

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΤΜΗΜΑ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ: ‘‘ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΑ
ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ – ΔΡΑΣΗ – ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ –
ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ
ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΤΟΥΣ’’.**

ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

19/09/2008

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ-ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΦΠΠ.....	7
1.1. ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗ ΤΩΝ ΟΠΩΡΟΛΑΧΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟ ΦΠΠ.....	9
1.2. ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ.....	11
1.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ.....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΑ ΜΕΣΑ.....	15
2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ.....	15
2.2. ΜΙΑ ΠΡΩΤΗ ΟΠΤΙΚΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	16
2.3. Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.....	19
2.4. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ.....	20
2.5. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΕΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	23
2.6. ΜΕΘΟΔΟΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ.....	23
2.7. ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ.....	24
2.7.1. ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	24
2.7.2. ΟΡΓΑΝΟΧΛΩΡΙΩΜΕΝΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ.....	25
2.7.3. ΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΑ ΚΑΙ ΘΕΙΟΚΑΡΒΑΜΙΔΙΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ.....	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΤΡΟΠΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΦΠΠ.....	28
3.1 ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.....	28
3.2. ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ ΜΕ ΑΞΟΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ (AXONIC POISONS).....	31
3.3. ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΥΡΕΘΡΙΝΩΝ.....	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ: Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ.....	33
4.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ (TEST METHODS).....	35
4.2. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	35
4.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΣΕ ΦΥΤΑ ΚΑΙ ΕΔΑΦΟΣ.....	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ: ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΦΠΠ.....	38
5.1. ΥΔΡΟΛΥΣΗ.....	39
5.2. ΟΞΕΙΔΩΣΗ.....	40
5.3. ΙΣΟΜΕΡΙΣΜΟΣ.....	40
5.4. ΤΡΑΝΣΑΛΚΥΛΙΩΣΗ.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ.....	42
6.1. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ.....	43
6.2. ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	44
6.3. ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	45

6.4. ΕΚΧΥΛΙΣΗ.....	46
6.5. ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ.....	48
6.5.1. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ.....	49
6.5.2. Η ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	51
6.6. Η ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ (CALIBRATION).....	52
6.6.1. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΑΠΟΔΕΚΤΗ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ.....	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	56
7.1. Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	56
7.1.1. Η ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ.....	56
7.1.2. ΤΟ ΦΕΡΟΝ ΑΕΡΙΟ, Η ΡΟΗ ΚΑΙ ΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ.....	56
7.2. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΕΡΙΟΥ ΥΓΡΟΥ.....	58
7.2.1. ΚΥΡΙΟΤΕΡΑ ΜΕΡΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΕΡΙΑΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	59
7.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΤΗΛΩΝ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	61
7.3.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ.....	61
7.3.2. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΛΩΝ.....	62
7.3.3. ΕΞΙΣΟΡΡΟΠΗΣΗ ΣΤΗΛΗΣ.....	63
7.3.4. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΡΙΧΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΛΩΝ.....	63
7.3.5. ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΣΤΗΛΕΣ ΜΕΓΑΛΗΣ ΔΙΑΜΕΤΡΟΥ (0,53-0,75 MM).....	65
7.3.6. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΣΤΗΛΕΣ. ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΚΧΥΣΗΣ «SPLIT».....	65
7.3.7. ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΚΧΥΣΗΣ SPLITLESS.....	67
7.3.8. ΈΚΧΥΣΗ "COLD ON COLUMN".....	69
7.4. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	71
7.5. ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ.....	73
7.6. ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΦΛΟΓΑΣ (FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR – FPD).....	73
7.6.1. ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	74
7.6.2. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ.....	74
7.6.3. ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	74
7.7. ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥ - ΦΩΣΦΟΡΟΥ (NITROGEN - PHOSPHORUS DETECTOR - NPD).....	75
7.7.1. ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	75
7.7.2. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ.....	76
7.7.3. ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	76
7.8. ΦΑΣΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΑΖΑΣ.....	77
7.8.1. ΦΑΣΜΑΤΟΓΡΑΦΟΣ ΜΑΖΩΝ.....	79
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	81

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	86
--------------------------	-----------

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο άνθρωπος από τη στιγμή που εμφανίστηκε στον κόσμο και μέχρι σήμερα είναι στενά δεμένος με τη γη, τη “μητέρα γη”, όπως την ονόμαζε παλιότερα. Στη γη ζει, από τη γη παίρνει τα αγαθά, απ’ αυτή τρέφεται. Τα πρώτα χρόνια της ύπαρξής του ο άνθρωπος έπαιρνε όλα τα αγαθά που χρειαζόνταν, τρόφιμα ή άλλα, όπως τα έβρισκε χωρίς να μπορεί να επεμβαίνει σ’ αυτά. Με το πέρασμα όμως των χρόνων και με την ανακάλυψη των εργαλείων άρχισε να επεμβαίνει με διάφορους τρόπους σ’ αυτή, με σκοπό βέβαια να καλυτερέψει τη ζωή του. Έτσι άρχισε σιγά, σιγά να την καλλιεργεί, στην αρχή με πρωτόγονα μέσα κι αργότερα με τη χρήση ζώων και πιο εξελιγμένων εργαλείων. Η γη πάντα τον ανταμείβε, δίνοντάς του αυτά που χρειαζόνταν, ιδιαίτερα με την τροφή που του ήταν απαραίτητη, με πολύ κόπο όμως και μεγάλες δυσκολίες.

Η καλλιέργειά της γης μέχρι και πριν από λίγα χρόνια ήταν πολύ δύσκολη και απαιτούσε τη σκληρή δουλειά όλης της οικογένειας, ενώ σημαντικό ρόλο έπαιζαν και τα καιρικά φαινόμενα. Το φυσικό περιβάλλον το θεωρούσε συνεργάτη και φίλο του και δε σκέφτηκε ποτέ να κάνει κακό σ’ αυτό για να ωφεληθεί ο ίδιος. Μπορεί οι καλλιέργειες να του απέδιδαν σε μικρή ποσότητα τα απαραίτητα τρόφιμα, του ήταν όμως αρκετά για να μπορεί να ζει, ενώ κι αυτά ήταν υγιεινά και νόστιμα.

Τα τελευταία όμως χρόνια με την αύξηση του πληθυσμού και την ανάπτυξη της τεχνολογίας, ο άνθρωπος άρχισε να επεμβαίνει αλόγιστα στο φυσικό περιβάλλον με σκοπό να παράγει περισσότερα αγαθά και με λιγότερο κόπο, έτσι ώστε όχι μόνο να ζει πιο άνετα, αλλά να μπορεί να μεγαλώσει το κέρδος του, χωρίς να σκέφτεται τις συνέπειες και τις βλάβες που μπορεί να προκαλέσει στο περιβάλλον το οποίο κινείται, αλλά και την ίδια του την υγεία. Έτσι σήμερα η καλλιέργεια της γης γίνεται με σύγχρονα μέσα, με τη βοήθεια της επιστήμης και με τη χρήση διαφόρων μέσων. Μερικά απ’ αυτά είναι η εντατικοποίηση των καλλιεργειών, η μονοκαλλιέργεια, η υπερβολική άντληση των υπόγειων νερών, η χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων κ.ά.

Οι συνέπειες της επέμβασης του ανθρώπου στη γη ήταν πολύ λιγότερες τα προηγούμενα χρόνια, σήμερα όμως τις ζούμε καθημερινά σε όλο και μεγαλύτερο βαθμό. Μεγάλο είναι το μερίδιο σ' αυτές τις συνέπειες της χρήσης των φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία. Η ατμόσφαιρα ρυπαίνεται, το νερό μολύνεται, το έδαφος καταστρέφεται, η χλωρίδα και η πανίδα εξαφανίζονται. Αλλά και η ίδια μας η υγεία κινδυνεύει. Τα τρόφιμα που παράγει τώρα η γη δεν είναι τόσο υγιεινά, αφού οι βλαβερές ουσίες που περιέχουν τα φυτοφάρμακα εισχωρούν σ' αυτά και σιγά, σιγά βλάπτουν τον οργανισμό του ανθρώπου.

Φυτοφάρμακα λέγονται μια σειρά από φάρμακα, χημικές ουσίες που φτιάχνονται για την αποτελεσματική καταπολέμηση των εχθρών των φυτών. Είναι δυνατά δηλητήρια, προϊόντα υψηλής τεχνολογίας, που δρουν και σκοτώνουν ζωικούς και φυτικούς οργανισμούς που βλάπτουν τις καλλιέργειες.

Αναπτύχθηκαν τα τελευταία εξήντα περίπου χρόνια. Το 1942 ο Ελβετός Muller ανακαλύπτει το DDT, ενώ το 1946 τα εργαστήρια της εταιρίας φαρμάκων BAYER κατασκευάζουν το παραθείο. Τα πρώτα χρόνια της ανακάλυψής τους, η συμβολή τους στην προστασία της αγροτικής παραγωγής, γέννησε πολλές ελπίδες για τη λύση του προβλήματος τροφής που αντιμετώπιζε η ανθρωπότητα με την αύξηση του πληθυσμού.

Ταυτόχρονα η προσφορά τους ήταν μεγάλη και στην προστασία της δημόσιας υγείας με την καταπολέμηση ενοχλητικών εντόμων, που έφεραν διάφορες ασθένειες στον άνθρωπο και ανοίγονται νέοι ορίζοντες στη βελτίωση της ποιότητας της ανθρώπινης ζωής.

Έτσι τα φυτοφάρμακα αντιμετωπίζονται απ' όλους μόνο από τη θετική τους πλευρά και οι βιομηχανίες φαρμάκων συναγωνίζονται μεταξύ τους για την παραγωγή νέων φυτοφαρμάκων με μεγαλύτερη δράση.

Καμιά φωνή δεν ακούγεται για τυχόν επιπτώσεις και συνέπειες στην ανθρώπινη ζωή και στο φυσικό περιβάλλον. Μόνο τα τελευταία χρόνια διατυπώνονται οι πρώτες ανησυχίες για τη δράση τους αφού σε ορισμένους τόπους εξαφανίζονται ομάδες φυτών και ζώων, ενώ επιστήμονες ανακαλύπτουν και δημοσιεύουν αποτελέσματα ερευνών με τις οποίες διαπιστώνονται βλάβες

στην υγεία του ανθρώπου. Έτσι μερικά από τα πρώτα φυτοφάρμακα αποσύρονται από την κυκλοφορία στις σύγχρονες χώρες, εξακολουθούν όμως να κυκλοφορούν σε άλλες.

Οι ανησυχίες όμως των επιστημόνων αλλά και πολλών άλλων μεγαλώνουν, διαπιστώνοντας καθημερινά τις αρνητικές τους επιπτώσεις στην υγεία και το περιβάλλον, χωρίς να παραβλέπουν βέβαια τη χρησιμότητά τους στη σύγχρονη γεωργία, η οποία χωρίς τη δράση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων δε θα είχε αυτή τη μεγάλη ανάπτυξη. Σήμερα όλοι πλέον αναγνωρίζουν ότι τα φυτοφάρμακα κατέχουν σημαντικό μερίδιο στην αλλοίωση του φυσικού περιβάλλοντος και γίνεται προσπάθεια ώστε να παρθούν μέτρα για την καλύτερη αξιοποίησή τους, ελαχιστοποιώντας τις αρνητικές τους συνέπειες. Μάλιστα υπάρχει μια στροφή των παραγωγών και των καταναλωτών στη βιολογική γεωργία, στην οποία δε χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα ή άλλες ουσίες. Είναι ίσως η λύση στο πρόβλημα και θα πρέπει όλοι να στραφούμε προς αυτήν την κατεύθυνση, με πρώτους τους αγρότες, οι οποίοι όμως θα πρέπει να έχουν την συνεργασία και την υποστήριξη του κράτους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ-ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΑΠΟ ΦΠΠ

Η χρήση φυτοφαρμάκων στη γεωργία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία περίπου 50 χρόνια. Η συμβολή των πρώτων αυτών φυτοφαρμάκων στην αποτελεσματική προστασία της φυτικής παραγωγής γεννά βάσιμες ελπίδες για την οριστική λύση του επισιτιστικού προβλήματος της ανθρωπότητας. Χωρίς τη χρήση των φυτοφαρμάκων, δύσκολα θα μπορούσαν να επιτευχθούν οι σημερινές αποδόσεις ανά στρέμμα, σε οποιαδήποτε μορφή καλλιέργειας. Κατά το παρελθόν, τα φυτοφάρμακα αντιμετωπίστηκαν μόνο από τη θετική τους πλευρά. Τώρα ανακαλύπτονται οι σοβαρές αρνητικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων και οι άμεσες επιπτώσεις τους στον άνθρωπο και στο οικοσύστημα. Οι κίνδυνοι, που εγκυμονούν, σχετίζονται κυρίως με την οξεία και τη χρόνια τοξικότητα των ουσιών αυτών.

Η οξεία τοξικότητα είναι υπεύθυνη για μια σειρά ατυχημάτων , που συμβαίνουν στην καθημερινή μας ζωή. Τα στοιχεία που υπάρχουν δείχνουν , ότι 1500 περίπου περιστατικά δηλητηριάσεων από φυτοφαρμακευτικές ουσίες αντιμετωπίζονται ετησίως στα νοσοκομεία της Αθήνας και άλλα τόσα στα νοσοκομεία της Θεσ/κης. Από αυτά πάνω από 50 καταλήγουν σε θάνατο. Όσον αφορά τη χρόνια τοξικότητα, οι ανησυχίες που εκφράζονται σήμερα, έχουν σχέση με τις μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο οικοσύστημα από τη συσσώρευση μικροποσοτήτων, που μένουν σε αυτό μετά από κάθε εφαρμογή, και επιπλέον με τις επίσης μακροχρόνιες επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από τη συνεχή και σε μικροποσότητες λήψη φυτοφαρμάκων κυρίως μέσω της λαμβανόμενης τροφής.

Έτσι, στο τραπέζι των διαπραγματεύσεων οι ειδικοί δεν συζητούν πλέον, για το αν υπάρχουν υπολείμματα αλλά για τον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων, τα οποία σύμφωνα με κάποιες εκτιμήσεις δεν θέτουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Η εκτεταμένη χρήση φυτοφαρμάκων στη χημική φυτοπροστασία των θερμοκηπιακών και υπαίθριων καλλιεργειών έχει ως

συνέπεια την ύπαρξη τοξικών υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα φρούτα και λαχανικά που διατίθενται στο εμπόριο για δημόσια κατανάλωση. Ο αριθμός των γεωργικών φαρμάκων που διατίθενται στους παραγωγούς αυξάνει συνεχώς καθώς παρασκευάζονται διαρκώς νέα προϊόντα που καταπολεμούν συγκεκριμένους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Τα προβλεπόμενα από το νόμο ανώτατα επιτρεπτά όρια για τα φυτοφάρμακα στα τρόφιμα έχουν καθοριστεί στις περισσότερες χώρες ώστε να προστατευτεί ο καταναλωτής. Σε μια προσπάθεια μελέτης της έκτασης του φαινομένου της αλόγιστης χρήσης επικίνδυνων φυτοπροστατευτικών προϊόντων και των επιπτώσεων που αυτά επιφέρουν στο περιβάλλον και τον άνθρωπο, πολλές χώρες έχουν αναπτύξει προγράμματα για την καταγραφή των επιπέδων των υπολειμμάτων μόλυνσης σε φρούτα και λαχανικά. Για το σκοπό αυτό χρειάζονται πολυυπολειμματικές (multiresidue) αναλυτικές μέθοδοι με τις οποίες να ταυτοποιούνται (αναγνωρίζονται) και να προσδιορίζονται ποσοτικά όσο το δυνατόν περισσότερα γεωργικά φάρμακα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (trace level determination) στα φρούτα και στα λαχανικά.

Ο προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων πραγματοποιείται συνήθως με χρωματογραφικές τεχνικές και περιλαμβάνει πολλά προκαταρκτικά στάδια όπως τη δειγματοληψία, την εκχύλιση, τον καθαρισμό ή την απομάκρυνση των προσμείξεων. Η εκχύλιση των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων από τα φρούτα και τα λαχανικά δημιουργεί πολύπλοκα μίγματα, που συχνά απαιτούν καθαρισμό του δείγματος και διαδικασίες προετοιμασίας του δείγματος προκειμένου να απομονωθούν τα φυτοφάρμακα που εξετάζονται στη συγκεκριμένη ανάλυση. Ο κόπος, τα υλικά, και ο χρόνος θα μπορούσαν να μειωθούν σημαντικά εάν παραμερίζαμε την προετοιμασία του δείγματος και τις διαδικασίες καθαρισμού του και εάν ήταν διαθέσιμη μια ευρείας εφαρμογής χρωματογραφική μέθοδος.

1.1. Επιβάρυνση των οπωρολαχανικών από ΦΠΠ

Σε έναν κυκεώνα ανακριβειών, επιστημονικών συγκρούσεων και ελλιπών στοιχείων βρίσκονται τα γεωργικά προϊόντα. Η αλόγιστη χρήση επικίνδυνων φυτοπροστατευτικών προϊόντων εγκυμονεί κινδύνους τόσο για τη δημόσια υγεία όσο και για την οικονομία. Οι περισσότερες δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα φυτοφάρμακα είναι κυριολεκτικά δηλητήρια. Η δράση τους δεν περιορίζεται στην καταπολέμηση των ασθενειών των φυτών και των ζιζανίων αλλά επεκτείνεται σε ολόκληρο το οικοσύστημα σαν αλυσιδωτή αντίδραση.

Συντονισμένη πολιτική για την προστασία του καταναλωτή ή την ενημέρωσή του σχετικά με τα τοξικά υπολείμματα φυτοφαρμάκων δεν υπάρχει. Οι κρατικοί έλεγχοι είναι πολύ λίγοι. Οι λιγοστές εργαστηριακές μελέτες έχουν βρει κατά καιρούς υπολείμματα πάνω από τα όρια ασφαλείας. Τα αποτελέσματα αυτά όμως σπάνια βλέπουν το φως της δημοσιότητας. Τα όρια ασφαλείας είναι ένα άλλο ζήτημα εξίσου μπερδεμένο και διφορούμενο. Κανονικά δεν θα πρέπει να ανιχνεύονται καθόλου υπολείμματα. Τα όρια έχουν οριστεί με στατιστικές εξισώσεις, λαμβάνοντας υπόψη τη μέση κατανάλωση και το μέσο άνθρωπο από άποψη υγείας και αντοχής. Δεν λαμβάνεται υπόψη ότι ειδικά στις νότιες χώρες καταναλώνουμε πολύ περισσότερα φρούτα και λαχανικά, ενώ περισσότερο ευπαθείς ομάδες είναι τα παιδιά, οι έφηβοι και οι ηλικιωμένοι. Εκτός αυτού, αυτοί που τα έχουν καθορίσει δεν έχουν λάβει υπόψη τους, τους πιθανούς συνδυασμούς των τροφών (π.χ. ντομάτα με λάδι στη σαλάτα) καθώς και τους συνδυασμούς των χημικών ουσιών στο ίδιο προϊόν. Ενδεικτικό της σύγχυσης είναι το γεγονός, ότι για διαφορετικά γεωργικά προϊόντα τα όρια για το ίδιο φυτοφάρμακο διαφέρουν.

Ο μεγάλος κίνδυνος από τα φυτοφάρμακα ελλοχεύει στην κακή χρήση τους, που οφείλεται κυρίως στην άγνοια των ανθρώπων που τα χρησιμοποιούν. Οι οδηγίες χρήσης, στην πίσω μεριά των πλαστικών μπουκαλιών, σπάνια ακολουθούνται κατά γράμμα. Έτσι, παρατηρείται το φαινόμενο, οι ποσότητες

τοξικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται στις καλλιέργειες συχνά να είναι δύο ή τρεις φορές περισσότερες της κανονικής. Δεν υπάρχει καμία ανάγκη να χρησιμοποιείται περισσότερο φυτοφάρμακο από το αναγκαίο που αναγράφει η συσκευασία, εφόσον οι εταιρείες που τα παράγουν φροντίζουν να πάρουν έγκριση για τη μεγαλύτερη ανεκτή ποσότητα για να κερδίσουν περισσότερο. Οι συνέπειες της υπέρμετρης αυτής χρήσης έχουν σχέση με σοβαρά θέματα υγείας.

Τα φυτοφάρμακα αποτελούν μια δυνητική πηγή επηρεασμού του οργανισμού μας. Η συγκέντρωση τους αυξανόμενη αθροιστικά στους διάφορους ιστούς του οργανισμού οδηγούν στη δημιουργία υποστρωμάτων διάφορων μορφών καρκίνου. Επίσης, οι παραγωγοί συχνά όταν τελειώσουν τον ψεκασμό ρίχνουν το υπόλοιπο του φυτοφαρμάκου στην άκρη του χωραφιού, αγνοώντας ότι πρόκειται για επικίνδυνο δηλητήριο. Όσο για το χρόνο αναμονής που πρέπει να τηρείται, οι παραγωγοί δεν διστάζουν να συγκομίσουν την παραγωγή όταν πετύχουν την καλύτερη τιμή και όχι όταν είναι σίγουροι ότι τα φυτοφάρμακα που έχουν χρησιμοποιήσει έχουν αποικοδομηθεί. Η πραγματοποίηση από τους χρήστες επεμβάσεων με επικίνδυνα φυτοφάρμακα με μεγάλη υπολειμματική δράση, όταν πλησιάζει η περίοδος της συγκομιδής δεν δίνει τη δυνατότητα στα φυτοφάρμακα να διασπασθούν, με φυσικό επακόλουθο την προώθηση στην αγορά προϊόντων με υψηλά επίπεδα υπολειμμάτων. Η εφαρμογή υψηλών δόσεων επιμηκύνει τη χρονική διάρκεια διάσπασης με αποτέλεσμα επίσης τη διάθεση προϊόντων βεβαρημένων με υψηλά υπολείμματα, χωρίς καμία προφύλαξη για την υγεία των καταναλωτών.

Τη σύγχυση επιτείνουν τα πειράματα γενετικής μετάλλαξης, που έχουν ήδη ξεκινήσει και στη χώρα μας και έχουν φέρει τους καταναλωτές σε αμηχανία.

Στην προσπάθεια εξεύρεσης εναλλακτικής λύσης, έχει αναπτυχθεί η θεωρία της ονομαζόμενης "βιολογικής καλλιέργειας", της καλλιέργειας εκείνης όπου απαγορεύεται η χρήση χημικών ουσιών, δηλαδή λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων. Θεωρητικά, μια τέτοια καλλιέργεια θα ήταν επιθυμητή από όλους, αφού θα πρόσφερε προϊόντα απαλλαγμένα από δηλητηριώδεις ουσίες,

ενώ παράλληλα θα αποφεύγονταν και η μόλυνση του περιβάλλοντος, που σήμερα σε πολλά σημεία του πλανήτη τείνει να φτάσει σε στάδια μη αναστρέψιμα. Αλλά η μέχρι σήμερα πρόοδος της βιολογικής καλλιέργειας στη χώρα μας είναι πολύ μικρή. Μπορεί να έχει καλύτερη διάδοση αν υπάρχει κρατική αρωγή. Η εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων καλλιέργειας, φιλικών προς το περιβάλλον, όπου τα φυτοφάρμακα δεν χρησιμοποιούνται, απαιτεί εκατοντάδες άτομα και εξειδικευμένους επιστήμονες για ερευνητικά προγράμματα μελέτης της καλλιέργειας, για εισαγωγή νέας τεχνολογίας, για εκπαίδευση σε εθνικό επίπεδο των καλλιεργητών που θα θελήσουν να ασχοληθούν με βιολογικές καλλιέργειες, και για προώθηση των βιολογικών προϊόντων.

Για την εκτίμηση του πιθανού κινδύνου (risk assessment) για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία από την παρουσία των επικίνδυνων αυτών χημικών ουσιών στα τρόφιμα, απαιτείται μεταξύ άλλων και ο συνεχής προσδιορισμός (monitoring) της παρουσίας ή μη, υπολειμμάτων των ενώσεων αυτών στα τρόφιμα. Για το λόγο αυτό, η ανάπτυξη νέων μεθόδων ανάλυσης υπολειμμάτων προϊόντων φυτοπροστασίας, κυρίως στα φρούτα και λαχανικά, βρίσκεται στο κέντρο της επιστημονικής επικαιρότητας.

1.2. Παρασιτοκτονα

Τα παρασιτοκτόνα, με βάση τη δράση τους, μπορούν να καταταχθούν στις παρακάτω κατηγορίες: εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματωδοκτόνα και τρωκτικοκτόνα. Η δραστηριότητά τους ποικίλει ανάλογα με τη χημική ομάδα στην οποία ανήκουν.

Το πλήθος των παρασιτοκτόνων μπορεί να καταταχθεί σε διάφορες χημικές ομάδες, ανάλογα με τη δραστική ουσία που περιέχουν. Οι κυριότερες από αυτές είναι:

α) Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες

- β) Οργανοφωσφορικοί εστέρες
- γ) Καρβαμιδικά και αλειφατικά οξέα και οι εστέρες τους
- δ) Ενώσεις των χλωρο- και αμινο- τριαζινών
- ε) Ενώσεις της ομάδας των ουριών
- στ) Πυρεθρινοειδή και φυσικές πυρεθρίνες
- ζ) Φερομόνες
- η) Ανόργανα άλατα των μετάλλων As , Zn , Cu κ.α.

