο από τα φίλτρα silica gel όσο και από τα φίλτρα υαλονημάτων. Για το λόγο αυτό δεν δοκιμάστηκαν άλλα εκχυλιστικά μέσα.

Στη συνέχεια, μελετάται η επίδραση του όγκου του εκχυλιστικού μέσου στην ανάκτηση των προσδιοριζόμενων ουσιών. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιούνται πειράματα με χρήση διαφορετικών όγκων διαλύματος εκχύλισης. Σε όλες τις περιπτώσεις εμβολιάζονται μικροφίλτρα υαλονημάτων διαμέτρου 25 mm και 200 mg silica gel με 5,0 µg από την κάθε ουσία (100 µl από πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 50,0 µg/ml ως προς κάθε ουσία) και τα εμβολιασμένα φίλτρα τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min. Στη συνέχεια προστίθενται 1,

2 ή 4 ml διαλύματος εκχύλισης και ακολουθεί κατεργασία, όπως αυτή περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.7.1. Η ποσοτικοποίηση των ουσιών πραγματοποιείται με σύγκριση του εμβαδού της κορυφής με καμπύλη αναφοράς που κατασκευάζεται από πρότυπα διαλύματα των ουσιών. Το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 3.2, τόσο το CTN όσο και το HCTN εκχυλίζονται ποσοτικά ακόμη και όταν χρησιμοποιείται 1 ml από το διάλυμα εκχύλισης. Όμως, ο όγκος εκχύλισης που επιλέγεται τελικά, είναι 2 ml, γιατί στην περίπτωση που χρησιμοποιείται 1 ml παρατηρούνται δυσκολίες στην παραλαβή των 20 μl από το υπερκείμενο διάλυμα, ενώ όταν χρησιμοποιούνται 4 ml τα όρια ανίχνευσης είναι υψηλότερα κατά δύο φορές.

Πίνακας 3.2: Επίδραση του όγκου του διαλύματος εκχύλισης στην ανάκτηση του CTN και του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel (ποσότητα κάθε ουσίας 5,0 μg)

Όγκος εκχύλισης (ml)	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)			
	Φίλτρα Silica gel		Μικροφίλτρα GF/A	
1	CTN	103,6 $\pm$ 2,4	CTN	98,1 $\pm$ 3,3
	HCTN	107,2 $\pm$ 1,9	HCTN	99,2 $\pm$ 3,5
2	CTN	102,0 $\pm$ 0,7	CTN	100,6 $\pm$ 0,7
	HCTN	101,7 $\pm$ 0,7	HCTN	100,3 $\pm$ 1,2
4	CTN:	101,6 $\pm$ 1,0	CTN	99,0 $\pm$ 1,2
	HCTN	98,2 $\pm$ 0,7	HCTN	98,7 $\pm$ 2,3

3.10 Μελέτη της ανάκτησης διαφορετικών συγκεντρώσεων των CTN και HCTN από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel και μικροφίλτρα υαλονημάτων

Η μελέτη της επίδρασης της ποσότητας των CTN και HCTN στην ανάκτηση από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel, πραγματοποιείται με τα παρακάτω πειράματα: μικροφίλτρα υαλονημάτων διαμέτρου 25 mm, καθώς επίσης και 200 mg silica gel τοποθετούνται σε ξεχωριστά υάλινα φιαλίδια και

εμβολιάζονται με 0,02, 0,05, 0,10, 0,50, 1,00, 2,00, 5,00 και 10,00 μg από την κάθε ουσία χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα κατάλληλων συγκεντρώσεων και ακολουθεί κατεργασία, όπως αυτή περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.7.1. Το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 3.3.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 3.3 φαίνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις, οι ανακτήσεις των ουσιών είναι πολύ καλές (μεγαλύτερες από 93,1 %). Επιπλέον, σε όλο το εύρος των ποσοτήτων που εμβολιάζονται οι ανακτήσεις των ουσιών είναι σταθερές και δεν εξαρτώνται από την ποσότητα των ουσιών, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου.

Πίνακας 3.3: Ανακτήσεις των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υλονημάτων και φίλτρα silica gel, σε διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού

Εμβολιασμένη ποσότητα (μg)	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)	
	Φίλτρα Silica gel	Μικροφίλτρα GF/A
0,02	CTN 103,1 $\pm$ 4,0	CTN 100,8 $\pm$ 4,6
	HCTN 95,4 $\pm$ 7,0	HCTN 105,6 $\pm$ 5,0
0,05	CTN 99,3 $\pm$ 2,1	CTN 98,0 $\pm$ 1,0
	HCTN 103,2 $\pm$ 3,1	HCTN 94,2 $\pm$ 5,7
0,10	CTN 100,8 $\pm$ 1,8	CTN 99,2 $\pm$ 1,7
	HCTN 98,4 $\pm$ 1,5	HCTN 93,1 $\pm$ 0,8
0,50	CTN 100,2 $\pm$ 1,0	CTN 102,8 $\pm$ 4,1
	HCTN 97,1 $\pm$ 3,3	HCTN 102,0 $\pm$ 2,6
1,00	CTN 98,9 $\pm$ 2,6	CTN 98,1 $\pm$ 1,0
	HCTN 104,5 $\pm$ 2,5	HCTN 96,4 $\pm$ 1,0
2,00	CTN 93,4 $\pm$ 0,8	CTN 101,6 $\pm$ 6,4
	HCTN 97,4 $\pm$ 0,7	HCTN 97,4 $\pm$ 4,7
5,00	CTN 100,6 $\pm$ 0,7	CTN 100,6 $\pm$ 0,7
	HCTN 99,9 $\pm$ 0,5	HCTN 99,9 $\pm$ 1,2
10,00	CTN 97,3 $\pm$ 2,1	CTN 100,1 $\pm$ 1,2
	HCTN 101,2 $\pm$ 2,5	HCTN 99,4 $\pm$ 1,0

3.11 Μελέτη της σταθερότητας των CTN και HCTN σε εμβολιασμένα φίλτρα κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους

Τα δείγματα, τα οποία λαμβάνονται κατά τη διάρκεια αέριων δειγματοληψιών, συνήθως δεν αναλύονται αμέσως μετά την άφιξή τους στο εργαστήριο και τις πιο πολλές φορές μεσολαβεί χρονικό διάστημα ακόμα και αρκετών ημερών μέχρι να εκχυλιστούν και να αναλυθούν. Έτσι λοιπόν απαιτείται συστηματική μελέτη της σταθερότητας των προσροφημένων ουσιών στα φίλτρα ώστε να είναι δυνατή η ασφαλής αποθήκευσή τους σε κατάλληλες συνθήκες. Για το λόγο αυτό, σχεδιάζεται ένα πείραμα, κατά το οποίο μελετάται η σταθερότητα των μελετώμενων ουσιών σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα silica gel κάτω από διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Το συγκεκριμένο πείραμα εκτελείται σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχονται από τα εγχειρίδια του οργανισμού για την ασφάλεια και την υγεία στην εργασία (Occupational Safety and Health Administration, OSHA) (OSHA, 1999). Η μελέτη της σταθερότητας των ουσιών CTN και HCTN πραγματοποιείται ως εξής: 33 μικροφίλτρα υαλονημάτων και 33 φίλτρα silica gel εμβολιάζονται με 0,5 μg από την κάθε ουσία και άλλη μία ομάδα, η οποία αποτελείται από τον ίδιο αριθμό φίλτρων, εμβολιάζεται με 5,0 μg από την κάθε ουσία. Ακολούθως, τρία φίλτρα από την κάθε κατηγορία εκχυλίζονται και αναλύονται με τις συνθήκες που αναφέρονται προηγουμένως, την ίδια ημέρα που πραγματοποιείται ο εμβολιασμός. Από τα υπόλοιπα εμβολιασμένα φίλτρα, τα 15 αποθηκεύονται σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου και τα άλλα 15 στους +4 °C, για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Κάθε τρεις ημέρες, τρία τυχαία δείγματα επιλέγονται από την κάθε ομάδα και αναλύονται για τον προσδιορισμό της ποσότητας του CTN και του HCTN που παραμένει σε αυτά. Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσιάζονται στον πίνακα 3.4.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 3.4, η % ανάκτηση και των δύο μελετώμενων ουσιών για χρονικό διάστημα 15 ημερών είναι σταθερή και μεγαλύτερη από 94,7 %. Τα αποτελέσματα δείχνουν σαφώς, ότι κατά την αποθήκευση των εμβολιασμένων φίλτρων τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους +4 °C δεν παρατηρείται μείωση των τιμών της ανάκτησης ούτε για το CTN ούτε για το HCTN και επομένως συμπεραίνεται ότι δεν συμβαίνει ούτε απώλεια ούτε αποσύνθεση των μελετώμενων ουσιών στα φίλτρα. Συνεπώς, με βάση τη συγκεκριμένη μελέτη, φαίνεται ότι είναι εφικτή η αποθήκευση των μικροφίλτρων υαλονημάτων και των φίλτρων silica gel, τα οποία περιέχουν CTN και HCTN, για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 15 ημερών μέχρι να πραγματοποιηθεί η ανάλυσή τους.

Πίνακας 3.4: Μελέτη της σταθερότητας του CTN και του HCTN σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα silica gel κατά την αποθήκευσή τους σε διαφορετικές συνθήκες

Ουσία	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)							
	Μικροφίλτρα GF/A				Φίλτρα Silica gel			
	Εμβολιασμένη ποσότητα (0,5 μ g)		Εμβολιασμένη ποσότητα (5,0 μ g)		Εμβολιασμένη ποσότητα (0,5 μ g)		Εμβολιασμένη ποσότητα (5,0 μ g)	
	4 °C	Θερμοκρασία δωματίου	4 °C	Θερμοκρασία δωματίου	4 °C	Θερμοκρασία δωματίου	4 °C	Θερμοκρασία δωματίου
CTN	101,0 $\pm$ 1,3	100,5 $\pm$ 1,1	102,7 $\pm$ 0,9	102,2 $\pm$ 0,4	101,3 $\pm$ 1,3	100,9 $\pm$ 1,3	102,6 $\pm$ 0,6	103,1 $\pm$ 1,1
HCTN	95,5 $\pm$ 1,7	96,0 $\pm$ 0,8	97,8 $\pm$ 0,7	97,4 $\pm$ 0,3	94,7 $\pm$ 0,9	95,4 $\pm$ 1,2	95,6 $\pm$ 0,7	96,2 $\pm$ 1,0

3.12 Μελέτη της ικανότητας συλλογής των CTN και HCTN από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων silica gel

Στα μέχρι τώρα πειράματα, η μελέτη της ανάκτησης των μελετώμενων ουσιών από φίλτρα silica gel, πραγματοποιείται με εμβολιασμό των φίλτρων με πρότυπα διαλύματα. Όμως, επειδή στην ατμόσφαιρα του θερμοκηπίου ένα ποσοστό των ουσιών βρίσκεται στην αέρια φάση, κρίνεται σκόπιμο να μελετηθεί η ικανότητα συλλογής τους από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων silica gel. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιείται σύστημα δημιουργίας σταθερής συγκέντρωσης των ουσιών στην αέρια φάση, το οποίο αποτελείται από αέριο χρωματογράφο, στον οποίο προσαρμόζεται κοίλος σωλήνας από χαλκό μήκους 2 m και εσωτερικής διαμέτρου 0,6 cm σε μορφή έλικας. Ο σωλήνας, πριν την έναρξη των πειραμάτων, καθαρίζεται διαδοχικά με μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και ακετόνη και στη συνέχεια θερμαίνεται στους 180 °C για 2 ώρες, ενώ στο εσωτερικό του διαβιβάζεται συνεχώς αέρας.

Μετά τον καθαρισμό του σωλήνα, η ροή του αέρα ρυθμίζεται στο 1,5 l/min και στην έξοδο του σωλήνα τοποθετείται μικροστήλη, η οποία περιέχει 200 mg silica gel. Ακολουθώς, ρυθμίζεται η θερμοκρασία του αέριου χρωματογράφου στους 70, 100 ή 150 °C. Στον αέριο χρωματογράφο εγχέονται 100 μl ακετονιτριλίου, που αποτελούν το τυφλό δείγμα, ακολουθεί δειγματοληψία για χρονικό διάστημα 1 ή 2 ωρών. Στη συνέχεια εγχέονται 100 μl πρότυπου διαλύματος των μελετώμενων ουσιών συγκέντρωσης 50,0 μg/ml (5,0 μg από την κάθε ουσία) και ακολουθεί δειγματοληψία για 1 ή 2 ώρες. Η μελέτη, όπως και στην περίπτωση του τυφλού, πραγματοποιείται στους 70, 100 και 150 °C. Μεταξύ των εγχύσεων, η θερμοκρασία του χρωματογράφου αυξάνεται στους 180 °C, ώστε να εκροφηθούν τυχόν υπολείμματα των ουσιών. Σε κάθε θερμοκρασία πραγματοποιούνται τρία πειράματα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 3.5.

Τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος δείχνουν ότι το CTN συλλέγεται ποσοτικά από τα φίλτρα Silica gel, με τις καλύτερες ανακτήσεις να επιτυγχάνονται στους 100 °C ($98,3 \pm 6,1$ και $100,2 \pm 5,3$ % για χρόνους δειγματοληψίας 1 και 2 ώρες, αντίστοιχα). Αντίθετα, στην περίπτωση του μεταβολίτη HCTN οι παρατηρούμενες ανακτήσεις είναι μικρές ($10,1 \pm 3,3$ και $13,4 \pm 7,3$ %, για χρόνους δειγματοληψίας 1 και 2 ώρες, αντίστοιχα) στους 100 °C και βελτιώνονται ελάχιστα όταν η θερμοκρασία αυξάνεται στους 150 °C ($15,2 \pm 5,3$ και $18,2 \pm 4,1$ % για χρόνους δειγματοληψίας 1 και 2 ώρες, αντίστοιχα). Στους 70 °C δεν ανιχνεύεται το HCTN στα φίλτρα. Το συγκεκριμένο γεγονός, ενδεχομένως οφείλεται στην πολύ χαμηλή τάση ατμών του μεταβολίτη HCTN ($1,9 \times 10^{-4}$ mPa, στους 20 °C) σε σχέση με την τάση ατμών του CTN (0,076 mPa, στους 25 °C) ή στο γεγονός ότι ο μεταβολίτης δεν κατακρατείται από το silica gel. Για να ελεγχθεί ποια από τις δύο υποθέσεις είναι η σωστή, μετά το τέλος του πειράματος, ο σωλήνας απομακρύνεται από τον αέριο χρωματογράφο και

το εσωτερικό της εκπλύνεται τρεις φορές με 60 ml ακετονιτριλίου. Τα υγρά έκπλυσης από τις τρεις διαδοχικές εκπλύσεις συλλέγονται και εξατμίζονται μέχρι ξηρού σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα. Το υπόλειμμα διαλύεται σε 10 ml κινητής φάσης και 20 μl εγχέονται στην HPLC. Τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος δείχνουν ότι η συνολική ποσότητα του μεταβολίτη (μείον την ποσότητα που κατακρατήθηκε από το silica gel) παρέμεινε μέσα στη στήλη, γεγονός που οφείλεται στην πολύ χαμηλή τάση ατμών του HCTN.

Πίνακας 3.5: Μελέτη της ικανότητας συλλογής των CTN και HCTN από την αέρια φάση, με φίλτρα silica gel

Θερμοκρασία (°C)	Ανάκτηση ± RSD (%)	
	Χρόνος δειγματοληψίας 1 ώρα	Χρόνος δειγματοληψίας 2 ώρες
70	CTN 90,3 ± 8,3 HCTN **	CTN 95,4 ± 4,0 HCTN **
100	CTN 98,3 ± 6,1 HCTN 10,1 ± 3,3	CTN 100,2 ± 5,3 HCTN 13,4 ± 7,3
150	CTN 95,0 ± 4,1 HCTN 15,2 ± 5,3	CTN 96,0 ± 7,4 HCTN 18,2 ± 4,1

** Δεν ανιχνεύεται

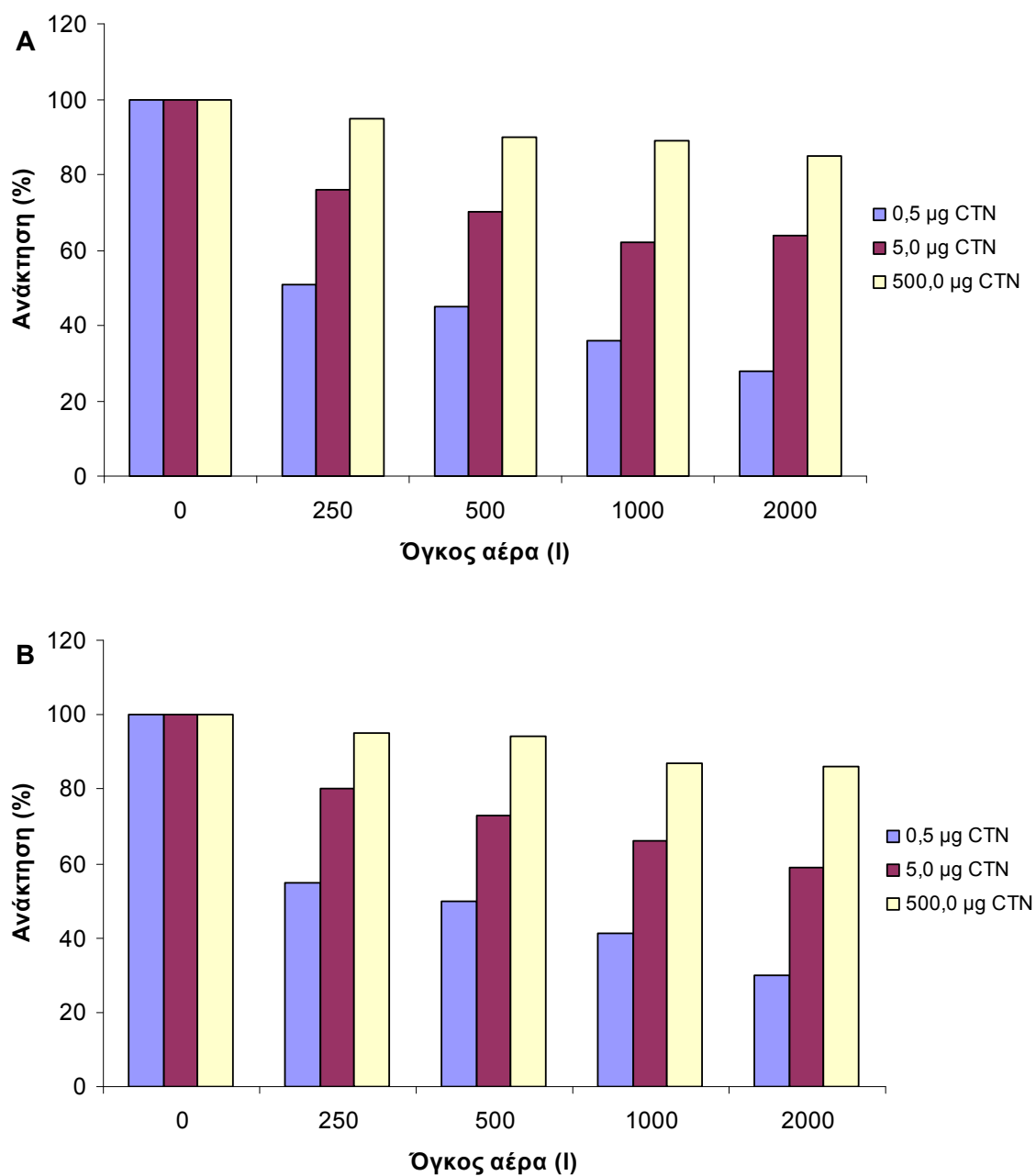
3.13 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από φίλτρα GF/A και silica gel, μετά τη διέλευση αέρα υγρασίας 10 και 80 %

Για να μελετηθεί η ικανότητα κατακράτησης των CTN και HCTN από τα φίλτρα που χρησιμοποιούνται στην παρούσα διατριβή για τη συλλογή τους από τον αέρα του θερμοκηπίου, πραγματοποιούνται πειράματα, στα οποία αντλείται αέρας, σταθερής θερμοκρασίας και υγρασίας, δια μέσου εμβολιασμένων φίλτρων (Kennedy et al., 1995). Η συγκεκριμένη τεχνική χρησιμοποιείται για τη μελέτη της ικανότητας κατακράτησης διαφόρων ουσιών σε φίλτρα είτε όταν δεν μπορεί να δημιουργηθεί ατμόσφαιρα σταθερής

συγκέντρωσης των μελετώμενων ουσιών λόγω της χαμηλής τάσης ατμών τους, όπως συμβαίνει στην παρούσα περίπτωση είτε οι ουσίες είναι ιδιαίτερα τοξικές (OSHA, 1999). Με τα συγκεκριμένα πειράματα είναι δυνατόν να εκτιμηθούν τυχόν απώλειες των ουσιών από τα φίλτρα λόγω εξάτμισης ή λόγω διάσπασής τους. Προκειμένου να πραγματοποιηθεί αυτή η μελέτη, κατασκευάζεται θάλαμος από πλεξιγκλάς όγκου περίπου 40 l, ο οποίος είναι μονωμένος εξωτερικά και στο εσωτερικό του η θερμοκρασία διατηρείται στους 22 ± 1 °C. Μέσα στο θάλαμο διοχετεύεται συνεχώς αέρας του οποίου η σχετική υγρασία ρυθμίζεται στο 10 ± 2 και 80 ± 2 %. Για να επιτευχθεί υγρασία 80 %, ο αέρας, πριν την εισαγωγή του στο θάλαμο, διέρχεται από πλυντηρίδα, η οποία περιέχει δις αποσταγμένο ύδωρ και θερμοστατείται στους 22 ± 1 °C. Η θερμοκρασία και η υγρασία του θαλάμου παρακολουθούνται συνεχώς με τη χρήση αισθητήρα μέτρησης θερμοκρασίας και υγρασίας. Αφού επιτευχθούν και σταθεροποιηθούν οι επιθυμητές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας στο εσωτερικό του θαλάμου, τοποθετούνται μέσα σ' αυτόν τα εμβολιασμένα φίλτρα και διέρχονται μέσω των φίλτρων 250, 500, 1000 και 2000 l αέρα, με ροή 2,1 l/min. Μόλις διέλθει ο επιθυμητός όγκος αέρα από τα φίλτρα, διακόπτεται η λειτουργία της αντλίας, τα φίλτρα απομακρύνονται από το θάλαμο, τοποθετούνται σε υάλινα φιαλίδια και ακολουθεί κατεργασία, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.7.1. Η ικανότητα κατακράτησης των μελετώμενων ουσιών από τα φίλτρα μελετάται για τρία διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού (0,5 και 5,0 µg από την κάθε ουσία, καθώς επίσης και 500,0 µg CTN και 1,0 µg HCTN). Το επίπεδο εμβολιασμού 500,0 µg CTN και 1,0 µg μελετάται για να εκτιμηθεί η ανάκτηση του μεταβολίτη HCTN παρουσία μεγάλης συγκέντρωσης CTN.

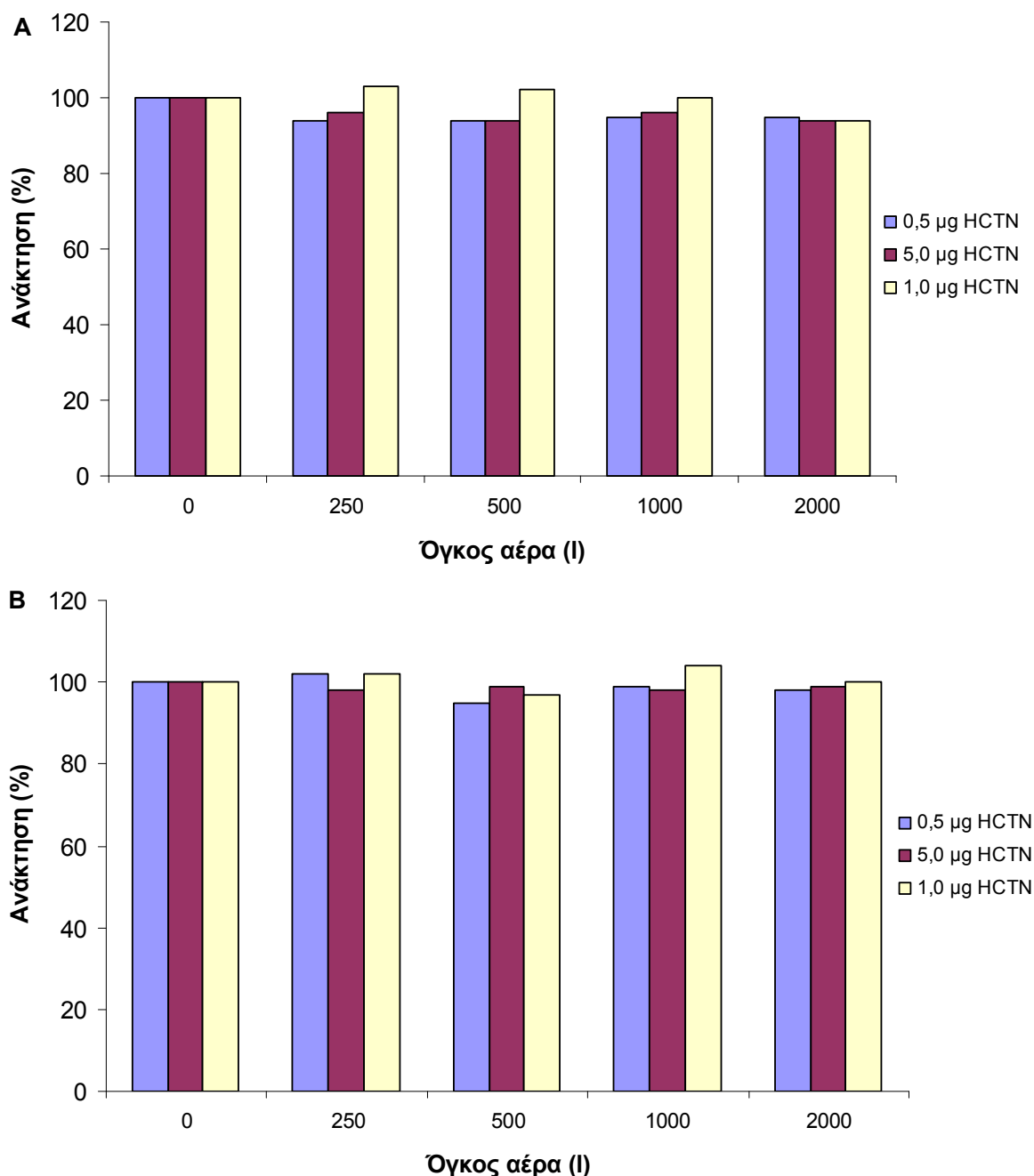
3.13.1 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων μετά τη διέλευση αέρα

Τα φίλτρα GF/A, αφού εμβολιασθούν με τις ποσότητες των ουσιών που αναφέρονται προηγουμένως, τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Στη συνέχεια, προσαρμόζονται σε ειδικό υποδοχέα από Teflon, ο οποίος συνδέεται με την αντλία, με την οποία πραγματοποιείται η δειγματοληψία του αέρα, ρυθμίζεται η ροή του αέρα στα 2,1 l/min και ακολουθεί δειγματοληψία για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, ώστε ο συνολικός όγκος του αέρα που διέρχεται από τα φίλτρα να ισούται με 250, 500, 1000 και 2000 l. Μετά τη διέλευση του επιθυμητού όγκου αέρα, τα φίλτρα απομακρύνονται από το θάλαμο και ακολουθεί εκχύλιση και ανάλυση των ουσιών. Τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης του όγκου του αέρα που διέρχεται από εμβολιασμένα φίλτρα GF/A στην ικανότητα κατακράτησης των CTN και HCTN, φαίνονται στα σχήματα 3.6 και 3.7.



Σχήμα 3.6: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10%.

Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προκύπτει ότι η ανάκτηση του μεταβολίτη HCTN, σε όλα τα επίπεδα εμβολιασμού που μελετώνται και στις δύο διαφορετικές υγρασίες, είναι μεγαλύτερη από 94 % ακόμη και μετά τη διέλευση 2000 l αέρα, που σημαίνει ότι όλη η ποσότητα του HCTN που εμβολιάζεται στα φίλτρα GF/A παραμένει σε αυτά.



Σχήμα 3.7: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %.

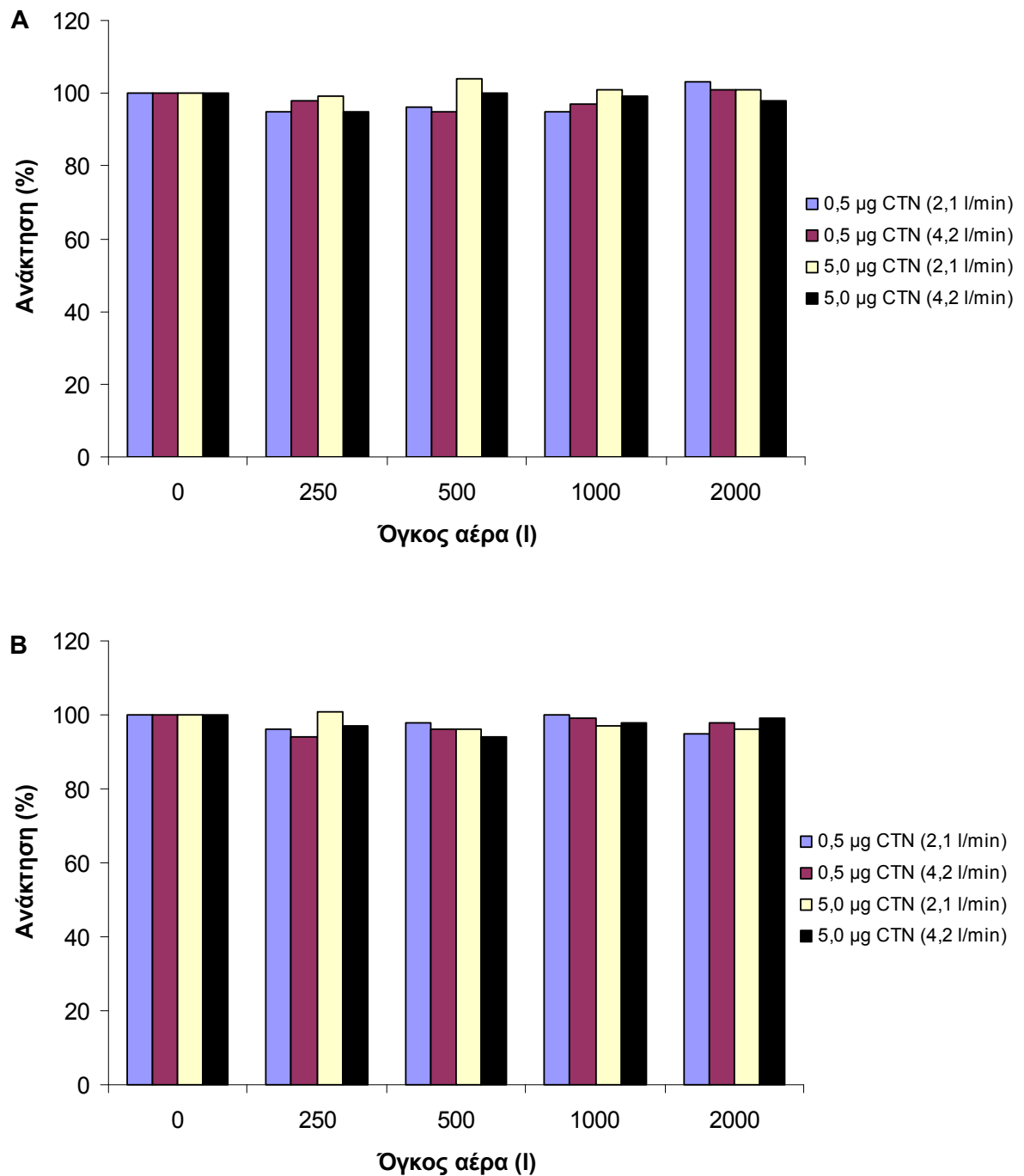
Αντίθετα, στην περίπτωση του CTN, αρχίζουν να παρατηρούνται απώλειες ακόμη και μετά τη διέλευση 250 l αέρα, οι οποίες αυξάνονται όσο αυξάνεται και ο όγκος του αέρα που διέρχεται. Ένα άλλο γεγονός, το οποίο παρατηρείται, είναι ότι οι απώλειες του CTN εξαρτώνται από την ποσότητα που εμβολιάζεται στα φίλτρα και μάλιστα όσο μικρότερη είναι η ποσότητα τόσο μεγαλύτερες είναι και απώλειες. Πιο συγκεκριμένα, σε επίπεδα εμβολιασμού 0,5 µg, 5,0 µg και 500,0 µg, μετά τη διέλευση 2000 l αέρα, η ποσότητα του CTN

που παραμένει στα φίλτρα GF/A, είναι αντίστοιχα ίση προς 28, 64 και 85 % της αρχικής ποσότητας.

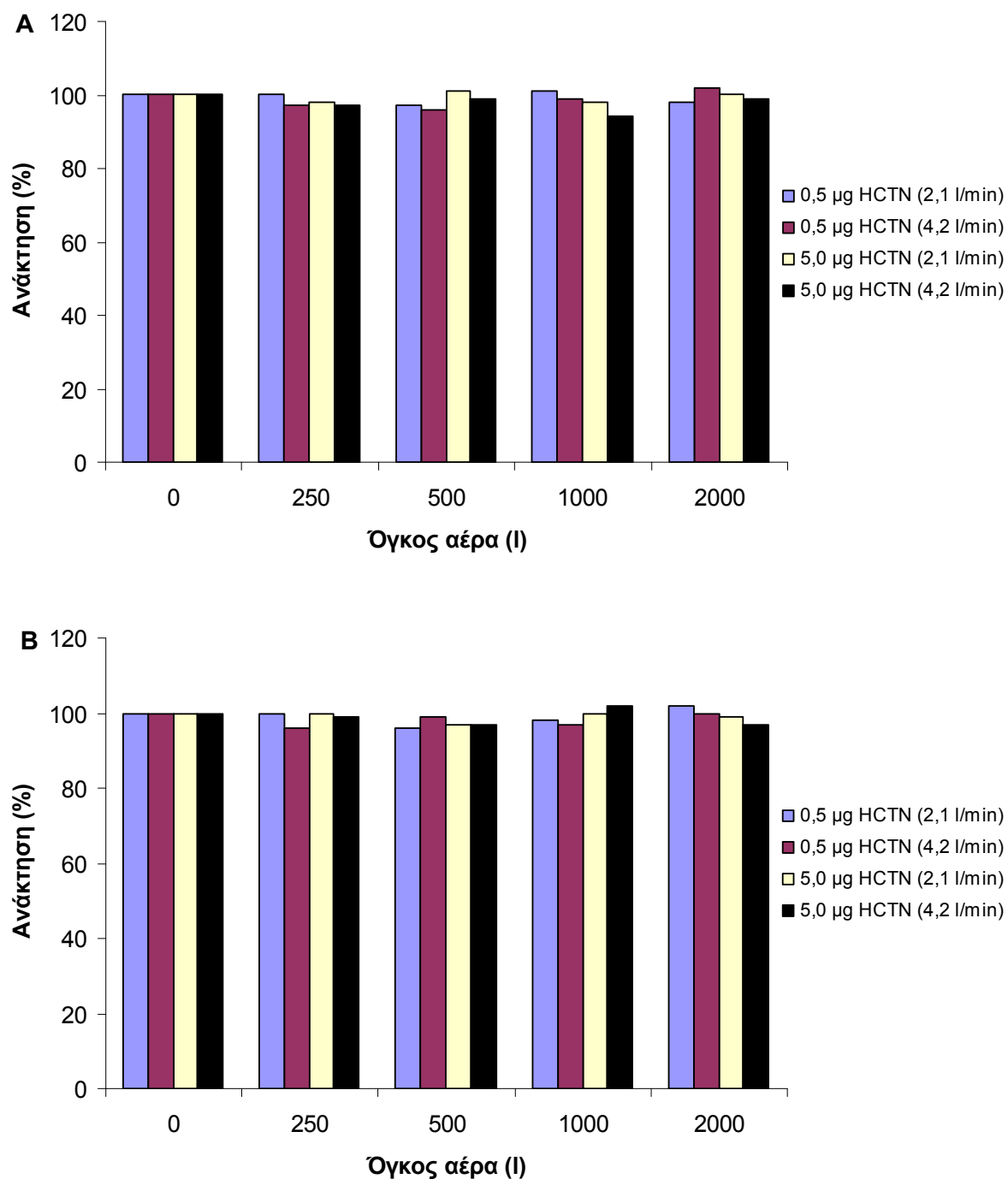
Οι απώλειες του CTN από τα φίλτρα ενδέχεται να οφείλονται σε τρεις κύριους λόγους: στη διάσπαση του CTN επάνω στο φίλτρο, στην εξάτμισή του από το φίλτρο ή σε μηχανική παράσυρση των σωματιδίων του CTN από το διερχόμενο αέρα. Η περίπτωση της διάσπασης του CTN απορρίπτεται γιατί από τα αποτελέσματα πειραμάτων, που αναφέρονται παρακάτω, στα οποία εμβολιασμένα φίλτρα GF/A συνδέονται σε σειρά με μικροστήλες που περιέχουν silica gel, η ποσότητα του CTN, η οποία απομακρύνεται από το φίλτρο GF/A κατακρατείται ποσοτικά από τα φίλτρα silica gel.

Προκειμένου να ελεγχθεί η περίπτωση μηχανικής παράσυρσης του CTN κατά τη διέλευση του αέρα από τα φίλτρα, πραγματοποιείται μια σειρά πειραμάτων, στα οποία συνδέονται σε σειρά εμβολιασμένα φίλτρα GF/A με φίλτρα silica gel και διέρχεται ο ίδιος όγκος αέρα, δηλαδή 250, 500, 1000 και 2000 l, αλλά με τη διπλάσια ροή (4,2 l/min). Τα αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη παρουσιάζονται στα σχήματα 3.8 και 3.9, στα οποία απεικονίζονται οι συνολικές ανακτήσεις του CTN και του HCTN από τα δύο φίλτρα ως συνάρτηση του διερχόμενου όγκου αέρα στις δύο διαφορετικές ταχύτητες ροής.

Από τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων πειραμάτων, προκύπτει ότι η ποσότητα του CTN, η οποία παραμένει στα φίλτρα GF/A, είναι η ίδια (μέσα στα όρια του πειραματικού σφάλματος) με την ποσότητα που παραμένει στα GF/A φίλτρα όταν η ροή του αέρα είναι 2,1 l/min. Εάν οι απώλειες οφείλονται σε μηχανική παράσυρση των σωματιδίων του CTN από την επιφάνεια του φίλτρου GF/A, θα έπρεπε στην περίπτωση των πειραμάτων στα οποία η ροή του αέρα είναι διπλάσια να παρατηρούνται και μεγαλύτερες απώλειες κάτι το οποίο δεν συμβαίνει. Επομένως, ενισχύεται η υπόθεση, ότι οι απώλειες του CTN οφείλονται σε εξάτμισή του από τον αέρα που διέρχεται από τα φίλτρα. Η υγρασία του αέρα δεν επηρεάζει την ικανότητα κατακράτησης των ουσιών από τα φίλτρα GF/A, γιατί τα αποτελέσματα που λαμβάνονται και στις δύο περιπτώσεις (υγρασία του αέρα 10 και 80 %) είναι παρόμοια.



