



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη της σταθερότητας υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων
κατά τη συντήρηση των τροφίμων**

ΚΟΥΤΡΟΥΛΑΚΗΣ ΜΑΡΙΟΣ

A.M.:2002241

ΚΑΛΑΜΑΤΑ, 2012

Περιεχόμενα

Εισαγωγικά.....	3
Κεφάλαιο 1. Παραγωγή φυτοφαρμάκων.....	4
1.1 Εισαγωγή.....	4
1.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες – Δραστηκότητα των φυτοφαρμάκων.....	5
- Οργανοφωσφορικοί εστέρες.....	5
- Χλωρισμένοι Υδρογονάνθρακες.....	5
- Χλωρισμένες S-τριαζίνες.....	5
1.3 Δραστηκότητα και τοξικότητα των φυτοφαρμάκων.....	6
1.3.1 Εντομοκτόνα.....	7
- Οργανοφωσφορικοί εστέρες.....	7
- Χλωρισμένοι υδρογονάνθρακες.....	7
1.3.2 Ζιζανιοκτόνα.....	8
- S-τριαζίνες.....	8
1.4 Υπολειμματικότητα.....	9
1.4.1 Υποβιβασμός, μεταβολισμός και αποδόμηση των φυτοφαρμάκων.....	10
α. Υδρόλυση.....	11
β. Οξειδωση.....	11
γ. Ισομερισμός.....	12
δ. Τρανσαλκυλίωση.....	12
1.4.2 Ο μεταβολισμός των φυτοφαρμάκων στα φυτά.....	12
1.5 Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων.....	14
1.5.1 Αναλυτικές μέθοδοι για τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων.....	15

- Πολυ-υπολειμματικές μέθοδοι (MRMs).....	15
- Απλές μέθοδοι (SRMs).....	16
- Ημιποσοτικές και ποιοτικές μέθοδοι.....	16
1.5.1.1 Εκχύλιση και καθαρισμός.....	17
1.5.1.2 Διαχωρισμός σε στήλη –Ανίχνευση και προσδιορισμός.....	18
- Αέρια Χρωματογραφία – GC.....	19
- Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης – HPLC.....	19
- Η τεχνική της αέριας υπερκείμενης φάσης <i>headspace</i>	21
1.6 Επίδραση διεργασιών των τροφίμων.....	22
1.7 Ανθεκτικότητα φυτοπροστατευτικών μέσων και συντήρηση τροφίμων.....	24
1.8 Μεταφορά – Συντήρηση υπό ψύξη.....	25
Κεφάλαιο 2: Σταθερότητα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.....	28
2.1 Μελέτη σταθερότητας του <i>maneb</i>	28
2.2 Μελέτη της σταθερότητας των οργανοφωσφορικών εστέρων.....	33
2.3 Μελέτη της σταθερότητας του <i>azinphos ethyl</i>	34
2.4 Μελέτη της σταθερότητας του <i>azinphos methyl</i>	37
2.5 Μελέτη της σταθερότητας του <i>dimethoate</i>	41
2.6 Μελέτη της σταθερότητας του <i>parathion methyl</i>	49
2.7 Μελέτη της σταθερότητας του <i>chlorpyrifos methyl</i>	51
Συμπεράσματα.....	54
Βιβλιογραφία.....	58
Παράρτημα.....	63
Συνομογραφίες.....	71

Εισαγωγικά

Δεδομένων των αναγκών για βελτίωση και μεγέθυνση της γεωργικής παραγωγής, τα φυτοπροστατευτικά μέσα προορίζονται για την προστασία των φυτικών προϊόντων από επιβλαβείς οργανισμούς, την καταστροφή των ανεπιθύμητων φυτών ή μερών τους, την παρεμπόδιση της ανεπιθύμητης ανάπτυξής τους και την θετική επίδραση στις βιολογικές διεργασίες των φυτών (Κόντου Σ., 2006).

Χάρη στα φυτοπροστατευτικά μέσα, η αγορά τροφοδοτείται με φθηνά και μη προσβεβλημένα από ασθένειες φυτικά προϊόντα. Τα ίδια, όμως, τα μέσα που προστατεύουν τα φυτά αποτελούν εν δυνάμει απειλή για τα ζώα, τον άνθρωπο, ακόμα και το σύνολο του οικοσυστήματος, καθώς εισχωρούν και παραμένουν σε μικροποσότητες μέσα στον οργανισμό προκαλώντας αλλαγές στο μεταβολισμό.

Ο χρόνος αναμονής από την εφαρμογή του φυτοπροστατευτικού μέσου που απαιτείται προκειμένου να καταστεί ακίνδυνο για τον καταναλωτή, έρχεται σε αντίθεση με τους νόμους της αγοράς και τα οικονομικά συμφέροντα. Ως εκ τούτου, ορισμένες από αυτές τις ουσίες με αποδεδειγμένα χρόνια τοξικότητα έχουν απαγορευτεί σε αναπτυσσόμενες χώρες, ενώ συνεχίζουν να κυκλοφορούν και να χρησιμοποιούνται σε χώρες του τρίτου κόσμου, παρά τις δραματικές επιπτώσεις που μπορεί να επιφέρουν στον ανθρώπινο οργανισμό και στο σύνολο του περιβάλλοντος.

Οι εταιρίες παρασκευής φυτοπροστατευτικών μέσων μελετούν τη διάσπαση των τελευταίων στα φυτά και έχουν καθορίσει κανόνες ασφαλείας τόσο όσον αφορά στη δοσολογία, όσο και στην περίοδο εφαρμογής τους. Οι συνθήκες καλλιέργειας και συντήρησης, που ακολουθούνται από τους παραγωγούς σε διάφορες περιοχές, όμως, είναι πιθανό να διαφέρουν. Ως αποτέλεσμα, «οι περιεκτικότητες σε υπολείμματα των γεωργικών προϊόντων μπορεί να είναι πολύ μεγαλύτερες και ανησυχητικές όταν δεν τηρούνται οι οδηγίες χρήσης και ο απαιτούμενος χρόνος αναμονής για την έκαστη καλλιέργεια» (Παππάς, 2002).

Επομένως, η τύχη μιας φυτοπροστατευτικής ουσίας μπορεί να ποικίλει σε συνάρτηση με αρκετούς παράγοντες και να κρίνεται καθοριστική αρκετό χρονικό διάστημα μετά τη συγκομιδή των γεωργικών προϊόντων, ακόμα και μετά την κατανάλωσή τους.

Κεφάλαιο 1: Παραγωγή φυτοφαρμάκων

1.1 Εισαγωγή

Η βιομηχανία παραγωγής φυτοφαρμάκων σε ολόκληρο τον κόσμο έχει τεράστια ανάπτυξη και με αποτέλεσμα την χρήση πλήθους σκευασμάτων, τα οποία από χημικής πλευράς διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:

- A. Χλωρισμένοι υδρογονάνθρακες,
- B. Οργανοφωσφορικοί εστέρες,
- Γ. Καρβαμιδικά και αλειφατικά οξέα και εστέρες,
- Δ. Χημικές ενώσεις των ομάδων της τριαζίνης και της ουρείας,
- E. Πυρεθρίνες και
- ΣΤ. Ανόργανα χημικά φυτοφάρμακα (As, Zn, Cu κ.ά.)

Ως προς τη δραστηκότητά και το σκοπό της χρήσης τους διακρίνονται σε:

1. Εντομοκτόνα, που είναι κυρίως οργανοφωσφορικοί εστέρες, χλωρισμένοι υδρογονάνθρακες, καρβαμιδικές ενώσεις και πυρεθρίνες.
2. Ζιζανιοκτόνα, που είναι ενώσεις χλωρισμένων υδρογονανθράκων και των ομάδων της τριαζίνης και ουρείας.
3. Μυκητοκτόνα, που είναι κυρίως καρβαμιδικές ενώσεις και εστέρες αλειφατικών οξέων.

Από τις άνωθεν κατηγορίες φυτοφαρμάκων τη μεγαλύτερη αντοχή στο φυσικό περιβάλλον παρουσιάζουν τα εντομοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα των χλωρισμένων υδρογονανθράκων που περιέχουν στα μόριά τους αρωματικούς δακτύλιους. Αντιθέτως, οι καρβαμιδικές και οργανοφωσφορικές ενώσεις παρουσιάζουν πολύ μικρότερη αντοχή και ελαττώνονται σημαντικά ή και εξαλείφονται σε χρόνο ίσο περίπου με το 1/4 ή το 1/5 του χρόνου αντοχής των χλωρισμένων υδρογονανθράκων (Landle et al. 1976).

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι κυριότερες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην χημική καταπολέμηση είναι τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, τα καρβαμιδικά, οι πυρεθρίνες, τα οργανοχλωριωμένα και οι παρεμποδιστές σύνθεσης χιτίνης των εντόμων (Πάππας 2002).

1.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες – Δραστηκότητα των φυτοφαρμάκων

Οργανοφωσφορικοί εστέρες

Οι χρησιμοποιούμενες χημικές ενώσεις της κατηγορίας αυτής είναι 40 και τα συνθετικά τους προϊόντα με εντομοκτόνο δράση φτάνουν τα 1000 (Higgins & Burns 1975). Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο μέλος αυτής της κατηγορίας αποτελεί το *parathion* και το ανάλογό του *methyl parathion*. Η διαλυτότητά του στο νερό είναι 55ppm (25°C), είναι ελάχιστα διαλυτό στο ελαφρύ πετρέλαιο και τα ορυκτέλαια, ενώ είναι διαλυτό στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Παρουσιάζει μεγάλη σταθερότητα σε pH 1-7, αλλά υδρολύεται πολύ εύκολα σε pH 7-9. Σε φυσικές συνθήκες έχει πολύ μικρή υπολειμματικότητα, καθώς σε υδατικό περιβάλλον υδρολύεται προς π-νιτροφαινόλη (Gomaa et al. 1969).

Χλωρισμένοι Υδρογονάνθρακες

Σε αυτή την ομάδα περιλαμβάνονται τα οργανικά χλωριούχα εντομοκτόνα, πολυχλωρισμένοι υδρογονάνθρακες συνήθως που σε καθαρή μορφή είναι στέρεα ή υγρά με μικρή πτητικότητα. Ένα από τα βασικά εντομοκτόνα της ομάδας αυτής αποτελεί το *lindane* μετά την απαγόρευση του DDT σε αρκετές χώρες και το οποίο είναι το γ-ισομερές του εξαχλωροκυκλοεξανίου (Morgan 1982). Είναι κρυσταλλικό και βελονόμορφο σώμα, σημείου τήξεως 112°C. Έχει μικρή διαλυτότητα στο νερό – περίπου 10ppm στους 20°C, ενώ διαλύεται πλήρως στην ακετόνη και το βενζόλιο. Με την παρουσία υγρασίας αρχίζει η πολύ αργή και σταδιακή μετατροπή του σε γ-πεντα-χλωρο-κυκλοεξένιο (Maddy 1983).

Χλωρισμένες S-τριαζίνες

Οι τριαζίνες αποτελούν τα κυριότερα φυτοφάρμακα με αυξανόμενη χρήση στη γεωργία. Αυτές οι ενώσεις σε υδατικά διαλύματα συμπεριφέρονται σα βάσεις,

ενώνονται με το υδρογόνο των πρωτονιομένων μορφών, ενώ η ποσότητα κάθε μορφής στο διάλυμα καθορίζεται από την ισορροπία της ίδιας της αντίδρασης. Τα βασικά φυτοφάρμακα αυτής της ομάδας έχουν μεγαλύτερη διαλυτότητα σε χαμηλά pH απ' ό,τι στα ουδέτερα. Το *atrazine* είναι η 2-χλωρο-4(αιθυλαμινο)-6-ισοπροπυλάμινο, S-τριαζίνη. Σε υδατικά διαλύματα θεωρείται σχεδόν μη πτητική, πολύ σταθερή ένωση και δε μεταβάλλεται από το φως (Landlie 1976). Η διαλυτότητά της στο νερό είναι 30-35ppm στους 20°C και θεωρείται μεγάλη έναντι των άλλων ομάδων ζιζανιοκτόνων. Με την παρουσία υγρασίας αρχίζει η υδρόλυσή της με προϊόν την 2-υδροξυ-4,6-δισ(αλκυλαμινο)-S-τριαζίνη. Η αντίδραση της υδρόλυσης εξαρτάται από το pH, ενώ σε συνθήκες μεγάλης οξύτητας ή αλκαλικότητας πραγματοποιείται με ταχύτερο ρυθμό και καταλύεται σε πολύ όξινες επιφάνειες (Brown et al. 1969).

1.3 Δραστηκότητα και τοξικότητα των φυτοφαρμάκων

Η δραστηκότητα των φυτοφαρμάκων εξαρτάται από την χημική ομάδα στην οποία ανήκουν. Τα ζιζανιοκτόνα και τα εντομοκτόνα γενικά θεωρούνται δηλητήρια για τους ανθρώπους και τα ζώα. Η τοξικότητα των εμπορικών προϊόντων εκφράζεται σε LD₅₀ (της θανατηφόρας δόσης) για ποντικούς, μονάδα βάση της οποίας προκύπτει η συστηματική ταξινόμηση όλων των φυτοφαρμάκων:

Πίνακας 1: Κατηγορίες τοξικότητας των φυτοφαρμάκων

Μέγεθος σχετικής τοξικότητας	LD ₅₀ σε ποντίκια, mg/kg	
	Στοματική	Δερματική
1. Άκρως τοξικό	< 5	< 5
2. Πολύ τοξικό	5 – 50	5 – 50
3. Μέτρια τοξικό	50 – 500	5 – 350
4. Λίγο τοξικό	500 – 5000	350 – 3000
5. Πρακτικά μη τοξικό	5000 – 15000	3000 – 25000
6. Ακίνδυνο	> 15000	> 25000

Πηγή: Αλμπάνης, 1987

Πρόκειται για μια ταξινόμηση χρήσιμη στην εκτίμηση των κινδύνων για την ασφάλεια κατά την χρήση των χημικών ενώσεων. Αναφέρεται τόσο στα καθαρά προϊόντα, όσο και στα 'τεχνητά'. Όπως φαίνεται στον πίνακα 1, το μέγεθος της τοξικότητας είναι μεγαλύτερο για τα προϊόντα με πιο έντονη τοξική δράση ή για προϊόντα που περιέχουν και συστατικά που παρουσιάζουν μεγαλύτερη έκθεση στους χρήστες τους από την κανονική.

Σε περίπτωση παρασκευής διαλυμάτων ή μιγμάτων με τοξικά συστατικά, το μέγεθος τοξικότητας μειώνεται και εξαρτάται από τον υπολογισμό του μεγέθους της τοξικότητας στα αραιωμένα προϊόντα. Αν υπάρχει ανταγωνισμός στην ταξινόμηση – μεταξύ στοματικής και δερματικής οξύτητας της τοξικότητας- μεγαλύτερη βαρύτητα δίνεται στον πιο τοξικό δρόμο, αυτόν δηλαδή που παρουσιάζει τη μικρότερη τιμή LD₅₀ (Αλμπάνης, 1987).

1.3.1 Εντομοκτόνα

- Οργανοφωσφορικοί εστέρες

Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα περιλαμβάνονται στην κατηγορία των εντομοκτόνων επαφής. Αδρανοποιούν με φωσφορυλίωση το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση που είναι απαραίτητο για την κανονική μετάδοση των νευρικών παλμών στο κεντρικό νευρικό σύστημα εντόμων και θηλαστικών. Ως αποτέλεσμα, παρουσιάζεται περίσσεια ακετυλοχολίνης στη μετασυναπτική απόληξη του κεντρικού νευρικού συστήματος και επομένως η μη κανονική λειτουργία του. Αρκετά εντομοκτόνα αυτής της ομάδας δεν είναι ισχυροί αδρανοποιητές της ακετυλοχολίνης σε καθαρή μορφή ή στα σκευάσματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Μέσα στο σώμα των εντόμων και των θηλαστικών, όμως, ενεργοποιούνται και μετατρέπονται με οξείδωση σε ισχυρούς αδρανοποιητές του ενζύμου, με άλλα λόγια, γίνονται πολύ τοξικά.

- Χλωρισμένοι υδρογονάνθρακες

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

ενεργοποιούνται κυρίως με οξειδωση, μέσα στο σώμα εντόμων, θηλαστικών, μικροοργανισμών των φυτών ή στο έδαφος. Είναι από τα σταθερότερα χημικά οργανικά εντομοκτόνα και στην πλειονότητά τους αποτελούν αθροιστικά δηλητήρια, τα οποία εναποτίθενται και συσσωρεύονται στο λιπώδη ιστό εντόμων και άλλων ζώων και στο σπύκι των ανώτερων σπονδυλωτών, όπου μένουν για αρκετά χρόνια σχεδόν αναλλοίωτα. Κατά συνέπεια, μικρές αβλαβείς δόσεις κατ' επανάληψη δημιουργούν επιβλαβείς συγκεντρώσεις στους ιστούς. Αυτή η αθροιστική ιδιότητα σε συνδυασμό με τη σχετικά εύκολη είσοδό τους από το δέρμα και την χημική τους σταθερότητα, δημιουργεί κινδύνους για τον άνθρωπο και το ωφέλιμο περιβάλλον. Για το λόγο αυτό, η εισαγωγή και διάθεση προς κατανάλωση των πιο επικίνδυνων μελών της ομάδας αυτής έχει απαγορευτεί, ενώ επιτρέπεται η χρήση κάποιων με περιορισμούς.

1.3.2 Ζιζανιοκτόνα

- S-τριαζίνες

Σύμφωνα με την παρατηρούμενη επίδραση στα φυτά, τα συγκεκριμένα ζιζανιοκτόνα κατατάσσονται στη διαδικασία σύνθεσης λιποειδών πάνω στην εξωτερική μεμβράνη των φυτικών κυττάρων, στην φωτοσύνθεση και στη μεταφορά ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια. Προκαλούν επίσης σημαντικές αλλαγές στην όξινη φωσφορυλίωση, στη σύνθεση χρωστικών, RNA, DNA, πρωτεϊνών καθώς και στο σχηματισμό δεσμών με τις ρυθμιστικές θέσεις της ανάπτυξης των φυτών. Άλλη κατάταξη γίνεται βάση των παρατηρούμενων τροποποιήσεων στη δομή των βασικών λειτουργιών στους οργανισμούς, όπως της προμήθειας ενέργειας, της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής τους. Για τις S-τριαζίνες δεν έχει διευκρινιστεί ακριβώς ο τρόπος επίδρασης των διαφόρων ενεργών ομάδων, ενώ αδιευκρίνιστος παραμένει και ο μηχανισμός δράσης τους σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο, ο οποίος προκαλεί την φυτοτοξικότητα. Έμμεσο αποτέλεσμα της χρήσης τους αποτελεί η αύξηση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα και η μείωσή της σε αμινοξέα θρονίνης, βελίνης και ασπαργίνης αρκετών φυτών μετά από ψεκασμό. Επιπλέον, η αυξημένη χρήση τους είχε ως απόρροια πολλές αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα των νερών, ενώ ακολούθως παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις στους πληθυσμούς πουλιών στις περιοχές όπου

είχαν χρησιμοποιηθεί. Εντούτοις, οι S-τριαζίνες έχουν χαμηλή οξεία τοξικότητα στα πειραματόζωα και οι ευρύτερες επιπτώσεις τους στο περιβάλλον σε σχέση με τα εντομοκτόνα θεωρούνται ελάχιστες (Αλμπάνης, 1987).

1.4 Υπολειμματικότητα

Στη σύγχρονη εποχή, η ευρεία χρήση φυτοφαρμάκων συνέβαλε χωρίς αμφιβολία στην εξάλειψη επιδημιών και στην αντιμετώπιση της επιτακτικής ανάγκης για βελτίωση και αύξηση της γεωργικής παραγωγής. Από την άλλη πλευρά, όμως, η χρήση φυτοφαρμάκων εμπερικλείει σοβαρούς κινδύνους τόσο για την υγεία του ανθρώπου, όσο και γενικά για την ποιότητα του περιβάλλοντος (Μιχαηλίδου, 1987).

Η εκτεταμένη διάδοση των φυτοφαρμάκων είχε ως αποτέλεσμα υπολείμματά τους να βρίσκονται σχεδόν στο σύνολο του έμψυχου και άψυχου κόσμου, στα επιφανειακά και υπόγεια νερά, στο έδαφος όπου ανιχνεύονται ακόμη και μια δεκαετία μετά την χρήση τους, και ακόμα στα στελέχη των φυτών. Υπολείμματα των φυτοφαρμάκων εισχωρούν και παραμένουν στο σώμα ψαριών, πουλιών, ερπετών και θηλαστικών, αλλά και στον ίδιο τον άνθρωπο, και μάλιστα σε βαθμό που πειράματα πάνω σε ζώα αδυνατούν να εντοπίσουν κάποιο είδος που να μην έχει μολυνθεί απ' αυτά (Carson, 1962).

Τα φυτοφάρμακα και αρκετά από τα προϊόντα βιομετατροπής τους, λοιπόν, είναι εξαιρετικά επικίνδυνα, καθώς δρουν άμεσα ή έμμεσα ή και αθροιστικά-μακροπρόθεσμα. Η έμμεση ή και μακροπρόθεσμη δράση τους οφείλεται στην παραμονή, εντός των γεωργικών προϊόντων, μικροποσοτήτων φυτοφαρμάκων ή και τοξικών μεταβολιτών τους, των λεγόμενων υπολειμμάτων. Αυτά τα υπολείμματα μπορεί να καταλήξουν μέσω της τροφικής αλυσίδας στα ζώα και στον άνθρωπο ή και να επηρεάσουν το σύνολο του οικοσυστήματος, αφού προκαλούν αλλαγές στο μεταβολισμό, οι οποίες κάποτε γίνονται θανατηφόρες (Carson, 1962). Για το λόγο αυτό, τα επιτρεπτά όρια ανοχής των υπολειμμάτων καθορίζονται και θεσμοθετούνται τόσο σε εθνικό όσο και σε κοινοτικό και διεθνές επίπεδο.

Ο όρος 'υπόλειμμα', με βάση τις προδιαγραφές των διεθνών οργανισμών, της Παγκόσμιας Οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και της Παγκόσμιας

Οργάνωσης Υγείας (WHO), περιλαμβάνει καθ' αυτό το φυτοφάρμακο και οποιοδήποτε προϊόν τοξικολογικής σημασίας, προερχόμενο από αποικοδόμηση, μετατροπή ή μεταβολισμό του. Έτσι, η μελέτη της υπολειμματικότητας συνίσταται στη διερεύνηση του είδους των υπολειμμάτων και της εξάρτησης της υφιστάμενης στα τρόφιμα συγκέντρωσης από τον χρόνο, σε συνάρτηση με το εκάστοτε υποκείμενο εφαρμογής και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Στην μελέτη περιλαμβάνονται *in vitro* και *in vivo* δοκιμές, οι οποίες αφορούν στη μελέτη της συμπεριφοράς του φυτοφαρμάκου εντός του υποκειμένου εφαρμογής του, όπως των λαχανικών και των φρούτων.

Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών συμπληρώνουν επίσης τα εντομολογικά δεδομένα, ενώ ταυτόχρονα συμβάλλουν και στην ορθολογιστική χρήση των φυτοφαρμάκων παρέχοντας τη δυνατότητα υπολογισμού της χρήσης, δοσολογίας και συχνότητας εφαρμογής τους (Μιχαηλίδου, 1987).

1.4.1 Υποβιβασμός, μεταβολισμός και αποδόμηση των φυτοφαρμάκων

Κάτω από την επίδραση ενός αριθμού φυσιολογικών περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως της θερμοκρασίας, της υγρασίας, του φωτός, του μητρικού υλικού του υποκειμένου εφαρμογής, ενζύμων κλπ., τα φυτοφάρμακα αποικοδομούνται ή μετατρέπονται ή και μεταβολίζονται. Ως αποτέλεσμα, προκύπτει ο υποβιβασμός των φυτοφαρμάκων, μια διαδικασία που οδηγεί στη σταδιακή μείωση της συγκέντρωσής τους μέσα στο υποκείμενο εφαρμογής ή και το περιβάλλον (Μιχαηλίδου, 1987).

Στον κλάδο της χημείας των γεωργικών φαρμάκων, και σε σχέση με τη σταθερότητα των δραστικών ουσιών σε περιβαλλοντικές συνθήκες, πολλές φορές γίνεται χρήση του όρου 'εμμονή'. Μέτρο της εμμονής των δραστικών ουσιών αποτελεί ο χρόνος ημίσειας ζωής, το χρονικό διάστημα, δηλαδή, που απαιτείται για την κατά το ήμισυ μείωση της αρχικής συγκέντρωσης των υπολειμμάτων. Η εμμονή της δραστικής ουσίας στο περιβάλλον εξαρτάται τόσο από την χημική σταθερότητα και τις φυσικές ιδιότητες της ένωσης, όσο και από άλλους παράγοντες, όπως το είδος της καλλιέργειας και οι κλιματολογικές συνθήκες (Κόντου 2006).

α. Υδρόλυση

Πρόκειται για την κυριότερη μεταβολή που υφίστανται τα οργανικά παρασιτοκτόνα. Κάθε εστερικός, αμιδικός ή ανυδριτικός δεσμός στις ενώσεις του πεντασθενούς φωσφόρου μπορεί να υδρολυθεί. Η υδρόλυση καταστρέφει τις τοξικές ιδιότητες των παρασιτοκτόνων, αφού τα προϊόντα της συνήθως είναι μη τοξικές ουσίες, ενώ σχετίζεται και με τις βιοχημικές αντιδράσεις απενεργοποίησης των φυτοφαρμάκων. Αποτελεί ένα δυναμικό φαινόμενο και οδηγεί σε μια κατάσταση δυναμικής ισορροπίας, στην 'υδρολυτική ισορροπία'.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την υδρόλυση ή μάλλον την ταχύτητα επίτευξης της ισορροπίας είναι η παρουσία οξέων, η παρουσία βάσεων, η ποσότητα ύδατος-σχετικής υγρασίας και η θερμοκρασία. Το όξινο και περισσότερο το βασικό περιβάλλον επιδρούν καταλυτικά στην επίτευξη της ισορροπίας, ενώ μικρότερη επίδραση έχουν η αύξηση της υγρασίας και η αύξηση της θερμοκρασίας.

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

Ωστόσο, ογκώδεις υποκαταστάσεις του φωσφόρου προστατεύουν το άτομο φωσφόρου από την προσβολή του από ΟΗ σταθεροποιώντας το μόριο. Το εν λόγω φαινόμενο αποκτά μεγαλύτερη σημασία, όταν αντιδρά αντί του απλού ιόντος υδροξυλίου, το ογκώδες μόριο της ακετυλο-χοληνεστεράσης. Επίσης, η υδρόλυση των οργανοφωσφορικών αναστέλλεται από πολλές αζωτούχες ενώσεις.

β. Οξειδωση

Το κύριο κέντρο της οξειδωσης αποτελεί το θείο των υποκαταστατών. Η οξειδωση συμβάλλει στην αύξηση της δυνατότητας υδρόλυσης της ένωσης και συνεπώς, στην αντιχολινεστερασική δραστηκότητά της.

γ. Ισομερισμός

Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις μεταπίπτουν στα ισομερή τους επιφέροντας σημαντικές μεταβολές στις ιδιότητες των ενώσεων αυτών. Σε περίπτωση ύπαρξης διπλού δεσμού στην οργανοφωσφορική ένωση γίνεται *cis-trans* ισομερισμός.

δ. Τρανσαλκυλίωση

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε αποθηκευμένα δείγματα και υδατικά διαλύματα συμβάλλοντας στην αύξηση της τοξικότητας του φυτοφαρμάκου και άρα στην ελάττωση της θανατηφόρου δόσης (Μουρκίδης, 1974).

Ο μεταβολισμός των δε καρβαμιδικών στα φυτά είναι πιο απλός, καθώς η κυριότερη οδός μεταβολισμού τους είναι η απομάκρυνση της ομάδας OC (O)NHCH₃ από το μόριό τους. Οι πυρεθρίνες αποικοδομούνται με οξείδωση ή με υδρόλυση (Miyamoto & Sujuki, 1973).

1.4.2 Ο μεταβολισμός των φυτοφαρμάκων στα φυτά

Η αποτελεσματικότητα και η εκλεκτικότητα των φυτοφαρμάκων, όπως επίσης και το είδος και η ποσότητα των υπολειμμάτων, ο χρόνος ημίσειας ζωής και ο τρόπος υποβιβασμού τους, συνδέονται και εξαρτώνται άμεσα από τα φαινόμενα συγκράτησης, διείσδυσης ή κατανομής του εκάστοτε φυτοφαρμάκου στο υποκείμενο εφαρμογής (Μιχαηλίδου, 1987).

Στα φυτά η τύχη των φυτοφαρμάκων αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία, η οποία εμπερικλείει την είσοδο του φυτοφαρμάκου διαμέσου κυρίως των επιφανειών των φύλλων, του φρούτου ή και των ριζών. Στη συνέχεια, οι δραστικές ουσίες κατανέμονται στο ξύλο και στον φλοιό. Μέρος των ουσιών εξατμίζεται από την επιφάνεια των φυτών, ενώ το υπόλοιπο αποδομείται και μεταβολίζεται επί και εντός του φυτού. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα φυτοφάρμακα μεταβολίζονται σε πολλά διαφορετικά στάδια και συχνά σε μορφή μη εκχυλίσμων υπολειμμάτων. Μόνο για λίγες από τις δραστικές ουσίες είναι γνωστή η πλήρης αποδομητική οδός. Οι ποσότητες και τα είδη των μεταβολιτών επηρεάζονται από την απορρόφηση, την κατανομή και τον χρόνο παραμονής του φυτοφαρμάκου στο φυτό (EC, 1997).

Όπως αναφέρθηκε, ένα φυτοφάρμακο μπορεί να απορροφηθεί από τα φύλλα, τα φρούτα ή τις ρίζες των φυτών. Οι ρίζες είναι δυνατόν επίσης να λαμβάνουν τους μεταβολίτες που σχηματίζονται στο έδαφος από την αβιοτική ή τη μικροβιακή αποδόμηση. Οι ρίζες και οι επιφάνειες των φύλλων των φυτών έχουν αρκετά διαφορετική συμπεριφορά, αναλόγως του φυτού, όσον αφορά στη δυνατότητα διείσδυσης της δραστικής ουσίας. Η επιδερμίδα των ριζών είναι μια λιπόφιλη μεμβράνη και το ενδοδέρμιο μια εσωτερική δομή των ριζών, που πρέπει να διαπεραστεί μέσω ενός μηχανισμού ενεργής μεταφοράς, ώστε μια ουσία να μπορέσει να μεταφερθεί εντός του φυτού (EC, 1997).

Σε ένα φυτό υπάρχουν δύο διαφορετικά συστήματα αγγείων μεταφοράς –του χυμού και του νερού,- μέσω των οποίων μεταφέρονται οι δραστικές ουσίες και οι μεταβολίτες. Υπάρχει κανονικά μια παθητική μεταφορά στο ξύλο, με την άνοδο του νερού ή της ροής υγρασίας, από τις ρίζες ως τις κορυφές του φυτού, αλλά και μια ενεργός μεταφορά στον φλοιό προς τα κέντρα της μεταβολικής δραστηριότητας, όπως για παράδειγμα τα αναπτυσσόμενα σημεία βλαστών και ριζών. Η κατανομή του φυτοφαρμάκου, ωστόσο, στα φυτά δεν είναι ομοιόμορφη και προκύπτει ανάλογα με το είδος της δραστικής ουσίας και την οδό διαμέσου της οποίας εισχωρεί στο φυτό. Οι ρίζες και τα φύλλα αποτελούν τα κέντρα αποδόμησης της δραστικής ουσίας. Η δυνατότητα αποδόμησης ενός φυτοφαρμάκου ποικίλει κατά πολύ σε συνάρτηση με το φυτό, τη διαφορά ηλικίας, το είδος και το τμήμα του φυτού, καθώς επίσης και με τις συνθήκες καλλιέργειας (EC, 1997).

Οι μεταβολίτες των φυτοφαρμάκων σχηματίζονται σε διάφορα στάδια που έπονται της διάχυσής τους μέσα στα φυτά. Αυτή η διαδικασία καταλήγει στο σχηματισμό ελεύθερων, σύνθετων και φυσικών ουσιών και ίχτων υπολειμμάτων. Οι μεταβολίτες σχηματίζονται πάνω και μέσα στα φυτά μέσω υδρόλυσης, οξειδωσης, διαίρεσης, φωτόλυσης ή ενζυμικής κατάλυσης. Αυτές οι αντιδράσεις και οι πρώτοι μεταβολίτες που προκύπτουν συχνά είναι ομοιοί σε φυτά και ζώα.

Στο δεύτερο στάδιο οι αρχικοί μεταβολίτες δημιουργούν συνεζευγμένες ενώσεις με τις φυτικές ουσίες. Οι συνεζευγμένες ενώσεις συνήθως είναι πιο πολικές από τους αρχικούς μεταβολίτες και ευδιάλυτοι στο νερό ή σε άλλους πολικούς διαλύτες.

Οι μεταβολίτες των φυτοφαρμάκων μπορούν να ενωθούν και ομοιοπολικά με αδιάλυτες ουσίες του φυτού σαν στερεό υπόλειμμα. Βάση του ορισμού της IUPAC (1981), μη εκχυλίσσιμο υπόλειμμα είναι χημικές ενώσεις που δεν μπορούν να παραληφθούν με μεθόδους εκχύλισης. Σύμφωνα με αυτό τον ορισμό, οι συζυγιακές ενώσεις που μετασχηματίζονται κατά τη μεταβολική διαδικασία σε φυσικά προϊόντα δε συμπεριλαμβάνονται στους μεταβολίτες (Kovacs, 1986). Η περαιτέρω αποδόμηση ενδέχεται να οδηγήσει στην ελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα ή άλλων μορίων χαμηλού μοριακού βάρους, όπως μυρμιγκικά ή οξικά άλατα. Ενίοτε, τα δομικά αυτά κομμάτια ενσωματώνονται με άλλες ουσίες των φυτών (Harvey, 1986).

Σε γενικές γραμμές, κατά το μεταβολισμό των φυτοφαρμάκων στα φυτά σχηματίζονται ευδιάλυτες στο νερό συζυγιακές ενώσεις και ίχνη υπολειμμάτων τους παραμένουν εντός των φυτών. Η πλήρης οξειδωση των οργανικών δραστικών ουσιών των γεωργικών φαρμάκων σε οξείδιο του άνθρακα και νερό είναι δευτερεύουσας σημασία (Παππάς, 2002).

1.5 Μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων

Ήδη από την δεκαετία του '50, η ενδεχόμενη παρουσία υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε τρόφιμα, ως αποτέλεσμα της εφαρμογής τους στις καλλιέργειες, επέβαλε την ανάπτυξη μεθόδων για τον προσδιορισμό τους.

Οι μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων στα τρόφιμα χρησιμοποιούνται γενικά για:

- τον έλεγχο της συμμόρφωσης των προϊόντων σύμφωνα με τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων που έχουν καθοριστεί από τη νομοθεσία,
- την εκτίμηση της έκθεσης του καταναλωτή μέσα από συντονισμένα προγράμματα επίβλεψης υπολειμμάτων σε τρόφιμα,
- ερευνητικούς σκοπούς, όπως η μελέτη της αποικοδόμησης των δραστικών ουσιών στα φυτά που έπεται της εφαρμογής των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η μελέτη της επίδρασης των διεργασιών στα υπολείμματα κατά την μεταποιητική επεξεργασία των τροφίμων και η μελέτη της

σταθερότητας των υπολειμμάτων κατά την αποθήκευση και τη συντήρηση των τροφίμων.

Η ανάπτυξη μεθόδων είναι αναγκαία όχι μόνο για τον αποτελεσματικό προσδιορισμό των υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών, αλλά και για τα από τοξικολογικής άποψης σημαντικά προϊόντα διάσπασής τους και τους μεταβολίτες τους. Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού συνδυασμών γεωργικού φαρμάκου – υποστρώματος – ανωτάτου επιτρεπτού ορίου, τα αρμόδια εργαστήρια ελέγχου χρησιμοποιούν κατά κύριο λόγο τις λεγόμενες πολυ-υπολειμματικές μεθόδους, με τις οποίες ανιχνεύεται και προσδιορίζεται ένα μεγάλος αριθμός δραστικών ουσιών που έχουν συνήθως παραπλήσια χημική δομή. Τέτοιες ουσίες είναι, για παράδειγμα, αυτές που ανήκουν στην ομάδα των οργανοχλωριωμένων, οργανοφωσφορικών ή καρβαμιδικών γεωργικών φαρμάκων. Ωστόσο, για πολλές ουσίες και μεταβολίτες, όπως για το μεταβολίτη ETU, απαιτείται εξειδικευμένη αναλυτική μέθοδος (Κόντου 2006).

1.5.1 Αναλυτικές μέθοδοι για τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων

Η αναλυτική διαδικασία μπορεί να ακολουθηθεί διακρίνεται σε ποσοτική πολυ-υπολειμματική, ημιποσοτική, απλή ποσοτική ή απλώς ποιοτική. Η καθεμία επιλέγεται σύμφωνα με το σκοπό που τίθεται, τη σημασία του αποτελέσματος και το είδος του πεδίου εφαρμογής. Η απόδοση στις ανακτήσεις από το υπόστρωμα των φυτών ή των τροφίμων επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από την πολικότητα, πτητικότητα, χημική αντίδραση και θερμική σταθερότητα. Συγχρόνως, σημαντικό ρόλο στην ανίχνευση των φυτοφαρμάκων παίζουν ο καθαρισμός των δειγμάτων, καθώς επίσης και η επιλογή της κατάλληλης στήλης και του κατάλληλου οργάνου (Nielsen, 1998).

Πολυ-υπολειμματικές μέθοδοι (MRMs)

Οι πολυ-υπολειμματικές μέθοδοι παίζουν βασικό ρόλο στην ανάλυση υπολειμμάτων στα προγράμματα ελέγχου των τροφίμων. Χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην ανίχνευση και τον προσδιορισμό πολλαπλών υπολειμμάτων στα τρόφιμα και έχουν αποδειχτεί αξιόπιστες μέσα από πλήθος διεργαστηριακών συγκριτικών μελετών (Bicchi et al., 1997).

Οι MRMs χρησιμοποιούνται από την FDA και την USDA, ενώ τροποποιούνται και βελτιώνονται συνεχώς. Από αυτές οι οχτώ βασίζονται στην αέρια χρωματογραφία και δύο στην υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης (Nielsen, 1998). Ωστόσο, οι MRMs δεν μπορούν να ανιχνεύσουν όλα τα υπολείμματα που περιέχονται στο σύνολο των τροφίμων. Πρακτικά, παρουσιάζουν ένα συναγωνισμό μεταξύ του αριθμού των υπολειμμάτων που μπορούν να ανιχνεύσουν, των ειδών των τροφίμων επί των οποίων μπορούν να εφαρμοστούν και των επιπέδων υπολειμμάτων που μπορούν να προσδιορίσουν. Από την άλλη πλευρά, το βασικό τους πλεονέκτημα αποτελεί ο πολύ μεγάλος αριθμός υπολειμμάτων που δύνανται να ανιχνεύσουν και την ίδια στιγμή να προσδιορίσουν με αξιοπιστία (Παππάς, 2002).

Απλές μέθοδοι (SRMs)

Αντίθετα από τις MRMs, οι SRMs επιτυγχάνουν συνήθως τον προσδιορισμό μιας δραστικής ουσίας μαζί με τους κύριους μεταβολίτες της (ή τις μετασχηματισμένες ουσίες με τοξικολογική σημασία). Πολλές από αυτές έχουν αναπτυχθεί για τη στήριξη εφαρμογών για την καταγραφή των αποδεκτών ορίων ή για την έρευνα του μεταβολισμού και της τύχης του περιβάλλοντος των χημικών ουσιών. Σε γενικές γραμμές, οι SRMs είναι λιγότερο χρονοβόρες και πολλές φορές εξασφαλίζουν χαμηλότερα όρια στην ανίχνευση από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια (Παππάς, 2002).

Ημιποσοτικές και ποιοτικές μέθοδοι

Γενικά, είναι αξιόπιστες ως προς την εκτίμηση του επιπέδου ειδικών υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα δείγματα και ικανές στην ανίχνευση ενός μεγάλου αριθμού υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Πολλές φορές αναφέρονται ως *screening methods* για τον έλεγχο των δειγμάτων όσον αφορά σε ένα σημαντικό αριθμό φυτοφαρμάκων σε μικρό σχετικά χρονικό διάστημα. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα των συγκεκριμένων μεθόδων αποτελούν το χαμηλό κόστος τους και το ότι είναι σχετικά γρήγορες και απλές. Εφαρμογή σε αυτές τις μεθόδους βρίσκουν τεχνικές όπως η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, η παρεμπόδιση ενζύμων και οι ανοσοποιητικές μέθοδοι.

Όλες οι υπολειμματικές μέθοδοι, είτε πολυ-υπολειμματικές, είτε στοχεύουν στον προσδιορισμό ορισμένης δραστικής ουσίας, αποτελούνται συνήθως από συγκεκριμένα στάδια:

- Εκχύλιση και καθαρισμός
- Διαχωρισμός σε στήλη ή ανίχνευση και προσδιορισμός

1.5.1.1 Εκχύλιση και καθαρισμός

Η εκχύλιση του δείγματος γίνεται για να διαχωριστεί ο αναλυτής ή η ομάδα αναλυτών από το υπόστρωμα και ο καθαρισμός του εκχυλίσματος για την απομόνωση των δραστικών ουσιών, όσο είναι εφικτό, από τα υπόλοιπα συστατικά του υποστρώματος. Ο διαλύτης εκχύλισης και η τεχνική καθαρισμού που θα υιοθετηθεί επιλέγονται σε συνάρτηση κυρίως με:

- τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του αναλύτη, όπως πολικότητα, πτητικότητα και δραστικές ομάδες του μορίου,
- το είδος του υποστρώματος – ποσοστό υγρασία και λίπους,
- την εκλεκτικότητα και ευαισθησία του συστήματος προσδιορισμού / ανίχνευσης.

Οι τεχνικές καθαρισμού που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι:

- Κατανομή υγρού – υγρού
- Προσρόφηση σε στήλη
- Εκχύλισμα στερεάς φάσης
- Χρωματογραφία διαπέρασης πηκτής

Η κατανομή πραγματοποιείται συνήθως όταν πρόκειται για δείγματα υψηλού ποσοστού υγρασίας και χαμηλού λίπους, από τον αναμιγνύόμενο με νερό οργανικό διαλύτη εκχύλισης σε διχλωρομεθάνιο, ενώ για δείγματα με υψηλό ποσοστό λίπους,

ενδείκνυται ένα πλήθος συνδυασμών και συστημάτων κατανομής, όπως εξάνιο / ακετονιτρίλιο.

Οι στήλες προσρόφησης χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων οργανοχλωρισμένων ενώσεων σε λιπαρά τρόφιμα. Αντιθέτως, δεν ενδείκνυται για πολικές δραστικές ουσίες, οι οποίες έχουν την τάση να κατακρατώνται μη αντιστρεπτά στα προσροφητικά υλικά.

Όσον αφορά στην εκχύλιση στερεάς φάσης, πρόκειται για χρωματογραφία στήλης χαμηλής διαχωριστότητας, η οποία χρησιμοποιείται κατά δυαδικό τρόπο, -ο αναλύτης είτε κατακρατείται πλήρως στη στήλη, ή εκλύεται πλήρως. Καθώς σχετικά μεγάλοι όγκοι υγρών δειγμάτων ή εκχυλισμάτων διέρχονται από τη στήλη στην πρώτη περίπτωση, οι ιχνοποσότητες της προς προσδιορισμό ουσίας παγιδεύονται εκλεκτικά στο υλικό, διαχωρισμένες από συστατικά του υποστρώματος και εμπλουτισμένες, στη συνέχεια, σε μικρό όγκο κατάλληλου διαλύτη έκλουσης. Η εν λόγω επιλογή του υλικού και του διαλύτη έκλουσης αποβλέπει στην αύξηση της εκλεκτικότητας του καθαρισμού. Στην άλλη περίπτωση, οι ουσίες που παρεμποδίζουν στην ανάλυση κατακρατώνται στη στήλη, χωρίς να κατακρατείται ο αναλύτης.

Τέλος, ο διαχωρισμός στη χρωματογραφία διαπέρασης πηκτής βασίζεται στο μέγεθος των ουσιών. Επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων από μακρομόρια όπως λιπίδια, κηροί, πρωτεΐνες και χρωστικές. Η τεχνική βρίσκει εφαρμογή κυρίως στην ανάλυση λιπαρών τροφίμων και αποσκοπεί ως επί το πλείστον στην καλύτερη συντήρηση του χρωματογραφικού συστήματος, αφού οι μακρομοριακές ενώσεις μολύνουν τον εισαγωγέα ή μειώνουν τον χρόνο ζωής της χρωματογραφικής στήλης (Κόντου, 2006).