Τα φυτοφάρμακα παρέχονται στα φυτά κυρίως με τρεις τρόπους : 1) σαν ψεκαζόμενο υδατικό διάλυμα, 2) με τη μορφή ατμών και 3) σαν υδατικό διάλυμα με το οποίο ποτίζεται η ρίζα του φυτού. Οι δύο πρώτοι τρόποι θεωρούνται σαν οι πλέον επικίνδυνοι.

1.3. Μέθοδοι Προσδιορισμού

Υπάρχουν διάφορες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά, οι περισσότερες όμως δεν είναι απόλυτα ικανοποιητικές ή επειδή δεν είναι εξειδικευμένες ή γιατί τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά περιέχουν πολυάριθμες ουσίες, που παρεμποδίζουν αυτό τον προσδιορισμό.

Για την ανάλυση των γεωργικών φαρμάκων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, απαιτείται πριν από την ανάλυση του δείγματος ένα στάδιο προσυγκέντρωσης (preconcentration) των γεωργικών φαρμάκων που περιέχονται στο δείγμα. Συνήθως, επιτελούνται προκαταρκτικές εργασίες για τον αποχωρισμό ενός ή περισσοτέρων προσδιοριζόμενων ουσιών από άλλες, που δρουν παρεμποδιστικά κατά την πορεία της αναλύσεως. Το παρασκευασθέν δείγμα, σε όλες σχεδόν τις μεθόδους αυτές, αναλύεται στη συνέχεια ή με την

τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) ή με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας (GC). Οι υπάρχουσες μέθοδοι υγρής και αέριας χρωματογραφίας για τον προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων, βασίζονται κυρίως σε πολύπλοκες διαδικασίες προετοιμασίας του δείγματος και εκτεταμένη χρήση τοξικών οργανικών διαλυτών.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας έχουν ευρύτερο φάσμα εφαρμογής από τις μεθόδους που χρησιμοποιούν την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, διότι με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας αναλύεται άμεσα ευρύτερο φάσμα χημικών ομάδων γεωργικών φαρμάκων. Πολλές χημικές ομάδες γεωργικών φαρμάκων, όπως τα καρβαμιδικά και οι καρβαμοϋλοξίμες, οι υποκατεστημένες ουρίες, οι σουλφονουλουρίες, τα φαινοξυαλκανοϊκά και διάφορα φαινολικά παράγωγα, παρουσιάζουν προβλήματα στην ανάλυσή τους με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας διότι οι ενώσεις που ανήκουν στις ομάδες αυτές ή δεν είναι αρκετά πτητικές για να αναλυθούν με αέρια χρωματογραφία ή είναι θερμικά ασταθείς στις συνήθεις θερμοκρασίες λειτουργίας της αερίου χρωματογραφίας. Για την ανάλυσή τους με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, όλες οι παραπάνω ενώσεις χρειάζεται να μετατραπούν πρώτα σε πτητικά και θερμικώς σταθερά παράγωγα. Κάτι τέτοιο όμως, προσθέτει επιπλέον στάδια στην ανάλυση των ενώσεων αυτών αυξάνοντας έτσι την πολυπλοκότητα της μεθόδου.

Οι περισσότερες από τις μεθόδους ανάλυσης γεωργικών φαρμάκων που βασίζονται στην τεχνική της υγρής χρωματογραφίας, αναπτύχθηκαν για την ανάλυση συγκεκριμένων ομάδων γεωργικών φαρμάκων. Συνεπώς, σήμερα, για τον πλήρη έλεγχο της ποιότητας των φρούτων και των λαχανικών, όσον αφορά την παρουσία ή μη υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, απαιτείται η εφαρμογή πολυάριθμων μεθόδων με αποτέλεσμα το έργο αυτό να είναι πολυδάπανο, κουραστικό και χρονοβόρο.

Στις μεθόδους αυτές, το χρησιμοποιούμενο χρωματογραφικό σύστημα είναι συνήθως εξοπλισμένο με ανιχνευτή φωτοδιόδων (DAD), ο οποίος επιτρέπει και τη μερική ταυτοποίηση των ανιχνευομένων ουσιών, βασιζόμενος στα

χαρακτηριστικά του φάσματος απορρόφησής τους στην περιοχή του υπεριώδους φωτός (UV). Η ανίχνευση με ανιχνευτή φθορισμού θα μπορούσε να αποτελέσει μια εναλλακτική λύση, αν λάβουμε υπόψη τη μεγάλη ευαισθησία και εκλεκτικότητα του ανιχνευτή φθορισμού που καθιστά δυνατή την ανίχνευση ουσιών σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Όμως η καταλληλότητά του περιορίζεται σε ορισμένης κατηγορίας ουσίες.

Τα περισσότερα γεωργικά φάρμακα που εξετάζονται, δεν είναι επιδεκτικά σε αντιδράσεις παραγωγοποίησης προς παραγωγή φθορίζοντος παραγώγου, και δεν μπορούν να ανιχνευτούν με ανιχνευτή φθορισμού. Στις μεθόδους που βασίζονται σε υγρή χρωματογραφική ανάλυση του δείγματος και ανίχνευση με ανιχνευτή φωτοδιόδων η αξιοπιστία των ταυτοποιήσεων, που γίνονται με σύγκριση των φασμάτων απορρόφησης στο UV με τα αντίστοιχα φάσματα των προτύπων ουσιών, δεν είναι επαρκής για θετική ταυτοποίηση των ανιχνευομένων ενώσεων, και οι σχετικές μέθοδοι, χρησιμοποιούνται κυρίως για προκαταρκτική ανάλυση των δειγμάτων, ενώ περαιτέρω θετική ταυτοποίηση των ανιχνευομένων ουσιών πρέπει να γίνει και με άλλες μεθόδους (κυρίως με μεθόδους βασιζόμενες στην αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών, GC-MS). Μια οριστική λύση στο πρόβλημα αυτό φαίνεται ότι δίνει η ανάπτυξη συστημάτων υγρής χρωματογραφικής ανάλυσης συνδυασμένων με φασματομετρία μαζών (LC-MS και ιδίως LC-MS-MS).

Από τις μεθόδους που έχουν αναπτυχθεί για την ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά και στηρίζονται στην τεχνική της υγρής χρωματογραφίας, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν διπλό φασματόμετρο μάζας σε συνδυασμό με την υγρή χρωματογραφική ανάλυση συγκεντρώνουν ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον διότι: περιλαμβάνουν μικρότερο αριθμό σταδίων στην παρασκευή του δείγματος με αποτέλεσμα το σφάλμα, λόγω απωλειών στο δείγμα, να είναι μικρότερο, επιπλέον καταναλώνεται μικρότερη ποσότητα επικίνδυνων οργανικών διαλυτών και προσφέρουν μεγάλη αναλυτική ακρίβεια, σε ελάχιστο χρόνο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΑ ΜΕΣΑ

Φυτοπροστασία είναι η προστασία των καλλιεργούμενων φυτών από ζιζάνια, ασθένειες, έντομα και ζώα με διάφορες ενέργειες ατομικές ή συλλογικές, σε τοπική, περιφερειακή, εθνική και διεθνή κλίμακα (Ζάχος και συνεργάτες, 1984). Από τα φυτά αυτά προέρχεται όλη η απαιτούμενη τροφή για τους ανθρώπους και τα ζώα. Αποτελούν επίσης την ανανεώσιμη πηγή οξυγόνου για τη ζωή σε ολόκληρο το οικοσύστημα του πλανήτη μας. Καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης της γεωργίας η φυτοπροστασία εφαρμόστηκε με διάφορες μεθόδους όπως: καλλιεργητικές, φυσικομηχανικές, βιολογικές, χημικές και βιοτεχνολογικές.

2.1. Ιστορική Ανασκόπηση των χημικών μέσων φυτοπροστασίας

Η φυτοπροστασία είναι γνωστή εδώ και χιλιάδες χρόνια πριν. Η καταπολέμηση των παράσιτων αναφέρεται από την εποχή του Ομήρου (το 1000 π.χ.). Οι αρχαίοι Έλληνες χρησιμοποιούσαν το θείο σαν χημικό μέσο για την απολύμανση των κατοικιών. Το 900 μ.Χ. οι Κινέζοι χρησιμοποιούσαν αρσενικούχες ενώσεις για την καταπολέμηση των παράσιτων στους ανθόκηπους. Το 1821 στην Αγγλία το θείο αναφέρεται από τον John Robertson ως κύριο μυκητοκτόνο για τον έλεγχο του ωιδίου. Το 1845 φωσφορικός πολτός δηλώνεται ως κοινό τρωκτικοκτόνο για τα ποντίκια στην Πρωσία, ενώ μετά χρησιμοποιείται και στην καταπολέμηση των κατσαρίδων. Το 1883 με την θεαματική επιτυχία του βορδιγάλειου πολτού κατά του περονόσπορου της αμπέλου στη Γαλλία γίνεται το πρώτο άλμα στην χημική καταπολέμηση των ασθενειών στις γεωργικές καλλιέργειες (Μπαλαγιάννης, 1985, Ware, 1993).

Όμως το μεγαλύτερο άλμα η χημική καταπολέμηση το έκανε κατά τη διάρκεια του δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου με την ανάπτυξη της έρευνας για στρατιωτικούς σκοπούς. Μεγάλες ποσότητες οργανικών χημικών ουσιών εφαρμόστηκαν για την προστασία των καλλιεργειών κατά τη διάρκεια του

δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου και τα αποτελέσματα αποδείχτηκαν θεαματικά. Η δεκαετία 1940-1950 μπορεί να θεωρηθεί σα σταθμός στη φυτοφαρμακολογία και τη σύγχρονη φυτοφαρμακευτική χημεία (Μπαλαγιάννης, 1985). Από τότε τα χημικά μέσα φυτοπροστασίας έγιναν το μεγαλύτερο οπλοστάσιο για την μείωση των ζημιών και την αύξηση της παραγωγής στη γεωργία. Σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι η μέθοδος που κυριαρχεί στη φυτοπροστασία είναι η χημική.

2.2. Μια Πρώτη Οπτική Των Φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

1. **Ζιζανιοκτόνα** : Αυτά καταστρέφουν τα αγριόχορτα που αναπτύσσονται στις καλλιέργειες και «πνίγουν» τα καλλιεργημένα φυτά.
2. **Εντομοκτόνα** : Αυτά καταστρέφουν τα έντομα που κατατρώνε τα διάφορα μέρη των φυτών, χωρίς να βλάπτουν τα ίδια.
3. **Μυκητοκτόνα** : Αυτά καταστρέφουν τα ζωικά ή φυτικά παράσιτα που ζουν στα φυτά και τρέφονται εις βάρος τους.

Η χρήση των φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία με τις σημερινές συνθήκες και με ορισμένες προϋποθέσεις είναι αναγκαία για την αγροτική παραγωγή. Τα φυτοφάρμακα όταν χρησιμοποιούνται στη σωστή αναλογία και με την καθοδήγηση ειδικών γεωπόνων, συμβάλλουν στην αύξηση της αγροτικής παραγωγής και στη βελτίωση της ποιότητας των αγροτικών προϊόντων, αφού καταστρέφουν τους βλαβερούς οργανισμούς που εμποδίζουν την ανάπτυξη των φυτών ή τους μικροοργανισμούς που μολύνουν τα προϊόντα και καταστρέφουν πολλές φορές ολόκληρη την παραγωγή.

Η χρήση τους εξοικονομεί χρόνο, αφού χωρίς αυτά οι γεωργοί θα έπρεπε να δουλεύουν στις καλλιέργειές τους πολύ περισσότερο, και μάλιστα με αρκετά μικρότερη απόδοση. Επίσης για να καταπολεμηθούν οι διάφορες ασθένειες

χωρίς τα φυτοφάρμακα, θα απαιτούνταν περισσότερη και πιο κοπιαστική δουλειά από όλα τα μέλη της οικογένειας κάθε αγρότη. Με τη χρήση τους οι αγροτικές ασχολίες γίνονται λιγότερο κουραστικές, ενώ δε χρειάζονται πολλά "χέρια". Ακόμα τα φυτοφάρμακα σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να καθυστερήσουν ή να κάνουν πιο γρήγορη την αγροτική παραγωγή, ανάλογα με τις επιθυμίες του παραγωγού, έτσι ώστε να μπορεί να προλάβει τις καιρικές συνθήκες. Πολύ μεγάλες είναι και οι συνέπειες που προκαλούνται στο φυσικό περιβάλλον το οποίο επηρεάζεται και αλλοιώνεται σε μεγάλο βαθμό, με αποτέλεσμα να καταστρέφεται η ισορροπία του.

Οι βλαβερές ουσίες που περιέχονται στα φυτοφάρμακα επηρεάζουν και καταστρέφουν τη χλωρίδα και την πανίδα της περιοχής όπου γίνεται χρήση τους. Ολόκληρες ομάδες ζώων και εντόμων (όχι μόνο των βλαβερών αλλά και ωφέλιμων) εξαφανίζονται διαταράσσοντας τη φυσική ισορροπία.

Πολλά χόρτα, μικρά φυτά και δέντρα απορροφούν αυτές τις ουσίες οι οποίες με το χρόνο συσσωρεύονται και έτσι καταστρέφονται. Ένα μέρος των ουσιών αυτών καταλήγει στο υπέδαφος και στα υπόγεια νερά, τα οποία ρυπαίνονται. Υπολείμματα φυτοφαρμάκων και άδειες συσκευασίες αντί να καταστραφούν, πετιούνται ασυλλόγιστα σε μικρά ποτάμια και ρέματα με αποτέλεσμα να μολύνονται τα νερά τους, αλλά ταυτόχρονα μεταφέρονται και στη θάλασσα μολύνοντας έτσι και τα νερά των θαλασσών. Ο ψεκασμός με φυτοφάρμακα (ιδιαίτερα όταν γίνεται από τον αέρα με ειδικά αεροπλάνα) μολύνει και την ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα να έχει αρνητικές συνέπειες στη ζωή φυτών και ζώων.

Ας δούμε όμως τις επιδράσεις των φυτοφαρμάκων στην υγεία των ανθρώπων. Όπως έχουν καταδείξει οι επιστήμονες με τις έρευνές τους, είναι σημαντικές, μακροχρόνιες οι περισσότερες, αλλά και σε μερικές περιπτώσεις άμεσες. Οι άμεσες προέρχονται κυρίως από ατυχήματα δηλητηριάσεων με φυτοφάρμακα λόγω κακής χρήσης, φύλαξης ή άγνοιας και επιφέρουν το θάνατο ή προκαλούν ανεπανόρθωτες βλάβες στην υγεία όσων έχουν δηλητηριαστεί. Επίσης έχουν συμβεί αρκετά ατυχήματα με διαρροή επικίνδυνων ουσιών που

χρησιμοποιούνται σε εργοστάσια για την κατασκευή φυτοφαρμάκων με αποτέλεσμα το θάνατο πολλών ανθρώπων και την πρόκληση βλαβών στον οργανισμό (όπως στο Μοπάλντ της Ινδίας το 1984).

Οι μακροχρόνιες όμως αρνητικές συνέπειες που προκαλούνται στην υγεία των ανθρώπων από τη χρήση τους είναι περισσότερες και ανησυχητικές, αφού αφορούν το σύνολο της ανθρωπότητας. Τα υπολείμματα επικίνδυνων ουσιών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή φυτοφαρμάκων περνάνε, πριν προλάβουν να διασπαστούν, μέσα από την τροφική αλυσίδα στον ανθρώπινο οργανισμό με τη λήψη φυτικών τροφών ή με προϊόντα ζώων (γάλατα, κρέατα κ.ά.) τα οποία τρέφονται με φυτικές τροφές και έτσι φτάνουν σ' αυτά οι βλαβερές ουσίες. Ακόμη και με τη λήψη νερού μπορεί να προκληθούν βλάβες, αφού όπως θα δούμε και στις συνέπειες στο φυσικό περιβάλλον, μολύνεται το νερό.

Οι κυριότερες επιπτώσεις που προκαλούνται στον ανθρώπινο οργανισμό είναι: προβλήματα στο νευρικό και αναπνευστικό σύστημα,

- ✓ βλάβες στο συκώτι και τα νεφρά,
- ✓ προβλήματα στην αναπαραγωγή,
- ✓ διάφορες αλλεργίες,
- ✓ επιδράσεις στο αίμα,
- ✓ πρόκληση καρκίνου διαφόρων μορφών κ.ά.

Αυτές βέβαια οι επιπτώσεις γίνονται πιο ορατές και πιο άμεσες όταν γίνεται αλόγιστη χρήση των φυτοφαρμάκων, όταν δεν υπάρχει έλεγχος όσον αφορά στην ποιότητα, στην ποσότητα και στη χρονική διάρκεια χρήσης τους.

Τα φυτοφάρμακα όπως αναφέραμε χρησιμοποιούνται πάρα πολύ στην αγροτική παραγωγή. Η συνύπαρξή μας μαζί τους δεν μπορεί να σταματήσει αμέσως, γι' αυτό θα πρέπει να γνωρίζουμε ποια μέτρα προφύλαξης πρέπει να παίρνουμε για την αποφυγή ατυχημάτων, ιδιαίτερα από τα μικρά παιδιά. Τα φάρμακα που αγοράζονται και μεταφέρονται με το αυτοκίνητο του χρήστη πρέπει

να τοποθετούνται στο χώρο αποσκευών και όχι των επιβατών, όπου θα παραμείνουν μόνο για το χρονικό διάστημα της μεταφοράς τους. Πρέπει να δίνουμε ιδιαίτερη προσοχή σε συσκευασίες ελαττωματικές (όχι καλά κλεισμένα κουτιά, συσκευασίες που στάζουν). Τα φυτοφάρμακα δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα ή με άλλα αντικείμενα καθημερινής χρήσης, όπως εφημερίδες, ρούχα, παιχνίδια κ.ά.

2.3. Η σημασία των φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Οι απώλειες της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής που προκαλούνται από τα έντομα, τις ασθένειες και τα ζιζάνια είναι πολύ μεγάλες. Σύμφωνα με τα στοιχεία του FAO οι απώλειες για κάθε έτος ανέρχονται στο 40% της παραγωγής. Οι ζημιές είναι μεγαλύτερες στην Ασία (43%) σε σύγκριση με την Ευρώπη (25%). (Πρακτικά 2ης Πανελλήνιας Συνάντησης Φυτοπροστασίας, 1998.) Υπάρχουν σήμερα 80.000-100.000 ασθένειες που προκαλούνται από ιούς, βακτήρια, μύκητες και άλλα ανώτερα φυτά. 30.000 είδη ζιζανίων έχουν καταγραφεί σε ολόκληρο το κόσμο από τα οποία περίπου τα 1800 είδη προκαλούν σοβαρές οικονομικές απώλειες. Περίπου 1.000 από τα 30.000 είδη νηματωδών προκαλούν μεγάλες καταστροφές στα φυτά. 10.000 από τα 1.000.000 έντομα που έχουν καταγραφεί τρέφονται από τα φυτά και προκαλούν μεγάλες απώλειες στην γεωργία. Η Λατινική Αμερική κάθε χρόνο έχει απώλειες 40% της γεωργικής παραγωγής λόγω των ασθενειών και παράσιτων.

Η παραγωγή του κακάο, ως ένα σημαντικό προϊόν στον κόσμο έχει τριπλασιαστεί λόγω της χρήσης των ΦΠΠ. Η παραγωγή της ζάχαρης στο Πακιστάν έχει αυξηθεί 33% από τη χρήση των εντομοκτόνων. Το FAO εκτιμά ότι το 50% της παραγωγής βαμβακιού σε ολόκληρο τον κόσμο θα είχε καταστραφεί αν δεν υπήρχε η χρήση των ΦΠΠ. Στις Η.Π.Α. οι απώλειες που προκαλούνται από τα παράσιτα των φυτών ανέρχονται στο 30% της γεωργικής παραγωγής ή

στα 30 δισεκατ. Δολάρια ετησίως παρά τη χρήση των ΦΠΠ και άλλων μεθόδων φυτοπροστασίας (Bergelson et al., 1998). Ύστερα από πολλά πειράματα που έγιναν στις Η.Π.Α. σε φυτά μεγάλης καλλιέργειας όπως αραβόσιτο, σιτάρι και σόγια καλλιεργώντας τα σε πειραματικά τεμάχια με ή και χωρίς τη χρήση των ζιζανιοκτόνων βρέθηκε ότι με τη χρήση των ζιζανιοκτόνων η αύξηση της παραγωγής ανέρχονταν στο 26% του συνόλου. Σύμφωνα με αυτή την αύξηση υπολογίζεται ότι για κάθε 1 δολάριο που ξοδεύτηκε για την καταπολέμηση με ζιζανιοκτόνο το κέρδος σε παραγωγή ήταν 4 δολάρια (Baker, 1974). Ενώ σε ένα άλλο πείραμα που έγινε στο σιτάρι χωρίς την χρήση εντομοκτόνων το 100% της παραγωγής καταστράφηκε από τα ακάρεα (Conway, 2000). Η Environmental Protection Agency (EPA) στις ΗΠΑ εκτιμάει ότι το 1991 το κόστος της χημικής καταπολέμησης σε μέσο όρο σε όλες τις γεωργικές εκμεταλλεύσεις ήταν μόνο 4,68 % της συνολικής παραγωγής τους (Aspelin et al., 2003).

2.4. Προοπτικές της χημικής καταπολέμησης

Τα τελευταία χρόνια νέες κατηγορίες χημικών ουσιών περισσότερο αποδεκτές στο περιβάλλον χρησιμοποιούνται σε προγράμματα καταπολέμησης των εχθρών, ασθενειών και ζιζανίων των καλλιεργούμενων φυτών. Σήμερα υπάρχουν αρκετά φυτοπροστατευτικά προϊόντα με βελτιωμένες βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες που επιτρέπουν τη χρησιμοποίησή τους με μικρότερη ποσότητα δραστικής ουσίας κατά μονάδα επιφάνειας όπως π. χ. είναι τα συνθετικά πυρεθροειδή έναντι των οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών εντομοκτόνων. Νέα προϊόντα όπως είναι οι ρυθμιστές ανάπτυξης των εντόμων και κυρίως οι παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης υποκαθιστούν σταδιακά τα ευρέως φάσματος εντομοκτόνα. Τα προϊόντα αυτά λόγω της εκλεκτικής τους δράσης είναι ιδιαιτέρως κατάλληλα σε προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Integrated Pest Management, I.P.M.). Εκλεκτικό αποτέλεσμα επιτυγχάνεται και με μη εκλεκτικά εντομοκτόνα όταν αυτά χρησιμοποιούνται με κατάλληλο τρόπο και δοσολογία και σε κατάλληλο χρόνο (οικολογική

εκλεκτικότητα). Έτσι οι απαιτήσεις για μη τοξικά γεωργικά προϊόντα αυξάνονται κάθε χρόνο περισσότερο. Για αυτό το σκοπό γίνονται διάφορες μελέτες πάνω στην τοξικότητα και μόλυνση του περιβάλλοντος. Το πρόβλημα δεν είναι μόνο πως θα καταργηθούν τα ΦΠΠ αλλά το πως θα συνδυαστούν τα επιτεύγματα της τεχνολογίας και εφαρμοσμένης βιολογίας για να μειωθεί έτσι στο ελάχιστο ο κίνδυνος τοξικότητας από την συνεχιζόμενη χρήση των χημικών ουσιών ως ΦΠΠ. Έτσι οι βιομηχανίες παραγωγής νέων χημικών ουσιών προσανατολίζονται περισσότερο στην ανακάλυψη νέων προϊόντων των οποίων οι ιδιότητες επιτρέπουν την ένταξή τους σε ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (I.P.M). Τα νέα προϊόντα τους είναι οι ρυθμιστές σύνθεσης χιτίνης (Losey E. et al.,1999).