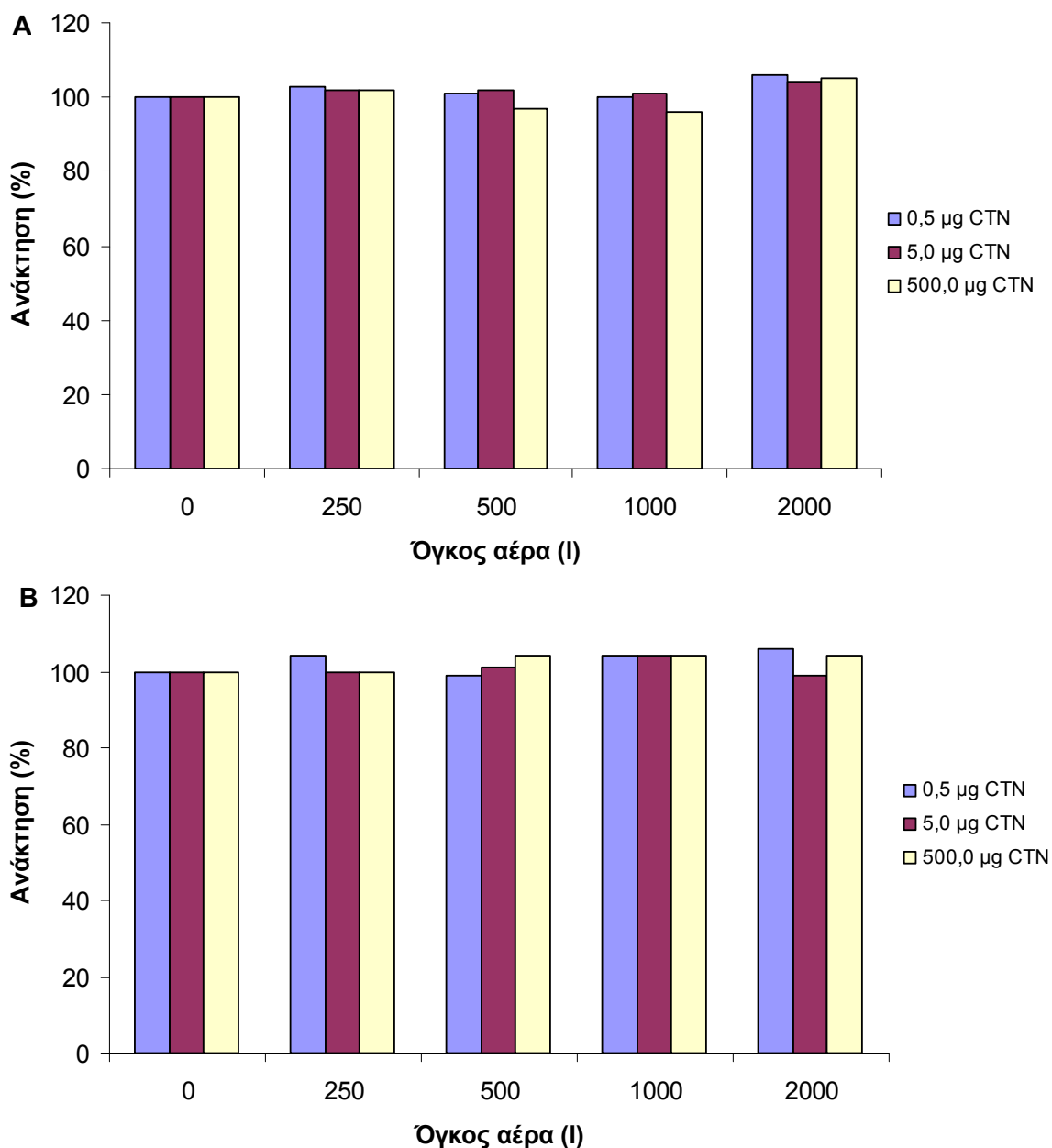
Σχήμα 3.8: Επίδραση του όγκου και της ταχύτητας ροής του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel, A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %



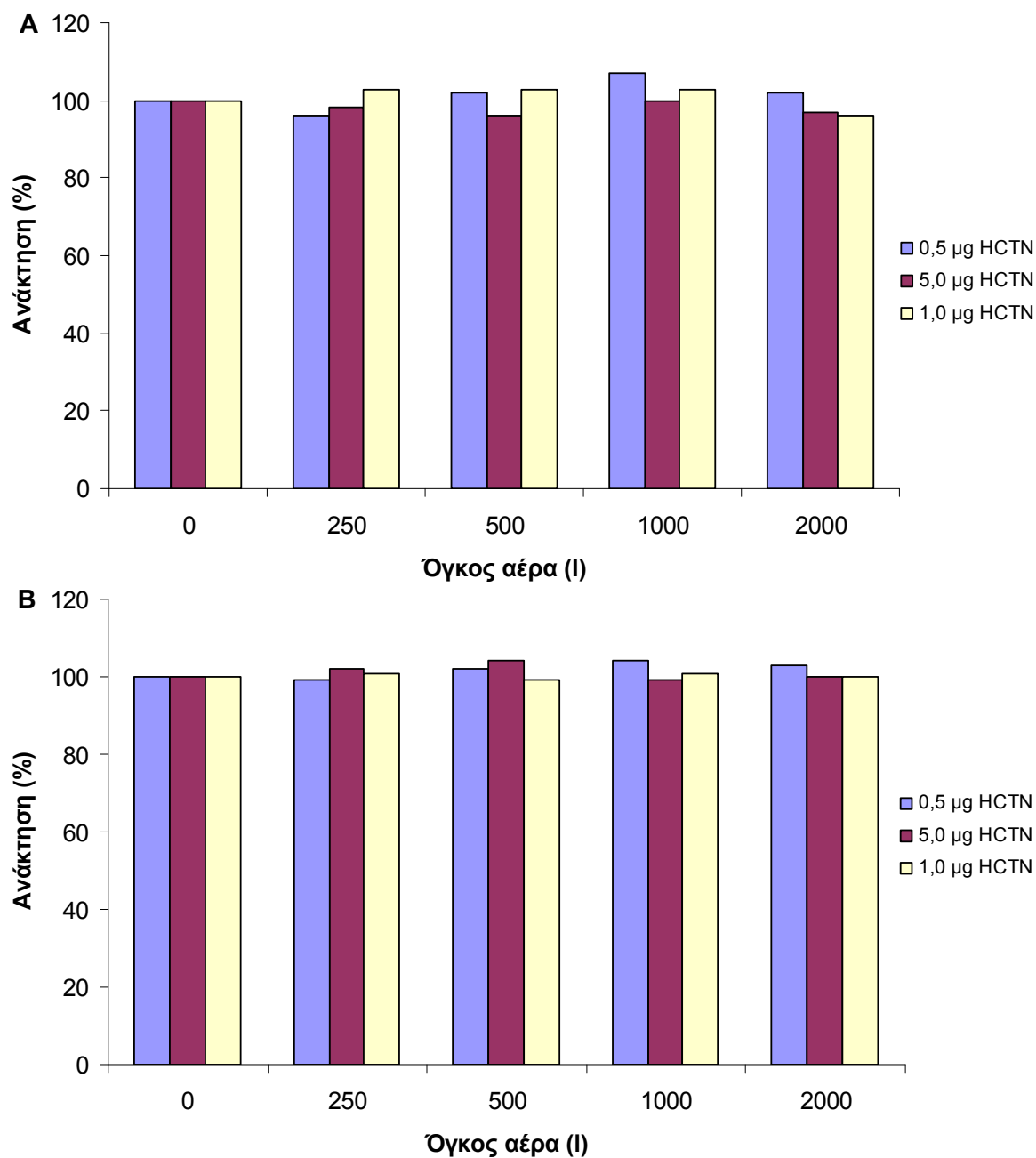
Σχήμα 3.9: Επίδραση του όγκου και της ταχύτητας ροής του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel, A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

3.13.2 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από φίλτρα silica gel μετά τη διέλευση αέρα

Ακολουθώς, μελετάται η ικανότητα κατακράτησης των CTN και HCTN από εμβολιασμένα φίλτρα silica gel, τα οποία περιέχουν 200 mg προσροφητικού υλικού. Οι πειραματικές συνθήκες είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στο προηγούμενο κεφάλαιο. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής φαίνονται στα σχήματα 3.10 και 3.11.



Σχήμα 3.10: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από φίλτρα silica gel A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %



Σχήμα 3.11: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από φίλτρα silica gel A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

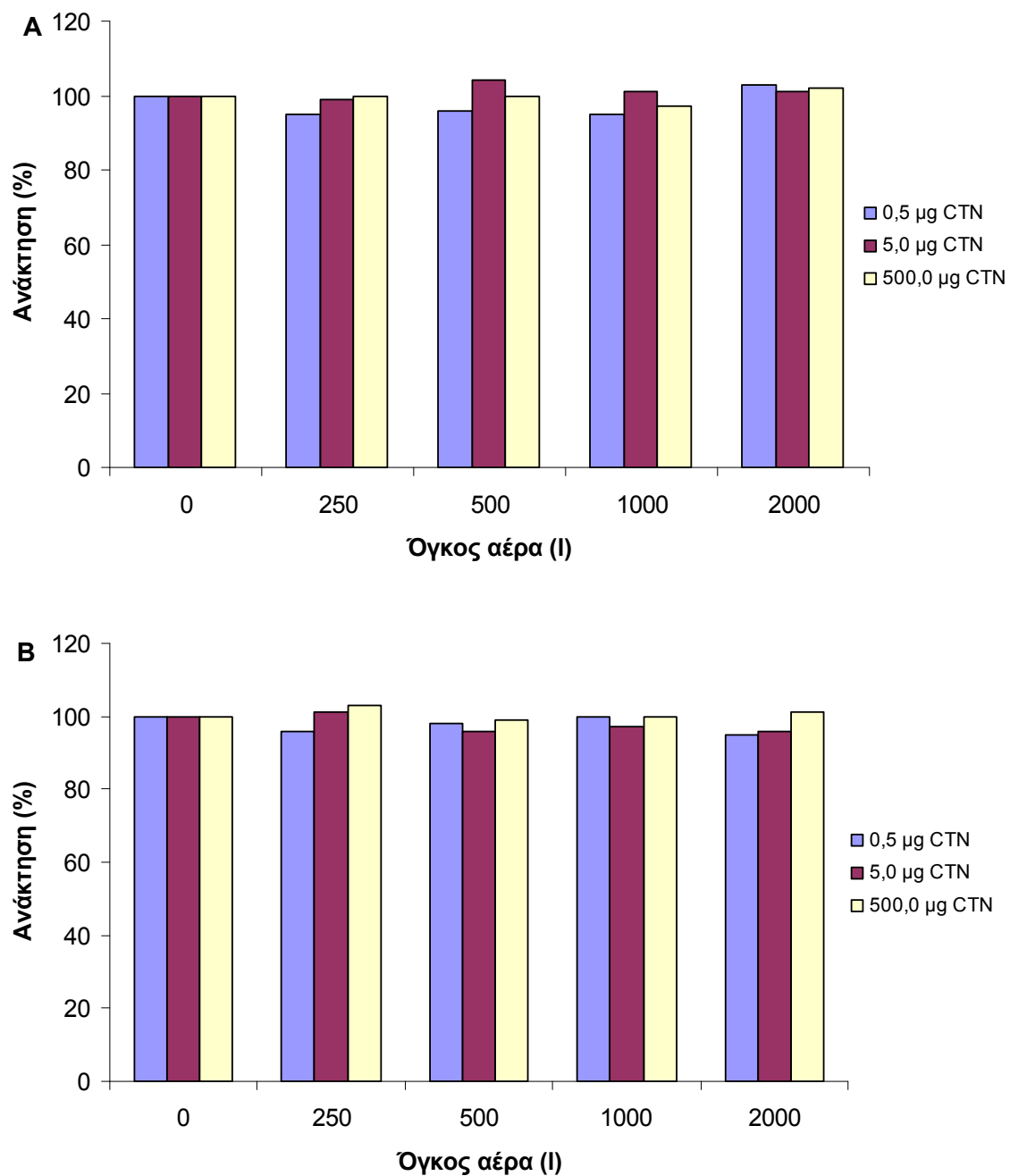
Από τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος, προκύπτει ότι η ανάκτηση του CTN και του μεταβολίτη HCTN σε όλα τα επίπεδα εμβολιασμού που μελετώνται και στις δύο διαφορετικές υγρασίες είναι μεγαλύτερη από 96 % ακόμα και μετά τη διέλευση 2000 l αέρα. Το γεγονός αυτό ενισχύει την επιλογή του silica gel για τη δειγματοληψία των ουσιών από την αέρια φάση, γιατί αποδεικνύεται όχι μόνο η ικανότητά του να κατακρατεί τις ουσίες μετά από τη διέλευση μεγάλου όγκου αέρα αλλά και η σταθερότητα των ουσιών σ' αυτό. Η

υγρασία του αέρα δεν επηρεάζει την ικανότητα κατακράτησης των ουσιών από τα φίλτρα silica gel, γιατί τα αποτελέσματα που λαμβάνονται και στις δύο περιπτώσεις (υγρασία του αέρα 10 και 80 %) είναι παρόμοια.

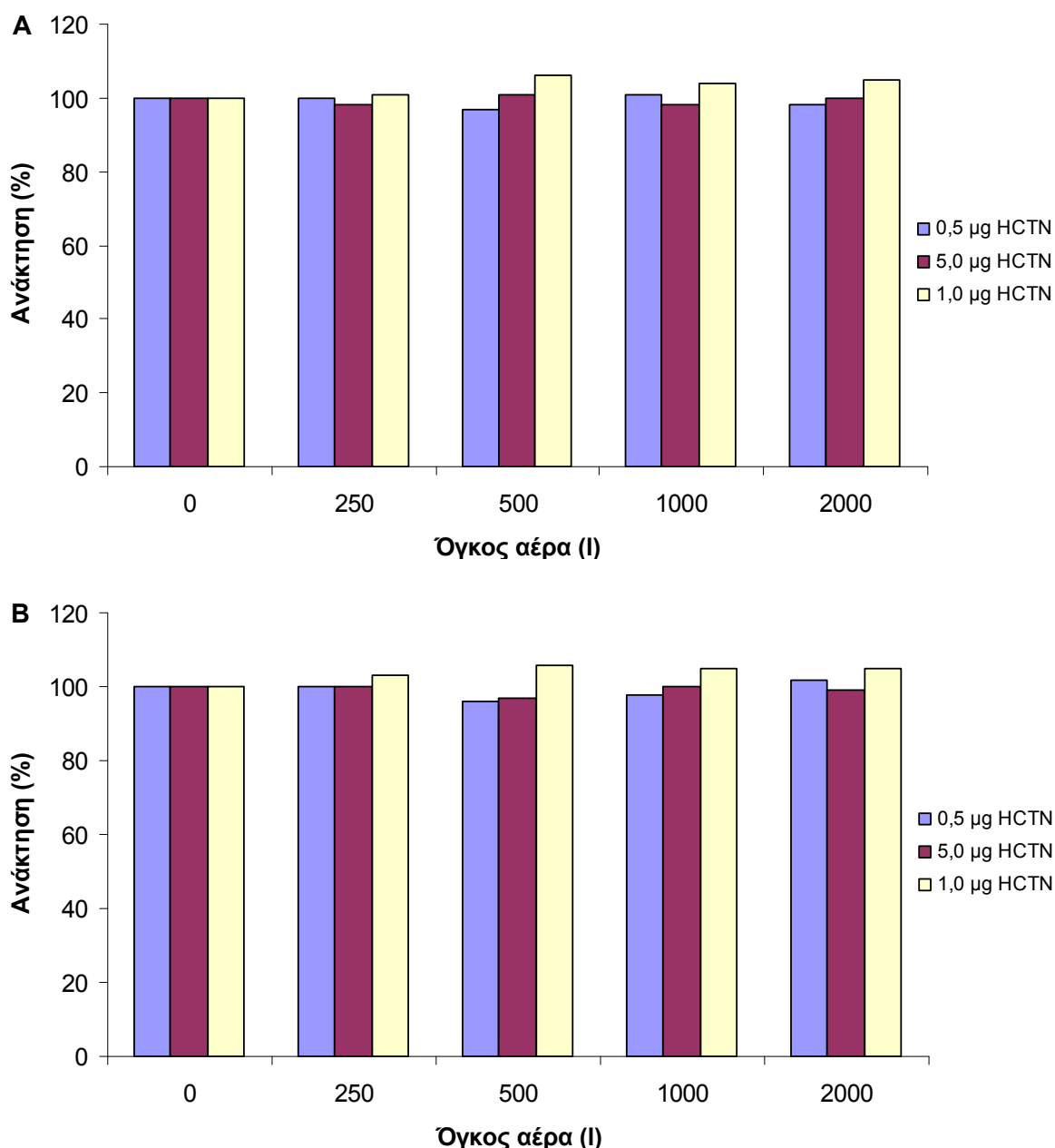
3.13.3 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των CTN και HCTN από μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel μετά τη διέλευση αέρα

Τέλος, για την ολοκλήρωση της μελέτης της ικανότητας κατακράτησης των μελετώμενων ουσιών από εμβολιασμένα φίλτρα, πραγματοποιείται και ένα πείραμα, κατά το οποίο διέρχεται αέρας από εμβολιασμένα φίλτρα GF/A και εμβολιασμένα φίλτρα silica gel, τα οποία συνδέονται σε σειρά. Οι συνθήκες του πειράματος, όπως επίσης και τα επίπεδα εμβολιασμού των ουσιών, είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στα δύο προηγούμενα κεφάλαια. Αυτή η μελέτη πραγματοποιείται αφενός γιατί η συγκεκριμένη διάταξη χρησιμοποιείται για τη δειγματοληψία των φυτοφαρμάκων από τον αέρα θερμοκηπίου και αφετέρου για να εκτιμηθεί η ικανότητα κατακράτησης του CTN, που εξατμίζεται από το φίλτρο GF/A κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας, από το φίλτρο silica gel. Τα αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη παρουσιάζονται στα σχήματα 3.12 και 3.13, στα οποία απεικονίζονται οι συνολικές ανακτήσεις του CTN και του HCTN από τα δύο φίλτρα ως συνάρτηση του διερχόμενου όγκου αέρα. Όπως φαίνεται στα σχήματα 3.12 και 3.13, οι συνολικές ανακτήσεις τόσο του CTN όσο και του HCTN από τα δύο φίλτρα είναι μεγαλύτερες από 96 %. Η υγρασία του αέρα και στο συγκεκριμένο πείραμα δεν επηρεάζει την ικανότητα κατακράτησης των ουσιών, γιατί τα αποτελέσματα που λαμβάνονται και στις δύο περιπτώσεις (υγρασία του αέρα 10 και 80 %) είναι παρόμοια.

Τα αποτελέσματα αυτών των πειραμάτων δείχνουν ότι η ποσότητα του CTN, η οποία εξατμίζεται από το φίλτρο GF/A, κατακρατείται ποσοτικά από το φίλτρο silica gel, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου γιατί κατά τη συλλογή πραγματικών δειγμάτων των ουσιών δεν θα υπάρχουν απώλειες. Όμως, εξαιτίας της εξάτμισης του CTN που παρατηρείται από τα φίλτρα GF/A, δεν μπορεί να γίνει κατανομή της ποσότητας του CTN που βρίσκεται προσροφημένη στα αιωρούμενα σωματίδια, τα οποία κατακρατούνται από το GF/A και της ποσότητας του CTN που βρίσκεται στην αέρια φάση με τη μορφή ατμών.



Σχήμα 3.12: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του CTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

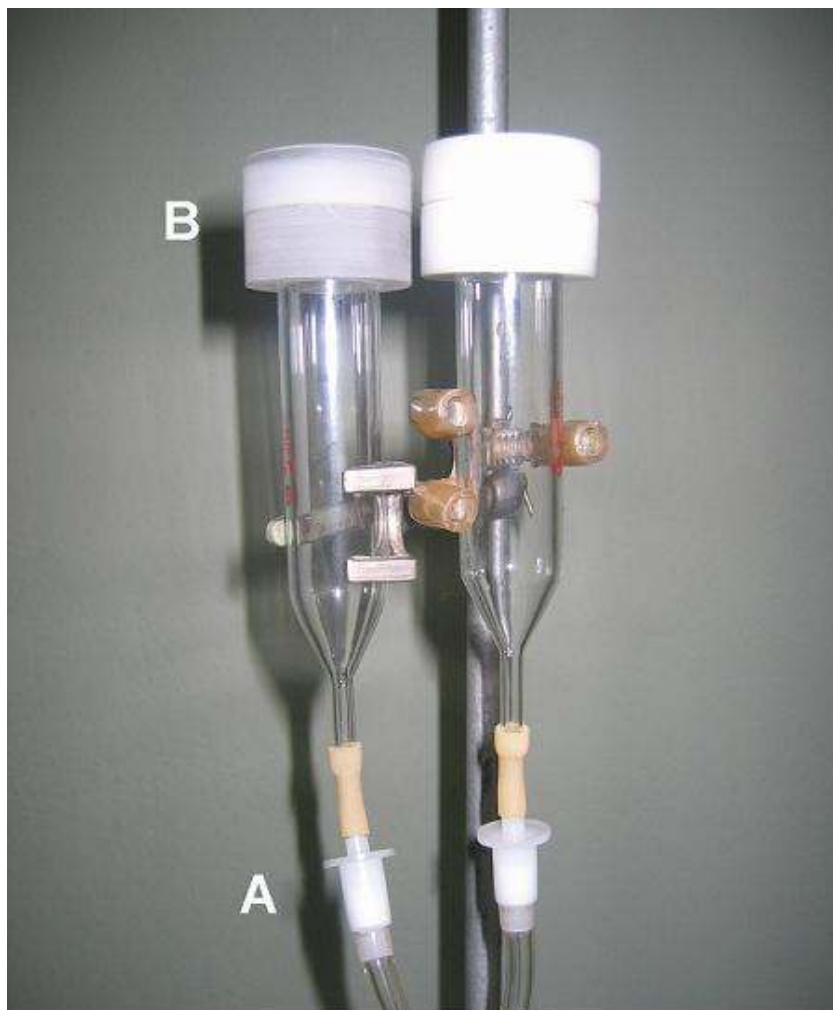


Σχήμα 3.13: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης του HCTN από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα silica gel. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

3.14 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου

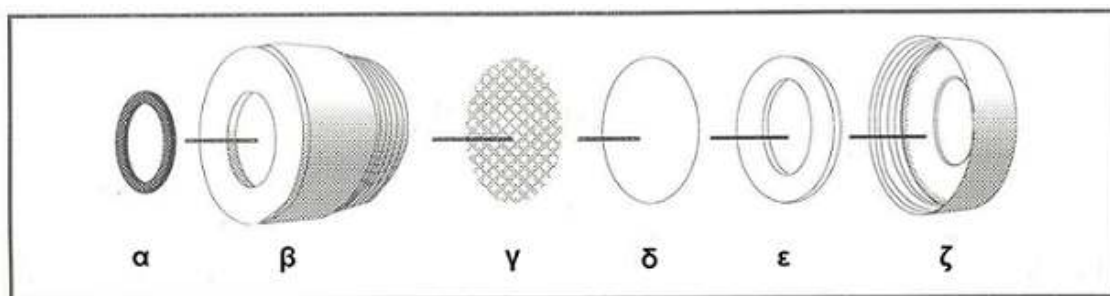
Η προτεινόμενη μέθοδος εφαρμόζεται στον προσδιορισμό του φυτοφαρμάκου chlorothalonil και του μεταβολίτη του 4-hydroxychlorothalonil σε δείγματα αέρα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο, όπου καλλιεργούνται καλλωπιστικά φυτά. Για τη συλλογή των δειγμάτων χρησιμοποιείται δειγματολήπτης, ο οποίος αποτελείται από υποδοχεία Teflon, που

προσαρμόζεται το μικροφίλτρο υαλονημάτων για τη συλλογή των αιωρουμένων σωματιδίων (φίλτρο GF/A) και από μικροστήλη, η οποία περιέχει 200 mg silica gel για τη συλλογή των ουσιών στην αέρια φάση (φίλτρο silica gel). Τα δύο μέρη του δειγματολήπτη συνδέονται σε σειρά με κατάλληλο υάλινο σωλήνα. Στο σχήμα 3.14 φαίνεται ο τρόπος σύνδεσης του υποδοχέα μικροφίλτρων υαλονημάτων και της μικροστήλης με το silica gel.



Σχήμα 3.14: Τρόπος σύνδεσης της μικροστήλης με το silica gel (A) και του υποδοχέα μικροφίλτρων υαλονημάτων (B)

Ο υποδοχέας των μικροφίλτρων υαλονημάτων με όλα τα εξαρτήματα που τον απαρτίζουν, απεικονίζεται αναλυτικά σχήμα 3.15.

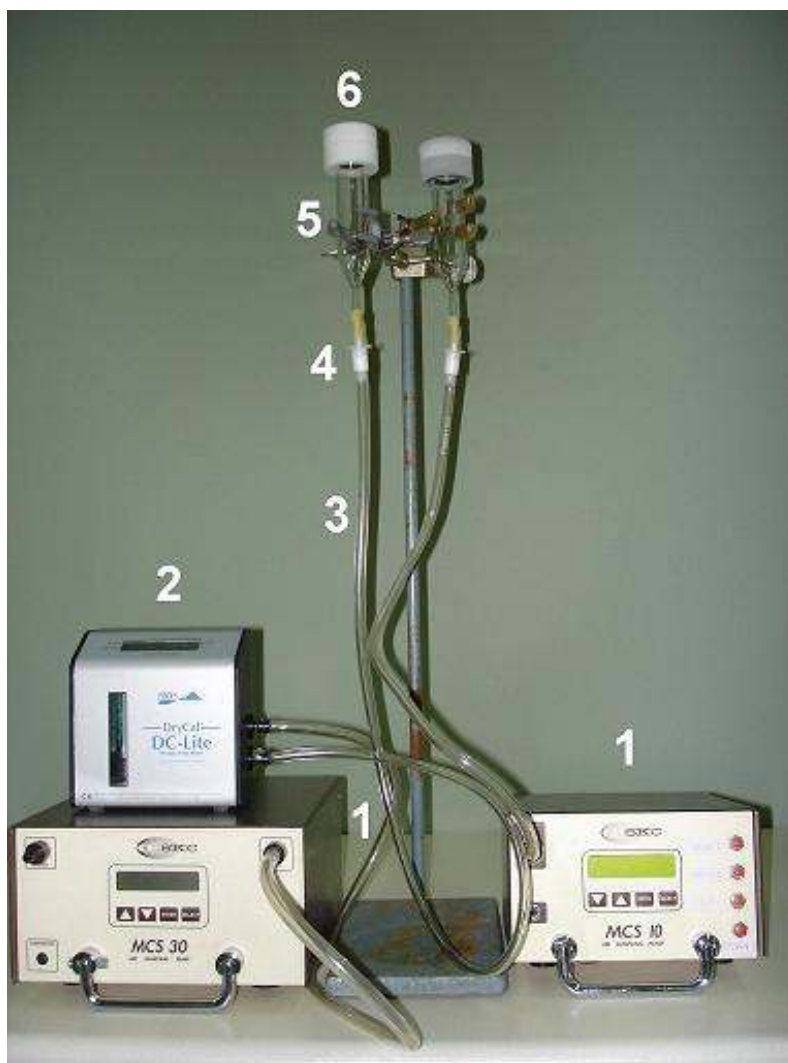


Σχήμα 3.15: Υποδοχέας από Teflon στον οποίο προσαρμόζεται το μικροφίλτρο υαλονημάτων. **α.** Πλαστικός δακτύλιος, **β.** Κύριο τμήμα του υποδοχέα, **γ.** Διάτρητος δίσκος κατασκευασμένος από ανοξείδωτο ατσάλι, **δ.** Μικροφίλτρο υαλονημάτων, **ε.** Δακτύλιος από Teflon, **ζ.** Βιδωτό καπάκι

3.14.1 Περιγραφή δειγματοληψίας

Για τη δειγματοληψία χρησιμοποιούνται δύο αντλίες αερίων, ώστε να λαμβάνονται συγχρόνως δύο δείγματα και να υπολογιστεί έτσι ο μέσος όρος της συγκέντρωσης των μελετώμενων ουσιών στον αέρα. Πριν την έναρξη της δειγματοληψίας, οι αντλίες συνδέονται σε σειρά με ψηφιακό ροόμετρο, ώστε να ρυθμιστεί η ροή του αέρα. Μετά τη ρύθμιση, το ροόμετρο αποσυνδέεται και στη θέση του προσαρμόζεται, με τη βοήθεια ελαστικού σωλήνα από Tygon® ο δειγματολήπτης. Η χρησιμοποιούμενη διάταξη απεικονίζεται στο σχήμα 3.16.

Η συλλογή των δειγμάτων αέρα πραγματοποιείται σε θερμοκήπιο, στο οποίο προηγείται εφαρμογή με ψεκασμό του εμπορικού σκευάσματος Daconil 500SC της εταιρίας Syngenta, περιεκτικότητας 50 % w/v σε chlorothalonil. Πριν την εφαρμογή του φυτοφαρμάκου στο θερμοκήπιο πραγματοποιείται ανάλυση δείγματος του εμπορικού σκευάσματος προκειμένου να υπολογιστεί η περιεκτικότητά του στο μεταβολίτη HCTN. Ο μεταβολίτης ενδέχεται να περιέχεται στο εμπορικό σκεύασμα ως ανεπιθύμητο παραπροϊόν, που προκύπτει είτε κατά την παρασκευή του φυτοφαρμάκου είτε ως προϊόν διάσπασης του ενεργού συστατικού CTN κατά την αποθήκευση του σκευάσματος. Η ανάλυση πραγματοποιείται ως εξής: ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,5 g από το εμπορικό σκεύασμα και παρασκευάζεται διάλυμα όγκου 50 ml σε διαλύτη ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 55:45 v/v. Ακολουθεί φυγοκέντρηση του διαλύματος και από το υπερκείμενο διάλυμα εγχέονται 20 μl στην HPLC. Παράλληλα γίνεται ανάλυση και προτύπου διαλύματος του μεταβολίτη. Η περιεκτικότητα του μεταβολίτη που μετριέται είναι ίση με 0,30 mg/g εμπορικού σκευάσματος.



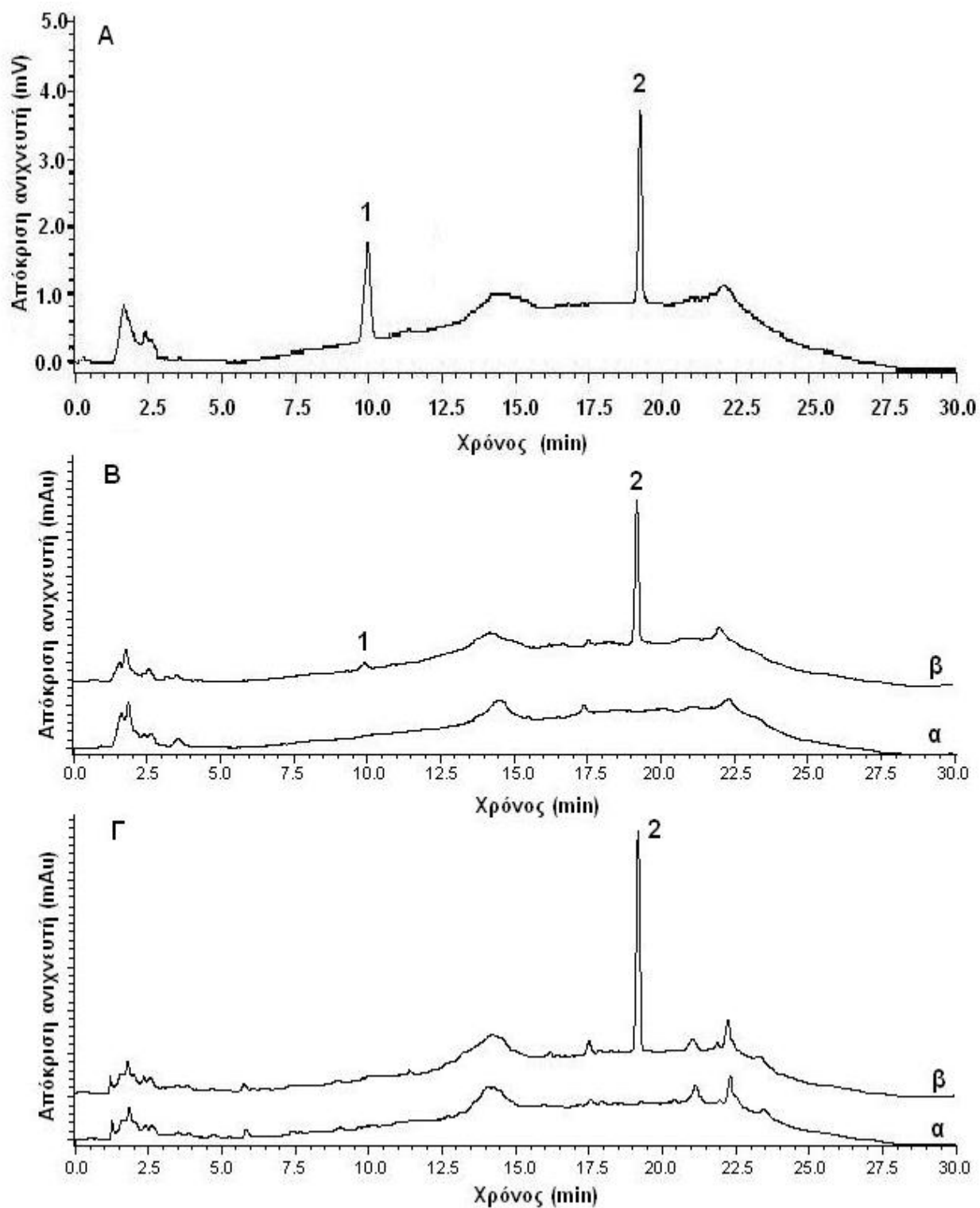
Σχήμα 3.16: Σύστημα δειγματοληψίας 1. Αντλίες αερίων, 2. Ψηφιακό ροόμετρο, 3. Πλαστικοί σωλήνες Tygon®, 4. Μικροστήλες που περιέχουν silica gel, 5. Υάλινοι σωλήνες, 6. Υποδοχείς μικροφίλτρων υαλονημάτων

Ο ψεκασμός γίνεται με χειροκίνητη συσκευή, η οποία τοποθετείται στην πλάτη του χειριστή. Η συσκευή αποτελείται από δεξαμενή στην οποία βρίσκεται το αιώρημα του φυτοφαρμάκου σε νερό, από ένα έμβολο το οποίο δημιουργεί πίεση στο χώρο της δεξαμενής ώστε να προωθείται το αιώρημα του φυτοφαρμάκου και από ένα ακροφύσιο που συνδέεται με τη δεξαμενή και δημιουργεί νέφος κατά τον ψεκασμό. Η διάρκεια του ψεκασμού διαρκεί περίπου 10 min. Το θερμοκήπιο έχει ημικυλινδρικό σχήμα, διαστάσεις 5x18 m και ύψος 2,5 m και είναι καλυμμένο με ημιδιαφανές πλαστικό από πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC). Οι κύριες εισόδους του θερμοκηπίου, διαστάσεων 1,7x1,0 m, βρίσκονται αντικριστά στα δυο άκρα του. Στα πλαϊνά μέρη του θερμοκηπίου, περίπου στη μέση, υπάρχουν δύο ανοίγματα διαστάσεων 0,5x1,0 m, τα οποία μπορούν να ανοίγουν και να κλείνουν.

Ο δειγματολήπτης τοποθετείται σε ύψος 1,50 m από το έδαφος, ώστε να βρίσκεται περίπου στο ύψος αναπνοής του μέσου ανθρώπου, με το ελεύθερο άκρο του προσανατολισμένο προς το έδαφος. Στην αρχή, στα μέσα περίπου του χρόνου και στη λήξη της δειγματοληψίας καταγράφονται η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του θερμοκηπίου. Μια ημέρα πριν τον ψεκασμό πραγματοποιείται δειγματοληψία για να εκτιμηθεί το φορτίο του αέρα του θερμοκηπίου σε CTN και HCTN, τα αποτελέσματα της οποίας αποτελούν το τυφλό δείγμα. Αμέσως μετά τον ψεκασμό λαμβάνεται το πρώτο δείγμα και οι δειγματοληψίες συνεχίζονται καθημερινά για δέκα συνεχόμενες ημέρες. Επίσης, λαμβάνονται δείγματα κατά τη 12^η, 14^η και 21^η ημέρα μετά τον ψεκασμό.

Μετά τη λήξη της δειγματοληψίας τα μικροφίλτρα υαλονημάτων, αφού απομακρυνθούν από τον υποδοχέα, τοποθετούνται προσεκτικά σε υάλινα φιαλίδια με βιδωτό πώμα, με τη βοήθεια λαβίδων και οι μικροστήλες, που περιέχουν το silica gel, πωματίζονται ώστε να αποφευχθεί απώλεια των ουσιών που κατακρατούνται. Τα δείγματα μεταφέρονται στο εργαστήριο, οι μικροστήλες ανοίγονται προσεκτικά και το περιεχόμενό τους φέρεται σε υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες. Η επεξεργασία και η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιείται την ίδια ημέρα, σύμφωνα με την προτεινόμενη πορεία σ' αυτή τη διατριβή.

Στο σχήμα 3.17 απεικονίζονται τα χρωματογραφήματα ενός προτύπου διαλύματος των CTN και HCTN, συγκέντρωσης 0,10 µg/ml καθώς επίσης και τα χρωματογραφήματα από τη ανάλυση των δειγμάτων των φίλτρων GF/A και των φίλτρων silica gel, που λαμβάνονται κατά την πρώτη ημέρα της δειγματοληψίας όπως επίσης και τα χρωματογραφήματα των αντίστοιχων τυφλών δειγμάτων. Όπως φαίνεται στο σχήμα 3.17, στα χρωματογραφήματα των τυφλών δεν υπάρχουν παρεμποδίσεις από το υπόστρωμα στον προσδιορισμό των μελετώμενων ουσιών.



Σχήμα 3.17: Χρωματογραφήματα της ανάλυσης των HCTN (1) και CTN (2) Α. Πρότυπο διάλυμα, Β. Δείγμα από μικροφίλτρα υαλονημάτων, Γ. Δείγμα από φίλτρα silica gel. α τυφλό και β δείγμα.

3.14.2 Αποτελέσματα δειγματοληψίας

Οι συνθήκες δειγματοληψίας καθώς επίσης και τα αποτελέσματα από την ανάλυση των δειγμάτων παρουσιάζονται στον πίνακα 3.6.

Πίνακας 3.6: Συγκεντρώσεις των CTN και HCTN στα δείγματα της αέριας δειγματοληψία

Ημέρα	Μέση Σχετική Υγρασία (%)**	Μέση Θερμοκρασία (°C)**	Όγκος (l)	CTN			HCTN
				GF/A ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Silica Gel ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Συνολικά ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	GF/A ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
0*	40	33	547	***	***	***	***
1	44	28	695	0,32	0,50	0,82	0,02
2	39	24	624	0,24	0,09	0,33	0,02
3	26	30	603	0,37	0,20	0,57	0,02
4	33	27	680	0,33	0,26	0,59	0,02
5	44	23	617	0,22	0,09	0,31	***
6	44	21	646	0,08	0,03	0,11	***
7	66	22	610	0,06	0,10	0,16	***
8	50	26	587	0,08	0,14	0,22	***
9	55	27	657	0,14	0,26	0,40	***
10	52	28	624	0,11	0,12	0,23	***
12	35	27	625	0,07	0,05	0,12	***
14	48	26	571	0,04	0,03	0,07	***
21	60	25	680	0,03	0,03	0,06	***

* Δειγματοληψία τυφλού

** Ο μέσος όρος σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας

*** Δεν ανιχνεύεται

Από την ανάλυση των δειγμάτων παρατηρείται ότι το CTN ανιχνεύεται τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα silica gel σε όλο το χρονικό διάστημα που

διαρκεί η μελέτη ενώ ο μεταβολίτης HCTN ανιχνεύεται κατά τη διάρκεια των πρώτων τεσσάρων ημερών μόνο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων. Οι προηγούμενες παρατηρήσεις δείχνουν ότι το CTN βρίσκεται τόσο στην αέρια φάση όσο και προσροφημένο σε αιωρούμενα σωματίδια στον αέρα του θερμοκηπίου. Αντίθετα, ο μεταβολίτης HCTN βρίσκεται κυρίως προσροφημένος στα αιωρούμενα σωματίδια, ενώ το ποσοστό που βρίσκεται στην αέρια φάση είναι αμελητέο, γεγονός που εξηγείται από τη μικρή τάση ατμών της ουσίας ($1,9 \times 10^{-4}$ mPa στους 20 °C) (Syngenta, προσωπικά δεδομένα).