1.5.1.2 Διαχωρισμός σε στήλη –Ανίχνευση και προσδιορισμός

Η επικρατέστερη τεχνική στις υπολειμματικές αναλύσεις είναι η αέρια χρωματογραφία, σε συνδυασμό με τριχοειδείς στήλες και εκλεκτικούς ανιχνευτές. Ωστόσο, τη νεότερη γενιά γεωργικών φαρμάκων αποτελούν κατά κύριο λόγο ενώσεις πολικές, μη προσδιοριζόμενες άμεσα αεριοχρωματογραφικά. Και οι μεταβολίτες μέσης πολικότητας μητρικών ενώσεων, όμως, είναι συχνά μικρού μοριακού βάρους

και με πολικές δραστικές ομάδες ενώσεις. Για το λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια αυξάνεται ολοένα και περισσότερο η χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης.

Αέρια Χρωματογραφία - GC

Στις αεριοχρωματογραφικές μεθόδους ο διαχωρισμός λαμβάνει χώρα σε τριχοειδείς στήλες συνδεδεμένης φάσης, οι οποίες υπερτερούν σε διαχωριστική ικανότητα και ευαισθησία σε σύγκριση με τις συμβατικές πακεταρισμένες στήλες. Για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των δραστικών ουσιών, και αναλόγως της χημικής δομής τους, χρησιμοποιούνται εκλεκτικοί ανιχνευτές. Χάρη στο συνδυασμό αυτό, αλλά και σε περαιτέρω εξελίξεις του αεριοχρωματογραφικού συστήματος, επήλθε σημαντική βελτίωση στα όρια ανιχνευσιμότητας, που ικανοποιούν τις νομοθετικές απαιτήσεις για όλο και χαμηλότερα ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμματικότητας.

Προαπαίτηση για τον αεριοχρωματογραφικό προσδιορισμό μιας ουσίας αποτελεί η θερμική σταθερότητα και η πηκτικότητα της. Αν ο αναλύτης δεν ικανοποιεί τις προϋποθέσεις αυτές, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η παραγωγοποίηση ως μέσο για τη βελτίωση της χρωματογραφικής συμπεριφοράς του. Η αντίδραση σχηματισμού παραγώγου, συνήθως ακυλίωση, αλκυλίωση ή συλιλίωση, θα πρέπει να είναι ποσοτική και επαναλήψιμη. Ενίοτε η παραγωγοποίηση συντελεί και στην αύξηση της ευαισθησίας. Επίσης, ο σχηματισμός παραγώγου χρησιμοποιείται για την επιβεβαίωση του αποτελέσματος προηγούμενης ανάλυσης που έχει διεξαχθεί με διαφορετική μέθοδο. Σύγχρονη τάση αποτελεί η κατάργηση των μεθόδων με βάση το σχηματισμό παραγώγων και η αντικατάστασή τους από HPLC μεθόδους, καθώς οι πρώτες είναι χρονοβόρες και η αναπαραγωγιμότητά τους επηρεάζεται κατά πολύ από πιθανή παρουσία ουσιών, που παραεμποδίζουν την αντίδραση, στο υπόστρωμα (Κόντου, 2006).

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης - HPLC

Αυξανόμενη εφαρμογή στις υπολειμματικές αναλύσεις βρίσκει η υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης, με σκοπό την επίλυση των προαναφερθέντων

προβλημάτων. Επικρατέστερη τεχνική είναι η χρωματογραφία ανάστροφης φάσης σε χημικά συνδεδεμένη ακίνητη φάση. Αποτελεσματικότερος διαχωρισμός επιτυγχάνεται όταν το μέγεθος των σωματιδίων της στήλης είναι πιο μικρό. Ακόμη ενδείκνυται η χρήση στηλών πολύ μικρής διαμέτρου κυρίως σε συνδυασμό με ανιχνευτή φασματομετρίας, με τις οποίες επιτυγχάνεται μεγαλύτερη ευαισθησία. Σημαντικότερη εξέλιξη στον τομέα των ανιχνευτών αποτελεί η σύζευξη της HPLC με ανιχνευτή διαδοχικής φασματομετρίας μάζας. Αυτό το σύστημα διαθέτει μεγάλη ευαισθησία και εξειδίκευση, μέχρι στιγμής, ωστόσο, το κόστος του παραμένει πολύ υψηλό.

Πιο διαδεδομένοι είναι οι ανιχνευτές ορατού – υπεριώδους και συστοιχίας φωτοδιόδων. Κύριο μειονέκτημά τους αποτελεί η χαμηλή εκλεκτικότητα, και ως εκ τούτου, το στάδιο του καθαρισμού πριν τον προσδιορισμό κρίνεται καθοριστικής σημασίας. Ο ανιχνευτής συστοιχίας φωτοδιόδων υπερτερεί, καθώς ανά πάσα στιγμή καταγράφει το φάσμα επιτρέποντας την επιβεβαίωση της ταυτότητας άγνωστης κορυφής μέσω σύγκρισης με το φάσμα προτύπου. Για την ταυτοποίηση πρέπει να υπάρχουν τα ίδια μέγιστα στο φάσμα αγνώστου και προτύπου και η διαφορά μεταξύ τους να μην υπερβαίνει το 10% της απορρόφησης του προτύπου βαθμονόμησης (Απόφαση 2002/657/EK). Επίσης, μπορεί να γίνει έλεγχος της καθαρότητας της κορυφής με σύγκριση του φάσματος που αντιστοιχεί στο μέγιστο της κορυφής με αυτά που αντιστοιχούν εκατέρωθεν αυτής.

Ο φθορισμομετρικός ανιχνευτής διαθέτει συνήθως μεγαλύτερη ευαισθησία από τον ανιχνευτή ορατού – υπεριώδους, αλλά κυρίως μεγαλύτερη εκλεκτικότητα, διότι εμπλέκονται στην ανάλυση δυο διαφορετικά μήκη κύματος, διέγερσης και εκπομπής. Το μειονέκτημά του έγκειται στο ότι ελάχιστες ουσίες μεταξύ των γεωργικών φαρμάκων διαθέτουν ικανό φθορισμό, ούτως ώστε να μετρηθούν άμεσα. Για την πλειονότητα των εφαρμογών προϋπόθεση αποτελεί ο σχηματισμός φθορίζοντος παραγώγου, ενώ η αντίδραση παραγωγοποίησης μπορεί να λάβει χώρα πριν ή μετά τον χρωματογραφικό διαχωρισμό. Συνήθως ο χρωματογραφικός διαχωρισμός ενώσεων που εκκλύονται σε κοντινούς χρόνους επιδεινώνεται όταν έχει προηγηθεί η αντίδραση σχηματισμού παραγώγου, καθώς η εισαγωγή της ίδιας δραστικής ομάδας στο μόριό τους μειώνει ακόμα περισσότερο τις διαφορές στην χρωματογραφική συμπεριφορά αυτών των ενώσεων. Ως εκ τούτου, προτιμάται η παραγωγοποίηση

μετά την έξοδο από τη στήλη, οπότε η αντίδραση θα πρέπει να είναι ταχεία, ενώ τα αντιδραστήρια και τα παραπροϊόντα της αντίδρασης να μην είναι ανιχνεύσιμα στις συνθήκες μέτρησης (Κόντου, 2006).

Η τεχνική της αέριας υπερκείμενης φάσης *headspace*

Κατάλληλη για τον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων, η τεχνική βασίζεται στην κατανομή των συγκεκριμένων ενώσεων μεταξύ της υγρής φάσης του δείγματος και της αέριας φάσης σε ένα ερμητικά κλειστό θερμοστατούμενο φυαλίδιο. Μετά από την επίτευξη ισορροπίας, παραλαμβάνεται ποσότητα δείγματος από την υπερκείμενη αέρια φάση και εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο.

Το μέγεθος της κορυφής της προσδιοριζόμενης ουσίας είναι ανάλογο προς τη μερική τάση ατμών της ουσίας στο φυαλίδιο, ενώ η τάση ατμών αποτελεί συνάρτηση της θερμοκρασίας, κι επομένως ο έλεγχος της θερμοκρασίας καθίσταται κρίσιμη παράμετρος στην ανάλυση. Είναι προφανές ότι η αναλογία υγρής και αέριας φάσης θα πρέπει να είναι σταθερή στα δείγματα και τα πρότυπα βαθμονόμησης.

Σε συνάρτηση με την τεχνική *headspace*, η αναπαραγωγιμότητα στο στάδιο της ένεσης βελτιώνεται από τη βαθμονόμηση με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου, αλλά δεν αντισταθμίζεται η επίδραση του υποστρώματος, διότι η σύσταση της υγρής φάσης ασκεί εξίσου επιρροή, και με μη προβλέψιμο τρόπο, την κατανομή του εσωτερικού προτύπου. Η μέθοδος του εξωτερικού προτύπου, από την άλλη πλευρά, έχει το πλεονέκτημα ότι είναι απλή και ταχεία. Επίσης, με τη μέθοδο αυτή αποφεύγεται ο κίνδυνος σφαλμάτων που ενδέχεται να προκύψουν από τον χειρισμό επιπλέον πτητικών ουσιών, όπως συμβαίνει κατά τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου. Η μέθοδος ενδείκνυται, ωστόσο, στην περίπτωση ανάλυσης μεγάλου αριθμού δειγμάτων. Σε κάθε περίπτωση, θα πρέπει να είναι διαθέσιμο τυφλό υπόστρωμα για την παρασκευή των προτύπων βαθμονόμησης. Η μέθοδος βαθμονόμησης που αντισταθμίζει την επίδραση του υποστρώματος στο σήμα το οποίο παρατηρείται όταν εφαρμόζεται η τεχνική *headspace*, είναι η μέθοδος της προσθήκης γνωστών ποσοτήτων. Η μέθοδος εφαρμόζεται κατά βάση όταν δεν υπάρχει διαθέσιμο τυφλό υπόστρωμα, καθώς η βαθμονόμηση γίνεται στο υπόστρωμα

του δείγματος. Βασικό μειονέκτημα της προσέγγισης αυτής αποτελεί το ότι απαιτούνται δύο τουλάχιστον αναλύσεις για έκαστο δείγμα (Κόντου, 2006).

1.6 Επίδραση διεργασιών των τροφίμων

Πολλά από τα αγροτικά προϊόντα πριν την κατανάλωση υποβάλλονται σε επεξεργασία, είτε σε οικιακή κλίμακα, είτε σε βιομηχανική κλίμακα για την παραγωγή επεξεργασμένων προϊόντων. Κατά την επεξεργασία τους, λοιπόν, τα τρόφιμα υφίστανται ποιοτικές και ποσοτικές αλλαγές, όσον αφορά στα περιεχόμενα σε αυτά υπολείμματα των γεωργικών φαρμάκων. Αυτές οι μεταβολές οφείλονται σε χημικές και φυσικές διεργασίες. Στην περίπτωση των χημικών διεργασιών, λειτουργεί ο μηχανισμός της υδρόλυσης συνήθως και σε μικρότερη έκταση η οξειδωση ή η αναγωγή, ενώ οι φυσικές διεργασίες, που συμβάλλουν στην απομάκρυνση σημαντικού ποσοστού υπολειμμάτων, είναι κυρίως η εξάτμιση, η έκπλυση, ή η αφαίρεση μέρους του προϊόντος, όπως η αποφλοιώση. Με την εκχύλιση τα επίπεδα των υπολειμμάτων διαφοροποιούνται ανάλογα με την φύση της δραστικής ουσίας. Η επίδραση των βιοχημικών μηχανισμών κατά την επεξεργασία των τροφίμων είναι, τέλος, πιο σπάνια, όπως για παράδειγμα η ζύμωση κατά την οινοποίηση (Κόντου 2006).

Σε γενικές γραμμές, η βιομηχανική ή οικιακή επεξεργασία των τροφίμων συνήθως μειώνει τα επίπεδα των υπολειμμάτων (Elkins 1989, Petersen et al. 1996). Εντούτοις, υπάρχουν διεργασίες, όπως η ξήρανση του προϊόντος ή η παραγωγή ελαίου, οι οποίες μπορεί να επιφέρουν αύξηση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων στο τελικό προϊόν εξαιτίας της συμπύκνωσης. Επίσης, η διάσπαση των μητρικών ενώσεων ενδέχεται να επιφέρει το σχηματισμό τοξικών προϊόντων, με πλέον χαρακτηριστική περίπτωση τη μετατροπή των EBDCs σε ETU (Κόντου 2006).

Οι σημαντικότεροι παράγοντες για τη σταθερότητα των υπολειμμάτων των γεωργικών φαρμάκων υπό την επίδραση διεργασιών είναι:

α) οι φυσικοχημικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας, και ιδίως η σταθερότητα ως προς την υδρόλυση, και η θερμική σταθερότητα, η πτητικότητα και η διαλυτότητα σε νερό και οργανικούς διαλύτες. Η συγκέντρωση δραστικών ενώσεων, για παράδειγμα,

με υψηλό συντελεστή κατανομής σε οκτανόλη/νερό αναμένεται να αυξηθεί κατά την παραγωγή ελαίου, ενώ η παρουσία υδατοδιαλυτών δραστικών ενώσεων είναι αναμενόμενη σε χυμούς.

β) το υπόστρωμα του τροφίμου, με βασικές παραμέτρους το pH και την περιεκτικότητά του σε νερό.

γ) το είδος της διεργασίας και οι συνθήκες, με σημαντικές παραμέτρους τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της θέρμανσης, όσον αφορά σε θερμικές διεργασίες, όπως επίσης και το pH και το εύρος τιμών που λαμβάνει κατά τη διεργασία (Κόντου, 2006).

Επιπλέον, μεγάλο μέρος των προϊόντων αποθηκεύεται πριν την κατανάλωση ή και την επεξεργασία τους για χρονικό διάστημα που ποικίλει ανάλογα με το είδος. Για παράδειγμα, οι σπόροι δημητριακών αποθηκεύονται για μεγάλη χρονική περίοδο 3 έως 36 μηνών σε σιλό, όπου συχνά υφίστανται μετα-συλλεκτικά επέμβαση με εντομοκτόνα. Λαχανικά και φρούτα συντηρούνται σε συνθήκες ψύξης 0 έως 5°C, για περιορισμένο σχετικά χρονικό διάστημα ή σε συνθήκες κατάψυξης από -10 έως 20°C για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Κατά το διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ της συγκομιδής και της κατανάλωσης, οι συνθήκες αποθήκευσης ενδεχομένως επιδρούν στα επίπεδα των υπολειμμάτων στα τρόφιμα. Οι σχετικές μελέτες είναι ανάλογες με τις μελέτες επίδρασης των διεργασιών. Υπ' αυτή την έννοια, η αποθήκευση μπορεί να θεωρηθεί ως μία «διεργασία», κατά την οποία το ποσοστό αποικοδόμησης της δραστικής ουσίας προσδιορίζεται σε συνάρτηση με τον χρόνο αποθήκευσης των προϊόντων.

Εν γένει, οι φυτοπροστατευτικές ουσίες είναι σταθερές κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε θερμοκρασία μικρότερη των -18°C (*Commission of the European Communities* 1997b). Σε διαφορετικές συνθήκες η σταθερότητά τους διαφοροποιείται, όπως ήδη αναφέρθηκε, ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας και το υπόστρωμα του τροφίμου (Κόντου, 2006).

1.7 Ανθεκτικότητα φυτοπροστατευτικών μέσων και συντήρηση τροφίμων

Η συνεχής εφαρμογή προστατευτικών μέσων με μεγάλη εκλεκτικότητα οδήγησε σε σοβαρά προβλήματα όσον αφορά στην προστασία των φυτών ήδη από τη δεκαετία του '70. Εμφανίστηκαν παθογόνοι μικροοργανισμοί, έντομα και ζιζάνια, που στερούνται ευαισθησίας στους εκλεκτικούς παρεμποδιστές (Zareh – Morse, 1989). Η εμφάνιση αυτής της ανθεκτικότητας προκάλεσε την απώλεια της αποτελεσματικότητας πολλών εκλεκτικών μυκητοκτόνων επιφέροντας σημαντικές αλλαγές στην χημική καταπολέμηση.

Τα χημικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα αποτελούν το κύριο όπλο των γεωργών για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών και παράσιτων στις καλλιέργειες. Έχει διαπιστωθεί ότι στην Ελλάδα κάποιοι παραγωγοί προκειμένου να αποφύγουν τον κίνδυνο απώλειας της παραγωγής, επεμβαίνουν λανθασμένα και παράνομα με χημικά μέσα ακόμη και στο τελευταίο στάδιο της ωρίμανσης μέχρι τη συγκομιδή. Οι ίδιοι συνυπολογίζουν και πάλι λανθασμένα σαν χρόνο αναμονής του προϊόντος και την χρονική περίοδο αποθήκευσης στο ψυγείο ή σε απλή αποθήκη κάτω από συνθήκες περιβάλλοντος. Επίσης, συχνά επεμβαίνουν με μεγαλύτερες από τις συνιστώμενες δόσεις, καθώς πολλές φορές οι δόσεις είναι μάλλον ελαστικές και από τις ίδιες τις παρασκευάστριες εταιρίες. Εκτός αυτού, η πίεση για εξασφάλιση της αγοράς του προϊόντος και οι διάφορες προσφορές στην τιμή από τους εμπόρους ωθεί τους παραγωγούς να συγκομίζουν πολλές φορές πιο γρήγορα, πριν την παρέλευση του προβλεπόμενου χρόνου αναμονής. Κατά συνέπεια, η μεταφορά του υπολείμματος στο έτοιμο εμπορικό προϊόν καθίσταται αναπόφευκτη (Παππάς, 2002).

Η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων παίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής. Η συμβολή τους είναι καθοριστικής σημασίας στην επαρκή τροφοδοσία της αγοράς με τρόφιμα φθηνά και μη προσβεβλημένα από ασθένειες και εχθρούς των φυτών. Εντούτοις, η εφαρμογή τους στις καλλιέργειες συνεπάγεται την πιθανή παρουσία υπολειμμάτων των δραστικών ουσιών και μεταβολιτών τους στα τρόφιμα, με αποτέλεσμα να συγκαταλέγονται στους ενδεχόμενους χημικούς κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων (Κόντου, 2006).

Η απομάκρυνση των καρπών μεταφέρει τα ζιζανιοκτόνα και τα προϊόντα μεταβολισμού τους από την περιοχή χρήσης τους. Η πλειονότητα των αγαθών προς

βρώση που συγκεντρώνονται κατά τη συγκομιδή, υποβάλλεται σε πλύσιμο και διαδικασίες που απομακρύνουν ή αποικοδομούν τα υπολείμματα των ζιζανιοκτόνων. Εντούτοις, μέριμνα απαιτείται και από τους καταναλωτές για τη σχολαστική τήρηση των κανόνων υγιεινής που πρέπει να τηρούνται πριν την κατανάλωση των προϊόντων αυτών, όπως, για παράδειγμα, το επιμελημένο πλύσιμο του περιβλήματος των καρπών (Κυριακόπουλος, 2005).

Οι διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης –υγρασία και θερμοκρασία- των φρούτων και των λαχανικών παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων (Παππάς, 2002).

Σχετικά με την σταθερότητα των υπολειμμάτων EBDCs κατά την αποθήκευση τροφίμων σε χαμηλές θερμοκρασίες, έχουν διεξαχθεί μελέτες σε συνθήκες ψύξης 5°C και κατάψυξης -20°C. Τα επίπεδα του και της σε διάφορα υποστρώματα, όπως ομογενοποιημένο μήλο, τομάτα και λαχανικά, διατηρήθηκαν σταθερά κατά την αποθήκευση στους -20°C για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών (Schweitzer 1989). Με αρχική συγκέντρωση των δραστικών ουσιών στα εμβολιασμένα δείγματα 0,5 έως 2 mg/kg, σε συνθήκες ψύξης και σε υπόστρωμα τεμαχισμένου λαχανικού, παρατηρήθηκε μέσα σε διάστημα 3 ημερών μείωση κατά 15% των επιπέδων του maneb, ενώ η συγκέντρωση του zineb παρέμεινε σταθερή (Howard & Yip, 1971).

1.8 Μεταφορά – Συντήρηση υπό ψύξη

Συνήθως οι παραγωγοί αποθηκεύουν τα φρούτα και τα λαχανικά αμέσως μετά τη συγκομιδή σε ψυκτικούς θαλάμους, με στόχο την καλύτερη κατανομή τους σε διάφορες εποχές του χρόνου σύμφωνα με τη ζήτηση της αγοράς (Παππάς, 2002).

Η συντήρηση των λαχανικών υπό ψύξη έχει σκοπό την παρεμπόδιση ανεπιθύμητων αλλοιώσεων, προκειμένου να επιτευχθεί η παράταση της διατηρησιμότητάς τους ή της μέσης ζωής του. Αυτές οι αλλοιώσεις οφείλονται κατά κύριο λόγο στη μεταβολική δραστηριότητα του ίδιου του τροφίμου, όπως, για παράδειγμα, η αναπνοή και οι ενζυματικές δράσεις που οδηγούν σε υπερωρίμανση και σήψη, καθώς και σε φυσικές μεταβολές, όπως η εξάτμιση του περιεχόμενου νερού που συντελεί στη συρρίκνωση του προϊόντος, και τέλος, στη δράση ζώντων οργανισμών, όπως έντομα

ή μύκητες. Με τη συντήρηση σε χαμηλές θερμοκρασίες, τόσο ο μεταβολισμός, όσο και οι χημικές και ενζυματικές αντιδράσεις πραγματοποιούνται με βραδύτερο ρυθμό, ενώ ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών μειώνεται. Επιπλέον, η ψύξη υπό ελεγχόμενες συνθήκες σχετικής υγρασίας λειτουργεί περιοριστικά στην απώλεια βάρους των αποθηκευμένων προϊόντων. Η βέλτιστη σχετική υγρασία συντήρησης για τα λαχανικά είναι 85-95% (Βουδούρης 1973).

Οι συνθήκες ψύξης είναι απαραίτητες κατά τη μεταφορά των προϊόντων από αγρό στη μεταποιητική μονάδα ή τον τόπο διαλογής και συσκευασίας, κατά τη διαμετακόμιση στην κεντρική αγορά ή αποθήκη και τέλος, κατά τη διανομή στα εμπορικά καταστήματα πώλησης. Επίσης, στις μονάδες μεταποίησης, πολλές φορές η άμεση επεξεργασία της πρώτης ύλης καθίσταται ανέφικτη, με αποτέλεσμα να παραμένει για ορισμένο χρονικό διάστημα μετά την παραλαβή της, σε αποθήκες υπό ψύξη –ψυκτικούς θαλάμους (Κόντου 2006).

