



ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Προσδιορισμός υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών
φυτοφαρμάκων σε πορτοκάλια και ροδάκινα με την
μέθοδο ισοοκτανίου σε αέριο χρωματογράφο με
φωτομετρικό ανιχνευτή φλόγας (GC- FPD)**

Μπόμπα Αναστασία

Θεσσαλονίκη 2012

**Προσδιορισμός υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων
σε πορτοκάλια και ροδάκινα με την μέθοδο ισοκτανίου σε αέριο
χρωματογράφο με φωτομετρικό ανιχνευτή φλόγας (GC- FPD)**

Μπόμπα Αναστασία

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ),
Σχολή ΣΤΕΤΡΟ-Δ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων,
57400 ΤΘ 141, Θεσσαλονίκη

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την
απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ
Θεσσαλονίκης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον καθηγητή της σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Δρ. Ζώτο Αναστάσιο για τις πολύτιμες συμβουλές του και τη βοήθεια της διεκπεραίωσης της εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον προϊστάμενο του εργαστηρίου αναλύσεων τροφίμων της εταιρίας AGROLAB κο. Καϊδατζή Ιωάννη για τις συμβουλές και την υπομονή του κατά την διάρκεια του πειραματικού μέρους της πτυχιακής εργασίας, καθώς και τους συναδέλφους της εταιρίας AGROLAB για την πολύτιμη βοήθειά τους και συνεργασία τους στην διάρκεια της πρακτικής μου άσκησης.

Προσδιορισμός υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων σε πορτοκάλια και ροδάκινα με την μέθοδο ισοοκτανίου σε αέριο χρωματογράφο με φωτομετρικό ανιχνευτή φλόγας (GC- FPD).

Μπόμπα Αναστασία

Περίληψη

Τα διθειοκαρβαμιδικά (DTCs) αντιπροσωπεύουν μια σημαντική κατηγορία φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιείται ευρέως στη γεωργία. Δεν είναι εξαιρετικά τοξικά, όμως η τοξικότητά τους αυξάνεται με την παρουσία βαρέων μετάλλων στο μώριο. Βραχυχρόνια έκθεση σε διθειοκαρβαμιδικά μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό ενώ μακροχρόνια έκθεση μπορεί να προκαλέσει μέχρι και δερματίτιδα. Ως δείγματα για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων χρησιμοποιήθηκαν πορτοκάλια και ροδάκινα συμβατικής γεωργίας. Ο προσδιορισμός τους έγινε με την μέθοδο του ισοοκτανίου. Οι αναλύσεις έγιναν το 2010 κατά τους μήνες Απρίλιο μέχρι Σεπτέμβριο σε εργαστήριο αναλύσεων φυτοφαρμάκων. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων εκφράστηκαν σε ποσότητα εκχυλίσμου διθειάνθρακα (CS₂). Σε αντιπροσωπευτικό δείγμα του κάθε φρούτου προστέθηκε διάλυμα χλωριούχου κασσιτέρου και υδροχλωρικού οξέος, προκαλώντας μετά από θέρμανση την μετατροπή οποιουδήποτε υπολείμματος φυτοφαρμάκου σε διθειάνθρακα (CS₂), ο οποίος τελικά εκχυλίστηκε, δεσμεύτηκε και διαχωρίστηκε με ισοοκτάνιο (υπερκείμενη στοιβάδα). Ποσότητα από την υπερκείμενη στοιβάδα αναλύθηκε σε αέριο χρωματογράφο με φωτομετρικό ανιχνευτή φλόγας.

Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού της μεθόδου καθορίστηκαν στα 0,2 mg/kg, αφού μικρότερες ποσότητες δεν είναι ανιχνεύσιμες με την συγκεκριμένη μέθοδο. Τα όρια αυτά έχουν υπολογιστεί με πειραματικά δεδομένα βάση της ανάκτησης και της επαναληψιμότητας.

Η ποσότητα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων διαφέρει ανάλογα με το είδος και την ευαισθησία του κάθε τροφίμου, τις συνθήκες και τον τόπο παραγωγής. Περισσότερο ευαίσθητα τρόφιμα παρουσιάζουν μεγαλύτερες ποσότητες υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, συχνά πολύ κοντά στα επιτρεπόμενα όρια. Ωστόσο, παρατηρήθηκε προσεγμένη χρήση φυτοφαρμάκων, αφού οι αναλύσεις έδειξαν μικρά ποσοστά υπολειμμάτων. Ειδικότερα, δεν εμφανίστηκε ανιχνεύσιμη ποσότητα

διθειάνθρακα, σε επτά (7) δείγματα πορτοκαλιού με ποσότητες 0,15, 0,13, 0,16, 0,18, 0,19, 0,19 και 0,19, και σε έξι (6) δείγματα ροδάκινου με ποσότητες 0,17, 0,17, 0,19, 0,15, 0,13 και 0,19, που δεν ποσοτικοποιήθηκαν στο όριο αναφοράς της μεθόδου, σε ένα (1) δείγμα πορτοκαλιού και ένα (1) ροδάκινου η ανιχνεύσιμη ποσότητα βρέθηκε αρκετά κοντά στο όριο (0,28 και 0,24 αντίστοιχα), αλλά τελικά απαγορευτική για να είναι το τρόφιμο κατάλληλο για κατανάλωση και ποσότητες πολύ πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια παρουσιάστηκαν σε δύο (2) δείγματα πορτοκαλιού (ποσότητα διθειάνθρακα 0,52 και 0,39) και τρία (3) ροδάκινου (ποσότητα διθειάνθρακα και 0,39, 0,34, 0,63) καθιστώντας τα ακατάλληλα προς κατανάλωση σύμφωνα με την νομοθεσία.

Προσπάθειες γίνονται για περιορισμό της χρήσης των φυτοφαρμάκων με σωστή και λογική χρήση και με συνεχείς νομοθεσίες για επανακαθορισμό των ελάχιστων ορίων.

Περιεχόμενα

1.	Εισαγωγή.....	1
2.	Βιβλιογραφική Ανασκόπηση.....	2
2.1.	Χρήση φυτοφαρμάκων.....	2
2.1.1.	Ωφέλειες.....	2
2.1.2.	Κίνδυνοι.....	2
2.2.	Στον αγρό.....	3
2.3.	Κατηγορίες Φυτοφαρμάκων.....	4
2.4.	Προσδιορισμός Υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά..	7
2.5.	Υπολείμματα Φυτοφαρμάκων και Νομοθεσία.....	9
2.6.	Διθειοκαρβαμιδικά.....	13
2.6.1.	Ανάλυση φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία.....	16
3.	Σκοπός.....	19
4.	Πειραματική Διαδικασία.....	20
4.1.	Αρχή της μεθόδου.....	20
4.2.	Υλικά και μέθοδοι.....	25
4.2.1.	Δείγματα.....	25
4.2.2.	Εξοπλισμός.....	25
4.2.3.	Αντιδραστήρια.....	26
4.3.	Διαδικασία.....	27
4.3.1.	Προετοιμασία διαλυμάτων- Καμπύλη γραμμικότητας.....	27
4.3.1.1.	Διάλυμα εργασίας διθειάνθρακα CS ₂	27
4.3.1.2.	Διάλυμα βαθμονόμησης CS ₂	27
4.3.1.3.	Διάλυμα υδρόλυσης χλωριούχου κασσίτερου σε υδροχλωρικό οξύ.....	27
4.3.2.	Καμπύλη Γραμμικότητας.....	27
4.4.	Προετοιμασία δειγμάτων και εκχύλιση.....	30
4.4.1.	Προετοιμασία δειγμάτων.....	30
4.4.2.	Συνθήκες GC.....	32
5.	Αποτελέσματα – συζήτηση.....	33
5.1.	Χρωματογραφική ανάλυση δειγμάτων.....	33
5.2.	Ανακτήσεις- Εμβολιασμός δείγματος.....	37
5.3.	Απόβλητα.....	41
6.	Συμπεράσματα.....	41
7.	Βιβλιογραφία.....	42

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με την ονομασία φυτοφάρμακα ή γεωργικά φάρμακα έχει επικρατήσει να ονομάζονται συλλογικά οι τοξικές εκείνες ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των εχθρών των φυτών. Εχθροί των φυτών μπορεί να είναι έντομα, ποντίκια, και άλλα ζώα, ανεπιθύμητα φυτά (αγριόχορτα), ή μικροοργανισμοί, όπως μύκητες, βακτήρια και ιοί. Οι όροι γεωργικό φάρμακο και φυτοφάρμακο που χρησιμοποιήθηκαν παλιότερα έχουν αντικατασταθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση με τη χρησιμοποίηση πλέον του όρου φυτοπροστατευτικά προϊόντα (Ιατρού, 2009).

Κατά την διάρκεια της ιστορίας του ο άνθρωπος χρησιμοποίησε τις αυξανόμενες τεχνολογικές του γνώσεις στον αγώνα του εναντίον των εχθρών και των ασθενειών.

Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, άρχισαν να χρησιμοποιούνται χημικές ουσίες φυτοπροστασίας, κυρίως ανόργανες ύλες (πολυθειούχες ενώσεις, παράγωγα του θείου, αρσενικούχα παράγωγα και ενώσεις μετάλλων όπως μόλυβδος, χαλκός, υδράργυρος). Επιπροσθέτως, χρησιμοποιήθηκαν ουσίες από φυσικές πηγές (νικοτίνη, πύρεθρο, Derris, Quassia, υπολείμματα απόσταξης ανθρακόπισσας).

Όλα τα ανωτέρω δεν παρουσίασαν καμία ουσιαστική πρόοδο μέχρι τον Β' Παγκόσμιο Πόλεμο. Τότε έγιναν τρεις μεγάλες ανακαλύψεις,

- i. η σύνθεση του εντομοκτόνου διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (*DDT*, *dichlorodiphenyltrichloroethane*),
- ii. η ανακάλυψη των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων και
- iii. η σύνθεση των εκλεκτικών φαινοξυξικών ζιζανιοκτόνων [πχ *2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4D)* και *2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA)*] (Green, 1999). Στις μέρες μας μια μεγάλη γκάμα φυτοπροστατευτικών ουσιών έχουν διαπιστωθεί και χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της παραγωγής των φυτικών προϊόντων, όπως οργανοχλωριωμένες ουσίες και οργανοφωσφορικοί εστέρες (κυρίως ως εντομοκτόνα), καρβαμιδικές ουσίες (πολλαπλή δράση) και χλωροφαινοξυξεία (ως ζιζανιοκτόνα).

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Χρήση φυτοφαρμάκων.

2.1.1. Ωφέλειες

Στις μέρες μας, οι απαιτήσεις του καταναλωτή είναι αυξημένες για σταθερή ποιότητα και εμφάνιση σε όλες τις τροφές, κάτι που 50 χρόνια πριν ήταν αδιανόητο. Έτσι, η καλή εμφάνιση και η απουσία οποιασδήποτε βλάβης ή στίγματος που σημαίνει μηδενική προσβολή εντόμων και μυκήτων είναι σημαντική προϋπόθεση για τον παραγωγό, η οποία επιτυγχάνεται με την εντατική χρήση φυτοφαρμάκων.

Εάν η χρήση των φυτοφαρμάκων γίνεται σωστά, έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν μια πολύ επικερδή επένδυση. Με ελάχιστα έξοδα για αγορά φυτοφαρμάκων, εμφανίζεται αύξηση στην αξία παραγωγής. Η επιπλέον αξία της παραγωγής που επιτυγχάνεται με την χρήση φυτοφαρμάκων διαφέρει από καλλιέργεια σε καλλιέργεια και από περιοχή σε περιοχή, και εξαρτάται από την ικανότητα και την αποτελεσματικότητα με την οποία ο παραγωγός χρησιμοποιεί τις μεθόδους φυτοπροστασίας. Γενικά, η χρήση φυτοφαρμάκων έχει αποδειχθεί πολύ επικερδής τόσο για τον αγρότη όσο και για τον καταναλωτή (Green, 1999).

2.1.2. Κίνδυνοι

Όλα αυτά τα χημικά προϊόντα αναπτύχθηκαν με σκοπό να είναι τοξικά για μερικούς ζωντανούς οργανισμούς. Όμως λόγω μιας βιολογικής ομοιότητας όλων των μορφών της ζωής, οποιαδήποτε τυχαία κατάποση ή εισπνοή των φυτοφαρμάκων από ανθρώπους ή ζώα, ιδιαίτερα αν αυτά είναι δηλητηριώδη, μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητα αποτελέσματα. Έτσι, αυτοί που χρησιμοποιούν, χειρίζονται ή έρχονται σε επαφή με φυτοφάρμακα έρχονται αντιμέτωποι με πολλούς κινδύνους για την υγεία τους. Τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται σε εδώδιμα φυτά ή σε φυτά που παράγουν εδώδιμα προϊόντα. Υπάρχει λοιπόν πιθανότητα να παραμείνουν ελάχιστα υπολείμματα έως τον χρόνο που θα καταναλωθούν από τον καταναλωτή, και να βλάψουν την υγεία του είτε άμεσα, είτε μακροχρόνια. Εκτός αυτού, τα φυτοφάρμακα ψεκάζονται σε μεγάλες εκτάσεις με αποτέλεσμα να μεταφέρεται με τον αέρα και να συσσωρεύεται στην ατμόσφαιρα. Αυτά τα υπολείμματα είναι δυνατόν να είναι επικίνδυνα σε ωφέλιμα έντομα (πχ μέλισσες), σε ζώα και πτηνά που τρέφονται από τις καλλιέργειες ή σε οργανισμούς που ζουν μέσα στο έδαφος και επηρεάζουν εμμέσως τα ζώα και τα πτηνά που τρέφονται από αυτούς. Τα φυτοφάρμακα που

πέφτουν στο έδαφος είναι δυνατόν να εκπλυθούν με την βροχή και να μεταφερθούν με κίνδυνο μόλυνσης των λιμνών, των ποταμών, υδροβιότοπων, κόλπων επηρεάζοντας δυσμενώς τα αλιεύματα και τους λοιπούς υδρόβιους οργανισμούς. Όλα αυτά βέβαια, αποτελούν πιθανότητες.

Ο κίνδυνος πρέπει να εκτιμηθεί σε σύγκριση με τα οφέλη που προέρχονται από την χρήση των φυτοφαρμάκων. Τα φυτοφάρμακα λοιπόν χρησιμοποιούνται για την προστασία των καλλιεργειών, παράλληλα όμως με την προστασία της δημόσιας υγείας.

Για την πρόληψη και την σωστή χρήση φυτοφαρμάκων, οι κυβερνήσεις επιβάλλουν νόμους και κανονισμούς ελέγχου, για την προστασία του καταναλωτή και της κοινωνίας, ώστε να ελαχιστοποιούνται οι κίνδυνοι που φέρνει μαζί της κάθε νέα τεχνολογία, χωρίς να αποτρέπει βέβαια τις ωφέλειές της (Green, 1999).

2.2. Στον αγρό

Η ανάπτυξη των σύγχρονων φυτοφαρμάκων έδωσε στον αγρότη την δυνατότητα να αντιμετωπίσει έντομα και ασθένειες και να εισάγει νέες καλλιεργητικές τεχνικές που δεν ήταν δυνατόν να εφαρμοστούν νωρίτερα (πχ μονοκαλλιέργεια, πυκνή σπορά κλπ).