Από τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας προκύπτει ότι στα δείγματα που λαμβάνονται την πρώτη ημέρα, αμέσως μετά την εφαρμογή του φυτοφαρμάκου στο θερμοκήπιο, η συνολική συγκέντρωση του CTN στην ατμόσφαιρα του θερμοκηπίου, είναι ίση με $0,82 \mu\text{g}/\text{m}^3$, ενώ τη δεύτερη ημέρα η συγκέντρωσή του μειώνεται στα $0,33 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Μέχρι την 9^η ημέρα της δειγματοληψίας παρατηρούνται αυξομειώσεις στις συγκεντρώσεις του CTN που μετρούνται στον αέρα του θερμοκηπίου. Τις ημέρες, που η θερμοκρασία στο εσωτερικό του θερμοκηπίου είναι υψηλότερη, οι συγκεντρώσεις του CTN είναι υψηλότερες συγκρινόμενες με τις συγκεντρώσεις που παρατηρούνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Μεταξύ της 9^{ης} και της 10^{ης} ημέρας, παρόλο που παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας στο θερμοκήπιο, η συγκέντρωση του CTN μειώνεται γεγονός το οποίο παρατηρείται και τις επόμενες ημέρες μέχρι και την 21^η, ημέρα που λαμβάνεται το τελευταίο δείγμα, από την ανάλυση του οποίου προκύπτει ότι περίπου το 7 % της αρχικής συγκέντρωσης του CTN παραμένει ακόμα στον αέρα του θερμοκηπίου. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται και για άλλα φυτοφάρμακα στον αέρα θερμοκηπίων (Siebers and Mattusch, 1996, Egea González et al., 1998, Hatzilazarou et al., 2004, Tsiropoulos et al., 2006). Ο μεταβολίτης HCTN ανιχνεύεται και προσδιορίζεται μόνο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων τις πρώτες τέσσερις ημέρες σε συγκεντρώσεις $0,02 \mu\text{g}/\text{m}^3$, τιμή η οποία βρίσκεται κοντά στα όρια ποσοτικοποίησης της μεθόδου, ενώ τις επόμενες ημέρες της δειγματοληψίας η συγκέντρωσή του είναι μικρότερη από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου.

Για τη σταθερότητα του CTN και του HCTN στον αέρα δεν υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία. Από μελέτες όμως που πραγματοποιούνται σε εδάφη, στα οποία εφαρμόζεται εμπορικό σκεύασμα, που περιέχει chlorothalonil προκύπτει ότι ο χρόνος ημιζωής του CTN κυμαίνεται από 1 έως 36 ημέρες με την μεγαλύτερη ποσότητα του CTN που διασπάται να μετατρέπεται στον μεταβολίτη HCTN (WHO, 1996, Caux et al., 1996, Potter et al., 2001). Επίσης, από μελέτες διάσπασης του CTN στα φύλλα φυτών, ο χρόνος ημιζωής του κυμαίνεται από 3,6 έως 21,3 ημέρες (Gilbert, 1976, Caux et al., 1996). Με βάση τα συγκεκριμένα βιβλιογραφικά δεδομένα, μπορεί να θεωρηθεί ότι η ποσότητα του CTN, η οποία εφαρμόζεται αρχικά σ' ένα θερμοκήπιο, μειώνεται σε σημαντικό βαθμό μετά πάροδο 10 ημερών, με αποτέλεσμα η διαθέσιμη ποσότητά του να είναι πολύ μικρή οπότε να

παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσής του και στον αέρα του θερμοκηπίου, ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία.

Ο Egea González και οι συνεργάτες του αναπτύσσουν μέθοδο για τον προσδιορισμό του CTN στον αέρα θερμοκηπίου. Το θερμοκήπιο που χρησιμοποιείται έχει διαστάσεις 40x15 m και ύψος 2,5 m. Η συνολική ποσότητα του CTN (ως δραστική ουσία) που εφαρμόζεται είναι 75 g. Αμέσως μετά την εφαρμογή, ακολουθεί δειγματοληψία και η συγκέντρωση του CTN που προσδιορίζεται στον αέρα του θερμοκηπίου είναι ίση με $10,9 \text{ mg/m}^3$. Σε δειγματοληψία που πραγματοποιείται 24 ώρες μετά τον ψεκασμό, η συγκέντρωση του CTN μειώνεται στα $1,1 \text{ mg/m}^3$ (Egea González et al., 1997). Σε παρόμοια εργασία, η Aprea και οι συνεργάτες της εφαρμόζουν σε θερμοκήπιο με ψεκασμό εμπορικό σκεύασμα που περιέχει τη δραστική ουσία CTN. Το θερμοκήπιο, που πραγματοποιείται ο ψεκασμός, έχει συνολικό όγκο 25.500 m^3 (δεν αναφέρονται οι διαστάσεις του) και η συνολική ποσότητα του CTN, ως δραστική ουσία, που εφαρμόζεται είναι ίση με 563 g. Η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιείται δύο ημέρες μετά τον ψεκασμό και η συγκέντρωση του CTN που προσδιορίζεται στον αέρα του θερμοκηπίου είναι ίση με $7,12 \text{ µg/m}^3$ ενώ μετά από τέσσερις ημέρες μειώνεται στα $3,95 \text{ µg/m}^3$ (Aprea et al., 2002). Στην παρούσα διατριβή, η ποσότητα του CTN που εφαρμόζεται είναι ίση με 10,0 g δραστικής ουσίας και η μέγιστη συγκέντρωση, που προσδιορίζεται στον αέρα του θερμοκηπίου σε δείγμα που λαμβάνεται αμέσως μετά τον ψεκασμό, είναι $0,82 \text{ µg/m}^3$. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα των τριών μελετών, η συγκέντρωση του CTN στον αέρα του θερμοκηπίου δεν εξαρτάται άμεσα από την εφαρμοζόμενη ποσότητα. Οι κύριοι παράγοντες από τους οποίους επηρεάζεται η συγκέντρωση του CTN στον αέρα θερμοκηπίου, είναι ο τρόπος με τον οποίο πραγματοποιείται ο ψεκασμός του εμπορικού προϊόντος, οι συνθήκες που επικρατούν στο θερμοκήπιο (θερμοκρασία, υγρασία, αερισμός) καθώς και το είδος των καλλιεργούμενων φυτών (Siebers and Mattusch, 1996, Egea González et al., 1997, Egea González et al., 1998, Potter et al., 2001, Aprea et al., 2002). Στην εργασία του Egea González, η εφαρμογή του φυτοφαρμάκου CTN πραγματοποιείται με σύστημα ψεκασμού, το οποίο φέρει ακροφύσια κυκλικού σχήματος και δημιουργεί νέφος μέσα στο θερμοκήπιο, που φτάνει σε ύψος περίπου 2 m. Δηλαδή, η εφαρμογή του CTN δεν πραγματοποιείται με τοπικό ψεκασμό επάνω στα φυτά, αλλά διαχέεται σε όλο τον όγκο του θερμοκηπίου γεγονός το οποίο εξηγεί και τις πολύ υψηλές συγκεντρώσεις του CTN που παρατηρούνται στον αέρα του θερμοκηπίου. Στην εργασία της Aprea και των συνεργατών της, η εφαρμογή του φυτοφαρμάκου πραγματοποιείται με ένα απλό σύστημα ψεκασμού, που αποτελείται από μία δεξαμενή, μέσα στην οποία περιέχεται το διάλυμα του φυτοφαρμάκου και ένα ακροφύσιο, το οποίο συνδέεται με τη δεξαμενή. Το όλο σύστημα ψεκασμού είναι τοποθετημένο σε γεωργικό όχημα (τρακτέρ). Επίσης, στην ίδια εργασία αναφέρεται ότι καθημερινά εισάγεται στο θερμοκήπιο νερό υπό τη μορφή σταγονιδίων ώστε να αυξάνεται η σχετική υγρασία. Ο

ρυθμός εναλλαγής του αέρα μέσα στο θερμοκήπιο και η θερμοκρασία δεν αναφέρεται σε καμιά από τις δύο προηγούμενες εργασίες. Τέλος, στην παρούσα εργασία η εφαρμογή του φυτοφαρμάκου γίνεται με χειροκίνητη συσκευή, η οποία τοποθετείται στην πλάτη του χειριστή.

Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα και τα αποτελέσματα από την παρούσα διατριβή, παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις του CTN που προσδιορίζονται στον αέρα του θερμοκηπίου, με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται στην παρούσα εργασία. Το συγκεκριμένο γεγονός ενδεχομένως οφείλεται τόσο στον διαφορετικό τρόπο εφαρμογής του φυτοφαρμάκου, όσο και στο γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του ψεκασμού και της δειγματοληψίας τα δύο πλαϊνά ανοίγματα του θερμοκηπίου παραμένουν ανοιχτά.

3.14.3 Εκτίμηση της έκθεσης σε CTN των εργαζομένων σε θερμοκήπια

Για να εκτιμηθεί ο κίνδυνος για την υγεία των εργαζομένων σε θερμοκήπια, από την έκθεσή τους σε CTN, μέσω της αναπνευστικής οδού, θεωρείται ότι ο μέσος ρυθμός αναπνοής είναι ίσος με 15 l/min και ότι η ποσότητα του CTN, που εισέρχεται στον οργανισμό μέσω της εισπνοής, απορροφάται κατά 100%, ενώ η απορροφούμενη ποσότητα, που προσλαμβάνεται μέσω του δέρματος είναι μόνο το 10% (Aprea et al., 2002).

Με βάση τα παραπάνω και τη συγκέντρωση του CTN που μετρείται την πρώτη ημέρα στον αέρα του θερμοκηπίου, υπολογίζεται η ποσότητα του CTN που προσλαμβάνεται από τον οργανισμό μέσω της αναπνευστικής οδού ανά ώρα εργασίας. Επιλέγεται η πρώτη ημέρα σ' αυτούς τους υπολογισμούς, γιατί η τιμή της συγκέντρωσης του CTN είναι η υψηλότερη ($0,82 \mu\text{g}/\text{m}^3$) και επομένως η έκθεση των εργαζομένων στο φυτοφάρμακο είναι η μεγαλύτερη. Από τους υπολογισμούς προκύπτει ότι η ποσότητα του CTN που προσλαμβάνεται αντιστοιχεί σε περίπου $0,8 \mu\text{g}/\text{h}$. Η αντίστοιχη ποσότητα του μεταβολίτη HCTN, υπολογίζεται ίση με $0,02 \mu\text{g}/\text{h}$.

3.15 Αποτελέσματα-Συζήτηση

Στο πρώτο κεφάλαιο του πειραματικού μέρους της παρούσας διδακτορικής διατριβής προτείνεται μία μέθοδος για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό του φυτοφαρμάκου chlorothalonil (CTN) και του κύριου μεταβολίτη του 4-hydroxy-chlorothalonil (HCTN) με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης και ανιχνευτή ορατού-υπεριώδους σε δείγματα αέρα. Παράλληλα προτείνεται και μέθοδος για την ταυτόχρονη δειγματοληψία αυτών σε δείγματα αέρα.

Για την ανάπτυξη της αναλυτικής μεθόδου μελετάται μια σειρά από παράγοντες, όπως η σύσταση και το pH της κινητής φάσης, η αναλογία των διαλυτών αυτής και η αναλυτική στήλη. Τελικά, ο καλύτερος διαχωρισμός των δύο ουσιών επιτυγχάνεται με στήλη Kromasil C8 και κινητή φάση ακετονιτρίλιο:ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0), με συνθήκες βαθμωτής έκλουσης. Επίσης, δίνονται τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου (καμπύλες αναφοράς, επαναληψιμότητα μεθόδου την ίδια ημέρα και μεταξύ διαφορετικών ημερών και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης). Οι καμπύλες αναφοράς καλύπτουν μία ευρεία κλίμακα συγκεντρώσεων, ενώ η επαναληψιμότητα της μεθόδου κρίνεται ιδιαίτερα ικανοποιητική.

Προκειμένου να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες για τη δειγματοληψία των δύο μελετώμενων ουσιών μελετώνται διάφοροι παράγοντες, οι οποίοι επιδρούν στην επιτυχή συλλογή και κατακράτηση αυτών σε κατάλληλα προσροφητικά υλικά αλλά και στην ποσοτική ανάκτησή τους από αυτά. Συγκεκριμένα, δοκιμάζονται διάφορα προσροφητικά υλικά, μελετάται ο όγκος του διαλύτη εκχύλισης και ο χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων για την ποσοτική παραλαβή των μελετώμενων ουσιών από τα προσροφητικά υλικά, ελέγχεται η σταθερότητα των ουσιών στα προσροφητικά υλικά μετά τη διέλευση αέρα όπως επίσης και κάτω από διάφορες συνθήκες αποθήκευσης και εξετάζεται η ικανότητα συλλογής των ουσιών από την αέρια φάση. Σε κάθε περίπτωση, η επιλογή των βέλτιστων συνθηκών βασίζεται στις τιμές της ανάκτησης.

Για τη δειγματοληψία του CTN και του HCTN στον αέρα θερμοκηπίου χρησιμοποιούνται μικροφίλτρα υαλονημάτων για τη συλλογή των αιωρούμενων σωματιδίων και μικροστήλες, οι οποίες περιέχουν silica gel, για τη συλλογή των ουσιών που βρίσκονται στην αέρια φάση. Η επιλογή του silica gel ως καταλληλότερου προσροφητικού υλικού γίνεται μετά από τη μελέτη τεσσάρων διαφορετικών υλικών (Florisil, Silica gel, Tenax και XAD-2).

Για την ποσοτική εκχύλιση των ουσιών από εμβολιασμένα φίλτρα, μελετάται η επίδραση του όγκου του διαλύματος εκχύλισης καθώς επίσης και του χρόνου παραμονής των φίλτρων στο λουτρό υπερήχων. Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης, επιλέγεται ως κατάλληλος όγκος εκχύλισης τα 2 ml και χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων τα 10 min. Μετά την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης, ακολουθεί μελέτη προκειμένου να ελεγχθεί η ποσοτική ανάκτηση των μελετώμενων ουσιών από τα προσροφητικά υλικά, σε μια ευρεία κλίμακα εμβολιαζόμενης ποσότητας (0,02 έως 10,00 µg από την κάθε ουσία). Οι ανακτήσεις από τα εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, σε όλα τα επίπεδα εμβολισμού είναι σταθερές και μεγαλύτερες από 93,1 % και 98,0 % για το HCTN και το CTN αντίστοιχα, ενώ για το silica gel οι ανακτήσεις του HCTN και του CTN είναι μεγαλύτερες από 95,4 και 93,4 %, αντίστοιχα. Το συμπέρασμα, το οποίο εξάγεται από τη μελέτη αυτή είναι ότι για μεγάλο εύρος εμβολιαζόμενων ποσοτήτων, οι τιμές των ανακτήσεων είναι υψηλές, σταθερές

και ανεξάρτητες από την ποσότητα των ουσιών, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου.

Για την εκτίμηση της ικανότητας συλλογής των ουσιών από την αέρια φάση χρησιμοποιείται κατάλληλα τροποποιημένος αέριος χρωματογράφος, στον οποίο προσαρμόζεται κοίλος σωλήνας στη μία άκρη του οποίου εγχέεται πρότυπο διάλυμα των ουσιών και στην άλλη άκρη συνδέεται μικροστήλη, η οποία περιέχει silica gel. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι ενώ το CTN συλλέγεται ποσοτικά από το φίλτρο silica gel, το ποσοστό του HCTN που συλλέγεται από το φίλτρο είναι πολύ μικρό, ακόμη και όταν η θερμοκρασία αυξάνεται στους 150 °C, γεγονός το οποίο οφείλεται στη μικρή τάση ατμών του HCTN.

Η ικανότητα κατακράτησης των ουσιών από τα φίλτρα εκτιμάται με διαβίβαση αέρα δια μέσου εμβολιασμένων φίλτρων, όγκου 250, 500, 1000 και 2000 l. Μελετώνται ξεχωριστά εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, εμβολισμένα φίλτρα silica gel και τέλος εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και silica gel, τα οποία συνδέονται σε σειρά. Οι ανακτήσεις του μεταβολίτη HCTN, σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάζονται, είναι μεγαλύτερες από 94 %, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα φίλτρα κατακρατούν ποσοτικά το μεταβολίτη. Αντίθετα στην περίπτωση του CTN, ένα ποσοστό αυτού εξατμίζεται από τα εμβολισμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, ακόμη και μετά τη διέλευση 250 l αέρα, το οποίο όμως κατακρατείται ποσοτικά από τα φίλτρα silica gel. Επομένως, με τη χρήση του προτεινόμενου δειγματολήπτη μπορεί να κατακρατηθεί ποσοτικά το CTN δε μπορεί όμως να γίνει διάκριση μεταξύ της ποσότητας, η οποία βρίσκεται προσροφημένη στα αιωρούμενα σωματίδια και της ποσότητας που βρίσκεται στην αέρια φάση.

Η σταθερότητα των μελετώμενων ουσιών στα επιλεγμένα προσροφητικά υλικά ελέγχεται με μια σειρά πειραμάτων, από τα οποία αποδεικνύεται ότι και οι δύο ουσίες είναι σταθερές τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους +4 °C για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 15 ημερών.

Η προτεινόμενη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού του φυτοφαρμάκου CTN και του μεταβολίτη του HCTN εφαρμόζεται στην ανάλυση δειγμάτων αέρα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο. Στο θερμοκήπιο προηγείται ψεκασμός με το εμπορικό σκεύασμα Daconil 500 SC και οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνται καθημερινά για δέκα συνεχείς ημέρες, καθώς επίσης και την 12^η, την 14^η και την 21^η ημέρα μετά τον ψεκασμό. Το CTN ανιχνεύεται σε όλα τα δείγματα, τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα silica gel, ενώ ο μεταβολίτης HCTN ανιχνεύεται μόνο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων τις πρώτες τέσσερις ημέρες της δειγματοληψίας, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην χαμηλή τάση ατμών του. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση του CTN παρατηρείται στα δείγματα που λαμβάνονται την πρώτη ημέρα αμέσως μετά τον ψεκασμό. Μέχρι την 9^η ημέρα της δειγματοληψίας

παρατηρούνται αυξομειώσεις στην συγκέντρωση του CTN, που οφείλονται πιθανώς και στις μεταβολές της θερμοκρασίας. Από τη 10^η μέχρι και την 21^η ημέρα, η συγκέντρωση του CTN μειώνεται σταθερά.

Τέλος, η προτεινόμενη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού του chlorothalonil και του μεταβολίτη του 4-hydroxychlorothalonil μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του κινδύνου για την υγεία των εργαζομένων στα θερμοκήπια και γενικά των εργαζομένων ή ευρισκομένων σε χώρους, στους οποίους γίνεται χρήση αυτού του φυτοφαρμάκου.

Συνοψίζοντας, η προτεινόμενη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού του φυτοφαρμάκου CTN και του κύριου μεταβολίτη του HCTN είναι απλή, γρήγορη, επαναλήψιμη και επιτυγχάνει χαμηλά όρια ανίχνευσης. Επίσης, σημαντικά πλεονεκτήματα της μεθόδου θεωρούνται αφενός η χρήση κοινών και φθηνών υλικών και οργάνων και αφετέρου η μικρή κατανάλωση οργανικών διαλυτών για την ποσοτική παραλαβή των προσροφημένων ουσιών. Η προτεινόμενη μέθοδος εφαρμόζεται με επιτυχία στη δειγματοληψία και την ανάλυση δειγμάτων αέρα, τα οποία προέρχονται από θερμοκήπιο.

Κεφάλαιο 4 – Ταυτόχρονος προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων Chlorpyrifos, Diazinon, Pirimiphos-methyl, Fenthion και Parathion-methyl

4.1 Εισαγωγή

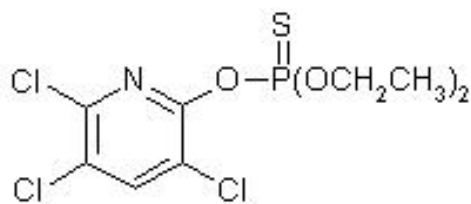
Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται ευρέως για την καταπολέμηση εντόμων και σε μικρότερη έκταση για την καταπολέμηση ζιζανίων στις καλλιέργειες. Είναι ενώσεις μεγάλης τοξικότητας, σχετικά ασταθείς σε αλκαλικό περιβάλλον και έχουν μικρό βαθμό βιοσυσσώρευσης (WHO, 1986, Walker, 2001). Αν και είναι ενώσεις, οι οποίες διασπώνται σχετικά εύκολα, προκαλούν περιβαλλοντικά προβλήματα λόγω της υψηλής οξείας τοξικότητας που παρουσιάζουν (Galloway and Handy, 2003).

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας διατριβής (κεφάλαιο 4) αναπτύσσεται μέθοδος για την ταυτόχρονη δειγματοληψία και τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos σε δείγματα αέρα από θερμοκήπιο. Η προτεινόμενη μέθοδος δειγματοληψίας είναι απλή στην εφαρμογή, χρησιμοποιεί κοινά και φθηνά υλικά και συσκευές και ακόμα είναι εφικτή η ποσοτική συλλογή και εκχύλιση των ουσιών από τα προσροφητικά υλικά. Επίσης, η προτεινόμενη μέθοδος προσδιορισμού των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων είναι απλή, γρήγορη και ευαίσθητη. Η αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων. Με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία, δεν υπάρχει παρόμοια μελέτη ταυτόχρονου προσδιορισμού των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων σε αέρια δείγματα.

4.1.1 Chlorpyrifos

Το chlorpyrifos είναι μη συστηματικό εντομοκτόνο, το οποίο δρα μέσω της επαφής, της εισπνοής και του στομάχου. Στο σχήμα 4.1 απεικονίζεται το μόριο του chlorpyrifos καθώς επίσης και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.

Το chlorpyrifos εισάγεται για πρώτη φορά στην αγορά από την εταιρία Dow Chemical Company, το 1965, με τις εμπορικές ονομασίες Dursban και Lorsban. Μέχρι σήμερα, τα εμπορικά του σκευάσματα κυκλοφορούν με την ίδια ονομασία (Dursban) και ανάλογα με τη σύσταση και την περιεκτικότητά τους σε chlorpyrifos φέρουν διάφορους κωδικούς. Για παράδειγμα αναφέρονται τα Dursban 480 EC, το οποίο είναι διάλυμα και περιέχει chlorpyrifos σε συγκέντρωση 48 % w/v και το Dursban 25 WP, το οποίο είναι υπό μορφή σκόνης και περιέχει 25 % w/w chlorpyrifos.



Κοινή ονομασία: Chlorpyrifos (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate (I.U.P.A.C.)
- O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl) phosphorothioate (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Dursban, Lorsban, Agromil, Bullet, Chlorfos, Destroyer, Dhanvan, Dorsan, Omexan, Panda, Pestan, Piridane, Pyriban, Pyrifoz, Pyrinex, Pyrivol, Radar, Robon, Rochlop, Rodazim, Silrifos, Spannir, Strike, Tabafan, Talon, Terraguard, Tricel

Χημική κατηγορία: Οργανοφωσφορικό

Μοριακός τύπος: C₉H₁₁Cl₃NO₃PS

Μοριακό βάρος: 350,6

Φυσική κατάσταση: Άχρωμοι κρύσταλλοι με ελαφριά μυρωδιά μερκαπτάνης.

Σημείο τήξεως: 42 – 43,5 °C

Σημείο ζέσεως: 200 °C

Τάση ατμών: 2,7 mPa (στους 25 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP= 4,70

Σχήμα 4.1: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos

Το chlorpyrifos χρησιμοποιείται στις καλλιέργειες για την πρόληψη και την καταπολέμηση εντόμων των ειδών *coleoptera*, *diptera*, *homoptera* και *lepidoptera* στο έδαφος ή στο φύλλωμα των καλλιεργειών. Στην Ελλάδα, χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες λαχανικών, πατάτας, βαμβாகιού, καπνού, σε οπωροφόρα δένδρα (ροδακινιά, βερικοκιά, δαμασκηνιά, κερασιά, μηλιά, αχλαδιά), σε εσπεριδοειδή (μανταρινιά, πορτοκαλιά, λεμονιά), σε καλλωπιστικά φυτά καθώς επίσης χρησιμοποιείται και για την καταπολέμηση των κουνουπιών (Tomlin, 1997).

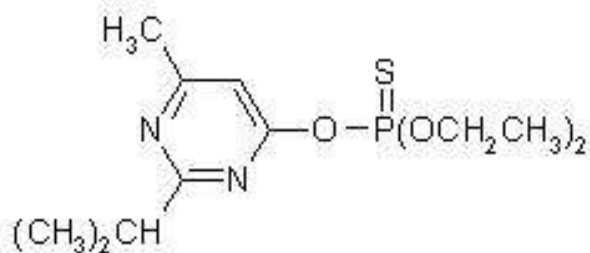
Το chlorpyrifos είναι σταθερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος καθώς επίσης στην υπεριώδη ακτινοβολία σε στερεή κατάσταση. Ακόμα είναι σταθερό σε όξινα και σε ουδέτερα υδατικά διαλύματα ενώ η ταχύτητα υδρόλυσής του αυξάνεται με το pH και με την παρουσία ιόντων δισθενούς χαλκού, τα οποία δρουν καταλυτικά (Mortland and Raman, 1967). Ο χρόνος ημιζωής του σε υδατικά διαλύματα κυμαίνεται από 22,8 ημέρες σε τιμή pH ίση με 8,1 στους 25 °C έως 100 ημέρες σε pH 7 στους 15 °C (Meikle and Youngson, 1978, Tomlin, 1997). Στο έδαφος ο χρόνος ημιζωής του chlorpyrifos κυμαίνεται από 10 έως 120 ημέρες και ο κύριος μεταβολίτης του είναι το 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, το οποίο διασπάται περαιτέρω σχηματίζοντας οργανοχλωριωμένα προϊόντα και διοξείδιο του άνθρακα (Singh and Walker, 2006). Επίσης, στην επιφάνεια και στον ιστό των φυτών έχει βρεθεί ο μεταβολίτης 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (FAO, 1999).

Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos είναι μέτρια και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας II, σύμφωνα με τον WHO (WHO, 1986). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση chlorpyrifos δια του στόματος σε αρουραίους η τιμή LD₅₀ κυμαίνεται από 135 έως 163 mg/kg σωματικού βάρους. Παρόμοια είναι και η τοξικότητά του στην έκθεση μέσω της εισπνοής. Στην περίπτωση των αρουραίων, η τιμή LC₅₀ είναι μεγαλύτερη από 36 mg/m³ αέρα για χρόνο έκθεσης ίσο με 4 ώρες (FAO, 1999). Η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI ορίζεται στα 0,01 mg/kg σωματικού βάρους (JMPR - 617, 1983).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του chlorpyrifos, που προσλαμβάνεται από τα θηλαστικά, μεταβολίζεται γρήγορα σχηματίζοντας κυρίως το μεταβολίτη 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, ενώ η ποσότητα που παραμένει αδιάσπαστη απεκκρίνεται με τα ούρα (FAO, 1999). Μελέτη σε εθελοντές για χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων, με χορήγηση δια του στόματος μίας δόσης chlorpyrifos που αντιστοιχεί σε 0,5 mg/kg, δείχνει μείωση κατά 80 % της δραστηριότητας της βουτυρυλοχολινεστεράσης, αλλά καμία μεταβολή στη δραστηριότητα της ακετυλοχολινεστεράσης ούτε την εμφάνιση άλλων συμπτωμάτων (Albers et al., 1999). Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, η έκθεση σε chlorpyrifos επηρεάζει το βάρος και το ύψος των εμβρύων του ανθρώπου. Σε δείγμα 314 εγκύων γυναικών, οι οποίες εκτίθενται μέσω της αναπνευστικής οδού σε chlorpyrifos, το μέσο βάρος των νεογέννητων παιδιών είναι μειωμένο κατά 42,6 g και το μέσο ύψος τους μειωμένο κατά 0,24 cm, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (Whyatt et al., 2004).

4.1.2 Diazinon

Το diazinon είναι μη συστηματικό εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο, το οποίο δρα μέσω της επαφής, της εισπνοής και του στομάχου. Στο σχήμα 4.2 απεικονίζεται το μόριο του diazinon καθώς επίσης και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.



Κοινή ονομασία: Diazinon (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate (I.U.P.A.C.)
- O,O-diethyl O-[6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl] phosphorothioate (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Basudin, Cekuzinon, Dianon, Dianozyl, Diazol, Ectoban, Efdiazon, Knox-out

Χημική κατηγορία: Οργανοφωσφορικό

Μοριακός τύπος: C₁₂H₂₁N₂O₃PS

Μοριακό βάρος: 304,3

Φυσική κατάσταση: Άχρωμο υγρό.

Σημείο ζέσεως: 83-84 °C (σε 0,0002 mm Hg), 125 °C (σε 1 mm Hg)

Τάση ατμών: 9,7 mPa (στους 20 °C), 12 mPa (στους 25 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP= 3,30

Σχήμα 4.2: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου diazinon

Το diazinon εισάγεται για πρώτη φορά στην αγορά από την εταιρία Ciba-Geigy (μετέπειτα Novartis και σήμερα Syngenta) το 1952, με την εμπορική ονομασία Basudin. Σήμερα τα εμπορικά του σκευάσματα κυκλοφορούν με διαφορετικές ονομασίες και ανάλογα με τη σύσταση και την περιεκτικότητά τους σε diazinon φέρουν διάφορους κωδικούς. Για παράδειγμα αναφέρονται το Diazinon 60 EC, το οποίο είναι διάλυμα και περιέχει το ενεργό συστατικό diazinon σε συγκέντρωση 60 % w/v, το Efdiazon 40 WP, το οποίο είναι υπό μορφή σκόνης και περιέχει 40 % w/w diazinon και το Diziktol 10 GR, το οποίο είναι υπό μορφή κόκκων και περιέχει diazinon σε συγκέντρωση 10 % w/w.

Το diazinon χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση διαφόρων ειδών εντόμων σε καλλιέργειες καθώς επίσης και για την καταπολέμηση των κατσαριδών και των μυρμηγκιών και άλλων εντόμων σε οικίες. Επίσης, χρησιμοποιείται στην επεξεργασία των σπόρων του καλαμποκιού, πριν από τη σπορά, τόσο για την καταπολέμηση των εντόμων όσο και για την απομάκρυνση των πτηνών. Στην Ελλάδα, χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες αμπέλου, πυρηνόκαρπων δένδρων (ροδακινιά, βερικοκιά, δαμασκηλιά, κερασιά), βαμβακιού, καπνού, εσπεριδοειδών, λαχανικών, ελιάς, πατάτας και καλλωπιστικών φυτών. Επίσης, χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες μπανάνας, ανανά, καφέ και κακάο (Tomlin, 1997).

Το diazinon είναι σταθερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αλλά αποσυντίθεται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 120 °C (WHO, 1979). Ακόμα, είναι σταθερό σε διαλύματα με ουδέτερο pH, υδρολύεται με αργό ρυθμό σε αλκαλικά διαλύματα ενώ σε όξινα διαλύματα η υδρόλυσή του είναι ταχεία. Πιο συγκεκριμένα, στους 20 °C ο χρόνος ημιζωής του diazinon σε τιμές pH 7,4 και 10,4 είναι 185 και 6 ημέρες, αντίστοιχα, ενώ σε τιμή pH 3,1 ο χρόνος ημιζωής είναι μόνο 11,77 ώρες (Tomlin, 1997). Στο έδαφος, το diazinon διασπάται είτε μέσω οξειδωσης, σχηματίζοντας το ανάλογο οξειδίο (diazoxon) είτε μέσω υδρόλυσης ενώ ο χρόνος ημιζωής του κυμαίνεται από 8 έως 10 ημέρες (WHO, 1998).

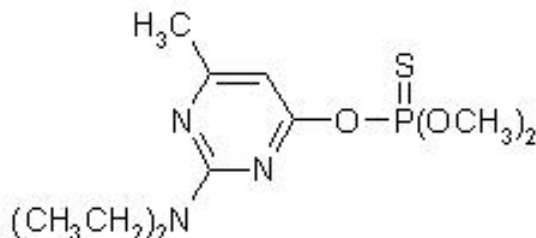
Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου diazinon τόσο με τη χορήγηση δια του στόματος όσο και με την έκθεση μέσω της εισπνοής είναι χαμηλή και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας III, σύμφωνα με τον WHO (WHO, 1998). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση diazinon δια του στόματος σε αρουραίους, η τιμή LD₅₀ ισούται με 1250 mg/kg σωματικού βάρους, ενώ στην έκθεση αρουραίων μέσω της εισπνοής η τιμή LC₅₀ είναι μεγαλύτερη από 2,33 mg/l αέρα για χρόνο έκθεσης 4 ώρες (WHO, 1998). Η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI ορίζεται στα 0,002 mg/kg σωματικού βάρους (JMPR - 858, 1993).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του diazinon που προσλαμβάνεται από τα θηλαστικά μεταβολίζεται σχηματίζοντας τους μεταβολίτες diethyl thiophosphate, diethyl phosphate και diazoxon (Forsyth and Chambers, 1989, Vitozzi et al., 2001). Από μελέτη σε εθελοντές προκύπτει ότι μετά από πρόσληψη δια του στόματος diazinon, η δραστηριότητα της

ακετυλοχολινεστεράσης μειώνεται κατά 14 % (Garfitt et al., 2002). Επίσης, από μελέτη σε άλλη ομάδα εθελοντών, προκύπτει ότι το ποσοστό του diazinon που απορροφάται από το δέρμα φτάνει το 20 % (Moody and Nadeau, 1994). Στα φυτά, το προσλαμβανόμενο diazinon υδρολύεται και τα προϊόντα υδρόλυσης διασπώνται σχηματίζοντας τελικά διοξείδιο του άνθρακα (WHO, 1998).

4.1.3 Pirimiphos-methyl

Το pirimiphos-methyl είναι συστηματικό εντομοκτόνο ευρέως φάσματος που δρα μέσω της επαφής και μέσω της αναπνευστικής οδού. Στο σχήμα 4.3 απεικονίζεται το μόριο του pirimiphos-methyl καθώς επίσης και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.



Κοινή ονομασία: Pirimiphos-methyl (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- O,O-dimethyl O-2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate (I.U.P.A.C.)
- O-[2-(diethylamino)-6-methyl-4-pyrimidinyl] O,O-dimethyl phosphorothioate (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Actellic, Actellifog

Χημική κατηγορία: Οργανοφωσφορικό

Μοριακός τύπος: C₁₁H₂₀N₃O₃PS

Μοριακό βάρος: 350,3

Φυσική κατάσταση: Αχυρόχρωμο υγρό.

Σημείο τήξεως: 15 – 18 °C

Σημείο ζέσεως: Αποσυντίθεται κατά την απόσταξη.

Τάση ατμών: 2 mPa (στους 20 °C), 5 mPa (στους 25 °C), 15 mPa (στους 30 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP= 4,2

Σχήμα 4.3: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου pirimiphos-methyl

Το pirimiphos-methyl εισάγεται για πρώτη φορά στην αγορά από την εταιρία Zeneca το 1966, με την εμπορική ονομασία Actellic. Μέχρι σήμερα τα εμπορικά του σκευάσματα κυκλοφορούν με την ίδια ονομασία και ανάλογα με τη σύσταση και την περιεκτικότητά τους σε pirimiphos-methyl φέρουν διάφορους κωδικούς. Για παράδειγμα αναφέρεται το Actellic 50EC, το οποίο είναι διάλυμα και περιέχει το ενεργό συστατικό pirimiphos-methyl σε συγκέντρωση 50 % w/v.

Το pirimiphos-methyl χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση διαφόρων ειδών εντόμων σε καλλιέργειες καθώς επίσης και για την καταπολέμηση εντόμων σε αποθήκες και σε κτήρια. Στην Ελλάδα χρησιμοποιείται ευρέως σε καλλιέργειες αμπέλου, λαχανικών, εσπεριδοειδών, καλαμποκιού, δημητριακών, τριφυλλιού και ελιάς. Στα θερμοκήπια χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες τομάτας, αγγουριού, μελιτζάνας και καλλωπιστικών φυτών (Tomlin, 1997).

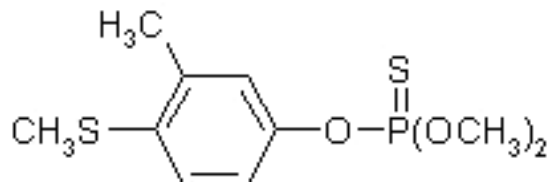
Το pirimiphos-methyl υδρολύεται σε πυκνά υδατικά διαλύματα οξέων και βάσεων και η ταχύτητα της αντίδρασης υδρόλυσης εξαρτάται από το pH. Συγκεκριμένα, ο χρόνος ημιζωής κυμαίνεται από 7,5 έως 35 ημέρες για εύρος τιμών pH από 5,8 έως 8,5, ενώ σε τιμή pH ίση με 7,0 εμφανίζει τη μεγαλύτερη σταθερότητα. Ακόμα, υδατικά διαλύματα του pirimiphos-methyl παρουσία ηλιακού φωτός αποικοδομούνται και η αντίδραση αυτή έχει χρόνο ημιζωής μία ημέρα. Στο έδαφος, ο χρόνος ημιζωής είναι μικρότερος από 30 ημέρες (Tomlin, 1997).

Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου pirimiphos-methyl τόσο με τη χορήγηση δια του στόματος όσο και με την έκθεση μέσω της εισπνοής είναι χαμηλή και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας III, σύμφωνα με τον WHO (Tomlin, 1997). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση pirimiphos-methyl δια του στόματος σε αρουραίους, η τιμή LD₅₀ εκτιμάται ίση με 2050 mg/kg σωματικού βάρους, ενώ στην έκθεση αρουραίων μέσω της εισπνοής η τιμή LC₅₀ είναι μεγαλύτερη από 5,04 mg/l αέρα για χρόνο έκθεσης 4 ώρες (WHO, 1986). Η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI ορίζεται στα 0,03 mg/kg σωματικού βάρους (JMPR - 850, 1992).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του pirimiphos-methyl (περίπου το 90 %), που προσλαμβάνεται δια του στόματος από αρουραίους, απεκκρίνεται σε 48 ώρες χωρίς να υποστεί διάσπαση (FAO, 2004). Η ποσότητα που κατακρατείται διασπάται σχηματίζοντας τους μεταβολίτες O-2-ethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl O-methyl O-hydrogen phosphorothioate, 2-ethylamino-6-methylpyrimidin-4-ol και O-2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl O-methyl O-hydrogen phosphorothioate (FAO, 2004). Επίσης, ο μεταβολίτης O-2-ethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl O,O-dimethyl phosphorothioate έχει βρεθεί στον ιστό των φυτών, στον οποίο διεισδύει το pirimiphos-methyl μέσω των φύλλων τους (FAO, 2004). Η χορήγηση pirimiphos-methyl σε ποσότητα ίση με 100 mg/kg σωματικού βάρους σε κόττες, μετά από χρονικό διάστημα 21 ημερών οδηγεί σε μείωση της δραστηριότητας της ακετυλοχολινεστεράσης κατά 80 % σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (Lock and Johnson, 1990).

4.1.4 Fenthion

Το fenthion είναι συστηματικό εντομοκτόνο που δρα μέσω της επαφής, του στομάχου και της αναπνευστικής οδού. Στο σχήμα 4.4. απεικονίζεται το μόριο του fenthion καθώς επίσης και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.



Κοινή ονομασία: Fenthion (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- O,O-dimethyl O-4-methylthio-*m*-tolyl phosphorothioate (I.U.P.A.C.)
- O,O-dimethyl O-[3-methyl-4-(methylthio) phenyl] phosphorothioate (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Lebaycid, Beiliulin, Faster, Pilartex

Χημική κατηγορία: Οργανοφωσφορικό

Μοριακός τύπος: C₁₀H₁₅O₃PS₂

Μοριακό βάρος: 278,3

Φυσική κατάσταση: Άχρωμο ελαιώδες υγρό.

Σημείο ζέσεως: 90 °C (σε 0,0075 mm Hg), 117 °C (σε 0,075 Hg)

Τάση ατμών: 0,74 mPa (στους 20 °C), 1,4 mPa (στους 25 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP= 4,84

Σχήμα 4.4: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου fenthion

Το fenthion εισάγεται για πρώτη φορά στην αγορά από την εταιρία Bayer το 1960, με την εμπορική ονομασία Lebaycid. Μέχρι σήμερα τα εμπορικά του σκευάσματα κυκλοφορούν με την ίδια ονομασία και διατίθενται κυρίως υπό τη μορφή διαλυμάτων, όπως για παράδειγμα το Lebaycid 50EC, το οποίο περιέχει ως ενεργό συστατικό fenthion σε συγκέντρωση 50 % w/v.

Το fenthion χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση διαφόρων ειδών εντόμων σε καλλιέργειες. Επίσης, χρησιμοποιείται σε δημόσιους χώρους για την εξόντωση κουνουπιών, κατσαρίδων, μυγών και μυρμηγκιών και για τον έλεγχο των παρασίτων στο τρίχωμα των

ζώων. Στην Ελλάδα χρησιμοποιείται κυρίως σε καλλιέργειες αμπέλου, καπνού, ελιάς, λαχανικών, εσπεριδοειδών, βαμβακιού, ρυζιού και καλλωπιστικών φυτών (Tomlin, 1997).