Για τις τομάτες, η βέλτιστη θερμοκρασία συντήρησης εξαρτάται από το στάδιο ωριμότητας του καρπού. Οι ώριμες τομάτες συντηρούνται στους 4 μέχρι 8°C για 2 έως 3 ημέρες και σε 0 μέχρι 1°C για 5 έως 6 ημέρες, ενώ για τις τομάτες με χρώμα επιφάνειας πράσινο έως πορτοκαλόχρουν, οι συνιστώμενες θερμοκρασίες συντήρησης είναι 7 μέχρι 10°C για 5 έως 6 ημέρες. Συντήρηση των πράσινων καρπών τομάτας σε πιο χαμηλές θερμοκρασίες επιφέρει σημαντική υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους και εμφάνιση αλλοιώσεων, καθώς παρουσιάζουν ευπάθεια ως προς το ψύχος. Προκειμένου για την ωρίμανση των πράσινων καρπών, οι βέλτιστες θερμοκρασίες είναι 19 μέχρι 21°C με 90 έως 95% σχετική υγρασία.

Παρά το γεγονός ότι η συντήρηση σε χαμηλές θερμοκρασίες επιβάλλεται για πρακτικούς λόγους, έχει σημαντική επίδραση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Η αποθήκευση ώριμων καρπών τομάτας για χρονικό διάστημα 8 έως 12 ημερών στους 5°C έχει ως απόρροια την υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους (Maul et al. 2000).

Τα τελευταία χρόνια, γίνεται επέκταση της ψύξης με χρήση ελεγχόμενης ατμόσφαιρας, όπου τροποποιείται η σύσταση του αέρα των ψυκτικών θαλάμων. Αυτή η τροποποίηση συνίσταται σε περιορισμό της περιεκτικότητας του αέρα σε οξυγόνο κατά 1-10% και αύξηση της περιεκτικότητας σε διοξείδιο του άνθρακα κατά 1-12%,

ή στην προσθήκη άλλων αερίων, όπως άζωτο, διοξείδιο του θείου κτλ. Για τις τομάτες έχει προταθεί ο συνδυασμός 3% οξυγόνο και 2% διοξείδιο του άνθρακα, αν και οι ακριβείς συνθήκες εξαρτώνται από το στάδιο ωριμότητας και την ποικιλία. Ωστόσο, το όφελος από την χρήση ελεγχόμενης ατμόσφαιρας και σε αναφορά με τη διατηρησιμότητα της τομάτας αποτιμάται από μικρό ως μέτριο (Κόντου, 2006).

Κεφάλαιο 2: Σταθερότητα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων

2.1 Μελέτη σταθερότητας του *maneb*

Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά υπόστρωμα ομογενοποιημένης τομάτας κατά την αποθήκευση σε συνθήκες ψύξης

Η αποθήκευση των γεωργικών προϊόντων, κατά την χρονική περίοδο που μεσολαβεί ανάμεσα στη συγκομιδή και την κατανάλωσή τους, μπορεί να έχει επιπτώσεις στα επίπεδα υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών ουσιών, ιδιαιτέρως αν πρόκειται για ενώσεις εύκολα αποικοδομούμενες. Η μελέτη της σταθερότητας των υπολειμμάτων κατά την αποθήκευση, σε αντιστοιχία με τα όσα ισχύουν για την επίδραση των διεργασιών, συμβάλλει στην καλύτερη αποτίμηση της έκθεσης των καταναλωτών σε αυτά (Κόντου 2006).

Για τα οπωροκηπευτικά, η συντήρηση με στόχο τη διατηρησιμότητά τους αποτελεί στην πλειονότητα των περιπτώσεων αναγκαιότητα κατά τη μεταφορά, τις ενδιάμεσες μετακινήσεις και τη διανομή των προϊόντων στην εμπορική αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων, καθώς και κατά την αποθήκευση της πρώτης ύλης στις μεταποιητικές μονάδες. Για την τομάτα συγκεκριμένα, η βέλτιστη θερμοκρασία για τη συντήρηση με ψύξη είναι συνάρτηση του βαθμού ωριμότητας του καρπού. Η ώριμη κόκκινη τομάτα μπορεί να αποθηκευτεί στους 5°C για αρκετές ημέρες, ενώ η συντήρηση σε πιο χαμηλές θερμοκρασίες και ιδίως όσον αφορά στους πράσινους καρπούς, αποφεύγεται εξαιτίας της ευπάθειας στο ψύχος που οδηγεί στην εμφάνιση κακώσεων (Κόντου 2006).

Η σταθερότητα των υπολειμμάτων σε τρόφιμα συντηρούμενα υπό ψύξη ή κατάψυξη αποτελεί ζήτημα που απασχολεί επίσης τα αναλυτικά εργαστήρια που διεξάγουν υπολειμματικές αναλύσεις. Σε αυτή την περίπτωση, χρειάζεται να εκτιμηθεί κατά πόσο γίνεται υποβάθμιση στη συγκέντρωση των υπολειμμάτων στις συνθήκες αποθήκευσης, ακτά το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί ανάμεσα στην παραλαβή και την ανάλυση των δειγμάτων, ούτως ώστε να διασφαλιστεί η εγκυρότητα των αναλυτικών αποτελεσμάτων. Δεδομένου ότι η άμεση ανάλυση των δειγμάτων είναι μάλλον αδύνατη, η συνήθης πρακτική των εργαστηρίων συνίσταται σε αποθήκευση

υπό ψύξη ή κατάψυξη των δειγμάτων ως έχουν ή των αντιπροσωπευτικών δειγμάτων που λαμβάνονται μετά την ομογενοποίηση της αρχικής ποσότητας (Κόντου 2006).

Τα δεδομένα στη βιβλιογραφία περί της σταθερότητας των EBDCs κατά την αποθήκευση των τροφίμων σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι περιορισμένα. Έχει επιβεβαιωθεί η σταθερότητα του *mancozeb* και της ETU σε φυτικά προϊόντα κατά την αποθήκευση σε συνθήκες κατάψυξης -20°C (Schweitzer 1989). Βάση άλλης βιβλιογραφικής αναφοράς σχετικά με τη σταθερότητα σε συνθήκες ψύξης και με αντικείμενο μελέτης τις δραστικές ουσίες *maneb* και *zineb* σε υπόστρωμα τεμαχισμένου λαχανικού και για χρονικό διάστημα 3 ημερών, τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των επιπέδων του *maneb* κατά 15% και τη συγκέντρωση του *zineb* σταθερά αμείωτη (Howard & Yip, 1971).

Σε πειραματική εργασία για τη σταθερότητα του *maneb* σε υπόστρωμα ομογενοποιημένης τομάτας κατά την αποθήκευση σε θήκες ψύξης στους 5°C για χρονική περίοδο 6 εβδομάδων. Δείγματα ομογενοποιημένης τομάτας, εμβολιασμένης με *maneb* σε συγκέντρωση 5mg/kg, τοποθετήθηκαν σε ψυγείο, ενώ ορισμένος αριθμός δειγμάτων απομακρυνόταν σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα για τον προσδιορισμό του υπολειμματικού *maneb* και ETU. Στην ίδια επεξεργασία με τα εμβολιασμένα δείγματα υποβάλλονταν και λευκά δείγματα, 2 για κάθε ημέρα δειγματοληψίας. Ένα απ' αυτά χρησίμευε ως δείγμα για τον έλεγχο παρεμποδίσεων στην ανάλυση και το άλλο, στο οποίο γινόταν εμβολιασμός με *maneb* σε επίπεδο 5mg/kg πριν τη διεξαγωγή της ανάλυσης, χρησιμοποιείτο για τον έλεγχο της ανάκτησης της μεθόδου ως δείγμα ελέγχου ποιότητας.

Διεξήχθησαν δύο σειρές πειραμάτων για συνολικό χρόνο αποθήκευσης 36 (πίνακας 1) και 42 ημερών (πίνακας 2). Σε κάθε σειρά έγιναν αναλύσεις δειγμάτων που αντιστοιχούσαν σε 5 ως 6 διαφορετικές ημέρες αποθήκευσης. Κατά την αποθήκευση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, τα δείγματα παρουσίασαν αλλοιώσεις και, ως εκ τούτου, η διάρκεια του πειράματος δεν επεκτάθηκε.

Πίνακας 2: Η σταθερότητα του *maneb* σε υπόστρωμα ομογενοποιημένης τομάτας κατά την αποθήκευση στους 5°C. Αρχική συγκέντρωση *maneb* 5mg/kg. Σειρά 1^η

Ημέρα	Υπολειμματικό <i>maneb</i> (%)		Μετατροπή σε ETU (%mol/mol)
	M.T. ± S.E.*	Control**	M.T. ± S.E.***
2 ^η	98,1 ± 2,1 ^a	107,4 ^b	1,4 ± 0,03
5 ^η	74,8 ± 0,6 ^a	80,5 ^b	1,8 ± 0,06
13 ^η	87,8 ± 6,7 ^a	102,7 ^a	1,9 ± 0,05
19 ^η	70,1 ± 6,9 ^a	88,1 ^a	4,6 ± 0,2
26 ^η	89,8 ± 5,7 ^a	110,7 ^b	2,8 ± 0,05
36 ^η	87,5 ± 9,1 ^a	105,4 ^a	2,1 ± 0,2

Πηγή: Κόντου, 2006

*Αριθμός δειγμάτων ανά ημέρα ανάλυσης n=3. Τα αποτελέσματα δεν έχουν υποστεί διόρθωση όσον αφορά την ανάκτηση. Διαφορετικοί χαρακτήρες ως εκθέτες των αναγραφόμενων τιμών στην ίδια σειρά του πίνακα υποδηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη μέση τιμή του υπολειμματικού *maneb* στα δείγματα και στην τιμή του *control* (t-test, α=0,05)¹

** Λευκό δείγμα το οποίο έχει αποθηκευτεί στις ίδιες συνθήκες με τα δείγματα και που εμβολιάστηκε με 5 mg/kg *maneb* πριν τη διεξαγωγή της ανάλυσης για τον έλεγχο της ανάκτησης της αναλυτικής μεθοδολογίας.

*** Αριθμός δειγμάτων ανά ημέρα ανάλυσης n = 2 - 3

¹ Κατά τη στατιστική δοκιμή t-test, προκειμένου για την εξακρίβωση πιθανής διαφοράς της μέσης τιμής n μετρήσεων από την πιστοποιημένη τιμή, ή από τη μέση τιμή των μετρήσεων με τη μέθοδο αναφοράς, εξετάζεται αν η μέση τιμή της εκατοστιαίας ανάκτησης διαφέρει σημαντικά από την τιμή 100. Αν η διαφορά αποδειχθεί στατιστικά σημαντική, δεν οφείλεται αποκλειστικά σε τυχαία σφάλματα και αποτελεί μέτρο εκτίμησης του συστηματικού σφάλματος της μεθόδου (Κόντου, 2006).

Πίνακας 3: Η σταθερότητα του *maneb* σε υπόστρωμα ομογενοποιημένης τομάτας κατά την αποθήκευση στους 5°C. Αρχική συγκέντρωση *maneb* 5mg/kg. Σειρά 2^η

Ημέρα	Υπολειμματικό <i>maneb</i> (%)		Μετατροπή σε ETU (%mol/mol)
	M.T. ± S.E.*	Control**	M.T. ± S.E.***
8 ^η	98,1 ± 2,1 ^a	97,7 ^a	0,8 ± 0,03
21 ^η	94,5 ± 1,7 ^a	91,6 ^a	1,3 ± 0,05
29 ^η	96,1 ± 7,2 ^a	116,9 ^a	1,1 ± 0,05
35 ^η	97,6 ± 1,3 ^a	97,4 ^a	1,2 ± 0,05
42 ^η	112,6 ± 3,6 ^a	118,5 ^a	1,1 ± 0,05

Πηγή: Κόντου, 2006

* Αριθμός δειγμάτων ανά ημέρα ανάλυσης n=3. Τα αποτελέσματα δεν έχουν υποστεί διόρθωση όσον αφορά την ανάκτηση. Διαφορετικοί χαρακτήρες ως εκθέτες των αναγραφόμενων τιμών στην ίδια σειρά του πίνακα υποδηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη μέση τιμή του υπολειμματικού *maneb* στα δείγματα και στην τιμή του *control* (t-test, α=0,05).

** Λευκό δείγμα το οποίο έχει αποθηκευτεί στις ίδιες συνθήκες με τα δείγματα και που εμβολιάστηκε με 5 mg/kg *maneb* πριν τη διεξαγωγή της ανάλυσης για τον έλεγχο της ανάκτησης της αναλυτικής μεθοδολογίας.

*** Αριθμός δειγμάτων ανά ημέρα ανάλυσης n = 2

Δε διαπιστώθηκε τάση μείωσης των επιπέδων του *maneb* σε συνάρτηση με τον χρόνο αποθήκευσης κατά το διάστημα που μελετήθηκε. Σύμφωνα με την ανάλυση παλινδρόμησης, τα 95% όρια εμπιστοσύνης για την κλίση της ευθείας, στο διάγραμμα που απεικονίζει το ποσοστό του υπολειμματικού *maneb* ως προς τον χρόνο αποθήκευσης για τις δύο σειρές πειραμάτων που διεξήχθησαν είναι

(-0,58 έως 1,03) και (-0,47 έως 1,15)

Αυτές οι τιμές υποδηλώνουν πιθανή μηδενική κλίση της ευθείας.

Ωστόσο, παρατηρείται ότι στην 1^η σειρά δειγμάτων το ποσοστό του υπολειμματικού *maneb* είναι συστηματικά πιο χαμηλό από την αντίστοιχη τιμή του δείγματος

ελέγχου. Αυτή η διαφορά είναι σημαντική τη 2^η, 5^η και 26^η ημέρα δειγματοληψίας. Αντιθέτως, στη 2^η σειρά δειγμάτων δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές όσον αφορά στα επίπεδα του *maneb* μεταξύ των δειγμάτων και των δειγμάτων ελέγχου. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι στην πρώτη περίπτωση τα εμβολιασμένα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου μία ώρα κατά τη διάρκεια προετοιμασίας όλης της παρτίδας. Αντιθέτως, στη δεύτερη περίπτωση κάθε δείγμα τοποθετείτο άμεσα μετά τον εμβολιασμό στην ψύξη. Η αρχική αποικοδόμηση της πρόδρομης ένωσης υπό την επίδραση ενζυματικών μηχανισμών έχει αναφερθεί στη μελέτη της σταθερότητας του *maneb* σε τεμαχισμένο λαχανικό (Howard & Yip, 1971), κατά την οποία είχε παρατηρηθεί μείωση 10% των επιπέδων του *maneb* κατά τον εμβολιασμό αρχικά και εν συνεχεία περαιτέρω μείωση 5% μετά από 3 ημέρες αποθήκευσης σε συνθήκες ψύξης. Γενικώς, έχει παρατηρηθεί ότι διεργασίες που συνεπάγονται τη διάρρηξη των φυτικών ιστών, κατά την οποία απελευθερώνονται ένζυμα, ενίοτε επιταχύνουν την αποικοδόμηση των υπολειμμάτων που απαντώνται στα προϊόντα. Ο χρόνος, ωστόσο, που μεσολαβεί μέχρι την επεξεργασία ή την κατανάλωση του τροφίμου είναι συνήθως περιορισμένος (Holland et al. 1994). Όσον αφορά στα EBDCs, είναι ενδεικτικό το ότι στη μέθοδο EN 12396-2, συστήνεται ο τεμαχισμός των αναλυτικών δειγμάτων σε αδρά τεμάχια, ώστε να αποφευχθούν οι απώλειες που προκαλεί η δράση των ενζύμων, η οποία έχει παρατηρηθεί σε ορισμένα υποστρώματα.

Συμπερασματικά, το *maneb* είναι πρακτικά σταθερό σε υπόστρωμα ομογενοποιημένης τομάτας κατά την αποθήκευση σε συνθήκες ψύξης 5°C για 6 εβδομάδες. Το συγκεκριμένο εύρημα συμβάλλει στην καλύτερη αποτίμηση της σταθερότητας των υπολειμμάτων κατά τη διακίνηση των τροφίμων στην αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων. Όπως προκύπτει, η αποθήκευση χυμού τομάτας σε θερμοκρασία χαμηλότερη από 5°C, η οποία πραγματοποιείται ενδεχομένως σε μονάδες μεταποίησης πριν από την περαιτέρω επεξεργασία του προϊόντος, δεν ασκεί σημαντική επίδραση στα επίπεδα της πρόδρομης ένωσης και δεν οδηγεί στο σχηματισμό σημαντικών ποσοτήτων του τοξικού μεταβολίτη. Επιπλέον, θα μπορούσε να υποστηριχθεί πως δεν αναμένεται σημαντική μείωση μέσω ενζυματικών ή υδρολυτικών μηχανισμών στα επίπεδα των υπολειμμάτων *maneb* στα νωπά προϊόντα συντηρούμενα σε συνθήκες ψύξης κατά τη μεταφορά ή παραμονή μέσα σε ψυκτικούς θαλάμους. Προκύπτει, λοιπόν, ότι η επίδραση της αποθήκευσης σε συνθήκες ψύξης

ασκεί αμελητέα επίδραση στα επίπεδα των υπολειμμάτων που απαντώνται κυρίως στην επιφάνεια των καρπών.

Ως προς τη συμβολή της στο εργαστηριακό κομμάτι, η μελέτη της επίδρασης της αποθήκευσης σε συνθήκες ψύξης στα επίπεδα του *maneb* αναδεικνύει τη σημασία του καθορισμού των κατάλληλων συνθηκών για την αποθήκευση των αναλυτικών δειγμάτων πριν τη διεξαγωγή της ανάλυσης στο εργαστήριο. Βάση των πειραματικών δεδομένων, η ομογενοποίηση των δειγμάτων κατά την παραλαβή τους στο εργαστήριο και η αποθήκευσή τους σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 5°C δεν έχει σημαντική επίδραση στα επίπεδα υπολειμμάτων του *maneb*, υπό τον όρο ότι η αποθήκευση των δειγμάτων σε συνθήκες ψύξης μετά την επεξεργασία είναι άμεση. Η δε ομογενοποίηση των δειγμάτων συμβάλλει στην απόκτηση πιο αντιπροσωπευτικών υποδειγμάτων για την ανάλυση, και καθίσταται απαραίτητη ιδίως, εφόσον για τον προσδιορισμό των EBDCs γίνεται εφαρμογή της αεριοχρωματογραφικής τεχνικής *headspace*, κατά την οποία χρησιμοποιείται αυτόματος δειγματοδότης, κι επομένως, η ποσότητα του δείγματος που μπορεί να τοποθετηρεί στον επωαστήρα του δειγματοδότη και να αναλυθεί είναι περιορισμένη (Royer et al. 2001)

2.2 Μελέτη της σταθερότητας των Οργανοφωσφορικών Εστέρων

Η σταθερότητα ενός ΟΦΕ συνδέεται με την αντιδραστικότητά του, την χημική συμπεριφορά του, δηλαδή, κάτω από διάφορες συνθήκες. Μελετώντας, λοιπόν, τη σταθερότητα του ΟΦΕ, εξετάζονται θέματα που αφορούν στην ταχύτητα, τους μηχανισμούς και τα προϊόντα των αντιδράσεων, καθώς και τους παράγοντες που επιδρούν σε αυτές.

Οι ΟΦΕ μετατρέπονται με ποικίλες βιοχημικές και χημικές αντιδράσεις, οι οποίες οδηγούν στις εξής δύο ανταγωνιστικές κατευθύνσεις:

A. Αποτοξικοποίηση των ΟΦΕ, οπότε αυτοί μετατρέπονται σε προϊόντα λιγότερο τοξικά ή μη τοξικά, και

B. Ενεργοποίηση των ΟΦΕ, όπου αυτοί μετατρέπονται σε τοξικότερα – δραστικότερα προϊόντα.

Πολλές φορές, οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται από οξειδωτικά (οξειδάσες) ή υδρολυτικά (εστεράσες) ένζυμα, που απαντούν στους φυτικούς ή ζωικούς οργανισμούς. Οι μηχανισμοί των βιομετατροπών, που πραγματοποιούνται στα φυτά και στα ζώα, είναι γενικά κοινοί. Ωστόσο, διακρίνονται σε άμεση συσχέτιση με αυτές τις βιομετατροπές, οι παρακάτω διαφορές:

α. Στα φυτά η ενζυμική δραστηριότητα είναι μικρότερη από την αντίστοιχη στα ζώα, τα οποία έχουν πολύ πιο εξελιγμένα συστήματα αποδόμησης, κυκλοφορίας και απέκκρισης. Στα φυτά, αντιθέτως, παρατηρείται η τάση αποθήκευσης των ΟΦΕ,

β. Στα ζώα η αποβολή των ΟΦΕ ή των μεταβολιτών του γίνεται, αφού προηγηθεί η σύνδεση με γλυκουρονικό ήθειικό οξύ. Από την άλλη, στα φυτά και στα έντομα σχηματίζονται γλυκοζίτες (Wendel, 1970), οι οποίοι δεν αποβάλλονται εύκολα, αλλά συγκρατούνται για αρκετό χρονικό διάστημα και σταδιακά μετατρέπονται σε δευτερεύοντες σε δευτερεύοντες μεταβολίτες, που τελικά αποβάλλονται,

γ. Στα φυτά πραγματοποιούνται σε μεγάλο βαθμό και μη ενζυμικές αντιδράσεις, οι οποίες καταλύονται κυρίως από το φως και τη θερμότητα, με κυριότερη μη ενζυμική αντίδραση αυτή της υδρόλυσης.

Κατά συνέπεια, η μελέτη της σταθερότητας της υπολειμματικότητας σε φυτικά προϊόντα περιλαμβάνει αφενός την υδρόλυση και αφετέρου την επίδραση της ακτινοβολίας και του διαλυτικού μέσου (Μιχαηλίδου, 1987).

2.3 Μελέτη της σταθερότητας του *azinphos ethyl*

Οι επεμβάσεις με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, όπως το *azinphos ethyl*, γίνονται αναγκαίες κατά τη θερινή περίοδο μέχρι και λίγο πριν τη συγκομιδή, για την αντιμετώπιση ιδίως της *Carpocapsa pomonella*, της ψώρας (*Quadraspidiotus perniciosus*) και άλλων εντόμων. Ο αναγκαίος χρόνος αναμονής μεταξύ της επέμβασης και της συγκομιδής του *azinphos ethyl* στα μήλα πρέπει να είναι 20 ημέρες, ενώ το μέγιστο επιτρεπτό όριο υπολειμμάτων έχει καθοριστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση στη συγκέντρωση 0,05 mg/kg (82/528/EC, 2000/82/ EC) (Παππάς, 2002).