Η δεύτερη γενιά των ΦΠΠ ήταν η περίοδος του δευτέρου Παγκόσμιου Πολέμου και μετά, όπου πολλά δηλητήρια ως σύνθετες οργανικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στο χημικό πόλεμο έδωσαν θαυματουργικά αποτελέσματα στην προστασία των φυτών από διάφορους εχθρούς και ασθένειες. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα οργανοχλωριωμένα και τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα. Η περίοδος της τρίτης γενιάς ΦΠΠ αρχίζει στο τέλος της δεκαετίας του 1960 με την ανακάλυψη χημικών ουσιών, εκλεκτικής τοξικότητας κατά των παράσιτων και εξειδικευμένης βιοχημικής δράσης σε υποκυτταρικό επίπεδο όπως τα βενζιμιδαζολικά που παρεμποδίζουν το σχηματισμό της πυρηνικής ατράκτου κατά τη μιτωτική διαίρεση του κυττάρου. Οι περισσότερες από τις χημικές ενώσεις παρουσιάζουν επιπλέον διασυστηματικές ιδιότητες. Μυκητοκτόνα με ιδιαίτερη σημασία της τρίτης γενεάς είναι: τα καρβοξαμιδικά (π.χ. carboxin) τα οποία χρησιμοποιούνται κατά των σκωριάσεων ανθράκων και δαυλιτών, τα βενζιμιδαζολικά (π.χ. benomyl, carbendazin, thiophanate) για την καταπολέμηση διαφόρων ασθενειών που προκαλούνται από ασκομύetes, τα δικαρβοξιμιδικά (π.χ. vinclozolin, iprodione, procymidone) εναντίον του βοτρυτή της μονίλιας και της σκληρωτίνιας, οι παρεμποδιστές βιοσυνθέσεως της εργοστερόλης (π.χ. triadimefon, imazalil, prochloraz, tnadimenol, bitertanol, myclobutani) κυρίως για την αντιμετώπιση του ωιδίου και φουζικλάδιου καθώς και τα φαινυλαμίδια (π.χ. metalaxyl,) κατά του περονόσπορου και άλλων

ασθενειών που προκαλούνται από μύκητες. Επίσης στην παραπάνω κατηγορία φυτοπροστατευτικών ουσιών περιλαμβάνονται πολλά αντιβιοτικά παρασκευάσματα όπως οι πολυοξίνες, κασουγκαμυκίνη, στρεπτομυκίνη, πενικιλίνη, οι τετρακυκλίνες που έδωσαν θεαματικά αποτελέσματα εναντίων πολλών μυκητολογικών ασθενειών στις αρχές τις δεκαετίας του 1950. Μεγάλη σημασία δίνεται σήμερα στην αναζήτηση και εξεύρεση φυσικών μορίων σε μύκητες και σε βακτήρια που να έχουν φυτοπροστατευτικές ιδιότητες.

Τέτοιες ουσίες είναι δυνατόν να παραχθούν και συνθετικά σε μορφή που να επιτρέπει τη χρησιμοποίησή τους σαν ΦΠΠ. Στις ομάδες αυτές κατατάσσονται: (1) οι φαινυλοπυρρόλες, οι οποίες είναι προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού του βακτηρίου *Pseudomonas pyrocinia*, με βιοχημικό τρόπο δράσεως την παρεμπόδιση του μεταβολισμού της γλυκόζης. Στην ομάδα αυτή ανήκει το νέο μυκητοκτόνο fludioxonil που συνιστάται εναντίον ασθενειών που προκαλούν μύκητες των γενών *Botrytis*, *Monilia* και *Sclerotinia*. (2) Οι στρομπιλουρίνες είναι ουσίες που απαντούν σε βασιδιομύκητες (π.χ. *Strobilurus tenacellus*) και ενεργούν σαν παρεμποδιστές της αναπνοής στα μιτοχόνδρια των μυκήτων. Τέτοια μόρια παρασκευάζονται συνθετικά π.χ. azoxystrobin, kresoxymethyl και χρησιμοποιούνται σαν ευρέως φάσματος μυκητοκτόνα.

Οι αβερμεκτίνες είναι ουσίες που παράγει κατά τη ζύμωση ο ακτινομύκητας εδάφους *Streptomyces avertimilis*. Είναι μία νέα ομάδα αντιβιοτικών που έχει νηματωδοκτόνο, ακαρεοκτόνο και εντομοκτόνο δράση. Είναι μακροκυκλικές λακτόνες. Το αποτέλεσμα της δράσης του είναι νευρομυϊκή παράλυση (Παπαθανασίου, 1974). Οι αβερμεκτίνες χρησιμοποιούνται σε πολύ μικρές δόσεις λόγω της μεγάλης τοξικότητάς τους στα αρθρόποδα, αποδομούνται γρήγορα και δεν συσσωρεύονται σε φυτά ή ζώα και κατά συνέπεια είναι αποδεκτές για το περιβάλλον.

2.5. Ανάπτυξη νέων φυτοφαρμάκων

Υπολογίζεται ότι μόνο μια στις περίπου 40.000 ενώσεις, που υποβάλλονται στις αρχικές δοκιμές, φθάνει να γίνει εμπορικό προϊόν. Η δαπάνη δε για έρευνα και ανάπτυξη (research & development) τείνει στα 100.000.000 δολάρια ανά προϊόν κατά μέσο όρο. Για την ασφαλή χρήση των φαρμάκων γίνονται έλεγχοι που περιλαμβάνουν τις φυσικές, χημικές και βιολογικές τους ιδιότητες, την υπολειμματική τους δράση στις καλλιέργειες και στο έδαφος, τον τρόπο δράσης τους την τοξικότητα στα θηλαστικά, τα πουλιά, τα ψάρια, τις μέλισσες και τον τρόπο εφαρμογής τους (91/414/EC).

Όπως κάθε ανακάλυψη, έτσι και κάθε καινούργιο φάρμακο προστατεύεται με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας (patent) για ένα διάστημα (συνήθως 15 χρόνια), κατά τη διάρκεια του οποίου μόνο ο εφευρέτης μπορεί να το διαθέσει. Όταν περάσει το διάστημα αυτό, και άλλοι οίκοι μπορούν να παρασκευάζουν και να διαθέτουν το ίδιο προϊόν με διαφορετικές όμως εμπορικές ονομασίες, που πρέπει να διαφέρουν σημαντικά από την αρχική εμπορική ονομασία, που εξακολουθεί πάντα να προστατεύεται για λογαριασμό του εφευρέτη.

2.6. Μέθοδοι φυτοπροστασίας

Για την καταπολέμηση των ασθενειών έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι φυτοπροστασίας. Οι μέθοδοι που έχουν επικρατήσει είναι η κατευθυνόμενη φυτοπροστασία και η εξέλιξή της, η ολοκληρωμένη φυτοπροστασία.

Κατευθυνόμενη Φυτοπροστασία

Αποτελεί το πρώτο βήμα προς την εφαρμογή της ολοκληρωμένης μεθόδου φυτοπροστασίας, γιατί, στηρίζεται στη χρησιμοποίηση χαμηλής τοξικότητας, εκλεκτικών παρασιτοκτόνων, με σκοπό την προστασία του περιβάλλοντος και των ωφέλιμων εντόμων, σε συνδυασμό με τον καθορισμό

ενός ορίου ανοχής (κρίσιμο, σχετικό με την πληθυσμιακή ανάπτυξη των βλαβερών παρασίτων, μέχρι το οποίο δεν συνιστάται επέμβαση με παρασιτοκτόνα. Με την εφαρμογή της μεθόδου αυτής επιτεύχθηκε ο περιορισμός ενός μεγάλου αριθμού επεμβάσεων για την καταπολέμηση εντόμων και ακάρεων.

Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία

Είναι ο συνδυασμός όλων των μεθόδων φυτοπροστασίας που στηρίζονται: α) στην βιολογία (χρησιμοποίηση αυτοχθόνων και γενικών παρασίτων, ωφέλιμα εντομοφάγα πουλιά), β) βιοτεχνολογία (παράγοντες που συμβάλλουν σε ανωμαλίες στη μορφολογική ανάπτυξη των βλαβερών εντόμων στα διάφορα στάδια των μεταμορφώσεων), γ) καλλιεργητικές μέθοδοι κλπ. που έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα τον περιορισμό δ) της χημικής καταπολέμησης μέσα στα απαραίτητα όρια (Παπαθανασίου, 1974)

2.7. Κυριότερες ομάδες εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται στη χημική καταπολέμηση

Οι κύριες κατηγορίες είναι τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, τα καρβαμιδικά, οι πυρεθρίνες, τα οργανοχλωριόμενα, και οι παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης των εντόμων.

2.7.1. Οργανοφωσφορικές Ενώσεις

Κάθε χρόνο στις Η.Π.Α. χρησιμοποιούνται γύρω στα 500g δραστικές οργανοφωσφορικές ουσίες εντομοκτόνων ανά στρέμμα καλλιεργήσιμης γης. Η μεγάλη χρήση των οργανοφωσφορικών εξηγείται ως εξής:

- © Είναι σχετικά φθηνά

- Ⓢ Έχουν μεγάλο φάσμα δράσης (τα περισσότερα από τα οργανοφωσφορικά χρησιμοποιούνται σε σημαντικές καλλιέργειες για τον έλεγχο ποικιλίας εντόμων).
- Ⓢ Επειδή τα φυτοφάρμακα αυτά έχουν μεγάλο φάσμα δράσης ένα οργανοφωσφορικό μπορεί να ελέγχει τα έντομα που ίσως θα χρειαζόταν 3 ή 4 μη οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα.
- Ⓢ Γενικά τα έντομα δεν αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά όσο αναπτύσσουν με μερικά άλλα φυτοφάρμακα.

Τα οργανοφωσφορικά ήταν αναπτυσσόμενα από τις αρχές του 19ου αιώνα αλλά η δράση τους στα έντομα, στα οποία η δράση μοιάζει με την δράση στους ανθρώπους φάνηκε το 1932.

Μερικά είναι πολύ τοξικά και χρησιμοποιήθηκαν στο 2° Παγκόσμιο Πόλεμο.

- Ⓢ Δεν παραμένουν σταθερά στο περιβάλλον.

Στην ομάδα αυτή ανήκουν τα εντομοκτόνα που μπορεί να θεωρηθούν ως εστέρες αλκοολών με μόριο του φωσφορικού οξέος ή ως ανυδρίτες του με άλλο οργανικό οξύ. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει μερικές από τις πιο δηλητηριώδεις ουσίες που χρησιμοποιούνται στη φυτοπροστασία. Συγγενεύουν με ορισμένα πολεμικά αέρια νεύρων τόσο χημικώς, όσο και από τον τρόπο δράσεως.

Η εντομοκτόνα ιδιότητα ορισμένων οργανοφωσφορικών ενώσεων διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στη Γερμανία από τον ερευνητή Schrader και τους συνεργάτες του, στη διάρκεια του 2ου παγκοσμίου πολέμου. Στα οργανοφωσφορικά ανήκει ο μεγαλύτερος αριθμός εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται σήμερα στη γεωργία. Τα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα δρουν περίπου με τον ίδιο τρόπο προκαλώντας την παρεμπόδιση της χολινεστεράσης (Hellenbrand and Krupka, 1970).

2.7.2. Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα

Τα οργανικά χλωριωμένα εντομοκτόνα είναι νευροτοξικά, θανατώνουν δηλαδή τα έντομα επιδρώντας στο νευρικό τους σύστημα. Ο ακριβής μηχανισμός της τοξικής τους δράσης δεν είναι πλήρως γνωστός, για αρκετές από τις ενώσεις

αυτές. Μερικές από αυτές ενεργοποιούνται μέσα στο σώμα των εντόμων, των θηλαστικών, των μικροοργανισμών, των φυτών ή στο έδαφος, κυρίως με οξείδωση. Η τοξικότητά τους για τα έντομα και τα θερμόαιμα ζώα ποικίλει.

Είναι από τα σταθερότερα χημικά οργανικά εντομοκτόνα. Τα πιο πολλά εναποτίθενται και συσσωρεύονται στο λιπώδη ιστό των εντόμων και των άλλων ζώων και στο συκώτι των ανώτερων σπονδυλωτών, όπου μένουν σχεδόν αναλλοίωτα για αρκετό χρόνο. Η αθροιστική αυτή ιδιότητα, η σχετικά εύκολη είσοδός τους από το δέρμα και η χημική τους σταθερότητα, δημιουργούν κινδύνους για τον άνθρωπο και το οικοσύστημα. Η εισαγωγή και διάθεση στην κατανάλωση των πιο επικίνδυνων μελών αυτής της ομάδας έχει απαγορευθεί και στην Ελλάδα, ενώ επιτρέπεται η χρήση ορισμένων, με περιορισμούς.

Έχει πλέον αποδειχθεί, ότι τα χλωριωμένα εντομοκτόνα διατηρούνται στο έδαφος και στο νερό για χρόνια ή δεκαετίες και ότι η συγκέντρωσή τους από μέρη στο τρισεκατομμύριο (ppt) στο υδάτινο περιβάλλον, μπορεί να βιομεγεθυνθεί 10^5 - 10^7 φορές στους ιστούς των ψαριών, των πουλιών και των θηλαστικών και να φτάσει σε μέρη ανά εκατομμύριο (ppm) στους ιστούς του ανθρώπου.

2.7.3. Καρβαμιδικά και θειοκαρβαμιδικά παρασιτοκτόνα

Είναι οι εστέρες ή οξίμες του καρβαμιδικού οξέος. Τα παρασιτοκτόνα της κατηγορίας αυτής, απορροφούνται αμέσως από το δέρμα, τους πνεύμονες και το γαστρεντερικό σωλήνα και μεταφέρονται στο αίμα και στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος. Η κύρια δράση τους είναι ότι παρεμποδίζουν (δεσμεύουν) το ένζυμο ακετυλοχολινεράση. Αποτέλεσμα αυτής της παρεμπόδισης είναι η συσσώρευση της ουσίας ακετυλοχολίνης μεταξύ νευρών και μυών (νευρομυϊκές συνάψεις) και συνεπώς, η μη κανονική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Υπάρχουν πάνω από 50 ενώσεις σε αυτή την κατηγορία παρασιτοκτόνων. Αντικατέστησαν σε πολλές περιπτώσεις τα χλωριωμένα εντομοκτόνα εξαιτίας της μικρής υπολειμματικότητάς τους (υδρολύονται στο έδαφος και στο αλκαλικό

υδατικό περιβάλλον). Είναι όμως πολύ τοξικά για τις μέλισσες και τα ψάρια και μερικά απ' αυτά πολύ τοξικά για τον άνθρωπο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΤΡΟΠΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΦΠΠ

3.1 Τρόπος δράσης Οργανοφωσφορικών Ενώσεων

Το νευρικό σύστημα των εντόμων και άλλων θηλαστικών ζώων είναι ο στόχος όλων των οργανοφωσφορικών ΦΠΠ. Για αυτό και η περιγραφή λειτουργίας του νευρικού συστήματος μας δίνει τη δυνατότητα να καταλάβουμε τον τρόπο δράσης αυτών των ουσιών. Η δράση τους σχετίζεται με το βαθμό παρεμπόδισης της λειτουργίας ορισμένων σημαντικών ενζύμων του νευρικού συστήματος, των ακετυλ-χολινεστεράσεων (Hassall, 1990).

Σε όλο το νευρικό σύστημα των σπονδυλωτών και των εντόμων, στα σημεία όπου τελειώνει ένα νευρικό κύτταρο και αρχίζει το επόμενο, δηλαδή στις συνάψεις, παρεμβάλλεται ένα χάσμα, μήκους 500Å που ονομάζεται συναπτικό χάσμα. Το νευρικό μήνυμα, για να μεταβιβασθεί από το ένα κύτταρο στο άλλο, υποχρεώνεται να περάσει το συναπτικό χάσμα.

Αυτό πραγματοποιείται με την παρέμβαση χημικών ουσιών, που στα έντομα και τα θερμόαιμα είναι συνήθως μια ένωση, η οποία λέγεται ακετύλοχολίνη. Όταν το μήνυμα φτάσει στο τέλος του πρώτου κυττάρου προκαλεί την ελευθέρωση στο συναπτικό χάσμα ελάχιστης ποσότητας ακετυλοχολίνης που βρίσκεται σε ειδικά κυστίδια του νευρικού κυττάρου, τα κυστίδια κομβίων. Τα κυστίδια αυτά βρίσκονται στη μία μόνο πλευρά της νευρικής συνάψεως και γι' αυτό η μεταβίβαση των μηνυμάτων γίνεται προς μία μόνο κατεύθυνση. Μετά τη μεταβίβαση του νευρικού ερεθίσματος μέσα από τη σύναψη, το νευρικό σύστημα πρέπει να ξαναϊσορροπηθεί.

Αυτό γίνεται με την απομάκρυνση της συσσωρευμένης ακετυλοχολίνης από τις συνάψεις με τη βοήθεια ενός ενζύμου που ονομάζεται ακετύλ-χολινεστεράση. Η ακετύλ-χολινεστεράση πραγματοποιεί την διάλυση της ακετυλοχολίνης καταλύοντας την υδρόλυση του εστερικού δεσμού, όπως φαίνεται στη παρακάτω αντίδραση.



Το αποτέλεσμα είναι η ακετυλίωση του ενζύμου, η διάσπαση και απενεργοποίηση της ακετυλοχολίνης. Ο εστερικός δεσμός που ενώνει το ακετύλιο με την ακετύλο-χολινεστεράση είναι ασθενής και υδρολύεται γρήγορα κατά το στάδιο της ανάκτησης του ενζύμου. Έτσι η σύναψη αποφορτίζεται και είναι σε θέση να μεταβιβάσει δεύτερο μήνυμα κ.ο.κ. Τότε η ενεργή επιφάνεια της ακετύλο-χολινεστεράσης είναι και πάλι ελεύθερη να δεχθεί το επόμενο μόριο ακετυλοχολίνης. Αυτές οι αντιδράσεις είναι στιγμιαίες, διαρκούν για κλάσμα μόνο του δευτερολέπτου και γίνονται συνεχώς, σε φυσιολογικές καταστάσεις. Υπολογίζεται ότι περίπου 300.000 μόρια ακετυλοχολίνης διασπώνται από ένα μόριο ενζύμου για κάθε λεπτό στους 37 °C (Hassall, 1990). Η χολινεστεράση δρα στην υδρόλυση του εστερικού δεσμού και απομακρύνει έτσι την ακετυλοχολίνη από τις συνάψεις. Όταν όμως φθάσει στις συνάψεις μια ειδική οργανοφωσφορική ένωση, προσκολλάται σταθερά πάνω στην ακετύλο-χολινεστεράση (φωσφορυλίωση), πράγμα που την εμποδίζει να υδρολύει την εκκρινόμενη ακετυλοχολίνη.

Συσσωρεύεται έτσι ακετυλοχολίνη στις συνάψεις, οπότε διακόπτεται η μεταφορά μηνυμάτων και αχρηστεύεται το νευρικό σύστημα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το θάνατο, στα θηλαστικά από παράλυση του αναπνευστικού συστήματος και στα έντομα από την παράλυση του νευρικού τους κέντρου (Μπαλαγιάννης, 1983).

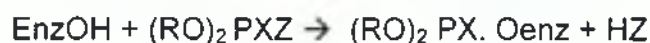
Τα οργανοφωσφορικά έχουν παρόμοια δομή με το υπόστρωμα της ακετύλο-χολινεστεράσης, την ακετυλοχολίνη. Η φωσφορική ομάδα έλκεται από την εστερική δομή της χολινεστεράσης και το υπόλοιπο μόριο ευθυγραμμίζεται από τα αμινοξέα, που αποτελούν ολόκληρο το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Τότε τα οργανοφωσφορικά φωσφορυλιώνουν το ένζυμο. Στην παρεμποδιστική δράση των οργανοφωσφορικών σημαντικό ρόλο έχει η έλξη του παρεμποδιστή από το ένζυμο, αλλά και η φωσφορυλιωτική του ικανότητα. Μερικά οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, η δομή των οποίων σχηματίζει ορθή γωνία με το ενεργό κέντρο της χολινεστεράσης δεσμεύονται εύκολα. Η απόσταση ανάμεσα στο άτομο του φωσφόρου και της πιο υδροφοβικής περιοχής είναι πάντα σχεδόν 5Å, απόσταση

που ταυτίζεται με αυτήν ανάμεσα στον καρβονυλικό C και το τεταρτοταγές N του αμμωνίου στο μόριο της ακετυλοχολίνης (Eto, 1990).

Η σταθερότητα των δεσμών που σχηματίζονται εξαρτάται από την φύση της φωσφορούχου ένωσης. Το ένζυμο χρειάζεται περίπου 80 λεπτά για να αποφωσφορυλιωθεί όταν έχει δεσμεύσει διμεθυλφωσφορικό άλας. Το αποτέλεσμα είναι ότι απαιτείται χίλιες φορές περισσότερος χρόνος για να λειτουργήσει ξανά η χολινεστεράση, σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την ακετυλίωση σε φυσιολογικό επίπεδο (Hassall, 1990). Η μορφή όμως της χολινεστεράσης είναι διαφορετική στα διάφορα παράσιτα.

Η διαφορά αυτή διαπιστώνεται και από την διαφορετική ευαισθησία που εκδηλώνουν έναντι οργανοφωσφορικών ΦΠΠ. Έτσι, τα διμεθύλ-φωσφατίδια που έχουν μεθυλική ομάδα ή άτομο χλωρίου σε m-θέση, παρουσιάζουν μικρότερη έλξη για την ακετύλο-χολινεστεράση των θηλαστικών και μεγαλύτερη έλξη για την ακετύλο-χολινεστεράση των εντόμων σε σχέση με τους αντίστοιχους μη υποκατεστημένους εστέρες.

Η στοιχειομετρική αντίδραση μεταξύ του ενζύμου της χολινεστεράσης και του φωσφόρου των εντομοκτόνων έχει ως εξής (Corbett et al., 1995):



Όπου:

EnzOH=ένζυμο,

R=αλκύλιο,

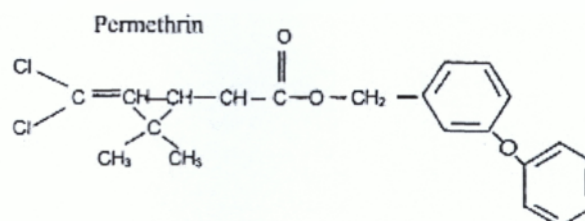
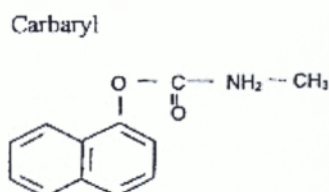
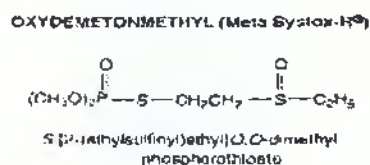
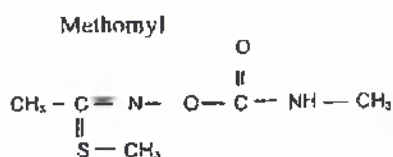
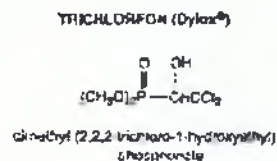
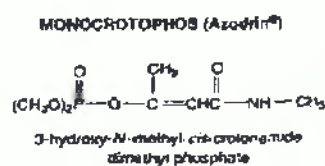
(RO)=αλκοξυλομάδα,

P= φώσφορο,

X = οξυγόνο ή θείο,

HZ = ομάδα όξινου χαρακτήρα

Oenz = ένζυμο.



Εικόνα 1.1. Χημική δομή μερικών εντομοκτόνων ΦΠΠ

3.2. Εντομοκτόνα με αξονική δράση (Axonic Poisons)

Οι άξονες των νευρικών κυττάρων έχουν ειδική σημασία στην μεταφορά μηνυμάτων από την περιφέρεια του σώματος σε άλλα κύτταρα στο εσωτερικό του εντόμου. Όλα τα αξονικά χημικά ακολουθούν το ίδιο δρόμο δράσης στη μεταφορά μηνυμάτων στο νευρικό άξονα. Όλα τα οργανοχλωρισμένα εντομοκτόνα τύπου DDT και πυρεθρινοειδή θεωρούνται δηλητήρια αξονικής δράσης (HSDB, 1990).

3.3. Τρόπος δράσης των πυρεθρίνων

Οι πυρεθρίνες είναι εντομοκτόνα επαφής. Προκαλούν ταχεία παράλυση των εντόμων (Knock-down) γεγονός το οποίο σημαίνει ότι επιδρούν επί των

νεύρων των εντόμων. Δρουν στο περιφερειακό και κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων. Ενίοτε παρατηρείται ότι τα έντομα αναλαμβάνουν μετά την παρέλευσιν κάποιου χρονικού διαστήματος. Οι πυρεθρίνες δρουν οι ίδιες και όχι τα προϊόντα του μεταβολισμού τους (Verschoyle and Barnes, 1999).

Οι πυρεθρίνες έχουν καλή δράση εντομοκτόνων όταν η θερμοκρασία είναι χαμηλή. Η δράση των πυρεθρίνων μελετήθηκε πιο πολύ από τον Narahashi και τους συναδέλφους του (Narahashi, 1979). Ο Narahashi μελέτησε τη δράση της allethrin στο γιγάντιο άξονα στη νευρική χορδή της κατσαρίδας (*Periplaneta americana*).

Οι πυρεθρίνες αποδομούνται με οξείδωση ή με υδρόλυση (Miyamoto and Sujuki, 1973). Η μεγαλύτερη δράση της πυρεθρίνης φάνηκε να είναι στην θερμοκρασία 26°C. Η δράση τους μελετήθηκε στα νευρο-αδενικά κύτταρα των εντόμων *Carausius morosus* (Orchard and Osborne, 1979) και *Rhodnius prolixus* (Orchard, 1980) ενώ τη δράση τους στο νευρικό σύστημα της μύγας του σπιτιού *Musca domestica* τη μελέτησε ο Adams και Miller (1979).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ: Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Η τύχη των φυτοφαρμάκων στα φυτά είναι μια σύνθετη διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει την είσοδο του φυτοφαρμάκου κυρίως δια μέσου των επιφανειών των φύλλων, του φρούτου, ή των ριζών. Οι δραστικές ουσίες στην συνέχεια κατανέμονται στο ξύλο και το φλοιό. Ένα μέρος τους εξατμίζεται από την επιφάνεια των φυτών και το υπόλοιπο αποδομείται και μεταβολίζεται επί και εντός του φυτού. Τα ΦΠΠ μεταβολίζονται στις περισσότερες περιπτώσεις σε πολλά διαφορετικά στάδια, συχνά σε μορφή μη εκχυλίσιμων υπολειμμάτων. Η πλήρης αποδομητική οδός είναι γνωστή για μόνο λίγες δραστικές ουσίες από αυτές που χρησιμοποιούνται στα φυτά. Τα είδη και οι ποσότητες των μεταβολιτών επηρεάζονται από την απορρόφηση, κατανομή και τον χρόνο παραμονής του φυτοφαρμάκου στο φυτό (EC, 1997).