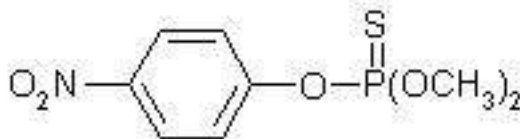
Το fenthion είναι σταθερό παρουσία φωτός και σε θερμοκρασίες έως 210 °C. Στα υδατικά του διαλύματα υδρολύεται με αργό ρυθμό. Ο χρόνος ημιζωής στους 25 °C σε τιμές pH 5, 7 και 9 είναι: 56, 41 και 32 ημέρες, αντίστοιχα (JMPR-909, 1995). Στο έδαφος σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες ο χρόνος ημιζωής του fenthion κυμαίνεται από 10 έως 32 ημέρες (JMPR-909, 1995) και οι μεταβολίτες, που σχηματίζονται είναι το fenthion sulfoxide και το fenthion sulfone, οι οποίοι διασπώνται περαιτέρω σχηματίζοντας τις αντίστοιχες φαινόλες (Tomlin, 1997). Επίσης, στον ιστό των φυτών έχουν βρεθεί οι μεταβολίτες fenthion sulfoxide και fenthion sulfone, ενώσεις οι οποίες εμφανίζουν εντομοκτόνο δράση (JMPR-895, 1995).

Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου fenthion τόσο με τη χορήγηση δια του στόματος όσο και με την έκθεση μέσω της εισπνοής είναι μέτρια και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας II, σύμφωνα με τον WHO (WHO, 2005). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση fenthion δια του στόματος σε αρουραίους, η τιμή LD₅₀ ισούται με 250 mg/kg σωματικού βάρους, ενώ στην έκθεση αρουραίων μέσω της εισπνοής η τιμή LC₅₀ είναι μεγαλύτερη από 0,5 mg/l αέρα για χρόνο έκθεσης 4 ώρες (JMPR-931, 1997).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του fenthion που προσλαμβάνεται από τα θηλαστικά διασπάται μέσω υδρόλυσης σχηματίζοντας διάφορα προϊόντα, τα οποία αποβάλλονται με τα ούρα. Οι κύριοι μεταβολίτες είναι το fenthion sulfoxide, το fenthion sulfone και οι ανάλογες με οξυγόνο ενώσεις τους, οι οποίοι διασπώνται περαιτέρω με υδρόλυση σχηματίζοντας τις αντίστοιχες φαινόλες (Tomlin, 1997). Με τη χορήγηση δια του στόματος 100 mg/kg σωματικού βάρους σε αρουραίους και για χρονικό διάστημα δύο ημερών, παρατηρούνται βλάβες στο ήπαρ και στους νεφρούς (Kerem et al., 2007). Επίσης, παρατηρούνται βλάβες στον εγκεφαλικό φλοιό και στον κερατοειδή χιτώνα αρουραίων, όταν χορηγείται ποσότητα fenthion ίση με 100 mg/kg για χρονικό διάστημα 56 ημερών (Tandon et al., 1994). Η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI ορίζεται στα 0,007 mg/kg σωματικού βάρους (JMPR - 895, 1995).

4.1.5 Parathion-methyl

Το parathion-methyl είναι μη συστηματικό εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο, το οποίο δρα μέσω της επαφής, του στομάχου και μέσω της αναπνευστικής οδού. Στο σχήμα 4.5 απεικονίζεται το μόριο του parathion-methyl καθώς επίσης καταγράφονται και οι κυριότερες φυσικοχημικές του ιδιότητες.



Κοινή ονομασία: Parathion-methyl (BSI, ISO, ANSI)

Χημική ονομασία:

- O,O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate (I.U.P.A.C.)
- O,O-dimethyl O-(4-nitrophenyl) phosphorothioate (Chemical Abstracts)

Εμπορική ονομασία: Folidol-M, Metacide, Cekumethion, Dhanuman, Fostox metil, Jiajidiuliulin, Morfos methyl, Parataf, Paratox, Penncap-M, Sweeper, Thionyl, Parathyl

Χημική κατηγορία: Οργανοφωσφορικό

Μοριακός τύπος: C₈H₁₀NO₅PS

Μοριακό βάρος: 263,2

Φυσική κατάσταση: Άχρωμοι και άοσμοι κρύσταλλοι.

Σημείο τήξεως: 35 – 36 °C

Σημείο ζέσεως: 154 °C

Τάση ατμών: 0,2 mPa (στους 20 °C), 0,41 mPa (στους 25 °C)

Συντελεστής K_{ow}: logP= 3,0

Σχήμα 4.5: Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου parathion-methyl

Το parathion-methyl εισάγεται για πρώτη φορά από την εταιρία Bayer, το 1951, με την εμπορική ονομασία Folidol-M. Επίσημα, δε διατίθενται πλέον εμπορικά του σκευάσματα στην αγορά γιατί με απόφαση της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η χρήση του έχει απαγορευτεί από το 2003 (με περίοδο χάριτος έως το 2004) (Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2003). Σε ορισμένες χώρες, εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, εξακολουθεί να χρησιμοποιείται. Αν και απαγορευμένο από το 2003, μέχρι το 2006 υπολείμματά του ανιχνεύονται σε τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση γεγονός που οφείλεται ή στην παράνομη εισαγωγή και χρήση του από τρίτες χώρες εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης ή στη χρήση ποσοτήτων του φυτοφαρμάκου που έχουν απομείνει ως απόθεμα. Στην Ελλάδα, όπως

φαίνεται σε σχετική μελέτη, το φυτοφάρμακο parathion-methyl ανιχνεύεται σε δείγματα ελαιολάδου, τα οποία ελήφθησαν κατά τη χρονολογική περίοδο 2004-2005 (Amvrazi and Albanis, 2009). Η παράνομη χρήση του από τους αγρότες οφείλεται κυρίως στην καλή του αποτελεσματικότητα και στο χαμηλό του κόστος (Muttaray et al., 2006).

Το parathion-methyl χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση διαφόρων ειδών εντόμων, που είναι επιβλαβή για πολλές καλλιέργειες. Στην Ελλάδα χρησιμοποιούνταν ευρέως σε καλλιέργειες πυρηνόκαρπων οπωροφόρων δένδρων (ροδακινιά, βερικοκιά, κερασιά), αχλαδιάς, μηλιάς, εσπεριδοειδών, πατάτας, ελιάς, λάχανου, τομάτας, μαρουλιού, αγγουριού και καλλωπιστικών φυτών.

Το φυτοφάρμακο parathion-methyl υδρολύεται με αργό ρυθμό στα υδατικά του διαλύματα. Ο χρόνος ημιζωής στους 25 °C σε τιμές pH 5, 7 και 9 είναι 68, 40 και 33 ημέρες, αντίστοιχα (Tomlin, 1997). Στο έδαφος, ο χρόνος ημιζωής του φυτοφαρμάκου parathion-methyl κυμαίνεται από 25 έως 130 ημέρες και οι κύριοι μεταβολίτες που σχηματίζονται είναι η 4-nitrophenol και το methyl-paraoxon (Singh and Walker, 2006). Στον ιστό των φυτών έχουν βρεθεί οι μεταβολίτες 4-nitrophenol, 4-nitrophenyl glucopyranoside και P-S-demethyl parathion-methyl (Tomlin, 1997).

Η οξεία τοξικότητα του φυτοφαρμάκου parathion-methyl τόσο δια του στόματος όσο και μέσω της εισπνοής είναι υψηλή και κατατάσσεται στην κατηγορία τοξικότητας I, σύμφωνα με τον WHO (JMPR-902, 1995). Σε σχετικές μελέτες αναφέρεται ότι με τη χορήγηση parathion-methyl δια του στόματος σε αρουραίους, η τιμή LD₅₀ είναι 3 mg/kg σωματικού βάρους, ενώ μέσω της εισπνοής η τιμή LC₅₀ είναι 0,17 mg/l αέρα για χρόνο έκθεσης 4 ώρες (Tomlin, 1997). Η ανώτατη αποδεκτή ημερήσια ποσότητα πρόσληψης ADI ορίζεται στα 0,003 mg/kg σωματικού βάρους (JMPR - 902, 1995).

Το μεγαλύτερο ποσοστό του φυτοφαρμάκου parathion-methyl που προσλαμβάνεται από τα θηλαστικά απεκκρίνεται με τα ούρα σε 24 ώρες, ενώ η ποσότητα που κατακρατείται διασπάται σχηματίζοντας τους μεταβολίτες methyl-paraoxon, 4-nitrophenol και dimethyl phosphate (JMPR-902, 1995). Η χορήγηση parathion-methyl σε αρουραίους σε ποσότητα 0,28 mg/kg ανά ημέρα και για χρονικό διάστημα 7 εβδομάδων, οδηγεί σε ελάττωση του βάρους των γενετικών τους αδένων, καθώς επίσης και σε μειωμένη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων τους (Uzunhisarcikli et al., 2007).

4.2 Μέθοδοι προσδιορισμού οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων

Οι αναλυτικές τεχνικές, που χρησιμοποιούνται κυρίως για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε διάφορα υποστρώματα, όπως νερά, ιζήματα, τρόφιμα και αέρα, είναι η αέρια χρωματογραφία και η υγρή χρωματογραφία υψηλής

απόδοσης. Η πρώτη τεχνική χρησιμοποιείται σε συνδυασμό είτε με ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (Wright et al., 1988, Leidy et al., 1991, Brown et al., 1993, Wright et al., 1994, Tolosa et al., 1996, Hiskia et al., 1998, Medina et al., 1999, Garfitt et al., 2002, Tsoutsi and Albanis, 2004, Al-Eed, 2006, Bai et al., 2006, López-Blanco et al., 2006, Pagliuca et al., 2006, Tsoutsi et al., 2006) είτε με ανιχνευτή μαζών (Rodríguez and Permanyer, 1991, Schenk et al., 1997, Hebert et al., 2000, Soleas et al., 2000, Whyatt et al., 2002, Lu et al., 2004, Silvia Díaz-Cruz and Barceló, 2006) ενώ η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης είτε με ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού (Brealey and Lawrence, 1979, Seiber, 1990, Thapar et al., 1994, Ku et al., 1998, Kitamura et al., 2000, Salleh et al., 2001) είτε με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (Lacorte et al., 1997, Herrmann et al., 1999) είτε τέλος με ανιχνευτή μαζών (Donnelly Betowski and Jones, 1988, Chiron et al., 1998).

Για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στον αέρα, συμπεριλαμβανομένων και των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων της παρούσας διατριβής, χρησιμοποιείται η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας σε συνδυασμό είτε με ανιχνευτή μαζών (Kawata et al., 1995, Scheyer et al., 2007, Esteve-Turrillas et al., 2008, Morgan et al., 2008) είτε με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (Kawahara et al., 2005, Bouvier et al., 2006, Edwards et al., 2007, Tsakirakis and Machera, 2007). Επίσης, για τον προσδιορισμό αυτών των φυτοφαρμάκων χρησιμοποιείται η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σε συνδυασμό είτε με ανιχνευτή μαζών (Tollbäck et al., 2006, Raina and Sun, 2008) είτε με ανιχνευτή ορατού υπεριώδους (Guardino et al., 1998).

4.3 Δειγματοληψία οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στον αέρα

Στη βιβλιογραφία, υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία υλικών για τη δειγματοληψία των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από τον αέρα. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται μικροφίλτρα υαλονημάτων (Muttaray et al., 2006), μικροστήλες οι οποίες περιέχουν διάφορα προσροφητικά υλικά, όπως XAD-2 (Brown et al., 1993), XAD-4 (Seiber et al., 1993), Tenax (Tsakirakis and Machera, 2007), ενεργό άνθρακα (Kawata and Yasuhara, 1994, Kawata et al., 1995), Florisil (Swami et al., 1997), Chromosorb (ρητίνη αποτελούμενη από πολυστυρένιο) (Hatzilazarou et al., 2005, Kawahara et al., 2005), μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά είτε με μικροστήλες που περιέχουν XAD-2 (Guardino et al., 1998, Scheyer et al., 2007) είτε αφρό πολυουρεθάνης (Glottfelty et al., 1990), μικροφίλτρα κατασκευασμένα από ίνες χαλαζία (QFF- Quartz Fiber Filters) συνδεδεμένα σε σειρά με αφρό πολυουρεθάνης (Whyatt et al., 2003, Bouvier et al., 2006), αφρός πολυουρεθάνης (Wright et al., 1988, Stamper et al., 1989a, Leidy et al., 1991, Schenk et al., 1997, Ferrari et al., 2003, Lu et al., 2004, Ferrari et al., 2005) και μικροστήλες που περιέχουν silica gel

(Morabito et al., 1990, Watanabe, 1998). Ακόμα, τα τελευταία χρόνια διατίθενται στην αγορά οι δειγματολήπτες OVS (OSHA Versatile Sampler, OVS) οι οποίοι αποτελούνται από υάλινο κύλινδρο, ο οποίος περιέχει σε σειρά μικροφίλτρο υαλονημάτων, XAD-2 ή Tenax και αφρό πολυουρεθάνης (Cattani et al., 2001, Stout and Mason, 2003, Edwards et al., 2007). Σε όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές, οι οποίες σχετίζονται με τη δειγματοληψία οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στον αέρα, προσδιορίζεται η συνολική ποσότητα χωρίς να γίνεται διάκριση αιωρούμενων σωματιδίων και αέριας φάσης. Τα συγκεκριμένα προσροφητικά υλικά χρησιμοποιούνται και για τη δειγματοληψία των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων της παρούσας μελέτης.

4.4 Αντιδραστήρια – Διαλύτες – Υλικά

Τα αντιδραστήρια, οι διαλύτες και τα υλικά που χρησιμοποιούνται στο παρόν τμήμα της διδακτορικής διατριβής είναι τα εξής:

Διαλύτες

- Ακετονιτρίλιο, καθαρότητας HPLC (Labscan, Dublin, Ireland)
- Ύδωρ, καθαρότητας HPLC (Labscan, Dublin, Ireland)
- Ακετόνη, καθαρότητας HPLC (Labscan, Dublin, Ireland)

Αντιδραστήρια

- Diazinon, καθαρότητας 99,0 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- Pirimiphos-methyl, καθαρότητας 99,9 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- Chlorpyrifos, καθαρότητας 99,2 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- Parathion-methyl, καθαρότητας 99,0 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- Fenthion, καθαρότητας 97,0 % w/w (Riedel-de-Haën, Germany)
- Δισόξινο φωσφορικό κάλιο, καθαρότητας 99,5 % w/w (BDH Chemicals Ltd, Poole, England)

Υλικά

- Ήλιο καθαρότητας 99,999 %, για την απαέρωση των διαλυτών της HPLC
- Εμπορικό σκεύασμα Parathyl 40EC σύστασης 40% w/v σε parathion-methyl (ΛΑΠΑΦΑΡΜ, Ελλάς)

- Εμπορικό σκεύασμα Diazinon 60 EC σύστασης 60 % w/v σε diazinon (ΕΛΛΑΓΡΕΤ, Ελλάς)
- Εμπορικό σκεύασμα Dursban 480 EC σύστασης 48 % w/v σε chlorpyrifos (DOW Agrosiences, Ελλάς)
- Εμπορικό σκεύασμα Actellic 50EC σύστασης 50 % w/v σε pirimiphos-methyl (SYNGENTA, Ελλάς)
- Εμπορικό σκεύασμα Lebaycid 50EC σύστασης 50 % w/v σε fenthion (BAYER Cropscience, Ελλάς)
- Μικροφίλτρα υαλονημάτων (Glass microfiber filters, GF/A) (Whatman, England)
- Silica gel, 70-230 mesh, 60 Å (Sigma-Aldrich, Germany)
- Amberlite XAD-2, 20-60 mesh (Sigma-Aldrich, Germany)
- Florisil 60-100 mesh (Sigma-Aldrich, Germany)
- Tenax 35-60 mesh (Alltech, Italy)

4.5 Διαλύματα

- Διάλυμα παρακαταθήκης των φυτοφαρμάκων συγκέντρωσης 1,0 mg/ml. Ζυγίζονται με ακρίβεια 10,0 mg από την κάθε ουσία διαλύονται σε περίπου 7 ml ακετόνης, το διάλυμα μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με ακετόνη. Τα διαλύματα φυλάσσονται στο ψυγείο στους +4 °C. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, τα διαλύματα παρακαταθήκης παραμένουν σταθερά για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών. Διαλύματα των ουσιών μικρότερης συγκέντρωσης παρασκευάζονται από το διάλυμα παρακαταθήκης με κατάλληλη αραιώση με ακετόνη.
- Διαλύματα εργασίας των φυτοφαρμάκων. Τα διαλύματα εργασίας των φυτοφαρμάκων παρασκευάζονται με κατάλληλη αραιώση των διαλυμάτων παρακαταθήκης με ακετονιτρίλιο.
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM. Ο τρόπος παρασκευής του ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.5.

4.6 Όργανα – Συσκευές

1. Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Το σύστημα αποτελείται από αντλία LC-10ADnr, μίκτη διαλυτών FCV-10AL και σύστημα θερμοστάτησης CTO-10Avr. Για την

ανίχνευση των φυτοφαρμάκων, χρησιμοποιείται ανιχνευτής συστοιχίας διόδων (Diode Array Detector, DAD) SPD-M20A. Τα δεδομένα συλλέγονται και επεξεργάζονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο είναι εγκατεστημένο το πρόγραμμα LC Solution, version 1.21. Όλες οι μονάδες της υγρής χρωματογραφίας και το πρόγραμμα συλλογής και επεξεργασίας δεδομένων είναι της Shimadzu (Tokyo, Japan). Ο διαχωρισμός των φυτοφαρμάκων επιτυγχάνεται με στήλη Hypesil BDS C18 (μήκους 200 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μ m και μεγέθους πόρων 120 Å)

2. Τα υπόλοιπα όργανα και οι συσκευές, που χρησιμοποιούνται στο δεύτερο μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής, περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.6.

4.7 Προσδιορισμός των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων

4.7.1 Γενική πειραματική πορεία

Τα μικροφίλτρα υαλονημάτων, διαμέτρου 25 mm καθώς επίσης και 100 mg XAD-2 τοποθετούνται σε χωριστά υάλινα φιαλίδια και εμβολιάζονται με διάλυμα, το οποίο περιέχει τα επιλεγμένα φυτοφάρμακα σε κατάλληλες συγκεντρώσεις. Στη συνέχεια τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης και μετά την εξάτμιση του διαλύτη, ακολουθεί εκχύλιση των αναλυόμενων ουσιών από τα υλικά δειγματοληψίας. Πιο αναλυτικά, στα υάλινα φιαλίδια, που περιέχουν τα υλικά δειγματοληψίας, προστίθενται 2 ml ακετονιτρίλιου, τα φιαλίδια ανακινούνται σε vortex για 1 min και κατόπιν τοποθετούνται σε λουτρό υπερήχων για 15 min. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 20 min στις 3500 στροφές/min και τέλος 20 μ l από το υπερκείμενο διάλυμα εγχέονται στην HPLC.

4.7.2 Χρωματογραφικές συνθήκες HPLC

Ο διαχωρισμός και ο προσδιορισμός των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται σύμφωνα με τις παρακάτω συνθήκες:

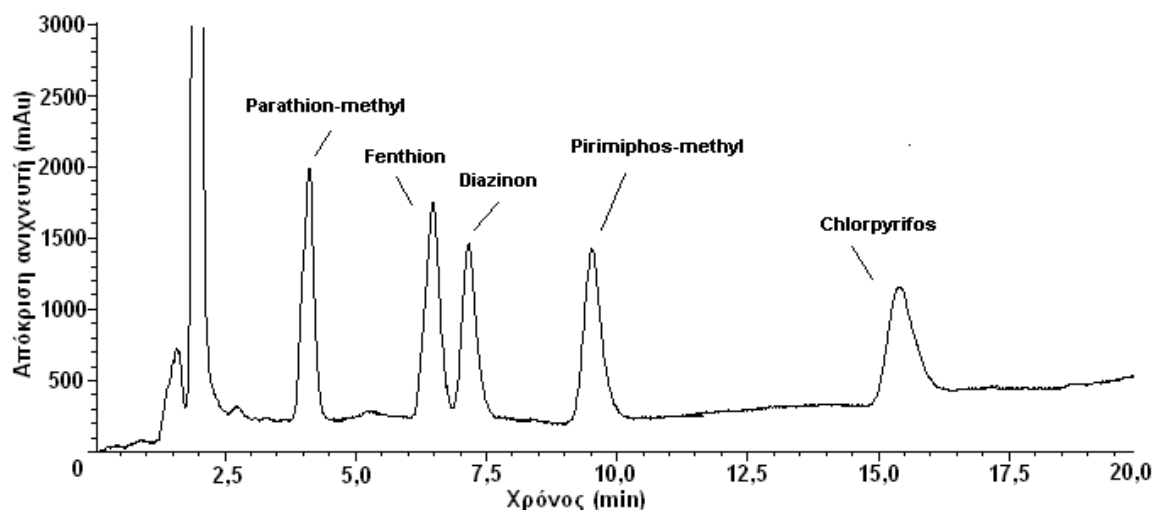
- Κινητή φάση: Η σύσταση της κινητής φάσης είναι ακετονιτρίλιο και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκεντρώσεως 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 60:40 v/v. Ο διαχωρισμός των ουσιών επιτυγχάνεται ισοκρατικά με ροή κινητής φάσης 1,0 ml/min. Ο χρόνος κατακράτησης των ουσιών είναι: parathion-methyl 4,06 min, fenthion 6,57 min, diazinon 7,24 min, pirimiphos-methyl 9,12 min, chlorpyrifos 15,08 min.

- Μήκος κύματος ανιχνευτή: Τα μήκη κύματος, τα οποία επιλέγονται για την ποσοτικοποίηση των μελετώμενων φυτοφαρμάκων, είναι τα μήκη κύματος της μέγιστης απορρόφησης όλων των φυτοφαρμάκων. Προκειμένου να ευρεθεί το μήκος κύματος της μέγιστης απορρόφησης του κάθε φυτοφαρμάκου λαμβάνονται φάσματα προτύπου διαλύματος του φυτοφαρμάκου στην HPLC σε περιοχή μηκών κύματος από 190 έως 800 nm. Έτσι, τα μήκη κύματος, τα οποία χρησιμοποιούνται για την ποσοτικοποίηση των φυτοφαρμάκων είναι τα εξής: parathion-methyl $\lambda_{\max}$ = 274 nm, fenthion $\lambda_{\max}$ = 252 nm, diazinon $\lambda_{\max}$ = 246 nm, pirimiphos-methyl $\lambda_{\max}$ = 248 nm, chlorpyrifos $\lambda_{\max}$ = 227 nm.
- Θερμοκρασία στήλης: 30 °C.
- Όγκος έγχυσης: 20 μ l.
- Χρωματογραφική στήλη: Hypesil BDS C18 (μήκους 200 mm, εσωτερικής διαμέτρου 4,0 mm, μεγέθους κόκκων 5 μ m και μεγέθους πόρων 120 Å).

4.7.3 Επιλογή χρωματογραφικής στήλης και κινητής φάσης

Για το διαχωρισμό των μελετώμενων φυτοφαρμάκων δοκιμάζεται αρχικά η στήλη Hypesil BDS C18. Με χρήση της συγκεκριμένης στήλης και μεταβάλλοντας την αναλογία των δύο διαλυτών της κινητής φάσης επιζητείται ο καλύτερος διαχωρισμός των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν επιτυχή διαχωρισμό των μελετώμενων φυτοφαρμάκων χρησιμοποιώντας ως κινητή φάση ακετονιτρίλιο και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 60 % προς:40 % v/v, κάτω από ισοκρατικές συνθήκες και ροή 1,0 ml/min. Αφού ο διαχωρισμός των ουσιών επιτυγχάνεται με τη χρήση της στήλης Hypesil BDS C18, δεν δοκιμάστηκε άλλη χρωματογραφική στήλη. Κάτω από τις συνθήκες που περιγράφονται προηγουμένως, ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται σε χρονικό διάστημα μικρότερο των 17 λεπτών, όπως φαίνεται στο σχήμα 4.6, που απεικονίζεται ένα τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος των μελετώμενων φυτοφαρμάκων.

Στα πλαίσια της μελέτης αυτής εξετάζεται και η περίπτωση κατά την οποία στην κινητή φάση, αντί του ρυθμιστικού διαλύματος των φωσφορικών, χρησιμοποιείται δις αποσταγμένο ύδωρ, δηλαδή ακετονιτρίλιο:δις αποσταγμένο ύδωρ=60:40 v/v, σε ισοκρατικές συνθήκες.



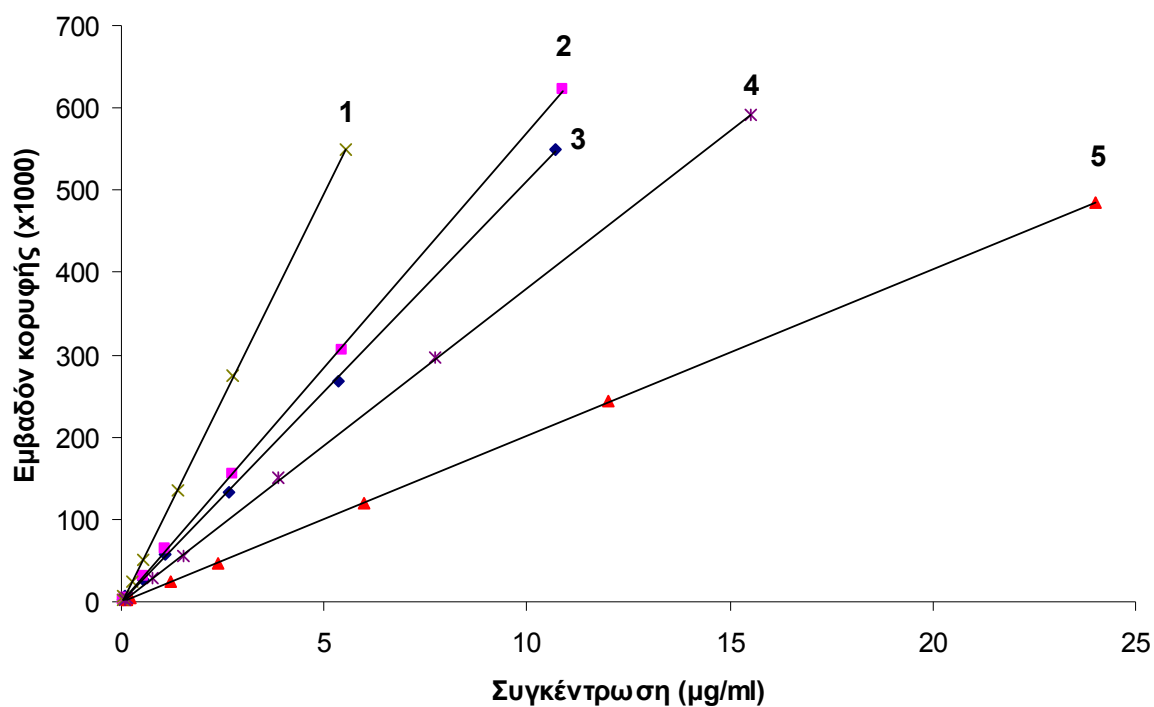
Σχήμα 4.6: Τυπικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων (parathion-methyl:0,54 $\mu\text{g/ml}$, fenthion:0,55 $\mu\text{g/ml}$, diazinon:1,20 $\mu\text{g/ml}$, pirimiphos-methyl:0,28 $\mu\text{g/ml}$ και chlorpyrifos: 0,78 $\mu\text{g/ml}$) $\lambda=250\text{ nm}$

Στα πειράματα αυτά, οι χρόνοι κατακράτησης των parathion-methyl, fenthion, diazinon και chlorpyrifos είναι οι ίδιοι, όπως και στην περίπτωση που χρησιμοποιείται στην κινητή φάση το ρυθμιστικό διάλυμα των φωσφορικών, σε αντίθεση με το χρόνο κατακράτησης του pirimiphos-methyl, που δεν είναι σταθερός. Το συγκεκριμένο γεγονός οφείλεται στο ότι το pirimiphos-methyl είναι ασθενής βάση ($\text{pK}_a=3,71$) (Tomlin, 1997) με αποτέλεσμα να ιονίζεται σε διαφορετικό βαθμό, να αλληλεπιδρά με διαφορετικό τρόπο με τη στήλη και ο χρόνος κατακράτησής του να μεταβάλλεται. Με βάση τα αποτελέσματα από την παραπάνω μελέτη, επιλέγεται η κινητή φάση με το διάλυμα των φωσφορικών με $\text{pH}=5,0$, γιατί ο χρόνος κατακράτησης του pirimiphos-methyl είναι σταθερός.

4.7.4 Αναλυτικά χαρακτηριστικά μεθόδου

Καμπύλες αναφοράς των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων

Για τη χάραξη των καμπυλών αναφοράς παρασκευάζονται επτά πρότυπα διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων. Συγκεκριμένα, το εύρος των συγκεντρώσεων των προτύπων διαλυμάτων του κάθε φυτοφαρμάκου είναι: parathion-methyl από 0,05 έως 10,70 $\mu\text{g/ml}$, fenthion από 0,05 έως 10,90 $\mu\text{g/ml}$, diazinon από 0,12 έως 24,00 $\mu\text{g/ml}$, pirimiphos-methyl από 0,03 έως 5,50 $\mu\text{g/ml}$ και chlorpyrifos από 0,08 έως 15,50 $\mu\text{g/ml}$. Οι καμπύλες αναφοράς όλων των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων απεικονίζονται στο σχήμα 4.7.



Σχήμα 4.7: Καμπύλες αναφοράς των μελετώμενων φυτοφαρμάκων 1: pirimiphos-methyl, 2: fenthion, 3: parathion-methyl, 4: chlorpyrifos και 5: diazinon

Στον πίνακα 4.1 παρουσιάζονται οι εξισώσεις ευθείας των καμπυλών αναφοράς των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων καθώς επίσης και οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης αυτών.

Πίνακας 4.1: Εξισώσεις ευθείας και συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων

Φυτοφάρμακο	Εξίσωση ευθείας	Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης (r^2)
Parathion-methyl	$y = 51145x - 393$	0,9999
Fenthion	$y = 57076x - 780$	0,9998
Diazinon	$y = 20222x - 544$	0,9999
Pirimiphos-methyl	$y = 99534x - 1297$	0,9997
Chlorpyrifos	$y = 38254x - 871$	0,9999

Επαναληψιμότητα-Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου τόσο την ίδια ημέρα όσο και μεταξύ διαφορετικών ημερών πραγματοποιείται με ανάλυση τριών προτύπων διαλυμάτων των ουσιών διαφορετικών συγκεντρώσεων την ίδια ημέρα (πέντε αναλύσεις για κάθε πρότυπο διάλυμα) καθώς και για πέντε συνεχόμενες ημέρες, αντίστοιχα. Στον πίνακα 4.2 παρουσιάζονται οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις στα πειράματα της ίδιας ημέρας και μεταξύ διαφορετικών ημερών καθώς επίσης και οι συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων των ουσιών, που χρησιμοποιούνται στη μελέτη αυτή.

Πίνακας 4.2: Επαναληψιμότητα της προτεινόμενης μεθόδου την ίδια ημέρα και μεταξύ διαφορετικών ημερών

Φυτοφάρμακο	Συγκεντρώσεις διαλυμάτων (μg/ml)	Επαναληψιμότητα (% RSD)	
		Ίδια ημέρα	Διαφορετικές ημέρες
Parathion-methyl	0,14 - 0,54 - 1,07	0,2 έως 3,2	2,1 έως 4,7
Fenthion	0,14 - 0,55 - 1,09	0,1 έως 2,7	0,2 έως 6,0
Diazinon	0,30 - 1,20 - 2,40	0,8 έως 3,5	1,7 έως 4,5
Pirimiphos-methyl	0,07 - 0,27 - 0,55	1,1 έως 4,2	2,1 έως 5,7
Chlorpyrifos	0,20 - 0,78 - 1,55	0,1 έως 2,9	1,4 έως 4,9

Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του πίνακα 4.2, η σχετική τυπική απόκλιση, στο πείραμα της ίδιας ημέρας κυμαίνεται από 0,1 έως 4,2 % και στο πείραμα μεταξύ διαφορετικών ημερών από 0,2 έως 6,0 % για το σύνολο των ουσιών που μελετούνται. Σε κάθε περίπτωση, η επαναληψιμότητα της μεθόδου κρίνεται ιδιαίτερα ικανοποιητική.

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης υπολογίζονται ως η τιμή της συγκέντρωσης για την οποία το σήμα του ανιχνευτή είναι αντίστοιχα τριπλάσιο και δεκαπλάσιο του θορύβου, που υπολογίζεται από την ανάλυση τριών τυφλών δειγμάτων. Στον πίνακα 4.3 παρουσιάζονται τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου, καθώς επίσης και τα όρια ποσοτικοποίησης της όλης μεθοδολογίας. Τα όρια ποσοτικοποίησης της όλης μεθοδολογίας υπολογίζονται θεωρώντας ότι η δειγματοληψία διαρκεί 4 ώρες και η ροή του αέρα είναι 2 l/min (συνολικός όγκος αέρα περίπου 500 l).

Πίνακας 4.3: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της προτεινόμενης μεθόδου

Φυτοφάρμακο	Όριο ανίχνευσης (ng/ml)	Όριο ποσοτικοποίησης (ng/ml)	Όριο ποσοτικοποίησης μεθοδολογίας (ng/m ³)
Parathion-methyl	3,7	12,3	49,2
Fenthion	5,2	17,4	69,6
Diazinon	11,1	36,8	147,2
Pirimiphos-methyl	4,7	15,8	63,2
Chlorpyrifos	8,6	28,7	114,8

4.8 Επιλογή προσροφητικού υλικού για τη συλλογή των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση-Επιλογή διαλύματος εκχύλισης

Για τη συλλογή των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων, τα οποία βρίσκονται ως αιωρούμενα σωματίδια στον αέρα του θερμοκηπίου, χρησιμοποιούνται μικροφίλτρα υαλονημάτων ενώ για τη συλλογή τους στην αέρια φάση ελέγχεται η καταλληλότητα διαφόρων προσροφητικών υλικών. Συγκεκριμένα, δοκιμάζονται τα προσροφητικά υλικά Tenax, XAD-2, Silica Gel και Florisil. Το κριτήριο επιλογής του προσροφητικού υλικού βασίζεται στη μελέτη της ανάκτησης των μελετώμενων ουσιών από τα υλικά. Για το σκοπό αυτό, 100 mg από το κάθε προσροφητικό υλικό τοποθετούνται, ξεχωριστά, σε καθαρά υάλινα φιαλίδια με πώμα από Teflon και εμβολιάζονται με 100 μl προτύπου διαλύματος, που περιέχει τα μελετώμενα φυτοφάρμακα. Η ποσότητα του κάθε φυτοφαρμάκου που εμβολιάζεται είναι: parathion-methyl:1,10 μg, fenthion:1,10 μg, diazinon:2,40 μg, pirimiphos-methyl:0,55 μg και chlorpyrifos:1,55 μg. Ακολουθεί κατεργασία των προσροφητικών υλικών σύμφωνα με τη γενική πειραματική πορεία (κεφάλαιο 4.7.1), η οποία σύντομα έχει ως εξής: τα φιαλίδια τοποθετούνται σε ξηραντήρα για 30 min και στη συνέχεια προστίθενται 2 ml ακετονιτριλίου, ανακινούνται στο vortex για 1 min, τοποθετούνται στο λουτρό υπερήχων για χρονικό διάστημα 10, 15 ή 30 min και τέλος φυγοκεντρούνται για 20 min. Το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές και επομένως η ποσοτικοποίηση και στη συνέχεια ο υπολογισμός της ανάκτησης των μελετώμενων ουσιών από τα διάφορα υλικά βασίζεται στο μέσο όρο των τριών μετρήσεων. Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι η ποσοτικοποίηση πραγματοποιείται με χρήση της καμπύλης αναφοράς. Στον πίνακα 4.4 παρουσιάζεται η μέση

τιμή των ανακτήσεων των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από τα διάφορα υλικά που εξετάζονται, για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων 10, 15 και 30 min.

Πίνακας 4.4: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από διάφορα υλικά, μετά από χρόνο παραμονής 10, 15 και 30 min στο λουτρό υπερήχων

Υλικό	Φυτοφάρμακο	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%) 10 min στο λουτρό υπερήχων	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%) 15 min στο λουτρό υπερήχων	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%) 30 min στο λουτρό υπερήχων
XAD-2	Parathion-methyl	92,5 $\pm$ 1,2	98,3 $\pm$ 2,1	96,3 $\pm$ 1,4
	Fenthion	94,6 $\pm$ 2,7	96,5 $\pm$ 3,8	95,4 $\pm$ 3,1
	Diazinon	98,7 $\pm$ 3,2	99,6 $\pm$ 0,9	96,3 $\pm$ 1,9
	Pirimiphos-methyl	91,4 $\pm$ 0,9	97,5 $\pm$ 0,5	94,3 $\pm$ 1,6
	Chlorpyrifos	90,5 $\pm$ 1,7	99,7 $\pm$ 2,7	95,9 $\pm$ 4,2
Tenax	Parathion-methyl	81,2 $\pm$ 3,4	84,2 $\pm$ 4,8	84,3 $\pm$ 3,4
	Fenthion	64,2 $\pm$ 0,8	62,3 $\pm$ 1,2	67,3 $\pm$ 1,7
	Diazinon	75,3 $\pm$ 1,4	76,5 $\pm$ 1,8	76,3 $\pm$ 2,9
	Pirimiphos-methyl	59,6 $\pm$ 5,9	64,2 $\pm$ 3,7	81,5 $\pm$ 4,3
	Chlorpyrifos	84,2 $\pm$ 4,2	98,2 $\pm$ 3,4	100,3 $\pm$ 3,8
Florisil	Parathion-methyl	95,2 $\pm$ 2,3	98,6 $\pm$ 2,8	98,5 $\pm$ 3,2
	Fenthion	93,8 $\pm$ 2,8	95,5 $\pm$ 3,4	103,6 $\pm$ 3,8
	Diazinon	95,5 $\pm$ 1,0	107,2 $\pm$ 1,2	100,3 $\pm$ 1,9
	Pirimiphos-methyl	120,5 $\pm$ 3,4	125,6 $\pm$ 4,8	130,7 $\pm$ 4,5
	Chlorpyrifos	97,3 $\pm$ 0,5	104,3 $\pm$ 1,7	102,4 $\pm$ 1,3
Silica gel	Parathion-methyl	92,3 $\pm$ 0,7	99,3 $\pm$ 1,9	92,3 $\pm$ 5,2
	Fenthion	97,3 $\pm$ 3,6	99,3 $\pm$ 2,7	99,4 $\pm$ 2,1
	Diazinon	93,2 $\pm$ 4,9	97,6 $\pm$ 4,2	100,3 $\pm$ 3,6
	Pirimiphos-methyl	98,6 $\pm$ 3,6	98,3 $\pm$ 2,5	101,2 $\pm$ 2,8
	Chlorpyrifos	95,4 $\pm$ 2,2	100,2 $\pm$ 1,6	103,2 $\pm$ 2,4

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 4.4, φαίνεται ότι, στην περίπτωση του Tenax, οι ανακτήσεις των φυτοφαρμάκων είναι σχετικά χαμηλές για όλα τα φυτοφάρμακα ακόμη και μετά από παραμονή 30 min στο λουτρό υπερήχων. Εξάιρεση αποτελεί το chlorpyrifos, του οποίου η ανάκτηση μετά από παραμονή μόνο 10 min στο λουτρό υπερήχων είναι ίση με 84,2 % και φθάνει το 100 % μετά τα 30 min. Οι ανακτήσεις των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από το Florisil είναι μεγαλύτερες από 93,8 % για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων ίσο με 10 min και βελτιώνονται περισσότερο για μεγαλύτερους χρόνους. Όμως, στην περίπτωση του φυτοφαρμάκου pirimiphos-methyl, η ανάκτησή του κυμαίνεται από 120,5 έως 130,7 %. Οι υψηλές τιμές ανάκτησης του pirimiphos-methyl αποδίδονται στο γεγονός ότι στο χρόνο κατακράτησης του pirimiphos-methyl, εκλύεται μία κορυφή, η οποία προέρχεται από το υλικό του Florisil. Τέλος, στην περίπτωση των προσροφητικών υλικών XAD-2 και Silica gel, οι ανακτήσεις όλων των μελετώμενων ουσιών, ακόμα και μετά από παραμονή μόνο 10 min στο λουτρό υπερήχων, είναι ικανοποιητικές, μεγαλύτερες από 91,4 και 92,3 %, αντίστοιχα, ενώ για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων 15 min, οι ανακτήσεις πλησιάζουν το 100 %.