Το μήλο είναι σημαντικό προϊόν για την χώρα και καταναλώνεται ως επιτραπέζιο ή και μεταποιημένο καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Ως επί το πλείστον, η μηλιά καλλιεργείται στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα. Η συγκομιδή των φρούτων πραγματοποιείται σταδιακά από Σεπτέμβρη ως Οκτώβρη, ωστόσο, η περισσότερη παραγωγή φυλάσσεται σε ψυκτικούς θαλάμους ή θαλάμους ψυγείου με ελεγχόμενες ατμόσφαιρες. Από εκεί διοχετεύεται στην αγορά, ανάλογα με τη ζήτηση, τους επόμενους μήνες. Έτσι, επιτυγχάνεται καλύτερη διάθεση της παραγωγής, η οποία κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να πωλείται μέχρι και Μάιο –Ιούνιο (Κουκουργιάννης, 1997). Ενίοτε, έστω και για μικρές προσβολές γίνεται επέμβαση με ψεκασμούς φυτοφαρμάκων ακόμα και λίγες μέρες προ της συγκομιδής, καθώς οι παραγωγοί θεωρούν ότι η μακρά διάρκεια της αποθήκευσης είναι αρκετή για την εξαφάνιση των υπολειμμάτων μέχρι η παραγωγή τους να φτάσει στους καταναλωτές (Παππάς, 2002).

Το *azinphos ethyl*, (S-3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-3-ylmethyl 0,0-diethyl phosphorodithioate) είναι οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο και χρησιμοποιείται ευρέως στην φυτοπροστασία για την αντιμετώπιση εντόμων που προσβάλλουν τη μηλιά και άλλα οπωροφόρα δέντρα. Η δράση του είναι αποτελεσματική στα έντομα (*Carpocapsa pomonella*) *Cydia pomonella*, *Lepidasalpes ulmi*, *Cemistoma Scitella*, *Phyllonorycter blancardella*, σε αφίδες (*Aphis pomi*, *Dysaphis plantaginea*) και κοκκοειδή (*Quadraspidiotus perniciosus*) (Μπαλαγιάννης, 1994). Είναι εγκεκριμένο φυτοφάρμακο στην Ελλάδα και σε άλλες χώρες της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (95/276/EOK).

Η αποδόμηση πολλών οργανικών σύνθετων φυτοφαρμάκων αρχίζει ακριβώς μετά την παρασκευή τους, ενώ ο ρυθμός αποδόμησης επηρεάζεται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή το ενζυματικό σύστημα των ιστών των φυτών (Sanz-Asensio et al,1997). Σύμφωνα με μια εργασία για τη σύγκριση του ρυθμού αποδόμησης του *azinphos ethyl* στα μήλα κατά τη συντήρησή τους σε διαφορετικές συνθήκες συντήρησης, βρέθηκε ότι, παρόλο που ο απαιτούμενος χρόνος αναμονής από την έγκριση του φυτοφαρμάκου μέχρι τη συγκομιδή είναι 20 ημέρες, για να φτάσει το υπόλειμμα στο ανώτατο επιτρεπτό όριο χρειάζονται 62 ημέρες (Παππάς, 2002).

Ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσουν τα δείγματα σε ασφαλή επίπεδα υπολειμματικής συγκέντρωσης, εφόσον η συγκομιδή λάβει χώρα αμέσως μετά τον

ψεκασμό είναι μεγαλύτερος από 1 χρόνο για αποθήκευση υπό συνθήκες περιβάλλοντος και μεγαλύτερος από 2 χρόνια για αποθήκευση υπό ψύξη.

Ο ρυθμός αποδόμησης μειώνεται σημαντικά στα μήλα που αποθηκεύονται στο ψυγείο για συντήρηση, σε αντιδιαστολή με τα μήλα που παραμένουν στα δέντρα. Συγκεκριμένα, ο ρυθμός αποδόμησης του *azirphos ethyl* μειώνεται κατά 87% στις συνθήκες απλής αποθήκης, κατά 89% σε συνθήκες ελεγχόμενης ατμόσφαιρας και κατά 92% σε συνθήκες ψυγείου, σε σύγκριση με τον αντίστοιχο ρυθμό αποδόμησης, χωρίς συγκομιδή, σε συνθήκες αγρού.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής και ο χρόνος ελάττωσης της συγκέντρωσης μέχρι το ανώτατο επιτρεπόμενο όριο για το *azirphos ethyl* είναι παρόμοιοι υπό περιβαλλοντικές συνθήκες και αποθήκευση σε CA θαλάμους. Οι τελευταίοι πολύ μικρή συγκέντρωση οξυγόνου, χαμηλή θερμοκρασία και σχετικά υψηλή RH, ενώ οι περιβαλλοντικές συνθήκες διακρίνονται από χαμηλότερη RH, αλλά υψηλότερη θερμοκρασία. Τέλος, οι ψυκτικοί θάλαμοι έχουν χαμηλή θερμοκρασία, όπως οι CA θάλαμοι, αλλά χαμηλότερη RH.

Η υψηλή υγρασία φαίνεται πως αποτελεί τον κύριο παράγοντα για την αύξηση του ρυθμού αποδόμησης του εντομοκτόνου σε μήλα συντηρούμενα σε ψυγεία ελεγχόμενης ατμόσφαιρας (CA). Επομένως, η διάσπαση του *azirphos ethyl* κατά την αποθήκευση των μήλων οφείλεται μάλλον κυρίως σε υδρολυτικούς, παρά σε οξειδωτικούς μηχανισμούς.

Γεγονός παραμένει ότι ο εγκεκριμένος χρόνος αναμονής για το εν λόγω φυτοφάρμακο δεν είναι αξιόπιστος για την καλλιέργεια μηλιών, ενώ πολύ περισσότερο δεν ισχύει για τις συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης. Ως εκ τούτου, ο χρόνος αναμονής μέχρι τη συγκομιδή θα πρέπει να παρατείνεται δύο μήνες τουλάχιστον μετά την εφαρμογή (Παππάς, 2002).

Μια εργασία με θέμα την επίδραση των συνθηκών συντήρησης στην αποδόμηση του *azirphos ethyl* στα συγκομισμένα και αποθηκευμένα φρούτα, έγινε με τα ροδάκινα από την Ζαφειρίου (1985). Τα δέντρα ροδακινιάς με καρπούς είχαν ψεκαστεί με το συγκεκριμένο φυτοφάρμακο και άλλα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Το εν λόγω

πείραμα έγινε με στόχο τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων στα ροδάκινα 21 ημέρες μετά τον ψεκάσμό, τον χρόνο αναμονής, δηλαδή, μέχρι τη συγκομιδή. Η μέτρηση των υπολειμμάτων στα φρούτα έδειξε χαμηλή αποδόμηση του *azinphos ethyl* και *azinphos methyl* σε σχέση με άλλα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν στην ίδια εργασία. Επιπλέον, υπολείμματα του *azinphos ethyl* άνω του επιτρεπτού ορίου έχουν προσδιοριστεί και κατά τους ελέγχους υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε επιτραπέζια σταφύλια ορισμένων ποικιλιών που προορίζονταν για το εμπόριο στην Χιλή (Campos et al, 1982).

2.4 Μελέτη της σταθερότητας του *azinphos methyl*

Σημαντικές εργασίες από τη βιβλιογραφία επισημαίνουν ότι υπολείμματα του εντομοκτόνου *azinphos methyl* ανιχνεύονται κατά τους ελέγχους για υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά (Campos et al., 1982, Belanger, 1989, Weddle, 1991, Pinochet, 1991, Spencer et al., 1995). Ωστόσο, τηρουμένων των οδηγιών χρήσης και του χρόνου αναμονής, τα υπολείμματα του *azinphos methyl* στα φρούτα μετά τη συγκομιδή συνήθως δεν ξεπερνούν τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια (Παππός, 2002).

Σε πείραμα διάρκειας 2 ετών στην Ιταλία, μελετήθηκε η αποδόμηση του *azinphos methyl* σε μήλα, ροδάκινα και νεκταρίνια, μετά από επέμβαση με ψεκάσμό στα δέντρα. Κατά τη συγκομιδή, τα υπολείμματα δεν υπερέβαιναν τα ανώτατα επιτρεπτά όρια, αλλά η συγκέντρωσή τους στα ροδάκινα ήταν υψηλότερη από την αντίστοιχη στα μήλα (Duso et al, 1992). Σε παρασκευασμένο χυμό μήλου, τα υπολείμματα του *azinphos methyl* ήταν αισθητά και συχνά άγγιζαν τη συγκέντρωση που ανιχνευόταν στα μεταποιημένα μήλα (El-Hadidi et al, 1996). Από την άλλη, σε χυμό μήλου είχε παρατηρηθεί μείωση 97,6% των υπολειμμάτων *azinphos methyl* σε σύγκριση με την αρχική συγκέντρωση στα ψεκασμένα μήλα (Zabik et al, 2000). Επίσης, υπολείμματα που κυμάνθηκαν από 0,1 μέχρι 1mg/kg ανιχνεύτηκαν σε ψεκασμένες ντομάτες και στον χυμό τους, σε διάστημα από 0 έως 8 ημέρες μετά τον ψεκάσμό (Frank et al, 1991).

Από πειραματική εργασία με αντικείμενο τη μελέτη του ρυθμού αποδόμησης του *azinphos methyl* κατά την αποθήκευση μήλων σε ψυκτικούς θαλάμους, προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

Η αποδόμηση του *azinphos methyl* στα μήλα ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης. Ο χρόνος ημίσειας ζωής αποδόμησης ήταν 10 ημέρες για τα μήλα στο δέντρο και 122 ημέρες για τα μήλα που αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικούς θαλάμους. Χρειάζονται 29 ημέρες να παραμείνουν τα μήλα στο δέντρο για την επίτευξη του ανώτατου επιτρεπτού ορίου. Η συγκεκριμένη τιμή πλησιάζει αρκετά την τιμή των 20 ημερών, χρόνος αναμονής μετά τον τελευταίο ψεκασμό πριν τη συγκομιδή, που συνιστάται στη συσκευασία του συγκεκριμένου ΦΠΠ. Θα ήταν μάλλον εύλογη μια παράταση του χρόνου αναμονής σε 30 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκασμό. Αυτός ο χρόνος είναι προτιμότερος, προκειμένου τα συγκομισμένα μήλα να έχουν υπολείμματα κάτω από το επιτρεπτό όριο υπολειμμάτων, 0,5 mg/kg (EC, 1982).

Ο αναγκαίος χρόνος για την επίτευξη του ανώτατου επιτρεπτού ορίου υπολειμμάτων *azinphos methyl* σε μήλα συντηρούμενα σε ψυγείο βρέθηκε 269 ημέρες, πράγμα που δείχνει ότι η αποδόμηση των υπολειμμάτων κάτω από τέτοιες συνθήκες συντήρησης (0°C) είναι ελάχιστη. Για να μειωθεί η συγκέντρωση του *azinphos methyl* στο επίπεδο του επιτρεπτού ορίου, τα μήλα πρέπει να παραμένουν στο ψυγείο περίπου 9 μήνες πριν καταναλωθούν, σε περίπτωση που περιέχουν υπολείμματα σε συγκέντρωση 2,32 mg/kg ή που συγκομίζονται 1 ημέρα μετά τον ψεκασμό. Συνεπώς, οι παραγωγοί δεν πρέπει να συνυπολογίζουν στον χρόνο αναμονής πριν τη διάρκεια που τα φρούτα τους φυλάσσονται και συντηρούνται σε ψυκτικούς θαλάμους, πριν αυτά να διοχετευτούν στην αγορά.

Ως προς τον παρασκευασμένο χυμό μήλου, η πειραματική εργασία έδειξε ότι η συγκέντρωση υπολειμμάτων του *azinphos methyl* αυξανόταν έως και τη 12^η μέρα μετά τον ψεκασμό των δέντρων. Στη συνέχεια, η συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου στον χυμό αρχίζει να φθίνει και να φτάνει στο επίπεδο 1,13 mg/kg την 26^η ημέρα. Το πλύσιμο και η αφαίρεση του φλοιού έχουν τον καθοριστικό ρόλο στην απομάκρυνση των υπολειμμάτων κατά τις πρώτες ημέρες. Οι αλλαγές της συγκέντρωσης ίσως οφείλονται στην αντίσταση του φλοιού, που φαίνεται να αποτελεί εμπόδιο στην είσοδο της αρχικής συγκέντρωσης του φυτοφαρμάκου, που είναι προσκολλημένη στην επιφάνεια του καρπού. Κατόπιν, ακολουθεί η απορρόφηση και η διείδυση στο

ενδοκάρπιο ή στο εσωτερικό του καρπού, όπου η συγκέντρωση αυξάνεται μέχρι τη 12^η ημέρα. Μετά την παρέλευση αυτού του χρονικού διαστήματος, η αποδόμηση ακολουθεί τον κανονικό ρυθμό, στον οποίο επιδρούν και οι υπόλοιποι παράγοντες της αποδόμησης. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί και με άλλες πειραματικές εργασίες, στις οποίες αναφέρεται ότι τα υπολείμματα *azinphos methyl* στον χυμό του μήλου συχνά αγγίζουν τη συγκέντρωση που εντοπίζεται στον καρπό των μήλων (El-Hadidi et al, 1996, Παππάς, 2002).

Η ίδια πειραματική εργασία πραγματοποιήθηκε με καρπούς λεμονιών καταλήγοντας σε σημαντικά συμπεράσματα:

Οι αντιδράσεις αποδόμησης του *azinphos methyl* στα λεμόνια είναι πρώτης τάξεως. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της αποδόμησης στα λεμόνια που παρέμειναν στο δέντρο βρέθηκε 5 ημέρες, ενώ για τα λεμόνια που αποθηκεύτηκαν και συντηρήθηκαν στους ψυκτικούς θαλάμους, ο αντίστοιχος χρόνος ανήλθε σε 45 ημέρες.

Το ανώτατο επιτρεπτό όριο για το συγκεκριμένο εντομοκτόνο στα λεμόνια έχει καθοριστεί σε 0,5 mg/kg (EC, 1982), πράγμα που σημαίνει ότι αν έχουμε αρχική συγκέντρωση 2,21 mg/kg, τότε για να μειωθεί και να φτάσει η συγκέντρωση του *azinphos methyl* στο επίπεδο του ανώτατου επιτρεπτού ορίου, τα λεμόνια πρέπει να παραμείνουν στο ψυγείο 106 ημέρες, ή 3,5 μήνες περίπου, πριν να καταναλωθούν.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα υπολειμμάτων σε λεμόνια πάνω στα δέντρα

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	2,23	2,22	2,19	2,21	0,02	0,7
5	1,92	1,96	1,97	1,95	0,02	1,03
9	1,31	1,33	1,29	1,31	0,01	1,02
13	0,53	0,59	0,58	0,57	0,02	4,31
17	0,33	0,34	0,37	0,35	0,02	4,49
23	0,15	0,13	0,13	0,14	0,01	6,5

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 5: Αποτελέσματα υπολειμμάτων σε λεμόνια διατηρημένα στο ψυγείο

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	2,23	2,22	2,19	2,21	0,02	0,7
13	1,66	1,67	1,73	1,69	0,03	1,71
23	1,63	1,65	1,67	1,65	0,01	0,81
34	1,5	1,55	1,54	1,53	0,02	1,31
53	1,33	1,42	1,35	1,37	0,04	2,6
73	0,91	0,89	0,95	0,92	0,02	2,42
92	0,65	0,71	0,7	0,69	0,02	3,56
111	0,39	0,44	0,45	0,43	0,02	5,73
130	0,33	0,38	0,34	0,35	0,02	5,71
157	0,22	0,25	0,27	0,25	0,02	7,21

Πηγή: Παππάς, 2002

Κατά συνέπεια, ο χρόνος αναμονής μεταξύ του τελευταίου ψεκασμού του *azinphos methyl* και της συγκομιδής που συνιστάται στα λεμόνια, φαίνεται να συμφωνεί με τον απαιτούμενο χρόνο παραμονής των καρπών στα δέντρα για την επίτευξη του ανώτατου επιτρεπτού ορίου υπολειμμάτων. Μετά από 17 ημέρες πάνω στα δέντρα, τα υπολείμματα είναι κατώτερα από το ανώτατο επιτρεπτό όριο υπολειμμάτων, όπως αυτό έχει καθοριστεί από την Οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης και με αναφορά τις οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρίας οι συνιστώμενες δόσεις μπορούν να εκτιμηθούν ως κανονικές. Όμως, στην περίπτωση που τα λεμόνια συγκομιστούν αμέσως μετά τον ψεκασμό και φυλαχθούν ή συντηρηθούν σε ψυκτικούς θαλάμους (0°C) μέχρι να καταναλωθούν, ο απαιτούμενος χρόνος παραμονής των λεμονιών σε αυτές τις συνθήκες βρέθηκε 106 ημέρες, ή περίπου 3,5 μήνες, προκειμένου να περιέχουν υπολείμματα κάτω του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου (EC, 1982). Ο εγκεκριμένος χρόνος αναμονής των 20 ημερών, δηλαδή, που συνιστάται, δεν ισχύει για τη συντήρηση των φρούτων σε ψυγείο.

Όσον αφορά στον παραγόμενο χυμό από τα ψεκασμένα λεμόνια, δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα του *azinphos methyl* σε κανένα δείγμα –σε αντίθεση με την ανίχνευση του ίδιου εντομοκτόνου στον χυμό μήλου, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Το *azinphos methyl* είναι λιποδιαλυτό και λόγω αυτής του της ιδιότητας ίσως παρακρατείται στον φλοιό. Έτσι, ακόμα και λεμόνια που συγκομίζονται αμέσως μετά τον ψεκασμό και εν συνεχεία πλένονται, δεν παρουσιάζουν υπολείμματα του *azinphos methyl* στον παραγόμενο χυμό (Παππάς, 2002).

2.5 Μελέτη της σταθερότητας του *dimethoate*

Το *dimethoate* είναι ένα από τα κυριότερα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα που χρησιμοποιείται από το 1956 για την καταπολέμηση των εχθρών των εσπεριδοειδών, των οπωροκηπευτικών, του αμπελιού και της ελιάς. Είναι διασυστηματικό οργανοφωσφορικό με καλύδραση σαν ακαρεοκτόνο, ενώ στο μεγάλο φάσμα δράσης του συμπεριλαμβάνονται διάφορα έντομα ακάρεα και κοκκοειδή (Παππάς, 2002: 229).

Το *dimethoate*, στα φυτά, μεταβάλλεται μετά από οξειδώσεις σε παράγωγα, όπως *formothion* (αλδευδικό παράγωγο) και *omethoate* (FAO, 1996), ενώ με υδρόλυση παράγεται το θειοκαρβοξείδιο (Woodham et al, 1974). Το χημικό του όνομα είναι 0,0-διμεθύλο – (N-μεθυλοκαρβαμούλομεθυλο)-φωσφόρο-διθειονικός εστέρας. Στα ξινά και άλλες καλλιέργειες χρησιμοποιούνται πάνω από 16 εμπορικά σκευάσματα, όπως *Perfekthion 40 EC*, *Dimethoate-Vector 40 EC*, *Dimethol 40 EC*, *Siligor 40EC*, *Ντιμεφώς 40 EC*, *Rogan 40 EC*, *Εφταγκον 40 EC*, *Rogor L 40 EC* (Γιαννοπολίτης, 2000). Το *dimethoate* με τις ιδιότητές του ως εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο αποτελεί την πρώτη επιλογή στην χημική καταπολέμηση διάφορων προσβολών και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται από πολλούς παραγωγούς σε διάφορες κλιματολογικές συνθήκες. Έτσι, για τη διασφάλιση της παραγωγής τους, οι γεωργοί καθ' όλη τη διάρκεια του καλοκαιριού και ως αργά το φθινόπωρο και τη συγκομιδή, εντείνουν τις χημικές επεμβάσεις επί των δέντρων (Γεωργ. Τεχνολ., 2000).

Με επανειλημμένες επεμβάσεις στα λεμόνια και στα μανταρίνια, η συγκέντρωση υπολειμμάτων αυτού του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου μπορεί να αυξάνεται στους καρπούς και λόγω του ότι συχνά χρησιμοποιούνται δόσεις ψεκασμού

μεγαλύτερες από τις συνιστώμενες, όπως αυτές αναγράφονται στην ετικέτα των σκευασμάτων (Παππάς, 2002).

Σύμφωνα με μια πειραματική εργασία με αντικείμενο μελέτης την αποδόμηση του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου *dimethoate* μετά από επέμβαση με ψεκασμό πάνω σε δέντρα λεμονιάς και μανταρινιάς με καρπούς, ο χρόνος ημίσειας ζωής στα λεμόνια ανέρχεται σε 16,2 ημέρες, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος στα μανταρινία είναι 30,1 ημέρες. Το *dimethoate* είναι ένας εστέρας, σχετικά σταθερός σε όξινο διάλυμα με μέτριο pH 2-7 (Pesticide Manual, 1997). Όπως είναι γνωστό, οι εστέρες υδρολύονται με την καταλυτική επίδραση οξέων, βάσεων και ενζύμων (Roberts & Caserio, 1964). Βάση αυτών των στοιχείων, πιθανότατα η υψηλή οξύτητα των λεμονιών (2,43% w/v σε κιτρικό οξύ) σε σχέση με τα μανταρινία (0,9% w/v σε κιτρικό οξύ) να είναι η αιτία για τη διαφορά του ρυθμού αποδόμησης του *dimethoate* σε αυτά (Παππάς, 2002).

Μετά από 28 ημέρες πάνω στα δέντρα, τα υπολείμματα *dimethoate* πλησιάζουν το επιτρεπόμενο όριο, όπως αυτό έχει καθοριστεί από την Οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης και βάση του καθορισμένου χρόνου αναμονής, οι συνιστώμενες δόσεις μπορούν να εκτιμηθούν ως κανονικές.