Ένα φυτοφάρμακο μπορεί, όπως αναφέρθηκε, να απορροφηθεί από τα φύλλα, φρούτα ή ρίζες των φυτών. Οι ρίζες μπορούν επίσης να λαμβάνουν τους μεταβολίτες που σχηματίζονται στο έδαφος από την μικροβιακή ή αβιοτική αποδόμηση. Οι ρίζες των φυτών και οι επιφάνειες των φύλλων έχουν αρκετά διαφορετική συμπεριφορά, από φυτό σε φυτό, ως προς την δυνατότητα διείσδυσης της δραστικής ουσίας. Η επιδερμίδα των ριζών είναι μια λιπόφιλη μεμβράνη ενώ το ενδοδέρμιο είναι μια εσωτερική δομή των ριζών που πρέπει να ξεπερασθεί με ένα μηχανισμό ενεργής μεταφοράς (active transport) προκειμένου μια ουσία να μπορέσει να μεταφερθεί εντός του φυτού (EC, 1997).

Ένα φυτό διαθέτει δυο διαφορετικά συστήματα αγγείων μεταφοράς: του χυμού και τον νερού, διαμέσω των οποίων γίνεται η μεταφορά της δραστικής ουσίας και των μεταβολιτών.

Κανονικά υπάρχει μια παθητική μεταφορά (passive transport) στο ξύλο (xylem) με την άνοδο του νερού ή της ροής υγρασίας, από τις ρίζες μέχρι τις κορυφές του φυτού. Αλλά υπάρχει επίσης μια ενεργός μεταφορά στο φλοιό προς τα κέντρα μεταβολικής δραστηριότητας όπως είναι τα αναπτυσσόμενα σημεία των βλαστών και ριζών. Ωστόσο η κατανομή του φυτοφαρμάκου στα φυτά δεν

είναι ομοιόμορφη και εξαρτάται από το είδος της δραστικής ουσίας και την οδό δια της οποίας εισχωρεί μέσα στο φυτό. Τα φύλλα και οι ρίζες είναι τα κέντρα αποδόμησης της δραστικής ουσίας. Η ικανότητα αποδόμησης ενός φυτοφαρμάκου ποικίλει πολύ από φυτό σε φυτό ανάλογα με την διαφορά ηλικίας το είδος και το τμήμα του φυτού καθώς και από τις διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας (EC, 1997).

Οι μεταβολίτες των ΦΠΠ σχηματίζονται σε διάφορα στάδια μετά τη διάχυσή τους μέσα στα φυτά. Η διαδικασία αυτή καταλήγει στο σχηματισμό ελεύθερων ουσιών, σύνθετων ουσιών, ιχνών υπολειμμάτων και φυσικών ουσιών.

Οι μεταβολίτες σχηματίζονται πάνω και εντός των φυτών διαμέσου υδρόλυσης, οξειδωσης, διαίρεσης, ενζυμικής κατάλυσης ή φωτόλυσης. Οι αντιδράσεις αυτές και οι πρώτοι μεταβολίτες που απορρέουν είναι συχνά όμοιοι στα φυτά όπως και στα ζώα.

Στο δεύτερο στάδιο οι αρχικοί μεταβολίτες δημιουργούν συνεζευγμένες ενώσεις με τις φυτικές ουσίες («endocoon») (Dorough, 1976). Οι συνεζευγμένες ενώσεις είναι συνήθως περισσότερο πολικές από τους αρχικούς μεταβολίτες και ευδιάλυτοι στο νερό ή σε άλλους πολικούς διαλύτες. Οι συζυγιακές ενώσεις που σχηματίζονται στα φυτά έχουν συνήθως σαν φυτικές ουσίες την γλυκόζη, όπως: Ο-γλυκοζίτες, εστέρες γλυκόζης, Ν- γλυκοζίτες και S- γλυκοζίτες.

Άλλες φορές σχηματίζονται ενώσεις με γλουταθείον, αμινοξέα και άλλα (Frear, 1976)

Οι μεταβολίτες των φυτοφαρμάκων μπορούν επίσης να ενωθούν ομοιοπολικά με αδιάλυτες ουσίες του φυτού σαν ένα στερεό υπόλειμμα. Σύμφωνα με τον ορισμό της IUPAC το 1981, μη εκχυλίσσιμο υπόλειμμα είναι χημικές ενώσεις, που δεν μπορούν να παραληφθούν με μεθόδους εκχύλισης. Βάσει αυτού του ορισμού οι συζυγιακές ενώσεις που μετασχηματίζονται σε φυσικά προϊόντα κατά τη μεταβολική διαδικασία δεν περιλαμβάνονται στους μεταβολίτες (Kovacs, 1986). Η περαιτέρω αποδόμηση ίσως οδηγεί στην ελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα CO₂ ή άλλων μορίων χαμηλού μοριακού βάρους, όπως οξικά ή μυρμιγκικά άλατα.

Σε μερικές περιπτώσεις αυτά τα δομικά κομμάτια ενσωματώνονται με άλλες ουσίες των φυτών (Harvey, 1986).

Ο μεταβολισμός στα φυτά μπορεί να είναι βραδύτερος από ότι είναι στα ζώα, διότι τα φυτά στερούνται τα αποτοξινωτικά όργανα, τα οποία εκτελούν αυτή τη διαδικασία στα ζώα όπως για παράδειγμα το ήπαρ (Hoffman et al., 1971). Ο μεταβολισμός τους επίσης διαφέρει από τα ζώα στο ότι οι πολικές ουσίες δεν μπορούν να αποβληθούν στα φυτά σε αντίθεση με ότι γίνεται στα ζώα.

Γενικά, κατά τον μεταβολισμό των ΦΠΠ στα φυτά σχηματίζονται συζυγιακές ενώσεις ευδιάλυτες στο νερό και ίχνη υπολειμμάτων. Η πλήρης οξείδωση των οργανικών δραστικών ουσιών των ΦΠΠ σε διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και νερό (H_2O) είναι δευτερεύουσας σημασίας.

4.1. Μέθοδοι ελέγχου μεταβολισμού (Test methods)

Οι μελέτες μεταβολισμού σκοπεύουν να διευκρινίσουν τη διαδικασία αποδόμησης και το είδος των μεταβολιτών που σχηματίζονται (Harvey 1986). Ο μεταβολισμός μελετάται με τη χρήση μορίων φυτοφαρμάκων, τα οποία περιέχουν ραδιενεργά επισημασμένα άτομα σε πειράματα που μιμούνται πραγματικές συνθήκες εφαρμογής. Για τη μεταβολική πορεία κάθε φυτοφαρμάκου παρακολουθούνται τα επισημασμένα ραδιενεργά άτομα που έχουν προστεθεί στο μόριο του φυτοφαρμάκου. Η σήμανση γίνεται συνήθως με ^{14}C , ^{35}S , ^{32}P και άλλα ραδιενεργά στοιχεία τα οποία βρίσκονται στα σταθερά μέρη του μορίου, ώστε να παρακολουθηθεί όσο το δυνατόν μακρύτερα η μεταβολική πορεία (EPA, 1982). Οι καλύτερες θέσεις μαρκαρίσματος των επισημασμένων ατόμων είναι αυτές που βρίσκονται στους φαινολικούς δακτυλίους (EPA, 1982).

4.2. Αναλυτικές μέθοδοι

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται στη μελέτη μεταβολισμού είναι η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η αέρια χρωματογραφία φασματοσκοπία μάζας (GC / MS). Αυτοραδιογραφία και ραδιο- scanners έχουν χρησιμοποιηθεί με πλάκες

TLC. Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται συχνά δεν έχουν πάντοτε την απαιτούμενη ευαισθησία (Sarna et al., 1976).

Τα πειράματα μεταβολισμού εκτελούνται σε διαφορετικές συνθήκες όπως σε υγιή φυτά στο εργαστήριο σε συνθήκες δωματίου, θερμοκηπίου και ανοιχτής καλλιέργειας, πειράματα πάνω σε τμήματα φυτών και ιστών από φυτά. Έχει αποδειχτεί για παράδειγμα ότι μερικά εντομοκτόνα (οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά) εμποδίζουν τον μεταβολισμό των ζιζανιοκτόνων της ομάδας φαινύλ-ουρίας.

Τέτοια αποτελέσματα λαμβάνονται γρήγορα και πολύ εύκολα με τμήματα φύλλων που προέρχονται από υγιή φυτά ή και από ολόκληρα τα φυτά (Chang et al, 1971).

Η διάρκεια αυτών των πειραμάτων διαρκεί το πολύ 48 ώρες επειδή γίνονται σε τμήμα φυτού όπου η κινητικότητα είναι άμεση και καθορισμένη (Harvey 1986, Kuck 1987).

Σημαντικά πειράματα έχουν διεξαχθεί σε απομονωμένα ενζυματικά συστήματα. Τέσσερις βιοχημικές αντιδράσεις είναι περισσότερο σημαντικές στην αποδόμηση των ΦΠΠ στα φυτά (υδρόλυση, οξείδωση, διάιρεση και σύνδεση) οι οποίες έχουν μελετηθεί σε απομονωμένα ενζυματικά συστήματα (αρύλ -ακύλ -αμιδάση, εστεράση, υπεροξυδάση, υδροπεροξυδάση, αρύλ-νίτρο-ρεδουκτάση, γλουταθιόν-S-τρανσφεράση) και πολλά άλλα ενζυματικά συστήματα που συνδέονται με τη γλυκόζη. Όλη αυτή η βιβλιογραφική μελέτη έχει συμπληρωθεί από τους Lamourex και Frear (1979).

4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό σε φυτά και έδαφος

Κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν το μεταβολισμό στα φυτά είναι:

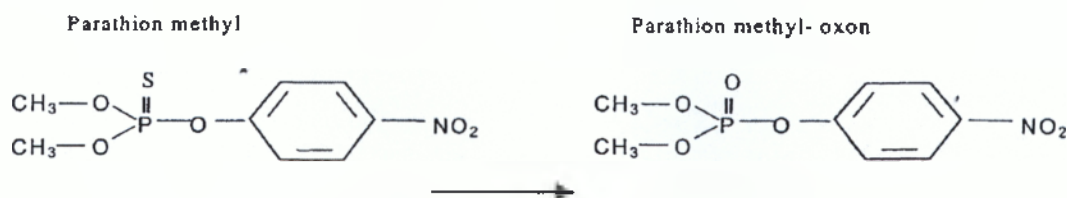
- ✓ Το είδος του φυτού
- ✓ Οι συνθήκες (κλιματολογικές και άλλες) καλλιέργειας
- ✓ Η σύνθεση της καλλιέργειας
- ✓ Η ηλικία των φυτών και τα στάδια ανάπτυξης
- ✓ Το ενζυματικό σύστημα του φυτού

- ✓ Το είδος και ο πληθυσμός των μικροοργανισμών στο περιβάλλον των ριζών των φυτών

Οι μικροοργανισμοί συμβάλουν στο έδαφος για την αποδόμηση του οπτικά ενεργού S- εναντιομερούς του στο πιο δραστικό R-εναντιομερές. Τα ζιζανιοκτόνα της οικογένειας σουλφονυλ-ουρίες διασπώνται χημικά σε χαμηλή τιμή pH και βιολογικά σε υψηλή τιμή pH. Το εντομοκτόνο-νηματοδωκτόνο aldicarb στο έδαφος οξειδώνεται στα αντίστοιχα σουλφοξείδια (ASO) και σουλφόνες (ASO₂) με παράλληλη υδρόλυση σε όξινες ενώσεις στο υπέδαφος (1,5-3 m). Η αποδόμηση πραγματοποιείται με χημική υδρόλυση και με χρόνο ημίσειας ζωής 5 έως 132 μέρες (Miles et al., 1985). Μελέτη στην Ελλάδα (περιοχή Λουδία) για ένα χρόνο έδειξε ποσοστά απωλειών (μετά τον ψεκασμό και μεταφορά στο νερό) 3,4% για το atrazine, 2,5% για το prometryne, 4,7% για το alachlor, 0,5% για το trifluralin, 17% για το 2,4-D, 9,7% για το MCPA, με μέση συγκέντρωση O₂ 5 έως 2 mg / L νερού (Albanis, 1992).

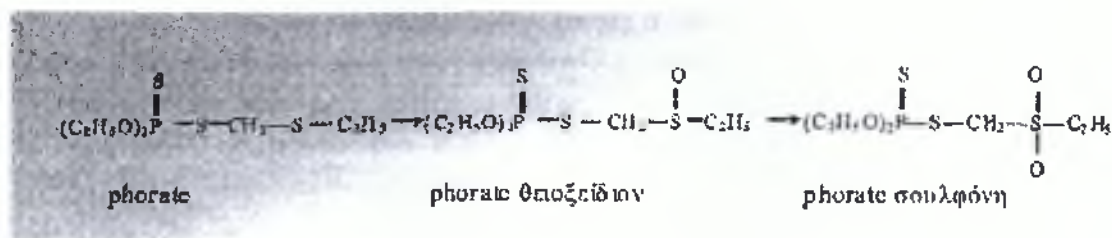
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ: ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΦΠΠ

Η αποδόμηση ενός φυτοφαρμάκου προκαλείται από συνδυασμό τόσο των μεταβολικών δράσεων μέσα στο φυτό όσο και φυσικοχημικών επιδράσεων από περιβαλλοντικούς παράγοντες (θερμοκρασία, ατμοσφαιρικό οξυγόνο, υγρασία, επιδράσεις οξέων, κλπ). Ο μεταβολισμός των οργανοφωσφορικών ενώσεων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της τοξικότητάς τους (ενεργοποίηση) ή εξαφάνιση της τοξικότητάς τους (απενεργοποίηση). Στην πρώτη περίπτωση η ενεργοποίηση επιτυγχάνεται (α) με την αποσουλφούρωση, $P=S$ εις $P=O$, (β) με την υδροξυλίωση (γ) με την οξείδωση της θειοαιθερικής ομάδος και (δ) με άλλους μηχανισμούς όπως π.χ. με σχηματισμό κυκλικών ενώσεων. Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις *in vivo* ενεργοποιούνται με την μεταβολή των θειονοφωσφορικών ($P=S$) σε φωσφορικές ($P=O$) ενώσεις. Η μεταβολή αυτή αποτελεί την κύρια αντίδραση της ενεργοποίησης των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων. Έτσι το παραθείον μετατρέπεται σε παραοξόν, το μαλαθείον σε μαλαοξόν και η μετατροπή αυτή καθιστά την ένωση 10.000 φορές περισσότερο αντιχολινεστερασική.



Οι θειοαιθέρες ενεργοποιούνται με την οξείδωση του θειοαιθερικού θείου σε σουλφοξείδιον και στη συνέχεια σε σουλφόνην. Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις υπόκεινται σε μεταβολές όπως υδρόλυση, οξείδωση, ισομερισμό και

τρανσαλκυλίωση που επηρεάζουν αρνητικά ή θετικά την αποτελεσματικότητά τους και την τοξικότητά τους στους διάφορους οργανισμούς (Μουρκίδης, 1974).

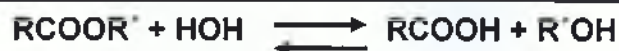


5.1. Υδρόλυση

Η υδρόλυση είναι η κυριότερη μεταβολή που υφίστανται τα οργανικά παρασιτοκτόνα. Κάθε δεσμός εστερικός, αμιδικός ή ανυδριτικός στις ενώσεις του πεντασθενούς φωσφόρου μπορεί να υδρολυθεί. Η υδρόλυση καταστρέφει τις τοξικές ιδιότητες των παρασιτοκτόνων (αφού τα προϊόντα της υδρόλυσης είναι συνήθως μη τοξικές ουσίες), ενώ σχετίζεται και με τις βιοχημικές αντιδράσεις απενεργοποίησης των φαρμάκων.

Τα οργανοφωσφορικά είναι ενώσεις που εύκολα υδρολύονται. Το πιο ευαίσθητο σημείο υδρόλυσης είναι ο ανυδριτικός δεσμός, ακολουθεί ο δεσμός του πιθανώς υπάρχοντος αλογόνου, των αλκυλίων και τέλος ο αμιδικός. Η πιο διαδεδομένη μορφή υδρόλυσης, είναι το αντίστροφο φαινόμενο της εστεροποίησης, δηλαδή η διάσπαση ενός εστέρα στην αλκοόλη και το οξύ που τον αποτέλεσαν.

Η γενική μορφή της αντίδρασης αυτής είναι η εξής:



Η υδρόλυση είναι ένα δυναμικό φαινόμενο και οδηγεί σε κατάσταση δυναμικής ισορροπίας που ονομάζεται «υδρολυτική ισορροπία».

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την υδρόλυση (πιο σωστά την ταχύτητα επίτευξης της ισορροπίας), είναι η παρουσία οξέων (όξινο περιβάλλον), η παρουσία βάσεων (βασικό περιβάλλον), η ποσότητα του ύδατος (σχετική υγρασία) καθώς και η θερμοκρασία.

Τόσο το όξινο περιβάλλον και περισσότερο το βασικό δρουν καταλυτικά επιταχύνοντας την επίτευξη της ισορροπίας. Μικρότερη επίδραση έχει η αύξηση της υγρασίας και η αύξηση της θερμοκρασίας.

Ογκώδεις όμως υποκατάστατες του φωσφόρου προστατεύουν το άτομο του φωσφόρου από την προσβολή του από OH^- και σταθεροποιούν το μόριο.

Το φαινόμενο αυτό αποκτά μεγαλύτερη σημασία, όταν αντί του απλού ιόνιου υδροξυλίου αντιδρά το ογκώδες μόριο της ακετύλο-χοληνεστεράσης.

Η υδρόλυση των οργανοφωσφορικών αναστέλλεται από πολλές αζωτούχες ενώσεις.

5.2. Οξείδωση

Το θείο των υποκατάστατων αποτελεί το κύριο κέντρο οξείδωσης. Η οξείδωση συμβάλλει στην αύξηση της δυνατότητας υδρόλυσης της ένωσης και επομένως στην αντιχολινεστερασική δραστηρότητά της.

5.3. Ισομερισμός

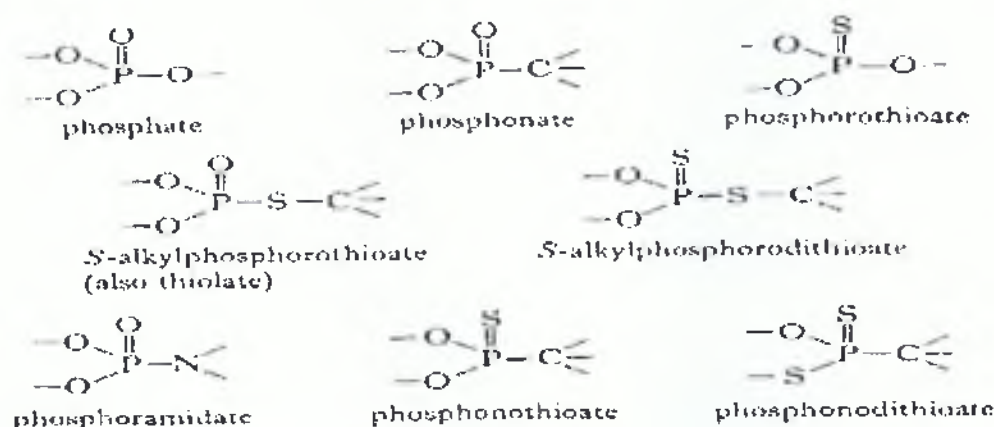
Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις μεταπίπτουν στα ισομερή τους. Η ισομερίωση αυτή φέρνει σημαντικές μεταβολές στις ιδιότητες αυτών των

ενώσεων. Στην περίπτωση ύπαρξης διπλού δεσμού στην οργανοφωσφορική ένωση παρατηρείται *cis-trans* ισομερισμός.

5.4. Τρανσαλκυλίωση

Η αντίδραση αυτή λαμβάνει χώρα σε αποθηκευμένα δείγματα και υδατικά διαλύματα. Συμβάλλει στην αύξηση της τοξικότητας του φαρμάκου και επομένως στην ελάττωση της θανατηφόρου δόσης (Μουρκίδης, 1974).

Ο μεταβολισμός των καρβαμιδικών στα φυτά είναι απλούστερος. Η κυριότερη οδός μεταβολισμού των είναι η απομάκρυνση της ομάδας OC (O) NHCH₃ από το μόριό τους. Οι πυρεθρίναι αποικοδομούνται είτε με οξείδωση είτε με υδρόλυση (Miyamoto and Sujuki, 1973).



Εικόνα 1.2. Είδη χαρακτηριστικών ομάδων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

Η δειγματοληψία από κάθε πειραματικό τεμάχιο πρέπει να είναι αντιπροσωπευτική και σύμφωνη με τις οδηγίες του FAO / WHO(1986) και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (79 / 700 / EC).

Τα δείγματα πρέπει να είναι υγιή φυτά ή μέρη φυτών και κανονικής ανάπτυξης, όμοια με αυτά που προωθούνται στο εμπόριο, ενώ δεν πρέπει να απομακρύνονται τα επιφανειακά κατάλοιπα των γεωργικών φαρμάκων. Πρέπει όμως να αποφεύγεται κάθε πιθανή μόλυνση των δειγμάτων από γεωργικά φάρμακα που μπορεί να προκύψει από τα εργαλεία συγκομιδής ή τη μεταφορά των δειγμάτων και για το σκοπό αυτό πρώτα συλλέγεται το δείγμα του μάρτυρα.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η σωστή σήμανση των δειγμάτων, όπως επίσης και η μεταφορά τους κατά την οποία πρέπει να αποφεύγονται οι υψηλές θερμοκρασίες. Ιδιαίτερη σημασία στην μεταφορά και φύλαξη των δειγμάτων για ανάλυση υπολειμμάτων έχει η συσκευασία και ο τρόπος μεταφοράς και φύλαξης (Σύσταση της ΕΕ, 1999/333).

Η αποθήκευση των δειγμάτων που προορίζονται για ανάλυση υπολειμμάτων γίνεται μόλις φθάσουν στο εργαστήριο σε καταψύκτες με θερμοκρασία -20 °C, στην οποία η υποβάθμιση των γεωργικών φαρμάκων πραγματοποιείται με εξαιρετικά χαμηλή ταχύτητα.

Πιστεύεται ότι το 50 % όλων των λαθών, στις αναλύσεις του περιβάλλοντος προέρχονται από τη μη κανονική δειγματοληψία.

Ένα άλλο σοβαρό πρόβλημα κατά τη φάση δειγματοληψίας έχει να κάνει με την τηρούμενη ιχνηλασιμότητα των δειγμάτων κατά τη μεταφορά τους στο εργαστήριο. Η ιχνηλασιμότητα βασίζεται στις κωδικοποιήσεις των δειγμάτων και την αυστηρή τήρηση αρχείων κατά την παραλαβή, μεταφορά και παράδοση δειγμάτων στα εργαστήρια.

Οι τρεις αυτές φάσεις είναι συνδεδεμένες και πρέπει να γίνονται σε οριακό χρόνο που επιτρέπει η μεθοδολογία ανάλυσης (Αλμπάνης, 1993).

Για να αποτραπούν αυτά τα προβλήματα πρέπει να έχουμε υπόψη μας τους 5 παράγοντες για τον έλεγχο της δειγματοληψίας οι οποίοι είναι :

1. Η ασφάλεια του ατόμου που εκτελεί την δειγματοληψία,
2. Η εξασφάλιση αντιπροσωπευτικού δείγματος κάθε φορά που γίνεται ο έλεγχος.
3. Η παρεμπόδιση και προφύλαξη του δείγματος από πιθανές μολύνσεις,
4. Η τήρηση αρχείων από την παραλαβή των δειγμάτων μέχρι την τελευταία διαδικασία καταστροφής δειγμάτων,
5. Η προστασία των δειγμάτων από χημικές, φυσικές ή βιολογικές μεταβολές κατά την μεταφορά, φύλαξη και κατά τη διάρκεια ανάλυσης (Legendre et al., 1979, 1999/333/EC).

Η εφαρμογή της δειγματοληψίας ακολουθεί την εξής σειρά:

- ✓ δειγματοληψία αγρού
- ✓ δειγματοληψία του εργαστηρίου. Το εργαστηριακό δείγμα θα αποτελείται από 500-1000g
- ✓ αναλυτικό δείγμα
- ✓ καταγραφή των Δειγμάτων
- ✓ αποθήκευση των δειγμάτων

6.1. Ποιοτικός και Ποσοτικός Προσδιορισμός Υπολειμμάτων

Η διαδικασία αυτή ξεκινάει με την ορθή δειγματοληψία, την προετοιμασία των δειγμάτων την ομοιογενοποίηση, την εκχύλιση, τον καθαρισμό και την ανάλυση. Κατά τη διαδικασία αυτή η προσοχή πρέπει να στρέφεται στη

καθαρότητα των σκευών, των διαλυτών, των αντιδραστηρίων καθώς και στην ετοιμότητα των οργάνων.

Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων ως μέρος της Αναλυτικής Χημείας διέπεται από τις ίδιες απαιτήσεις που συνεπάγεται η αξιόπιστη και ευαίσθητη ανάλυση. Επιπλέον όμως έχει τις εξής ιδιαιτερότητες:

- ✓ Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων είναι πολύ μικρές
- ✓ Το φυτικό υπόστρωμα μεταβάλλεται και επηρεάζει την ανάλυση
- ✓ Το ιστορικό των δειγμάτων είναι πολλές φορές άγνωστο.

Οι μέθοδοι υπολειμμάτων διακρίνονται σε ειδικές (specific), όταν προσδιορίζουν ένα γεωργικό φάρμακο και σε πολυυπολειμματικές (multiresidue) όταν προσδιορίζουν συγχρόνως πολλά γεωργικά φάρμακα. Η αξιολόγηση μίας αναλυτικής μεθόδου καθορίζεται από τους παρακάτω παράγοντες:

- ✓ Εξειδίκευση (specificity), δηλαδή ο αριθμός των ουσιών που μπορούν να ανιχνευθούν με την ίδια αυτή μέθοδο.
- ✓ Εκλεκτικότητα (selectivity), που αναφέρεται στην ικανότητα ανίχνευσης μίας ή περισσότερων σχετικών ουσιών σε ένα μίγμα ξένων ουσιών.
- ✓ Ευαισθησία (sensitivity) στην ανάλυση.
- ✓ Χαμηλό κατώτατο όριο ανίχνευσης.

6.2. Ποσοτικές μέθοδοι

Οι κύριες φάσεις μίας ποσοτικής αναλυτικής μεθόδου για υπολείμματα φυτοφαρμάκων είναι οι εξής :

1. προετοιμασία των δειγμάτων
2. εκχύλιση
3. καθαρισμός (Clenup)

4. διαχωρισμός
5. ανίχνευση και ποσοτικός προσδιορισμός

6.3. Επιλογή Μεθόδου

Τα κριτήρια επιλογής για μια αναλυτική μέθοδο έχουν να κάνουν με την αξιοπιστία της, τις ιδιότητες του υποστρώματος, και τις ιδιότητες του ανιχνευτή που θα χρησιμοποιηθεί στην ανάλυση.

Βάσει αυτών των κριτηρίων οι μέθοδοι χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες

1. υψηλής υγρασίας, χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (φρούτα και λαχανικά)
2. υψηλής υγρασίας, υψηλής λιποπεριεκτικότητας (κρέας)
3. χαμηλής υγρασίας, χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (ξηροί καρποί)
4. χαμηλής υγρασίας, υψηλής λιποπεριεκτικότητας (cocoa beans)

Υψηλή υγρασία θεωρείται η περιεκτικότητα 75% και άνω σε νερό ενώ χαμηλής λιποπεριεκτικότητας είναι τα δείγματα που περιέχουν 2% λίπος.

Ανάλογα με την περιεκτικότητα των τροφίμων σε λίπος, υγρασία και υδατάνθρακες έχει γίνει λεπτομερώς καταχώριση των μεθόδων αναλύσεις τροφίμων από τους Luke και Masumoto (Luke and Masumoto, 1986). Η πολικότητα των δραστικών ουσιών, οι αντιδράσεις, η θερμική σταθερότητα και οι οργανικοί διαλύτες κατανομής επιδρούν στην ανάκτηση των υπολειμμάτων από το υπόστρωμα. Από την άλλη πλευρά η διαδικασία καθαρισμού και το είδος του ανιχνευτή που θα χρησιμοποιηθεί στην ανάλυση μας δίνουν τη δυνατότητα επιλογής μιας μεθόδου και τον αναλυτικό εξοπλισμό που θα χρησιμεύσει στην ανάλυση (Lebreton et al., 1999).

6.4. Εκχύλιση

Στόχος αυτής της διαδικασίας είναι η ανάκτηση όσο το δυνατόν πληρέστερα των υπολειμμάτων με χρήση οργανικών διαλυτών (King et al., 1998, Lebreton et al., 1999).

Συνήθως το δείγμα που υποβάλλεται σε εκχύλιση κυμαίνεται από 250g μέχρι και 5 g. Ο παραδοσιακός τρόπος εκχύλισης γίνεται μεταφέροντας το αναλυτικό δείγμα βάση της εφαρμοζόμενης μεθόδου σε ένα ομοιογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, 3.000-5.000 στροφές το λεπτό. Το δείγμα αναμειγνύεται με οργανικό διαλύτη. Οι πιο συνηθισμένοι διαλύτες είναι η ακετόνη (CH_3COCH_3), ο οξικός αιθυλεστέρας ($\text{CH}_3\text{COOCH}_3$) και το ακετονιτρίλιο (CH_3CN). Σ' αυτό το μίγμα προστίθεται άνυδρο χλωριούχο νάτριο (NaCl) ή άνυδροθειικό νάτριο (Na_2SO_4) για την απορρόφηση του ύδατος και τον καλό διαχωρισμό των φάσεων (Garabrant et al., 2001).

Στην ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων χρησιμοποιούνται διαλύτες υψηλότερης καθαρότητας, πρώτον γιατί οι ουσίες που θα ανιχνευτούν είναι σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση και δεύτερο διότι η ανίχνευση έχει να κάνει με πολύ ευαίσθητα συστήματα. Στο εμπόριο υπάρχουν διαλύτες υψηλής καθαρότητας pesticides analysis που οι προσμίξεις τους είναι πολύ χαμηλές. Ο καθαρισμός των διαλυτών όταν δεν είναι της απαιτούμενης καθαρότητας γίνεται με απόσταξη ή με άλλους τρόπους, όπως είναι η χρωματογραφία προσρόφησης, διήθηση από ηθμούς διαμέτρου πόρων 0,5 μm και ελέγχονται για την απορρόφησή τους στο υπεριώδες (Cremlyn, 1985). Πριν από την εκχύλιση οι διαλύτες μπορούν να ελεγχθούν με χρωματογραφία και μετά να χρησιμοποιηθούν για εκχύλιση.

Τα παρακάτω κριτήρια πρέπει να λαμβάνονται υπόψη προκειμένου για την επιλογή του διαλύτη:

- έλλειψη αντίδρασης μεταξύ του διαλύτη και των γεωργικών φαρμάκων

- η πολικότητα των γεωργικών φαρμάκων
- το ποσοστό διαλυτότητας των δραστικών ουσιών στους διάφορες διαλύτες
- ο τύπος του προς ανάλυση δείγματος
- η τοξικότητα του διαλύτη
- η πτητικότητα του διαλύτη
- η καθαρότητα του διαλύτη
- το κόστος του διαλύτη
- ο τύπος της μεθόδου (ειδική ή πολυϋπολειμματική) για την εκχύλιση υδρόφιλων γεωργικών φαρμάκων χρησιμοποιούνται υδρόφιλοι διαλύτες και αντίστοιχα λιπόφιλοι διαλύτες για λιπόφιλα γεωργικά φάρμακα.

Η ποσότητα του άνυδρου άλατος μειώνεται ή αυξάνεται ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας ή ύδατος του δείγματος (Freason, 1987).

Το είδος του δείγματος καθορίζει το ποσοστό του άνυδρου και το είδος των διαλυτών που θα χρησιμοποιηθούν στην εκχύλιση.

Η ανάμειξη του διαλύτη του άνυδρου άλατος και του δείγματος αναφοράς γίνεται σε υψηλή ταχύτητα για 1-2 min.

Μετά τη διαδικασία όλο το μείγμα πρέπει να ηρεμήσει για 2-3 λεπτά μέχρι που να ξεχωρίσει η οργανική φάση. Η οργανική φάση παραλαμβάνεται με διήθηση και έτσι ακολουθεί η φάση του καθαρισμού.

6.5. Καθαρισμός

Τα ακατέργαστα εκχυλίσματα καθαρίζονται μερικώς πριν από τον διαχωρισμό και την ανίχνευση. Η ανάγκη για περαιτέρω καθορισμό εξαρτάται από τις απαιτήσεις του αναλυτικού οργάνου των ανιχνευτών, που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των γεωργικών φαρμάκων ή άλλων τοξικών ουσιών, το είδος της χρωματογραφίας στο διαχωρισμό των ουσιών και το είδος του δείγματος.

Ο όρος καθαρισμός στον προσδιορισμό υπολειμμάτων εκφράζει τις χημικές διεργασίες στις οποίες υποβάλλεται το εκχύλισμα προκειμένου να απομονωθούν τα γεωργικά φάρμακα από τα υπόλοιπα φυτικά συνεκχυλίσματα που αποτελούν τα κύρια συστατικά που παρεμποδίζουν τη μέτρηση και μικραίνουν τη ζωή των στηλών και των ευαίσθητων ανιχνευτών της χρωματογραφίας. Τα φυτικά συνεκχυλίσματα μπορεί να είναι χημικές ενώσεις των κατηγοριών: πτητικές αμίνες, φαινόλες, οργανικά οξέα, σάκχαρα, φυτικά λίπη και έλαια, χλωροφύλλη κ.α.

Γενικότερα ο καθαρισμός των δειγμάτων είναι μια χρονοβόρα διαδικασία και απαιτεί μεγάλη προσοχή επειδή επηρεάζει το σφάλμα της αναλυτικής μεθόδου.

Σε αυτή τη φάση της ανάλυσης οι ουσίες (φυτοφάρμακα) διαχωρίζονται από τα συνεκχυλίσματα, τα οποία εμποδίζουν την ανίχνευση των γεωργικών.

Τα υπολείμματα καθαρίζονται μερικές φορές από μια χρωματογραφική στήλη με τη διαδικασία της προσρόφησης. Για την προσρόφηση χρησιμοποιείται γυάλινη στήλη με διαστάσεις 10 - 20 cm x 2,5 cm γεμισμένη με Florisil, αλουμίνα (Al_2O_3), διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2) ή ενεργό άνθρακα.

Συνήθως η γέμιση της στήλης (στατική φάση) επιλέγεται με βάση το φυτικό υπόστρωμα. Η κινητή φάση μπορεί να είναι οργανικός διαλύτης ή μίγμα διαλυτών. Ο διαχωρισμός των ουσιών στηρίζεται στη διαφορετική προσρόφηση των ουσιών πάνω στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού.

Το εκχυλισμένο δείγμα (οργανική φάση) μεταφέρεται στην κορυφή της στήλης. Με τη βοήθεια των διαλυτών έκλουσης οι ουσίες μετακινούνται με διαφορετική ταχύτητα η κάθε μια ανάλογα με την βαθμό προσρόφησης της κάθε μίας πάνω στη στατική φάση. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι η ακετόνη, το κυκλοεξανίο το μεθυλένο-χλωρίδιο κ.α. (Nielsen, 1998).

Στον καθαρισμό αυτό σημασία έχει η πολικότητα και η εκλεκτικότητα του διαλύτη. Η πολικότητα (polarity) καθορίζεται ως η ικανότητα του διαλύτη να διαλύει πολικές ουσίες με μέτρο το δείκτη πολικότητας (polarity index) P^1 που καθορίστηκε από τον Rohrschneider (Rohrschneider, 1973).

Στην περίπτωση μίγματος διαλυτών A και B ο συνολικός δείκτης πολικότητας δίνεται από τη σχέση:

$$P^1 = \Phi_A P_{A1} + \Phi_B P_{B1}$$

Όπου

$P_{A1} P_{B1}$ οι τιμές του δείκτη πολικότητας των A και B

Φ_A, Φ_B τα κλάσματα των όγκων των A και B.

Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία η συμπεριφορά περισσότερων από 200 υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο προσροφητικό υλικό Florisil (FDA, 1985).

Όταν γνωρίζουμε την πολικότητα ενός γεωργικού φαρμάκου, τότε το προσροφητικό υλικό και ο διαλύτης έκλουσης μπορούν να επιλεγθούν. Τα περισσότερα προσροφητικά υλικά αποτελούνται από σφαιρικά ομοιόμορφα σωματίδια, διαμέτρου 0,1-0,2 mm. Πολλές φορές απαιτείται ενεργοποίηση του προσροφητικού υλικού, που γίνεται με την προσθήκη ορισμένης ποσότητας νερού.

6.5.1. Εναλλακτικές Τεχνικές Καθαρισμού

Κύριο πλεονέκτημα των εναλλακτικών μορφών καθαρισμού είναι ότι μειώνουν τον απαιτούμενο χρόνο, προκειμένου να ολοκληρωθεί η φάση του καθαρισμού και μειώνουν την ποσότητα του καταναλισκώμενου διαλύτη. Η

εξοικονόμηση του τελευταίου σχετίζεται με τη μείωση του κόστους της ανάλυσης (Robert, 1985).

Παρακάτω παρουσιάζονται οι κυριότερες εναλλακτικές τεχνικές καθαρισμού:

Εκχύλιση στερεάς – φάσης

Μία μικρή ποσότητα στερεού με διάμετρο κόκκων 30-40 μm , που περιέχεται σε ένα σωλήνα πολυπροπυλενίου ή γυάλινο σε ποσότητα 30 mg -10 g προσροφητικού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το καθαρισμό των εκχυλισμένων φυτοφαρμάκων πριν προσδιοριστούν στο χρωματογράφο (Nielsen, 1998). Τυπικά η κατακράτηση είναι -5% της μάζας του καθαριστικού υλικού.

Ο ελάχιστος όγκος έκλουσης είναι μόνο 120 μL ανά 100 mg υλικού γέμισης (packing material).

Υπάρχει μια μεγάλη γκάμα τέτοιων σωληνάρων με επιλογή εκλεκτικότητας ανάλογα με τα φάρμακα που θέλουμε να προσδιορίσουμε.

Μικροεκχύλιση στερεά φάσης

Η τεχνική της (SPME) χρησιμοποιεί μια ίνα καλυμμένη με ένα πολυμερές υλικό που τοποθετείται εντός του υγρού εκχυλίσματος ή συγκρατείται στην αέρια φάση εντός του κενού του δείγματος, η οποία δίνει τη δυνατότητα στη υπολειμματική ουσία να διαχυθεί μέσα στο στρώμα επικάλυψης. Ύστερα από την ισορροπία των φάσεων το πολυμερές σώμα μαζί με τη βελόνα μεταφέρεται στον εισαγωγέα του GC όπου οι ουσίες με την επίδραση της θερμότητας εκροφούνται μέσα στη στήλη. Τα εξαρτήματα προσαρμογής, για να εφαρμοστεί αυτή η τεχνική στην υπάρχουσα αεροχρωματογραφία, υπάρχουν στο εμπόριο

Διαλυτική εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων

Η μέθοδος αυτή μειώνει αισθητά το χρόνο εκχύλισης και είναι αποτελεσματική στην ανάκτηση των ουσιών από το υπόστρωμα των τροφίμων. Το εμπορικό σύστημα για ταυτόχρονη εκχύλιση πολλών δειγμάτων μέσα σε κλειστό και υπό πίεση δοχείο μπορεί να αυτοματοποιηθεί στις συνθήκες ενός εργαστηρίου. Τα δείγματα τοποθετούνται σε ένα γραμμικό στήριγμα με 8-12 φιαλίδια με την ίδια εσωτερική πίεση. Με μια οπτική ίνα μπορεί να ελεγχθεί με ακρίβεια η θερμοκρασία στο εσωτερικό του κλειστού δοχείου. Μετά την εκχύλιση τα φιαλίδια πρέπει να ψύχονται στη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι ο χειρισμός

- 1) των θερμοκρασιών όταν αυτές ξεπεράσουν το σημείο ζέσεως του διαλύτη,
- 2) η γρήγορη μεταφορά των υπολειμμάτων στη διαλυτική φάση και
- 3) ο προγραμματισμός της διαδικασίας.

Η επιταχυνόμενη διαλυτική εκχύλιση

Η τεχνική αυτή έχει να κάνει με τη χρησιμοποίηση περιορισμένων ποσοτήτων συμβατικών διαλυτών σε υψηλές θερμοκρασίες (μέχρι 200 °C) και πιέσεις (1500-2000 psi) ώστε να εκχυλίζει στερεά δείγματα σε μικρό χρονικό διάστημα (συνήθως < 10 min).

Η διαδικασία αυτή μοιάζει με την τεχνική μικροκυμάτων με τη μόνη διαφορά ότι τα μικροκύματα αντικαθίστώνται από συμβατική θέρμανση. Στο τέλος της εκχύλισης ο απομένων διαλύτης μεταφέρεται στο φιαλίδιο με τη βοήθεια συμπιεσμένου αέρα.

6.5.2. Η αξιολόγηση μεθόδου

Η αξιολόγηση αυτή βασίζεται:

- ✓ στην ιδιαιτερότητα που απαιτείται για το συγκεκριμένο προϊόν ανάλυσης

- ✓ στην ακρίβεια (ενδοεργαστηριακή επαναληπτικότητα και διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα)
- ✓ στα ποσοστά ανάκτησης που εξασφαλίζουν οι προτεινόμενες μέθοδοι στις κατάλληλες συγκεντρώσεις
- ✓ από τα όρια ανίχνευσης και προσδιορισμού των προτεινόμενων μεθόδων
- ✓ από τα υπολείμματα της δραστικής ουσίας, των μεταβολιτών, των προϊόντων αποδόμησης ή αντίδρασης, τα οποία προέρχονται από τις εγκεκριμένες χρήσεις του φυτοπροστατευτικού προϊόντος και τα οποία έχουν τοξικολογική, οικοτοξικολογική ή περιβαλλοντική σημασία.

Στην επιλεγθείσα μέθοδο εκχύλισης ελέγχεται η απόδοσή της, ενώ για τη βελτίωση της απόδοσής της μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαδοχικές εκχυλίσεις.

6.6. Η βαθμονόμηση (calibration)

Η βαθμονόμηση είναι η διαδικασία που ένα αναλυτικό σήμα συσχετίζεται με την ποσότητα της εξεταζόμενης ουσίας στο δείγμα. Τα αναλυτικά αυτά σήματα μπορεί να είναι: τιτλοδοτημένοι όγκοι, millivolts (τάση), picoamps (ένταση), επιφάνεια κορυφών, ύψος κορυφής, απορρόφηση ακτινοβολίας, εκπομπή φωτός, βάρος υπολειμμάτων. Η διαδικασία αυτή σε μερικές αναλύσεις τιτλοδότησης στηρίζεται σε ένα σημείο βαθμονόμησης (single point). Στην περίπτωση αυτή η σύγκριση γίνεται χρησιμοποιώντας ένα σταθερό πρότυπο με το οποίο συγκρίνουμε όλες τις μετρήσεις. Για μετρήσεις όμως σε πλήθη δειγμάτων σε πολλές αναλυτικές μεθόδους απαιτούνται πολλά σημεία για τη πλήρη βαθμονόμηση. Όλες οι καμπύλες βαθμονόμησης (calibration) έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό: έχουν ένα χαμηλότερο και ένα ψηλότερο όριο της καμπύλης.

Το χαμηλότερο όριο υπάρχει όταν τα αποτελέσματα συμπίσουν με την στάθμη ηλεκτρονικού θορύβου του οργάνου μέτρησης. Το ανώτερο όριο

εμφανίζεται όταν για συγκεντρώσεις πάνω από κάποιο όριο παύει να υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ του μετρούμενου σήματος και της αντίστοιχης συγκέντρωσης. Οι καμπύλες βαθμονόμησης μπορούν να έχουν είτε θετική είτε αρνητική κλίση ανάλογα με το αν η συσχέτιση είναι θετική ή αρνητική.

Για οποιαδήποτε βαθμονόμηση υπάρχει το υψηλότερο και χαμηλότερο όριο βαθμονόμησης που καθορίζεται το εύρος της βαθμονόμησης.

Η ανεπαρκής αναλυτική πρακτική μερικές φορές κάνει να δηλώνονται συγκεντρώσεις της αναλυόμενης ουσίας πιο κάτω ή πιο πάνω της καμπύλης βαθμονόμησης. Οι απαιτήσεις είναι τέτοιες που αν ένα εργαστήριο δηλώσει ένα κατώτατο όριο ανίχνευσης μιας ουσίας πρέπει οπωσδήποτε αυτή η τιμή να ανήκει μέσα στο εύρος της καμπύλης βαθμονόμησης.

6.6.1. Αναλυτική βαθμονόμηση και χρωματογραφική ολοκλήρωση. Βασικές απαιτήσεις για αποδεκτή βαθμονόμηση

Σύμφωνα με την Σύσταση της ΕΕ (1999 / 333 / EC), όταν μια αναλυτική παρτίδα περιλαμβάνει δείγματα με ποσότητες υπολειμμάτων γύρω ή κάτω από το Κατώτατο Όριο Βαθμονόμησης (ΚΟΒ), η απόκριση του ανιχνευτή στον αναλύτη στο επίπεδο του ΚΟΒ πρέπει να είναι ποιοτικά διακριτή και μετρήσιμη. Όταν η απόκριση στο υπόψη ΚΟΒ δεν είναι η ενδεδειγμένη, τότε ως ΚΟΒ πρέπει να υιοθετείται ένα υψηλότερο όριο βαθμονόμησης που πληρεί τα κριτήρια. Γενικά, ως ελάχιστος λόγος σήματος προς θόρυβο (S / N) για το ΚΟΒ γίνεται δεκτός ένας λόγος της τάξεως του 3:1, αν και αυτό μπορεί να ισχύει και σε αθροιστικά σήματα, π.χ. με δεδομένα MS. Αν και στο λόγο S / N ο θόρυβος εκφράζεται συχνά ως "ηλεκτρονικός" ή ως θόρυβος "ανιχνευτή", πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη και ο "χημικός θόρυβος" από συνεκλούμενες παρεμποδίζουσες ουσίες (Smith, 1982).

Βαθμονόμηση με παρεμβολή μεταξύ δύο επιπέδων είναι δεκτή όταν οι παράγοντες μέσης αποκρίσεως για κάθε επίπεδο δείχνουν γραμμικότητα στην απόκριση (δηλαδή ο χαμηλότερος είναι τουλάχιστον στο 90 % του υψηλότερου παράγοντα απόκρισης). Όταν χρησιμοποιούνται τρία ή περισσότερα επίπεδα, μπορεί να δημιουργηθεί μια κατάλληλη γραμμή βαθμονόμησης. Η γραμμή βαθμονόμησης δεν θα πρέπει κανονικά να διέρχεται υποχρεωτικά από την αρχή των αξόνων. Όταν οι υπολογισμοί γίνονται με ηλεκτρονικό υπολογιστή, η προσαρμογή της βαθμονόμησης πρέπει να ελέγχεται οπτικά, αποφεύγοντας την εξάρτηση από συντελεστές συσχετισμού, ώστε να διασφαλίζεται ότι η προσαρμογή είναι ικανοποιητική στην περιοχή που αφορά τα ανιχνευόμενα υπολείμματα. Όταν η διαφορά μεταξύ επιπέδων βαθμονόμησης είναι μεγάλη και η παρεμβολή είναι αμφισβητήσιμη, τα επιμέρους επίπεδα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βαθμονομήσεις ενός μόνου σημείου.

Ο υπολογισμός των υπολειμμάτων ή των δεδομένων ανάκτησης με προέκταση από το ή τα βαθμονομημένα επίπεδα μπορεί να εισαγάγει ανακρίβειες ανάλογα με το βαθμό προέκτασης.

Ο υπολογισμός από ένα μοναδικό σημείο βαθμονόμησης είναι πολύ πιθανό να χρειάζεται προέκταση και προϋποθέτει γραμμική απόκριση, με το σημείο τομής στην αρχή των αξόνων.

Η προέκταση είναι αποδεκτή για τον υπολογισμό αποτελεσμάτων που υπερβαίνουν το ΚΟΒ, εάν η απόκριση δείγματος είναι στα πλαίσια του + 10 % της απόκρισης βαθμονόμησης όταν εμφανίζεται υπέρβαση του Μέγιστου Ορίου Υπολογισμού ή στα πλαίσια του + 50 % όταν δεν εμφανίζεται υπέρβαση του Μέγιστου Ορίου Υπολογισμού. Όταν το επίπεδο προσθήκης για ανάκτηση αντιστοιχεί στο ΚΟΒ, ανάκτηση < 100 % μπορεί να υπολογιστεί με προέκταση, αν και η εκτίμηση μπορεί να είναι ανακριβής (Smith, 1982).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

7.1. Η θεωρία της χρωματογραφίας

7.1.1. Η απόδοση του διαχωρισμού

Ο καλός διαχωρισμός στη χρωματογραφία διακρίνεται από τις στενές κορυφές στη βάση τους και από τον ικανοποιητικό διαχωρισμό των ουσιών, γεγονός το οποίο δεν επιτυγχάνεται πάντα στη χρωματογραφία. Η ικανότητα διαχωρισμού κάθε στήλης μετράται με τις λεγόμενες θεωρητικές πλάκες (HETP). Αυτή η ικανότητα μετράται με τον αριθμό (N) των πλακών στη στήλη και από το μήκος (L) της στήλης. Μία καλή στήλη "packed" (γυάλινη) μπορεί να έχει $N=5.000$ ενώ μια καλή τριχοειδή στήλη έχει γύρω στα 3.000-4.000 πιάτα, για κάθε μέτρο και στο σύνολο 100.000-500.000 πιάτα (εξαρτώμενη από το μήκος της στήλης).