Αν και τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης κρίνονται ικανοποιητικά αφού η ανάκτηση των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από δύο προσροφητικά υλικά, XAD-2 και Silica gel και με τη χρήση ακετονιτριλίου ως διαλύτη εκχύλισης, είναι ποσοτική εντούτοις πραγματοποιείται μία μελέτη χρησιμοποιώντας τα δύο μη πολικά υλικά XAD-2 και Tenax και διαφορετικούς διαλύτες εκχύλισης. Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιείται για να εκτιμηθεί η ανάκτηση των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από το XAD-2 και το Tenax επειδή τα συγκεκριμένα προσροφητικά υλικά χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στη βιβλιογραφία για τη συλλογή των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση (Brown et al., 1993, Guardino et al., 1998, Cattani et al., 2001, Stout and Mason, 2003, Edwards et al., 2007, Scheyer et al., 2007, Tsakirakis and Machera, 2007) σε αντίθεση με τα πολικά προσροφητικά υλικά Silica Gel και Florisil, τα οποία χρησιμοποιούνται σε ελάχιστες περιπτώσεις (Morabito et al., 1990, Swami et al., 1997, Watanabe, 1998).

Στη μελέτη αυτή, δοκιμάζονται, εκτός του ακετονιτριλίου, η ακετόνη και μείγμα ακετόνης και ακετονιτριλίου σε αναλογία 1:1 v/v. Για το σκοπό αυτό, 100 mg Tenax και 100 mg XAD-2 εμβολιάζονται με τις παρακάτω ποσότητες: parathion-methyl:1,10 μg, fenthion:1,10 μg, diazinon:2,40 μg, pirimiphos-methyl:0,55 μg και chlorpyrifos:1,55 μg. Ακολουθεί κατεργασία των προσροφητικών υλικών σύμφωνα με τη γενική πειραματική πορεία (κεφάλαιο 4.7.1). Στα πειράματα στα οποία χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης ακετόνη ή μείγμα ακετόνης:ακετονιτριλίου, μετά τη φυγοκέντρηση, λαμβάνονται 500 μl από το υπερκείμενο διάλυμα, εξατμίζονται μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου και στη συνέχεια το υπόλειμμα διαλύεται σε 500 μl ακετονιτριλίου και ακολουθεί ανάλυση στην HPLC. Το κάθε πείραμα

επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Στον πίνακα 4.5, παρουσιάζονται οι ανακτήσεις των φυτοφαρμάκων από τα εμβολιασμένα προσροφητικά υλικά XAD-2 και Tenax για τους διαφορετικούς διαλύτες εκχύλισης, που μελετούνται και για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων 10, 15 και 30 min.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 4.5 παρατηρείται ότι στην περίπτωση του Tenax, τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν ως διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιείται η ακετόνη και τα εμβολιασμένα υλικά παραμένουν στο λουτρό υπερήχων για 30 min. Στα πειράματα αυτά οι ανακτήσεις των μελετώμενων φυτοφαρμάκων κυμαίνονται από 85,7 έως 98,5 %. Όταν το ακετονιτρίλιο ή το μείγμα ακετόνης και ακετονιτρίλιου χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης, οι ανακτήσεις όλων των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από το Tenax κυμαίνονται από 67,3 έως 84,3 και από 82,3 έως 91,3, αντίστοιχα, για 30 min παραμονή στο λουτρό υπερήχων, με εξαίρεση το chlorpyrifos, του οποίου η ανάκτηση αγγίζει το 100 %. Στην δεύτερη σειρά πειραμάτων, στην οποία δοκιμάζεται το υλικό XAD-2, οι καλύτερες τιμές ανακτήσεων λαμβάνονται όταν χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης ακετόνη (εύρος ανακτήσεων 95,7 έως 102,5 %) ή μίγμα ακετόνης:ακετονιτρίλιου (εύρος ανακτήσεων 94,9 έως 99,6 %) και ο χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων είναι μόνο 10 min. Όταν όμως χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης το ακετονιτρίλιο, παρόμοιες τιμές ανακτήσεων λαμβάνονται (εύρος ανακτήσεων 96,5 έως 99,7 %) για χρόνο παραμονής στο λουτρό υπερήχων ίσο με 15 min. Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα προηγούμενα, ενισχύεται η επιλογή αφενός του XAD-2 ως κατάλληλου υλικού για τη συλλογή των φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση-και αφετέρου του ακετονιτρίλιου ως κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης, όπως επίσης και ο χρόνος παραμονής των 15 min στο λουτρό υπερήχων. Εξάλλου, όταν χρησιμοποιείται η ακετόνη ή μείγμα ακετόνης και ακετονιτρίλιου για την εκχύλιση των φυτοφαρμάκων, απαιτείται εξάτμιση και στη συνέχεια διάλυση του υπολείμματος σε ακετονιτρίλιο προκειμένου να γίνει έγχυση και ανάλυση στην HPLC, δηλαδή αυξάνεται ο συνολικός χρόνος ανάλυσης του δείγματος. Αντίθετα, όταν χρησιμοποιείται το ακετονιτρίλιο ως διαλύτης εκχύλισης η ανάλυση πραγματοποιείται με απευθείας έγχυση στην HPLC και έτσι ο χρόνος ανάλυσης του κάθε δείγματος είναι σημαντικά μικρότερος.

Πίνακας 4.5: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από τα εμβολιασμένα υλικά Tenax και XAD-2, με τη χρήση διαφορετικών διαλυτών εκχύλισης και για χρόνους παραμονής στο λουτρό υπερήχων 10, 15 και 30 min.

Διαλύτης εκχύλισης	Φυτοφάρμακο	Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)		Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)		Ανάκτηση $\pm$ RSD (%)	
		10 min στο λουτρό υπερήχων		15 min στο λουτρό υπερήχων		(30 min στο λουτρό υπερήχων	
		Tenax	XAD-2	Tenax	XAD-2	Tenax	XAD-2
CH ₃ CN	Parathion-methyl	81,2 $\pm$ 3,4	92,5 $\pm$ 1,2	84,2 $\pm$ 4,8	98,3 $\pm$ 2,1	84,3 $\pm$ 3,4	96,3 $\pm$ 1,4
	Fenthion	64,2 $\pm$ 0,8	94,6 $\pm$ 2,7	62,3 $\pm$ 1,2	96,5 $\pm$ 3,8	67,3 $\pm$ 1,7	95,4 $\pm$ 3,1
	Diazinon	75,3 $\pm$ 1,4	98,7 $\pm$ 3,2	76,5 $\pm$ 1,8	99,6 $\pm$ 0,9	76,3 $\pm$ 2,9	96,3 $\pm$ 1,9
	Pirimiphos-methyl	59,6 $\pm$ 5,9	91,4 $\pm$ 0,9	64,2 $\pm$ 3,7	97,5 $\pm$ 0,5	81,5 $\pm$ 4,3	94,3 $\pm$ 1,6
	Chlorpyrifos	84,2 $\pm$ 4,2	90,5 $\pm$ 1,7	98,2 $\pm$ 3,4	99,7 $\pm$ 2,7	100,3 $\pm$ 3,8	95,9 $\pm$ 4,2
CH ₃ COCH ₃	Parathion-methyl	95,3 $\pm$ 2,3	100,2 $\pm$ 2,1	98,5 $\pm$ 0,3	100,9 $\pm$ 2,1	98,5 $\pm$ 1,3	99,5 $\pm$ 3,4
	Fenthion	82,5 $\pm$ 1,4	102,6 $\pm$ 1,5	81,9 $\pm$ 1,7	101,5 $\pm$ 1,1	85,7 $\pm$ 2,4	103,5 $\pm$ 1,4
	Diazinon	85,3 $\pm$ 3,5	102,5 $\pm$ 1,4	94,6 $\pm$ 2,5	99,8 $\pm$ 1,6	96,8 $\pm$ 0,9	101,4 $\pm$ 1,8
	Pirimiphos-methyl	79,5 $\pm$ 0,8	100,7 $\pm$ 0,8	78,6 $\pm$ 3,6	98,6 $\pm$ 2,7	89,5 $\pm$ 4,1	99,9 $\pm$ 4,7
	Chlorpyrifos	93,1 $\pm$ 2,9	95,7 $\pm$ 3,8	95,8 $\pm$ 4,5	99,4 $\pm$ 3,2	97,3 $\pm$ 3,4	98,5 $\pm$ 2,9
CH ₃ CN: CH ₃ COCH ₃ (μίγμα 1:1 v/v)	Parathion-methyl	84,3 $\pm$ 1,4	95,6 $\pm$ 3,8	90,3 $\pm$ 4,8	99,3 $\pm$ 1,1	91,3 $\pm$ 1,2	98,7 $\pm$ 1,1
	Fenthion	73,5 $\pm$ 0,5	97,8 $\pm$ 1,2	75,3 $\pm$ 5,9	103,2 $\pm$ 0,8	82,3 $\pm$ 2,6	99,8 $\pm$ 0,7
	Diazinon	75,2 $\pm$ 0,7	99,6 $\pm$ 2,7	82,3 $\pm$ 4,2	97,5 $\pm$ 3,4	85,7 $\pm$ 4,1	102,4 $\pm$ 3,4
	Pirimiphos-methyl	70,5 $\pm$ 1,9	98,7 $\pm$ 4,9	77,9 $\pm$ 1,3	99,6 $\pm$ 2,4	83,6 $\pm$ 3,9	98,6 $\pm$ 2,4
	Chlorpyrifos	95,6 $\pm$ 4,5	94,9 $\pm$ 1,7	95,6 $\pm$ 0,4	102,3 $\pm$ 5,7	98,6 $\pm$ 2,4	99,1 $\pm$ 1,3

4.9 Επιλογή του όγκου του διαλύματος εκχύλισης για την ανάκτηση των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 και μικροφίλτρα υαλονημάτων

Από τα πειράματα που αναφέρονται στο κεφάλαιο 4.8 προκύπτει ότι το ακετονιτρίλιο αποτελεί το καλύτερο εκχυλιστικό μέσο για την ποσοτική εκχύλιση των μελετώμενων ουσιών από τα εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2. Όμως, εκτός της σωστής επιλογής του είδους του εκχυλιστικού μέσου, σημαντική είναι και η επιλογή του όγκου του διαλύματος εκχύλισης, η οποία πρέπει να πληροί συγχρόνως δύο προϋποθέσεις, αφενός να παραλαμβάνει ποσοτικά τις ουσίες από τα υλικά και αφετέρου να είναι όσο το δυνατόν μικρότερος, ώστε να μειώνεται το όριο ανίχνευσης της μεθόδου. Προκειμένου λοιπόν να βρεθεί ο βέλτιστος όγκος πραγματοποιούνται πειράματα με χρήση διαφορετικών όγκων διαλύματος εκχύλισης. Σε όλες τις περιπτώσεις εμβολιάζονται 100 mg XAD-2 αλλά και μικροφίλτρα υαλονημάτων, διαμέτρου 25 mm, τα οποία χρησιμοποιούνται για τη συλλογή των αιωρουμένων σωματιδίων, με τις παρακάτω ποσότητες των μελετώμενων ουσιών: parathion-methyl:1,10 µg, fenthion:1,10 µg, diazinon:2,40 µg, pirimiphos-methyl:0,55 µg και chlorpyrifos:1,55 µg. Η εκχύλιση των φυτοφαρμάκων από τα εμβολιασμένα υλικά πραγματοποιείται με 1, 2 ή 4 ml ακετονιτρίλιου και στη συνέχεια ακολουθεί η κατεργασία, όπως αυτή περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.7.1. Το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.6.

Όπως δείχνουν τα αποτελέσματα του πίνακα 4.6, οι ανακτήσεις των μελετώμενων φυτοφαρμάκων τόσο από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και από τα φίλτρα XAD-2, όταν χρησιμοποιείται 1 ml ακετονιτρίλιου για την εκχύλιση, είναι μικρότερες από εκείνες που λαμβάνονται με χρήση 2 ml ακετονιτρίλιου ενώ δεν βελτιώνονται περισσότερο με τη χρήση 4 ml ακετονιτρίλιου. Τελικά, επιλέγεται ο όγκος των 2 ml για την εκχύλιση των φυτοφαρμάκων τόσο από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και από τα φίλτρα XAD-2, γιατί συνδυάζει και τις δύο προϋποθέσεις που τέθηκαν προηγουμένως, δηλαδή ποσοτική ανάκτηση αλλά και χαμηλότερα όρια ανίχνευσης.

Πίνακας 4.6: Επίδραση του όγκου του διαλύματος εκχύλισης στην ανάκτηση των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2

Όγκος εκχύλισης (ml)	Φυτοφάρμακο	Ανάκτηση $\pm$ RSD(%)	
		Μικροφίλτρα GF/A	Φίλτρα XAD-2
1	Parathion-methyl	84,2 $\pm$ 2,0	81,2 $\pm$ 2,6
	Fenthion	93,3 $\pm$ 1,8	89,1 $\pm$ 3,6
	Diazinon	104,1 $\pm$ 1,5	99,4 $\pm$ 2,4
	Pirimiphos-methyl	98,2 $\pm$ 3,4	84,2 $\pm$ 5,2
	Chlorpyrifos	97,5 $\pm$ 3,4	89,2 $\pm$ 4,2
2	Parathion-methyl	99,3 $\pm$ 0,5	95,4 $\pm$ 1,3
	Fenthion	100,3 $\pm$ 1,2	99,4 $\pm$ 1,9
	Diazinon	102,4 $\pm$ 2,2	102,1 $\pm$ 1,1
	Pirimiphos-methyl	99,2 $\pm$ 0,9	97,4 $\pm$ 0,8
	Chlorpyrifos	100,2 $\pm$ 1,2	98,3 $\pm$ 1,1
4	Parathion-methyl	98,3 $\pm$ 0,7	96,4 $\pm$ 1,1
	Fenthion	100,7 $\pm$ 2,3	101,3 $\pm$ 1,6
	Diazinon	103,2 $\pm$ 1,2	102,1 $\pm$ 1,3
	Pirimiphos-methyl	98,6 $\pm$ 1,3	94,3 $\pm$ 1,3
	Chlorpyrifos	98,2 $\pm$ 2,0	96,4 $\pm$ 3,0

4.10 Μελέτη της ανάκτησης διαφορετικών ποσοτήτων των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 και μικροφίλτρα υαλονημάτων

Προκειμένου να βρεθεί αν η ποσότητα, που εμβολιάζεται τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα XAD-2, επιδρά στην ανάκτηση των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από αυτά πραγματοποιείται μια σειρά πειραμάτων, κατά τα οποία τα επιλεγέντα υλικά δειγματοληψίας εμβολιάζονται με πρότυπα διαλύματα, τα οποία περιέχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων. Για κάθε φυτοφάρμακο πραγματοποιείται εμβολιασμός σε έξι διαφορετικά επίπεδα και το κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.7.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 4.7, φαίνεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις, οι ανακτήσεις των ουσιών είναι πολύ καλές (μεγαλύτερες από 94,4 %). Επιπλέον, σε όλο το εύρος των ποσοτήτων που μελετάται οι ανακτήσεις των ουσιών είναι σταθερές και ανεξάρτητες από την ποσότητα, γεγονός που αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου.

Πίνακας 4.7: Ανακτήσεις των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα ΧΑD-2, σε διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού

Φυτοφάρμακο	Περιοχή εμβολιασμού (μg)	Ανάκτηση			
		Μικροφίλτρα GF/A		Φίλτρα ΧΑD-2	
		Εύρος ανάκτησης (%)	Μέση ανάκτηση $\pm$ RSD (%)	Εύρος ανάκτησης (%)	Μέση ανάκτηση $\pm$ RSD (%)
Parathion-methyl	0,05-5,35	95,4-101,0	98,7 $\pm$ 3,6	93,7-100,9	96,9 $\pm$ 2,7
Fenthion	0,05-5,45	93,5-100,1	97,5 $\pm$ 2,8	91,0-99,2	95,8 $\pm$ 3,0
Diazinon	0,12-12,00	100,2-105,3	102,2 $\pm$ 2,0	94,6-100,0	98,2 $\pm$ 2,1
Pirimiphos-methyl	0,03-2,77	94,6-101,4	98,0 $\pm$ 2,5	91,3-97,7	94,4 $\pm$ 2,6
Chlorpyrifos	0,02-7,75	93,7-103,2	99,0 $\pm$ 4,2	96,1-102,3	97,9 $\pm$ 2,5

4.11 Μελέτη της σταθερότητας των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων σε εμβολιασμένα φίλτρα κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους

Η σταθερότητα των μελετώμενων φυτοφαρμάκων τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα ΧΑD-2 ελέγχεται με σειρά πειραμάτων, τα οποία πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχονται από τα εγχειρίδια του οργανισμού για την ασφάλεια και την υγεία στην εργασία (Occupational Safety and Health Administration, OSHA) (OSHA, 1999) και περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.11. Τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος παρουσιάζονται στον πίνακα 4.8.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 4.8 εξάγεται εύκολα το συμπέρασμα ότι κατά την αποθήκευση εμβολιασμένων φίλτρων, τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους +4 °C, δεν παρατηρείται, σε καμιά περίπτωση, διάσπαση ή απώλεια των μελετώμενων ουσιών, αφού η % ανάκτηση παραμένει σταθερή. Με βάση τη συγκεκριμένη μελέτη, φαίνεται ότι είναι εφικτή η αποθήκευση των μικροφίλτρων υαλονημάτων και των φίλτρων ΧΑD-2, τα οποία

Πίνακας 4.8: Μελέτη της σταθερότητας των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων και φίλτρα XAD-2 κατά την αποθήκευσή τους σε διαφορετικές συνθήκες

Φυτοφάρμακο	Εμβολιασμένη ποσότητα (μg)	Ανάκτηση ± RSD (%)			
		Μικροφίλτρα GF/A		Φίλτρα XAD-2	
		4 °C	Θερμοκρασία δωματίου	4 °C	Θερμοκρασία δωματίου
Parathion-methyl	1,10	98,2 ± 3,2	96,7 ± 3,1	97,2 ± 2,2	97,0 ± 2,9
	5,40	99,3 ± 1,4	97,0 ± 2,1	98,0 ± 1,9	97,0 ± 1,6
Fenthion	1,10	98,7 ± 2,7	97,3 ± 2,9	97,3 ± 2,2	96,5 ± 3,7
	5,50	99,5 ± 1,5	97,8 ± 1,7	97,0 ± 2,4	95,8 ± 2,6
Diazinon	2,40	97,5 ± 3,1	95,5 ± 2,5	95,3 ± 3,3	96,8 ± 3,3
	12,00	96,7 ± 2,8	95,3 ± 2,7	95,0 ± 2,6	95,7 ± 2,9
Pirimiphos-methyl	0,55	98,0 ± 2,7	97,3 ± 4,6	97,0 ± 3,5	97,5 ± 3,2
	2,80	99,3 ± 1,2	98,7 ± 3,8	96,7 ± 3,7	98,3 ± 4,1
Chlorpyrifos	1,55	97,0 ± 2,4	97,7 ± 3,1	96,7 ± 2,5	96,2 ± 3,4
	7,80	98,0 ± 2,3	97,3 ± 3,7	96,8 ± 2,0	95,7 ± 3,5

περιέχουν φυτοφάρμακα, για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 15 ημερών μέχρι να πραγματοποιηθεί η ανάλυσή τους.

4.12 Μελέτη της ικανότητας συλλογής των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων XAD-2

Στη συνέχεια εξετάζεται η δυνατότητα συλλογής των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση με τη χρήση φίλτρων XAD-2. Η μελέτη αυτή πραγματοποιείται με χρήση διάταξης δημιουργίας σταθερής συγκέντρωσης των ουσιών στην αέρια φάση, η οποία περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.12. Στα πειράματα, που ακολουθούν, η συγκεκριμένη διάταξη χρησιμοποιείται κάτω από τις παρακάτω συνθήκες: η ροή του αέρα στο σωλήνα είναι 1,5 l/min, η θερμοκρασία του αέριου χρωματογράφου ρυθμίζεται στους 70 ή στους 100 °C και εγχέονται 100 μl προτύπου διαλύματος των φυτοφαρμάκων (ποσότητα του κάθε φυτοφαρμάκου: parathion-methyl:1,10 μg, fenthion:1,10 μg, diazinon:2,40 μg, pirimiphos-methyl:0,55 μg και chlorpyrifos:1,55 μg). Η συλλογή των μελετώμενων φυτοφαρμάκων γίνεται με μικροστήλη, η οποία περιέχει 100 mg XAD-2 και διαρκεί για 1 ή 2 ώρες. Πριν από κάθε πείραμα, εγχέονται 100 μl ακετονιτριλίου, που αποτελούν το τυφλό δείγμα, ενώ μεταξύ των εγχύσεων η θερμοκρασία του χρωματογράφου αυξάνεται στους 180 °C, ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα των φυτοφαρμάκων. Σε κάθε περίπτωση, πραγματοποιούνται τρία πειράματα, με βάση τα οποία υπολογίζεται ο μέσος όρος της ανάκτησης των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από το XAD-2, ώστε να εκτιμηθεί η ικανότητα συλλογής αυτών από την αέρια φάση.

Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης, τα οποία παρουσιάζονται στον πίνακα 4.9, εξάγεται το συμπέρασμα ότι όλα τα μελετώμενα φυτοφάρμακα, όταν βρίσκονται στην αέρια φάση, είναι δυνατόν να κατακρατηθούν ποσοτικά στα φίλτρα XAD-2. Όπως φαίνεται στον πίνακα 4.9, οι καλύτερες ανακτήσεις, άρα η μέγιστη κατακράτηση, επιτυγχάνονται στους 100 °C και για χρόνο δειγματοληψίας 2 ώρες (οι ανακτήσεις όλων των φυτοφαρμάκων είναι μεγαλύτερες από 96,2 %). Η ποσοτική κατακράτηση των μελετώμενων φυτοφαρμάκων από τα φίλτρα XAD-2 ενισχύει την επιλογή του υλικού αυτού ως του καταλληλότερου για τη συλλογή τους από τον αέρα, όταν αυτά βρίσκονται στην αέρια φάση.

Πίνακας 4.9: Μελέτη της ικανότητας συλλογής των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση, με φίλτρα XAD-2

Θερμοκρασία (°C)	Φυτοφάρμακο	Ανάκτηση ± RSD (%)	
		Χρόνος δειγματοληψίας	
		1 ώρα	2 ώρες
70	Parathion-methyl	80,2 ± 6,3	84,0 ± 5,2
	Fenthion	75,3 ± 2,8	81,7 ± 8,3
	Diazinon	79,3 ± 7,2	90,7 ± 9,9
	Pirimiphos-methyl	81,2 ± 3,4	96,3 ± 3,0
	Chlorpyrifos	71,5 ± 6,7	84,7 ± 6,8
100	Parathion-methyl	92,2 ± 3,4	96,2 ± 3,9
	Fenthion	91,3 ± 7,5	98,3 ± 5,7
	Diazinon	97,3 ± 4,9	101,1 ± 5,3
	Pirimiphos-methyl	98,2 ± 3,4	99,4 ± 2,3
	Chlorpyrifos	92,5 ± 5,4	97,5 ± 3,4

4.13 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα GF/A και XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα υγρασίας 10 και 80 %

Η μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων τόσο από τα φίλτρα GF/A όσο και τα φίλτρα XAD-2, όταν διέρχεται από αυτά αέρας υγρασίας 10 ή 80 %, πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες που περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.13. Η ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων μελετάται για διερχόμενο, διαμέσου των φίλτρων, όγκο αέρα ίσο με 125, 250 ή 500 l και με ροή 2,1 l/min. Η μελέτη πραγματοποιείται σε δύο επίπεδα εμβολιασμού, τα οποία είναι:

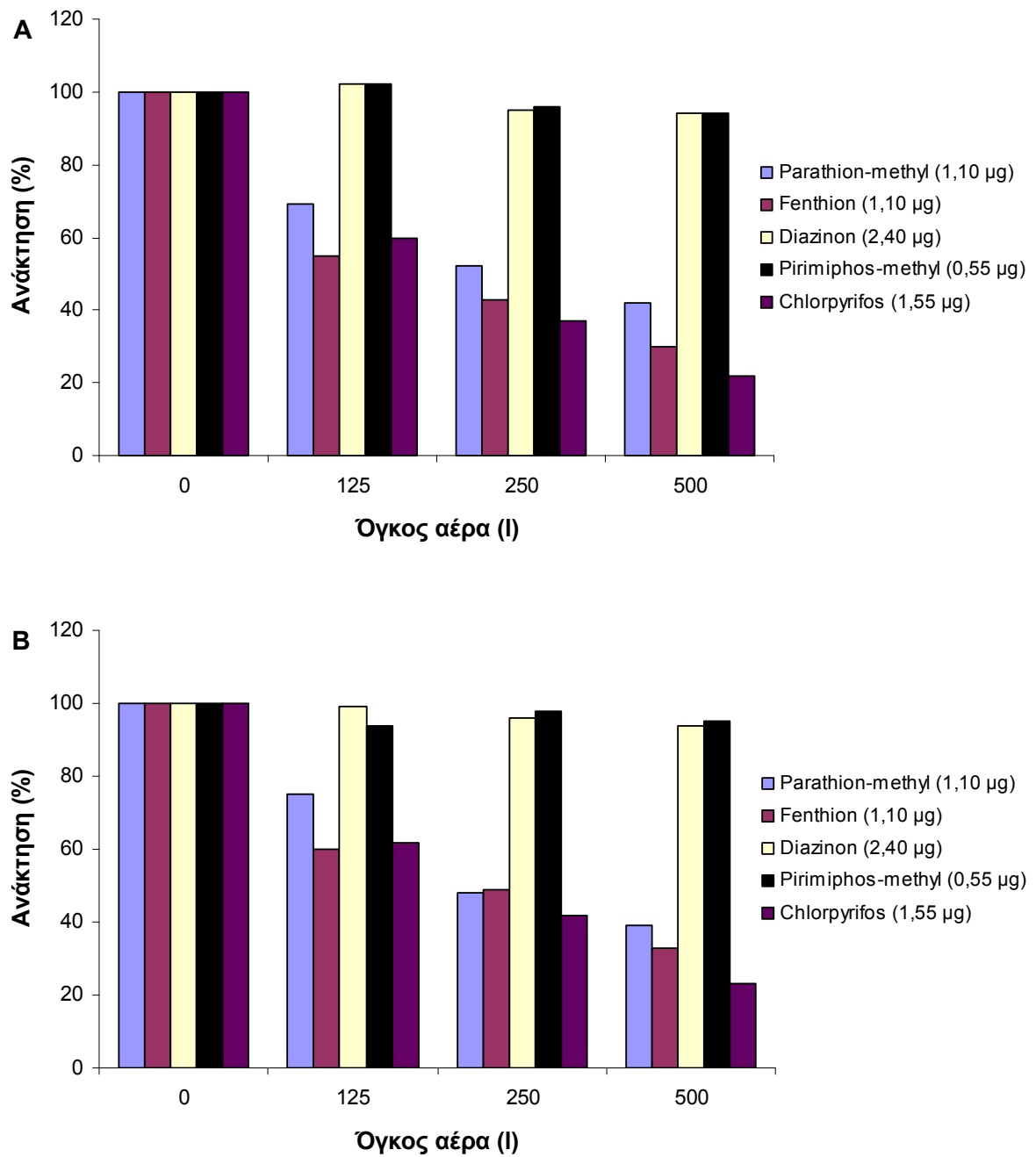
- 1^ο επίπεδο εμβολιασμού. parathion-methyl:1,10 µg, fenthion:1,10 µg, diazinon:2,40 µg, pirimiphos-methyl:0,55 µg και chlorpyrifos:1,55 µg

- 2^ο επίπεδο εμβολιασμού: parathion-methyl:5,40 µg, fenthion:5,50 µg, diazinon:12,00 µg, pirimiphos-methyl:2,80 µg και chlorpyrifos:7,80 µg.

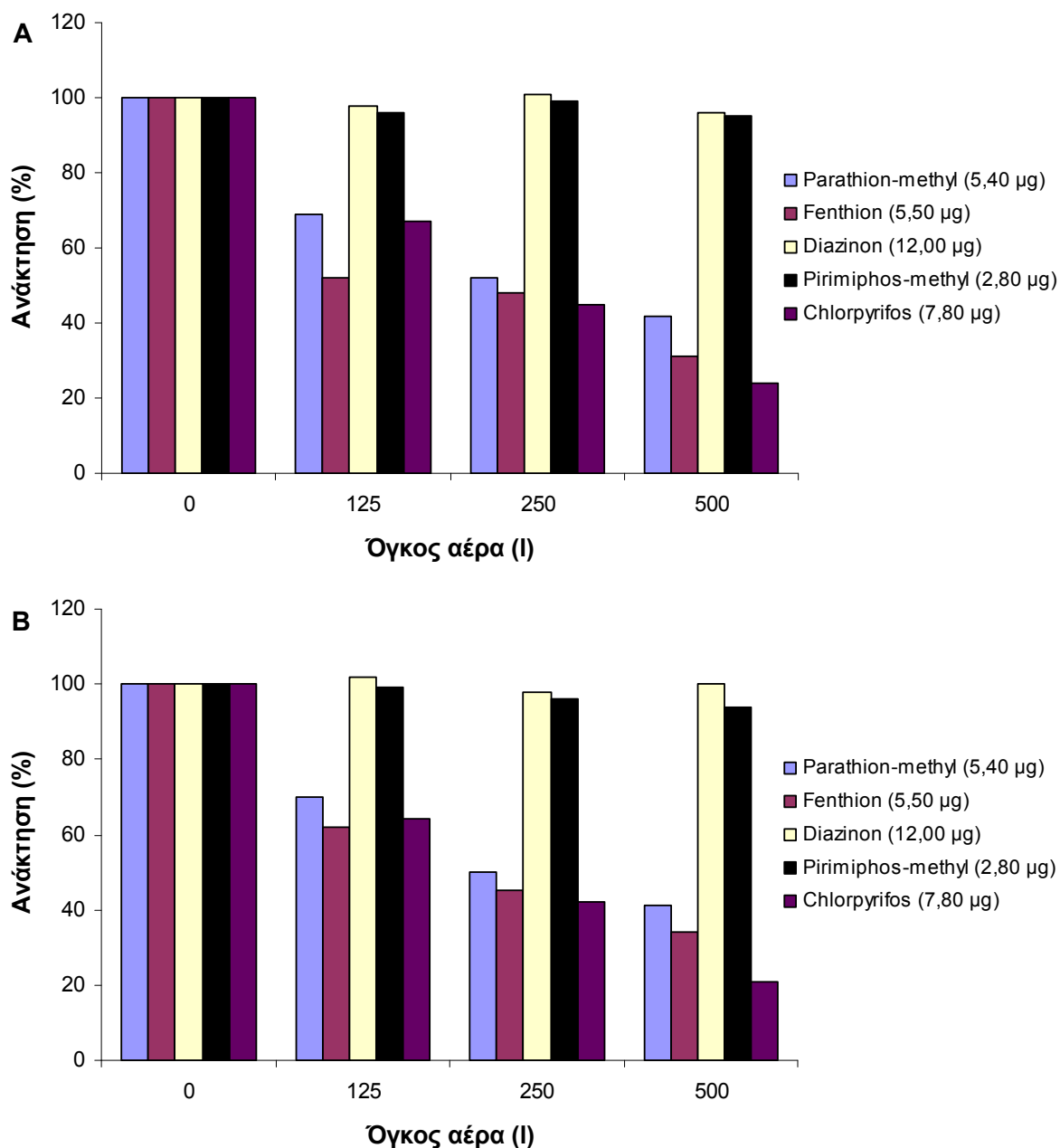
4.13.1 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων, μετά τη διέλευση αέρα

Τα εμβολιασμένα μικροφίλτρα GF/A προσαρμόζονται στον ειδικό υποδοχέα από Teflon και ακολουθεί δειγματοληψία για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, ώστε ο συνολικός όγκος του αέρα που διέρχεται από τα μικροφίλτρα να ισούται με 125, 250 ή 500 l. Λεπτομέρειες για το σχεδιασμό και την εκτέλεση των πειραμάτων της μελέτης αυτής υπάρχουν στο κεφάλαιο 3.13.1. Τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης του όγκου του αέρα που διέρχεται από εμβολιασμένα φίλτρα GF/A στην ικανότητα κατακράτησης των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, φαίνονται στα σχήματα 4.8 και 4.9.

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης δείχνουν ότι η ανάκτηση τόσο του diazinon όσο και του pirimiphos-methyl στις δύο διαφορετικές τιμές υγρασίας και για τα δύο διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού, που μελετώνται στην παρούσα διατριβή, είναι μεγαλύτερη από 94 %, ακόμα και μετά τη διέλευση 500 l αέρα. Με βάση αυτή την παρατήρηση συνάγεται το συμπέρασμα ότι όλη η ποσότητα των φυτοφαρμάκων diazinon και pirimiphos-methyl, που εμβολιάζεται αρχικά στα μικροφίλτρα υαλονημάτων, παραμένει σε αυτά, γεγονός που δηλώνει ότι δεν συμβαίνει απώλεια ή διάσπαση ή εξάτμιση των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων κατά τη δειγματοληψία. Αντίθετα, στην περίπτωση των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos, παρατηρείται ότι καθώς αυξάνεται ο όγκος του αέρα, που διέρχεται από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων, αυξάνονται και οι απώλειες, με τις μεγαλύτερες απώλειες να παρατηρούνται μετά τη διέλευση 500 l αέρα. Συγκεκριμένα, μετά από τη διέλευση 500 l αέρα, η ποσότητα του parathion-methyl, του fenthion και του chlorpyrifos, που παραμένει στα φίλτρα, είναι ίση με 41, 32 και 24 %, αντίστοιχα. Προκειμένου να εκτιμηθεί εάν οι απώλειες αυτές οφείλονται στη διάσπαση ή στην εξάτμιση των ουσιών, πραγματοποιούνται πειράματα με εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2, τα αποτελέσματα των οποίων παρουσιάζονται στο κεφάλαιο 4.13.3. Τέλος, σημειώνεται ότι οι παρατηρούμενες απώλειες δεν εξαρτώνται από την υγρασία του αέρα και είναι παρόμοιες και για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού.



Σχήμα 4.8: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

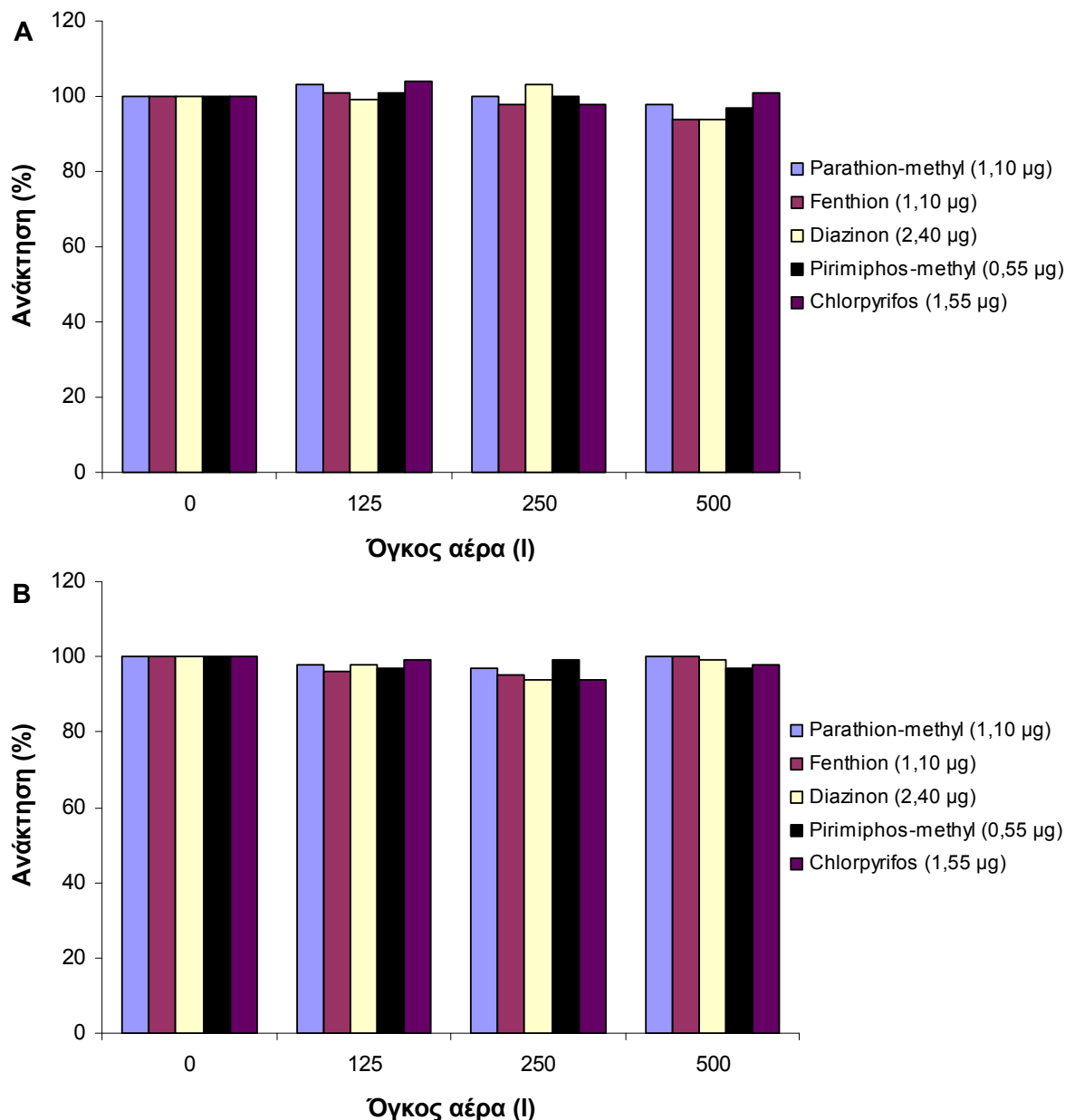


Σχήμα 4.9: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

4.13.2 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα

Η μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από τα φίλτρα XAD-2, τα οποία περιέχουν 100 mg προσροφητικού υλικού, μετά τη διέλευση αέρα,

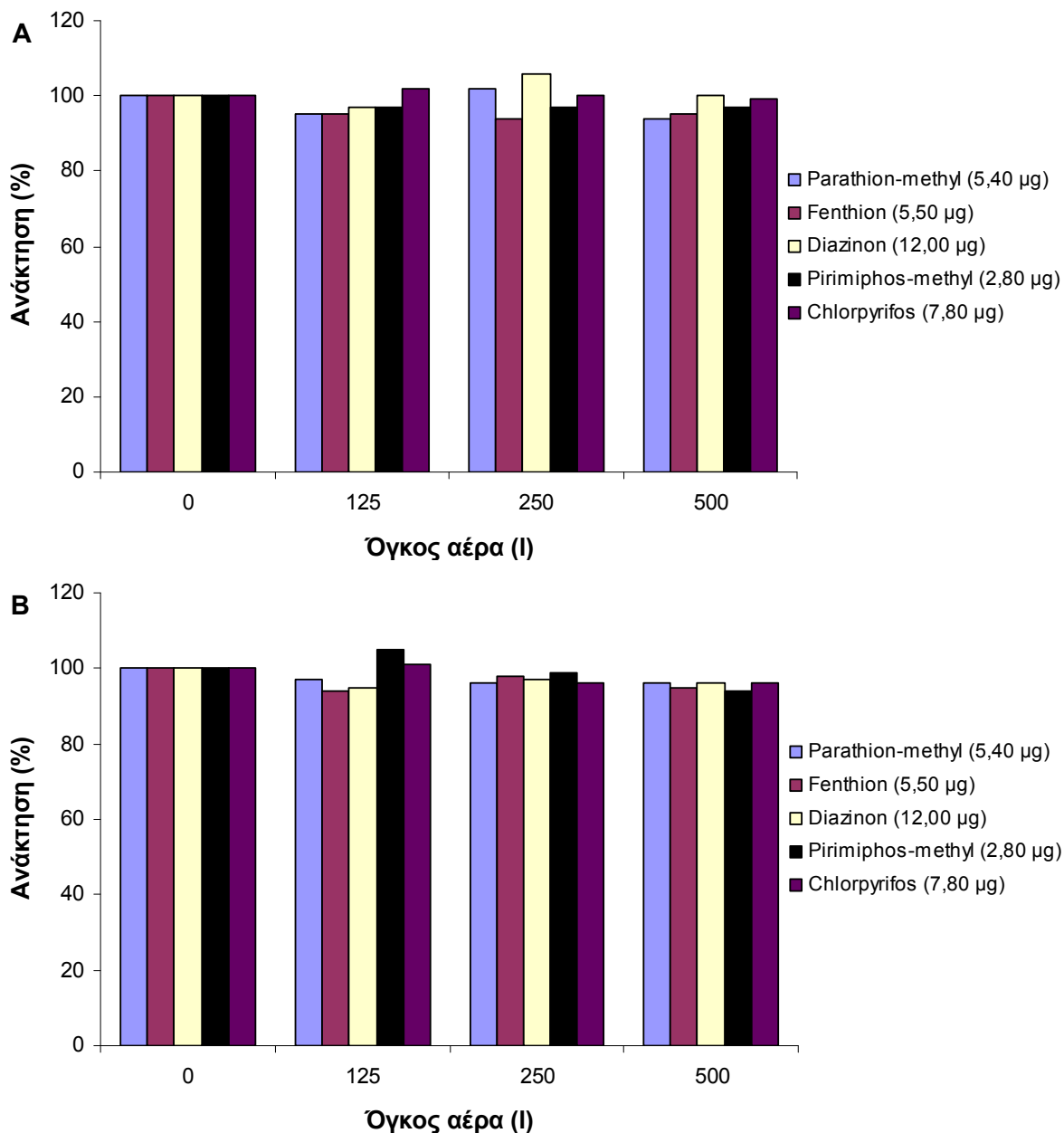
πραγματοποιείται κάτω από τις πειραματικές συνθήκες που αναφέρονται στο προηγούμενο κεφάλαιο. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρουσιάζονται στα σχήματα 4.10 και 4.11.