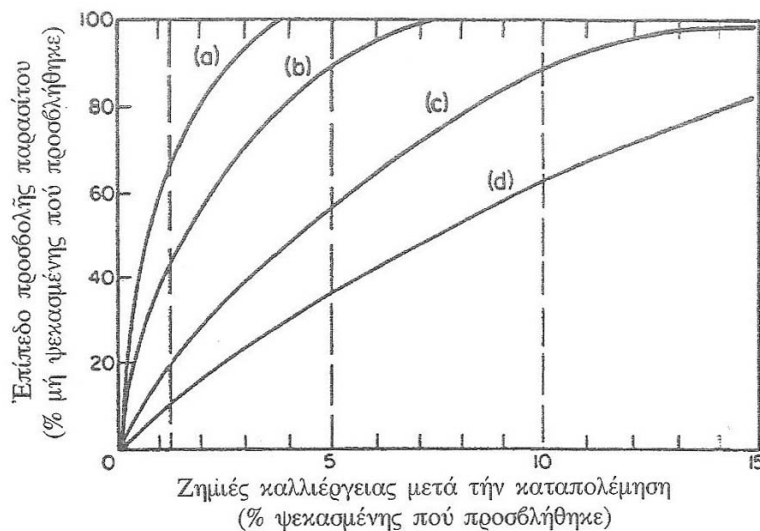
Για τον γεωργό, η προστασία της καλλιέργειάς του είναι επένδυση. Γίνεται η μελέτη κόστους- ωφέλειας, όπου υπολογίζει το κέρδος του από την καλλιέργεια σε σύγκριση με το κόστος των φυτοφαρμάκων.

Το μέγεθος της ζημιάς που μπορεί να γίνει αποδεκτό συνδέεται με την ελάχιστη ποσότητα φυτοφαρμάκου. Μια ζημιά μπορεί να προσδιοριστεί ως το % ποσοστό των μονάδων της καλλιέργειας που υπέστησαν ζημιά με το μέγεθος της ζημιάς σε κάθε προσβεβλημένη μονάδα. Στο Σχήμα 1 βλέπουμε τη συσχέτιση εκατοστιαίας αναλογίας των προσβεβλημένων μονάδων σε μια κανονικά ψεκασμένη καλλιέργεια, με το επίπεδο της προσβολής του παράσιτου και με την αποτελεσματικότητα της μεθόδου προστασίας (δόση φυτοφαρμάκου).

Η χρήση φυτοφαρμάκων έχει ως αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή τροφίμων στις ανεπτυγμένες χώρες και την πτώση των τιμών στον αγρότη ο οποίος πολλές φορές δεν είναι δυνατόν να πουλήσει καν την παραγωγή του.

Γίνονται προσπάθειες για την εκπαίδευση του αρχικού χρήστη (αγρότη) για την ορθή χρήση φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειές του, προτείνοντας όμως και

εναλλακτικές μεθόδους προστασίας, με σκοπό τη μείωση της χρήσης φυτοφαρμάκων. Από κει και πέρα, η πηγή οποιουδήποτε υπολείμματος φυτοφαρμάκου στις τροφές είναι η άγνοια του χρήστη και ο εξαναγκασμός του για οικονομικούς λόγους να διασφαλίσει την παραγωγή του (Green, 1999).



Σχήμα. 1 Συσχέτιση μεταξύ επιπέδου προσβολής του παρασίτου και αποτελεσματικότητας της προστασίας της καλλιέργειας μετά την καταπολέμηση.

2.3. Κατηγορίες Φυτοφαρμάκων

Οι σημαντικότερες ομάδες φυτοφαρμάκων είναι:

- Τα ζιζανιοκτόνα, που προστατεύουν τα φυτά από ζιζάνια
- Τα μυκητοκτόνα, για την καταστολή ανεπιθύμητων μυκήτων και
- Τα εντομοκτόνα, για προστασία από τα έντομα.

(Belitz et al, 2006)

Ανάλογα με την χημική τους δομή χωρίζονται σε τέσσερις βασικές ομάδες:

- Οργανοχλωριωμένες ενώσεις (δρουν κυρίως ως εντομοκτόνα)
- Οργανοφωσφορικοί εστέρες (δρουν κυρίως ως εντομοκτόνα)
- Καρβαμιδικές ενώσεις (εμφανίζουν πολλαπλή δράση)
- Χλωροφαινοξυοξέα (δρουν κυρίως ως ζιζανιοκτόνα)

(Καΐδατζής, 1998)

Τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται με διάφορες μορφές και με διάφορα μέσα: επίπαση σκόνης, καπνισμό, ψεκάσμο υγρού, άρδευση με αυλάκια ή κατάκλυση (Belitz et al., 2006). Ανάλογα με την χημική ομάδα που ανήκουν, διαφέρουν σημαντικά στον χρόνο παραμονής τους στο περιβάλλον.

Τα οργανοχλωριωμένα (DDT, BHC, OCP, Αλδρίνη, Ενδρίνη κλπ) παραμένουν επί μακρό χρονικό διάστημα στο περιβάλλον αφού μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας επηρεάζοντας πτηνά, ψάρια κτλ (Green, 1999). Η μέγιστη προσοχή δίνεται στους χλωριωμένους υδρογονάνθρακες γιατί είναι πολύ σταθεροί, διατηρούνται στο περιβάλλον, είναι λιποδιαλυτοί και έτσι αποθέτονται στον ανθρώπινο λιπώδη ιστό και στις λιπαρές ουσίες του ανθρώπινου γάλακτος (Belitz et al., 2006). Εξ' αιτίας όμως αυτής της σταθερότητας στο περιβάλλον, τα εντομοκτόνα αυτά απαγορεύτηκαν σε όλες τις ανεπτυγμένες χώρες και σε πολλές αναπτυσσόμενες από την δεκαετία του 1970. Στην χώρα μας τα βασικά οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα έχουν απαγορευτεί από το 1971-2. Τα οργανοχλωριωμένα (εκτός της ενδρίνης) εμφανίζουν μικρή τοξικότητα για τα θηλαστικά και τον άνθρωπο.

Τα οργανοφωσφορικά όπως το παραθειό, το μαλαθειό κτλ είναι πολύ λιγότερο σταθερά στο περιβάλλον, με μεγαλύτερη όμως οξεία τοξικότητα για τα θερμόαιμα και τον άνθρωπο. Όμως διασπώνται γρήγορα στη φύση λόγω φωτοχημικών οξειδώσεων από τους μικροοργανισμούς του εδάφους ή του νερού, κατά τον μεταβολισμό τους εντός του φυτού κτλ. Τα εντομοκτόνα αυτά, ενώ διασπώνται σχετικά γρήγορα στο περιβάλλον και δεν μεταφέρονται στις τροφικές αλυσίδες, είναι υπαίτια για χιλιάδες περιπτώσεις δηλητηριάσεων στον κόσμο, οι οποίες οδήγησαν σε εκατοντάδες ή χιλιάδες θανάτους (WHO- 1991) στις αναπτυσσόμενες χώρες. Οι θάνατοι αυτοί οφείλονταν καθ' ολοκληρία σε έλλειψη εκπαίδευσης των χρηστών (αγρότες), και στην διάθεση προϊόντων εξαιρετικά επικίνδυνων για την υγεία σε άτομα που δεν είχαν την κατάλληλη εκπαίδευση ούτε και κρίση για το τι είδους προϊόντα χειρίζονταν.

Τα πυρεθρινοειδή χαρακτηρίζονται από μεγάλη αποτελεσματικότητα, σε πολύ μικρές δόσεις εναντίον των εντόμων και από χαμηλή τοξικότητα για τα θερμόαιμα. Από άποψη περιβαλλοντικής ασφάλειας όμως είναι πολύ τοξικά για τα ωφέλιμα έντομα, τα ψάρια και τα αρθρόποδα των νερών. Έτσι, παρόλο που είναι από τα πλέον ασφαλή φυτοφάρμακα που διαθέτουμε ως προς την τοξικότητά τους για τα

θηλαστικά, εντούτοις προκαλούν σημαντικότερη βλάβη στα ωφέλιμα έντομα, τον μεγαλύτερο σύμμαχο για την προστασία των καλλιεργειών.

Τα ζιζανιοκτόνα, αποτελούν μεγάλη ομάδα φυτοφαρμάκων και περιλαμβάνουν χημικές ουσίες από διάφορες χημικές ομάδες όπως φαινοξυοξικά, τριαζίνες, ουρίες κτλ. Η τοξικότητά τους για τα θερμόαιμα εξαρτάται από το προϊόν και από την χημική ομάδα στην οποία ανήκουν. Υπάρχουν πολύ τοξικά ζιζανιοκτόνα όπως το Paraquat, ενώ άλλα διαθέτουν πολύ μικρή ως ελάχιστη τοξικότητα. Απεναντίας, η επίδραση τους στο περιβάλλον είναι σημαντική, με συνεχή καταστροφή της χλωρίδας σε μεγάλες εκτάσεις, στερεί από τα άγρια φυτοφάγα ζώα και τα πτηνά την τροφή και την περιοχή διαβίωσής τους (Green, 1999). Χωρίζονται σε ενώσεις με ευρεία (χλωριούχα, θειικό χαλκό, κυαναμίδιο του ασβεστίου, glyphosat και χλωριωμένα παράγωγα λιπαρών οξέων) ή εξειδικευμένη δραστηριότητα (ρυθμιστές ανάπτυξης, όπως αργυλοξυλιπαρά οξέα και παράγωγα ουσίας, τριαζίνες και πυριδίνες) (Belitz et al, 2006).

Χλωριοφθοριωμένοι υδρογονάνθρακες (CFC). Είναι χημικές ουσίες σταθερές, απολύτως αδρανείς και μη τοξικές. Όμως επηρεάζουν το στρώμα του όζοντος που περιβάλλει την ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα την αύξηση της τρύπας του όζοντος, ιδίως πάνω από τις πόλεις. Οι CFC μαζί με το διοξείδιο του άνθρακα και το μεθάνιο αποτελούν τα τρία αέρια που είναι υπαίτια για το φαινόμενο του θερμοκηπίου. Υπολογίζεται ότι οι CFC διατηρούνται στην στρατόσφαιρα πάνω από 100 χρόνια μετά την εξάλειψη της παραγωγής τους.

Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB). Εντοπίστηκαν το 1966 στην ατμόσφαιρα στη Βαλτική. Είχαν αρχίσει να χρησιμοποιούνται το 1930, οπότε και ανακαλύφθηκαν, στην βιομηχανία μονωτικών υλικών, βερνικιών κτλ. Τώρα είναι διασκορπισμένα σε όλη την ατμόσφαιρα. Αποτελούνται από πολλές κατηγορίες όπως πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (*polychlorinated dibenzofurans*, PCDFs), πολυχλωριωμένες διβενζο διοξίνες (*polychlorinated dibenzo-p-dioxins*, PCDD) ή διοξίνες κάθε μία των οποίων διαθέτει δεκάδες ισομερή. Η τοξικότητα διαφέρει σημαντικά από ισομερές σε ισομερές. Μερικά όμως από αυτά είναι εξαιρετικά τοξικά όπως η διοξίνη. Απαγορεύτηκαν το 1971 (Green, 1999).

Μυκητοκτόνα. Είναι ενώσεις με εκλεκτική τοξικότητα για τους μύκητες όχι μόνο των φυτών αλλά και του ανθρώπου. Οι περισσότερες ενώσεις αυτής της κατηγορίας περιέχουν θείο σε ποικίλες μορφές (Καιδατζής, 1998). Σημαντικά

μυκητοκτόνα, εκτός από τις ανόργανες ενώσεις (οξυχλωριούχος χαλκός, θείο, γαλάκτωμα θείου), είναι τα διθειοκαρβαμιδικά και οι οργανομεταλλικές ενώσεις. Υπολείμματα HCB και διθειοκαρβαμιδικών παρατηρούνται στα πράσινα λαχανικά και ιδιαίτερα στο μαρούλι (Belitz et al., 2006)

2.4. Προσδιορισμός Υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά

Τοξικολογικές μελέτες καθώς και μελέτες στον αγρό των ποσοτήτων των φυτοφαρμάκων που βρίσκονται στις καλλιέργειες είναι πλέον απαραίτητες. Στις μέρες μας ένα νέο φυτοφάρμακο υποβάλλεται σε εκτεταμένα ερευνητικά προγράμματα τοξικολογικών δοκιμασιών. Για την χορήγηση έγκρισης κυκλοφορίας ενός φυτοφαρμάκου, απαιτείται η χρήση μεθόδων χημικής ή φυσικοχημικής ανάλυσης, για την ανίχνευση 0,1 ppm σε κρέας, 0,01 ppm σε φυτικές τροφές και 0,005 ppm σε γάλα (Green, 1999).

Η χρήση των φυτοφαρμάκων, παρέχει αναμφισβήτητα οφέλη στην αύξηση της γεωργικής παραγωγής. Ωστόσο, μειονέκτημα είναι η παραμονή των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα φρούτα και τα λαχανικά, τα οποία αποτελούν πιθανό κίνδυνο για τους καταναλωτές. Αυτό, από τη μία, παρακινεί την θέσπιση των νομικών οδηγιών για τον έλεγχο των επιπέδων τους μέσω των ανώτατων ορίων υπολειμμάτων (MRLs), και από την άλλη, μια συνεχή αναζήτηση φυτοφαρμάκων λιγότερο ανθεκτικά και τοξικά για τον άνθρωπο. Το γεγονός αυτό έχει αυξήσει εξαιρετικά τον αριθμό των καταγεγραμμένων ή/ και συνισταμένων φυτοφαρμάκων και των αναλυτικών δυσκολιών για τον έλεγχό τους.

Κάθε χώρα διαθέτει κυβερνητικούς οργανισμούς, οι οποίοι παρακολουθούν τα υπολείμματα μέσα από δύο διαφορετικές αλλά συμπληρωματικές προσεγγίσεις, σε ακατέργαστα γεωργικά προϊόντα που μετρά τα επίπεδα σε μεμονωμένες παρτίδες για τον προσδιορισμό της συμμόρφωσης με τους νόμους, καθώς και συνολική μελέτη δίαιτας, στην οποία οι προσλήψεις των φυτοφαρμάκων προσδιορίζονται από την ανάλυση των φρούτων και λαχανικών που καταναλώνονται.

Οι μέθοδοι ανάλυσης χρειάζεται να παρουσιαστούν, να ποσοτικοποιηθούν και να επιβεβαιώσουν τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα φρούτα και τα λαχανικά και για την έρευνα και για τους ρυθμιστικούς σκοπούς. Προτιμούνται οι πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι (MRMs) για την ανάλυση των φυτοφαρμάκων, διότι

παρέχουν τη δυνατότητα προσδιορισμού διαφόρων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε μια μόνο ανάλυση.