7.1.2. Το φέρον αέριο, η ροή και οι παράμετροι της στήλης

Οι κύριοι παράγοντες που επιδρούν για την απόδοση μίας στήλης είναι:

1. ο υψηλός ισοδύναμος συντελεστής των θεωρητικών πλακών
2. η διάχυση ή εξάπλωση της ουσίας
3. το πλάτος της κορυφής που οφείλεται στη διάχυση
4. η ταχύτητα της κινούμενης φάσης
5. η αντίσταση που παρουσιάζει η σταθερή φάση

Η σχέση ανάμεσα σ' αυτούς τους παράγοντες δίνεται από την εξίσωση του Van Deemter

$$HETP = A \times W^{1/3} + B/W + C \times W$$

HETP = το ύψος ισοδύναμος με μία θεωρητική πλάκα (James and Martin, 1952)

A= διάχυση της ουσίας

B= το πλάτος της κορυφής οφειλόμενο στη διάχυση

W= η ταχύτητα της κινούμενης φάσης

C= αντίσταση της σταθερής φάσης

Στις τριχοειδείς στήλες το A είναι σχετικά πολύ μικρό. Εν τούτοις καθώς η διάμετρος της στήλης αυξάνεται η ροή του αερίου γίνεται όλο και πιο τυρβώδης με αποτέλεσμα να αυξάνεται το πλάτος των κορυφών .

Την καλύτερη απόδοση την έχουν οι τριχοειδείς στήλες με μικρή διάμετρο (0,1mm) και η αποδοτικότητα μειώνεται γρήγορα με την αύξηση της διαμέτρου της στήλης (megabore columns).

Όσο η αποδοτικότητα της στήλης αυξάνεται με τη μείωση της διαμέτρου της στήλης τόσο πιο γρήγορα μειώνεται η ικανότητά της (capacity). Στήλες μικρής διαμέτρου υπερφορτώνονται εύκολα με 1-5 ng ανά δραστική ουσία δίνοντας πάλι υποβαθμισμένο χρωματογράφημα.

Οι μικροδιαμετρικές στήλες (microbore) υπερφορτώνονται εύκολα. Γενικά οι καλύτερες στήλες (τριχοειδείς) έχουν διάμετρο από 0,2-0,32 mm με μεγάλη αποδοτικότητα και δυνατότητα ανάλυσης.

Όταν το φέρον αέριο κινείται με χαμηλή ροή η διάχυση της ποσότητας της ουσίας θα είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με την περίπτωση που το φέρον αέριο έχει μεγαλύτερη ροή.

Το C είναι η αντίσταση της κινητής μάζας. Αν η ροή W είναι επίσης μεγάλη, τότε η ισορροπία ανάμεσα στις φάσεις εγκαθίστανται δύσκολα και η αποδοτικότητα της στήλης θα είναι μειωμένη. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την αντίσταση C είναι το πάχος της σταθερής φάσης και η ομοιομορφία της εσωτερικής κάλυψης της στήλης.

Αύξηση του πάχους ή της πυκνότητας του film δίνει καλύτερη αντοχή σε ποσότητα δείγματος αλλά όσο μεγαλώνει τόσο μειώνεται η διαχωριστική ικανότητα της στήλης.

Η σχέση ανάμεσα στην παράμετρο HETP και τη ροή του φέροντος αερίου επηρεάζεται από την επιλογή του φέροντος αερίου. Το άζωτο (N) είναι το πιο αποτελεσματικό αλλά έχει βέλτιστη απόδοση σε χαμηλή ροή, οπότε αυξάνει ο χρόνος ανάλυσης.

Το ήλιο He είναι το επόμενο καλύτερο φέρον αέριο και είναι το πιο κοινό χρησιμοποιημένο στην πράξη. Το υδρογόνο είναι γενικότερα η καλύτερη επιλογή επειδή δίνει υψηλή απόδοση αλλά έχει μικρή εξάρτηση από την ταχύτητα ροής και παρουσιάζει κίνδυνο ανάφλεξης.

7.2. Χρωματογραφία Αερίου Υγρού

Στην αέρια χρωματογραφία ο διαχωρισμός των ουσιών (αερίων ή πτητικών) βασίζεται στην κατανομή τους μεταξύ ενός μη πτητικού υγρού (στατική φάση), καθηλωμένου σε στερεό φορέα ή στα τοιχώματα ανοιχτών τριχοειδών στηλών και ενός αερίου (κινητή φάση, φέρον αέριο). Ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα από την στήλη με διαφορετικές ταχύτητες, που εξαρτώνται από τις τάσεις ατμών και συστατικών και από τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση (Schomburg, 1988). Όταν μια ουσία Α εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο ακαριαίως εξαερώνεται και παρασυρόμενη από την κινητή φάση εισέρχεται με αυτή στη στήλη. Στην περίπτωση του μίγματος ουσιών, όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής κατανομής μιας ουσίας (δηλαδή ο λόγος της συγκέντρωσης μιας ουσίας στη στατική φάση προς τη συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή φάση), τόσο βραδύτερα μετακινείται αυτή μέσα από τη στήλη και τόσο βραδύτερα εξέρχεται από αυτή (αύξηση t_R). Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται διαχωρισμός των συστατικών του μίγματος, λόγω διαφορετικών συντελεστών κατανομής αυτών.

7.2.1. Κυριότερα μέρη συστήματος αέριας χρωματογραφίας

Φέρον αέριο: Αποτελεί την κινητή φάση και πρέπει να είναι χημικά αδρανές ως προς το υλικό κατασκευής του αερίου χρωματογράφου, του πληρωτικού υλικού της στήλης και των διαχωρισθέντων ουσιών.

Ρυθμιστής πίεσης-ροόμετρο: Το φέρον αέριο από τη φιάλη, όπου βρίσκεται σε υψηλή πίεση, διαβιβάζεται μέσα από το ρυθμιστή πίεσης, όπου η πίεση του μειώνεται, και στη συνέχεια, μέσα από το ροόμετρο, με το οποίο μετράται με ακρίβεια η ταχύτητα του. Η ακριβής μέτρηση της ταχύτητας του φέροντος αερίου είναι απαραίτητη κυρίως όταν τακτοποιούνται ενώσεις γιατί οι χρόνοι συγκράτησης (δηλαδή ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ εισαγωγής του δείγματος στην στήλη και εμφάνισης του μέγιστου της κορυφής της ουσίας) εξαρτώνται άμεσα από την ταχύτητα.

Σύστημα εισαγωγής δείγματος: Το δείγμα εισάγεται με μικροσύριγγα. Στο στόμιο εισαγωγής υπάρχει ειδικό ελαστικό διάφραγμα (septum), το οποίο δρα ως βαλβίδα που επιτρέπει την είσοδο του δείγματος και παράλληλα αποτρέπει την έξοδο αυτού όπως και του φέροντος αερίου. Για την επίτευξη καλών διαχωρισμών πρέπει: 1) Η εισαγωγή του δείγματος να είναι ακαριαία (για να αποφευχθεί η διασπορά της ζώνης του δείγματος), 2) Ο όγκος του δείγματος να είναι όσο το δυνατό μικρότερος (η διαχωριστικότητα ελαττώνεται όταν η ποσότητα του δείγματος αυξάνεται) και 3) ο χώρος εισαγωγής του δείγματος να θερμαίνεται υψηλότερα από τη στήλη (σε θερμοκρασία υψηλότερη από τα σημεία ζέσεως των συστατικών του δείγματος), ώστε να επιτυγχάνεται άμεση εξαέρωση του δείγματος και παραλαβή των ατμών από το φέρον αέριο (Jennings, 1981).

Η ακρίβεια των χρωματογραφικών αναλύσεων εξαρτάται πάρα πολύ από την ακρίβεια και την επαναληπτικότητα της διαδικασίας εισαγωγής του δείγματος.

Γι' αυτό επιβάλλεται εξοικείωση με την τεχνική της ένεσης με μικροσύριγγα πριν από την έναρξη των πειραματικών αναλύσεων.

Κλίβανος: Ο χώρος εισαγωγής του δείγματος, η στήλη και ο ανιχνευτής θερμαίνονται.

Στην αέρια χρωματογραφία εμφανίζονται διακριτές κορυφές για ενώσεις, των οποίων μάλιστα τα σημεία ζέσεως βρίσκονται σε ευρεία περιοχή θερμοκρασιών, και μάλιστα σε πολύ μικρότερο χρόνο από ότι με την ισόθερμη λειτουργία της στήλης. Επιπλέον οι κορυφές είναι οξύτερες και περισσότερο ομοιόμορφες.

Αν αντίθετα προγραμματισθεί σταθερή θερμοκρασία στη στήλη καθ' όλη τη διάρκεια της χρωματογραφίας, οι κορυφές των πιο πτητικών ουσιών θα εμφανίζονταν ή μία κοντά στην άλλη και θα αλληλοκαλύπτονταν σε μεγάλο βαθμό, ενώ οι κορυφές των λιγότερο πτητικών ουσιών θα ήταν μικρού ύψους, πλατιές και σε ορισμένες περιπτώσεις θα απείχαν τόσο πολύ μεταξύ τους ώστε να μην ανιχνεύονται (Jennings, 1987).

Στήλη: Αποτελεί το σπουδαιότερο τμήμα του χρωματογράφου αφού σε αυτή γίνεται ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος. Στις πειραματικές εργασίες χρησιμοποιήθηκαν τριχοειδείς στήλες με μορφή σπειράματος από γυαλί μήκους 30 m επιστρωμένες με cross-linked 5% και 50% phenyl-methyl-silicone.

Ανιχνευτής: Με τον ανιχνευτή γίνεται φανερή η παρουσία καθενός από τα συστατικά του μίγματος, τα οποία εξέρχονται από τη στήλη και μετρίεται η ποσότητα ή η συγκέντρωσή τους μέσα στο φέρον αέριο.

7.3. Αξιολόγηση Στήλων Χρωματογραφίας

7.3.1. Προετοιμασία της στήλης

Οι καινούργιες στήλες πρέπει να προετοιμαστούν πριν τη χρήση τους ως ακολούθως:

Προστήλες (retention gaps)

Η χρήση προστήλης με μικρότερη ικανότητα κατακράτησης από την αναλυτική στήλη (retention gaps), συνιστάται για περιπτώσεις χρωματογραφίας υψηλής ανάλυσης επειδή:

- επιτρέπει την επανασυμπύκνωση λόγω της ύπαρξης ψυχρών σημείων των ζωνών του δείγματος που δημιουργήθηκαν κατά την ένεση.

- ανέχεται την συμπύκνωση του δείγματος.

- ανέχεται δείγματα που περιέχουν μεγάλες ποσότητες μη πτητικών συστατικών.

- επιτρέπει την αυτόματη δειγματοληψία

Η προστήλη λόγω της ανοχής της σε δείγματα που έχουν υποστεί συμπύκνωση περιορίζει το πρόβλημα ζώνη πλημμυρισμού (flooded zone).

Flooded zone (ζώνη πλημμυρισμού) είναι εκείνο το τμήμα της στήλης όπου η σταθερή φάση έχει επικαλυφθεί πλήρως από μία στοιβάδα υγρού δείγματος που κινείται αργά μέσα στην στήλη.

Η ύπαρξη αυτής της υγρής στοιβάδας περιορίζει δραστικά την απόδοση της στήλης λόγω της παρεμβολής με την διεργασία του χρωματογραφικού διαχωρισμού. Χρησιμοποιώντας προστήλη ή ζώνη πλημμυρισμού (flooded-zone) περιορίζεται σε ένα μέρος της στήλης όπου δεν συμβαίνει χρωματογραφικός διαχωρισμός. Το πρόβλημα flooded zone (ζώνη πλημμυρισμού) δημιουργεί με την σειρά του ένα δεύτερο πρόβλημα. Συμπυκνωμένος διαλύτης εκ του δείγματος έρχεται σε επαφή με την στατική

φάση της στήλης. Η επαφή αυτή έχει ως αποτέλεσμα την φθορά της στατικής φάσης και την δημιουργία πηγών επιμόλυνσης οδηγώντας σε μια βαθμιαία πτώση της αναλυτικής διαχωριστικής ικανότητας του συστήματος (General Inspectorate for Health Protection).

7.3.2. Εγκατάσταση στηλών

Κατά την εγκατάσταση στηλών λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα:

Ο ανεμιστήρας του κλιβάνου πρέπει να είναι εκτός λειτουργίας κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης ώστε να αποφευχθεί σε περίπτωση θραύσης της στήλης η διασπορά θραυσμάτων γυαλιού.

Για να αποφευχθούν καυτά σημεία τοπικής υπερθέρμανσης στη στήλη κανένα σημείο της στήλης δεν πρέπει να αγγίζει τα τοιχώματα του κλιβάνου. Κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης κρατείται σταθερά η στήλη και από τα δύο άκρα προσέχοντας να μη σπάσει.

7.3.3. Εξισορρόπηση στήλης

Η καλύτερη αναλυτικά απόδοση του συστήματος απαιτεί της εξισορρόπηση τουλάχιστον για 12 ώρες σε θερμοκρασία 10 °C κάτω από το όριο θερμικής αντοχής της στήλης. Η ροή του φέροντος αερίου πρέπει να είναι 7mL/min και η βάση του ανιχνευτή πρέπει να θερμαίνεται.

Η κεφαλή και το ακροφύσιο του ανιχνευτή πρέπει να απομακρυνθούν από το σώμα του ανιχνευτή κατά τη διάρκεια εξισορρόπησης της στατικής φάσης ώστε να αποφευχθούν τυχόν προβλήματα από τη συμπύκνωση της στατικής φάσης επί του ανιχνευτή.

Εξισορρόπηση των καινούργιων στηλών είναι απαραίτητη προκειμένου να εξασφαλισθεί η καλύτερη απόδοση. Κατά τη διάρκεια της εξισορρόπησης των στηλών είναι προτιμότερο να επιλέγονται συνθήκες προγραμματισμού που προσομοιώνουν τις αναλυτικές συνθήκες, π.χ. οι θερμοκρασίες του προγράμματος να είναι οι ίδιες με αυτές που εφαρμόζονται σε μια πραγματική ανάλυση.

Τα σώματα εισαγωγέα και ανιχνευτού πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία 20 °C κάτω από τη μέγιστη επιτρεπόμενη θερμοκρασία τη στήλης.

Εάν χρησιμοποιείται εισαγωγέας πρέπει να είναι βέβαιο ότι η βαλβίδα εισαγωγής είναι κλειστή.

7.3.4. Εγκατάσταση τριχοειδών στηλών

Η στήλη πρέπει να τοποθετηθεί μέσα στον κλίβανο και να στηριχθεί σωστά επί του συστήματος στήριξης. Για ανιχνευτές με φλόγα FID, NPD, FPD, το άκρο της στήλης πρέπει να είναι όσο το δυνατό πλησιέστερα στην κορυφή του ακροφυσίου. Για ανίχνευση ECD το άκρο της στήλης πρέπει να προεξέχει δια μέσου του ακροφυσίου (jet) του ανιχνευτού κατά 2-2,5 mm.

Διασφαλίζεται ότι ρινίσματα (από ferrule) δεν έχουν επιμολύνει το εσωτερικό της στήλης ειδικότερα όταν χρησιμοποιείτε συνδετικά ferrules (graphite).

Ο τρόπος εγκατάστασης της στήλης στα πλευρά του εισαγωγέα εξαρτάται από το είδος του χρησιμοποιούμενου εισαγωγέα. Για εισαγωγέα "cold on column" απαιτούνται συνδετικά με ειδικά ferrules και κυλινδρικός αποστάτης ο οποίος έχει ρόλο και μανδύα για την δευτερογενή ψύξη (secondary cooling).

Για εισαγωγέα on column σπρώχνεται η στήλη (με προσοχή) μέσα στο σώμα του εισαγωγέα έως ότου τερματίσει και μετά βιδώνεται με προσοχή.

Για εισαγωγέα "Split"- "Splitless" είναι καλύτερο να μετρηθούν οι αποστάσεις και να σηματοδοτηθεί η στήλη πριν την εγκατάσταση της.

Οι σωστές αποστάσεις από το άκρο της στήλης έως το σημείο στήριξης (παξιμάδι) είναι 40 mm για εφαρμογή "Split" και 64 mm για "Splitless". .

Για εισαγωγέα on column διασφαλίζεται ότι η βελόνα της σύριγγας δειγματοληψίας, εισέρχεται απευθείας εντός της στήλης. Σε αντίθετη περίπτωση χαλαρώνεται το παξιμάδι στήριξης και ευθυγραμμίζεται η στήλη κατάλληλα.

Για να ελεγχθεί η σωστή ευθυγράμμιση-τοποθέτηση της στήλης σε εισαγωγέα on column γίνεται έλεγχος για την ομαλή ροή του φέροντος αερίου. Ανοίγοντας την βαλβίδα εισαγωγής ο χαρακτηριστικός ήχος διαφυγής αερίου θα πρέπει να ακούγεται μέσω της βελόνας.

Τέλος ρυθμίζεται η θέση της έτσι ώστε κανένα μέρος της στήλης να μην δέχεται πιέσεις ή τάσεις και μετά σφίγγονται σταθερά τα άκρα χωρίς υπερβολική πίεση.

7.3.5. Τριχοειδείς στήλες μεγάλης διαμέτρου (0,53-0,75 mm)

Η αυξανόμενη χρήση στηλών wide bore οφείλεται κυρίως στις πολλαπλές ιδιότητες τους. Η δυνατότητα διαχωρισμού και χωρητικότητα σε δείγμα αυτών των στηλών είναι μεταξύ αυτών των τριχοειδών στηλών και των συνηθισμένων πακεταρισμένων στηλών. Λόγω αυτών των ιδιοτήτων τους τέτοιες στήλες μπορεί να χρησιμοποιηθούν είτε ως τριχοειδείς είτε ως κοινές ανάλογα με την ταχύτητα ροής που εφαρμόζεται. Για εφαρμογές κοινών στηλών οι στήλες wide bore έχουν τα πλεονεκτήματα υψηλής χημικής αδράνειας χαμηλής θερμικής μάζας και συντομότερου χρόνου ανάλυσης.

Για εφαρμογές τριχοειδούς στήλης το κύριο πλεονέκτημα είναι η μεγαλύτερη χωρητικότητα σε δείγμα (Parfitt, 1994).

7.3.6. Εφαρμογές με τριχοειδείς στήλες. Τεχνική έκχυσης «Split»

Η τεχνική έκχυσης «Split» ήταν η πρώτη τεχνική εισαγωγής δείγματος για τριχοειδείς στήλες και είχε σχεδιαστεί έτσι ώστε να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα του περιορισμένου όγκου δείγματος που μπορούν να δεχτούν οι τριχοειδείς στήλες.

Σε έκχυση «Split» το δείγμα εισάγεται στο θάλαμο εξάτμισης εσωτερικά επενδυμένο από γυαλί και υφίσταται απότομη εξάτμιση. Η ροή του φέροντος αερίου εντός του θαλάμου εξάτμισης είναι σχετικά υψηλή και η διεργασία της εξάτμισης διαχέεται προς τα κάτω από το σημείο εισαγωγής. Οι ατμοί του δείγματος μεταφέρονται από το φέρον αέριο μέσα στη στήλη και στην έξοδο «Split». Ο λόγος της ροής προς την έξοδο «Split» έναντι της ροής προς την στήλη λέγεται σχέση «Split» και προσδιορίζει το ποσοστό του αρχικού όγκου δείγματος που τελικά εισέρχεται στο σύστημα χρωματογραφίας. Μία πρόσθετη έξοδος για το φέρον αέριο επιτρέπει τη συνεχή έκλυση του διαφράγματος με φέρον αέριο.

Τα βασικά πλεονεκτήματα της εισαγωγής «Split» είναι η απλότητά της, η ικανότητά της να δέχεται ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων δείγματος και η μορφή των λαμβανομένων χρωματογραφημάτων να είναι συνήθως πολύ καλή.

Το μειονέκτημα της τεχνικής «Split» είναι η δυσχρηστία της σε περίπτωση ποσοτικού προσδιορισμού δειγμάτων που περιέχουν συστατικά με υψηλό σημείο βρασμού. Αυτό οφείλεται στο ότι το δείγμα υφίσταται απόσταξη μέσα στην καυτή βελόνα της σύριγγας και στο ότι παρουσιάζεται δυσκολία στο να επιτευχθεί μία γραμμική διεργασία «Split».

Η έκχυση «Split» είναι κατάλληλη για τις εξής αναλύσεις:

- ✓ γρήγορη ποσοτική ανάλυση μειγμάτων από συστατικά με παραπλήσια σημεία βρασμού
- ✓ αναλύσεις με τεχνική Head Space
- ✓ αναλύσεις με πρωτόκολλα που απαιτούν ισόθερμους κύκλους σε υψηλές θερμοκρασίες.

Η τεχνική έκχυσης «Split» ίσως προτιμάται σε αναλύσεις Head Space παρά την μείωση της ευαισθησίας της λόγω του καθαρού διαχωρισμού των πρώτων κλασμάτων. Αναλύσεις με ισόθερμους κύκλους δίνουν μικρότερους χρόνους ανάλυσης με μεγαλύτερη επαναληψιμότητα στους χρόνους κατακράτησης. Η έκχυση «Split» συνήθως χρησιμοποιείται για την λήψη αποτυπωμάτων σε σύνθετα μείγματα όπως: αιθέρια έλαια, παράγωγα βιολογικών δειγμάτων, βιοχημικά δείγματα, κτλ

Για την προετοιμασία του εκχυτή για έκχυση «Split» χρησιμοποιείται ο κατάλληλος γυάλινος μανδύας (*Glass Liner*).

Σε συνήθεις εφαρμογές έκχυσης «Split» για όγκους δείγματος ως και 3μL χρησιμοποιείται «liner» εσωτερικής διαμέτρου 5mm. Το liner εσωτερικής διαμέτρου 3mm προτιμάται όταν τα δείγματα είναι αραιά ώστε να περιοριστεί η περαιτέρω αραίωσή τους με το φέρον αέριο. Ρυθμίζεται η ροή φέροντος αερίου με το ροόμετρο φουσαλίδας στα 2,5 mL/min χρησιμοποιώντας υδρογόνο σαν φέρον αέριο. Ρυθμίζεται η ροή φέροντος για την έκπλυση του septum στα 5 mL/min. Ρυθμίζεται ο λόγος «Split» π.χ. 2 mL / min στη στήλη και 50 mL/min στην έξοδο «Split» (δίνουν λόγο «Split» 25:1). Άρα μόνο το 1/25 του εισαγόμενου

δείγματος εισέρχεται στη στήλη. Πριν από την τελική ρύθμιση ροών το όργανο εξισορροπείται θερμικά στην απαιτούμενη από την ανάλυση θερμοκρασία.

Συνιστάται η χρήση ειδικού φίλτρου στην γραμμή «Split» αμέσως πριν από την βαλβίδα «Split» ώστε να αποφευχθεί κάθε πιθανή επιμόλυνση της βαλβίδας από το δείγμα. Το φίλτρο πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο για την γραμμή «Split» και όχι για την έκλυση του septum.

7.3.7. Τεχνική έκχυσης Splitless

Η τεχνική "Splitless" προσφέρει ακρίβεια και ευαισθησία. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι η δυνατότητα ανάλυσης "ακάθαρτων" δειγμάτων όπως βιολογικά υγρά, φυτοφάρμακα, περιβαλλοντικά δείγματα κλπ. Η έκχυση "Splitless" επιτρέπει σε όλα τα συστατικά του δείγματος να εισέλθουν στην στήλη πριν συμβεί ο διαχωρισμός των ατμών του δείγματος-διαλυτού. Η γραμμή "Split" παραμένει κλειστή κατά την διάρκεια της έκχυσης όπως και κατά την μεταφορά του δείγματος στη στήλη.

Μετά από παρέλευση επιλεγμένου χρόνου η γραμμή "Split" ανοίγει ώστε να ξεπλύνει με φέρον αέριο τον χώρο εξάτμισης από τα παραμένοντα πτητικά συστατικά του δείγματος και κυρίως από τον διαλύτη. Το κύριο χαρακτηριστικό της τεχνικής αυτής είναι ότι επειδή η γραμμή "Split" είναι κλειστή η ροή φέροντος αερίου μέσα στον χώρο εξάτμισης είναι σχετικά χαμηλή. Η διεργασία εξάτμισης του δείγματος τείνει να λαμβάνει χώρα προς το άνω μέρος του χώρου έκχυσης και η μεταφορά δείγματος προς την στήλη εξελίσσεται με αργότερο ρυθμό. Προς αποφυγή απώλειας δείγματος λόγω συμπύκνωσης στις επιφάνειες του άνω μέρους του χώρου έκχυσης η θερμοκρασία του εισαγωγέα πρέπει να παραμείνει σταθερή και ομοιογενής έως και το διάφραγμα (septum). Επιπροσθέτως για να αποφευχθεί η οπισθοδρόμηση του δείγματος στον χώρο έκχυσης ο εισαγόμενος όγκος δείγματος πρέπει να είναι μικρός (1-2 μL).