Σχήμα 4.10: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα XAD-2. Α: Υγρασία 80 % και Β: Υγρασία 10 %

Όπως φαίνεται από τα σχήματα 4.10 και 4.11 η ανάκτηση όλων των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων είναι μεγαλύτερη από 94 %, ακόμα και μετά τη διέλευση 500 l αέρα, όπως επίσης είναι ανεξάρτητη από την υγρασία του αέρα και το επίπεδο εμβολιασμού.

Επομένως, αποδεικνύεται όχι μόνο η καταλληλότητα του ΧΑD-2 να κατακρατεί τα επιλεγμένα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα αλλά και η σταθερότητά τους σ' αυτό, μετά τη διέλευση μεγάλου όγκου αέρα. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα, που λαμβάνονται από τη μελέτη αυτή, ενισχύουν προηγούμενα αποτελέσματα, με βάση τα οποία το ΧΑD-2 θεωρείται κατάλληλο προσροφητικό υλικό για τη συλλογή των ατμών των μελετώμενων ουσιών από τον αέρα.

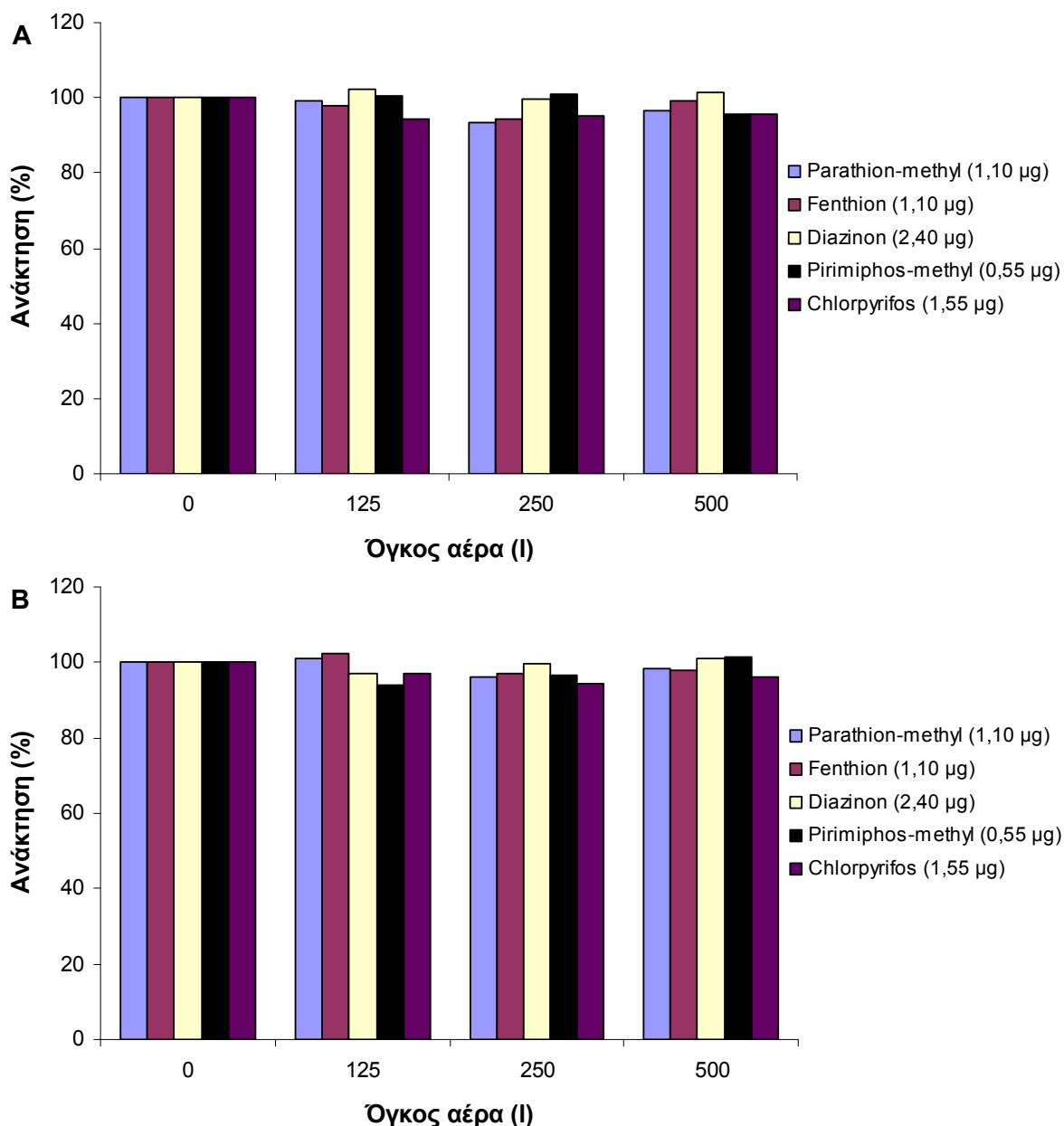


Σχήμα 4.11: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από φίλτρα ΧΑD-2. Α: Υγρασία 80 % και Β: Υγρασία 10 %

4.13.3 Μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2, μετά τη διέλευση αέρα

Όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 4.13.1, κατά τη διέλευση αέρα από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, παρατηρείται μερική απώλεια των τριών από τα πέντε μελετώμενα φυτοφάρμακα και συγκεκριμένα των parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos. Επειδή τα φυτοφάρμακα αυτά έχουν σχετικά υψηλή τάση ατμών, η απώλεια, η οποία συμβαίνει κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας, αποδίδεται σε εξάτμιση. Ακόμα, παρατηρώντας τα πειραματικά δεδομένα, φαίνεται να υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ της τάσης ατμών και της ποσοστιαίας απώλειας ή ανάκτησης αυτών των φυτοφαρμάκων από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων. Συγκεκριμένα, η ανάκτηση των parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos υπολογίζεται ίση με 41, 32 και 24 %, αντίστοιχα, ενώ η τάση ατμών στους 25 °C είναι 0,41, 1,4 και 2,7 mPa, αντίστοιχα. Για τα φυτοφάρμακα pirimiphos-methyl και diazinon, των οποίων η τάση ατμών στους 25 °C είναι 5 και 12 mPa, αντίστοιχα, δεν παρατηρείται εξάτμιση από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί αυτή η εικασία, ότι δηλαδή η απώλεια των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos οφείλεται σε εξάτμιση, πραγματοποιείται μια σειρά πειραμάτων, στα οποία εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδέονται σε σειρά με εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 και στη συνέχεια με χρήση αυτής της διάταξης πραγματοποιείται δειγματοληψία 125, 250 και 500 l αέρα. Οι υπόλοιπες πειραματικές συνθήκες, όπως επίσης και τα επίπεδα εμβολιασμού των ουσιών, είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στα δύο προηγούμενα κεφάλαια. Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσιάζονται στα σχήματα 4.12 και 4.13, στα οποία απεικονίζονται οι συνολικές ανακτήσεις των μελετώμενων ουσιών και από τα δύο φίλτρα ως συνάρτηση του διερχόμενου όγκου αέρα. Όπως φαίνεται στα σχήματα 4.12 και 4.13, οι συνολικές ανακτήσεις των μελετώμενων φυτοφαρμάκων είναι μεγαλύτερες από 95 % ενώ η υγρασία του αέρα δεν επηρεάζει την ικανότητα κατακράτησης των ουσιών.

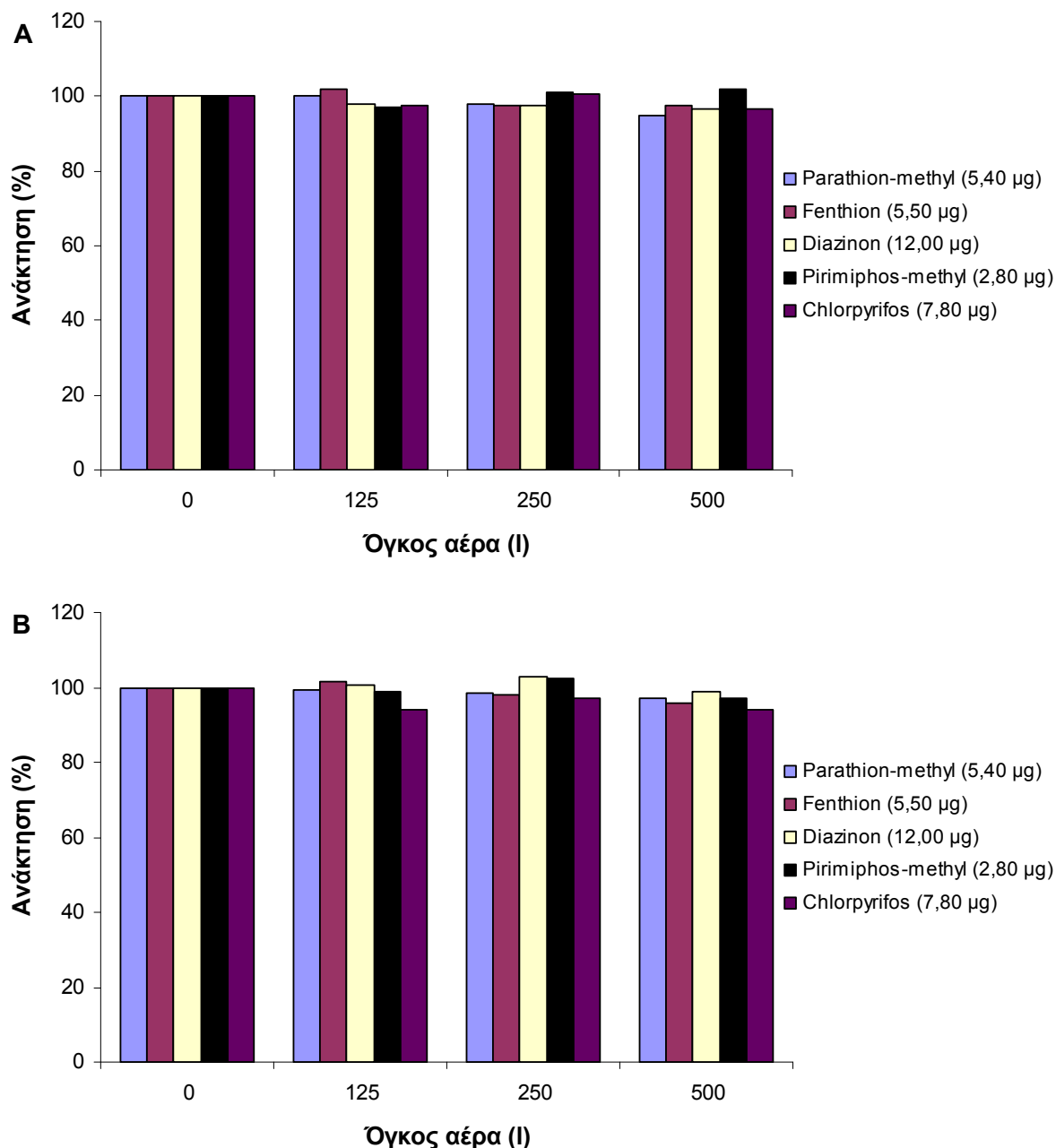
Με βάση τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης συνάγεται το συμπέρασμα ότι οι απώλειες των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos από τα φίλτρα GF/A, όταν διέρχεται από αυτό αέρας, οφείλονται σε εξάτμιση αυτών. Το γεγονός ότι η ποσότητα των τριών αυτών φυτοφαρμάκων που εξατμίζεται, κατακρατείται ποσοτικά από το φίλτρο XAD-2, αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου γιατί κατά τη συλλογή των



Σχήμα 4.12: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2. Α: Υγρασία 80 % και Β: Υγρασία 10 %

συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων από πραγματικά δείγματα δεν θα υπάρχουν απώλειες και έτσι θα είναι δυνατός ο υπολογισμός της ολικής συγκέντρωσης αυτών στα δείγματα. Όμως, για τα φυτοφάρμακα parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos εξαιτίας της εξάτμισής τους από τα φίλτρα GF/A κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας, δεν είναι δυνατόν να γίνει διάκριση μεταξύ της ποσότητας που βρίσκεται προσροφημένη στα αιωρούμενα σωματίδια, τα οποία κατακρατούνται από τα φίλτρα GF/A και της ποσότητας που βρίσκεται στην αέρια φάση με τη

μορφή ατμών. Αντίθετα, για τα φυτοφάρμακα diazinon και pirimiphos-methyl δεν παρατηρούνται απώλειες κατά τη διαβίβαση ακόμα και 500 l αέρα από τα εμβολιασμένα φίλτρα GF/A, όπως δείχνουν τα πειράματα που παρουσιάζονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 4.13.1, με αποτέλεσμα για τα συγκεκριμένα δύο φυτοφάρμακα να είναι εφικτή η διάκριση μεταξύ των αιωρούμενων σωματιδίων και της αέριας φάσης.



Σχήμα 4.13: Επίδραση του όγκου του διερχόμενου αέρα στην ικανότητα κατακράτησης των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με φίλτρα XAD-2. A: Υγρασία 80 % και B: Υγρασία 10 %

4.14 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου

Η αξιοπιστία της προτεινόμενης μεθόδου ελέγχεται με εφαρμογή της στον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl και fenthion σε δείγματα αέρα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο, όπου καλλιεργούνται καλλωπιστικά φυτά. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιείται με χρήση δειγματολήπτη, ο οποίος περιγράφεται και απεικονίζεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.14, με τη μόνη διαφορά ότι η μικροστήλη περιέχει 100 mg XAD-2 αντί των 200 mg silica gel.

4.14.1 Περιγραφή δειγματοληψίας

Η σύνδεση των δειγματοληπτών με τις αντλίες, η ρύθμιση της ροής του αέρα, η θέση του δειγματολήπτη στο θερμοκήπιο και γενικά ο τρόπος της δειγματοληψίας περιγράφεται αναλυτικά στο πρώτο κεφάλαιο του πειραματικού μέρους της παρούσας διατριβής (κεφάλαιο 3.14.1). Επίσης, το θερμοκήπιο, στο οποίο πραγματοποιείται ο ψεκασμός και στη συνέχεια η δειγματοληψία των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, είναι το ίδιο που χρησιμοποιείται στην περίπτωση του chlorothalonil. Αναλυτική περιγραφή του θερμοκηπίου υπάρχει στο κεφάλαιο 3.14.1.

Η δειγματοληψία των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται στον αέρα του θερμοκηπίου, στο οποίο προηγείται εφαρμογή με ψεκασμό των εμπορικών σκευασμάτων Diazinon 60 EC, Dursban 480 EC, Actellic 50EC και Lebaycid 50EC, τα οποία περιέχουν τα φυτοφάρμακα diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl και fenthion σε συγκεντρώσεις 60, 48, 50 και 50 % w/v, αντίστοιχα. Το αιώρημα του φυτοφαρμάκου parathion-methyl παρασκευάζεται ξεχωριστά σε μικρό δοχείο ψεκασμού όγκου 200 ml, σε συγκέντρωση 10 φορές χαμηλότερη από τη συγκέντρωση που προτείνεται από τη εταιρεία και η εφαρμογή του πραγματοποιείται σε ένα τμήμα του εδάφους του θερμοκηπίου εμβαδού περίπου 1 m². Για τα υπόλοιπα τέσσερα φυτοφάρμακα παρασκευάζεται αιώρημα σε νερό όγκου 10 l, σύμφωνα με τις οδηγίες που υπάρχουν στη συσκευασία του κάθε φυτοφαρμάκου και ο ψεκασμός γίνεται με χειροκίνητη συσκευή, η οποία τοποθετείται στην πλάτη του χειριστή. Η διάρκεια του ψεκασμού είναι περίπου 10 min. Μια ημέρα πριν τον ψεκασμό πραγματοποιείται δειγματοληψία για να εκτιμηθεί το φορτίο του αέρα του θερμοκηπίου στα φυτοφάρμακα που μελετώνται, τα αποτελέσματα της οποίας αποτελούν το τυφλό δείγμα. Αμέσως μετά τον ψεκασμό λαμβάνεται το πρώτο δείγμα και οι δειγματοληψίες συνεχίζονται καθημερινά για δέκα συνεχόμενες ημέρες. Επίσης, λαμβάνονται δείγματα κατά τη 12^η, 14^η και 21^η ημέρα μετά τον ψεκασμό.

Μετά τη λήξη της κάθε δειγματοληψίας ακολουθεί επεξεργασία των προσροφητικών υλικών για την εκχύλιση των προσδιοριζόμενων ουσιών και η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιείται την ίδια ημέρα, σύμφωνα με την προτεινόμενη πορεία σ' αυτή τη διατριβή.

Στο σχήμα 4.14 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα από τη ανάλυση των δειγμάτων των μικροφίλτρων GF/A και των φίλτρων XAD-2, που λαμβάνονται κατά την πρώτη ημέρα της δειγματοληψίας, όπως επίσης και τα χρωματογραφήματα των αντίστοιχων τυφλών δειγμάτων. Ακόμα, για λόγους άμεσης σύγκρισης, στο ίδιο σχήμα υπάρχει και το χρωματογράφημα ενός προτύπου διαλύματος των μελετώμενων φυτοφαρμάκων, οι συγκεντρώσεις των οποίων είναι: parathion-methyl: 0,54 µg/ml, fenthion: 0,55 µg/ml, diazinon: 1,20 µg/ml, pirimiphos-methyl: 0,28 µg/ml και chlorpyrifos: 0,78 µg/ml.

4.14.2 Αποτελέσματα δειγματοληψίας

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στον αέρα του θερμοκηπίου καθώς επίσης και οι συνθήκες δειγματοληψίας (υγρασία, θερμοκρασία, όγκος δείγματος) παρουσιάζονται στον πίνακα 4.10. Από την ανάλυση των δειγμάτων, ξεχωριστά για το κάθε φυτοφάρμακο, προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

- Parathion-methyl: Το φυτοφάρμακο parathion-methyl ανιχνεύεται μόνο την πρώτη ημέρα της δειγματοληψίας τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση, σε συνολική συγκέντρωση ίση με 3,05 µg/m³. Μέχρι την 21^η ημέρα που διαρκεί η μελέτη το parathion-methyl δεν ανιχνεύεται σε κανένα άλλο δείγμα. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα εξηγούνται λαμβάνοντας υπόψη τον τρόπο εφαρμογής του parathion-methyl, το οποίο δεν εφαρμόζεται μαζί με τα υπόλοιπα φυτοφάρμακα σε όλο το θερμοκήπιο αλλά σε ένα μικρό μόνο τμήμα του εδάφους του, εμβαδού 1 m², με αποτέλεσμα η συνολική διαθέσιμη ποσότητα μέσα στο θερμοκήπιο να είναι συγκεντρωμένη σε ένα σημείο. Επίσης, το γεγονός ότι δεν ανιχνεύεται τις επόμενες ημέρες της δειγματοληψίας ενδεχομένως να οφείλεται και στο ότι το parathion-methyl στον αέρα διασπάται είτε μέσω υδρόλυσης σχηματίζοντας p-nitrophenol και dimethyl phosphorothioic acid είτε μέσω οξείδωσης σχηματίζοντας το methyl-paraoxon (Helliker, 1999). Η οξείδωση του parathion-methyl πραγματοποιείται γρήγορα παρουσία ριζών υδροξυλίου και υπεριώδους φωτός, αλλά επειδή η σχετική βιβλιογραφία είναι περιορισμένη, δεν υπάρχουν ακριβή δεδομένα για το χρόνο ημιζωής του στον αέρα (ATSDR, 2001). Αν και η χρήση του φυτοφαρμάκου parathion-methyl έχει απαγορευτεί από το 2003 στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η παρουσία υπολειμμάτων του σε τρόφιμα υποδηλώνει την παράνομη χρήση του εξαιτίας της αποτελεσματικότητας και του χαμηλού του κόστους (Muttaray et al.,

2006, Amvrazi and Albanis, 2009). Για το λόγο αυτό το συγκεκριμένο φυτοφάρμακο περιλαμβάνεται σε αυτή τη μελέτη.

- Fenthion: Η συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου fenthion σε όλα τα δείγματα που λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της μελέτης, είναι μικρότερη από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχει παρόμοια μελέτη για την παρουσία, τη συγκέντρωση αλλά και την τύχη του fenthion στον αέρα θερμοκηπίων μετά από την εφαρμογή του. Σε μελέτη, η οποία πραγματοποιείται σε εξωτερικό χώρο μετά την εφαρμογή του fenthion σε δέντρα, η συγκέντρωσή του στον αέρα κυμαίνεται από 20 έως 230 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Edwards et al., 2007). Επίσης, σε δείγματα αέρα, τα οποία λαμβάνονται από ανθοπωλείο, η συγκέντρωση του fenthion είναι ίση με 1,5 ng/m^3 (Bouvier et al., 2006).

Επειδή η συγκέντρωση του fenthion στα δείγματα του αέρα είναι εξαιρετικά χαμηλή και δεδομένου ότι η ποσότητα του φυτοφαρμάκου, που χρησιμοποιήθηκε στα συγκεκριμένα πειράματα, δεν προήλθε από κλειστή συσκευασία αγορασμένη από γεωπονικό κατάστημα, όπως συνέβη με τα υπόλοιπα φυτοφάρμακα, αλλά από ανοιχτή συσκευασία, άγνωστο για πόσο καιρό και υπό ποιες συνθήκες αποθήκευσης, από γεωργό, θεωρήθηκε σκόπιμο να γίνει ανάλυση αυτού του προϊόντος ώστε να υπολογιστεί η περιεκτικότητά του στη δραστική ουσία fenthion. Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης προκύπτει ότι η περιεκτικότητα στη δραστική ουσία fenthion είναι 5 % w/v, τιμή η οποία είναι δέκα φορές μικρότερη από εκείνη που αναγράφεται στη συσκευασία, γεγονός που σημαίνει ότι κατά την αποθήκευσή του το fenthion διασπάστηκε. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η τελική συγκέντρωση του fenthion στο διάλυμα, το οποίο τελικά ψεκάζεται στο θερμοκήπιο, είναι 0,0015 % και όχι 0,015 % w/v, όπως υπολογίζεται αρχικά και στο λόγο αυτό οφείλεται ενδεχομένως η τόσο μικρή συγκέντρωση του fenthion στον αέρα του θερμοκηπίου. Επίσης, ένας δεύτερος λόγος είναι ότι στην αέρια φάση, ενδέχεται να συμβαίνουν διαφόρων ειδών φωτοχημικές αντιδράσεις, οι οποίες οδηγούν στη διάσπασή του και κατά συνέπεια στη χαμηλή συγκέντρωσή του στον αέρα ακόμη και αμέσως μετά την εφαρμογή του. Με βάση τη βιβλιογραφία, ο χρόνος ημιζωής του φυτοφαρμάκου fenthion στην ατμόσφαιρα είναι 1,7 ώρες εξαιτίας της αλληλεπίδρασής του με τις ρίζες υδροξυλίου της ατμόσφαιρας (JMPPR-909, 1995).

- Pirimiphos-methyl: Το φυτοφάρμακο pirimiphos-methyl ανιχνεύεται από τη 1^η μέχρι και την 8^η ημέρα της μελέτης ενώ τις ημέρες που ακολουθούν, η συγκέντρωσή του είναι μικρότερη από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση, 0,69 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, μετριέται την πρώτη ημέρα αμέσως μετά την εφαρμογή του στο θερμοκήπιο, ενώ τις επόμενες ημέρες η συγκέντρωσή του στον αέρα του θερμοκηπίου μειώνεται με σταθερό ρυθμό, εκτός από την 3^η ημέρα που παρατηρείται μια μικρή αύξηση σε σχέση με τη 2^η ημέρα, γεγονός που ενδεχομένως οφείλεται στην αύξηση της θερμοκρασίας κατά 4 °C. Το pirimiphos-methyl ανιχνεύεται μόνο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων.

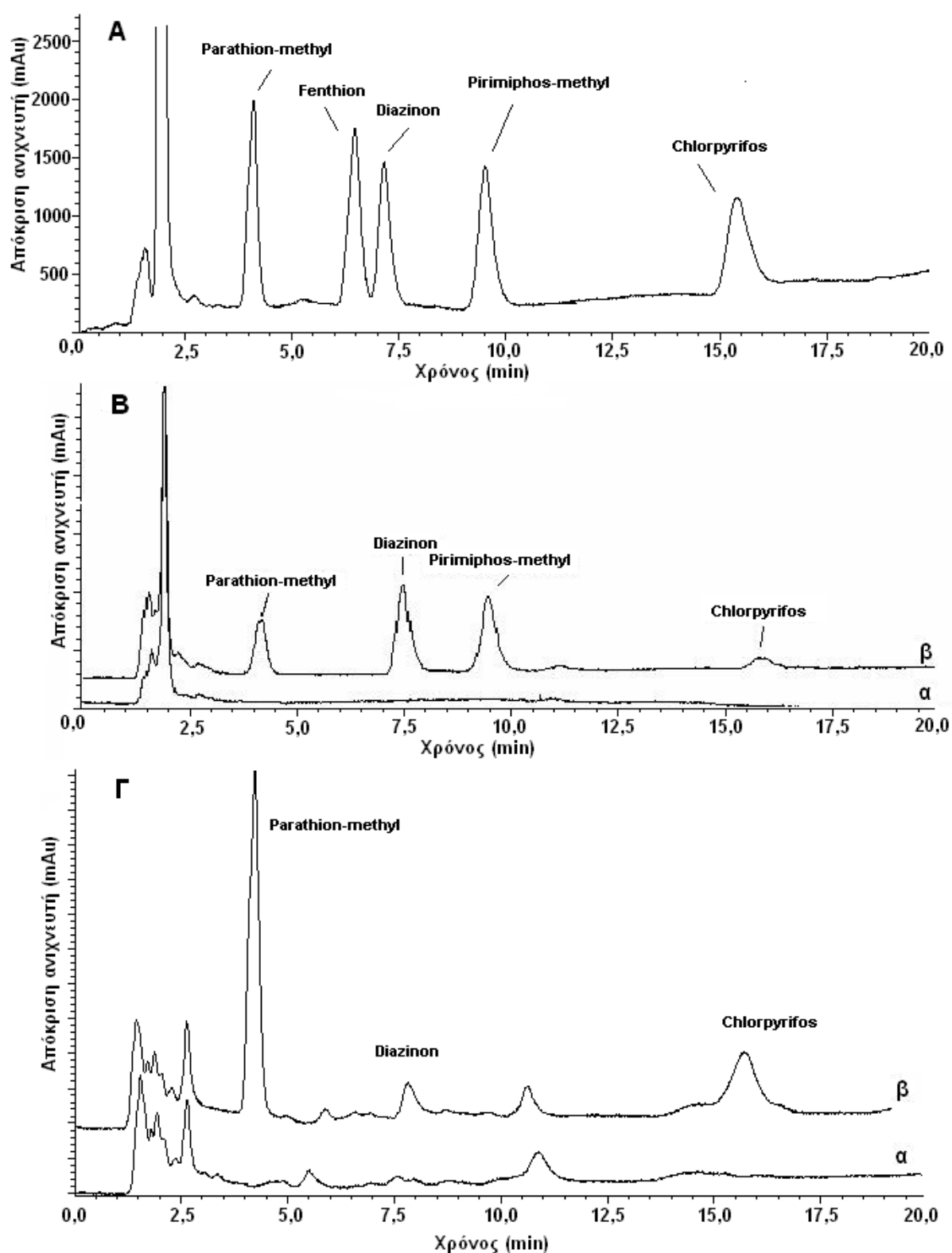
Πίνακας 4.10: Συγκεντρώσεις των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στα δείγματα της αέριας δειγματοληψίας

Ημέρα	Μέση Σχετική Υγρασία (%)**	Μέση Θερμοκρασία (°C)**	Όγκος (l)	Parathion-methyl			Diazinon			Pirimiphos-methyl			Chlorpyrifos		
				GF/A (μg/m ³)	XAD-2 (μg/m ³)	Συνολικά (μg/m ³)	GF/A (μg/m ³)	XAD-2 (μg/m ³)	Συνολικά (μg/m ³)	GF/A (μg/m ³)	XAD-2 (μg/m ³)	Συνολικά (μg/m ³)	GF/A (μg/m ³)	XAD-2 (μg/m ³)	Συνολικά (μg/m ³)
0*	45	24	504	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
1	59	21	578	0,64	2,41	3,05	2,85	1,04	3,89	0,69	***	0,69	0,48	0,72	1,20
2	63	21	506	***	***	***	0,64	0,56	1,20	0,11	***	0,11	***	0,50	0,50
3	60	25	528	***	***	***	0,77	0,62	1,39	0,14	***	0,14	***	0,49	0,49
4	57	28	537	***	***	***	0,58	0,57	1,15	0,12	***	0,12	***	0,50	0,50
5	60	25	516	***	***	***	0,53	0,50	1,03	0,11	***	0,11	***	0,53	0,53
6	67	24	547	***	***	***	0,47	0,54	1,01	0,10	***	0,10	***	0,35	0,35
7	48	29	535	***	***	***	0,49	0,66	1,15	0,09	***	0,09	***	0,56	0,56
8	52	28	521	***	***	***	0,48	0,54	1,02	0,07	***	0,07	***	0,52	0,52
9	56	27	547	***	***	***	0,39	0,51	0,90	***	***	***	***	0,49	0,49
10	49	29	515	***	***	***	0,34	0,49	0,83	***	***	***	***	0,39	0,39
12	57	26	531	***	***	***	0,27	0,48	0,75	***	***	***	***	0,32	0,32
14	38	30	587	***	***	***	0,28	0,55	0,83	***	***	***	***	0,24	0,24
21	49	27	574	***	***	***	0,20	0,50	0,70	***	***	***	***	***	***

* Δειγματοληψία τυφλού

** Ο μέσος όρος σε τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας

*** Δεν ανιχνεύεται



Σχήμα 4.14: Χρωματογραφήματα των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων Α. Πρότυπο διάλυμα, Β. Δείγμα από μικροφίλτρα υαλονημάτων, Γ. Δείγμα από φίλτρα XAD-2. α τυφλό και β δείγμα

- Chlorpyrifos: Το φυτοφάρμακο chlorpyrifos ανιχνεύεται μέχρι και την 14^η ημέρα της μελέτης, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, 1,20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, να μετριέται κατά την πρώτη ημέρα, αμέσως μετά την εφαρμογή του. Το chlorpyrifos, εκτός από την πρώτη ημέρα που ανιχνεύεται τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα XAD-2, τις επόμενες ημέρες ανιχνεύεται μόνο στα φίλτρα XAD-2, γεγονός που δηλώνει ότι υπάρχει μόνο με τη μορφή ατμών στον αέρα του θερμοκηπίου. Από την 2^η μέχρι και την 9^η ημέρα της μελέτης η συγκέντρωσή του παραμένει σταθερή με εξαίρεση την 6^η ημέρα, που παρατηρείται μικρή μείωση. Από την 9^η μέχρι και την 14^η ημέρα παρατηρείται σταδιακή μείωση της συγκέντρωσής του ενώ την τελευταία ημέρα (21^η ημέρα) δεν ανιχνεύεται.

Για τη συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos στον αέρα θερμοκηπίου, υπάρχουν ορισμένα στοιχεία στη βιβλιογραφία. Ο Guardino και οι συνεργάτες του δεν ανιχνεύουν το φυτοφάρμακο chlorpyrifos ένδεκα ώρες μετά τον ψεκασμό του σε θερμοκήπιο, που καλλιεργούνται τομάτες και στο οποίο έχει προηγηθεί αερισμός για χρονικό διάστημα δύο ωρών (Guardino et al., 1998). Σε άλλη μελέτη, κατά την οποία το chlorpyrifos εφαρμόζεται με ψεκασμό σε φυτά ζέρμπερας, τα οποία καλλιεργούνται σε θερμοκήπιο, η μέγιστη συγκέντρωσή του είναι ίση με 7,1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, δύο ώρες μετά τον ψεκασμό (Hatzilazarou et al., 2005). Τέλος, κατά την εφαρμογή του chlorpyrifos σε θερμοκήπιο στο οποίο καλλιεργούνται χρυσάνθεμα, η μέγιστη συγκέντρωσή του στον αέρα είναι ίση με 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Stamper et al., 1989a). Αν και σε όλες τις περιπτώσεις, συμπεριλαμβανομένης και της παρούσας διατριβής, η ποσότητα του chlorpyrifos που εφαρμόζεται στο θερμοκήπιο ανά στρέμμα είναι περίπου η ίδια (20 g δραστικής ουσίας/στρέμμα) οι μέγιστες συγκεντρώσεις στον αέρα του θερμοκηπίου διαφέρουν σημαντικά. Το συγκεκριμένο γεγονός οφείλεται πιθανώς στο διαφορετικό τρόπο εφαρμογής του φυτοφαρμάκου, στις διαφορετικές συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και αερισμού που επικρατούν στα θερμοκήπια καθώς επίσης και στους διαφορετικούς όγκους αιωρήματος που ψεκάζονται. Για παράδειγμα, στην εργασία του Stamper και των συνεργατών του (Stamper et al., 1989a), στην οποία παρατηρούνται οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του chlorpyrifos στον αέρα του θερμοκηπίου, ο συνολικός όγκος του διαλύματος του φυτοφαρμάκου που ψεκάζεται στο θερμοκήπιο είναι περίπου 240 l, με αποτέλεσμα την καλύτερη διασπορά του στον αέρα του θερμοκηπίου, ενώ στην εργασία του Guardino και των συνεργατών του (Guardino et al., 1998) στην οποία δεν ανιχνεύεται το chlorpyrifos στον αέρα του θερμοκηπίου ο συνολικός όγκος του διαλύματος είναι 2,5 l.

- Diazinon: Το φυτοφάρμακο diazinon ανιχνεύεται σε όλα τα δείγματα, τα οποία λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της μελέτης, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, 3,89 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, να καταγράφεται την πρώτη ημέρα. Σε όλη τη διάρκεια της μελέτης, το diazinon ανιχνεύεται και στα αιωρούμενα σωματίδια και στην αέρια φάση. Η συγκέντρωσή του στα αιωρούμενα σωματίδια παρουσιάζει μια μικρή αύξηση μεταξύ της 2^{ης} και της 3^{ης} ημέρας εξαιτίας της αύξησης της

θερμοκρασίας κατά 4 °C. Τις επόμενες ημέρες, παρατηρείται σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης του diazinon στα αιωρούμενα σωματίδια, η οποία δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τις μεταβολές της θερμοκρασίας. Η συγκέντρωση του diazinon στην αέρια φάση παρουσιάζει σημαντική μείωση την 2^η ημέρα ενώ τις επόμενες ημέρες, μέχρι και την 21^η, παραμένει, στα όρια του πειραματικού σφάλματος, σταθερή και δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τις μεταβολές της θερμοκρασίας. Εξαίρεση πιθανώς αποτελεί η μικρή αύξηση της συγκέντρωσης, που παρατηρείται την 7^η ημέρα, η οποία αποδίδεται στην αύξηση της θερμοκρασίας κατά 5 °C.

Σε μελέτη στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι η μέγιστη συγκέντρωση του diazinon, δύο ώρες μετά την εφαρμογή του σε θερμοκήπιο στο οποίο καλλιεργούνται φυτά ζερμπερας, είναι ίση με 9,3 μg/m³ (Hatzilazarou et al., 2005). Στη συγκεκριμένη εργασία, η ποσότητα του diazinon που εφαρμόζεται ισούται με 12,9 g/στρέμμα και το φυτοφάρμακο ανιχνεύεται για χρονικό διάστημα 6 ημερών με τη συγκέντρωσή του την 6^η ημέρα να μειώνεται από 9,3 στα 0,19 μg/m³. Στην μελέτη που γίνεται στην παρούσα διατριβή, η ποσότητα του diazinon που εφαρμόζεται ισούται με 26,6 g/στρέμμα, δηλαδή είναι περίπου διπλάσια από την ποσότητα που χρησιμοποιεί ο Hatzilazarou και οι συνεργάτες του, γεγονός το οποίο εξηγεί πιθανώς την παρουσία του diazinon σε συγκέντρωση 0,70 μg/m³ ακόμα και μετά από 21 ημέρες στον αέρα του θερμοκηπίου. Όπως αναφέρεται και στην περίπτωση του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos, οι διαφορές στα αποτελέσματα οφείλονται στο διαφορετικό τρόπο εφαρμογής του αιωρήματος, στις διαφορετικές συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και αερισμού που επικρατούν στα θερμοκήπια καθώς επίσης και στους διαφορετικούς όγκους διαλύματος που ψεκάζονται.

4.14.3 Εκτίμηση της έκθεσης στα επιλεγμένα φυτοφάρμακα των εργαζομένων σε θερμοκήπια

Η εκτίμηση της έκθεσης μέσω της εισπνοής στα επιλεγμένα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα των εργαζομένων στα θερμοκήπια βασίζεται στο σκεπτικό, που αναπτύσσεται στο κεφάλαιο 3.14.3, της παρούσας διατριβής. Με βάση το σκεπτικό αυτό και τη συγκέντρωση των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων που μετρείται την πρώτη ημέρα στον αέρα του θερμοκηπίου, εκτιμάται η ποσότητα που προσλαμβάνεται από τον οργανισμό μέσω της εισπνοής. Επιλέγεται η πρώτη ημέρα σ' αυτούς τους υπολογισμούς, γιατί η τιμή της συγκέντρωσης των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων είναι η υψηλότερη και επομένως η έκθεση των εργαζομένων είναι η μεγαλύτερη. Στον πίνακα 4.11 φαίνονται οι ποσότητες των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων, οι οποίες προσλαμβάνονται μέσω της εισπνοής από τον άνθρωπο ανά ώρα εργασίας.

Πίνακας 4.11: Ποσότητες των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων που προσλαμβάνονται μέσω της εισπνοής από τον άνθρωπο ανά ώρα εργασίας

Φυτοφάρμακο	Μέγιστη συγκέντρωση (μg/m ³)	Απορροφούμενη ποσότητα (μg/h)
Parathion-methyl	3,05	2,74
Diazinon	3,89	3,50
Pirimiphos-methyl	0,69	0,62
Chlorpyrifos	1,20	1,08

4.15 Αποτελέσματα-Συζήτηση

Στο δεύτερο κεφάλαιο του πειραματικού μέρους της παρούσας διδακτορικής διατριβής αναπτύσσεται μία μέθοδος για την ταυτόχρονη δειγματοληψία και τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos σε δείγματα αέρα. Η ταυτοποίηση και ο προσδιορισμός των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης και ανιχνευτή συστοιχίας διόδων.