Ο οργανισμός Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), τυποποίησε τις διεθνείς αναγνωρισμένες MRMs. Επιτρέπει τον καθορισμό πολλών υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά και περιλαμβάνει ένα υδατικό εκχύλισμα ακετόνης και επίπονο καθαρισμό. Τέτοιες μέθοδοι, γενικά, εφαρμόζουν ένα βήμα εκχύλισης με νερό αναμεμειγμένο με διαλύτη, ακολουθούμενο από ένα βήμα καθαρισμού, με οργανικό διαλύτη περιορισμένης χωρητικότητας νερού, για να επιτευχθεί η απομάκρυνση των προσμείξεων που υπάρχουν στο εκχυλίσσιμο δείγμα ή / και τον καθαρισμό της στερεάς φάσης με διοξείδιο του πυριτίου ή florisil. Τέλος, ο προσδιορισμός της προς ανάλυση ουσίας πραγματοποιείται με αέρια χρωματογραφία (GC) ή υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC) με επιλεκτικούς ανιχνευτές.

Οι μέθοδοι αυτές ανιχνεύουν περίπου 325 φυτοφάρμακα και παρασιτοκτόνα που σχετίζονται με χημικές ενώσεις και τα περισσότερα από αυτά έχουν υποστεί αυστηρές πολλαπλές εργαστηριακές μελέτες βαθμονόμησης, για να λάβουν την επίσημη αποδοχή από τον AOAC. Ωστόσο, η συνεχής χρήση τους παρουσιάζει ακόμη μειονεκτήματα, όπως (i) η αναποτελεσματικότητα ως μέθοδοι ανίχνευσης: Οι μέθοδοι αυτές είναι εξαιρετικά πολύπλοκες και δεν επιτρέπουν την παραγωγή των σχετικών δεδομένων στην ώρα τους για να αποτρέψουν μολυσμένα τρόφιμα να εισέλθουν στην αγορά, επειδή είναι χρονοβόρες και με μεγάλη ένταση εργασίας (ii) η ποσότητα των χημικών προϊόντων και των τοξικών διαλυτών που χρησιμοποιούνται: είναι συνήθως από κατά 108-1010 μεγαλύτερη από ότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που θα καθοριστούν (iii) επιπλέον, οι προσφάτως ανεπτυγμένες ομάδες φυτοφαρμάκων είναι κάθε φορά περισσότερο πολικές και/ ή θερμοαποικοδομήσιμες και θα πρέπει να ενσωματωθούν στις υπάρχουσες MRMs.

Για να αποφευχθούν τα γενικά μειονεκτήματα των κλασικών μεθόδων, κατά τα τελευταία έτη, σημαντική εξέλιξη σημειώθηκε στην εκχύλιση και τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά. Η κύρια προσοχή δίνεται στην απλούστευση, σμίκρυνση και βελτίωση του εκχυλίσματος και στις μεθόδους καθαρισμού με καθολικές διαδικασίες μικροεκχύλισης, εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) ή/ και καθαρισμού στερεάς φάσης (SPC) με σύριγγες για την αντικατάσταση εκχυλίσματος υγρού-υγρού (LLE), matrix διασπορά στερεάς φάσης (MSPD) και επιλεκτική εκχύλιση με υπερκρίσιμο υγρό (SFE). Ο προσδιορισμός των

υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων με GC χρησιμοποιώντας μικροκύματα που επιφέρουν πλάσμα (MIP)-ανιχνευτή ατομικής εκπομπής (AED), και παράλληλα φασματομετρία μάζας (MS-MS), και με HPLC, για τα θερμικά ασταθή ή/ και τα πολικά φυτοφάρμακα και τους μεταβολίτες, χρησιμοποιώντας χρωματογραφία ιόντων και ζευγών ιόντων, καθώς και πρόσθετες τεχνικές παραγοντοποίησης μετά τη στήλη και τη βελτίωση των ανιχνευτών HPLC. Επιπλέον, έχουν αναφερθεί η χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού (SFC) με διαφορετικά υπερκρίσιμα υγρά και βελτιωμένους ανιχνευτές για την ανάλυση των μη πολικών και πολικών αναλυτών και ο on-line συνδυασμός SFE- SFC. Έμφαση δίνεται επίσης στην ανάπτυξη αξιόπιστων ενζύμων για ανάπτυξη ανοσολογικών δοκιμών για φυτοφάρμακα και μεταβολίτες, ειδικά στους τομείς της προετοιμασίας του δείγματος, την επικύρωση, την πολύ-υπολειμματική ικανότητα και εμπορικές εξαρτήσεις και βιοαισθητήρες, που αφορούν συνήθως έναν ακινητοποιημένο ένζυμο ή αντισώματα ως βάση επιλεκτικότητας (Torres et al., 1996).

2.5. Υπολείματα Φυτοφαρμάκων και Νομοθεσία

Από το 1960, τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά ελέγχονται για υπολείματα φυτοφαρμάκων. Στις μέρες μας, πάνω από 2,5 εκατομμύρια τόνων φυτοφαρμάκων χρησιμοποιούνται ετησίως και ο συνολικός αριθμός των καταχωρημένων χημικών ουσιών είναι υψηλότερος από 500 (Λεμπέση & Τσιβακάς, 2008). Αυτά τα φυτοφάρμακα παρουσιάζουν μια ευρεία ποικιλία χρήσεων και φυσικοχημικών ιδιοτήτων. Με αυτόν τον τρόπο, είναι σύνηθες να εξισώνονται τα φυτοφάρμακα με τα εντομοκτόνα. Αυτό είναι εσφαλμένο, δεδομένου ότι ο όρος φυτοφάρμακο αποτελεί γενική κατάταξη και περιλαμβάνει κυρίως τα εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και μυκητοκτόνα. Κάθε ομάδα των ενώσεων περιλαμβάνει διαφορετικές χημικές ομάδες και τύπους δράσης, και επίσης, μια ένωση μπορεί να παρουσιάσει ποικιλία χρήσεων. Στον Πίνακα 1 παρατίθενται τα υπολείματα φυτοφαρμάκων που βρέθηκαν σε νωπά φρούτα λαχανικά από τις επίσημες υπηρεσίες κατά τη διάρκεια του 1992-1993, οι χρήσεις τους και η χημική κατηγορία τους.

Τα επίπεδα των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων καθορίζονται από κάθε χώρα και, μερικές φορές προκαλούν διενέξεις γιατί τα επίπεδα υπολειμμάτων που είναι αποδεκτά σε μία χώρα θα μπορούσαν να είναι μη αποδεκτά σε άλλη. Το πρόβλημα αυτό, δημιούργησε την ανάγκη να εναρμονιστούν τα διαφορετικά MRLs, τα οποία

έχουν κατά κύριο λόγο αντιμετωπιστεί με δύο διεθνείς οργανισμούς: την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) σε ευρωπαϊκό επίπεδο και τους Κώδικες Τροφίμων του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO).

Η πρώτη οδηγία της ΕΕ εκδόθηκε το 1976 (οδηγία 76/895/ΕΟΚ) και καθόρισε τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων για ορισμένα φυτοφάρμακα μέσα ή πάνω σε φρούτα και λαχανικά. Η οδηγία αυτή τροποποιήθηκε και επεκτάθηκε σε μεταγενέστερες οδηγίες. Το κύριο μειονέκτημα που συνδέεται με αυτές τις οδηγίες είναι ότι δίνουν μόνο μερική συσχέτιση, γιατί δεν καλύπτουν το σύνολο των φυτοφαρμάκων στο εμπόριο, δεδομένου ότι εφαρμόστηκαν μόνο σε 64 ενεργά συστατικά. Οι εθνικές νομοθεσίες καλύπτουν περισσότερο: περίπου 380 στην Ισπανία, 360 στη Γερμανία, 400 στις Κάτω Χώρες, κλπ. Σε παγκόσμιο επίπεδο, υπάρχουν περισσότερα από 600 ενεργά συστατικά στην αγορά.

Το 1990, η ΕΕ εξέδωσε νέα οδηγία (90/642/ΕΟΚ) σχετικά με τα MRLs σε επιλεγμένα φυτικά προϊόντα, περιλαμβάνοντας φρούτα και λαχανικά. Σκοπός είναι να αποφευχθεί η ποικιλία των MRLs, προκειμένου να διευκολυνθεί το μελλοντικό ευρωπαϊκό σύστημα εμπορίου. Καθορίζει τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων για όλες τις χώρες της ΕΕ, εξαλείφοντας το ενδεχόμενο ότι ορισμένες χώρες εγκρίνουν υψηλότερα MRLs. Ως αποτέλεσμα, τα προϊόντα με υπολείμματα υψηλότερα από τα MRLs που έχουν καθοριστεί από την ΕΕ δεν μπορούν να διακινηθούν μεταξύ των χωρών μελών.

Επιπλέον, υπάρχουν οδηγίες σχετικά με την απαγόρευση της εμπορίας και της χρήσης ορισμένων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων (OCPs). Άρχισαν με την οδηγία 79/119/ΕΕΚ και συμπεριλήφθηκαν οι 83/131/ΕΕ, 85/298/ΕΕ, 86/355/ΕΕ, 87/181/ΕΕ, 87/477/ΕΕ, 89/365/ΕΕ, 90/533/ΕΕ, 91/414/ΕΕ. Η οδηγία 79/100/ΕΟΚ, καθορίζει τις μεθόδους δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά, και η 85/591/ΕΟΚ αντιμετωπίζει την εισαγωγή της δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον έλεγχο των προϊόντων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Απαιτείται μεγάλος αριθμός μελετών για τα υπολείμματα πριν να εγκριθεί ένα ενεργό συστατικό σε ευρωπαϊκό επίπεδο (Torres et al., 1996).

Πίνακας 1. Φυτοφάρμακα, ισομερή και τα προϊόντα αποικοδόμησης που έχουν ανιχνευθεί σε νωπά φρούτα και λαχανικά

Ενοση	Χρήση	Χημική τάξη
Acephate	Εντομοκτόνο	OPPs ^a
Aldicarb	Εντομοκτόνο	MCs ^b
Aldicarb sulfone	Εντομοκτόνο	MCs ^b
Aldrin	Εντομοκτόνο	OCPs ^c
Anilazine	Ζιζανιοκτόνο	Τριαζίνη
Azinphos-ethyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Azinphos-methyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Bitertanol	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Bromide (inorganic)	-	-
Bromopropylate	Ακαρεοκτόνο	Βρωμοβενζόλιο
Bupirimate	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Captafol	Μυκητοκτόνο	Δικαρβοξυμίδιο
Captan	Μυκητοκτόνο	Δικαρβοξυμίδιο
Carbaryl	Εντομοκτόνο	MCs
Carbendazim	Εντομοκτόνο	MCs
Carbofuran	Εντομοκτόνο	MCs
Carbophenothion	Εντομοκτόνο	OPPs
Chlordane	Εντομοκτόνο	OCPs
Chlordimeform	Εντομοκτόνο	Φορμαμίδιο
Chlorfenvinphos	Εντομοκτόνο	OPPs
Chlorobenzilate	Ακαρεοκτόνο	Χλωροβενζόλιο
Chlorothalonil	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Chlorpropham	Ζιζανιοκτόνο	Καρβαμιδικό
Chlorpyrifos	Εντομοκτόνο	OPPs
Chlorpyrifos-methyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Chlozolinate	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Cypermethrin	Μυκητοκτόνο	Πυρεθρίνη
Daminozide	Ρυθμιστής ανάπτυξης	Υδραζίνη
DCPA	Ζιζανιοκτόνο	Χλωροφαινοξύ
p,p'-DDE	Εντομοκτόνο	OCPs
DDT	Εντομοκτόνο	OCPs
Deltamethrin	Μυκητοκτόνο	Πυρεθρίνη
Demeton	Εντομοκτόνο	OPPs
Diazinon	Εντομοκτόνο	OPPs
Dichlobenil	Ζιζανιοκτόνο	Νιτρίλια
Dichlofluanid	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Dichlorvos	Εντομοκτόνο	OPPs
Dicloran	Μυκητοκτόνο	Αρωματικά υποκατάσταστα
Dicofol	Εντομοκτόνο	OCPs
Dicrotophos	Εντομοκτόνο	OPPs
Dieldrin	Εντομοκτόνο	OCPs
Dimethoate	Εντομοκτόνο	OPPs
Diphenylamine	Άλλες επεξεργασίες	-
Diquat	Ζιζανιοκτόνο	Αμφιπυριδία
Dithianon	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Disulphoton	Εντομοκτόνο	OPPs
Endosulfan-alfa	Εντομοκτόνο	OCPs
Endosulfan-beta	Εντομοκτόνο	OCPs
Endosulfan sulphate	Εντομοκτόνο	OCPs
Endrin	Εντομοκτόνο	OCPs
EPN	Εντομοκτόνο	OPPs
Esfenvalerate	Εντομοκτόνο	Πυρεθρίνη
Ethion	Εντομοκτόνο	OPPs
Ethoprop	Εντομοκτόνο	OPPs
Ethrimfos	Εντομοκτόνο	OPPs
Fenarimol	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Fenitrothion	Εντομοκτόνο	OPPs
Fenthion	Εντομοκτόνο	OPPs
Fenthion sulphone	Εντομοκτόνο	OPPs
Fenthion sulphoxide	Εντομοκτόνο	OPPs
Fenvalerate	Εντομοκτόνο	Πυρεθρίνη
Folpet	Μυκητοκτόνο	Δικαρβοξυμίδιο
Fonofos	Εντομοκτόνο	OPPs
Heptachlor	Εντομοκτόνο	OCPs
Heptachlorobenzene	Εντομοκτόνο	OCPs
γ- HCl	Εντομοκτόνο	OCPs

Ενώση	Χρήση	Χημική τάξη
Imazalil	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Iprodione	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Linuron	Ζιζανιοκτόνο	Υποκατάστατο ουρίας
Malathion	Εντομοκτόνο	OPPs
Mancozeb	Μυκητοκτόνο	Διθειοκαρβαμιδικά
Maneb	Μυκητοκτόνο	Διθειοκαρβαμιδικά
Mecarbam	Εντομοκτόνο	MCs
Metalaxyl	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Methamidophos	Εντομοκτόνο	OPPs
Methidathion	Εντομοκτόνο	OPPs
Methiocarb	Εντομοκτόνο	MCs
Methomyl	Ζιζανιοκτόνο	Καρβαμιδικό
Metribuzin	Ζιζανιοκτόνο	Τριαζίνη
Mevinphos	Εντομοκτόνο	OPPs
Mirex	Εντομοκτόνο	OCPs
Monocrotophos	Εντομοκτόνο	OPPs
Myclobutanil	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
1- Naohtol	-	-
Omethoate	Εντομοκτόνο	OPPs
Ortophenylphenol	Μυκητοκτόνο	substituted aromatics
Oxadiazon	Εντομοκτόνο	OPPs
Oxamyl	Ζιζανιοκτόνο	Carbamate
Parathion	Εντομοκτόνο	OPPs
Parathion- methyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Penconazole	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Pentachloroanisole	Μυκητοκτόνο	Αρωματικά υποκατάστατα
Permethrin	Εντομοκτόνο	Πυρεθρίνη
Phentoate	Εντομοκτόνο	OPPs
Phorate	Εντομοκτόνο	OPPs
Phosalone	Εντομοκτόνο	OPPs
Phosmet	Εντομοκτόνο	OPPs
Phosphanidon	Εντομοκτόνο	OPPs
Pirimicarb	Εντομοκτόνο	MCs
Pirimiphos- methyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Prochloraz	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Procymidone	Μυκητοκτόνο	Δικαρβοξυμίδιο
Profenofos	Εντομοκτόνο	OPPs
Pronamide	Ζιζανιοκτόνο	Αμίδιο
Propargite	Ακαρεοκτόνο	Θειώδες άλας
Propham	Ζιζανιοκτόνο	Καρβαμιδικό
Propineb	Μυκητοκτόνο	Διθειοκαρβαμιδικά
Propyzamide	Ζιζανιοκτόνο	Αμίδιο
Prothiofos	Εντομοκτόνο	Εντομοκτόνο
Quinalphos	Εντομοκτόνο	Εντομοκτόνο
Quintozene	Μυκητοκτόνο	Αρωματικά υποκατάστατα
Sulfotep	Εντομοκτόνο	OPPs
Sulphur dioxide	-	-
2,3,5,6- TCA	Ζιζανιοκτόνο	Χλωροφαινοξύ
TDE	Εντομοκτόνο	OCPs
Tecnazene	Μυκητοκτόνο	Αρωματικά υποκατάστατα
Terbufos	Εντομοκτόνο	OPPs
Tetradifon	Εντομοκτόνο	OPPs
Thiabendazole	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Thiram	Μυκητοκτόνο	Διθειοκαρβαμιδικά
Tolclofos- methyl	Εντομοκτόνο	OPPs
Tolyfluanid	Μυκητοκτόνο	Αρωματικά υποκατάστατα
Toxaphene	Εντομοκτόνο	OCPs
Triadimefon	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Triadimenol	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Tri- allate	Ζιζανιοκτόνο	Καρβαμιδικό
Triazophos	Εντομοκτόνο	OPPs
Trichlorfon	Εντομοκτόνο	OPPs
Vinclozolin	Μυκητοκτόνο	Ετεροκυκλικό άζωτο
Zineb	Μυκητοκτόνο	Διθειοκαρβαμιδικά