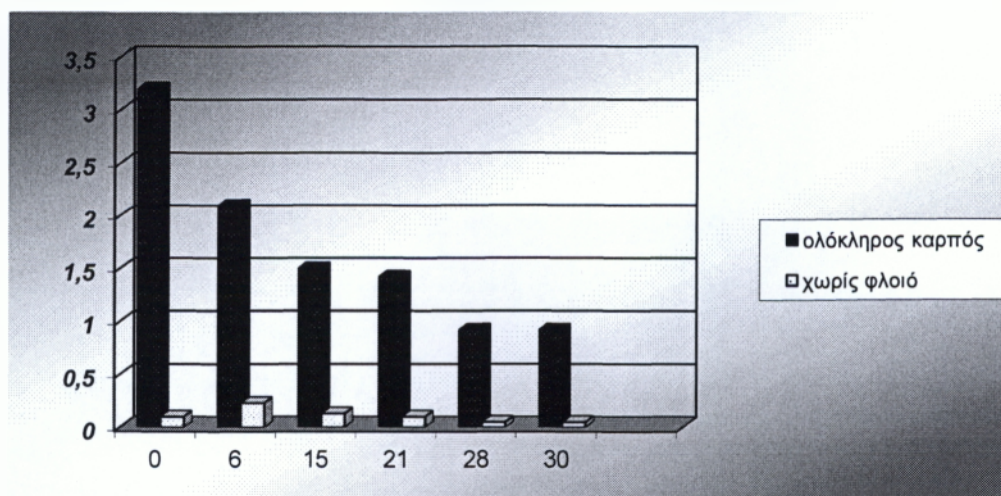
Η αποδόμηση του *dimethoate* στο αποφλοιωμένο φρούτο, τόσο στα λεμόνια όσο και στα μανταρινία, είναι πιο γρήγορη από την αποδόμηση σε ολόκληρο το φρούτο. Η διαφορά αυτή ίσως οφείλεται, αφενός στη διασυστηματική ιδιότητα του φυτοφαρμάκου να εισχωρεί και να διαπερνά μέσω των αγγείων στο εσωτερικό του δέντρου και αφετέρου, στην αυξημένη οξύτητα στο εσωτερικό των καρπών των λεμονιών και των μανταρινιών, η οποία αυξάνει τους ρυθμούς υδρόλυσης του *dimethoate*.

Και στις δύο περιπτώσεις, το όριο των υπολειμμάτων του *dimethoate* στο εσωτερικό των φρούτων δεν ξεπερνά από τις πρώτες κιόλας μετρήσεις το 30% του ανώτατου επιτρεπτού ορίου. Άρα, και πάλι ο φλοιός αναδεικνύεται ως σημαντικό εμπόδιο για την εισχώρηση του φυτοφαρμάκου στο εσωτερικό των φρούτων των εσπεριδοειδών (Παππάς, 2002).

Πίνακας 6: Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων κατά την αποδόμησή του *dimethoate* (mg/kg) σε λεμόνια και μανταρίνια μετά από τον ψεκάσμό των δέντρων. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων από τις αναλύσεις σε δύο ανιχνευτές NPD και FPD

Ημέρες μετρήσεων	Λεμόνια		Μανταρίνια	
	Συγκέντρωση υπολειμμάτων σε ολόκληρο τον καρπό (α) (mg/kg)	Συγκέντρωση υπολειμμάτων σε καρπό χωρίς φλοιό (β) (mg/kg)	Συγκέντρωση υπολειμμάτων σε ολόκληρο τον καρπό (α) (mg/kg)	Συγκέντρωση υπολειμμάτων σε καρπό χωρίς φλοιό (β) (mg/kg)
0	3,2	0,1	3,1	0,12
1	3,01	0,3	2,9	0,4
6	2,1	0,23	2,5	0,35
15	1,5	0,13	2,1	0,28
21	1,42	0,1	2,03	0,19
28	0,92	0,05	1,5	0,1

Πηγή: Παππάς, 2002



Σχήμα 1: Τρισδιάστατη γραφική παράσταση του *dimethoate* στα λεμόνια (Παππάς, 2002).

Όπως και τα άλλα οργανοφωσφορικά, το *dimethoate* είναι παρεμποδιστής της ακέτυλο-χολινεστεράνης, ιδιότητα που αποτελεί τη βάση της εντομοκτόνου δράσης, η οποία προκαλεί και τη νευροτοξικότητα στα θηλαστικά (FAO, Pest. Resid. in Food, 1995). Σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του *dimethoate* παίζουν η υγρασία και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Οι βασικοί μεταβολίτες που παρατηρήθηκαν και μελετήθηκαν στα θηλαστικά είναι το *oxon dimethylphosphate*, *dimethylphosphorothioate* (DMTP) και *dimethylphosphorodithiate*. Ο μεγαλύτερος μεταβολίτης (γύρω στο 60%) φαίνεται πως είναι το DMTP (Krieger et al, 1993).

Σχετικά με την αποδόμηση του *dimethoate* σε διάφορες καλλιέργειες διατίθενται οι ακόλουθες αναφορές:

Σε μελέτη της αποδόμησης του *dimethoate* κατά τη γρήγορη κατάψυξη δαμάσκηνων, βρέθηκε ότι στα κατεψυγμένα στους -28°C δαμάσκηνα, τα υπολείμματα *dimethoate* μειώνονται κατά 50% ύστερα από 7 μήνες αποθήκευσης και 90% μετά από 1 χρόνο. Στα φρέσκα δαμάσκηνα που αποθηκεύονται στους 8°C τα υπολείμματα μειώνονται κατά 50% μέσα σε 3 εβδομάδες και 90% μέσα σε 6 εβδομάδες (Coch, 1976). Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των αποθηκευμένων στους -28°C δαμάσκηνων με τα αντίστοιχα αποτελέσματα από τον φυλασσόμενο στους 0°C χυμό των φρούτων, έδειξε ότι η αποδόμηση του *dimethoate* στον χυμό φρούτων έφτανε στις 330 και 248, ενώ στα δαμάσκηνα τις 28 εβδομάδες (Παππάς, 2002).

Σε μελιτζάνες ψεκασμένες με *dimethoate* σε συγκέντρωση 0,03% και 0,06%, και συγκοσμένες και πλυμένες 7 μήνες μετά τον ψεκασμό, τα υπολείμματα μειώθηκαν κατά 96%. Σε μελέτη κουνουπιδιού μετά το πλύσιμο και το μαγείρεμα βρέθηκε ότι τα υπολείμματα του *dimethoate* μειώνονται κατά 79,3 με 90,8% (Khaire, 1983). Σε μήλα, αχλάδια και κυδώνια ψεκασμένα με *dimethoate* σε ποσότητα 2kg/ha και συγκομισμένα μετά από 3 ημέρες, βρέθηκαν 0,5 mg/kg *dimethoate*, εκ των οποίων το 70-75% ήταν συγκεντρωμένο στον φλοιό και στη σάρκα κάτω από αυτόν. Κατά την κονσερβοποίηση των άνωθεν καρπών, το σύνολο των υπολειμμάτων του *dimethoate* συγκεντρώθηκε στον χυμό, ενώ η θερμική κατεργασία δε συνέβαλε στη μείωση του (Sengalerich, 1974).

Μελέτη με επέμβαση του *dimethoate* σε ροδάκινα έδειξε ο χρόνος ημίσειας ζωής του ανέρχεται σε 15,5 ημέρες, ενώ κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, επιτυγχάνονταν

συγκεντρώσεις κάτω του ανώτατου επιτρεπτού ορίου (Minelli et al., 1996). Σύμφωνα με μελέτες, ο χρόνος ημίσειας ζωής στα φασόλια είναι 6 ημέρες και στα σταφύλια 8 ημέρες (Papadopoulou –Mourkidou, 1991). Στις ελιές, είναι 4,3 ημέρες και στη συγκεκριμένη περίπτωση, το *dimethoate* ήταν το μόνο φυτοφάρμακο, μεταξύ των *methidathion*, *parathion methyl*, *diazinon*, *azinphos methyl* και *quinalphos*, από το οποίο βρέθηκε υπόλειμμα στο ελαιόλαδο, αλλά σε επίπεδο χαμηλότερο από εκείνο στην ελιά (Cabras et al, 1997).

Πίνακας 7: Χρόνος ημίσειας ζωής του *dimethoate* σε διάφορα γεωργικά προϊόντα

Προϊόν	Μήλο	Τομάτα	Αγγούρι	Τεύτλα	Μπρόκολο	Λάχανο	Φασόλια	Σόγια	Βαμβάκι
Χρόνος/ ημέρες	2,6-7,2	6	3,8	2,5	3	1,7	4,3	2,6	3,3

Πηγή: Παππάς, 2002

Σε μερικά από τα προϊόντα, στα οποία χρησιμοποιείται το *dimethoate*, πριν βγουν στην αγορά για κατανάλωση, γίνεται επέμβαση με πλύσιμο, ψήσιμο, καθαρισμό ή μαγείρεμα, με αποτέλεσμα συχνά τη μείωση ή και εξαφάνιση της συγκέντρωσης υπολειμμάτων του φυτοφαρμάκου στα προϊόντα (EPA, 2001).

Σε μια μελέτη του Sugibayashi και των συνεργατών του (1996), συγκρίθηκε η επίδραση του πλυσίματος, του ξεφλουδίσματος και του μαγειρέματος στο επίπεδο υπολειμμάτων του *dimethoate* και άλλων φυτοφαρμάκων στη λευκή πατάτα και τα καρότα. Σε αυτή την πειραματική μελέτη, η εξωτερική επιφάνεια των λαχανικών μολύνθηκε με φυτοφάρμακα. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του απλού πλυσίματος και πλυσίματος με απορρυπαντικό και νερό. Η αποφλοιώση βρέθηκε πιο αποτελεσματική για την αφαίρεση των φυτοφαρμάκων από τα λαχανικά, ενώ δεύτερη πιο αποτελεσματική διαδικασία αποδείχθηκε το τηγάνισμα. Το βράσιμο

ήταν αποδοτικό στη μείωση της συγκέντρωσης στα περισσότερα υδατοδιαλυτά φυτοφάρμακα, ενώ στο μαγείρεμα με λάδι παρατηρήθηκε μείωση των υπολειμμάτων στα περισσότερα λιποδιαλυτά φυτοφάρμακα.

Σε άλλη μελέτη, για τη μείωση του *dimethoate* σε κινέζικο λάχανο, πατάτες αρακά και καρότα, κομμένα λαχανικά εμβαπτίστηκαν σε νερό που περιείχε 1000 mg/ml *dimethoate* για 30 λεπτά. Τα λαχανικά πλύθηκαν, βράστηκαν, τηγανίστηκαν, ψήθηκαν και διαποτίστηκαν με νερό ή ξύδι. Στις ακόλουθες μετρήσεις των υπολειμμάτων, η αποδόμηση του *dimethoate* κυμάνθηκε από 72 έως και 99% (Wen et al, 1985). Επίσης, όσον αφορά στη μεταποίηση, οι διεργασίες κατά την παραγωγή μύρας και κρασιού συμβάλλουν στη μείωση των υπολειμμάτων του *dimethoate*, στην περίπτωση που η πρώτη ύλη περιέχει τέτοια υπολείμματα (Farris et al., 1992).

Μετά από πλύσιμο, το *dimethoate* μειώθηκε στην ελιά κατά 45%. Μετά από 8 μήνες αποθήκευσης του λαδιού το *dimethoate*, το *parathion methyl*, το *diazinon* και το *quinalphos* δεν έδειξαν σημαντική διαφορά σε σύγκριση με το *azinphos methyl* και το *methidathion* που μειώθηκαν μέτρια (Παππάς, 2002).

Ύστερα από επέμβαση με *dimethoate* σε ελιές, από τις οποίες θα παραγόταν λάδι, το ανεπεξέργαστο λάδι περιείχε 14,1% της συνολικής ποσότητας που είχε βρεθεί στις ελιές, ενώ μετά την επεξεργασία η συγκέντρωση του *dimethoate* μειώθηκε κατά 50% του συνόλου που υπήρχε στο ανεπεξέργαστο ελαιόλαδο. Μετά από όλες τις επεξεργασίες για την παραλαβή του τελικού (επεξεργασμένου) λαδιού, εντοπίστηκε μόνο το 31,6% του *dimethoate* που περιεχόταν στο ανεπεξέργαστο λάδι και το οποίο αντιστοιχούσε στο 4,4% του αρχικού υπολείμματος στις ελιές. Το τελικό υπόλειμμα στο καθαρό ελαιόλαδο αποτελείται από διάφορους μεταβολίτες, όπως *dimethoate oxon* και από *dimethoate* η (Gozek et all, 1999).

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε με χημική επέμβαση σε δαμάσκηνα, το *dimethoate* αποδομήθηκε ολοκληρωτικά εντός 2 εβδομάδων, ενώ κατά τη διάρκεια ξήρανσης των καρπών τα υπολείμματα δεν παρουσίασαν μείωση της αρχικής προ της ξήρανσης τιμής τους (Cabras et all, 1998).

Το *dimethoate*, αναμειγνυόμενο με άλλα φυτοφάρμακα, συχνά παρουσιάζει συνεργητικότητα. Σε μίγμα με πυρεθρίνες, για παράδειγμα, δίνει καλύτερο αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση των ακάρεων, η τοξικότητά του (και γενικά των

οργανοφωσφορικών), όμως, αυξάνεται από 2,3 έως και 18,2 φορές (Bynum et al., 1997).

Το *dimethoate* συχνά ανιχνεύεται σε δείγματα μήλου, ροδάκινου, πατάτας και τομάτας (Ferreira et al., 1987). Σε εισαγόμενα δείγματα αγοράς στην Χιλή, τα υπολείμματα *dimethoate* εντοπίστηκαν στο 26% της ποσότητας των σταφυλιών, στο 36,2% των νεκταρινιών και στο 41,7% της ποσότητας των μήλων (Ciudad & Gonzalez, 1989). Τις περισσότερες φορές, τα υπολείμματα *dimethoate* δεν υπερβαίνουν τη συγκέντρωση των ανώτατων επιτρεπτόν ορίων (Gazea & Calvarano, 1998). Σε πείραμα με διάφορα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, μεταξύ των οποίων και το *dimethoate*, μελετήθηκε η ανίχνευσή τους μετά τον ψεκάσμό. Βρέθηκε ότι το *dimethoate* δεν ξεπερνούσε το ανώτατο επιτρεπόμενο όριο κατά το στάδιο της συγκομιδής, ενώ μετά το πλύσιμο η ανίχνευσή του ήταν αδύνατη (Cabras et al., 1995).

Σε μια άλλη εργασία μελέτης αποδόμησης οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων από μύκητες *Aspergillus flavus*, αποδείχτηκε ότι αποδομήθηκε το 50% των οργανοφωσφορικών, συμπεριλαμβανομένου του *dimethoate* (Hasan, 1999). Οι ζύμες σε διάφορες συγκεντρώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στη αποδόμηση του *dimethoate*. Έχει αποδειχτεί πειραματικά ότι η ζυμωτική δράση των *Saccharomyces cerevisiae* 1161 και *S. cerevisiae* L 234A αποδομεί το 50% της αρχικής ποσότητας *dimethoate*, όταν κάθε 1mg εντομοκτόνο σε 5 ml διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης προστίθεται σε 1 λίτρο νερό (pH 3,6) με 28g ζύμη (Cabras et al., 1995).

Οι διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος, δηλαδή παράγοντες όπως θερμοκρασία, ηλιακό φως, καθώς και οι διαφορετικές δομές των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων διαφοροποιούν σε σημαντικό βαθμό την αποδόμησή τους. Σε μελέτη με εντομοκτόνα, συμπεριλαμβανομένου του *dimethoate*, που πραγματοποιήθηκε για 6 μήνες στο πανεπιστήμιο του *Bordeaux*, αποδείχτηκε ότι η αποδόμηση εντομοκτόνων σε διάφορα διαλύματα νερού σε διαφορετική θερμοκρασία και διαφορετική έκθεση στο ηλιακό φως, διαφέρει σε σημαντικό βαθμό. Αλλά και η διαφορετική χημική δομή των φυτοφαρμάκων έπαιξε σημαντικό ρόλο στη σύγκριση του ρυθμού αποδόμησής τους ειδικά όσον αφορά στην απορρόφηση του φωτός (Lartiges & Garrigues, 1995).

Η βιοαποδόμηση και η φωτόλυση παίζουν έναν καθοριστικό ρόλο στην αποδόμηση των φυτοφαρμάκων (Calumpang et al, 1985, Chapra –Boyer, 1989). Η επίδραση των βακτηρίων και των αερόβιων μικροοργανισμών καθίσταται συχνά αποτελεσματική στην αποδόμηση του *dimethoate*.

Η ποσότητα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων είναι μικρότερη σε αποφλοιωμένα μήλα, συγκριτικά με την αντίστοιχη ποσότητα που περιέχουν τα μήλα με τον φλοιό στις ίδιες συνθήκες φύλαξης. Ύστερα από κάθε καθαρισμό του φλοιού, η συγκέντρωση υπολειμμάτων που παρέμεινε στο μήλο, σημείωσε μείωση από 31 έως και 51% της αρχικής, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση του υπολείμματος *parathion* στα αποφλοιωμένα μήλα μειώθηκε από 52 έως 85%. Το *parathion*, ωστόσο, παραμένει για μεγάλη χρονική περίοδο σε υψηλότερο βαθμό σε σύγκριση με το *dimethoate*. Επιπλέον, η ποσότητα υπολείμματος *dimethoate* σε αποφλοιωμένα μήλα παραμένει πιο μικρή στις πρώτες μέρες στο ψυγείο από ο,τι στο υπόλοιπο χρονικό διάστημα. Εν πάσει περιπτώσει, η ποσότητα υπολειμμάτων *parathion* παρέμεινε πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια σε όλο το χρονικό διάστημα του πειράματος, ενώ το υπόλειμμα *dimethoate* αποδομήθηκε σχετικά πιο νωρίς (Παππάς, 2002).

Όπως προκύπτει, ο χρόνος ημίσειας ζωής του *dimethoate* σε μήλα συντηρούμενα στο ψυγείο ανέρχεται σε 29,5 ημέρες, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος ημίσειας ζωής του *parathion* σε 107 ημέρες. Ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη του MRL σε μήλα που συντηρούνται στο ψυγείο και με βάση τις ενδεικτικές αρχικές συγκεντρώσεις, βρέθηκε 82,8 και 50,7 ημέρες για το *dimethoate* και 407 και 78,3 ημέρες για το *parathion*, αντιστοίχως για τα μήλα ως έχουν και χωρίς τον φλοιό. Ενδεχομένως, η διαφορά στους ρυθμούς αποδόμησης των δύο φυτοφαρμάκων οφείλεται στη διαφορετική χημική τους δομή και στο διαφορετικό τρόπο αντιδράσεων που πραγματοποιούνται υπό τέτοιες συνθήκες. Όσον αφορά στα αποφλοιωμένα μήλα, ο χρόνος ημίσειας ζωής βρέθηκε 23,3 ημέρες για το *dimethoate*, και 27,4 ημέρες για το *parathion*. Ως εκ τούτου, προκύπτει το συμπέρασμα ότι ο ρυθμός αποδόμησης του *dimethoate* είναι ο ίδιος περίπου σε ολόκληρο το φρούτο, τόσο στον φλοιό όσο και στο εσωτερικό του. Αντιθέτως, το *parathion* αποδομείται με πολύ πιο γρήγορους ρυθμούς στο εσωτερικό τους φρούτου, από ο,τι σε ολόκληρο το φρούτο. Επίσης, εφόσον οι τιμές υπολειμμάτων *dimethoate* βρέθηκαν πιο μικρές κατά 31-50% στα αποφλοιωμένα σε σύγκριση με τις τιμές στα μήλα ως έχουν, συνεπάγεται

το συμπέρασμα ότι ο φλοιός των καρπών αποτελεί σημαντικό εμπόδιο στη διείσδυση των φυτοφαρμάκων στο εσωτερικό του φρούτου. Επομένως, ένας τρόπος για την αποφυγή των υπολειμμάτων στα συγκεκριμένα φρούτα είναι η αφαίρεση του φλοιού, καθώς η ποσότητα υπολειμμάτων *dimethoate* που πιθανώς δεχόμαστε είναι το 50-70% της συνολικής που υπάρχει στα φρούτα. Στην περίπτωση του *parathion*, αντίστοιχα, μετά τον καθαρισμό δεχόμαστε το 15-48% των υπολειμμάτων που υπάρχουν συνολικά στα μήλα (Παππάς, 2002).

Οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης κατά τη συντήρηση των φρούτων στα ψυγεία έχουν έντονη επίδραση στους ρυθμούς αποδόμησης των φυτοφαρμάκων συμβάλλοντας στη συγκράτηση των υπολειμμάτων για μεγάλη χρονική περίοδο, καθώς ο ρυθμός αποδόμησης υπό τέτοιες συνθήκες ψύξης είναι πάρα πολύ χαμηλός συγκριτικά με τους ρυθμούς αποδόμησης αυτών των φυτοφαρμάκων στις φυσιολογικές συνθήκες καλλιέργειας των φυτών (Mulla et all, 1981; Howard, 1991; Papadopoulou – Mourkidou, 1991).

Η ταχύτητα απόδοσης της δραστικής ουσίας υπό ορισμένες συνθήκες περιβάλλοντος εξαρτάται αφενός, από τον χρόνο παραμονής της στο φυτό και αφετέρου, από την ενζυματική δραστηριότητα στο εσωτερικό του φυτού (Gallo, 1991). Όπως έχει αναφερθεί, η μεγάλη διάρκεια αποθήκευσης κάποιων φρούτων παρέχει τη δικαιολογία σε ορισμένους παραγωγούς για επεμβάσεις με φυτοφάρμακα ακόμα και λίγες ημέρες πριν τη συγκομιδή. Παραβλέποντας τις οδηγίες των γεωπόνων φυτοπροστασίας για την εφαρμογή της ΟΓΠ, συχνά αυτοί οι παραγωγοί προχωρούν στη συγκομιδή του προϊόντος από τον αγρό, πριν να περάσουν οι απαιτούμενες ημέρες αναμονής, με αποτέλεσμα την ενδεχόμενη ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο προϊόν πάνω από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια (Παππάς, 2002).

2.6 Μελέτη της σταθερότητας του *parathion methyl*

Κατά τους ελέγχους σε δείγματα εμπορίου, όσον αφορά στα υπολείμματα, ένα από τα πιο συχνά ανιχνεύσιμα φυτοφάρμακα στα εσπεριδοειδή, είναι το *parathion methyl* (Brotons et all, 1986). Συνήθως, βέβαια, τα υπολείμματά του σε διάφορες καλλιέργειες, εφόσον αυτές ψεκάζονται με βάση τις συνιστώμενες δοσολογίες,

σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης των παρασκευαστών, και δεδομένου ότι τηρείται ο χρόνος αναμονής, δεν ανιχνεύονται ή είναι σε συγκέντρωση χαμηλότερη από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων (Ramadan, 1985). Συγκεκριμένα, σε καλλιέργεια ροδακινιάς και 21 ημέρες μετά τον ψεκασμό, δεν ανιχνεύτηκαν υπολείμματα *parathion methyl* στους καρπούς (Zafeiriou, 1985).

Σε πείραμα μαζί με άλλα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα που πραγματοποιήθηκε σε πορτοκάλια σε συνθήκες αγρού, μελετήθηκε η υπολειμματικότητα μετά το πέρας του χρόνου αναμονής. Υπολείμματα του *parathion methyl* ανιχνεύτηκαν σε χαμηλή συγκέντρωση, κάτω από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια, ενώ στο εσωτερικό των πορτοκαλιών δεν ανιχνεύτηκαν τέτοια υπολείμματα (Cabras et al, 1995).