Σε μελέτες προσδιορισμού αέριων ρύπων, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η σωστή δειγματοληψία αυτών. Στην παρούσα εργασία, προκειμένου να αναπτυχθεί μια αξιόπιστη μέθοδος για την ταυτόχρονη δειγματοληψία των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από δείγματα αέρα, μελετώνται μια σειρά παραγόντων, οι οποίοι επιδρούν στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της δειγματοληψίας. Σε όλες τις περιπτώσεις, η επιλογή των βέλτιστων συνθηκών βασίζεται στις τιμές της ανάκτησης, οι οποίες υπολογίζονται από την κατεργασία εμβολιασμένων φίλτρων.

Αρχικά, πραγματοποιείται μια μελέτη για την επιλογή του κατάλληλου προσροφητικού υλικού, για τη συλλογή των φυτοφαρμάκων που βρίσκονται με τη μορφή ατμών. Η μελέτη περιλαμβάνει τον έλεγχο τεσσάρων διαφορετικών υλικών (Florisil, Silica gel, Tenax και XAD-2). Τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται στην περίπτωση του Silica gel και του XAD-2. Από τα δύο υλικά επιλέγεται το XAD-2, γιατί χρησιμοποιείται περισσότερο στη βιβλιογραφία για τη συλλογή των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από την αέρια φάση σε σχέση με το silica gel. Τελικά, η δειγματοληψία των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων από τον αέρα του

θερμοκηπίου πραγματοποιείται με χρήση δειγματοληπτών, οι οποίοι περιλαμβάνουν μικροφίλτρα υαλονημάτων, για την συλλογή των αιωρούμενων σωματιδίων και μικροστήλες, οι οποίες περιέχουν το προσροφητικό υλικό XAD-2, για τη συλλογή των φυτοφαρμάκων που βρίσκονται με τη μορφή ατμών.

Η επιλογή του όγκου του διαλύτη εκχύλισης (ακετονιτρίλιο) πρέπει να πληροί ταυτόχρονα δύο προϋποθέσεις: η πρώτη είναι η ποσοτική εκχύλιση των ουσιών από τα φίλτρα και η δεύτερη η ταπείνωση του ορίου ανίχνευσης των προσδιοριζόμενων ουσιών. Η σχετική μελέτη οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η επιλογή όγκου ίσου με 2 ml για το διαλύτη εκχύλισης καλύπτει και τις δύο προηγούμενες προϋποθέσεις. Στη συνέχεια πραγματοποιείται μια σειρά πειραμάτων για την εύρεση του βέλτιστου χρόνου παραμονής των φίλτρων στο λουτρό υπερήχων ώστε να επιτευχθεί, στο μικρότερο δυνατό χρόνο, ποσοτική παραλαβή των μελετώμενων ουσιών από αυτά. Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης επιλέγεται ως κατάλληλος χρόνος παραμονής στο λουτρό υπερήχων τα 15 min. Μετά την εύρεση του βέλτιστου όγκου εκχύλισης και του βέλτιστου χρόνου παραμονής των φίλτρων στο λουτρό υπερήχων, κρίνεται σκόπιμο να ακολουθήσει μελέτη προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα ποσοτικής ανάκτησης των μελετώμενων ουσιών από τα προσροφητικά υλικά, σε μια ευρεία κλίμακα εμβολιαζόμενης ποσότητας. Τα πειραματικά δεδομένα αυτής της μελέτης, δείχνουν ότι σε όλα τα επίπεδα εμβολιασμού και για όλες τις μελετώμενες ουσίες, οι ανακτήσεις τόσο από τα εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και από το XAD-2 είναι σταθερές και επαναλήψιμες, όπως δείχνουν οι τιμές RSD και μεγαλύτερες από 97,5 και 94,4 %, αντίστοιχα.

Από προηγούμενη μελέτη, επιλέγεται το προσροφητικό υλικό XAD-2 ως το καταλληλότερο για τη συλλογή των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, όταν αυτά βρίσκονται υπό μορφή ατμών στον αέρα. Για την εκτίμηση της ικανότητας συλλογής των ατμών των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων με το προσροφητικό υλικό XAD-2, χρησιμοποιείται αέριος χρωματογράφος, ο οποίος διαμορφώνεται κατάλληλα ώστε να δημιουργείται 'ατμόσφαιρα' σταθερής συγκέντρωσης των προσδιοριζόμενων φυτοφαρμάκων. Στο φούρνο του χρωματογράφου τοποθετείται κοίλος σωλήνας, ο οποίος θερμαίνεται σε κατάλληλη θερμοκρασία, στο σωλήνα εγχέεται πρότυπο διάλυμα των ουσιών και στην έξοδο του συνδέεται μικροστήλη, η οποία περιέχει XAD-2. Όπως αποδεικνύεται από τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων πειραμάτων, όλες οι μελετώμενες ουσίες κατακρατούνται ποσοτικά από το προσροφητικό υλικό XAD-2, καθώς οι τιμές των ανακτήσεων είναι μεγαλύτερες από 96,2 %.

Η μελέτη της ικανότητας κατακράτησης των ουσιών στα επιλεγμένα φίλτρα, συνεχίζεται με πειράματα, στα οποία αέρας όγκου 125, 250 ή 500 l διέρχεται από εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων ή εμβολισμένα φίλτρα XAD-2 ή τέλος εμβολιασμένα μικροφίλτρα

υαλονημάτων και XAD-2, τα οποία συνδέονται σε σειρά. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι ανακτήσεις των φυτοφαρμάκων diazinon και pirimiphos-methyl, από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων είναι μεγαλύτερες από 94 %, ακόμα και μετά τη διέλευση 500 l αέρα γεγονός που αποδεικνύει ότι κατακρατούνται ποσοτικά από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων. Αντίθετα, για τα φυτοφάρμακα parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos παρατηρούνται απώλειες από τα εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, ακόμη και μετά τη διέλευση μόνο 125 l αέρα, απώλειες οι οποίες οφείλονται σε εξάτμιση. Στα αντίστοιχα πειράματα, στα οποία μελετώνται τα εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2 φαίνεται ότι όλα τα φυτοφάρμακα κατακρατούνται ποσοτικά καθώς οι ανακτήσεις τους είναι μεγαλύτερες από 94 %. Τέλος, με βάση τα πειράματα, στα οποία χρησιμοποιούνται εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων συνδεδεμένα σε σειρά με εμβολιασμένα φίλτρα XAD-2, αποδεικνύεται ότι οι απώλειες των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos από τα φίλτρα υαλονημάτων, οφείλεται σε εξάτμιση αφού η ποσότητα και των τριών φυτοφαρμάκων που 'χάνεται', κατακρατείται ποσοτικά από τα φίλτρα XAD-2. Τα τελικά συμπεράσματα της μελέτης αυτής είναι ότι η διάκριση μεταξύ της ποσότητας που βρίσκεται προσροφημένη στα αιωρούμενα σωματίδια και εκείνης που βρίσκεται στην αέρια φάση, είναι δυνατή μόνο για τα φυτοφάρμακα diazinon και pirimiphos-methyl ενώ για τα φυτοφάρμακα parathion-methyl, fenthion και chlorpyrifos, εξαιτίας της εξάτμισής τους από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων, η διάκριση αυτή δεν είναι δυνατή και έτσι η συγκέντρωση, που υπολογίζεται στον αέρα, είναι το άθροισμα της συγκέντρωσης στα αιωρούμενα σωματίδια και στην αέρια φάση.

Για την εκτίμηση της σταθερότητας των φυτοφαρμάκων στα μικροφίλτρα υαλονημάτων και στα φίλτρα XAD-2 πραγματοποιείται μελέτη, σύμφωνα με την οποία εμβολιασμένα φίλτρα αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου και στους +4 °C, για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα μελετώμενα φυτοφάρμακα είναι σταθερά, τουλάχιστον για 15 ημέρες, τόσο στα μικροφίλτρα υαλονημάτων όσο και στα φίλτρα XAD-2 και στις δύο θερμοκρασίες.

Η αναλυτική μέθοδος προσδιορισμού των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων περιλαμβάνει επιτυχή διαχωρισμό τους με χρήση της χρωματογραφικής στήλης Hypesil BDS C18 και κινητή φάση ακετονιτρίλιο και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 60:40 v/v. Ο διαχωρισμός των ουσιών επιτυγχάνεται ισοκρατικά με ροή κινητής φάσης 1,0 ml/min, σε λιγότερο από 17 λεπτά. Επίσης, δίνονται τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου (καμπύλες αναφοράς, επαναληψιμότητα μεθόδου την ίδια ημέρα και μεταξύ διαφορετικών ημερών και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης). Οι καμπύλες αναφοράς καλύπτουν μία ευρεία κλίμακα συγκεντρώσεων, ενώ η επαναληψιμότητα της μεθόδου κρίνεται ιδιαίτερα ικανοποιητική.

Η αξιοπιστία της προτεινόμενης μεθόδου ταυτόχρονης δειγματοληψίας και ταυτόχρονου προσδιορισμού των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos ελέγχεται με την ανάλυση δειγμάτων αέρα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο. Στο θερμοκήπιο προηγείται ψεκασμός με αιώρημα των εμπορικών σκευασμάτων Diazinon 60 EC, Dursban 480 EC, Actellic 50EC και Lebaycid 50EC, τα οποία περιέχουν τα φυτοφάρμακα diazinon, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl και fenthion σε συγκεντρώσεις 60, 48, 50 και 50 % w/v, αντίστοιχα, ενώ το parathion-methyl εφαρμόζεται μόνο σε μικρό τμήμα του εδάφους του θερμοκηπίου, εμβαδού 1 m². Η μελέτη διαρκεί για χρονικό διάστημα 21 ημερών. Από τα μελετώμενα φυτοφάρμακα, το μοναδικό που δεν ανιχνεύεται στον αέρα του θερμοκηπίου είναι το fenthion, πιθανώς εξαιτίας της χαμηλής του συγκέντρωσης στο εμπορικό σκεύασμα που χρησιμοποιείται ή λόγω διαφόρων φωτοχημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στον αέρα του θερμοκηπίου, καθώς ο χρόνος ημιζωής του στην ατμόσφαιρα είναι ίσος με 1,7 ώρες. Το parathion-methyl ανιχνεύεται μόνο κατά την 1^η ημέρα της δειγματοληψίας τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση. Το pirimiphos-methyl ανιχνεύεται μέχρι και την 8^η ημέρα της δειγματοληψίας, μόνο στα αιωρούμενα σωματίδια. Το chlorpyrifos ανιχνεύεται μέχρι και την 14^η ημέρα της δειγματοληψίας. Την 1^η ημέρα ανιχνεύεται στα αιωρούμενα σωματίδια και στην αέρια φάση, ενώ τις επόμενες ημέρες ανιχνεύεται μόνο στην αέρια φάση. Το diazinon ανιχνεύεται μέχρι και την 21^η ημέρα τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση.

Τέλος, με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής υπολογίζονται οι ποσότητες των parathion-methyl, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos που προσλαμβάνονται από τον ανθρώπινο οργανισμό ανά ώρα εργασίας, οι οποίες είναι ίσες με 2,74, 3,50, 0,62 και 1,08 µg/h, αντίστοιχα. Όπως και στην περίπτωση του chlorothalonil και του μεταβολίτη του 4-hydroxychlorothalonil, η προτεινόμενη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του κινδύνου για την υγεία των εργαζομένων στα θερμοκήπια και γενικά των εργαζομένων ή ευρισκομένων σε χώρους, στους οποίους γίνεται χρήση αυτών των εντομοκτόνων.

Συνοψίζοντας, η προτεινόμενη μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού των φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos είναι απλή, γρήγορη, επαναλήψιμη και επιτυγχάνει χαμηλά όρια ανίχνευσης. Επίσης, απλή και επαναλήψιμη είναι και η μέθοδος ταυτόχρονης δειγματοληψίας των προηγούμενων φυτοφαρμάκων, η οποία αναπτύσσεται και ελέγχεται στην παρούσα διατριβή. Σημαντικά πλεονεκτήματα τόσο της αναλυτικής μεθόδου όσο και της μεθόδου δειγματοληψίας είναι η χρήση κοινών και φθηνών υλικών και οργάνων, όπως επίσης και η μικρή κατανάλωση οργανικών διαλυτών. Τέλος, η προτεινόμενη μέθοδος εφαρμόζεται με επιτυχία στην ανάλυση δειγμάτων αέρα από

θερμοκήπιο, στο οποίο εφαρμόζονται με ψεκασμό εμπορικά σκευάσματα των μελετώμενων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abell A., Ernst E. and Bonde J., 2000a. Semen quality and sexual hormones in greenhouse workers, Scand. J. Work, Environ. Health, **26**, 492-500

Abell A., Juul S. and Bonde J., 2000b. Time to pregnancy among female greenhouse workers, Scand. J. Work, Environ. Health, **26**, 131-136

Adamis Z., Antal A., Fuzesi I., Molnar J., Nagy L. and Susan M., 1985. Occupational exposure to organophosphate insecticides and synthetic pyrethroid, Int. Arch. Occup. Environ. Health, **56**, 299-305

Albers J.W., Cole P., Greenberg R.S., Mandel J.S., Monson R.R., Ross J.H., Snodgrass W.R., Spurgeon A. and van Gemert M., 1999. Analysis of chlorpyrifos exposure and human health: expert panel report, J. Toxicol. Environ. Health B, **2**, 301-324

Al-Eed M.A., 2006. Determination of pirimiphos-methyl and chlorpyrifos-ethyl residues on tomato and pepper fruits grown in greenhouse, J. Applied Sci., **6**, 979-982

Amvrazi E.G. and Albanis T.A., 2009. Pesticide residue assessment in different types of olive oil and preliminary exposure assessment of Greek consumers to the pesticide residues detected, Food Chem., **113**, 253-261

Aprea C., Centi L., Lunghini L., Banchi B., Forti M.-A., and Sciarra G., 2002. Evaluation of respiratory and cutaneous doses of chlorothalonil during re-entry in greenhouses, J. Chromatogr. B, **778**, 131-145

Armbrust K.L., 2001a. Chlorothalonil and chlorpyrifos degradation products in golf course leachate, Pest. Manag. Sci., **57**, 797-802

Armbrust K.L., 2001b. Photodegradation of hydroxychlorothalonil in aqueous solutions, Environ. Toxicol. Chem., **20**, 2699-2703

Atkinson R., 1986. Kinetics and mechanisms of the gas-phase reactions of the hydroxyl radical with organic compounds under atmospheric conditions, Chem. Rev., **86**, 69-201

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001. Toxicological profile for methyl parathion, pp 125-153

<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp48.pdf>

Austerweil M. and Grinstein A., 1997. Automatic pesticide application in greenhouses, *Phytoparasitica*, **25**, Suppl. 71S-80S

Australian Government, Weather for pesticide spraying, 2004. Australian Government - Bureau of Meteorology,

<http://www.bom.gov.au/info/leaflets/Pesticide-Spraying.pdf>

Bai Y., Zhou L. and Wang J., 2006. Organophosphorus pesticide residues in market foods in Shaanxi area, China, *Food Chem.*, **98**, 240-242

Baker L., Fitzell D., Seiber J., Parker T., Shibamoto t., Poore M., Longley K., Tomlin R., Propper R. and Duncan D., 1996. Ambient air concentrations of pesticides in California, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 1365-1368

Barrie L.A. and Schemenauer R.S., 1986. Pollutant wet deposition mechanisms in precipitation and fog water, *Water Air and Soil Pollut.*, **30**, 91-104

Baron, L.B., 1991. Carbamate insecticides. In: Hayes, W.J., Laws, E.R. Eds., Handbook of Pesticide Toxicology, Classes of Pesticides, vol. 3. Academic Press, New York, pp. 1125–1189

Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E and Gabrielle B., 2002a. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: a review, *Agronomie*, **22**, 21-33

Bedos C., Cellier P., Calvet R. and Barriuso E, 2002b. Occurrence of pesticides in the atmosphere in France, *Agronomie*, **22**, 35-49

Bessin R., Townsend L.H., Hartman J. and Nesmith W.C., 1997. Greenhouse pesticides and pesticide safety, University of Kentucky – College of Agriculture, <http://www.uky.edu/Aq/PAT/pat4/pat4.pdf>

Bidleman T.F., 1988. Atmospheric processes, *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 361-367

Billings W. and Bidleman T.F., 1983. High volume collection of chlorinated hydrocarbons in urban air using three solid adsorbents, Atmos. Environ., **17**, 383-391

Blais L.M., Schindler D.W., Muir D.C.G., Kimpe L.E., Donalf D.B. and Rosenberg B., 1998. Accumulation of persistent organochlorine compounds in mountains of western Canada, Nature, **395**, 585-588

Bouvier G., Blanchard O., Momas I. and Seta N., 2006. Pesticide exposure of non-occupational exposed subjects compared to some occupational exposure: A French pilot study, Sci. Total Environ., **366**, 74-91

Bossan D., Worthham H. and Masclet P., 1995. Atmospheric transport of pesticides adsorbed on aerosols I. Photodegradation in simulated atmosphere, Chemosphere, **30**, 21-29

Brealey C.J. and Lawrence D.K., 1979. High-performance liquid chromatography of pirimiphos methyl and five metabolites, J. Chromatogr., **168**, 461-469

Briand O., Millet M., Bertrand F., Clément M. and Seux R., 2002. Assessing the transfer of pesticides to the atmosphere during and after application. Development of a multiresidue method using adsorption on Tenax and thermal desorption-GC/MS, Anal. Bioanal. Chem., **374**, 848-857

Brouwer D.H., De Vreede J.A.F., Ravensberg J.C., Engel R. and Van Hemmen J.J., 1992a. Dissipation of aerosols from greenhouse air after application of pesticides using a low-volume technique. Implications for safe re-entry, Chemosphere, **24**, 1157-1169

Brouwer D.H., Brouwer R., De Mik G., Maas C.L. and Van Hemmen J.J., 1992b. Pesticides in the cultivation of carnations in greenhouses: Part I – Exposure and concomitant health risk, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., **53**, 575-581

Brouwer R., Brouwer D.H., S.C.H.A. Tijssen and van Hemmen J.J., 1992c. Pesticides in the cultivation of carnations in greenhouses: Part II – Relationship between foliar residues and exposures, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., **53**, 582-587

Brown M.A., Petreas M.X., Okamoto H.S., Mischke T.M. and Stephens R.D., 1993. Monitoring of malathion and its impurities and environmental transformation products on surfaces and in air following an aerial application, Environ. Sci. Technol., **27**, 388-397

- Buehler S., Basu I. and Hites R., 2001. A comparison of PAH, PCB and pesticide concentrations in air at two rural sites on lake superior, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 2417-2422
- Carlsen S., Spliid N. and Svensmark B., 2006a. Drift of 10 herbicides after tractor spray application.2.Primary drift droplet drift, *Chemosphere*, **64**, 778-786
- Carlsen S., Spliid N. and Svensmark B., 2006b. Drift of 10 herbicides after tractor spray application.1.Secondary drift evaporation, *Chemosphere*, **64**, 787-794
- Carson R., 1962. Silent Spring, Cambridge, MA, USA: Riverside Press
- Carter W., Luo D. and Malkina I., 1997. Investigation of the atmospheric reactions of chloropicrin, *Atmos. Environ.*, **31**, 1425-1439
- Cattani M., Cena K., Edwards J. and Pisaniello D., 2001. Potential dermal and inhalation exposure to chlorpyrifos in Australian pesticide workers, *Ann. Occup. Hyg.*, **45**, 299-308
- Caux P.-Y., Kent R.A., Fan G.T. and Stephenson G.L., 1996. Environmental fate and effects of chlorothalonil: A Canadian perspective, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **26**, 45-93
- Cessna A.J., Larney F.J., Kerr L.A. and Bullock M.S., 2006. Transport of trifluralin on wind-eroded sediment, *Can. J. Soil Sci.*, **86**, 545-554
- Charizopoulos E. and Papadopoulou-Mourkidou E., 1999. Occurrence of pesticides in rain of the Axios River Basin, Greece, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2363-2368
- Chen S.-F, Su Y.-S. and Jen J.-F., 2000. Determination of chlorothalonil with solid-phase microextraction and gas chromatography, *J. Chromatogr. A*, **896**, 105-110
- Chernyak S.M., Rice C.P. and McConnell L.L., 1996. Evidence of currently-used pesticides in air, ice, fog, seawater and surface microlayer in the Bering and Chukchi Seas, *Mar. Pollut. Bull.*, **32**, 410-419
- Chiron S., Rodriguez A. and Fernandez-Alba A., 1998. Application of gas and liquid chromatography-mass spectrometry to the evaluation of pirimiphos methyl degradation products in industrial water under ozone treatment, *J. Chromatogr. A*, **823**, 97-107

Clarke E.D., Greenhow D.T. and Adams D., 1998. Metabolism-related assays and their application to agrochemical research: reactivity of pesticides with glutathione and glutathione transferases, *Pestic. Sci.*, **54**, 385-393

Coupe R.H., Manning M.A., Foreman W.T., Goolsby D.A. and Majewski M.S., 2000. Occurrence of pesticides in rain and air in urban and agricultural areas of Mississippi, April-September 1995, *Sci. Total Environ.*, **248**, 227-240

Cousins I.T., Beck A.J. and Jones K.C., 1999. A review of the processes involved in the exchange of semi-volatile organic compounds SVOC across the air-soil interface, *Sci. Total Environ.*, **228**, 5-24

Cox C., 1997. Chlorothalonil, *J. Pest. Reform*, **17**, 14-20

Crosby D.G., 1969. Experimental approaches to pesticide photodecomposition, *Res. Rev.*, **25**, 1-12

Daines R.H., 1952. 2,4-D as an air pollutant and its effects on various species of plants, McCabe L.C. ed., Air pollution, Processes of the U.S. Technical Conference on Air Pollution: Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York

Daly G.L. and Wania F., 2005. Organic contaminants in mountains, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 385-398

Daly G.L., Lei Y.D., Teixeira C., Muir D.C.G. and Wania F., 2007. Pesticides in western Canadian Mountain air and soil, *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 6020-6025

Demel J., Buchberger W. and Malissa H., 2001. Multiclass/multiresidue method for monitoring widely applied plant protecting agents in air during field dispersion work, *J. Chromatogr. A*, **931**, 107-117

De Vreede J.A.F., Brouwer D.H., Stevenson H. and Van Hemmen J.J., 1998. Exposure and risk estimation for pesticides in high volume spraying, *Ann. Occup. Hyg.*, **42**, 151-157

Dexter A., 1993. Herbicide spray drift, A-657,
<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/weeds/a657w.htm>

Donnelly Betwoski L. and Jones T.L., 1988. Analysis of organophosphorus pesticide samples by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry, Environ. Sci. Technol., **22**, 1430-1434

Duyzer J., 2003. Pesticide concentrations in air and precipitation in the Netherlands, J. Environ. Monit., **5**, 77N-80N

ECETOC., 1981. Technical Report no. 3. An assessment of test methods for photodegradation of chemicals in the environment

Edwards J.W., Lee S.-G., Heath L.M. and Pisaniello D.L., 2007. Worker exposure and a risk assessment of malathion and fenthion used in the control of Mediterranean fruit fly in South Australia, Environ. Res., **103**, 38-45

Egea González F.J., Castro Cano M.L., Martínez Vidal J.L. and Martínez Galera M., 1997. Analyses of chlorothalonil and dichlofluanid in greenhouse air, J. AOAC Int., **80**, 1091-1097

Egea González F.J., Martínez Vidal J.L., Castro Cano M.L. and Martínez Galera M., 1998. Levels of metamidophos in air and vegetables after greenhouse applications by gas chromatography, J. Chromatogr. A., **829**, 251-258

Egea González F.J., Mena Granero A., Glass C.R., Garrido Frenich A. and Martínez Vidal J.L., 2004. Screening method for pesticides in air by gas chromatography/tandem mass spectrometry, Rapid Commun. Mass Sp., **18**, 537-543

EPA, 2003. Interim Reregistration Eligibility Decision for Atrazine,
http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/atrazine_ired.pdf

EPA, 2006. What is a pesticide?,
http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm#what_pesticide

Esteve-Turrillas F.A., Pastor A. and De la Guardia M., 2008. Evaluation of working air quality by using semipermeable membrane devices. Analysis of organophosphorus pesticides, Anal. Chim. Acta, **626**, 21-27

Eurostat, 2007a. The use of plant protection products in the European Union,
http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-76-06-669/EN/KS-76-06-669-EN.PDF

- Eurostat, 2007b. Agriculture main statistics 2005-2006,
http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-ED-07-002/EN/KS-ED-07-002-EN.PDF
- FAO, 1999. Pesticide residues in food - Toxicological evaluations,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v99pr03.htm>
- FAO, 2004. Pesticide residues in food,
<http://www.fao.org/docrep/006/Y5221E/y5221e0n.htm#bm23>
- Ferrari F., Trevisan M. and Capri E., 2003. Predicting and measuring environmental concentration of pesticides in air after soil application, *J. Environ. Qual.*, **32**, 1623-1633
- Ferrari F., Sanusi A., Millet M. and Montury M., 2004. Multiresidue method using SPME for the determination of various pesticides with different volatility in confined atmospheres, *Anal. Bioanal. Chem.*, **379**, 476-483
- Ferrari F., Karpouzas D.G., Trevisan M. and Capri E., 2005. Measuring and predicting environmental concentrations of pesticides in air after application to paddy water systems, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 2968-2975
- Foreman T.W., Majewski S.M., Goolsby A.D., Wiebe W.F. and Coupe H.R., 2000. Pesticides in the atmosphere of the Mississippi river valley, part II-air, *Sci. Total Environ.*, **248**, 213-216
- Forsyth C.S. and Chambers J.E., 1989. Activation and degradation of the phosphorothionate insecticides parathion and EPN by rat brain, *Biochem. Pharmacol.*, **38**, 1597- 1603
- Fukushima M. and Kataqi T., 2006. Photodegradation of fenitrothion and parathion in tomato epicuticular waxes, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 474-479
- Galloway T. and Handy R., 2003. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides, *Ecotoxicology*, **12**, 345-363
- Garfitt S.J., Jones K., Mason H.J. and Cocker J., 2002. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses, *Toxicol. Lett.*, **134**, 105-113
- Garrod A., Rimmer D., Robertshaw L. and Jones T., 1998. Occupational exposure through spraying remedial pesticides, *Ann. Occup. Hyg.*, **42**, 159-165

- Gaston L.A., Boquet D.J. and Bosch M.A., 2003. Pendimethalin wash-off from cover crop residues and degradation in a loessial soil, *Commun. Soil Sci. Plan.*, **34**, 2515-2527
- Gavrilescu M., 2005. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation, *Eng. Life Sci.*, **5**, 497-526
- Gil Y., Sinfort C., Brunet Y., Polveche V., and Bonicelli B., 2007. Atmospheric loss of pesticides above an artificial vineyard during air-assisted spraying, *Atmos. Environ.*, **41**, 295-297
- Gilbert M., 1976. Fate of chlorothalonil in apple foliage and fruit, *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1004-1007
- Glotfelty D.E., Leech M.M., Jersey J. and Taylor A.W., 1989. Volatilization and wind erosion of soil surface applied atrazine, simazine, alachlor and toxaphene, *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 546-551
- Glotfelty D.E., Majewski M.S. and Seiber J.N., 1990. Distribution of several organophosphorus insecticides and their oxygen analogues in a foggy atmosphere, *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 353-357
- Graham S., Hansen W., Davis K. and Perry C., 1973. Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat, *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 324-329
- Grass B., Wenclawiak B.W. and Rudel H., 1994. Influence of air velocity, air temperature and air humidity on the volatilization of trifluralin from soil, *Chemosphere*, **28**, 491-499
- Guardino X., Obiols J., Rosell M.G., Farran A. and Serra C., 1998. Determination of chlorpyrifos in air, leaves and soil from a greenhouse by gas-chromatography with nitrogen-phosphorus detection, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A.*, **823**, 91-96
- Haith D.A., Lee P.-C., Clark J.M., Roy G.R., Imboden M.J. and Walden R.R., 2002. Modeling pesticide volatilization from turf, *J. Environ. Qual.*, **31**, 724-729
- Hall F.R., Kirchner L.M. and Downer R.A., 1994. Measurement of evaporation from adjuvant solutions using a volumetric method, *Pestic. Sci.*, **40**, 17-24

Harner T., Shoeib M., Diamond M., Stern G. and Rosenberg B., 2004. Using passive air samplers to assess urban-rural trends for persistent organic pollutants. 1. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4474-4483

Hart K.M. and Pankow J.F., 1994. High-volume air sampler for particle and gas sampling. 2. Use of backup filters to correct for the adsorption of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons to the front filter, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 655-661

Hatzilazarou S.P., Charizopoulos E., Papadopoulou-Mourkidou E. and Economou A.S., 2004. Dissipation of three organochlorine and four pyrethroid pesticides sprayed in a greenhouse environment during hydroponic cultivation of gerbera, *Pest. Manag. Sci.*, **60**, 1197-1204

Hatzilazarou S.P., Charizopoulos E., Papadopoulou-Mourkidou E. and Economou A.S., 2005. Persistence of chlorpyrifos, diazinon and dimethoate sprayed in the greenhouse environment during hydroponic cultivation of Gerbera, *Agron. Sustain. Dev.*, **25**, 193-199

Helliker P.E., 1999. Evaluation of methyl parathion as a toxic air contaminant, California department of pesticide regulation

<http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf>

Hebert V.R., Hoonhout C. and Miller G., 2000. Reactivity of certain organophosphorus insecticides toward hydroxyl radicals at elevated air temperatures, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1922-1928

Herrmann J.M., Guillard C., Arguello M., Agüera A., Tejedor, Piedra L. and Fernandez-Alba A., 1999. Photocatalytic degradation of pesticide pirimiphos-methyl. Determination of the reaction pathway and identification of intermediate products by various analytical methods, *Catal. Today*, **54**, 353-367

Hiskia A.E., Atmajidou M.E. and Tsipi D., 1998. Determination of organophosphorus pesticide residues in Greek virgin olive oil by capillary gas chromatography, *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 570-574

Holland P., 1996. Glossary of terms relating to pesticides, *Pure Appl. Chem.*, **68**, 1167-1193

Hofman V. and Solseng E., 2001. Reducing spray drift, AE-1210,
<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/ageng/machine/ae1210w.htm>

Holterman H.J., Van de Zande J.C., Porskamp H.A.J. and Huijsmans J.F.M., 1997. Modeling spray drift from boom sprayer, *Comput. Electron. Agr.*, **19**, 1-22

Holvoet K., Seuntjens P. and Vanrolleghem P.A., 2007. Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale, *Ecol. Model.*, **209**, 53-64

Hunsche M., Damerow L., Schmitz-Eiberger M. and Noga G., 2007. Mancozeb wash-off from apple seedlings by simulated rainfall as affected by drying time of fungicide deposit and rain characteristics, *Crop Prot.*, **26**, 768-774

Huskes R. and Levsen K., 1997. Pesticides in rain, *Chemosphere*, **35**, 3013-3024

Inoue J., Chamberlain K. and Bromilow R., 1998. Physicochemical factors affecting the uptake by roots and translocation to shoots of amine bases in barley, *Pestic. Sci.*, **54**, 8-21

Ismail B.S. and Ngan C.K., 2005. Dissipation of chlorothalonil, chlorpyrifos, and profenofos in a Malaysian soil: A comparison between the field experiment and simulation by the PERSIST model, *J. Environ. Sci. Heal. B*, **40**, 341-353

Jensen A.R., Spliid N.H. and Svensmark B., 2007. Determination of volatilization dissipation and secondary deposition of pesticides in a field study using passive dosimeters, *Int. J. Environ. An. Ch.*, **87**, 913-926

JMPR-617, 1983. Chlorpyrifos Pesticide residues in food: 1983,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v83pr13.htm>

JMPR-731, 1985. Monographs and evaluations: Propineb Pesticide residues in food:1985 evaluations Part II Toxicology,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v93pr17.htm>

JMPR-839, 1992. Chlorothalonil Pesticide residues in food: 1992 evaluations Part II Toxicology,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v92pr05.htm>

JMPR-850, 1992. Pirimiphos-methyl Pesticide residues in food: 1992 evaluations Part II Toxicology,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v92pr16.htm>

JMPR-858, 1993. Diazinon Pesticide residues in food: 1993 evaluations Part II Toxicology,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v93pr04.htm>

JMPR-895, 1995. Fenthion Pesticide residues in food: 1995 evaluations Part II Toxicological and Environmental,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v95pr07.htm>

JMPR-902, 1995. Parathion-methyl Pesticide residues in food: 1995 evaluations Part II Toxicological and Environmental,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v95pr14.htm>

JMPR-909, 1995. Fenthion,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v95pr21.htm>

JMPR-931, 1997. Fenthion Pesticide residues in food: 1997 evaluations Part II Toxicological and Environmental,
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v097pr08.htm>

Johnson J.D., Graham G.D, Amarnath V., Amarnath K. and Valentine M.W., 1998. Release of carbon disulfide is a contributing mechanism in the axonopathy produced by N,N-diethyldithiocarbamate, *Toxicol. Appl. Pharm.*, **148**, 288-296

Jongen M.J., Engel R. and Leenheers L.H., 1991. Determination of the pesticide chlorothalonil by HPLC and UV detection for occupational exposure assessment in greenhouse carnation culture, *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 30-34

Jurewicz J., Hanke W., Makowiec-Dabrowska T., and Sobala W., 2005. Exposure to pesticides and heavy work in greenhouses during pregnancy: does it effect birth weight, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **78**, 418-426

Jurewicz J. and Hanke W., 2006. Exposure to Pesticides and Childhood Cancer Risk: Has there been any Progress in Epidemiological Studies?, *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, **19**, 152-169

Jurewicz J., Kouimintzis D., Burdorf J., Hanke W., Chatzis C. and Linos A., 2007. Occupational risk factors for work-related disorders in greenhouse workers, *J. Public. Health*, **15**, 265-277

- Kamanyire R. and Karalliedde L., 2004. Organophosphate toxicity and occupational exposure, Occup. Med., **54**, 69-75
- Kanthasamy A.G., Kitazawa M. and Anantharam V., 2005. Dieldrin-Induced Neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease pathogenesis, Neurotoxicology, **26**, 701-719
- Kaushik P. and Kaushik G., 2007. An assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides, J. Hazard. Mater., **143**, 102-111
- Kawahara J., Horikoshi R., Yamaguchi T., Kumagai K. and Yanagisawa K., 2005. Air pollution and young children's inhalation exposure to organophosphorus pesticide in an agricultural community in Japan, Environ. Int., **31**, 1123-1132
- Kawata K. and Yasuhara A., 1994. Determination of fenitrothion and diazinon in air, B. Environ. Contam. Tox., **52**, 419-424
- Kawata K., Mukai H. and Yasuhara A., 1995. Monitoring of pesticides in air by gas chromatography-mass spectrometry and the use of quartz-fibre wool and activated carbon for sampling, J. Chromatogr. A., **710**, 243-250
- Kazos E., Stalikas C., Nanos C. and Konidari C., 2007. Determination of dithiocarbamate fungicide propineb and its main metabolite propylenethiourea in airborne samples, Chemosphere, **68**, 2104-2110
- Kazos E., Nanos C., Stalikas C. and Konidari C., 2008. Simultaneous determination of chlorothalonil and its metabolite 4-hydroxychlorothalonil in greenhouse air: Dissipation process of chlorothalonil, Chemosphere, **72**, 1413-1419
- Kennedy, E.R., Fishbach, T.J., Song, R., Ellner, P.M., Shalman, S.A., 1995. Guidelines for Air Sampling and Analytical Methods Development and Evaluation, NIOSH, Technical Report, U.S. Dept. of Health and Human Services, Cincinnati, OH
- Kerem M., Bedirli N., Gurbuz N., Ekinici O., Bedirli A., Akkaya T., Sakrak O. and Pasaoglu H., 2007. Effects of acute fenthion toxicity on liver and kidney function and histology in rats, Turk. J. Med. Sci., **37**, 281-288

Kiely T., Donaldson D. and Grube A., 2004. Pesticides industry sales and usage; 2000 and 2001 market estimates: U.S. Environmental Protection Agency,
http://www.epa.gov/opppbead1/pestsales/01pestsales/market_estimates2001.pdf

Kim Y.-M., Park K., Joo G.-J., Leong E.-M., Kim J.-E. and Rhee I.-K., 2004. Glutathione-dependent biotransformation of the fungicide chlorothalonil, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 4192-4196

Kitamura S., Kadota T., Yoshida M., Jinno N. and Ohta S., 2000. Whole-body metabolism of the organophosphorus pesticide, fenthion, in goldfish, *Carassius auratus*, *Comp. Biochem. Phys. C*, **126**, 259-266

Klöppel H. and Kördel W., 1997. Pesticide volatilization and exposure of terrestrial ecosystems, *Chemosphere*, **35**, 1271-1289

Klöppfer W., 1992. Photochemical degradation of pesticides and other chemicals in the environment: a critical assessment of the state of the art, *Sci. Total Environ.*, **123-124**, 145-149

Kolpin D.W., Thurman E.M. and Linhart S.M., 1998. The environmental occurrence of herbicides: The importance of degradates in groundwater, *Arch. Environ. Con. Tox.*, **35**, 385-390

Konstantinou I.K. and Albanis T.A., 2004. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review, *Environ. Int.*, **30**, 235-248

Krebs J.R., Wilson J.D., Bradbury R.B. and Siriwardena G.M., 1999. The second silent spring?, *Nature*, **400**, 611-612

Ku Y., Chang J.-L. and Cheng S.-C., 1998. Effect of solution pH on the hydrolysis and photolysis of diazinon in aqueous solution, *Water Air Soil Pollut.*, **108**, 445-456

Kuang Z., McConnell I.L., Torrents A., Meritt D. and Tobash S., 2003. Atmospheric deposition of pesticides to an agricultural watershed of the Chesapeake Bay, *J. Environ. Qual.*, **32**, 1611-1622

Kumar Malik A. and Faubel W., 1999. Methods of analysis of dithiocarbamate pesticides: a review, *Pestic. Sci.*, **55**, 965-970

- Kwon J.-W. and Armbrust K.L., 2006. Degradation of chlorothalonil in irradiated water/sediment systems, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 3651-3657
- Lacorte S., Jeanty G., Marty J.-L. and Barceló D., 1997. Identification of fenthion and temephos and their transformation products in water by high-performance liquid chromatography with diode array detection and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A*, **777**, 99-114
- Leidy R.B., Wright C.G. and Dupree H.E. Jr, 1991. Application exposure to airborne concentrations of a termiticide formulation of chlorpyrifos, *B. Environ. Contam. Tox.*, **47**, 177-183
- Leistra M., Smelt J.H., Hilbrand Weststrate J. and Van de Berg F., 2006. Volatilization of the pesticides chlorpyrifos and fenpropimorph from a potato crop, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 96-102
- Leistra M. and Van de Berg F., 2007. Volatilization of parathion and chlorothalonil from a potato crop simulated by the PEARL model, *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 2243-2248
- Leonard J.A. and Yeary R.A., 1990. Exposure of workers using hand-held equipment during urban application of pesticides to trees and ornamental shrubs, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **51**, 606-609
- Lu F., 1995. A review of acceptable daily intakes of pesticides Assessed by WHO, *Regul. Toxicol. Pharm.*, **21**, 352-362
- Lu C. and Fenske R., 1998. Air and surface chlorpyrifos residues following residential broadcast and aerosol pesticide applications, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 1386-1390
- Lu C., Kedan G., Fisker-Andersen J., Kissel J.C. and Fenske R.A., 2004. Multipathway organophosphorus pesticide exposures of preschool children living in agricultural and non-agricultural communities, *Environ. Res.*, **96**, 283-289
- Lock E.A. and Johnson M.K., 1990. Delayed neuropathy and acute toxicity studies with pirimiphos-methyl in the hen, *J. Appl. Toxicol.*, **10**, 17-21
- López-Blanco C., Gómez-Álvarez S., Rey-Carrote M., Cancho-Grande B. and Simal-Gándara J., 2006. Determination of pesticides by solid phase extraction followed by gas-

chromatography with nitrogen-phosphorus detection in natural water and comparison with solvent drop microextraction, *Anal. Bioanal. Chem.*, **384**, 1002-1006

Lytle J.S. and Lytle T.F., 2002. Uptake and loss of chlorpyrifos and atrazine by *Juncus effusus* L. in a mesocosm study with a mixture of pesticides, *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**, 1817-1825

Machemer L.H. and Pickel M., 1994. Carbamate Insecticides. In: Tordoir, W., Maroni, M., He, F. Eds., Health surveillance of pesticide workers. A manual for occupational health professionals, *Toxicology*, **91**, 29-36