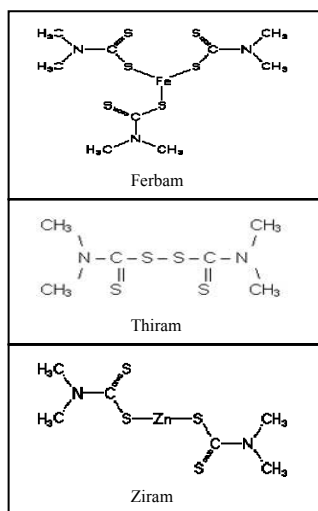
OPPs: Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα
MCs: Μεθυλοκαρβαμιδικά
OCPs: Οργανοχλωρικά φυτοφάρμακα

(Torres et al. 1996)

2.6. Διθειοκαρβαμιδικά

Τα διθειοκαρβαμιδικά (DTCs) εμφανίστηκαν 40-70 χρόνια πριν και εξακολουθούν να αντιπροσωπεύουν μια σημαντική κατηγορία φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιείται ευρέως στη γεωργία. Χαρακτηρίζονται από ένα ευρύ φάσμα δράσης κατά των διάφορων παθογόνων μικροβίων των φυτών, με χαμηλή οξική τοξικότητα στα θηλαστικά και χαμηλό κόστος παραγωγής (Cmogoac & Schwack, 2008). Είναι μια ομάδα φυτοφαρμάκων που δεν ψεκάζονται σε ολόκληρο το φυτό και χρησιμοποιούνται για να προστατέψουν τις καλλιέργειες από μυκητώδεις ασθένειες (Caldas et al. 2004). Εκτός από την γεωργία, τα διθειοκαρβαμιδικά χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό ως ουσίες κατά της μούχλας στην παραγωγή πολτού και χαρτιού, ως συντηρητικά ξύλου ή επιταχυντών στην βιομηχανία ελαστικών.

Επιπλέον, τα διθειοκαρβαμιδικά χρησιμοποιούνται κλινικά για τη θεραπεία του χρόνιου αλκοολισμού καθώς και ως αντικαρκινικά και αντιτοξικά αντιδραστήρια στα ναρκωτικά (Cmogoac & Schwack, 2008).



Σχήμα 2. Δομές των ουσιών ferbam, thiram και ziram

Δεν είναι εξαιρετικά τοξικά, όμως η τοξικότητά τους αυξάνεται με την παρουσία βαρέων μετάλλων στο μόριο, όπως ο σίδηρος στην ουσία *ferbam*. Βραχυχρόνια έκθεση σε διθειοκαρβαμιδικά μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό στα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και στο δέρμα ενώ μακροχρόνια έκθεση μπορεί να προκαλέσει ευαισθησία στο δέρμα και δερματίτιδα. Οι δομές των τριών κοινών DTCs, *ferbam*, *thiram* και *ziram*, φαίνονται στο Σχήμα 2.

Η διεύθυνση υγείας και ασφάλειας (HSE) διεξάγει έρευνες για τον προσδιορισμό των δυνητικών κινδύνων των επιχειρήσεων κατά την εφαρμογή φυτοφαρμάκων. Πρόσφατα ασχολήθηκε με τις αξιολογήσεις της έκθεσης στα φυτοφάρμακα κατά την επεξεργασία σπόρων που καλλιεργούνται σε αγροκτήματα και σε μεγαλύτερες μονάδες επεξεργασίας. Το *thiram*, (ένα DTC), έχει αναγνωριστεί ως ένα από τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται συνήθως σε αυτές τις επεξεργασίες σπόρων (Coldwell et al., 2002).

Τα διθειοκαρβαμιδικά μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις υποκατηγορίες ανάλογα με τον άνθρακα που έχουν [πχ *dimethyldithiocarbamates* (DMDs),

ethylenebis (dithiocarbamates) (EBDs), and *propylenebis* (dithiocarbamates) (PBDs)] (Πίνακας 2). Είναι κυρίως σύμπλοκα με μέταλλα μετάπτωσης (πχ μαγγανίου ή ψευδαργύρου). Το *thiram* είναι το πιο ξεκάθαρα καθορισμένο διμεθυλοδιθειοκαρβαμιδικό (*thiuram disulfide*), ενώ το *metiram* αναφέρεται σε ένα απροσδιόριστο μείγμα πολυθειουραμικό δισουλφίδιο και δισαμμωνιακού ψευδάργυρου (διθειοκαρβαμιδικό).

Όσον αφορά τις χημικές δομές, το *dazomet* είναι ασυνήθιστο, και χρησιμοποιείται για αποστείρωση του εδάφους (πρόδρομος του ισοθειοκυανιούχου μεθυλίου) όπως και το *metam*, ενώ τα διθειοκαρβαμιδικά συνήθως εφαρμόζονται στα εναέρια μέρη των φυτών (Crnogorac & Schwack, 2008).

Η τοξικολογική σημασία των δυσ-διθειοκαρβαμιδικών αιθυλενίων ως υπολείμματα στα τρόφιμα, σχετίζεται με τον μεταβολίτη ή το υποβαθμισμένο του προϊόν αιθυλενοθειουρία, το οποίο είναι καρκινογόνο και τερατογόνο στους αρουραίους. Πειραματόζωα που καταναλώνουν διθειοκαρβαμιδικά εμφανίζουν νευροπαθολογικά προβλήματα, τοξικότητα στον θυρεοειδή και αναπτυξιακή τοξικότητα στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Caldas et al., 2004).

Πίνακας 2. Δεδομένα απ τα πιο σημαντικά διθειοκαρβαμιδικά (DTCs)

Όνομα	Τύπος	CAS No	Διαλ/τα σε νερό (g/L, 20° C)	Διαλ/τα σε οργανικούς διαλύτες
Ziram	$[(CH_3)_2N-CSS]_2Zn^{2+}$	137-30-4	0.06	Chloroform, carbon disulfide
Ferbam	$[(CH_3)_2N-CSS]_3Fe^{3+}$	14484-64-1	0.13	Chloroform, acetone, acetonitrile
Asomate ²	$(CH_3)_2N-CSS]_3As^{3+}$	3586-60-5	n.d.f. ³	n.d.f.
Thiram	$(CH_3)_2N-CSS-SSC-N(CH_3)_2$	137-26-8	0.018	Chloroform, dichloromethane, acetone
Metam	$(CH_3)_2NH-CSS]Na^+$	144-54-7	722	Acetone, ethanol
Nabam	$C_4H_6N_2Na_2S_4$	142-59-6	200	p.i. ⁴
Zineb	$C_4H_6N_2S_4Zn$	12122-67-7	p.i	p.i
Maneb	$C_4H_6MnN_2S_4$	12427-38-2	p.i	p.i
Mancozeb	$(C_4H_6MnN_2S_4)_x(Zn)_y$	8018-01-7	p.i	p.i
Mancopper	$C_8H_{12}CuMnN_4S_8$	53988-93-5	p.i	p.i
Metiram	$C_{12}H_{12}N_6S_{16}Zn$	9006-42-2	p.i	p.i
Polycarbamate (Bis-Dithane)	$C_{10}H_{18}N_4S_8Zn_2$	64440-88-6	n.d.f.	n.d.f.
Propineb	$(C_5H_8N_2S_4Zn)_x$	12071-83-9	p.i	p.i
Dazomet	$C_5H_{10}N_2S_2$	533-74-4	3	Chloroform, acetone, cyclohexane

1 Annex I, Council Directive 91/414/EEC [86]: περιέχεται (+), εκτός(-), εν αναμονή (p).
2 Χρησιμοποιείται στην Κίνα.
3 n.d.f., (No data found) Κανένα δεδομένο δεν βρέθηκε.
4 Πρακτικά αδιάλυτο.
5 Χρησιμοποιείται στην Ιαπωνία ως προστατευτικό του φυτού και ως αντιρρυπαντικός παράγοντας

(Crnogorac & Schwack, 2008)

Η ανάλυση των DTCs έχει αποτελέσει αντικείμενο πολυάριθμων εργασιών. Η ανάλυση των διθειοκαρβαμιδικών πρώτη φορά εξετάστηκε από τους Engst & Schnaak (1970). Πολλές τεχνικές έχουν εφαρμοστεί σε υπολείμματα διθειοκαρβαμιδικών στα τρόφιμα, με πιο γνωστή την φασματοφωτομετρία και την αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης (headspace GC) για την ανάλυση του διθειάνθρακα (CS) που αναπτύσσεται κατά την διάρκεια της όξινης επεξεργασίας των διθειοκαρβαμιδικών υπολειμμάτων.

Οι Jongen et al. (1991) χρησιμοποίησαν υψηλής πίεσης υγρή χρωματογραφία (HPLC) και αέρια χρωματογραφία (GC) για να προσδιορίσουν την επαγγελματική έκθεση (δερματική και αναπνευστική) στα αιθυλενοδισδιθειοκαρβαμιδικά *maneb* και *zineb*. Η HPLC ανάλυση επιτρέπει βιολογική εξέλιξη των διθειοκαρβαμιδικών, ενώ η GC παρέχει έναν πιο ευαίσθητο προσδιορισμό.

Η GC μέθοδος για την ανάλυση του *thiram* στα τρόφιμα περιλαμβάνει προσθήκη όξινου χλωριούχου κασσίτερου (TIN(II) chloride) στο υπόστρωμα, θέρμανση και τελικά ανάλυση του υπερκείμενου CS₂, που είναι προϊόν αποσύνθεσης των DTCs. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι απαιτείται χειροκίνητη έγχυση, που είναι χρονοβόρα εργασία και αυξάνει τις πιθανότητες να συμβούν σφάλματα. Επιπλέον, απαγορεύει την ανάλυση μετά από ένα ή περισσότερα εικοσιτετράωρα γιατί μπορεί να αλλοιωθεί το δείγμα.

Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, αναπτύχθηκε μια αναλυτική μέθοδος που στηρίζεται στην αυτόματη θερμική αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μάζας (ATD-GC-MS). Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες φιάλες με φίλτρα GF/ A για την ανάλυση του CS₂, τα οποία αναπτύχθηκαν μετά από θερμική αποσύνθεση της προς ανάλυση ουσίας κατά τη διάρκεια θερμικής υγροποίησης. Η ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε σε σύγκριση με ένα σύνολο διθειοκαρβαμιδικών που αναλύθηκαν με την ίδια μέθοδο. Τα δεδομένα ήταν αποδεκτά μεταξύ 70- 110 %.

Επίσης η μέθοδος ATD- GC- MS εφαρμόστηκε στην ανάλυση δερματικών συστημάτων δειγματοληψίας. Τα εμβολιασμένα δείγματα εκχυλίστηκαν με την χρήση του κατάλληλου διαλύτη και 25mL από το εκχύλισμα εμποτίστηκε σε φίλτρα GF/A που περιείχονταν σε φιάλες ATD και αναλύονταν με ATD- GC- MS για CS₂. Ωστόσο, τα αποτελέσματα βρέθηκαν να είναι χαμηλά και μπορούσαν να μεταβληθούν. Ως εκ τούτου, αποφασίστηκε να ερευνηθεί μια εναλλακτική μέθοδος για την παροχή βελτιωμένων αποτελεσμάτων.

Προσφάτως, υπήρξε μεγάλο ενδιαφέρον για την μέθοδο ανάλυσης DTCs στα τρόφιμα με την χρήση ισοοκτανίου, όπου το CS₂ αναπτύσσεται, στη συνέχεια ακολουθεί θέρμανση υπό όξινες συνθήκες και τελικά τα DTCs εκχυλίζονται σε στρώμα ισοοκτανίου, το οποίο αναλύεται για περιεκτικότητα CS₂ με GC χρησιμοποιώντας MS ή φωτομετρική ανίχνευση φλόγας (FPD) (Coldwell et al., 2002).

2.6.1. Ανάλυση φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία

Στην αέρια χρωματογραφία, αδρανές αέριο αποτελεί την κινητή φάση. Η φάση αυτή διαρρέει στήλη εντός της οποίας βρίσκεται η σταθερή φάση. Οι προς ανάλυση ουσίες σε κατάσταση αερίου διαχωρίζονται χρωματογραφικά τόσο με προσρόφηση όσο και κατανομή (Schwedt, 1996). Σε αντίθεση με τους περισσότερους τύπους χρωματογραφίας, η κινητή φάση δεν αλληλεπιδρά με τα μόρια του αναλυτή. Ο μόνος ρόλος του είναι η διακίνηση του αναλυτή κατά μήκος της στήλης (Skoug et al., 2005).

Η ανάλυση GC των φυτοφαρμάκων είναι πολύ σημαντική στις μέρες μας. Πολλές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για μεγάλο αριθμό εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων, ζιζανιοκτόνων κτλ που δείχνει πολύ διαφορετική χημική συμπεριφορά.

Η μέθοδος που νωρίτερα συστάθηκε από τον AOAC για την εκχύλιση των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων σε μη λιπαρά τρόφιμα βασίζεται στην εκχύλιση με ακετονιτρίλιο ή ακετονιτρίλιο- νερό. Τροποποιήθηκε το 1985 από εκχύλιση ακετόνης. Αυτή δόθηκε ως επίσημη μέθοδος τελικής δράσης το 1986. Η αποτελεσματικότητα των μεθόδων αυτών ελέγχθηκε με GC με διαφορετικούς τρόπους ανίχνευσης. Σε δείγματα φρούτων οργανοφωσφορικά και οργανοχλωριούχα εντομοκτόνα εκχυλίζονται με δύο διαφορετικές μεθόδους και προσδιορίζονται με GC χρησιμοποιώντας διαφορετικούς ανιχνευτές. Τα αποτελέσματα ελέγχθηκαν με GC-MS. Σύμφωνα με μια άλλη μέθοδο, 9 φυτοφάρμακα που περιέχουν αλογόνο προσδιορίζονται με λεπτή τριχοειδή στήλη διμεθυλοπολυσιλοξάνης με ανίχνευση σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) μετά από εκχύλιση και καθαρισμό σε μικρή στήλη *Florisil*. Δείγματα ρυζιού και σόγιας μελετήθηκαν με GC για τον προσδιορισμό των *a*-BHC και *Carbaryl* περιεχομένων με ECD και ειδική ανίχνευση αζώτου-φωσφόρου (NPD). Περίπου 20 φυτοφάρμακα ερευνήθηκαν μετά από τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις σε φρούτα και λαχανικά από την Ισπανία.