Τα υπολείμματα του *parathion methyl*, σε φασολάκια, κατά τη διάρκεια μεταποίησης, όπως το μαγείρεμα, μειώθηκαν κατά 77-88%. Μετά από απλό πλύσιμο δε, η αποδόμηση των υπολειμμάτων έφτασε σε ποσοστό από 20 έως 49% (Magallona et al, 1982).

Σε άλλο πείραμα σε καλλιέργειες βαμβακιού και μαρουλιού που είχαν ψεκαστεί με τη συνιστώμενη δόση του *parathion methyl*, σε μέτρηση των υπολειμμάτων μετά από 5 ημέρες, η συγκέντρωση του φυτοφαρμάκου στα φύλλα έφτανε το ανώτατο 2,12 mg/kg (Youngman et al, 1989).

Τέλος, σε πείραμα με μήλα τα συμπεράσματα ήταν τα εξής: ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσουν τα δείγματα σε ασφαλή επίπεδα υπολειμματικής συγκέντρωσης πάνω στα δέντρα προκύπτει περίπου ίδιος με αυτόν που καθορίζεται από την έγκριση του *parathion methyl* για τη διάρκεια αναμονής από την τελευταία επέμβαση ψεκασμού μέχρι τη συγκομιδή, δηλαδή 20 ημέρες. Ο χρόνος ημίσειας ζωής και ο χρόνος ελάττωσης της συγκέντρωσης μέχρι το μέγιστο επιτρεπόμενο όριο για το φυτοφάρμακο είναι αρκετά μεγάλοι κατά την αποθήκευση σε θαλάμους ΕΑ και περίπου ίδιοι με τους αντίστοιχους κατά την αποθήκευση υπό ψύξη. Οι θάλαμοι ΕΑ έχουν πολύ μικρή συγκέντρωση οξυγόνου, χαμηλή θερμοκρασία και σχετικά υψηλή υγρασία (RH=92-95%). Οι ψυκτικοί θάλαμοι έχουν μεγάλη συγκέντρωση οξυγόνου, χαμηλή θερμοκρασία, όπως οι θάλαμοι ΕΑ, αλλά χαμηλότερη σχετική υγρασία (RH=80%). Επομένως, στο *parathion methyl* γαίνεται η οξειδωτική διάσπαση παίζει σημαντικό ρόλο στη συνολική αποδόμησή του, τουλάχιστον το ίδιο σημαντικό –αν

όχι σημαντικότερο- με την υδρόλυση, καθώς ο συνολικός ρυθμός αποδόμησης κάτω από συνθήκες ελεγχόμενης ατμόσφαιρας ήταν ο μικρότερος που μετρήθηκε. Εδώ παρατηρείται και μεγάλη διαφορά με το *azinphos methyl*, όπου η αποδόμηση φαίνεται πως οφείλεται αποκλειστικά σε υδρολυτικούς μηχανισμούς (Παππάς, 2002).

Το *parathion methyl* αποδομείται πάνω στα δέντρα σύμφωνα με τον εγκεκριμένο χρόνο αναμονής για τα λεμόνια. Για τα μήλα βρέθηκε ότι ο χρόνος αναμονής, υπό συνθήκες αγρού, παρατείνεται στις 26 ημέρες, ενώ κατά την φύλαξη σε ψυγεία φρούτων η αποδόμηση στον χρόνο παρατείνεται κατά πολύ. Έτσι, η αποδόμηση του *parathion methyl* σε συνθήκες ψυγείου φτάνει το ανώτατο επιτρεπτό όριο υπολειμμάτων μετά από 212 και 168 ημέρες αντιστοίχως. Επιπλέον, η υψηλή οξύτητα του χυμού λεμονιού φάνηκε να επιδρά στο ρυθμό αποδόμησης του *parathion methyl*, ενώ ο φλοιός του λεμονιού αποδείχτηκε επίσης ένα αποτελεσματικό εμπόδιο στην είσοδο του εντομοκτόνου στους χυμούς του λεμονιού, καθώς στον χυμό δεν ανιχνεύτηκαν υπολείμματά *parathion methyl* (Παππάς, 2002: 194).

Πίνακας 8: Οι τιμές υπολειμμάτων στον χυμό μήλου και λεμονιού του *parathion methyl*

Ημέρες	<i>parathion methyl</i> (mg/kg)	
	Μήλα	Λεμόνια
1	0,84	N.D.
2	1,92	N.D.
7	1,95	N.D.
12	2,12	N.D.
21	1,97	N.D.
26	1,58	N.D.

N.D. = Μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα

Πηγή: Παππάς, 2002

2.7 Μελέτη της σταθερότητας του *chlorpyrifos methyl*

Ο χρόνος ημίσειας ζωής για το *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες θερμοκηπίου βρέθηκε 8,4 ημέρες, ενώ στις τομάτες συντηρούμενες στο ψυγείο 91 ημέρες. Ο

μεγαλύτερος ρυθμός αποδόμησης σε συνθήκες θερμοκηπίου φαίνεται πως οφείλεται στις υψηλές θερμοκρασίες εντός του θερμοκηπίου, στην παρουσία ατμοσφαιρικού οξυγόνου και σε σχετικούς με το φυτό παράγοντες, όπως η διακίνηση των χυμών εντός του και οι βιοενζυματικές αντιδράσεις (Cabras et all, 1995).

Ο χρόνος ημίσειας ζωής για το *chlorpyrifos methyl* βρέθηκε 96 ημέρες στον χυμό τομάτας, ο οποίος συντηρήθηκε σε συνθήκες ίδιες με τις τομάτες σε κοινό ψυγείο (4°C). Ο χρόνος ημίσειας ζωής, δηλαδή, στις τομάτες και στο χυμό τομάτας, που συντηρούνται σε κοινό ψυγείο είναι περίπου 11 φορές πιο μεγάλος από τον αντίστοιχο χρόνο ημίσειας ζωής του ίδιου εντομοκτόνου σε τομάτες που παραμένουν στα φυτά και σε συνθήκες θερμοκηπίου. Συγκεκριμένα, η ταχύτητα αντίδρασης γίνεται περίπου μισή για κάθε μείωση της θερμοκρασίας κατά 10°C. Επομένως, ο ρυθμός αποδόμησης αναμένεται να μειώνεται κατά 8 περίπου φορές, αποτέλεσμα παραπλήσιο με την τιμή των 11 φορών που βρέθηκε. Αυτό σημαίνει ότι με σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες στις συνθήκες συντήρησης σε ψυγείο (4°C) κρίνονται καθοριστικές όσον αφορά στη μείωση της αποδόμησης του *chlorpyrifos methyl* και στη διατήρηση των υπολειμμάτων σε υψηλά επίπεδα για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Τέλος, ο ρυθμός της αποδόμησης του *chlorpyrifos methyl* σε τομάτες που παραμένουν στα φυτά σε συνθήκες καλλιέργειας θερμοκηπίου φαίνεται να συμπίπτει με τον καθορισμένο χρόνο αναμονής. Έτσι, για τη συγκέντρωση του ανώτατου επιτρεπτού ορίου του 0,5 mg/kg απαιτείται παραμονή των καρπών ασυγκόμιστων περίπου 4 ημέρες μετά τον τελευταίο ψεκάσμο με *chlorpyrifos methyl*, χρόνος που συνιστάται και από την έγκρισή του στις τομάτες (Γιαννοπολίτης, 2000).

Για τομάτες συντηρούμενες σε κοινό ψυγείο (4°C), ο απαιτούμενος χρόνος για την επίτευξη του ανώτατου επιτρεπτού ορίου υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* βρέθηκε 65 ημέρες. Για να καταναλωθούν, δηλαδή, οι τομάτες που συγκομίζονται αμέσως μετά τον ψεκάσμο ή που περιέχουν υπολείματα του φυτοφαρμάκου σε συγκέντρωση 0,73 mg/kg, απαιτείται να παραμείνουν τουλάχιστον 65 ημέρες σε κοινά ψυγεία και να καταναλωθούν αργότερα.

Οι εφαρμογές μεταποίησης στην τομάτα, όπως και σε άλλα γεωργικά προϊόντα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων. Η διαδικασία μεταποίησης σε τουρσί, παραδείγματος χάριν, μειώνει σε πρώτη φάση

τα υπολείμματα που εντοπίζονται στην πρώτη ύλη (τομάτες αγρού) σε ποσοστό περίπου 10%. Εδώ παρατηρείται επίδραση δύο παραγόντων: αφενός, το αρχικό πλύσιμο των τομάτων, στο οποίο κρίσιμο ρόλο παίζει και ο χρόνος που μεσολαβεί από τον αρχικό ραντισμό έως το ίδιο το πλύσιμο, καθώς όσο μεγαλύτερο είναι αυτό το χρονικό διάστημα, τόσο περισσότερο υπόλλειμα *chlorpyrifos methyl* έχει περάσει στο εσωτερικό του καρπού και άρα δε θα απομακρυνθεί με το πλύσιμο, ενώ κατά το ίδιο χρονικό διάστημα, συντελείται και αποδόμηση από άλλους παράγοντες.

Η συντήρηση των καρπών σε μεταποιημένο προϊόν, όπως το τουρσί, σε θερμοκρασία δωματίου 20-22°C και σε κλειστά δοχεία επιδρά στην αποδόμηση του εντομοκτόνου λιγότερο σε σύγκριση με την αποδόμηση με τομάτες που παραμένουν στα φυτά. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του *chlorpyrifos methyl* σε τομάτες τουρσί βρέθηκε 40 ημέρες, 5 φορές μεγαλύτερος, δηλαδή, από τον αντίστοιχο που παρέμειναν στα φυτά σε συνθήκες θερμοκηπίου, όπου οι θερμοκρασία κυμαινόταν μεταξύ 28-32°C. Για την επίτευξη του ανώτατου επιτρεπτού ορίου υπολειμμάτων σε τομάτες τουρσί βρέθηκε ότι απαιτούνται 15 ημέρες αναμονής πριν την κατανάλωση των τομάτων τουρσί.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας, οι συνθήκες καλλιέργειας θερμοκηπίου αποτελούν τον κύριο παράγοντα για την ταχύτερη αποδόμηση του *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες.

Επιπλέον, κατά τη μεταποίηση των τομάτων σε χυμό, τα υπολείμματα *chlorpyrifos methyl* που υπάρχουν στο πρωτογενές προϊόν μειώνονται σημαντικά σε ποσοστό 55%. Αυτή η μείωση που οφείλεται στο πλύσιμο και στην απομάκρυνση των φλοιών πιθανότατα επηρεάζεται καθοριστικά από τον χρόνο που έχει μεσολαβήσει ανάμεσα στο ραντισμό και την χυμοποίηση. Η εν λόγω διαδικασία που εμπερικλείει το πλύσιμο, το βράσιμο, την αποφλοίωση κλπ, παίζει σημαντικό ρόλο στην εξαφάνιση του *chlorpyrifos methyl* από τους καρπούς τομάτας (Παππάς, 2002).

Συμπεράσματα

Σε κάθε περίπτωση, ο ρυθμός αποδόμησης είναι πολύ μεγαλύτερος σε συνθήκες δέντρου ή φυτού σε σύγκριση με όλες τις συνθήκες συντήρησης και μεταποίησης που μελετήθηκαν. Ο ρυθμός αποδόμησης των φυτοφαρμάκων που αναφέρθηκαν εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό και από τις συνθήκες θερμοκρασίας φύλαξης των δειγμάτων.

Όπως διαπιστώθηκε, ο ρυθμός αποδόμησης των εξετασθέντων οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων κατά τη συντήρηση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι πολύ αργός σε σύγκριση με τον αντίστοιχο ρυθμό αποδόμησης πάνω στα δέντρα – 8,3 φορές για το *azinphos ethyl*, 12 φορές για το *azinphos methyl*, 5,6 φορές για το *parathion*, 8,5 φορές για το *parathion methyl*, 10,8 φορές για το *chlorpyrifos methyl*.

Κατά την παρασκευή και τη συντήρηση μεταποιημένου προϊόντος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος διαπιστώθηκε μια σημαντική μείωση του ρυθμού αποδόμησης του *chlorpyrifos methyl* σε σύγκριση με την αποδόμηση του πάνω σε φυτά τομάτας.

Η αποδόμηση των μελετηθέντων φυτοφαρμάκων κατά τη συντήρηση καρπών καθώς και προϊόντων μεταποίησής τους στο ψυγείο είναι βραδύτερη από την προβλεπόμενη από την κινητική θεωρία της χημείας – 2 φορές για το *parathion methyl*, 3 για το *azinphos methyl*, 3,5 για το *azinphos ethyl* και 3 για το *chlorpyrifos methyl*.

Ο ρυθμός αποδόμησης των φυτοφαρμάκων στα φρούτα, όπως φαίνεται, επηρεάζεται σημαντικά από τη σύνθεση του αέρα και τη σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας του ψυγείου.

Διαφορές στο pH και στην οξύτητα σε μανταρίνια και λεμόνια αποδείχτηκε ότι επηρεάζουν καθοριστικά το ρυθμό αποδόμησης του *dimethoate*, που βρέθηκε διπλάσιος στα λεμόνια σε σύγκριση με τα μανταρίνια.

Τέλος, διαπιστώθηκε ότι ο φλοιός των εσπεριδοειδών αποτελεί σημαντικό εμπόδιο στη διείσδυση των φυτοφαρμάκων *parathion methyl* και *azinphos methyl* στο εσωτερικό των καρπών (Παππάς, 2000).

Μέχρι πρόσφατα, τον κανόνα αποτελούσε η θεώρηση πως η ADI (αποδεκτή ημερήσια λήψη) καλύπτει ολόκληρο το εύρος των καταναλωτών και πως οι

συντελεστές ασφαλείας που καθορίζει επαρκούν για την προστασία όλων των πληθυσμιακών ομάδων. Ωστόσο, με τους νεότερους προβληματισμούς περί της οξείας τοξικότητας από διατροφική λήψη, αναγνωρίζεται η ανάγκη για τον καθορισμό πρόσθετων συντελεστών ασφαλείας, προκειμένου να διασφαλιστούν οι ευπαθέστερες ομάδες των εμβρύων, των βρεφών, των νηπίων, των παιδιών και των ηλικιωμένων. Ο προβληματισμός εντείνεται ιδίως όσον αφορά στην παρουσία δύο ή περισσότερων φυτοφαρμάκων σε κάποια τρόφιμα και στην τυχόν προσθετική ή συνεργιστική δράση τους (Calamati – Vighi, 1991).

Μια βασική παράμετρο που λαμβάνει υπόψιν η ΕΡΑ σχετικά με τον κίνδυνο από τα φυτοφάρμακα, αποτελεί η έκθεση, μέσω της καθημερινής διατροφής, στα διάφορα φυτοφάρμακα και τους μεταβολίτες τους. Σε γενικές γραμμές, τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα κατά την κατανάλωση είναι πολύ λιγότερα από τη συγκέντρωσή τους στα πρωτογενή γεωργικά προϊόντα, από τα οποία παρασκευάζονται τα τρόφιμα. Η διαδικασία μεταποίησης των τροφίμων μετά τη συγκομιδή είναι καθοριστική όσον αφορά στη συγκέντρωση των υπολειμμάτων. Τέτοιες διαδικασίες είναι το πλύσιμο, η αποφλοιώση και το μαγείρεμα. Η έκθεση των καταναλωτών σε υπολείμματα φυτοφαρμάκων που βρίσκονται σε πρωτογενή προϊόντα, προερχόμενα απευθείας από τα αγροτεμάχια παραγωγής, είναι πολύ πιο μεγάλη από την έκθεση σε υπολείμματα που δέχονται από μεταποιημένα προϊόντα. Σε αυτή την εκτίμηση, ωστόσο, δε λαμβάνονται υπόψιν οι επιδράσεις της τυπικής κουζίνας ή και άλλων διαδικασιών, όπως το πλύσιμο, το ψήσιμο, το μαγείρεμα και η αποφλοιώση, στα επίπεδα υπολειμμάτων στα τρόφιμα. Όπως προκύπτει από τις βιβλιογραφικές αναφορές, η ίδια η διαδικασία μεταποίησης, τις περισσότερες φορές μειώνει τη συγκέντρωση υπολειμμάτων που υπήρχαν στο αρχικό προϊόν και συχνά εξαφανίζει ακόμα και τα ίχνη (ΕΡΑ, 2001).

Με την εμφάνιση συχνών και σοβαρών κινδύνων που ενέχουν πλέον κατά περιόδους τα τρόφιμα για τους καταναλωτές, κρίθηκε αναγκαία η εύρεση τρόπων για την αποφυγή τους και γενικά, την αντιμετώπιση του όλου προβλήματος (Τριχοπούλου – Βασιλάκου, 1995).

Η γενική διεύθυνση στην Ευρωπαϊκή Ένωση για την Υγεία και Προστασία του καταναλωτή, τονίζει ότι μελλοντικά η ύπαρξη υπολειμμάτων στα γεωργικά προϊόντα θα είναι απαγορευτική με στόχο την προστασία του καταναλωτή. Τα κράτη-μέλη της

ΕΕ οφείλουν να καθορίσουν ασφαλή όρια υπολειμμάτων, τα οποία να γίνουν σεβαστά και να τηρούνται αυστηρά από όλους τους παραγωγούς και τους εμπόρους. Τα ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων πρέπει να αναφέρονται για κάθε φυτοφάρμακο και κάθε προϊόν, όπως επίσης και η αποδεκτή ημερήσια λήψη (ADI) (Παππάς, 2002).

Η βιομηχανία τροφίμων είναι συνυπεύθυνη, από την πλευρά της, για την παραγωγή και τη διανομή ασφαλών προϊόντων. Η ανάπτυξη και η εφαρμογή προγραμμάτων Ανάλυσης Επικινδυνότητας στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου έχει καταστεί υποχρεωτική στην ΕΕ. Το εν λόγω πρόγραμμα στοχεύει στην ελαχιστοποίηση της πιθανότητας εμφάνισης προβλημάτων ασφάλειας στα τρόφιμα που παράγονται, εστιάζοντας στα κρίσιμα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας που θα πρέπει να ελέγχονται (Τζιά – Τσιαπούρης, 1996). Κατά την εφαρμογή του πρέπει να ληφθούν υπόψιν ο περιορισμός του πιθανού κινδύνου της παρουσίας υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων στο προϊόν σε μη αποδεκτά επίπεδα. Εκτός της ηθικής και νομικής ευθύνης της βιομηχανίας για την παραγωγή ποιοτικών και ασφαλών προϊόντων, ενδέχεται να προκύψει και υψηλό οικονομικό κόστος για την ίδια από την πιθανή επιβολή κυρώσεων, την απόσυρση μη ασφαλών προϊόντων και τις επιπτώσεις από την άρση της εμπιστοσύνης του καταναλωτικού κοινού (Κόντου 2006).

Η αποθήκευση δειγμάτων ομογενοποιημένης τομάτας σε συνθήκες ψύξης 5°C για χρονικό διάστημα έως 6 εβδομάδες δεν ασκεί σημαντική επίδραση στα επίπεδα των υπολειμμάτων του *maneb*. Η σημασία αυτού του ευρήματος έγκειται στο ότι αποδεικνύει τη σταθερότητα των υπολειμμάτων *maneb* σε προϊόντα κατά τη διακίνησή τους σε συνθήκες ψύξης στην αλυσίδα εφοδιασμού τροφίμων, ή και κατά την αποθήκευσή τους σε ψυκτικούς θαλάμους σε μονάδες μεταποίησης πριν την περαιτέρω επεξεργασία τους. Επίσης προκύπτει ότι είναι δυνατή η αποθήκευση των αναλυτικών δειγμάτων σε θερμοκρασία 5°C ή χαμηλότερη για ορισμένο χρονικό διάστημα, πριν τη διεξαγωγή της ανάλυσης στο εργαστήριο, αφού δεν υφίσταται σημαντική μείωση των επιπέδων των υπολειμμάτων *maneb* ή αύξηση του μεταβολή του μεταβολίτη ETU. Παρατηρήθηκε, ωστόσο, περιορισμένης έκτασης υποβάθμιση των επιπέδων της πρόδρομης ένωσης, πιθανότατα μέσω ενζυματικών μηχανισμών, κατά την παραμονή των δειγμάτων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για χρονικό διάστημα περίπου μιας ώρας (Κόντου, 2006).

Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που ανιχνεύτηκαν στα φρούτα και τα λαχανικά παρέχουν μια γενική εικόνα για τα κυριότερα γεωργικά προϊόντα της αγοράς. Τα περισσότερα από αυτά τα υπολείμματα ανήκουν στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα και λιγότερα στα άλλα φυτοφάρμακα (Παππάς, 2002).

Από τις δοκιμές μπορεί να σχηματιστεί μια σφαιρική εικόνα του φαινομένου του υποβιβασμού, που συνδέεται άμεσα με τη δυναμική σχέση, που υφίσταται ανάμεσα στο υποκείμενο εφαρμογής και το φυτοφάρμακο. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί συνάρτηση των περιβαλλοντικών συνθηκών, τη μορφή και του είδους του παρασκευάσματος του φυτοφαρμάκου και τέλος, της φυσιολογικής και φυσικοχημικής σύστασης της εξωτερικής επιδερμίδας, καθώς επίσης και του χημικού – ενζυμικού ή γενικά βιοχημικού χαρακτήρα του καρπού (Μιχαηλίδου, 1987).

Γενικά, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διάσπαση των φυτοφαρμάκων στα φυτά είναι περιβαλλοντικοί –σχετική υγρασία και θερμοκρασία- και βιολογικοί – ενζυματικές δράσεις, αραίωση με χυμούς, αντιδράσεις με συστατικά του φυτού κλπ. Τα αποτελέσματα σχετικά με την αποδόμηση των φυτοφαρμάκων και με την ύπαρξη υπολειμμάτων στα γεωργικά προϊόντα είναι σημαντικά για την ενημέρωση τόσο του καταναλωτή όσο και του παραγωγού. Με βάση αυτά, μας δίνεται η δυνατότητα για το σχεδιασμό μιας μεγαλύτερης γκάμας εργασιών για την εύρεση άλλων πρόσφορων εφαρμογών με χημικά μέσα φυτοπροστασίας, αλλά και για την παροχή σημαντικών στοιχείων όσον αφορά στην αντιμετώπιση των προβλημάτων περί των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα παραγόμενα γεωργικά προϊόντα (Παππάς, 2002).