Machera K., Goumenou M., Kapetanakis E., Kalamarakis A. and Glass C.R., 2003. Determination of potential dermal and inhalation operator exposure to malathion in greenhouses with the whole body dosimetry method, *Ann. Occup. Hyg.*, **47**, 61-70

Majewski M.S. and Capel P.D., 1995. Pesticides in the atmosphere – Distribution, trends and governing factors, Ann Arbor Press, Inc., Chelsea, Michigan

Maroni M., Colosio C., Ferioli A. and Fait A., 2000. Introduction, *Toxicology*, **143**, 5-118

Martínez Vidal J.L., Egea González F.J., Glass C.R. Martínez Galera M. and Castro Cano M.L., 1997. Analysis of lindane, α - and β -endosulfan and endosulfan sulphate in greenhouse air by gas chromatography, *J. Chromatogr. A.*, **765**, 99-108

Matthews G.A., 2000. Pesticide application methods, Third Edition, Blackwell Science Ltd, pp 74-102

Medina D., Prieto G., Ettiene I., Buscema A. and Abreu de V., 1999. Persistence of organophosphorus residues in Limon River waters, *B. Environ. Contam. Tox.*, **63**, 39-44

Meikle R. W. and Youngson C. R., 1978. The hydrolysis rate of chlorpyrifos, O-O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate, and its dimethyl analog, chlorpyrifos-methyl, in dilute aqueous solution, *Arch. Environ. Con. Tox.*, **7**, 13-22

Mishara B., 2007. Prevention of Deaths from Intentional Pesticide Poisoning, *Crisis*, **28**, Supp.1 10-20

Monsó E., Magarolas R., Radon K., Danuser B., Iversen M., Weber C., Opravil U., Donham K.J. and Nowak D., 2000. Respiratory symptoms of obstructive lung disease in European crop farmers, Am. J. Resp. Crit. Care, **162**, 1246-1250

Monsó E., Schenker M., Radon K., Riu E., Magarolas R., McCurdy S., Danuser B., Iversen M., Saiki C. and Nowak D., 2003. Region-related risk factors for respiratory symptoms in European and Californian farmers, Eur. Respir. J., **21**, 323-331

Moody R.P. and Nadeau B., 1994. *In vitro* dermal absorption of pesticides: IV. *In vivo* and *in vitro* comparison with the organophosphorus insecticide diazinon in rat, guinea pig, pig, human and tissue-cultured skin, Toxicol. In Vitro, **8**, 1213-1218

Morabito P.L., Ormand J.R. and Nestrick T.J., 1990. Dynamic vapor generator for moderate and low volatility compounds, Chemosphere, **21**, 991-997

Morgan M. K, Stout D. M., Jones P. A. and Barr D. B., 2008. An observational study of the potential for human exposures to pet-borne diazinon residues following lawn applications, Environ. Res., **107**, 336– 342

Mortland M. M. and Raman K. V., 1967. Catalytic hydrolysis of some organic phosphate pesticides by copper (II), J. Agric. Food Chem., **15**, 163-167

Motelay-Massei A., Harner T., Shoeib M., Diamond M., Stern G. and Rosenberg B., 2005. Using passive air samplers to assess urban-rural trends for persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons. 2. Seasonal trends for PAHs, PCBs and organochlorine pesticides, Environ. Sci. Technol., **39**, 5763-5773

Mukherjee I. and Gopal M., 1995. Methodology for the estimation of chlorothalonil and its metabolite in mustard crop by gas liquid chromatography, Fresenius J. Anal. Chem., **351**, 590-591

Muller T., Maurer T. and Kubiak R., 1997. Volatilization and metabolism of pesticides under simulated outdoor conditions, Environ. Monit. Assess., **44**, 541-547

Muttray A., Bäcker G., Jung D., Hill G. and Letzel S., 2006. External and internal exposure of winegrowers spraying methyl parathion, Toxicol. Lett., **162**, 219-224

Nasreddine L. and Parent-Massin D., 2002. Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry?, Toxicol. Lett., **127**, 29-41

Nesheim N., Fishel F., and Mossler M., 2005. Toxicity of pesticides, University of Florida – IFAS extension, PI-13

Nicholson K.W., 1988. A review of particle resuspension, Atmos. Environ., **22**, 2639-2651

Nilsson U., Nybrant T., Papantoni M. and Mathiasson L., 1996. Long-term studies of fungicide concentrations in greenhouses. 2. Fungicide concentrations in air and on leaves after different exposure times and under different climate conditions, J. Agric. Food Chem., **44**, 2878-2884

NPIC, 2007. National Pesticide Information Center - Organophosphate Insecticides, Chapter 4, pp 34-47,
http://npic.orst.edu/RMPP/rmpp_ch4.pdf

O' Hara S., Wiggs G., Mamedov B., Davidson G. and Hubbard R., 2000. Exposure to airborne dust contaminated with pesticide in the Aral Sea region, The Lancet, **355**, 627-628

O'Neill H.J., 1991. Transport of the fungicide chlorothalonil from its operational use on a pond ecosystem, B. Environ. Contam. Tox., **46**, 822-828

Ohki A., Kuboyama N., Koizumi K., Tanaka A., Sato Y., Kohno H., Boger P. and Wakabayashi K., 1999. Mode of action of novel 2-benzylamino-4-methyl-6-trifluoromethyl-1,3,5-triazine herbicides: Inhibition of photosynthetic electron transport and binding studies, J. Agric. Food Chem., **47**, 4398-4402

OSHA – Burright D., Chan Y., Eide M., Elskamp C., Hendricks W and Rose M.C., 1999. Evaluation guidelines for air sampling methods utilizing chromatographic analysis,
<http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/chromguide/chromguide.pdf>

Pagliuca G., Serraino A., Gazzotti T., Zironi E., Borsari A. and Rosmini R., 2006. Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk, J. Dairy. Res., **73**, 340-344

Papis E., Bernardini G., Gornati R. and Prati M., 2006. Triadimefon causes branchial arch malformations in *Xenopus laevis* embryos, Environ. Sci. Pollut. R., **13**, 251-255

Park J.W., Lee S.E., Rhee I.K. and Kim J.E., 2002. Transformation of the fungicide chlorothalonil by Fenton reagent, J. Agric. Food Chem., **50**, 7570-7575

- Paulsen U., Sogaard J. and Andersen K.E., 1997. Occupational dermatitis on Danish gardeners and greenhouse workers I. Prevalence and possible risk factors, Contact Dermatitis, **37**, 263-270
- Peñuela G.A. and Barceló D., 1998. Photodegradation and stability of chlorothalonil in water studied by solid-phase extraction, followed by gas chromatographic techniques, J. Chromatogr. A., **823**, 81-90
- Pfafflin J. and Ziegler E., 2006. Encyclopaedia of Environmental Science and Engineering, 5th Edition, CRC Press, Taylor and Francis Group, pp 956-971
- Plimmer J., 1990. Pesticide loss to the atmosphere, Am. J. Ind. Med., **18**, 461-466
- Potter T.L., Wauchope R.D. and Culbreath A.K., 2001. Accumulation and decay of chlorothalonil and selected metabolites in surface soil following foliar application to peanuts, Environ. Sci. Technol., **35**, 2634-2639
- Putnam R.A., Nelson J.O. and Marshall Clark J., 2003. The persistence and degradation of chlorothalonil and chlorpyrifos in a cranberry bog, J. Agric. Food Chem., **51**, 170-176
- Racke K., Skidmore M., Hamilton D., Unsworth J., Miyamoto J. and Cohem S., 1997. Pesticide fate in tropical soils, Pure Appl. Chem., **69**, 1349-1371
- Raina R. and Sun L., 2008. Trace level determination of selected organophosphorus pesticides and their degradation products in environmental air samples by liquid chromatography-positive ion electrospray tandem mass spectrometry, J. Environ. Sci. Health Part B, **43**, 323-332
- Rakitsky V.N., Koblyakov V.A. and Turusov V.S., 2000. Nongenotoxic epigenetic carcinogens: Pesticides as an example. A critical review, Teratog. Carcinog. Mutagen., **20**, 229-240
- Ramwell C.T., Johnson P.D., Boxall A.B.A. and Rimmer D.A., 2004. Pesticide residues on the external surfaces of field-crop sprayers: environmental impact, Pest. Manag. Sci., **60**, 795-802
- Ravier I., Haouisee E., Clément M M, René S. and Briand O., 2005. Field experiments for the evaluation of pesticide spray-drift on arable crops, Pest. Manag. Sci., **61**, 728-736

- Reichenberger S., Bach M., Skitschak A. and Frede H., 2007. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground and surface water and their effectiveness; A review, *Sci. Total Environ.*, **384**, 1-35
- Richardson M. and Gangolli S., 1997. The dictionary of substances and their effects, The Royal Society of Chemistry
- Roberts D. R., Larry L. L., Hsueh P. and Legters L., 1997. DDT, global strategies, and a malaria control crisis in South America, *Emerg. Infect. Dis.*, **3**, 295-302
- Rodriguez P. and Permanyer C., 1991. Confirmation method for the determination of some organophosphorus and organochlorine pesticides in cocoa beans by gas-chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr.*, **562**, 547-553
- Rowe D.E., Malone S. and Yates Q.L., 2000. Automated greenhouse spray system for increased safety and flexibility, *Crop Sci.*, **40**, 1176-1179
- Rüdel H., 1997. Volatilization of pesticides from soil and plant surfaces, *Chemosphere*, **35**, 143-152
- Sakkas V., Konstantinou I. and Albanis T., 2006. Photochemical fate of organic booster biocides in the aquatic environment, *Handbook of Environmental Chemistry*, **5**, 171-200
- Salau J.S., Alonso R., Batllo G. and Barcelo D., 1994. Application of solid-phase disc extraction followed by gas and liquid chromatography for the simultaneous determination of the fungicides: captan, captafol, carbendazim, chlorothalonil, ethirimol, folpet, metalaxyl and viclozolin in environmental waters, *Anal. Chim. Acta*, **293**, 109-117
- Salleh S.H., Saito Y., Kiso Y. and Jinno K., 2001. Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase extraction/high performance liquid chromatography technique, *Anal. Chim. Acta*, **433**, 207-215
- Sanusi A., Millet M., Mirabel P. and Wortham H., 1999. Gas-particle partitioning of pesticides in atmospheric samples, *Atmos. Environ.*, **33**, 4941-4951
- Sauret N., Millet M., Herckes P., Mirabel P. and Wortham H., 2000. Analytical method using gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry for the determination of s-triazine and their metabolites in the atmosphere, *Environ. Pollut.*, **110**, 243-252

- Scheyer A., Morville S., Mirabel P. and Millet M., 2007. Variability of atmospheric pesticide concentrations between urban and rural areas during intensive pesticide application, Atmos. Environ., **41**, 3604-3618
- Schenk G., Rothweiler H. and Schlatter C., 1997. Human exposure to airborne pesticides in homes treated with wood preservatives, Indoor Air, **7**, 135-142
- Scholtz M.T. and Bidleman T.F., 2006. Modeling of the long term fate of pesticide residues in agricultural soils and their surface exchange with the atmosphere: Part I. Model description and evaluation, Sci. Total Environ., **368**, 823-838
- Schwartz J. and Neas L.M., 2000. Fine particles are more strongly associated than coarse particles with acute respiratory health effects in schoolchildren, Epidemiology, **11**, 6-10
- Seethapathy S., Gorecki T. and Li X., 2008, Passive sampling in environmental analysis, J. Chromatogr. A, **1184**, 234-253
- Seiber J.N, Glotfelty D.E., Lucas A.D., McChesney M., Sagebiel J.C. and Wehner T.A., 1990. A multiresidue method by high performance liquid chromatography-based fractionation and gas chromatographic determination of trace levels of pesticides in air and water, Arch. Environ. Con. Tox., **19**, 583-592
- Seiber J.N, Wilson B.W. and McChesney M., 1993. Air and fog deposition residues of four organophosphate insecticides used on dormant orchards in the San Joaquin Valley, California, Environ. Sci. Technol., **27**, 2236-2243
- Segura Carretero A., Cruces-Blanco C., Pérez Durán S. and Fernández Gutiérrez, 2003. Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction, J. Chromatogr. A, **1003**, 189-195
- Sicbaldi F., Sacchi G.A., Trevisan M. and Del Re A.A.M., 1997. Root uptake and xylem translocation of pesticides from different chemical classes, Pestic. Sci., **50**, 111-119
- Siebers J. and Mattusch P., 1996. Determination of airborne residues in greenhouses after application of pesticides, Chemosphere, **33**, 1597-1607

- Silvia Díaz-Cruz M. and Barceló D., 2006. Highly selective sample preparation and gas chromatographic-mass spectrometric analysis of chlorpyrifos, diazinon and their major metabolites in sludge and sludge-fertilized agricultural soils, J. Chromatogr. A, **1132**, 21-27
- Simonich S.L. and Hites R.A., 1995. Global distribution of persistent organochlorine compounds, Science, **269**, 1851-1854
- Singh B.K. and Walker A., 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds, FEMS Microbiol. Rev., **30**, 428–471
- Slinn W.G.N., Hasse L., Kicks B.B., Hogan A.W., Lal D., Liss P.S., Munnich K.O., Sehmel G.A. and Vittori O., 1978. Some aspects of the transfer of atmospheric trace constituents past the air-sea interface, Atmos. Environ., **12**, 2055-2087
- Soleas G.J., Yan J., Hom K. and Goldberg D.M., 2000. Multiresidue analysis of seventeen pesticides in wine by gas chromatography with mass-selective detection, J. Chromatogr. A, **882**, 205-212
- Solomon C., Poole J., Palmer K., Peveler R. and Coggon D., 2007. Acute symptoms following work with pesticides, Occup. Med., **57**, 505-511
- Soltaninejad K., Faryadi M and Sardari F., 2007. Acute pesticide poisoning related deaths in Tehran during the period 2003–2004, J. For. Leg. Med., **14**, 352-354
- Spencer J.R., Bissell S.R., Sanborn J.R., Schneider F.A., Margetich S.S. and Krieger R.I., 1991. Chlorothalonil Exposure of Workers on Mechanical Tomato Harvesters. Toxicol. Lett., **55**, 99-107
- Stainier C., Destain M.-F., Schiffers B. and Lebeau F., 2006. Droplet size spectra and drift effect of phenmedipham formulations and four adjuvants mixtures, Crop Prot., **25**, 1238-1243
- Stamper J.H., Nigg H.N., Mahon W.D., Nielsen A.P. and Royer M.D., 1989a. Pesticide exposure to greenhouse handgunners, Arch. Environ. Con. Tox., **18**, 515-529
- Stamper J.H., Nigg H.N., Daniel Mahon W., Nielsen A.P. and Royer M.D., 1989b, Applicator exposure to fluvalinate, chlorpyrifos, captan and chlorothalonil in Florida ornamentals, J. Agric. Food Chem., **37**, 240-244

Stevens P.J.G. and Baker E.A., 1987. Factors affecting the foliar absorption and redistribution of pesticides. 1. Properties of leaf surfaces and their interactions with spray droplets, *Pestic. Sci.*, **19**, 265-281

Stevens P.J.G., Baker E.A. and Anderson N.H., 1988. Factors affecting the foliar absorption and redistribution of pesticides. 2. Physicochemical properties of the active ingredient and the role of surfactant, *Pestic. Sci.*, **24**, 31-53

Storm J., Rozman K. and Doull J., 2000. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase, *Toxicology*, **150**, 1-29

Stout D.M. and Mason M.A., 2003. The distribution of chlorpyrifos following a crack and crevice type application in the US EPA Indoor Air Quality Research House, *Atmos. Environ.*, **37**, 5539-5549

Syngenta, προσωπικά δεδομένα

Szalkowski M.B. and Stallard D.E., 1977. Effect of pH on the hydrolysis of chlorothalonil, *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 208-210

Swami K., Narang A.S. and Narang R.S., 1997. Determination of chlordane and chlorpyrifos in ambient air at low nanogram-per-cubic meter levels by supercritical fluid extraction, *J. AOAC Int.*, **80**, 74-77

Tandon P., Padilla S., Barone Jr.S., Pope C.N. and Tilson H.A., 1994. Fenthion produces a persistent decrease in muscarinic receptor function in the adult rat retina, *Toxicol. Appl. Pharm.*, **125**, 271-280

Thapar S., Bhushan R. and Mathur R.P., 1994. Simultaneous determination of a mixture of organophosphorus and carbamate pesticides by high performance liquid chromatography, *Biomed. Chromatogr.*, **8**, 153-157

Tian Y., Ishikawa H., Yamaguchi T., Yamauchi T. and Yokoyama K., 2005. Teratogenicity and developmental toxicity of chlorpyrifos: Maternal exposure during organogenesis in mice, *Reprod. Toxicol.*, **20**, 267-271

Tollbäck J., Tamburro D., Crescenzi C. and Carlsson H., 2006. Air sampling with Empore solid phase extraction membranes and online single-channel desorption/liquid chromatography/mass spectrometry analysis: Determination of volatile and semi-volatile organophosphate esters, *J. Chromatogr. A*, **1129**, 1-8

Tolosa I., Readman J.W. and Mee L.D., 1996. Comparison of the performance of solid-phase extraction techniques in recovering organophosphorus and organochlorine compounds from water, *J. Chromatogr. A*, **725**, 93-106

Tomlin C.D.S., 1997. The pesticide manual, 11th Edition, British Council Crop Protection

Tordoir, W. and Van Sittert, N.J., 1994. Organochlorines. In: Tordoir, W., Maroni, M., He, F. Eds., Health surveillance of pesticide workers. A manual for occupational health professionals, *Toxicology*, **91**, 51-57

Tsakirakis A. and Machera K., 2007. Determination of fenthion and oxidation products in personal protection equipment by gas chromatography, *J. Chromatogr. A*, **1171**, 98-103

Tsatsakis A.M., Aguridakis P., Michalodimitrakis M.N., Tsakalov A.K., Alegakis A.K., Koumantakis E. and Troulakis G., 1996. Experiences with acute organophosphate poisonings in Crete, *Vet. Hum. Toxicol.*, **38**, 101-107

Tsiropoulos N.G., Bakeas E.B., Raptis V. and Batistatou S.S., 2006. Evaluation of solid sorbents for the determination of fenhexamid, metalaxyl-M, pyrimethanil, malathion and myclobutanil residues in air samples. Application to monitoring malathion and fenhexamid dissipation in greenhouse air using C-18 or Supelpak-2 for sampling, *Anal. Chim. Acta*, **573-574**, 209-215

Tsoutsi C.S. and Albanis T.A., 2004. Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil, *Int. J. Environ. An. Ch.*, **84**, 3-13

Tsoutsi C., Konstantinou I., Hela D. and Albanis T., 2006. Screening method for organophosphorus insecticides and their metabolites in olive oil samples based on headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography, *Anal. Chim. Acta*, **573-574**, 216-222

Unsworth B.J., Wauchope D.R., Klein W.A., Dorn E., Zeeh B., Yeh M.S., Akerblom M., Racke D.K and Rubin B., 1999. Significance of the long range transport of pesticides in the atmosphere, Pure Appl. Chem., **71**, 1359-1383

Uzunhisacikli M., Kalender Y., Dirican K., Kalender S., Ogutcu A. and Buyukkomurcu F., 2007. Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E, Pestic. Biochem. Phys., **87**, 115-122

Valentine W., Amarnath V., Amarnath K., Rimmele F. and Graham D., 1995. Carbon disulfide mediated protein cross-linking by N,N-Diethyldithiocarbamate, Chem. Res. Toxicol., **8**, 96-102

Van den Berg F., Kubiak R., Benjey G.W., Majewski S.M., Yates R.S., Reeves L.G, Smelt H.J. and Van der Linden A.M.A., 1999. Emission of pesticides into the air, Water Air Soil Pollut., **115**, 195-218

Van der Pas L.J.T., Matser A.M., Boesten J.J.T.I. and Leistra M., 1999. Behaviour of metamitron and hydroxyl-chlorothalonil in low-humic sandy soils, Pestic. Sci., **55**, 923-934

Van Doorn C., Vink C. and Van Der Poll J. M., 1995. Gas Chromatographic Determination of Chlorothalonil and its metabolite 4-Hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile HTI in water, Chromatographia, **40**, 458-462

Van Lishaut H. and Schwack W., 2000. Selective trace determination of dithiocarbamate fungicides in fruits and vegetables by reversed-phase ion-pair liquid chromatography with ultraviolet and electrochemical detection, J. AOAC Int., **83**, 720-727

Van Pul W.A.J., De Leeuw F.A.A.M, Jaarsveld J., Van der Gaag M.A. and Sliggers C.J., 1998. The potential for long-range transboundary atmospheric transport, Chemosphere, **37**, 113-141

Van Pul W.A.J., Bidleman T.F., Brorström-Lundén E., Builtjes P.J.H., Dutchhak S., Duyzer J.H., Gryning S.E., Jones K.C., Van Dijk H.F.G. and Jaarsveld J., 1999. Atmospheric transport and deposition of pesticides: an assessment of current knowledge, Water Air Soil Pollut., **115**, 245-256

Vittozzi L., Fabrizi L., Di Consiglio E. and Testai E., 2001. Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans, Environ. Int., **26**, 125-129

Vougiouklakis T., Boumba V. and Mitselou A., 2006. Fatal poisoning in the region of Epirus, Greece, during the period 1998–2004, *J. Clin. Forensic Med.*, **13**, 321-325

Voulvoulis N., Scrimshaw M.D. and Lester J.N., 1999. Analytical methods for the determination of 9 antifouling paint booster biocides in estuarine water samples, *Chemosphere*, **38**, 3503-3516

Waite D.T., Bailey P., Sproull J.F., Quiring D.V., Chau D.F., Bailey J. and Cessna A.J., 2005. Atmospheric concentrations and dry and wet deposits of some herbicides currently used on the Canadian prairies, *Chemosphere*, **58**, 693-703

Waldman M. and Shevah Y., 1993. Biodegradation and leaching of pollutants: monitoring aspects, *Pure Appl. Chem.*, **65**, 1595-1603

Walia S., Dureja P. and Mukerjee S.K., 1988. New photodegradation products of chlorpyrifos and their detection on glass, soil and leaf surfaces, *Arch. Environ. Con. Tox.*, **17**, 183-188

Walker C.H., 2001. Organic pollutants an ecotoxicological perspective, London: Taylor and Francis, pp 177-203

Wang C. and Liu Z., 2007. Foliar uptake of pesticides – Present status and future challenge, *Pestic. Biochem. Phys.*, **87**, 1-8

Wania F., Hoff J.T., Jia C.Q. and Mackay D., 1998. The effects of snow and ice on the environmental behaviour of hydrophobic organic chemicals, *Environ. Pollut.*, **102**, 25-41

Watanabe T., 1998. Determination of the concentration of pesticides in atmosphere at high altitudes after aerial application, *B. Environ. Contam. Tox.*, **60**, 669-676

White L.M., Ernst W.R., Julien G., Garron C. and Leger M., 2006. Ambient air concentrations of pesticides used in potato cultivation in Prince Edward Island, Canada, *Pest. Manag. Sci.*, **62**, 126-136

Whyatt R.M., Barr D.B., Camann D.E., Kinney P.L., Barr J.R., Andrews H.F., Hoepner L.A., Garfinkel R., Hazi Y., Reyes A., Ramirez J., Cosme Y. and Perera F.P., 2003. Contemporary-use pesticides in personal air samples during pregnancy and blood samples at delivery among urban minority mothers and newborns, *Environ. Health Persp.*, **111**, 749-756

Whyatt R.M., Rauh V., Barr D.B., Camann D.E., Andrews H.F., Garfinkel R., Hoepner L.A., Diaz D., Dietrich J., Reyes A., Tang D., Kinney P.L. and Perera F.P., 2004. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort, *Environ. Health Persp.*, **112**, 1125-1132

WHO, 1979. Diazinon,
http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest45_e.htm

WHO, 1986. Environmental Health Criteria 63, Organophosphorus insecticides: a general introduction,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc63.htm>

WHO, 1988. Environmental Health Criteria 78, Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea and propylenethiourea: A general introduction,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc78.htm>

WHO, 1989. Environmental Health Criteria 82, Cypermethrin,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc82.htm>

WHO, 1992. Environmental Health Criteria 142, Alpha - Cypermethrin,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc142.htm>

WHO, 1996. Environmental Health Criteria 183, Chlorothalonil,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc183.htm#SubSectionNumber:1.1.1>

WHO, 1998. Environmental Health Criteria 198, Diazinon,
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc198.htm#SectionNumber:4.2>

WHO, 2005. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004, International Programme on Chemical Safety,
<http://www.inchem.org/documents/pds/pds/other/class.pdf>

Wikipedia – The free encyclopedia, 2007a. Pesticide,
<http://en.wikipedia.org/wiki/Pesticides>

Wikipedia – The free encyclopedia, 2007b. Rotenone,
<http://en.wikipedia.org/wiki/Rotenone>

Wikipedia – The free encyclopedia, 2007c. Greenhouse,
http://en.wikipedia.org/wiki/Greenhouse#_note-2

Wilson P., Whitwell T. and Klaine S., 1999. Phytotoxicity, uptake and distribution of [^{14}C] simazine in *canna hybrida*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 1462-1468

Wolters A., Linnemann V., Herbst M., Klein M., Schäffer A. and Vereecken H., 2003. Pesticide volatilization from soil: Measurements versus predictions of European registration models, *J. Environ. Qual.*, **32**, 1183-1193

Wright C.G., Leidy R.B. and Dupree H.E. Jr, 1988. Chlorpyrifos in the ambient air of houses treated for termites, *B. Environ. Contam. Tox.*, **40**, 561-568

Wright C.G., Leidy R.B. and Dupree H.E. Jr, 1994. Chlorpyrifos in the air and soil of houses eight years after its application for termite control, *B. Environ. Contam. Tox.*, **52**, 131-134

Wu L., Liu G., Yates M.V., Green R.L., Pacheco P., Gan J. and Yates S.R., 2002. Environmental fate of metalaxyl and chlorothalonil applied to a bentgrass putting green under southern California climatic conditions, *Pest. Manag. Sci.*, **58**, 335-342

Yates W.E. and Akesson N.B., 1973. Reducing pesticide chemical drift. In *Pesticide Formulations*, edited by Van Valkenburg J.W. New York: Marcel Dekker, pp. 275–341

Valkenburg W. ed., 1973. *Pesticide Formulations*: Marcel Dekker, New York, pp 47-60

Yao Y., Tuduri L., Harner T., Blanchard P., Waite D., Poissant L., Murphy C., Belzer W., Aulagnier F, Li Y.-F. and Sverko E., 2006. Spatial temporal distribution of pesticide air concentrations in Canadian agricultural regions, *Atmos. Environ.*, **40**, 4339-4351

Yaron B., Gerstl Z. and Spencer W.F., 1985. *Advances in soil science*, Vol 3. Springer Verlag, NY, pp 122-211

Younglai E.V., Wu Y.J. and Foster W.G., 2006. Do insecticides have adverse effects on reproduction?, *Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.*, **6**, 45-56

Zhang Y. and Wang D., 2007. Emission, distribution and leaching of methyl isothiocyanate and chloropicrin under different surface containments, *Chemosphere*, **68**, 445-454

Zuskin E., Schachter E. and Mustajbegovic J., 1993. Respiratory function in greenhouse workers, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **64**, 521-526

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αλμπάνης Τ., 2005. Ρύπανση και τεχνολογία προστασίας περιβάλλοντος, Γ έκδοση, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Αλμπάνης Τ., 1997. Φυτοφάρμακα, χρήση, επιπτώσεις και νομοθεσία, Ιωάννινα

Βαλαβανίδης Θ. και Ευσταθίου Κ., 2006. Η χημική ένωση του μήνα – DDT, http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_ddt.htm#05

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2003. Απόφαση 2003/166/EK: Απόφαση της επιτροπής της 10ης Μαρτίου 2003 για τη μη καταχώρηση της ουσίας parathion-methyl στο παράρτημα Ι της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου και την απόσυρση των εγκρίσεων για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που περιέχουν αυτή τη δραστική ουσία.

Ε.Σ.Υ.- Εθνική Στατιστική Υπηρεσία, 2007. Δελτίο τύπου Προσωρινά αποτελέσματα της ετήσιας γεωργικής στατιστικής έρευνας εκτάσεις-παραγωγή, http://www.statistics.gr/gr_tables/S400_SPR_8_DT_AN_06_T.pdf

Κατσαρός Ν., 2002. Αέρια πολέμου και μέθοδοι εξουδετέρωσής τους, *Χημικά Χρονικά*, **1**, 8-10

Κατσαρός Ν., 2003. Αέρια νεύρων χημικού πολέμου: σύνθεση και χαρακτηριστικά τους, *Χημικά Χρονικά*, **1**, 20-24

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2003. Κώδικες Ορθής Γεωργικής Πρακτικής, <http://www.minagric.gr>

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΕΡΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια η παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στον αέρα των θερμοκηπίων απασχολεί τους επιστήμονες εξαιτίας του πιθανού κινδύνου για την υγεία των εργαζομένων σε αυτά. Η παρούσα διατριβή περιλαμβάνει την ανάπτυξη μεθόδου δειγματοληψίας και ταυτόχρονου προσδιορισμού του μυκητοκτόνου chlorothalonil και του κύριου μεταβολίτη του 4-hydroxychlorothalonil καθώς επίσης και την ανάπτυξη μεθόδου ταυτόχρονης δειγματοληψίας και ταυτόχρονου προσδιορισμού των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos στον αέρα θερμοκηπίων.

Στην περίπτωση του chlorothalonil και του μεταβολίτη του αναπτύσσεται μέθοδος προσδιορισμού με τη χρήση μιας βελτιστοποιημένης RP-HPLC μεθόδου βαθμωτής έκλουσης. Για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ανάλυσης, μελετώνται διάφορες παράμετροι, όπως η σύσταση και η αναλογία των διαλυτών της κινητής φάσης καθώς επίσης δοκιμάζονται διάφορες χρωματογραφικές στήλες. Τελικά, καλός διαχωρισμός των δύο ουσιών επιτυγχάνεται με στήλη Kromasil C8 και κινητή φάση ακετονιτρίλιο και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0), σε χρονικό διάστημα μικρότερο των 20 min. Η δειγματοληψία των μελετώμενων ουσιών πραγματοποιείται με δειγματολήπτη, ο οποίος αποτελείται από μικροφίλτρο υαλονημάτων, για τη συλλογή των ουσιών, που βρίσκονται προσροφημένες στα αιωρούμενα σωματίδια και μικροστήλη συνδεδεμένη σε σειρά, η οποία περιέχει πυριτία (silica gel) για τη συλλογή τους από την αέρια φάση. Από τα πειραματικά δεδομένα διαπιστώνεται ότι, όταν διέρχεται αέρας από εμβολισμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων, ένα ποσοστό του chlorothalonil εξατμίζεται, το οποίο όμως κατακρατείται ποσοτικά από τα φίλτρα silica gel. Επομένως, με το συγκεκριμένο δειγματολήπτη μπορεί να μην είναι εφικτός ο διαχωρισμός των αιωρούμενων σωματιδίων και της αέριας φάσης, είναι όμως δυνατή η ποσοτική κατακράτηση του chlorothalonil σε αυτόν. Αντίθετα, για το μεταβολίτη 4-hydroxychlorothalonil δεν παρατηρείται εξάτμιση από τα φίλτρα υαλονημάτων. Μελέτη της σταθερότητας των συγκεκριμένων ουσιών στα φίλτρα δείχνει ότι και οι δύο ουσίες είναι σταθερές τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους +4 °C για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 15 ημερών.

Η καμπύλη αναφοράς καλύπτει μια ευρεία περιοχή συγκεντρώσεων τόσο για το chlorothalonil όσο και για το 4-hydroxychlorothalonil (0,01-10,00 mg l⁻¹). Τα όρια

ποσοτικοποίησης υπολογίζονται σε 8,4 και 19,6 ng m⁻³ για το chlorothalonil και το 4-hydroxychlorothalonil, αντίστοιχα.

Η δυνατότητα εφαρμογής της προτεινόμενη μεθόδου ελέγχεται με την ανάλυση του chlorothalonil και του 4-hydroxychlorothalonil σε δείγματα αέρα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο. Το chlorothalonil ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα που λήφθηκαν στις 21 ημέρες που διήρκεσε η δειγματοληψία τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση ενώ ο μεταβολίτης 4-hydroxychlorothalonil ανιχνεύτηκε μόνο στα αιωρούμενα σωματίδια τις πρώτες τέσσερις ημέρες της δειγματοληψίας.

Στο δεύτερο τμήμα του πειραματικού μέρους, αναπτύσσεται μέθοδος ταυτόχρονης δειγματοληψίας και ταυτόχρονου προσδιορισμού των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos, η οποία εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό τους σε αέρια δείγματα, τα οποία λαμβάνονται από θερμοκήπιο μετά από τον ψεκασμό των εμπορικών τους σκευασμάτων. Ο προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται με τη χρήση μιας βελτιστοποιημένης RP-HPLC μεθόδου ισοκρατικής έκλουσης. Επιτυχής διαχωρισμός των μελετώμενων φυτοφαρμάκων επιτυγχάνεται σε λιγότερο από 17 λεπτά με χρήση στήλης Hypesil BDS C18 και κινητή φάση ακετονιτρίλιο και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης 10 mM (pH=5,0) σε αναλογία 60:40 v/v. Ο προτεινόμενος δειγματολήπτης απαρτίζεται από μικροφίλτρο υαλονημάτων για τη συλλογή των φυτοφαρμάκων, που βρίσκονται προσροφημένα στα αιωρούμενα σωματίδια και από μικροστήλη, η οποία περιέχει XAD-2 για τη συλλογή τους από την αέρια φάση. Από πειράματα, τα οποία πραγματοποιήθηκαν για να μελετηθεί η ικανότητα κατακράτησης των φυτοφαρμάκων σε εμβολιασμένα μικροφίλτρα υαλονημάτων όταν διέρχεται αέρας από αυτά, διαπιστώνεται ότι τα φυτοφάρμακα diazinon και pirimiphos-methyl κατακρατούνται ποσοτικά από τα μικροφίλτρα υαλονημάτων, ενώ τα fenthion, parathion-methyl και chlorpyrifos εξατμίζονται μερικώς. Όμως, η ποσότητα των fenthion, parathion-methyl και chlorpyrifos, που εξατμίζεται κατά τη διέλευση αέρα, κατακρατείται ποσοτικά από τα φίλτρα XAD-2. Επομένως, μόνο για τα φυτοφάρμακα diazinon και pirimiphos-methyl είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των φυτοφαρμάκων των αιωρούμενων σωματιδίων και της αέριας φάσης, ενώ στην περίπτωση των fenthion, parathion-methyl και chlorpyrifos προσδιορίζεται η συνολική ποσότητα που βρίσκεται στην ατμόσφαιρα του θερμοκηπίου. Τα μελετώμενα φυτοφάρμακα αποδεικνύεται ότι παραμένουν σταθερά σε εμβολιασμένα φίλτρα για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 15 ημερών, τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους +4 °C.

Η καμπύλη αναφοράς όλων των μελετώμενων φυτοφαρμάκων παρουσιάζει γραμμικότητα σε ευρεία περιοχή συγκεντρώσεων (parathion-methyl 0,05-10,70 µg/ml, fenthion 0,05-10,90 µg/ml, diazinon 0,12-24,00 µg/ml, pirimiphos-methyl 0,03-5,50 µg/ml και chlorpyrifos 0,08-15,50 mg/l). Τα όρια ποσοτικοποίησης υπολογίζονται ίσα με 49,2, 69,6, 147,2, 63,2 και

114,8 ng m⁻³ για το parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και το chlorpyrifos, αντίστοιχα.

Η εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου πραγματοποιείται σε θερμοκήπιο, από το οποίο λαμβάνονται δείγματα αέρα για 21 ημέρες. Στα ληφθέντα δείγματα, το parathion-methyl ανιχνεύτηκε μόνο την πρώτη ημέρα τόσο στα αιωρούμενα σωματίδια όσο και στην αέρια φάση, το fenthion δεν ανιχνεύεται σε κανένα δείγμα, πιθανώς εξαιτίας του μικρού χρόνου ημιζωής του στην ατμόσφαιρα, το pirimiphos-methyl ανιχνεύεται μέχρι και την 8^η ημέρα της μελέτης μόνο στα αιωρούμενα σωματίδια, ενώ το chlorpyrifos, το οποίο κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας ανιχνεύεται και στα αιωρούμενα σωματίδια και στην αέρια φάση, τις επόμενες ημέρες και μέχρι τη 14^η ημέρα ανιχνεύεται μόνο στην αέρια φάση. Τέλος, το diazinon ανιχνεύεται καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και στα αιωρούμενα σωματίδια και στην αέρια φάση.

DEVELOPMENT OF SAMPLING METHODS AND ANALYSIS OF SELECTED PESTICIDES IN GREENHOUSE AIR

SUMMARY

In recent years, the presence of pesticide residues in the air of greenhouses has been a subject of great concern in the scientific community due to risk to the health of applicants. The present PhD thesis deals with the development of methods for the sampling and simultaneous determination of the fungicide chlorothalonil and its main metabolite 4-hydroxychlorothalonil as well as the organophosphorous insecticides parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos in the air of greenhouses.

Chlorothalonil and its metabolite are determined using an optimized RP-HPLC with gradient elution. Several procedural parameters are studied including the composition and proportion of solvents in the mobile phase and chromatographic material. Acceptable resolution was attained using a Kromasil C8 chromatographic column and mobile phase acetonitrile and buffer phosphate 10 mM (pH 5.0), in less than 20 min. The sampling of the analytes under study is carried out on a glass fiber microfilter for the discrimination of the airborne fraction that is adsorbed on the particulate matter, connected in series with a microcolumn which contains silica gel for the collection of the analytes in gas phase. From the data obtained it is concluded that when the sampled air passes through spiked glass filters an amount of chlorothalonil evaporates and subsequently retained on silica gel filters quantitatively. In this way, the quantitative retention of chlorothalonil is possible, although the discrimination between particulate and gas phase pesticide is feasible. In contrast, the metabolite 4-hydroxychlorothalonil does not exhibit any evaporation from the glassfiber microfilters. Study of the stability of the above mentioned compounds proves their stability at room temperature and at 4 °C for at least 15 days.

Calibration curves for both compounds were constructed in the concentration range of 0.01-10.00 mg l⁻¹ with limits of quantitation to be 8.4 and 19.6 ng m⁻³ for chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil, respectively.

The potency of the proposed method was further tested with the analysis of chlorothalonil and its metabolite in greenhouse air. Chlorothalonil was detected in all samples even on the 21st day after application. The 4-hydroxychlorothalonil was found only in the first four samples after application, at concentrations near the quantification limits.

The second part of this thesis concerns the development of analytical method for the sampling and determination of the organophosphorous insecticides parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos in the air of greenhouses. The

determination is performed by an RP-HPLC method isocratically. Successful separation of the studied compounds was obtainable in less than 17 min using a Hypersil BDS C18 and acetonitrile-buffer phosphate, 10 mM (pH 5.0) 60:40 v/v, as mobile phase. The proposed mode of sampling consists of a glass fiber microfilter for the particulate-sorbed pesticides and a microcolumn containing XAD-2 for gas phase pesticides. From the experiments carried out on spiked microfilters it is demonstrated that diazinon και pirimiphos-methyl are retained quantitatively on the filters while a break-through is noticed for fenthion, parathion-methyl and chlorpyrifos. Nonetheless, the escaped pesticides are retained completely on the XAD-2 filters connected in series. The pesticides under study are stable in spiked microfilters for at least fifteen days, at room temperature and at 4 °C.

The calibration curves exhibit linearity in a broad range of concentrations (parathion-methyl 0.05-10.70 mg/l, fenthion 0.05-10.90 mg/l, diazinon 0.12-24.00 mg/l, pirimiphos-methyl 0.03-5.50 mg/l και chlorpyrifos 0.08-15,50 mg/l). The quantitation limits are 49.2, 69.6, 147.2, 63.2 και 114.8 ng m⁻³ for parathion-methyl, fenthion, diazinon, pirimiphos-methyl and chlorpyrifos, respectively.

The proposed method is applied in a greenhouse receiving air samples for 21 days. In the received samples, parathion-methyl is detected only on the first day, in both phases. Fenthion is not detected at all probably due to the low half-life time, while pirimiphos-methyl is detected in the particulate matter by the 8th day. Chlorpyrifos, which is detected on the first day in both phases, is not detected in particulate matter on the subsequent days up to the 14th one. Finally, diazinon is present in all samples through the whole sampling period.