Η εφαρμοσιμότητα των ανιχνευτών συγκρίθηκε με ατομικής εκπομπής φασματομετρικό προσδιορισμό (AES) σε GC για 12 γεωργικά προϊόντα. Τα εκχύλισμα ετοιμάζονται σύμφωνα με την διαδικασία του υπουργείου τροφίμων και γεωργίας της Καλιφόρνια και δεν χρησιμοποιήθηκε κανένα καθαριστικό. Η AES χρησιμοποιήθηκε σε επιλεκτικές λειτουργίες C-, P-, Cl-, N- και S-, και έδειξε μεγαλύτερη επιλεκτικότητα στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων που περιέχουν χλώριο, φθόριο και φώσφορο, σε σχέση με άλλες μεθόδους ανίχνευσης.

Η επιλεκτικότητα του προσδιορισμού αυτού μπορεί να ενισχυθεί με την δημιουργία παραγώγων. Ένα εκχύλισμα από βρωμοξυνιλιο (3,5 διβρωμο- 4-υδροξυβρνζονιτρίλιο) ήταν το πρώτο που υδρολύθηκε και στη συνέχεια μετατράπηκε με διαζομεθάνη στην μεθυλιωμένη του μορφή. Τα παράγωγα που περιέχουν εκχύλισμα καθαρίστηκαν σε στήλη Florisil και προσδιορίστηκαν με cGC.

Τα μυκητοκτόνα *triadimenol* και *bitertanol* μπορούν να προσδιοριστούν στην ακετυλική τους μορφή μετά από εκχύλιση. Τα παράγωγα που περιέχουν δείγμα διέρχονται από στήλη *Florisil* και προσδιορίζονται με GC.

Τα *diquat* και *paraquat* είναι ζιζανιοκτόνα ταχείας δράσης. Οι ενώσεις αυτές έχουν προσδιοριστεί σε πατάτες και ελαιοκράμβη μετά την μετατροπή τους σε πτητικά παράγωγα με υδρογόνωση με τετραυδροβορικό νάτριο. Μια άλλη πιθανότητα είναι να διαχωριστούν από αυτά τα βιτυριδίνια με πυρόλυση. Η προσέγγιση αυτή ακολουθήθηκε σε μελέτες GC- MS βιολογικών δειγμάτων.

Το *ethoprop* προσδιορίστηκε σε μέντα και λάδι με GC. Τα υπολείμματα *ethoprop* παρουσιάζονται σε δείγματα ελαίων με 100 φορές υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τη μέντα σύμφωνα με τις μελέτες GC- MS. Τα υπολείμματα διθειοκαρβαμιδικών και οργανοφωσφορικών ανιχνεύονται με cGC- MS μέθοδο. Δώδεκα φυτοφάρμακα και δύο μεταβολίτες προσδιορίζονται σε 25 διαφορετικά δείγματα από τα τέσσερα διαφορετικά υλικά τροφίμων. Ένα υπολογιστικό πρόγραμμα επιτρέπει την αναζήτηση για αρκετές εκατοντάδες ιόντα. Αυτή η GC- MS μεθοδολογία μπορεί να εφαρμοστεί με ευκολία σε αναλύσεις ρουτίνας με ρυθμιστικούς παράγοντες. Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα μετρήθηκαν σε βιολογικά δείγματα χωρίς καμία πρόσμειξη. Έχει δημοσιευτεί μια ανασκόπηση σε φυτοφάρμακα που παρακολουθούνται στα τρόφιμα, τις ζωοτροφές και τα περιβαλλοντολογικά δείγματα.

Το πρώτο παράδειγμα συνδυασμού LC- GC στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων αναφέρθηκε για την ατραζίνη το 1987. Πιο πρόσφατα, το *dicamba* μελετήθηκε σε ξηρά δείγματα καπνού με συνδυασμό HPLC- GC. Σε αυτή την διαδικασία δεν είναι αναγκαίος ο διαχωρισμός υγρού- υγρού. Μετά από απλή εκχύλιση, τα υπολείμματα *dicamba* μετατρέπονται με διαζομεθανιο σε εστέρα τους. Κανονικής φάσης HPLC χρησιμοποιείται για καθαρισμό και ο τελικός προσδιορισμός γίνεται με χρωματογραφία GC. Το κύριο πρόβλημα εδώ είναι η ταυτόχρονη εξάτμιση του εκλούσματος κατά την μεταφορά του εκχυλίσματος μεταξύ των δύο συστημάτων, το οποίο ξεπεράστηκε.

Μια άλλη τεχνική αναφέρθηκε για τον προσδιορισμό 30 πολυχλωροδιφαινύλιων πτητικών συστατικών χρησιμοποιώντας δύο τριχοειδείς στήλες με μη γραμμική πολυεπίπεδη βαθμονόμηση. Οι τριχοειδείς στήλες, οι οποίες λειτουργούν σε παράλληλα ζεύγη, παρουσιάζουν διαφορετικές πολικότητες. Μ' αυτό τον τρόπο αναλύονται διάφορα εκχυλίσματα (Fodor- Csorba, 1992).

3. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός αυτής της πτυχιακής εργασίας είναι ο προσδιορισμός υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά, για την ποιοτική και ποσοτική εκτίμησή τους στα τρόφιμα. Τα δείγματά που αναλύθηκαν προέρχονται από διάφορες περιοχές της Ελληνικής επικράτειας. Ο προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων βασίστηκε σε ποσοτικοποίηση του διθειάνθρακα (CS₂), χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του ισοοκτανίου. Τα σύμπλοκα του CS₂ που δημιουργήθηκαν, ανιχνεύτηκαν με αέριο χρωματογράφο με φωτομετρικό αναλυτή φλόγας (FPD).

Τα Εναρμονισμένα Ευρωπαϊκά όρια MRLs για κάθε τρόφιμο υπολογίζονται βάση των Κανονισμών (EC) 396/2005, 149/2008 και 839/2008.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

4.1. Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στη θέρμανση των διθειοκαρβαμιδικών με διάλυμα χλωριούχου κασσίτερου και υδροχλωρικού οξέος, προκαλώντας την μετατροπή τους σε διθειάνθρακα (CS₂) και τελικά στην εκχύλιση και δέσμευση του παραγόμενου διθειάνθρακα με ισοοκτάνιο.

Στον Πίνακα3 φαίνονται τα εμπορικά ονόματα και εφαρμογές ορισμένων επιλεγμένων φυτοφαρμάκων και στο Σχήμα 3 οι δομές ορισμένων επιλεγμένων φυτοφαρμάκων (Belitz et al, 2006).

Πίνακας 3.Εμπορικά ονόματα και εφαρμογές ορισμένων επιλεγμένων φυτοφαρμάκων

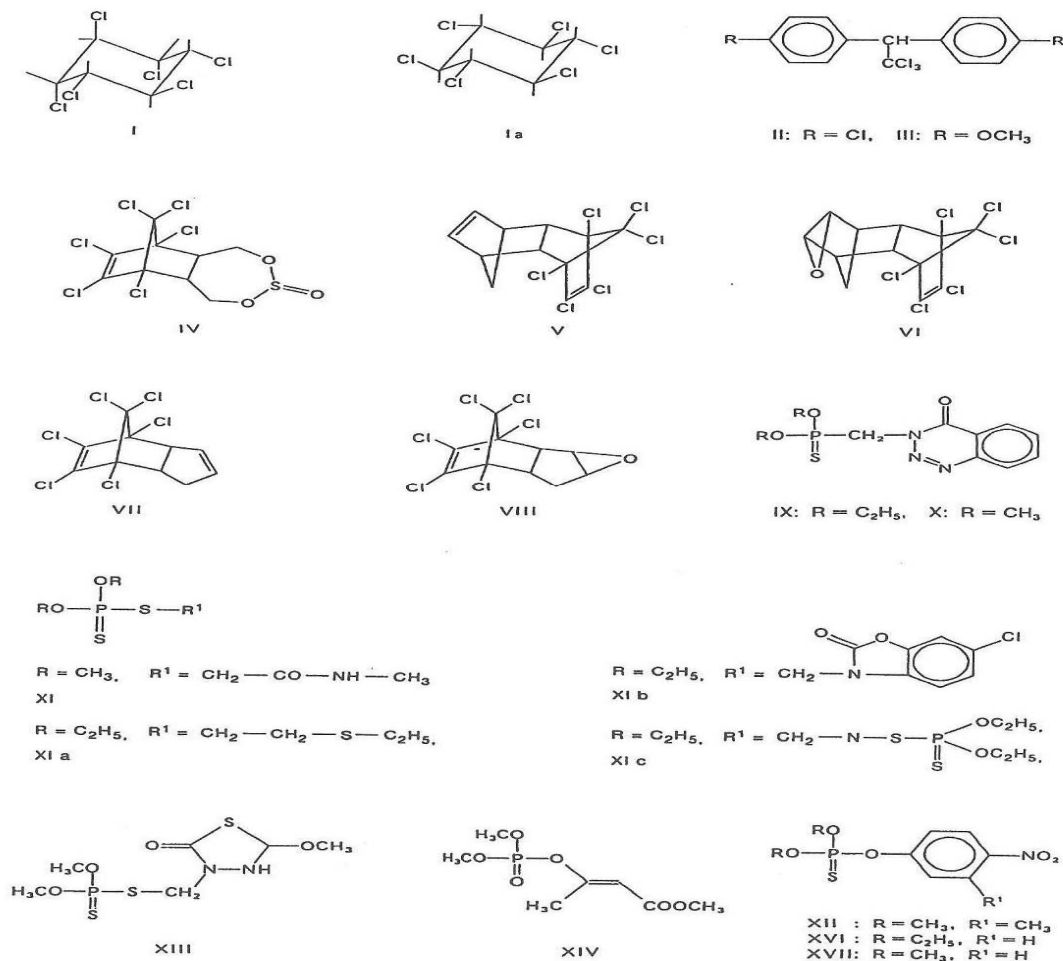
Αριθμός	Όνομα	Εφαρμογή
Συνθετικά εντομοκτόνα		
I	Lindand (γ-HCH), BHX, Gammexane	Ψεκασμός σπόρων (δημητριακά, όσπρια, παντζάρια) vegetables and fruits
Ia	β-HCH	Στη Γερμανία δεν επιτρέπεται (το ίδιο και με την περίπτωση του α-HCH)
II	p, p', -DDT	Καταπολεμεί την ελονοσία, στη Γερμανία δεν επιτρέπεται
III	Methoxychlor	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, λάχανα, σιτάρι, σίκαλη
IV	Endosulfan, Thiodan	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κραμβόσπορος, παντζάρια, φασόλια, καλαμπόκι, ζωοτροφή
V	Aldrin, HHDN	Καλλιέργεια σταφυλιών (κλήματα)
VI	Dieldrin, HEOD	Στη Γερμανία δεν επιτρέπεται
VII	Heptaclor	Ψεκασμός σπόρων (παντζάρια)
VIII	Heptaclor-epoxide (A,B)	Μεταβολίτες από VII
IX	Azinphosethyl Gusathion H	Λαχανικά, πατάτες, κραμβόσπορος, παντζάρια, δημητριακά. Ζωοτροφή
X	Azinphosethyl Gusathion	Φρούτα, λαχανικά (σπαράγγι), κλήματα
XI	Dimethoate, Rogor, Perfekthion	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, παντζάρια, δημητριακά, κλήματα, ζωοτροφή
XIa	Disulfoton	Πατατόσπορος, λυκίσκος, τροπικές καλλιέργειες
XIb	Phosalon	Φρούτα, κραμβόσπορος
XIc	Ethion	
XII	Fenitrothion	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά, τριφύλλι, παντζάρια, κλήματα
XIII	Methidathion	Φρούτα, πατάτες, παντζάρια, κλήματα
XIV	Meninphos, Phosdrin, PD 5	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά, κραμβόσπορος, παντζάρια, ζωοτροφή
XIVa	Chlorpyrifos	
XV	Malathion	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά
XVI	Parathion (-ethyl), E 605, Eftol	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά, κραμβόσπορος, παντζάρια, κλήματα, ζωοτροφή
XVII	Parathionmethyl, ME 605	Όπως η ένωση XVI
XVIII	Phosphamidon	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά, κραμβόσπορος, παντζάρια, τριφύλλι, κλήματα
XIX	Bromophos, Nexion	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, δημητριακά, κραμβόσπορος, παντζάρια, ζωοτροφή
XX	Dibrom, Naled	Όπως η ένωση XIX
XXI	Chlorfenviphos, Birlane	Λαχανικά, πατάτες, παντζάρια, καλαμπόκι
XXII	Dichlorvos, DDVP, Vapona	Λαχανικά, φρούτα, δημητριακά, κραμβόσπορος, παντζάρια, πατάτες, μανιτάρια, ζωοτροφή
XXIII	Carbaryl, Sevin	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κλήματα
XXIV	Methomyl, Lannate	Λαχανικά, κλήματα
XXV	Promecarb, Carbamult	Πομόδη φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κραμβόσπορος, παντζάρια
XXVI	Propoxur, Uden	Λαχανικά, φρούτα, δημητριακά, πατάτες, παντζάρια
Φυσικά εντομοκτόνα		
XXVIa	Νικοτίνη	Λαχανικά, φρούτα
XXVIb	Πυρεθρίνες (από το Chrysanthemum cinerariaefolium)	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κραμβόσπορος, παντζάρια, μανιτάρια, κλήματα