Βιβλιογραφία

- Αλμπάνης Τ., *Μελέτη της Υδρόλυσης, της Προσρόφησης και της Διάσπασης των Φυτοφαρμάκων methyl-parathion, lindane και atrazine σε φυσικά υποστρώματα* 1987
- Βουδούρης Ε. Κ., *Τεχνολογία Τροφίμων*, τόμος Α, Γ' έκδοση, Αθήνα 1973
- Γιαννοπολίτης Κ., *Φυτοπροστατευτικά προϊόντα*, εκδόσεις ΑγροΤύπος, 2000
- Κόντου Σ., *Προσδιορισμός διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων και μελέτη της σταθερότητάς τους κατά την αποθήκευση και επεξεργασία των τροφίμων*, 2006
- Κουκουργιάννης Β., *Η μηλοκαλλιέργεια, Γεωργία, Κτηνοτροφία*, εκδόσεις ΑγροΤύπος, τεύχος 10, 1997
- Κυριακόπουλος Γ., *Μέθοδοι Απομάκρυνσης Φυτοφαρμάκων, Εφαρμογή: προσρόφηση ζιζανιοκτόνων από υδατικά συστήματα σε πολυμερείς ρητίνες*, Αθήνα 2005
- Μιχαηλίδου Σ., «*Μελέτη της Σταθερότητας και υπολειμματικότητας του νέου εντομοκτόνου 'Διαιθυλοφωσφορικός Εστέρας της Δικυκλοπροπυλοκετοξίμης'*», Αθήνα 1987: 9-10
- Μουρκίδης Γ., *Γεωργική Χημεία και Γεωργική Φαρμακολογία*, 1974
- Μπαλαγιάννης Π., *Εγχειρίδιο Γεωργικών Φαρμάκων*, εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα 1994
- Παππιάς Χ., «*Μελέτη της αποδόμησης υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά κατά τη συντήρηση σε διαφορετικές συνθήκες*», Αθήνα 2002
- Τζιά Κ., Τσιαπούρης Α., *Ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου στη βιομηχανία τροφίμων*, Παπασωτηρίου, Αθήνα 1996
- Τριχοπούλου Α.-Βασιλάκου Τ., *Διαθεσιμότητα τροφίμων στην Ελλάδα κατ' άτομο*, Εθνικό Κέντρο Διατροφής Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας, Ελληνική Εταιρία Διατροφής και Τροφίμων, Αθήνα 1995
- Belanger A., *Residues of azinphosmethyl, cypermethrin, benomyl and chlorotalonil in monarda and peppermint oil*. Kisgeci,-J., International Society for Horticultural Science, Wageningen 1989
- Brotons M., Barba A., Escribano J., *Residues of organophosphoric insecticides in citrus fruits for exportation*, Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas v.12(1) 1986
- Brown C., White J., Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 1969
- Cabras P., Angioni A., Garau V., Minelli E., Cabitza F., Cubeddu M., *Pesticide residues in plums from field treatment to the drying process*, Italian Journal of Food Science, v.10(1), Italy 1998

Cabras P., Garau V., Melis M., Pirisi F., Spanedda L., Cabitza F., Cubeddu M., *Persistence of some organophosphorus insecticides in orange fruit*, Italian Journal of Food Science, 7(3) 1995

Calamari-D. Vighi M., *Scientific bases for the assessment of toxic potential of several chemical substances in combination at low level*, EEC contract B 6612-90-001297, Milan 1991

Calumpang S., Tejada A., Magallona E., *Photodecomposition of insecticide formulations using a sunlamp (Philippines)*, Univ. of the Philippines at Los Banos College, Laguna 1985

Campos S., Saini D., Sazo R., "Phosmet and ethyl-methyl Azinphos residues on three cultivars of table grapes for exportation" Santiago 1982

Carson R., *Silent Spring* Houghton Mifflin, Cambridge, 1962

Chapra F.-Boyer J., *Fate of pollutants*, J. Water-Pollut. Control-Fed., 1989

(Ciudad & Gonzalez, *Pesticides in export fruits*, Investigacion y Progreso Agropecuario la Platina 1989)

Duso C., Sbrissa F., Strapazzon A., Consalter A., Guzzo V., *Experiments on the residue degradation of azinphos-methyl and chlorpyrifos-methyl on apples, peaches and nectarines in Veneto region, Italy*, Difesa delle Piante 1992

El-Hadidi F., Zabik M., Cash J., Siddiq M., Wandan E., Jones A., *Pesticide residues in fresh and processed apple product*, IFT annual meeting: book of abstracts 1996

Elkins E., *Effect of commercial processing on pesticide residues in selected fruits and vegetables*, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72(3) 1989

Farris G., Cabras P., Spanedda L., *Pesticide residues in food processing*, Italian Journal of Food Science, 1992

Ferreira J., Falcao M., Tainha A., *Residues of dimethoate and omethoate in peaches and apples following repeated application of dimethoate*, Journal of agricultural and food chemistry (USA), v.35(4), 1987

Frank R., Braun H., Ripley B., Pitblado R., *Residues of nine insecticide and two fungicides in raw and processed tomatoes* Journal of Food Protection 1991 196

Gallo M.-Lawryk N., *Organic phosphorus pesticides. In Handbook of Pesticide Toxicology*, New York 1991

Gazea & Calvarano, *Determination of organophosphorus pesticide residues in fruits*, Fresenius-Environmental-Bulletin 1998

Gomaa H. et al., *Residue Reviews* 1969

Gozek K., Yucel U., Ilim M., Aysal P., Tuncbilek A., *14C-dimethoate residues in olive oil during oil processing*, *Journal of Environmental Science and Health, part B (USA)* 1999

Harvey J., *Pesticide Metabolism in Plants. Analytical methods for Pesticides and Plant Growth Regulators*, Gunter Zweig and Joseph Sherma vol.15, 1986

Hasan H., *Fungal utilization of organophosphate pesticides and their degradation by Aspergillus flavus and A. sydowii in soil*, *Univ. Assiut. Folia-Microbiol.* 1999

Higgins I. & Burns R., *The Chemistry and Microbiology of pollution*, Academic Press, London 1975

Holland P., Hamilton D., Ohlin B., Skidmore M., *Pesticides report 31: Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products*, *Pure & Appl. Chem.* 2, 1994

Howard P., *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals* vol.3: Pesticides, Lewis Publishers, Chelsea MI 1991

Khair J., Deth M., *Processing for reduction of dimethoate residues from brinjal fruit*, *J. of Maharashtra Agric. Universities* 1983

Kovacs M., *Regulatory aspects of bound residues (chemistry)*, *residue rev.* 97, 1986

Krieger R., Thongsinthusak T., *Metabolism and excretion of dimethoate following ingestion of overtolerance peas and a bolus dose*, *Food and Chemical Toxicology*, vol.31, Washington 1993

Landlie J. S., W. F. Meggit, D. Penner, *Weed Science* 1976

Lartiges S.-Garrigues P., *Degradation kinetics of organophosphorous and organonitrogen pesticides in different waters under various environmental conditions*, *Univ. Bordeaux*, 1995

Maddy K., *Agricultural Ecosystems and Environment* 1983

Magallona E., Tejada A., Celino L., *Application of the modeling approach in pesticide residue data generation to field beans*, *College Laguna* 1982

Maul F., Sargent S., Sims C., Baldwin E., Bataban M., Huber D., *Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature*, *J. of Food Sci.* 65(7), 2000

Minelli E., Angioni A., Cabras P., Garau V., Melis M., Pirisi F., Cabitza F., Cubeddu M., *Persistence of some pesticides in peach fruit*, *Italian Journal of Food Science*, 8(1), 1996

Morgan P., *Recognitions and Management of Pesticides Poisonings*, EPA, Washington 1982

Mulla M., Mian L., Kawecki J., *Distribution, transport and fate of the insecticides malathion and parathion in the environment*, Residue Reviews 1981

Papadopoulou–Mourkidou E., *Postharvest-applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables*, Journal of the Association of Official Analytical Chemists 1991

Petersen B., Tomerlin J., Barraaj L., *Pesticide degradation: exceptions to the rule*, Food Technology 1996

Pinochet B., *Degradation of insecticides [Diazinon, Chlorpyrifos, Azinphosmethyl] and acaricides [propargite] in peaches and nectarines for export*, Santiago 1991

Roberts & Caserio, *Basic principles of organic chemistry*, W.A. Benjamin Inc. New York 1964

Royer A., Menand M., Grimault A., Communal P., *Development of automated headspace gas chromatography determination of dithiocarbamates in plant matrixes*, J. Agric. Food Chem. 49, 2001

Sanz–Asensio J., Plaza-Medina M., Martinez-Soria T., *Kinetic study of the degradation of ethionfencarb in aqueous solutions*, Pestic. Sci. 1997

Sengalerich G., *Reduction of pesticide residues in fruits*, Oroshcharstro 1974

Spencer J., Sanborn J., Hernandez B., Krieger R., Margetich S., Schneider F., *Long vs. short monitoring intervals for peach harvesters exposed to foliar azinphos-methyl residues*, Toxicology Letters (Netherlands) v.78(1) 1995

Weddle P., *Pesticide-free tree fruit crops. Can we meet consumer demands?* In Pesticide residues and food safety, ACS Symposium Series 1991

Wen Kuo Ching, Shimamoto Takamitsu, Nishihara Tsutomu, Kondo Masaoni, *Behavior of pesticides during cooking treatments, II. Food Samples*, Eisei Kagaku 1985

Woodham D., *Residues of dimethoate and its oxygen analog on and citrus leaves*, J. Agric. Food Chem. 1974

Youngman R., Toscano N., Gaston L., *Degradation of methyl parathion to p-nitrophenol on cotton and lettuce leaves and its effects on plant growth*, Journal of economic entomology (USA) 1989

Zabik M., El-Hadidi M., Cash J., Zabik M., Jones A., *Reduction of azinphos-methyl, chlorpyrifos, esfenvalerate and methomyl residues in processed apples*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(9) 2000

Zafeiriou A., *Organophosphorus insecticides residues in peach fruits, in relation to time after treatment*, Chronika-Benaki-Phytopathological-Institute (Greece) v.14(2), 1985

Zareh N.–Morse J., *Influence of temperature and life stage in monitoring for pesticide resistance in citrus thrips with residual bioassays*, Journal of economic entomology (USA), v.82(2), 1989

Παράρτημα

Πίνακας 9: Το ημερολόγιο ενός καλλιεργητή μήλων στην Αγιά Λάρισας

Ημερομηνία	Φυτοφάρμακο	Δραστική ουσία	%	Δοσολογία	Παρατηρήσεις
30/3	Χελλαπόλ	<i>Parathion+Ορυκτέλαιο</i>	3/65,6	20/1000	
	Poltiglia	<i>Χαλκός (βορδιγάλειος)</i>	20	4/1000	
9/4	Delan	<i>dithianon</i>	75	750g/1000	
16/4	M45+	<i>Mancozeb</i>		2,5/1500	
	Systhane	<i>Myclobutanil</i>	12	550g/1500	
24/4	Apollo	<i>Clogentezine</i>	50	300/100	
	+Sun oil 11 E	<i>παραφινέλαιο</i>	98,8	2/1000	
25/4	Rimidin	<i>fenarimol</i>	6	800g/1000	
2/5	Punch	<i>Flusilazol</i>	40	50g/1000	
13/5	Systhane	<i>Myclobutanil</i>	12	400/1000	
17/5	Punch	<i>Flusilazol</i>	40	50/100	
28/5	Danitol	<i>Fenpropathrin</i>	10	2100/1500	
31/5	Punch	<i>flusilazol</i>	40	50/1000	
18/6	Folimat	<i>omethoate</i>	50	2,5/1500	
28/6	Masai	<i>Tebufenpyrad</i>	20	12/1500	
9/7	Ασβέστιο	<i>ασβέστιο</i>		4/1000	
11/7	Gusathion A	<i>Azinphos ethyl</i>	40	2,3/1500	
27/7	Alar	<i>Daminozide</i>	85	4/1000	
29/7	CaO	<i>ασβέστιο</i>		2/1000	
5/8	Talstar	<i>Bifethrin</i>	10	650/1500	
13/8	Kelthane	<i>Dicofol</i>	42	2/1000X	
21/8	Semiphos			4/1000X	
28/8	Apponon	<i>α-naphthyl acetic acid</i>	1	X	
2-3/9	Rubinol	<i>Parathion methyl</i>	40	2/1500	
3/9	+Biophol Cao	<i>+ασβέστιο</i>		3/1500	
16/9	Neotopsin	<i>Thiophanate methyl</i>	70		

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 10: Αποτελέσματα των συγκεντρώσεων υπολειμμάτων *azinphos ethyl* στα μήλα συντηρούμενα σε συνθήκες δωματίου

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	2,31	2,25	2,37	2,31	0,04	1,73
6	2,16	2,3	1,95	2,14	0,12	5,82
17	1,85	1,93	1,98	1,92	0,05	2,43
33	1,44	1,51	1,53	1,49	0,04	2,38
45	1,46	1,5	1,47	1,48	0,02	1,05
65	1,17	1,23	1,22	1,21	0,02	2,03
83	1,05	1,12	1,01	1,06	0,04	3,77
107	0,82	0,85	0,8	0,82	0,02	2,16
131	0,58	0,63	0,66	0,62	0,03	4,63
156	0,69	0,64	0,66	0,66	0,02	2,68

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 11: Αποτελέσματα των συγκεντρώσεων υπολειμμάτων *azinphos ethyl* στα ψεκασμένα μήλα που συντηρήθηκαν σε ψυγείο

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	2,31	2,25	2,37	2,31	0,04	1,92
13	2,21	2,24	2,25	2,23	0,02	0,7
23	2,15	2,18	2,11	2,15	0,02	1,14
43	1,77	1,88	1,91	1,85	0,06	3
73	1,71	1,8	1,73	1,75	0,04	2,04
98	1,22	1,25	1,33	1,27	0,04	3,33
128	1,01	0,97	1,1	1,03	0,05	4,76
158	0,85	0,93	0,94	0,91	0,04	4,17
188	0,77	0,86	0,83	0,82	0,03	4,07
219	1,05	0,98	0,99	1,01	0,03	2,87

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 12: Αποτελέσματα των συγκεντρώσεων υπολειμμάτων *azinphos ethyl* στα μήλα ψυγείου με ελεγχόμενες ατμόσφαιρες

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική απόκλιση %	τυπική
1	2,31	2,25	2,37	2,31	0,04	1,73	
17	2,12	2,22	2,24	2,19	0,05	2,23	
45	1,88	1,91	1,96	1,92	0,03	1,51	
75	1,03	1,15	1,23	1,14	0,07	6,26	
107	0,94	1,05	0,96	0,98	0,04	4,52	
134	0,84	0,76	0,73	0,78	0,04	5,44	
149	0,76	0,79	0,71	0,75	0,03	3,83	
165	0,68	0,66	0,72	0,69	0,02	3,24	
180	0,65	0,67	0,68	0,67	0,01	1,67	

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 13: Αποτελέσματα υπολειμμάτων του *parathion methyl* σε μήλα πάνω στα δέντρα

Ημέρες	Δείγμα 1 (mg/kg)	Δείγμα 2 (mg/kg)	Δείγμα 3 (mg/kg)	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	1,96	2	2,02	1,99	0,02	1,11
3	1,93	1,96	1,92	1,94	0,02	0,8
10	0,93	0,98	0,97	0,96	0,02	2,08
13	0,79	0,84	0,86	0,83	0,03	3,21
17	0,48	0,52	0,53	0,51	0,02	3,92
23	0,19	0,23	0,24	0,22	0,02	9,09

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 14: Αποτελέσματα υπολειμμάτων του *parathion methyl* σε μήλα που συντηρήθηκαν στο ψυγείο

Ημέρες	Δείγμα 1 (mg/kg)	Δείγμα 2 (mg/kg)	Δείγμα 3 (mg/kg)	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
3	1,94	1,98	1,97	1,96	0,02	0,79
10	1,87	1,9	1,91	1,89	0,02	0,82
21	1,6	1,63	1,67	1,63	0,02	1,5
42	1,54	1,61	1,6	1,58	0,03	1,82
61	1,41	1,4	1,44	1,42	0,02	1,1
92	1	0,96	0,99	0,98	0,02	1,58
122	0,57	0,6	0,65	0,61	0,03	4,76
152	0,41	0,47	0,48	0,45	0,03	6,37
182	0,35	0,38	0,34	0,36	0,02	4,36
213	0,24	0,27	0,25	0,25	0,01	4,39

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 15: Αποτελέσματα υπολειμμάτων του *parathion methyl* σε λεμόνια πάνω στα δέντρα

Ημέρες	Δείγμα 1 (mg/kg)	Δείγμα 2 (mg/kg)	Δείγμα 3 (mg/kg)	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
1	2,15	2,14	2,1	2,13	0,02	0,94
5	1,17	1,21	1,23	1,2	0,02	1,85
9	0,58	0,49	0,55	0,54	0,03	6,17
13	0,28	0,31	0,32	0,3	0,02	5,13
17	0,25	0,24	0,22	0,24	0,01	4,69
23	0,08	0,07	0,065	0,07	0,01	7,75

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 16: Αποτελέσματα υπολειμμάτων του *parathion methyl* σε λεμόνια συντηρούμενα στο ψυγείο

Ημέρες	Δείγμα 1 (mg/kg)	Δείγμα 2 (mg/kg)	Δείγμα 3 (mg/kg)	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική απόκλιση %	τυπική
1	2,1	2,15	2,12	2,12	0,02	0,84	
10	1,63	1,68	1,64	1,65	0,02	1,21	
21	1,51	1,54	1,53	1,53	0,01	0,73	
45	1,28	1,29	1,31	1,29	0,01	0,86	
65	1,09	1,13	1,14	1,12	0,02	1,79	
98	0,65	0,68	0,69	0,67	0,02	2,31	
128	0,47	0,51	0,5	0,49	0,02	3,15	
157	0,46	0,47	0,43	0,45	0,02	3,43	

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 17: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες θερμοκηπίου

Ημέρες	Δείγμα 1 (mg/kg)	Δείγμα 2 (mg/kg)	Δείγμα 3 (mg/kg)	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
0	0,721	0,736	0,726	0,728	0,01	0,76
1	0,728	0,731	0,715	0,725	0,01	0,89
2	0,695	0,718	0,743	0,719	0,02	2,26
3	0,528	0,504	0,518	0,517	0,01	1,63
5	0,357	0,335	0,311	0,334	0,02	4,65
10	0,355	0,331	0,311	0,332	0,02	4,55
13	0,342	0,382	0,39	0,371	0,02	5,27
17	0,15	0,169	0,158	0,159	0,01	4,19
24	0,114	0,105	0,094	0,104	0,01	6,60
31	0,04	0,052	0,051	0,048	0,01	10,72

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 18: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες αποθηκευμένες στο ψυγείο

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
0	0,863	0,852	0,841	0,852	0,01	0,86
2	0,753	0,812	0,83	0,798	0,03	3,79
4	0,84	0,784	0,846	0,823	0,03	3,18
8	0,796	0,808	0,81	0,805	0,01	0,72
10	0,71	0,702	0,724	0,712	0,01	1,12
14	0,695	0,753	0,716	0,721	0,02	2,93
21	0,678	0,725	0,729	0,711	0,02	3,06
29	0,651	0,644	0,617	0,637	0,01	2,13
37	0,589	0,594	0,685	0,623	0,04	6,67

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 19: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες τουρσί

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
0	0,692	0,673	0,681	0,682	0,01	0,98
5	0,654	0,663	0,687	0,668	0,01	1,90
9	0,51	0,539	0,515	0,521	0,01	2,26
13	0,452	0,486	0,494	0,477	0,02	3,54
18	0,485	0,529	0,498	0,504	0,02	3,31
26	0,378	0,445	0,425	0,416	0,03	6,09
34	0,322	0,34	0,365	0,342	0,02	4,41
40	0,357	0,338	0,369	0,355	0,01	3,13

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 20: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στον τοματοχυμό από ψεκασμένες και συντηρημένες τομάτες στο ψυγείο σε κλειστά βάζα στους 4°C

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
0	0,298	0,325	0,31	0,311	0,01	3,00
3	0,321	0,272	0,286	0,293	0,02	6,37
7	0,279	0,273	0,301	0,284	0,01	3,91
13	0,279	0,293	0,268	0,280	0,01	3,10
20	0,259	0,291	0,245	0,265	0,02	6,54
28	0,247	0,238	0,214	0,233	0,01	5,44
35	0,241	0,234	0,21	0,228	0,01	5,35
42	0,248	0,241	0,216	0,235	0,01	5,39

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 21: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στις τομάτες ψυγείου μετά από πλύσιμο

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
0	0,162	0,189	0,182	0,178	0,01	5,88
2	0,261	0,296	0,273	0,277	0,01	4,66
6	0,342	0,312	0,293	0,316	0,02	5,56
10	0,402	0,371	0,422	0,398	0,02	4,57
15	0,434	0,448	0,432	0,438	0,01	1,52
19	0,312	0,31	0,29	0,304	0,01	3,07

Πηγή: Παππάς, 2002

Πίνακας 22: Αποτελέσματα υπολειμμάτων *chlorpyrifos methyl* στην άλμη όπου συντηρούνταν το τουρσί

Ημέρες	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Μέσος όρος (mg/kg)	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
5	0,028	0,024	0,025	0,026	0,02	6,1
9	0,027	0,033	0,031	0,030	0,02	7,3
13	0,028	0,031	0,026	0,028	0,02	6,3
26	0,03	0,026	0,029	0,028	0,02	5,5
34	0,025	0,028	0,029	0,027	0,02	5,7
40	0,028	0,023	0,025	0,025	0,02	7

Πηγή: Παππάς, 2002

Συντομογραφίες

ADI: *Acceptable Daily Intake* - Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη

EBDCs: *ethylene-bis-dithiocarbamates* - Αιθυλεν-bis-διθειοκαρβαμιδικά άλατα

ETU: *ethylenethiourea* - Αιθυλενοθειουρία

EPA: *Environmental Protection Agency* – Κέντρο Προστασίας Περιβάλλοντος

FAO: *Food Agricultural Organization* – Παγκόσμια Οργάνωση Τροφίμων

FDA: *Food and Drug Administration* – Οργανισμός Διαχείρισης Τροφίμων και Φαρμάκων στις ΗΠΑ

GC: *Gas Chromatography* – Αέρια Χρωματογραφία

HACCP: *Hazard Analysis Critical Control Points* - Ανάλυση Επικινδυνότητας στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography* – Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Επίδοσης

MRLs: *Maximum Residue Limits* – Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων

MRMs: *multiresidue methods* - πολυ-υπολειμματικές μέθοδοι

ΟΓΠ: Ορθή Γεωργική Πρακτική

ΟΦΕ: Οργανοφωσφορικοί Εστέρες

SRMs: απλές υπολειμματικές μέθοδοι