Για να επιτευχθεί ακόμα μικρότερη απώλεια δείγματος διατηρείται την γραμμή έκπλυσης του διαφράγματος κλειστή κατά την διάρκεια της έκχυσης. Λόγω του παρατεταμένου χρόνου παραμονής του δείγματος στο χώρο εξάτμισης η έκχυση "Splitless" δεν απαιτεί υψηλή θέρμανση του εκχύτη. Εάν όμως οι αναλυτικές συνθήκες απαιτούν θερμοκρασίες πάνω από 280 °C συνιστάται είτε η απομάκρυνση του μονωτικού υλικού του liner είτε η συνεχής έκπλυση του διαφράγματος (Septum) κατά την διάρκεια της περιόδου "Splitless" ώστε να αποφευχθεί η υπερθέρμανση του septum. Είναι σύνηθες σε εφαρμογές "Splitless" η έκχυση του δείγματος να γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες κλιβάνου ώστε να επιτυγχάνεται η συμπύκνωση των συστατικών του δείγματος επί της κεφαλής της στήλης.

Επιπλέον ανασυμπύκνωση των συστατικών μπορεί να προκληθεί προκαλώντας την συμπύκνωση του διαλύτη του δείγματος γεγονός που απαιτεί αρχική θερμοκρασία το κλιβάνου 10-20 °C κάτω από το σημείο του βρασμού του διαλυτού.

Η αποδοτικότητα εισαγωγή αυτού του τύπου μπορεί να μεγιστοποιηθεί με την σωστή ροή αερίων και την σωστή χρονική διάρκεια της περιόδου "Splitless".

Αυτοί οι δύο παράγοντες ρυθμίζουν πόσο από το δείγμα εισέρχεται στη στήλη.

Συνήθως η περίοδος "Splitless" διατηρείται όσο το δυνατόν μικρότερη. Με ροή φέροντος 2-7mL/min η περίοδος "Splitless" πρέπει να είναι 50-90 sec αλλά υπάρχουν περιπτώσεις που απαιτούν ακόμα μεγαλύτερη περίοδο "Splitless".

Για έκχυση "Splitless" είναι απαραίτητη η χρήση liner με ειδικό σχήμα ώστε να αποφεύγεται η επαφή δείγματος με τα μεταλλικά μέρη της βάσης του εκχυτού. Επίσης το σχήμα του liner σταματά την εκτροπή του δείγματος προς την έξοδο "Split".

Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται φίλτρα στην γραμμή "Split" σε εφαρμογές "Splitless". Η έκλυση του septum επιτυγχάνεται ικανοποιητικά με ροή φέροντος

αερίου 2 mL/min αλλά με προσοχή κλείνεται η γραμμή έκλουσης κατά την περίοδο "Splitless", εκτός και αν ο ενιόμενος όγκος είναι μεγάλος. Το δείγμα ενίεται χαμηλά μέσα στο liner χρησιμοποιώντας σύριγγα 70 mm. Η είσοδος της στήλης πρέπει να απέχει από την βάση του παξιμαδιού συγκράτησης 4.5 - 6 mm.

7.3.8. Έκχυση "Cold on column"

Ο όρος ένεση on column" (στην στήλη), αναφέρεται στην απευθείας έκχυση του δείγματος στην στήλη. Ο εισαγωγέας δεν θερμαίνεται ανεξάρτητα. Η θερμοκρασία έκχυσης ελέγχεται από το σύστημα δευτερογενούς ψύξης. Η αρχική θερμοκρασία του κλιβάνου ορίζεται από την μεθοδολογία και είναι συνήθως στα όρια του σημείου βρασμού του διαλύτη, αντισταθμισμένο ως προς την πίεση.

Ο τυπικός εισαγωγέας on column είναι χωρίς septum. Η βελόνα της σύριγγας, εισέρχεται στον εισαγωγέα μέσω του αυλού έκχυσης και περνά μέσω μιας περιστροφικής βαλβίδας. Η πίεση επί της κεφαλής της στήλης διατηρείται σταθερή λόγω της βαλβίδας ή όταν αυτή είναι ανοικτή λόγω της αντίστασης ροής που προκαλείται από την παρουσία της βελόνας μέσα στον αυλό έκχυσης. Ο εισαγωγέας on column μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ή χωρίς σύστημα δευτερογενούς ψύξης. Η δευτερογενής ψύξη είναι απαραίτητη ακόμα κι όταν η αρχική θερμοκρασία του κλιβάνου είναι χαμηλότερη από το σημείο βρασμού του διαλύτη του δείγματος.

Καθώς το δείγμα εννίεται επί της τριχοειδούς στήλης σχηματίζει ένα πώμα επί των τοιχωμάτων της στήλης. Λόγω της αυξημένης πίεσης κάτω από το σχηματιζόμενο πώμα, το δείγμα ωθείται προς τα πίσω στο άνω μέρος της στήλης, πίσω ακόμα κι από το άκρο της βελόνας.

Πρόσθετη ψύξη γύρω από το σημείο έκχυσης περιορίζει αυτή τη τάση οπισθοχώρησης του δείγματος εξασφαλίζοντας καλύτερη μεταφορά δείγματος από την σύριγγα στη στήλη.

Η τεχνική έκχυσης "cold on column " παρέχει ένα μεγάλο αριθμό πλεονεκτημάτων έναντι πολλών κλασικών τεχνικών έκχυσης. Η ψυχρή έκχυση αποφεύγει απώλειες και ψευδή αποτελέσματα που προκαλούνται από την θερμική διάσπαση των συστατικών του δείγματος. Η απευθείας έκχυση αποφεύγει τον επιλεκτικό διαχωρισμό των συστατικών κατά τον χρόνο μεταφοράς του δείγματος στη στήλη.

Το δείγμα εννίεται σε θερμοκρασία κλιβάνου χαμηλότερη, ή αν χρησιμοποιείται δευτερογενής ψύξη, σχετικά υψηλότερη από το σημείο βρασμού του διαλύτη χρησιμοποιώντας την κατάλληλη σύριγγα.

Σύριγγες με μεταλλική βελόνα μήκους 75 mm και εξωτερική διάμετρο 0,23 mm είναι κατάλληλες για στήλες εσωτερικής διαμέτρου τουλάχιστον 0,3 mm. Στήλες εσωτερικής διαμέτρου, 0,2 ή 0,25 mm απαιτούν τη χρήση ειδικής σύριγγας με τριχοειδή βελόνα από fused silica. Προκειμένου να διατηρηθεί η πίεση στη κεφαλή της στήλης σταθερή, κατά τον χρόνο που η βαλβίδα εισαγωγής είναι ανοικτή, απαιτείται η χρήση αυλού εισαγωγής κατάλληλης διαμέτρου.

Ο βασικός εξοπλισμός του οργάνου διαθέτει αυλό εισαγωγής διαμέτρου 0,3 mm κατάλληλο μόνο για χρήση μεταλλικής βελόνας.

Προαιρετικά παρέχεται αυλός εισαγωγής διαμέτρου 0,2 mm για χρήση με βελόνες fused silica.

Η τεχνική έκχυσης "cold on column " παρέχει μεγάλη ελαστικότητα σχετικά με τον όγκο δείγματος.

Ο ελάχιστος απαιτούμενος όγκος είναι 0,2-0,3 μL . Εισαγωγή δειγμάτων πάνω από 1-1,5 μL απαιτούν την παρεμβολή κενού κατακράτησης τόσο προς αποφυγή φαινομένου πλημμυρισμού όσο και για αποφυγή επιμόλυνσης του συστήματος από μη πτητικούς παράγοντες του δείγματος. Ο προγραμματισμός του κλιβάνου δεν πρέπει να αρχίζει πριν από την ολοκληρωτική εξάτμιση του δείγματος. Οποιαδήποτε ανωμαλία του σχήματος των κορυφών διορθώνεται είτε

με την αύξηση της αρχικής θερμοκρασίας του κλιβάνου, είτε με την μείωση του όγκου δείγματος, είτε με την χρήση κενού κατακράτησης.

7.4. Προετοιμασία για Ανάλυση

Έλεγχος διαρροής φέροντος αερίου

Ο έλεγχος διαρροής είναι απαραίτητος κάθε φορά που εγκαθίσταται μία στήλη για να εξασφαλισθεί η καλή συναρμογή των μερών του συστήματος. Κατά την διάρκεια του ελέγχου τόσο ο κλίβανος, όσο και οι ζώνες ανιχνευτών και εισαγωγέων πρέπει να θερμαίνονται.

Σε όργανα με δύο κανάλια πρέπει να ελέγχονται ανεξάρτητα.

Ελέγχονται για διαρροή ως ακολούθως:

1. Διασφαλίζεται ότι όλες οι γραμμές αερίων είναι κλειστές
2. Διασφαλίζεται ότι όλες οι έξοδοι στον χρωματογράφο είναι κλειστές με τα βιδωτά πώματα που παρέχονται στους ανιχνευτές και στις βαλβίδες SSL.
3. Ρυθμίζεται η πίεση φέροντος αερίου σε 100-200 **kPa** ασκώντας πίεση στις γραμμές αέρος υδρογόνου και αερίου make up. Μετά από δύο λεπτά όλοι οι ρυθμιστές- μετρητές πίεσης πρέπει να δείχνουν 100-200 kPa.
4. Κλείνεται η ροή φέροντος αερίου από τον κύλινδρο.
5. Η πίεση σε όλους τους ρυθμιστές πρέπει να παραμείνει σταθερή τουλάχιστον για τρία λεπτά.

Εάν η πίεση πέσει πρώτα στον μετρητή φέροντος αερίου υπάρχει διαρροή στο σύστημα εισαγωγής.

Εάν η πτώση πίεσης παρουσιαστεί πρώτα στον μετρητή υδρογόνου αέρος ή make up τότε υπάρχει διαρροή στον ανιχνευτή.

Εφαρμογές με στήλες packed, τεχνική έκχυσης

Το δείγμα εισάγεται κατευθείαν στην κορυφή της στήλης χρησιμοποιώντας την κατάλληλη σύριγγα. Η θερμοκρασία στον εκχυτή πρέπει να είναι αρκετά υψηλή ώστε να εξασφαλίζει την πλήρη εξάτμιση του εισαγομένου δείγματος ενώ παράλληλα να αποφεύγεται η αποσύνθεση των συστατικών του δείγματος.

Ταχύτητα ροής

Η επίτευξη της απαιτούμενης ταχύτητας ροής φέροντος αερίου επιτυγχάνεται με την βοήθεια μετρητή ροής φουσαλίδας που συνδέεται στον ανιχνευτή μέσω του υλικού προσαρμογής που παρέχεται.

Η παρεχόμενη από την φιάλη πίεση φέροντος αερίου πρέπει να είναι 250-300 Kpa.

Χρησιμοποιώντας τον ρυθμιστή πίεσης του χρωματογράφου με την ένδειξη CARRIER ρυθμίζεται η απαιτούμενη ροή (2-7 ml/min) ανάλογα με την εσωτερική διάμετρο της στήλης.

Για εφαρμογές με ανιχνευτή NPD είναι απαραίτητο η ροή και στα δύο κανάλια να είναι η ίδια. Οι δύο στήλες πρέπει να είναι όμοιες στο μήκος στην εσωτερική διάμετρο και στο υλικό πληρώσεως.

Κλείνονται εντελώς οι ρυθμιστές ροής. Ρυθμίζεται η πίεση στα 250 Kpa. Ανοίγονται αργά οι ρυθμιστές ροής έως ότου πετύχετε της απαιτούμενη ροή σε κάθε κανάλι. Ισοσταθμίζεται το όργανο θερμικά έτοιμο προς ανάλυση και μετά γίνονται οι τελικές ρυθμίσεις ροής ώστε να εξασφαλιστεί ισορροπία ροών και στα δύο κανάλια.

7.5. Σύστημα πολλαπλών ανιχνευτών

Ένα σύστημα πολλαπλών ανιχνευτών είναι ο συνδυασμός πολλών ανιχνευτών οι οποίοι δουλεύουν ταυτόχρονα επιτρέποντας μία πληρέστερη ανάλυση ενός πολύπλοκου δείγματος από μία και μόνη εισαγωγή. Υπάρχουν διάφορα kits με τα οποία επιτυγχάνεται η τοποθέτηση διαφόρων ανιχνευτών εν σειρά ή εν παραλλήλω.

Η σύνδεση εν παραλλήλω, πραγματοποιείται με την χρήση ενός ειδικού διαιρέτη (Splitter) κατασκευασμένου από πυρίτιο.

7.6. Φωτομετρικός Ανιχνευτής Φλόγας (Flame Photometric Detector – FPD).

Ο ανιχνευτής αυτός επιλέγεται για την εξακρίβωση οργανοφωσφορικών υπολειμμάτων και αποτελεί τον μόνο πρακτικό ανιχνευτή για οργανοθειούχες ουσίες. Σε κατάσταση φώσφορο - εκλεκτική (FPD-P), ο ανιχνευτής είναι ένας από τους πιο εκλεκτικούς ανιχνευτές που υπάρχουν, αν και μεγάλες ποσότητες θείου προκαλούν αντίδραση. Σε κατάσταση θείο-εκλεκτική (FPD-S) προσφέρει λιγότερη εκλεκτικότητα (πιθανότητα παρεμβολών από φώσφορο) και είναι γραμμικός μόνο σε ημιλογαριθμική κλίμακα, αλλά προσφέρει επιβεβαίωση για θειούχες ουσίες, οι οποίες έχουν υποδειχθεί από διεκκρίνηση με ECD. Το άζωτο και το χλώριο δεν παρουσιάζουν πρακτικά παρεμβολές στις προηγούμενες δύο καταστάσεις. Επιπρόσθετα η αναλογία σημάτων FPD-P και FPD-S μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της αναλογίας P:S της ουσίας που αναλύθηκε για λόγους επιβεβαίωσης.

Μέθοδοι που αναπτύχθηκαν για την χρήση FPD μερικές φορές απαιτούν μόνο ελάχιστο καθαρισμό. Από την άλλη πλευρά, όμως, μπορεί να συμβεί επιμόλυνση της στήλης από συνεχείς ενέσεις μη καθαρών εκχυλισμάτων.

7.6.1. Αρχή λειτουργίας

Τα αέρια που εξέρχονται από τη στήλη καίγονται σε μια φλόγα που διατηρείται από την καύση υδρογόνου και αέρα. Κατά την καύση παράγονται χαρακτηριστικές οπτικές εκπομπές όταν ουσίες που περιέχουν φώσφορο και θείο αποσυντίθενται στη φλόγα. Οι εκπομπές αυτές ανιχνεύονται από έναν κοινό φωτοπολλαπλασιαστή αφού περάσουν από ένα φίλτρο στενού εύρους φάσματος, κατάλληλου μήκους κύματος. Η επιλογή του φίλτρου προσδιορίζει ποιες εκπομπές (της καύσεως του φωσφόρου ή του θείου) θα φτάσουν στον φωτοπολλαπλασιαστή και θα δώσουν ένδειξη. Φίλτρο με μέγιστη διαπερατότητα στα 526 nm αντιστοιχεί σε εκπομπή από καύση φωσφόρου, ενώ φίλτρο με μέγιστη διαπερατότητα στα 394 nm αντιστοιχεί σε εκπομπή από καύση θείου.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας φωτοπολλαπλασιαστής και ένα οπτικό φίλτρο, ή δύο φωτοπολλαπλασιαστές και δύο φίλτρα για την ταυτόχρονη ανάλυση φωσφόρου και θείου (Buffington and Wilson, 1987).

7.6.2. Ευαισθησία

Η ελάχιστη ποσότητα φωσφόρου που μπορεί να ανιχνευθεί από τον FPD-P είναι περίπου 0.01 ng, και για τον FPD-S 0.04 ng. Η ευαισθησία του ανιχνευτή είναι άμεσα εξαρτώμενη από την κατάσταση του σωλήνα του φωτοπολλαπλασιαστή.

Η αντίδρασή του, εξαρτάται από τον φωτοπολλαπλασιαστή, και την τάση εξόδου από την παροχή ηλεκτρικής ενέργειας. Η διαρροή φωτός μέσα στον φωτοπολλαπλασιαστή θα αυξήσει το θόρυβο, και θα μειώσει την ευαισθησία του ανιχνευτή, κάνοντας δύσκολη την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων ουσιών.

7.6.3. Εκλεκτικότητα

Η αντίδραση του ανιχνευτή FPD-P είναι περίπου 105 φορές μεγαλύτερη στο φώσφορο σε σχέση με τον άνθρακα. Η εκλεκτικότητα του φωσφόρου σχετικά με το θείο στον FPD-S είναι ανάλογη με την ποσότητα που υπάρχει στο δείγμα διότι είναι ανάλογη με την τετραγωνική ρίζα της σχέσης της αντίδρασης της συγκέντρωσης του θείου.

7.7.Ανιχνευτής αζώτου - φωσφόρου (Nitrogen - Phosphorus Detector - NPD)

Ανιχνευτές αυτού του τύπου είναι εκλεκτικοί σε υπολείμματα που περιέχουν άζωτο ή / και φώσφορο. Οι μοντέρνοι ανιχνευτές έχουν εξελιχθεί από το σχέδιο των **Kolb και Bischoff του 1974**, το οποίο είναι μια εξέλιξη του σχεδίου του θερμικού ανιχνευτή χλωριούχου καλίου που εξελίχθηκε στα μέσα της δεκαετίας του '60 και αποτέλεσε τον πρώτο φώσφορο-εκλεκτικό ανιχνευτή. Οι περισσότεροι ανιχνευτές είναι πιο ευαίσθητοι στο φώσφορο από ότι στο άζωτο, όμως δίνεται έμφαση στην επιλογή του σαν άζωτο εκλεκτικός ανιχνευτής, επειδή ο FPD-P προτιμάται σαν φώσφορο εκλεκτικός ανιχνευτής.

Αν και οι ανιχνευτές N/P είναι επιλεκτικοί και ευαίσθητοι, προβλήματα που συνδέονται με την αξιοπιστία τους και την απόδοσή τους έχουν μειώσει την εφαρμογή τους σε προσδιορισμούς υπολειμμάτων. Παρόλα τα αρνητικά, ένας ανιχνευτής βελτιωμένος ως προς την εκλεκτικότητά του σε άζωτο, μπορεί να παίξει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στον έλεγχο εκχυλισμάτων για υπολείμματα. Πολλά γεωργικά φάρμακα περιέχουν μόνο άζωτο ως ετεροάτομο στη σύνθεσή τους. Η αντίδραση του N/P ανιχνευτή προσδίδει επιπρόσθετη απόδειξη για την ύπαρξη ενός υπολείμματος.

7.7.1. Αρχή λειτουργίας

Τα αέρια που εξέρχονται από την στήλη περνάνε από μια πολωμένη επιφάνεια πηγής αλκάλειας, ηλεκτρικώς θερμαινόμενη, παρουσία πλάσματος αέρα / υδρογόνου. Τα αέρια ιονίζονται και η ροή ιόντων μεταξύ πλάσματος, και

συλλέκτη ιόντων ενισχύεται και καταγράφεται. Η αντίδραση του ανιχνευτή στις ουσίες έχει, ως αποτέλεσμα τον αυξημένο ιονισμό που συμβαίνει όταν περνούν ουσίες που περιέχουν άζωτο και φώσφορο. Σε ρυθμούς ροής αερίου που χρησιμοποιούνται για την λειτουργία του N/P ο βαθμός ιονισμού των αζώτου και φωσφόρου είναι κατά > 10000 φορές από το βαθμό ιονισμού των υδρογονανθράκων. Οι μηχανισμοί που εξηγούν την καλύτερη απόκριση σε άζωτο και φώσφορο δεν έχουν εξηγηθεί πλήρως, αν και έχουν προταθεί εξηγήσεις και για την φάση του ιονισμού των αερίων και για τη διαδικασία του ιονισμού σε επιφάνεια.

7.7.2. Ευαισθησία

Ο ανιχνευτής N/P είναι ικανός να αναγνωρίσει κορυφές που αναλογούν σε ποσότητες έως και 5 -10 pg σε ουσίες που περιέχουν άζωτο και 1 - 5 pg σε ουσίες που περιέχουν φώσφορο.

Η ευαισθησία του ανιχνευτή επηρεάζεται από τη ροή υδρογόνου και την ένταση του ρεύματος

7.7.3. Εκλεκτικότητα

Η εκλεκτικότητα του ανιχνευτή είναι περίπου:

- ✓ $10^3 - 10^5$ για αναλογία αζώτου / άνθρακα,
- ✓ $10^5 - 5 \times 10^5$, για αναλογία φωσφόρου / άνθρακα, και
- ✓ 0.1 - 0.5, για αναλογία αζώτου / φωσφόρου.

Η ροή υδρογόνου επηρεάζει την εκλεκτικότητα και την ευαισθησία του ανιχνευτή σχετικά με το άζωτο, ενώ η μεταβολή της εντάσεως του ρεύματος της πηγής θέρμανσης, λόγω ταυτόχρονης αύξησης του θορύβου και της αντίδρασης διαφόρων ουσιών.

7.8. ΦΑΣΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΑΖΑΣ

Η φασματομετρία μάζας είναι μία ευαίσθητη τεχνική για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό χημικών ενώσεων. Βασίζεται στον διαχωρισμό των μαζών φορτισμένων σωματιδίων (κυρίως κατιόντων) με την βοήθεια κατάλληλης διάταξης (μαγνητική, τετραπόλου, χρόνου πτήσης) και την εύρεση της αντιστοιχίας των μαζών των λαμβανομένων ιόντων με την δομή της πρόδρομης ένωσης. Η αντιστοιχία αυτή προϋποθέτει την γνώση των διαδικασιών ιονισμού και επιπλέον του μηχανισμού της πιθανής θραυσματοποίησης των ιόντων.

Ο ιονισμός των μορίων γίνεται με διάφορες τεχνικές, με συνηθέστερες τις α) ηλεκτρονιακή πρόσκρουση (Electron impact ionization, EI) με ταχέως κινούμενα ηλεκτρόνια σε ηλεκτρικό πεδίο, β) φωτοϊονισμός (Photoionization, PI), με την βοήθεια φωτός στην υπεριώδη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και γ) χημικός ιονισμός (Chemical ionization, CI), μέσω κρούσεως με άλλα ιόντα. Ο προσδιορισμός της μοριακής μάζας διευκολύνεται από της λήψη του κατιόντος της χημικής ένωσης (μητρικό ιόν), που προϋποθέτει την επιβιωσιμότητα του συγκεκριμένου κατιόντος. Επιπλέον, σε περιπτώσεις ανάλυσης χημικών ενώσεων με ίδιο μοριακό βάρος ή ισομερών, η θραυσματοποίηση του αρχικού μητρικού ιόντος σε ιόντα μικρότερης μάζας, δίνει πληροφορίες για την δομή των χημικών ενώσεων.

Η θραυσματοποίηση (fragmentation) του μητρικού ιόντος είναι αναπόφευκτη για την πληθώρα των χημικών ενώσεων που ιονίζονται με την απλούστερη και συχνότερα απαντούμενη τεχνική της πρόσκρουσης ηλεκτρονίων με κινητική ενέργεια στην περιοχή 40 – 70 eV. Οι ενέργειες ιονισμού των χημικών ενώσεων είναι συνήθως μικρότερες από 15 eV και εξαρτώνται από την δομή της χημικής ένωσης. Σαν επακόλουθο, το μητρικό ιόν βρίσκεται διεγερμένο έχοντας ένα μεγάλο ποσοστό της αρχικής κινητικής ενέργειας των ηλεκτρονίων (>25 eV) και ακολουθεί πορείες μονομοριακής διάσπασης σε μικρότερα σωματίδια (θραύσματα), και αυτά με την σειρά τους σε άλλα μικρότερα, μέχρι είτε ιονισμένα άτομα, ή ιδιαίτερα σταθερά θετικά ιόντα. Οι πορείες διάσπασης εξαρτώνται από

την χημική δομή κάθε ιόντος και μπορούν να είναι είτε α) ισομερείωση ιόντος ή β) διάσπαση ιόντος σε άλλο μικρότερο ιόν και ουδέτερο σωματίδιο. Οι παράμετροι που καθορίζουν τη συνεισφορά κάθε πορείας είναι: α) σταθερότητα προδρόμου ιόντος και προϊόντων (ισομερές ή θραύσματα) β) αντίστοιχο ενεργειακό φράγμα της θραύσης του ιόντος και γ) εσωτερική ενέργεια του προδρόμου ιόντος.

Η άμεση πρόβλεψη όλων των διαδικασιών θραυσματοποίησης ενός ιόντος δεν είναι απλή, ιδιαίτερα αν το ποσοστό θραυσματοποίησης σε κάθε πορεία είναι το κυρίως ζητούμενο. Μία απλή ποιοτική πρόβλεψη των κυριότερων πορειών είναι δυνατόν να επιτευχθεί με γνώμονα τη χημική δομή του ιόντος καθώς και των προϊόντων θραυσματοποίησης χρησιμοποιώντας επιχειρήματα γενικής και οργανικής χημείας.