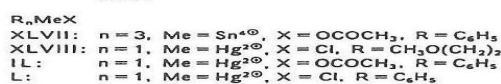
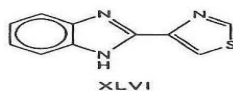
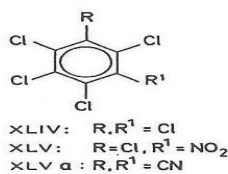
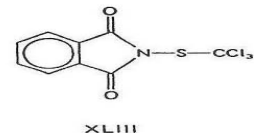
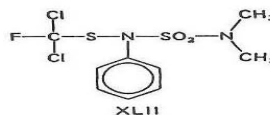
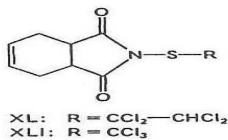
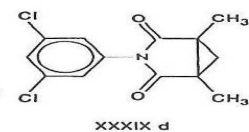
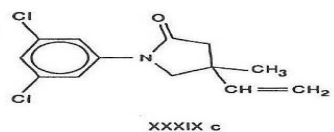
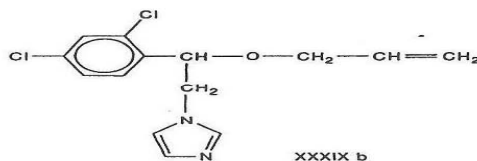
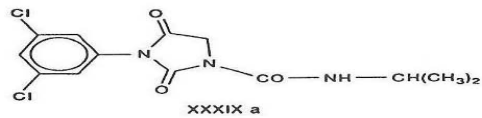
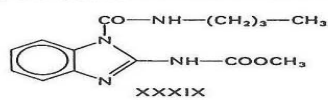
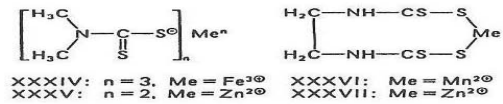
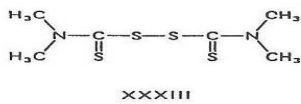
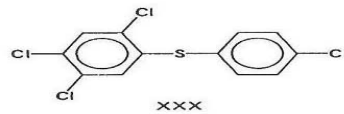
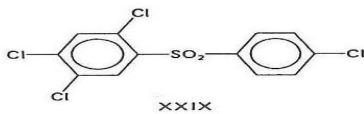
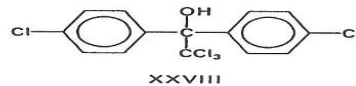
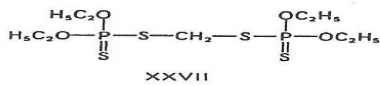
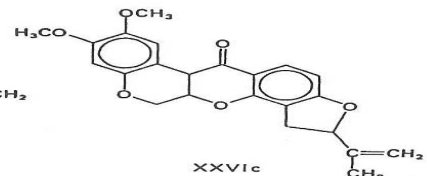
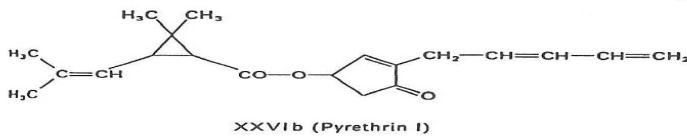
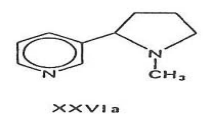
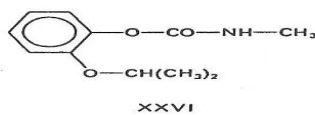
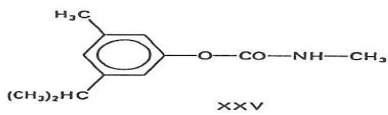
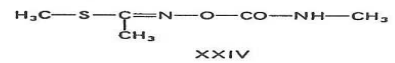
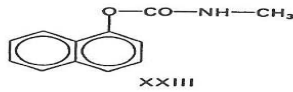
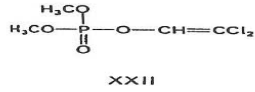
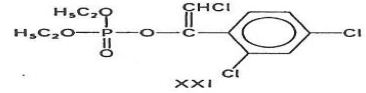
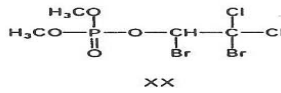
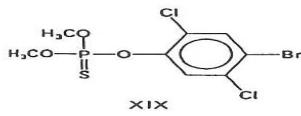
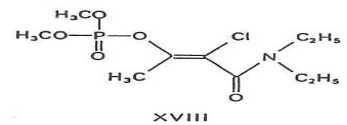
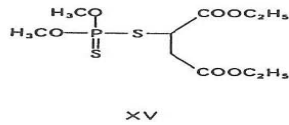
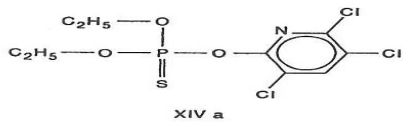
XXVIc	Roneton, Derris	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κραιβόσπορος, παντζάρια, κλήματα
Ακαρεοκτόνα		
XXVII	Ethion	Φρούτα
XXVIII	Kelthane, Dicofol	Φρούτα, λαχανικά, κλήματα
XXIX	Tetradifon, Tedion	Φρούτα, κλήματα
XXX	Tetrasul, Animert	Αγγούρια, τομάτες
Μυκητοκτόνα		
XXXI	Οξυλωριούχος Χαλκός	Φρούτα, λαχανικά, πατάτες, κραιβόσπορος, παντζάρια, κλήματα
XXXII	Θείο	Φρούτα, λαχανικά, πατατόσπορος, κλήματα
XXXIII	Thiram, TMDT, Pomarsol	Πομώδη φρούτα, φράουλες, ραδίκια, μαρούλι, λαχανικά, κλήματα
XXXIV	Ferbam	Πομώδη φρούτα
XXXV	Ziram	Πομώδη φρούτα
XXXVI	Maneb, Dithane M-22	Πομώδη φρούτα, λαχανικά, πατάτες, σπαράγγι, ραγόκαρπα φρούτα, παντζάρια, κλήματα
XXXVII	Zineb, Dithane Z-78	Πομώδη φρούτα, πυρηνόκαρπα φρούτα, σπαράγγι, κλήματα
XXXVIII	Mancozeb (σύμπλεγμα που αποτελείται από XXXVI και XXXVII), Dithane ultra	Πομώδη φρούτα, πυρηνόκαρπα φρούτα, αγγούρια, τομάτες, λαχανικά, κλήματα
XXXIX	BenomyI, Benlate	Πομώδη φρούτα, μαρούλι, αγγούρια, φράουλες, δημητριακά (ψεκασμός σπόρων)
XXXIXa	Iprodion	Κλήματα, φράουλες, λαχανικά, κραιβόσπορος, κριθάρι
XXXIXb	Imazalil	
XXXIXc	Vinclozolin	Φράουλες, λαχανικά, κραιβόσπορος, κλήματα
XXXIXd	Procymidon	Φρούτα, λαχανικά, λυκίσκος, κλήματα
XL	Captafol, Difolatan	Πομώδη φρούτα, ροδάκινα, λαχανικά, όσπρια, πατάτες, κλήματα
XLI	Captan, Orthicide - 406	Πομώδη φρούτα, κεράσια, ροδάκινα, λαχανικά, καλαμπόκι, όσπρια, μαρούλι, κλήματα
XLII	Dichlofluanid, Euparen	Μαρούλι, τομάτες, ραγόκαρπα φρούτα, πομώδη φρούτα, ροδάκινα, κλήματα
XLIII	Folpet, Phaltan	Πομώδη φρούτα, κεράσια, φράουλες, φασόλια, αρακάς, αγγούρια, κλήματα
XLIV	Εξαχλωροβενζόλιο (HCB)	Στη Γερμανία δεν επιτρέπεται
XLV	Quintozene, PCNB, Brassicol (περιέχει μέχρι 3% XLIV)	Ψεκασμός σπόρων (δημητριακά, πατατόσπορος)
XLVa	Chlorthalonil	
XLVI	Thiabendazole, Tecto	Πομώδη φρούτα, επιφανειακή κατεργασίαφρούτων (μπανάνες, εσπεριδοειδή)
XLVII	Fentin acetate, Brestan	Καρότα, πατάτες
XLVIII	Μεθοξυ - αιθυλοχλωριούχος υδράργυρος	Σιτάρι, σίκαλη, κριθάρι, βρώμη
IL	Οξικός φαινυλοϋδράργυρος, PMA	Σιτάρι, σίκαλη, κριθάρι, βρώμη
L	Χλωριούχος φαινυλοϋδράργυρος, PMC	Σιτάρι, σίκαλη, κριθάρι, βρώμη
Ζιζανιοκτόνα		
LI	Alachlor	Καλαμπόκι, λάχανα
LII	Amitrole	Για όλες τις καλλιέργειες
LIII	Atrazine	Καλαμπόκι, σπαράγγι
LIV	Bromacil	Πομώδη φρούτα
LV	Buturone	Ραγόκαρπα φρούτα, κλήματα, χειμερινές ποικιλίες σιταριού
LVI	Chlorbufam	Λαχανικά (καρότα, παντζάρια)
LVII	Chloroprotham, CIPC	Πατάτες (αντιβλαστικό μέσο)
LVIII	Chloroxuron, Tenoran	Λαχανικά, καρότα
LIX	Chlorotoluron	Χειμερινές ποικιλίες σιταριού
LX	2,4- D	Δημητριακά
LXI	Disquat	Πατάτες (καταστροφές κληματίδων), λαχανικά, φράουλες
LXII	Diallate, DDTC	Αρακάς, παντζάρια, τεύτλα
LXIII	Diuron	Σπαράγγια, ραγόκαρπα φρούτα
LXIV	Glyphosat	Μη επιλεκτικό, λαχανικά, φασόλια σόγιας, δημητριακά και άλλα
LXV	Lenacil	Φράουλες, σπανάκι, τεύτλα
LXVI	Linuron	Αρακάς, φασόλια, καρότα, σέλινο, σπαράγγι, πατάτες, κλήματα
LXVII	MCPA	Πομώδη φρούτα, κριθάρι, κλήματα
LXVIII	Metobromuron	Μαρούλι του αρνιού, πατάτες
LXIX	Metoxuron	Καρότα, δημητριακά
LXX	Metribuzin	Τομάτες, σπαράγγια, πατάτες
LXXI	Monalid	Καρότα, μαϊντανός, σέλινο
LXXII	Monolinuron	Φασόλια, σπαράγγια, πατάτες, δημητριακά, κλήματα

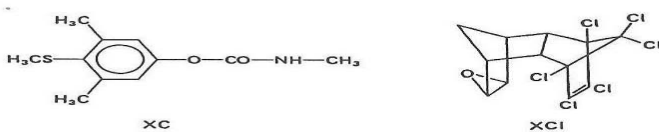
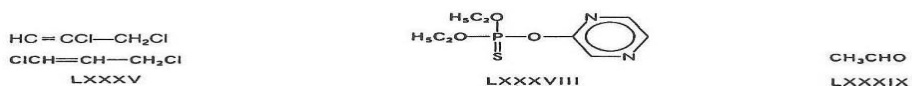
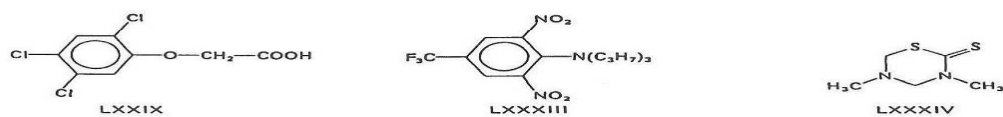
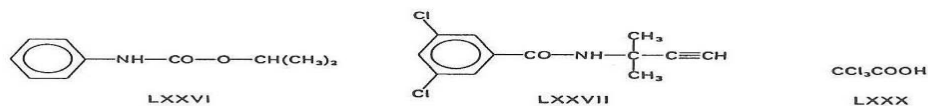
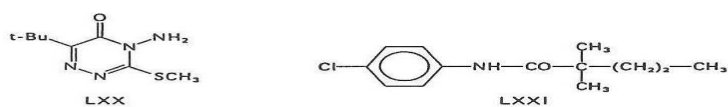
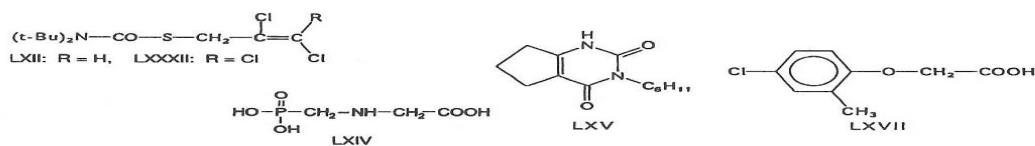
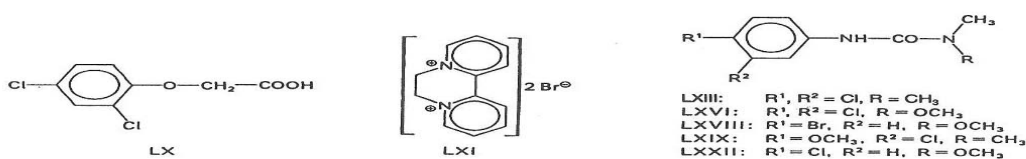
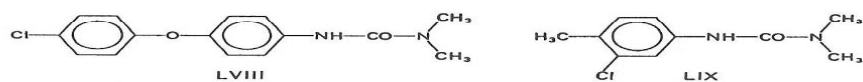
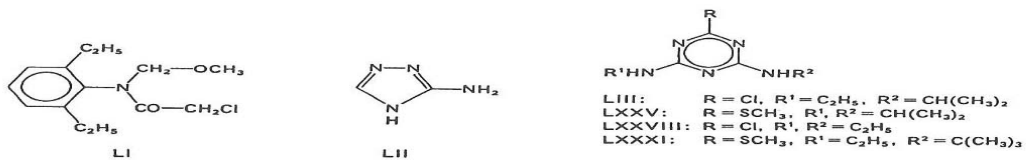
LXXXIII	Paraquat, Gramoxone	Λαχανικά, φράουλες, φρούτα, κλήματα και όλα τα είδη χορτονομής
LXXXIV	Pentachlor	Καρότα, μαϊντανός, τομάτες σέλινο, δυόσμος
LXXXV	Prometryn	Καρότα, πράσα, σέλινο
LXXXVI	Propham, IPC	Αγριοκύμινο, πατάτες (αντιβλαστικό μέσο
LXXXVII	Propyzamide	Ραδίκι, μαρούλι, πομόδη φρούτα, κραμβόσπορος
LXXXVIII	Simazire, Gesatop	Πομόδη και πυρηνόκαρπα φρούτα, φράουλες, κλήματα, αρακάς, καλαμπόκι, φασόλια, ζαχαρότευτλα
LXXXIX	2,4,5- T	Δημητριακά, κλήματα
LXXX	TCA	Ζαχαρότευτλα
LXXXI	Terbutryne, Igran	Αρακάς, καλαμπόκι
LXXXII	Triallate, Avadex	Δημητριακά, ζαχαρότευτλα
LXXXIII	Trifluralin	Κουνουπίδι, γογγύλια, χειμερινές ποικιλίες σταριού
Δηλητήρια Νηματοδών		
LXXXIV	Dazomet	Φρούτα, λαχανικά, χορτονομή, πατάτες
LXXXV	1,3- Dichloro- propane/ 1,2-Dichloropropene, DD mixture	Φρούτα, λαχανικά, χορτονομή, πατάτες, κλήματα
LXXXVI	Methyl bromide, Terabol	Φρούτα, λαχανικά, χορτονομή, πατάτες, τεύτλα
LXXXVII	Methyl isocyanate	Φρούτα, λαχανικά, χορτονομή, πατάτες, τεύτλα
LXXXVII I	Zinophos	Λαχανικά
Δηλητήρια Σαλιγκαριών		
LXXXIX	Metaldehyde	Λαχανικά, φράουλες, δημητριακά
XC	Mercaptodimetur	Δημητριακά
Δηλητήρια Τρωκτικών		
XCI	Endrin	Πομόδη και πυρηνόκαρπα φρούτα, ριβήσια
XCII	Toxaphene (γλωριωμένο καμφένιο)	Δημητριακά

(Belitz et al, 2006)

Σχήμα 3. Δομές ορισμένων επιλεγμένων φυτοφαρμάκων. Οι ρωμαϊκοί αριθμοί αναφέρονται στον Πίνακα 3







(Belitz et al, 2006)

4.2. Υλικά και μέθοδοι

4.2.1. Δείγματα

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ροδάκινα και πορτοκάλια. Χρησιμοποιήθηκαν δέκα διαφορετικά δείγματα για κάθε φρούτο από διαφορετικούς παραγωγούς διαφόρων περιοχών της Ελλάδας. Οι δειγματοληψίες και οι αναλύσεις έγιναν κατά τους μήνες Απρίλιο έως και Σεπτέμβριο του έτους 2010.

Όλα τα δείγματα μεγέθους 1000-2000g έφτασαν στο εργαστήριο σε κατάλληλη συσκευασία. Αμέσως μετά την άφιξη και την παραλαβή των δειγμάτων, διαχωρίστηκαν δύο τεταρτημόρια από κάθε τεμάχιο ώστε να υπάρχει ικανοποιητικό δείγμα για την επεξεργασία (150-200g).

4.2.2. Εξοπλισμός

Ο εργαστηριακός εξοπλισμός που απαιτείται γι' αυτή την πειραματική διαδικασία αποτελείται από τα παρακάτω σκεύη και όργανα μετρήσεων:

- Αέριος χρωματογράφος (GC) Agilent GC-6890, με αυτόματο δειγματολήπτη 7683 και ανιχνευτή θείου- φωσφόρου (FPD).
- Στήλη HP-5 MS , 30m x 0.32mm x 0.25 μ m (Part No. : 19091S-413)
- Εργαστηριακός ζυγός με ακρίβεια $\pm 0,01$ g
- Κατάλληλες υάλινες φιάλες αντιδραστηρίων 250mL, με βιδωτό πώμα και πλαστικό διάφραγμα (Schott duran, Pyrex Barloworld) (σχήμα 7)
- Δονούμενη τράπεζα.
- Υδατόλουτρο με θερμοστάτη
- Υάλινα φιαλίδια συμβατά με τον αέριο χρωματογράφο αυτόματης δειγματοληψίας
- Μηχανικές πιπέτες διαφόρων όγκων και υάλινες πιπέτες Pasteur.
- Ογκομετρική φιάλη 1L
- Φίλτρα σύριγγας καθαρισμού δείγματος, PTFE 0,45 μ m (whatman uniflo 13/0.45 PTFE Fittereinheit/ Filter unit)
- Υάλινες σύριγγες 1mL

4.2.3. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικής καθαρότητας.

- Ισοοκτάνιο (Panreac, κωδ. 701881.1612)
- Χλωριούχος Κασσίτερος (Reidel—de Haen , κωδ. 34496)
- Υδροχλωρικό οξύ πυκνό 12N (Reidel—de Haen, Fluka, κωδ. 00562)
- Πρότυπη ουσία: Thiram, φυτοφαρμάκο με πιστοποιητικό ανάλυσης, υψηλής καθαρότητας
- Διθειάνθρακας (CS₂) υψηλής καθαρότητας, καθαρό, άχρωμο ή ελαφρός κίτρινο υγρό, MB: 76,14 και πυκνότητας 1260mg/mL στους 25°C

4.3. Διαδικασία

4.3.1. Προετοιμασία διαλυμάτων- Καμπύλη γραμμικότητας.

4.3.1.1. Διάλυμα εργασίας διθειάνθρακα CS₂

Διάλυμα 100μg/mL σε ισοοκτάνιο. Σε ογκομετρική φιάλη 10mL τοποθετήθηκε 1mL από το διάλυμα παρακαταθήκης CS₂ 1mg/mL και συμπληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο.

4.3.1.2. Διάλυμα βαθμονόμησης CS₂

Διάλυμα 2μg/mL σε ισοοκτάνιο. Σε ογκομετρική φιάλη 20mL τοποθετήθηκαν 400μL από το διάλυμα εργασίας CS₂ 100μg/mL και συμπληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο.

4.3.1.3. Διάλυμα υδρόλυσης χλωριούχου κασσίτερου σε υδροχλωρικό οξύ

Αρχικά παρασκευάστηκε ένα λίτρο (1L) διαλύματος υδρόλυσης χλωριούχου κασσίτερου σε υδροχλωρικό οξύ. Χρησιμοποιήθηκε ογκομετρική φιάλη 1L όπου ζυγίστηκαν στον εργαστηριακό ζυγό 15g χλωριούχου κασσίτερου. Στην συνέχεια προστέθηκε υδροχλωρικό οξύ 12N μέχρι την χαραγή. Το διάλυμα αναδεύτηκε για 2-5 λεπτά σε μαγνητικό αναδευτήρα. Αυτή η διαδικασία έλαβε χώρα μέσα σε απαγωγό, χρησιμοποιώντας και ειδική μάσκα για αποφυγή εισπνοής των αντιδραστηρίων. Ο χλωριούχος κασσίτερος χρησιμοποιήθηκε ως αναγωγικό μέσο και μαζί με το υδροχλωρικό οξύ βελτίωσαν σημαντικά την ανάκτηση διαφορετικών διθειοκαρβαμιδικών.

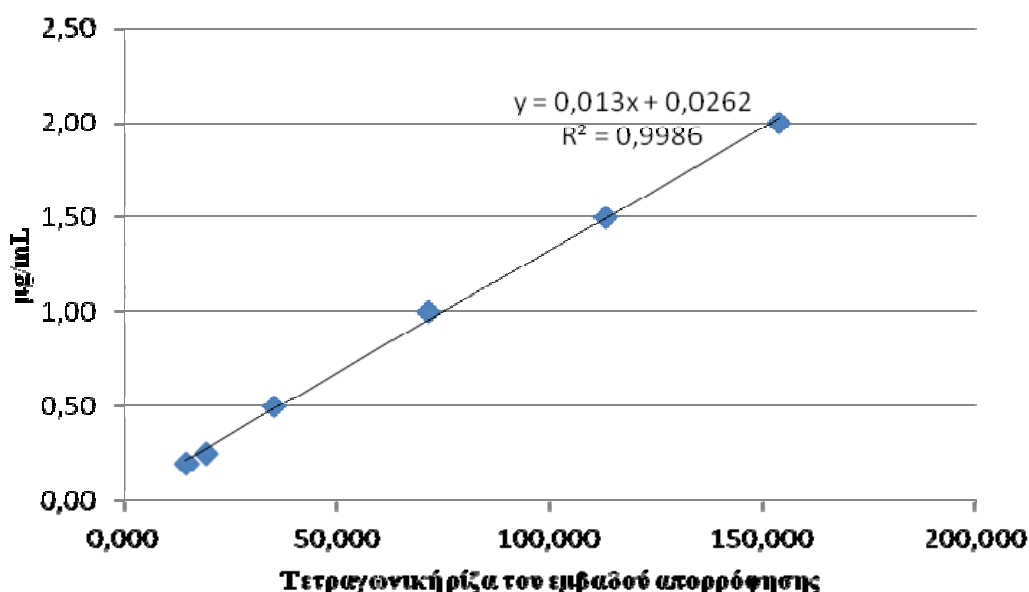
4.3.2. Καμπύλη Γραμμικότητας

Η ποσοτικοποίηση της ανιχνεύσιμης ουσίας έγινε με την βοήθεια της καμπύλης αναφοράς. Για κάθε τρόφιμο πραγματοποιήθηκε διαφορετική καμπύλη αναφοράς. Το εύρος αυτής της καμπύλης ήταν από 0,20- 2,00 mg/ kg.

Η ποσότητα του διθειάνθρακα CS₂ που βρίσκεται στον όγκο έγχυσης υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς. Χρησιμοποιείται η τετραγωνική ρίζα του εμβαδού της κορυφής απορρόφησης του διθειανθρακα, επειδή ο φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας (FPD) με φίλτρο θείου είναι πολύ εκλεκτικός ανιχνευτής.

Σ' αυτή την ανάλυση, για την καμπύλη γραμμικότητας για τα πορτοκάλια, παρασκευάστηκαν διαλύματα βαθμονόμησης των παρακάτω συγκεντρώσεων σε

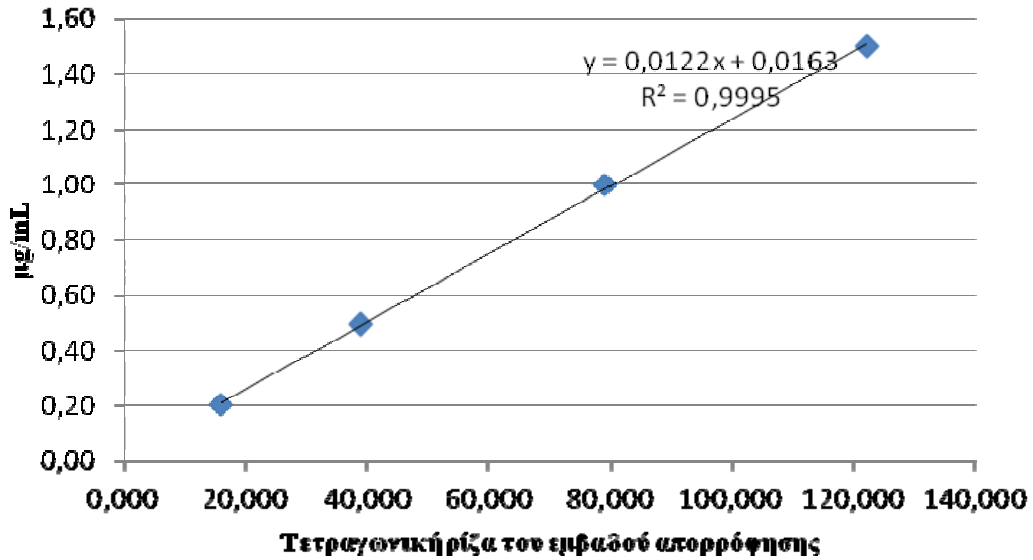
διθειάνθρακα. Τα πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης διθειάνθρακα CS₂ 2,00, 1,5, 1,0, 0,50, 0,25 και 0,20 ppm παρασκευάστηκαν με παραλαβή από το διάλυμα εργασίας (συγκέντρωσης 2μg/mL) ποσότητες 10mL, 7,5mL, 5,0mL, 2,5mL, 1,25mL, και 0,50mL αντίστοιχα, που τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 10mL και συμπληρώθηκαν μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο. Μετά από εμβολιασμό των δειγμάτων, εκχύλιση και χρωματογραφική ανάλυση, και τον υπολογισμό του τετραγώνου του εμβαδού των κορυφών των χρωματογραφημάτων, δημιουργήθηκε η καμπύλη αναφοράς του Σχήματος 4.



Σχήμα 4. Καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό CS₂ σε πορτοκάλια

Για να είναι τέλεια καμπύλη, ο αριθμός R² πρέπει να έχει την τιμή 1. Στην περίπτωση μας έχει την τιμή R²=0.9986 η οποία είναι αποδεκτή. Η εξίσωση της καμπύλης είναι $y=0.013x + 0.0262$ και όλοι οι υπολογισμοί για τα δείγματα πορτοκαλιού έγιναν σύμφωνα με αυτή την εξίσωση.

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, κατασκευάστηκε αντίστοιχη καμπύλη για τα δείγματα ροδάκινου, όπου χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα διθειάνθρακα συγκέντρωσης 1,5, 1,00, 0,50 και 0,20ppm και μετά από εμβολιασμό των δειγμάτων, εκχύλιση και χρωματογραφική ανάλυση, και τον υπολογισμό του τετραγώνου του εμβαδού των κορυφών των χρωματογραφημάτων, δημιουργήθηκε η καμπύλη αναφοράς του Σχήματος 5.



Σχήμα 5. Καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό CS₂ σε ροδάκινα

Ο αριθμός R² είχε την τιμή R²=0.9995 η οποία είναι αποδεκτή. Η εξίσωση της καμπύλης είναι $y=0,0122x + 0,0163$ και όλοι οι υπολογισμοί για τα ροδάκινα έγιναν σύμφωνα με αυτή την εξίσωση.

Στα υπό ανάλυση τρόφιμα δεν είναι γνωστό το είδος και η ποσότητα των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν, έτσι αποδεκτά είναι τα αποτελέσματα που προκύπτουν μετά την ανάλυση των χρωματογραφημάτων σε ποσότητα διθειάνθρακα, χωρίς την χρήση διορθωτικών συντελεστών.

Στην περίπτωση που είναι γνωστό το πόσες και ποιες δραστικές ουσίες χρησιμοποιήθηκαν, οι ποσότητες διθειάνθρακα (CS₂) που μετρώνται, μετατρέπονται στις αντίστοιχες διθειοκαρβαμιδικές ενώσεις με ένα συντελεστή μετατροπής (Πίνακας 4) που βασίζεται στη θεωρητική μοριακή μάζα κάθε ένωσης (πχ thiram 1,579 και αυτό διότι γνωρίζοντας ότι από 240,4g thiram προκύπτουν 152,24g CS₂, συνεπώς 0,63327g CS₂/g thiram ή 1,579g thiram/ g CS₂).

Δραστική Ουσία	Διορθ.Συντελεστής
Mancozeb	1.776
Maneb	1.742
Propineb	1.903
Thiram	1.579
Ziram	1.810
Metiram	1.811
Zineb	1.811

Πίνακας 4. Διορθωτικοί συντελεστές ορισμένων δραστικών ουσιών

4.4. Προετοιμασία δειγμάτων και εκχύλιση.

4.4.1. Προετοιμασία δειγμάτων.

Τα προς ανάλυση δείγματα των φρούτων (ροδάκινα και πορτοκάλια) έφτασαν στο εργαστήριο σε ποσότητα μεγαλύτερη από 1kg. Επεξεργάστηκαν σε νωπή κατάσταση χωρίς να πλυθούν και χωρίς να ξεφλουδιστούν (Καϊδατζής 1998).



Σχήμα 6. Γυάλινες Φιάλες 250mL με βιδωτό καπάκι

Αφαιρέθηκαν ξένες ύλες που μπορεί να υπήρχαν. Στην ανάλυση δεν χρησιμοποιήθηκαν ρίζες, κοτσάνια, κλαδιά, φύλλα, χαλασμένα φύλλα, κορυφές. Σε περίπτωση που το δείγμα δεν αναλύθηκε αμέσως, διατηρήθηκε εκτός ψυγείου για την αποφυγή απώλειας των διθειοκαρβαμιδικών.

Από το αρχικό δείγμα λήφθηκε ικανοποιητικό δείγμα (150-200g), που τοποθετήθηκε σε πλαστικές διάφανες σακούλες. Ανάλογα με το είδος του τροφίμου, χρησιμοποιείται είτε ολόκληρος καρπός ή σπόρος είτε λαμβάνονται τυχαία μικρά κομμάτια από όλη την ποσότητα του αρχικού δείγματος. Δεν πολτοποιείται για την αποφυγή απώλειας διθειοκαρβαμιδικών.