Η σταθερότητα ενός θετικά φορτισμένου ιόντος εξαρτάται από την ευκολία εξάπλωσης του φορτίου σε περισσότερα από ένα άτομα του μορίου (αποεντόπιση φορτίου, π.χ. σταθερότητα κατιόντων σε συζυγιακά ή αρωματικά συστήματα) και την ύπαρξη ομάδων που ευνοούν ή απωθούν το θετικό φορτίο (π.χ. άτομα F απωθούν το θετικό φορτίο λόγω έντονης ηλεκτραρνητικότητας, ενώ άτομα N, O ευνοούν την ύπαρξη θετικού φορτίου λόγω των ζευγών ηλεκτρονίων που διαθέτουν σε αρκετά υψηλές ενεργειακές στάθμες – μακριά από τους πυρήνες, εύκολα ιονιζόμενα). Σε περιπτώσεις ύπαρξης θετικού φορτίου σε άτομο που συνδέεται με άλλες ομάδες, η ευκολία αποεντοπισμού του θετικού φορτίου στις ομάδες μέσω υπερσυζυγιακού φαινομένου (π.χ. σταθερότητες καρβοκατιόντων $(\text{CH}_3)_3\text{C}^+ > (\text{CH}_3)_2\text{CH}^+ > \text{CH}_3\text{CH}_2^+$) είναι σταθεροποιητικός παράγοντας του κατιόντος και οδηγεί είτε σε εκλεκτική διάσπαση δίνοντας το σταθερότερο κατιόν ή οδηγεί σε ισομερίωση σε σταθερότερο κατιόν. Η διάσπαση ενός κατιόντος με παραγωγή μικρού σταθερού ουδέτερου μορίου (π.χ. H_2O , CO_2 , CO , HCN) ευνοείται λόγω συνολικής μείωσης της ενέργειας του συστήματος με την αποβολή του σταθερού μορίου. Οι μηχανισμοί της διάσπασης για τα συνηθέστερα είδη μορίων θα συζητηθούν λεπτομερέστερα στη συνέχεια.

7.8.1.Φασματογράφος Μαζών

Ο Φασματογράφος μαζών (ΦΜ) είναι ένα όργανο που με τη βοήθεια ηλεκτρονικού βομβαρδισμού τεμαχίζει την ουσία που μελετάται παράγοντας ιόντα. Τα ιόντα αυτά επιταχύνονται με τη βοήθεια ισχυρού μαγνητικού πεδίου και συλλέγονται από τον ανιχνευτή σε διαστήματα ανάλογα με το μοριακό τους βάρος. Η παραγωγή ιόντων στο φασματογράφο μαζών γίνεται με βομβαρδισμό του ατμού της ουσίας (που προηγούμενα έχει εξαερωθεί σε υψηλή θερμοκρασία) με ηλεκτρόνια. Ο ατμός που παράγεται με εξάτμιση περνάει στο θάλαμο παραγωγής ιόντων σε χαμηλή πίεση των 10,5–10,7 mm Hg και βομβαρδίζεται με ηλεκτρόνια ενέργειας 10-100 eV (που παράγονται από ένα ηλεκτρικό νήμα). Ενέργεια της τάξης των 10-15 eV ανταποκρίνεται στο **δυναμικό ιονισμού** (ionization-potential) των περισσότερων οργανικών ενώσεων και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία θετικών ιόντων με την αφαίρεση ενός τουλάχιστον ηλεκτρονίου από το οργανικό μόριο, δηλαδή $M + e^- \text{ eV} \rightarrow M^+ + e^-$. Τα ιόντα που παράγονται καλούνται **μοριακά ιόντα** (molecular ions). Καθώς η ενέργεια των ηλεκτρονίων με τα οποία βομβαρδίζεται το δείγμα αυξάνεται και πέρα των 15 eV, τα μοριακά ιόντα υπόκεινται σε νέα διάσπαση παράγοντας **θραύσματα ιόντα** (fragment ions) που είναι χαρακτηριστικά της μοριακής δομής της οργανικής ένωσης. Έχει βρεθεί ότι με ενέργεια ηλεκτρονίων περίπου 70 eV πραγματοποιείται συστηματική θραυσματοποίηση δεσμών του μορίου, που μπορεί να αναπαραχθεί σε σημαντικό βαθμό. Με ενέργειες ηλεκτρονίων άνω των 70 eV παρατηρείται σχηματισμός ολοένα και αυξανόμενου αριθμού διπλά - φορτισμένων ιόντων, που οφείλεται στην αφαίρεση δύο ηλεκτρονίων από το μόριο ή το μοριακό ιόν του δείγματος.

Τα θετικά ιόντα που σχηματίζονται με αυτό τον τρόπο αποβάλλονται από το χώρο ιονισμού εφαρμόζοντας ηλεκτροστατικό πεδίο με ειδικούς δίσκους που επιταχύνουν τα ιόντα μέσα από τις κεντρικές οπές. Τα επιταχυνθέντα ιόντα εισέρχονται στο χώρο του μαγνητικού αναλυτή (πόλοι ενός ισχυρού μαγνήτη) για τον τελικό διαχωρισμό τους ανάλογα με το μοριακό τους βάρος.

Ο μαγνητικός αναλυτής είναι ένα σύστημα ισχυρών μαγνητών που το μαγνητικό του πεδίο διαπερνά το διάδρομο της πορείας των μοριακών και άλλων ιόντων προς μαγνητικό διαχωρισμό. Συνήθως ο μαγνήτης σχηματίζει τοπικό μαγνητικό πεδίο σε σχήμα ανοιχτής βεντάλιας με γωνία 60 ή 90°, που έχει την ικανότητα να εκτρέπει τα θετικά ιόντα προς τον συλλέκτη.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Η συστηματοποιημένη αντιμετώπιση των παρασίτων, ζωικών ή φυτικών που προκαλούν βλάβες στη γεωργία και στην κτηνοτροφία, υπαγορεύει σήμερα τη χρησιμοποίηση πλήθους χημικών ουσιών, των γνωστών παρασιτοκτόνων. Η χρήση φυτοφαρμάκων στη γεωργία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία περίπου 50 χρόνια.

Στην Ελλάδα, με τη ραγδαία ανάπτυξη της γεωργίας και την εφαρμογή οργανωμένων καλλιεργειών, η χρήση των παρασιτοκτόνων είναι πολύ διαδεδομένη και πολλές φορές αλόγιστη. Αν και τα εντομοκτόνα φάρμακα έχουν επιφέρει πραγματικά τεράστια οφέλη στη Δημόσια Υγεία και στην παγκόσμια οικονομία, ωστόσο η χρήση τους έχει προκαλέσει πολλά προβλήματα, όπως είναι η ρύπανση των τροφίμων με τα υπολείμματά τους, η ρύπανση του εδάφους, των νερών και της χλωρίδας.

Τα φυτοφάρμακα παρέχονται στα φυτά κυρίως με τρεις τρόπους : 1) σαν ψεκαζόμενο υδατικό διάλυμα, 2) με τη μορφή ατμών και 3) σαν υδατικό διάλυμα με το οποίο ποτίζεται η ρίζα του φυτού. Οι δύο πρώτοι τρόποι θεωρούνται σαν οι πλέον επικίνδυνοι.

Είναι γεγονός ότι τα φάρμακα αυτά ασκούν την τοξική τους δράση όχι μόνο στα ανεπιθύμητα παράσιτα, αλλά και στους ωφέλιμους οργανισμούς, π.χ. όπως είναι οι μέλισσες. Τα συνηθέστερα εντομοκτόνα είναι οι αναστολείς της χολινεστεράσης, που χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα ή ακαρεοκτόνα επαφής ή ως διασυστηματικά φυτοφάρμακα, περιλαμβάνουν δε τους οργανοφωσφορικούς και τους καρβαμιδικούς εστέρες. Το 90% των χρησιμοποιούμενων σήμερα εντομοκτόνων φαρμάκων αποτελείται από τους αντιχολινεστερασικούς παράγοντες.

Οι οργανοφωσφορικοί εστέρες έχουν δύο χαρακτηριστικά γνωρίσματα. Πρώτον, είναι πολύ περισσότερο τοξικοί για τα σπονδυλωτά σε σύγκριση με τα χλωριωμένα εντομοκτόνα και δεύτερον, είναι από χημικής απόψεως ασταθείς ενώσεις, που διασπώνται σε λίγες ώρες ή ημέρες ή λίγες εβδομάδες μετά την εφαρμογή τους.

Τα περισσότερα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα δρουν και εξ επαφής και διασυστηματικά, δηλαδή έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στα φύλλα των φυτών, επομένως η εναπόθεσή τους στην άνω επιφάνεια των φύλλων μπορεί να επηρεάσει ακόμη και τα έντομα που βρίσκονται στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Τα περισσότερα είναι βλαβερά για τα έντομα, τα οποία είναι ωφέλιμα στη γεωργία.

Είναι αναγκαίο να τονιστεί η επικινδυνότητα των οργανοφωσφορικών φαρμάκων, η ανάγκη να γίνονται ψεκασμοί με αυστηρά μέτρα προφύλαξης της δημόσιας υγείας και, φυσικά, μόνο με τα επιτρεπόμενα από το νόμο φυτοφάρμακα.

Το ιδανικό εντομοκτόνο θα ήταν εκείνο που θα είχε υψηλή τοξικότητα για το δεδομένο παράσιτο, αλλά συγχρόνως θα ήταν ασφαλές για τις άλλες μορφές ζωής με τις οποίες θα ερχόταν σε επαφή. Η εκλεκτική χρήση των εντομοκτόνων δεν είναι απλή. Στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτείται γνώση όχι μόνο του παρασίτου-στόχου, αλλά και των δευτερευόντων παρασίτων και των ωφέλιμων ειδών. Έτσι οι ερευνητές κατευθύνουν τις προσπάθειές τους προς τη σύνθεση και τη χρήση περισσότερο ασφαλών εντομοκτόνων για τα έντομα τα ευεργετικά για τη γεωργία.

Η Ελλάδα είναι μια χώρα όπου τα φρούτα και τα λαχανικά έχουν αυξημένη συμμετοχή στο διαιτολόγιο και καταναλώνεται συνήθως νωπά, γεγονός που αυξάνει το ενδιαφέρον των καταναλωτών για την ύπαρξη σε αυτά υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Για την προστασία των καταναλωτών έχουν θεσπίσει τα ανώτατα αποδεκτά όρια υπολειμμάτων. Δυστυχώς όμως κάποιοι δεν έχουν πάρει στα σοβαρά την επικινδυνότητα που έχουν τα φυτοφάρμακα και δεν τηρούν τα ανώτατα αποδεκτά όρια υπολειμμάτων.

Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων είναι μια εργασία πολύπλοκη και εξειδικευμένη. Η ανάλυση πραγματοποιείται κυρίως με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας, ενώ η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων είναι μια απαραίτητη και χρονοβόρα διαδικασία, που συχνά απαιτεί τη χρήση φασματομετρίας μαζών. Έτσι ο αριθμός των δειγμάτων που ελέγχονται είναι πολύ μικρός, αναλογικά με τον αριθμό των τροφίμων που κυκλοφορούν στην αγορά. Επίσης, ο αριθμός των

ουσιών για τις οποίες γίνεται ανάλυση είναι αισθητά μικρότερος από του αριθμού αυτών που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Ακόμα, αν και μπορεί στα εργαστήρια να γίνονται υπεύθυνοι έλεγχοι, κανείς δε μπορεί να καθησυχάσει τον καταναλωτή ότι η δειγματοληψία των δειγμάτων γίνεται με τον ενδεδειγμένο τρόπο, ώστε τα αναλυτικά αποτελέσματα να είναι αντιπροσωπευτικά της παρτίδας.

Τα MRLs βέβαια δεν αποτελούν τοξικολογικά όρια και η υπέρβασή τους δεν αποτελεί απαραίτητα κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Επίσης, ο έλεγχος στα νωπά δείγματα γίνεται ως αυτά έχουν, κάτι που οδηγεί πιθανός στη μείωση του κινδύνου κατά την κατανάλωση μετά από την αποφλοιώση για τα φρούτα, όπως τα πυρηνόκαρπα, ή το πλύσιμο και το καλό μαγείρεμα για τα λαχανικά. Έχει προκύψει όμως, από αποτελέσματα προγραμμάτων της Ε.Ε., ότι ένα ποσοστό της τάξεως του 18% των δειγμάτων περιέχουν περισσότερα του ενός φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Δεν υπάρχουν ωστόσο μελέτες για συνδιαστικότητα των ουσιών και τη συνεκτίμηση του κινδύνου από τη δράση που μπορούν να έχουν αυτές στον ανθρώπινο οργανισμό. Ένας επιπλέον κίνδυνος που δύσκολα μπορεί να εκτιμηθεί είναι η μακροχρόνια έκθεση των καταναλωτών στις έστω και μικρές συγκεντρώσεις των φυτοφαρμάκων και των μεταβολιτών τους στα τρόφιμα και το περιβάλλον, αφού οι τοξικολογικές μελέτες πραγματοποιούνται εργαστηριακά σε πειραματόζωα.

Η βιολογική γεωργία αποτελεί την εναλλακτική λύση σε όλα αυτά τα προβλήματα. Πολλοί βέβαια υποστηρίζουν πως αυτή δεν είναι δυνατό να θρέψει κόσμο, όμως και από την άλλη ούτε η συμβατική το κατάφερε. Επιπλέον οι επιπτώσεις της τελευταίας είναι τέτοιες που επιτρέπεται να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι περισσότερα προβλήματα δημιουργεί παρά λύνει.

Ακόμη, στην Ελλάδα υπάρχουν σοβαρά προβλήματα μείωσης της αποτελεσματικότητας των γεωργικών φαρμάκων όλων των κατηγοριών, λόγω ανάπτυξης ανθεκτικότητας από φυτοπαράσιτα, οπότε η χρήση τους δεν έχει το απαιτούμενο αποτέλεσμα.

Προβλήματα ανθεκτικότητας των εντόμων και των ακάρεων παρουσιάστηκαν από τη δεκαετία του '60, των μυκήτων από τη δεκαετία του '70 και των ζιζανίων του '80. λείπουν ωστόσο πληροφορίες για το πραγματικό

μέγεθος του προβλήματος στις διάφορες περιοχές και στα διάφορα συστήματα φυτοπαράσιτο - γεωργικό φάρμακο – καλλιέργεια. Επίσης, εξαιτίας της χημικής καταπολέμησης εμφανίστηκαν νέοι εχθροί στις καλλιέργειες ενώ οι τοξικότητα των φυτοφαρμάκων μείωσε τους πληθυσμούς πολλών ωφέλιμων οργανισμών.

Υπάρχουν λοιπόν πολλά ερωτήματα αναπάντητα και θέματα που πρέπει να απασχολήσουν το καταναλωτικό κοινό και τους αρμόδιους φορείς, που έχουν την δύναμη να απαιτήσουν μια φιλικότερη γεωργική άσκηση προς το περιβάλλον όπως είναι η βιολογική γεωργία. Ο έλεγχος με την μέθοδο της αεριοχρωματογραφίας ωστόσο δεν θα πρέπει να σταματήσει αλλά να επεκταθεί και στα βιολογικά τρόφιμα, ως ένα μέσο απόδειξης της ποιότητας τους και της αξίας τους για τον άνθρωπο στο παρόν και στο μέλλον.

Η ανάγκη προστασίας του περιβάλλοντος αλλά και οι απαιτήσεις των καταναλωτών για ασφαλή και υγιεινά προϊόντα οδήγησαν στην προώθηση της βιολογικής γεωργίας. Σε μια βιολογική καλλιέργεια δεν χρησιμοποιούνται χημικές ή άλλες επικίνδυνες ουσίες και η προστασία των φυτών από τους εχθρούς τους γίνεται με βιολογικά μέσα.

Η βιολογική προστασία στηρίζεται κυρίως στη βοήθεια των ωφέλιμων εντόμων ή πουλιών τα οποία κατατρώνουν τους βλαβερούς οργανισμούς. Ένα παράδειγμα αποτελούν οι πασχαλίτσες οι οποίες τρώνε τις μελίγκρες, όπως και οι χρυσόπιλοι που τρέφονται επίσης με μελίγκρες. Επίσης βιοκαλλιεργητές έχουν δοκιμάσει με πολύ καλά αποτελέσματα διάφορα εκχυλίσματα άγριων βοτάνων. Είναι ακίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου, δεν έχουν υπολείμματα στα προϊόντα και φτιάχνονται από τους ίδιους με μηδαμινά έξοδα.

Έτσι με τη βιολογική καλλιέργεια μπορούμε να διατηρήσουμε τη γονιμότητα του εδάφους, να αποφύγουμε τη μόλυνση και τη ρύπανση του περιβάλλοντος και να παράγουμε τρόφιμα υψηλής βιολογικής αξίας. Οι ίδιοι οι παραγωγοί βλέπουν στη βιολογική γεωργία μια διέξοδο από τον ανταγωνισμό που θέλει να παράγουν όσο το δυνατό φθηνότερα γιατί δεν απαιτεί μεγάλα κεφάλαια ή τεχνογνωσία και γιατί τα προϊόντα βρίσκουν εύκολη διέξοδο στις αγορές, αφού τα τελευταία χρόνια αυξάνεται η ζήτησή τους.

Με τη βιολογική γεωργία βελτιώνεται η ποιότητα της καθημερινής ζωής

των ανθρώπων και αναπτύσσεται θετική σχέση με το περιβάλλον. Γενικά όμως μπορούμε να πούμε ότι η βιολογική γεωργία δεν προωθείται όπως θα έπρεπε από το κράτος ή άλλους φορείς και οι γεωργοί συνήθως μόνοι τους προσπαθούν να ενημερωθούν και να συνεργαστούν για ένα καλύτερο μέλλον για τις οικογένειές τους, την κοινωνία και το περιβάλλον.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adams και Miller T.A. 1979. Pestic. Biochem Physiol. 11, 218-231
2. Albanis T.A. (1992). Herbicide losses in runoff from the agricultural area of Thessaloniki in Thermaikos Gulf, N. Greece. The Science of the Total Environment, 114
3. Aspelin P, Aubry P, Fransson SG, et al. Nephrotoxic effects in high-risk patients undergoing angiography. N Engl J Med, 348: 491– 499, 2003.
4. Baker H. (1974). The evolution of weeds. Ann.Rev. of Ecology and Systematics.5:1-24
5. Bergelson J. et al. (1998). Promiscuity in transgenic plants. Nature. Vol. 395, 25.
6. Buffington and Wilson. Detectors for Gas Chromatography-A Practical Primer. Hewlett Packard. 1987
7. Chang, T., G. B. Crew, N. Hershkowitz, J. R. Jasperse, J. M. Retterer, and J. D. Winningham, Transverse acceleration of oxygen ions by electromagnetic cyclotron resonance with broad-band left-hand polarized waves, Geophys. Res. Lett., 13, 636, 1971.
8. Conway G.(2000). Genetically modified crops: risks and promise. Conservation Ecology 4(1):2., Rockefeller Foundation.
9. Corbett JR; Wright K & Baillie AC (1995) The biochemical mode of action of pesticides, Academic Press, London.
10. Cremlyn R. J. *Agrochemicals – Preparation and Mode of Action*, John Wiley & Son, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1985
11. Bottrell D.G., R. F. Smith « Environ and Technology, 16 (5), 282, 1982
12. Schomburg D, M. Link, H. Linoh, R. Tacke, Molekülstruktur der Akarizide Chlortrineophylstannan, chlortris[(dimethylphenylsilyl)methyl]stannan und rineophyl(1,2,4-triazol-1-yl)stannan-hemihydrat sowie des ,5-Dimethyl-2,5-diphenylhexans (Bineophyl), J. Organomet. Chem. 339, 69-80 (1988)

13. Davis R., Freason M., *Mass spectrometry, Analytical Chemistry of Open Learning*, J. Wiley and Sons, New York, 1987
14. Dorrough H.W. (1976h) Metabolism of CRONETON TM in a Lactating Holstein Cow and a Male Yorkshire Swine.
15. E.C. (European Commission), 1999. Opinion of 18-19 March 1999 of the Scientific Steering Committee on the possible vertical transmission of Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE).
16. Eto, M. 1990. Biochemical mechanism of insecticidal activities, In: *Chemistry of Plant Protection* (Eds. G. Haug and H. Hoffman,). Springer Verlag. 6: 65-107.
17. FAO (1986). Report on natural resources for food and agriculture in Latin America and the Caribbean, Dickinson, J., 107p. FAO Environment and Energy Paper No. 8.
18. FDA 1985. USA Department of Health and Human Services: Food and Drug Administration. 21 CFR Part 334. Laxative Drug Products for Over-the-Counter Human Use; Tentative Final Monograph; 1985.
19. Frear, D.S. 1976. The benzoic acid herbicides. p. 541–607. In P.C. Kearney and D.D. Kaufman (ed.) *Herbicides: Chemistry, degradation, and mode of action*. Vol. 2. Marcel Dekker, New York. Garabrant D. H., Held J., Langholz B., Peters J. M., March T. M., *DDT and Related Compounds and Risk of Pancreatic Cancer*, Journal at the National Cancer Institute, 49, 1109-1116, 2001
20. General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sports, The Netherlands, *Analytical Methods for pesticides residues in foodstuffs*. Multi – residue method 1, part I. Pesticides amenable to gas chromatography, 6th edition, Netherlands, 1996
21. Harvey, B. C. 1986. Effects of suction gold dredging on fish and invertebrates in two California streams.
22. Hassall, K.A., 1990. *The Biochemistry and Uses of Pesticides*, 2nd Edition. MacMillan Press, London, 535p

23. Hellenbrand K & Krupka RM (1970) Kinetic studies on the mechanism of insect acetylcholinesterase. *Biochemistry*, 9: 4665-4672.
24. Hoffman, P. L., Rabe, C. S., Grant, K. A., Valverius, P., Hudspeth, M. And Tabakoff, B. (1971) Ethanol and the NMDA receptor. *Alcohol* 7, 229-231
25. HSDB: Hazardous Substances Data Bank. (1990). National Library of Medicine, Bethesda, MD (CD-ROM Version). Micromedex, Inc., Denver, CO.
26. Jennings, 1981, Glycerol production in relation to the ATP pool and heat production rate of the yeasts *Debaryomyces hansenii* and *Saccharomyces cerevisiae* during salt stress in *Archives of Microbiology*
27. Kuck K.H : Untersuchungen zur Aufnahme von Bayleton in Weizenblätter. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 40,1 (1987) 1-28
28. King I. R., Anderson J., Cool A. M., Piotto G. 1998, *Astrophys. J.* 492, L37
29. Kolb B, Bischoff J 1974). A new design of a thermionic nitrogen and phosphorus detector for GC
30. Lamourex KJ Frear (1979 Involvement of mixed function oxidase systems in polychlorinated biphenyl metabolism by plant cells, Springer Berlin / Heidelberg
31. Lebreton Y., Perrin M. N., Cayrel R., Baglin A., Fernandes J. 1999, *Astron. Astrophys.* 350, 587
32. Losey E. et al. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*. Vol. 399, 214.
33. M Parfitt, 1997, Gompertzian growth curves in parathyroid tumours: further evidence for the set-point hypothesis *Cell Proliferation* 30 (8), 341-349.
34. Kovacs M.F, Jr.: Regulatory aspects of bound residues (chemistry). *Residue Rev.* 97 (1986) 1-17
35. Miles, A. M., Singer, P. C., Ashley, D. L., Lynberg, M. C., Mendola, P., Langlois, P. H., and Nuckols, J. R. (1985). Comparison of trihalomethanes in tap water and blood. *Environ. Sci. Technol*
36. Narahashi, T. (1979). In "Neurotoxicology of Insecticides and Pheromones". Pp. 211-243. Plenum Press New York.

37. Nielsen, C. (1998). Testing in the field. Proceedings of APCHI 98, 285-289. IEEE Computer Society. North American Journal of Fisheries Management 6:401-409.
38. Orchard, I. and Osborne, M. P. (1979). Pestic Biochem. Physiol 10, 197-202.
39. Robert L. G., *Modern Practice of Gas Chromatography*, John Wiley & Son, 2nd edition, 1985
40. Rohrschneider. L. (1973) Coefficients of distribution between gas and solutions at 25°C. In *Advances in Chromatography 1973. Proceedings of the 8th International Symposium*. Zlatkis. A., ed., p. 185. Houston. TX.
41. Sarna S.K , et al., Gastric Pacemakers, *Gastroenterology*, 70:226-231, (1976).
42. Serge Demers, Legendre, 1979 Water Column Stability and Photosynthetic Capacity of Estuarine Phytoplankton: Long-Term Relationships
43. James T and Martin A.J.P , 1952 : Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of ammonia and the methylamines
44. U.S. EPA 1982. United States Environmental Protection Agency. Health effects assessment for cresols. Office of Research and Development, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office. Cincinnati, OH: US EPA.
45. Ware, Jan. 1993. "Quote formulae in 'The final diagnosis'." *Journal of Translation and Textlinguistics* 6(2): 161-82
46. Μουρκίδης, Γ. (1974). Γεωργική Χημεία και Γεωργική Φαρμακολογία
47. Μπαλαγιάννης Π.(1985). Μαθήματα γεωργικής φαρμακολογίας. Εκδ. Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Αθήνα.
48. Μπαλαγιάννης Π.Γ. (1983). Εγχειρίδιο Γεωργικών Φαρμάκων. Σταμούλης Α., Πειραιάς,
49. Παπαθανασίου Γ., 1974. Εισαγωγή στη φυτοτεχνολογία. Θεσσαλονίκη, 251