Από το αρχικό δείγμα λήφθηκε ικανοποιητικό



Σχήμα 7. Οι φιάλες κατά την παραμονή τους σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Ζυγίστηκαν 50g ($\pm 0,5g$) από κάθε δείγμα σε γυάλινες φιάλες 250mL με βιδωτό καπάκι, στον εργαστηριακό ζυγό (Πίνακας 5). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 150mL του αντιδραστηρίου υδρόλυσης χλωριούχου κασσιτέρου με υδροχλωρικό οξύ και 25mL ισοοκτανίου και οι φιάλες αμέσως σφραγίστηκαν. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματα. Οι φιάλες

επώασαν για δύο (2) ώρες σε κλειστό δονούμενο υδατόλουτρο (75 δονήσεις/ λεπτό), το οποίο είχε ήδη προθερμανθεί στους 80°C. Στο τέλος, οι φιάλες αφέθηκαν να κρυώσουν σε θερμοκρασία δωματίου (Σχήμα 7). Το ισοοκτάνιο που περιείχε πλέον ποσότητα διθειάνθρακα, είχε διαχωριστεί στην υπερκείμενη φάση.

Πίνακας 5. Βάρος δειγμάτων και διαχωρισμός ανά μήνα ανάλυσης.

	Απρίλιος	Μάιος	Αύγουστος	Σεπτέμβριος	
Πορτοκάλια	Δείγμα 1	50,00			
	Δείγμα 2	50,00			
	Δείγμα 3	50,04			
	Δείγμα 4		50,07		
	Δείγμα 5			50,03	
	Δείγμα 6				50,05
	Δείγμα 7				50,07
	Δείγμα 8				50,05
	Δείγμα 9				50,01
	Δείγμα 10				50,02
	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος	Αύγουστος	
Ροδάκινα	Δείγμα 1	50,01			
	Δείγμα 2	50,02			
	Δείγμα 3	50,06			
	Δείγμα 4	50,00			
	Δείγμα 5		50,05		
	Δείγμα 6		50,02		
	Δείγμα 7			50,06	
	Δείγμα 8			50,00	
	Δείγμα 9				50,04
	Δείγμα 10				50,08

Αφού τα δείγματά έφτασαν σε θερμοκρασία δωματίου, με υάλινες πιπέτες και μικρό Poir, συλλέχθηκε 1mL περίπου από την υπερκείμενη στοιβάδα κάθε δείγματος. Αυτή η ποσότητα μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη για GC ανάλυση αφού πέρασε πρώτα από σύριγγα 1mL και φιλτράκι 0,45μL.

Η δειγματοληψία αυτή πραγματοποιήθηκε μέσα σε απαγωγό (Σχήμα 8), με χρήση ειδικής μάσκας και προστατευτικών γυαλιών, ώστε να παρέχεται η κατάλληλη προστασία από τυχόν έκλυση αερίων ή σταγονιδίων από τα δείγματα.



Σχήμα 8. Χώρος εργασίας: απαγωγός- αντιδραστήρια

Τα φιαλίδια αυτόματου δειγματολήπτη τοποθετήθηκαν στην ειδική θήκη του χρωματογράφου, αφού είχαν αριθμηθεί με τον αντίστοιχο αριθμό δείγματος.

4.4.2. Συνθήκες GC.

Για την GC ανάλυση χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος (GC) Agilent GC-6890, με αυτόματο δειγματολήπτη 7683 και ανιχνευτή θείου- φωσφόρου (FPD), με τριχοειδή στήλη HP-5 MS διαστάσεων 30m x 0,32mm x 0,25μm. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα της στήλης ήταν 45°C (1min), 45- 280°C (10°C/ min), 280°C (0 min). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο με ταχύτητα ροής 1,9mL/min. Ο ανιχνευτής (FPD) ήταν θείου- φωσφόρου με θερμοκρασία 250°C και η θερμοκρασία έγχυσης 250°C. Ο όγκος έγχυσης δείγματος ήταν 4μL με διαδικασία split και αναλογία 10:1 (σχήμα 9).



Σχήμα 9. Αέριος χρωματογράφος Agilent GC- 6890N

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

5.1. Χρωματογραφική ανάλυση δειγμάτων

Το κάθε φιαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη για GC ανάλυση με τα δείγματά μας πέρασε από τον αέριο χρωματογράφο (GC) φλόγας (FPD), δίνοντας το καθένα το αντίστοιχο χρωματογράφημα όπου εμφανίστηκε η κορυφή με την ανιχνεύσιμη ποσότητα πλέον διθειάνθρακα CS₂.

Από τα χρωματογραφήματα εξάγονται διάφορες πληροφορίες, ο αριθμός των κορυφών απορρόφησης, ο χρόνος, το πλάτος, το εμβαδόν, το ύψος της καμπύλης (Σχήμα 10).

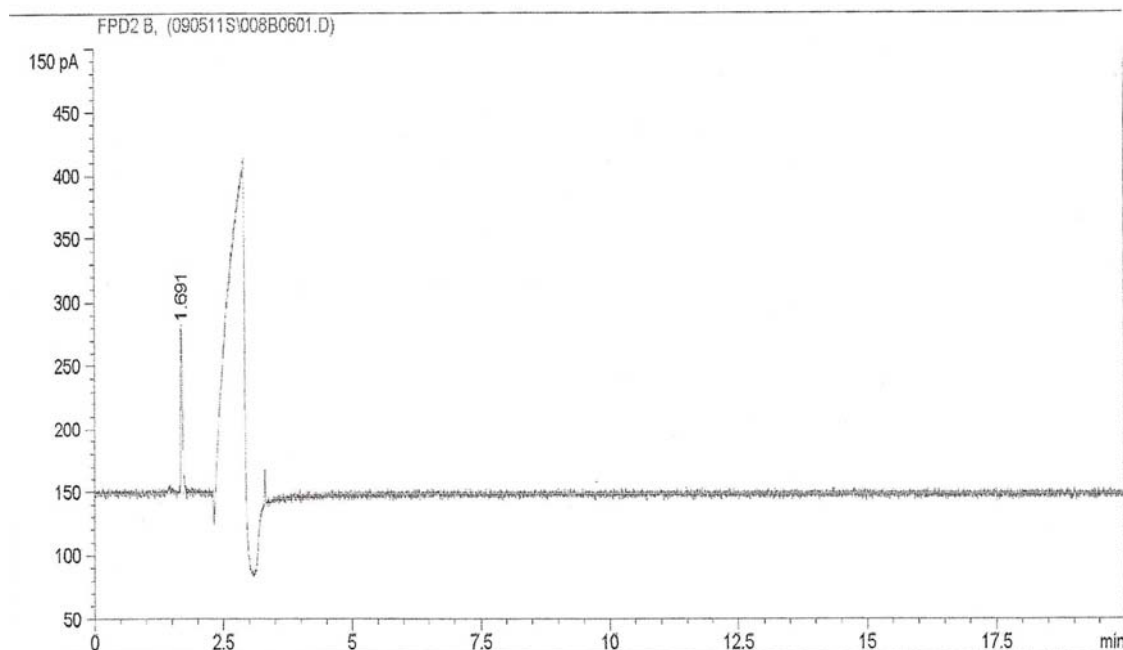
Για τον υπολογισμό της ποσότητας διθειάνθρακα που περιέχεται στα πορτοκάλια παρατηρήθηκε το εμβαδόν της καμπύλης. Υπολογίστηκε η τετραγωνική ρίζα του εμβαδού κάθε χρωματογραφήματος και στην συνέχεια, με την βοήθεια της εξίσωσης της καμπύλης αναφοράς $y=0.013x + 0.0262$, υπολογίστηκε η ποσότητα διθειάνθρακα σε κάθε δείγμα.

Τα αποτελέσματα για τα πορτοκάλια εκφράστηκαν σε mg/kg (ppm) με ακρίβεια στο δεύτερο δεκαδικό ψηφίο (Πίνακας 6.). Περιεκτικότητες μικρότερες από το όριο αναφοράς δεν ποσοτικοποιήθηκαν στο όριο αναφοράς της μεθόδου.

Πορτοκάλια	Εμβαδόν	Μέτρηση
Δείγμα 1	87,61	N.D. (0,15)
Δείγμα 2	1442,86	0,52
Δείγμα 3	67,57	N.D. (0,13)
Δείγμα 4	381,15	0,28
Δείγμα 5	110,04	N.D. (0,16)
Δείγμα 6	133,63	N.D. (0,18)
Δείγμα 7	166,15	N.D. (0,19)
Δείγμα 8	783,16	0,39
Δείγμα 9	160,02	N.D. (0,19)
Δείγμα 10	149,57	N.D. (0,19)

Πίνακας.6. Εμβαδόν κορυφής και ποσοτική ανίχνευση CS₂ στα δείγματα πορτοκαλιών

Γραμμή ακολουθίας (SeqLine) : 6
 Τοποθεσία (Location) : Φιαλίδιο 8
 Έγχυση (Injection) : 1
 Όγκος Έγχυσης (InjVolume) : 4μL



Περιοχή Αναφοράς Ποσοστών (Area Percent Report)

Ταξινόμηση βάσει (Sorted By) : Σημείου
 Πολλαπλασιαστής (Multiplier) : 1,0000
 Διάλυση (Dilution) : 1,0000

Χρήση πολλαπλασιαστή & συντελεστή διάλυσης με ISTDs
 (Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs)

Σημείο 1 (Signal 1) : FPD2 B,

Κορυφή (Peak) #	Χρόνος αποδ. (RetTime) [min]	Τύπος (Type)	Εύρος (Width) [min]	Εμβαδόν (Area) 150 pA*s	Ύψος (Height) [150 pA]	Εμβαδόν (Area) %
1	1,691	BV	0,0393	330,3926	131,6717	100

Συνολικά (Totals) : 330,3926 131,6717

Σχήμα 10. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα ανίχνευσης CS₂.

Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα ροδάκινα, με την χρήση της αντίστοιχης καμπύλης αναφοράς $y=0,0122x + 0,0163$, και έτσι τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 7.

Ροδάκινα	Εμβαδόν	Μέτρηση
Δείγμα 1	167,44	N.D. (0,17)
Δείγμα 2	330,39	0,24
Δείγμα 3	152,28	N.D. (0,17)
Δείγμα 4	917,61	0,39
Δείγμα 5	699,39	0,34
Δείγμα 6	203,49	N.D. (0,19)
Δείγμα 7	2529,29	0,63
Δείγμα 8	124,77	N.D. (0,15)
Δείγμα 9	83,17	N.D. (0,13)
Δείγμα 10	202,71	N.D. (0,19)

Πίνακας 7. Εμβαδόν κορυφής και ποσοτική ανίχνευση CS₂ στα δείγματα ροδάκινων

Τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού της μεθόδου καθορίστηκαν στα 0,2 mg/kg, αφού μικρότερες ποσότητες δεν είναι ανιχνεύσιμες με την συγκεκριμένη μέθοδο. Τα όρια αυτά έχουν υπολογιστεί με πειραματικά δεδομένα βάση της ανάκτησης και της επαναληψιμότητας.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε η ποσότητα του διθειάνθρακα CS₂ στα είκοσι δείγματά, δέκα δείγματα ροδάκινο και δέκα πορτοκάλι και βρέθηκε ότι:

- δεν εμφανίστηκε ανιχνεύσιμη ποσότητα διθειάνθρακα, στα δείγματα πορτοκαλιών ένα (1), τρία (3), πέντε (5), έξι (6), επτά (7), εννέα (9) και δέκα (10) με ποσότητες 0,15, 0,13, 0,16, 0,18, 0,19, 0,19 και 0,19 αντίστοιχα, και στα δείγματα ροδάκινου ένα (1), τρία (3), έξι (6), οκτώ (8), εννέα (9) και δέκα (10) με ποσότητες 0,17, 0,17, 0,19, 0,15, 0,13 και 0,19 αντίστοιχα που δεν ποσοτικοποιήθηκαν στο όριο αναφοράς της μεθόδου
- στα δείγματα τέσσερα (4) από τα πορτοκάλια και δύο (2) από τα ροδάκινα ανιχνεύτηκε ποσότητα διθειάνθρακα αρκετά κοντά στο όριο, 0,28 και 0,24

αντίστοιχα, αλλά τελικά απαγορευτική για να είναι το τρόφιμο κατάλληλο για κατανάλωση

- στα δείγματα πορτοκαλιού δύο (2) και οκτώ (8) και στα δείγματα ροδάκινου τέσσερα (4), πέντε (5), επτά (7) ανιχνεύτηκε ποσότητα διθειάνθρακα 0,52 και 0,39 στα πορτοκάλια και 0,39, 0,34, 0,63 αντίστοιχα, πολύ πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια, που καθιστά τα δείγματα ακατάλληλα προς κατανάλωση σύμφωνα με την νομοθεσία.

Η χρήση φυτοφαρμάκων διαφέρει από καλλιέργεια σε καλλιέργεια. Ευπαθέστερες καλλιέργειες εμφανίζουν υψηλότερες ποσότητες φυτοφαρμάκων, όπως στη συγκεκριμένη περίπτωση τα ροδάκινα, ως ευπαθέστερα από τα πορτοκάλια. Διαφορές εντοπίζονται ανάμεσα στις περιοχές όπου υπάρχουν καλλιέργειες ανάλογα με το πλήθος των βλαβερών οργανισμών, αλλά κατά κύριο λόγο, η ποσότητα των φυτοφαρμάκων εξαρτάται από την ικανότητα και την αποτελεσματικότητα με την οποία ο παραγωγός χρησιμοποιεί τα φυτοφάρμακα.

Πολλές τεχνικές έχουν εφαρμοστεί σε υπολείμματα διθειοκαρβαμιδικών στα τρόφιμα για την ανάλυση του διθειάνθρακα (CS₂) που αναπτύσσεται κατά την διάρκεια της όξινης επεξεργασίας των διθειοκαρβαμιδικών υπολειμμάτων, όπως φασματοφωτομετρική, υπερκείμενη αέρια χρωματογραφία (GC), υψηλής πίεσης αέρια χρωματογραφία (HPLC), αυτόματη θερμική αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μάζας (ATD- GC- MS) κα.

Διάφορες έρευνες έχουν γίνει για κάθε μέθοδο καταλήγοντας συνοπτικά ότι η HPLC ανάλυση επιτρέπει βιολογική εξέλιξη των διθειοκαρβαμιδικών, ενώ η GC παρέχει πιο ευαίσθητο προσδιορισμό, η ATD μέθοδος είναι πιο εύκολη και πιο άμεση ωστόσο η ανάλυση κάθε φορά είναι μοναδική και έτσι ενέχει τον κίνδυνο απώλειας δεδομένων στην περίπτωση προβλήματος στα όργανα. Τελικά, η μέθοδος αέριας χρωματογραφίας με ισοοκτάνιο που αναλύθηκε παραπάνω, παρέχει μια απλή διαδρομή για την ανάλυση διθειοκαρβαμιδικών. Δεν είναι επιλεκτική για τα διάφορα διθειοκαρβαμιδικά, δίνει αποτελέσματα μέσα στα αποδεκτά όρια με καλές ανακτήσεις και εύκολη αναπαραγωγή. Επίσης, για τις αναλύσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεγάλη γκάμα συσκευών δειγματοληψίας και επιτρέπει πολύ-υπολειμματικές αναλύσεις (Coldwel et al., 2002).

5.2. Ανακτήσεις- Εμβολιασμός δείγματος.

Για τον υπολογισμό ανακτήσεων και έλεγχο του χρωματογράφου μας, των αντιδραστηρίων και της σωστής πειραματικής διαδικασίας, εμβολιάστηκαν δείγματα με γνωστή ποσότητα Thiram (200μL, 10μL) (Σχήμα 11).

Χρησιμοποιήθηκαν δύο δείγματα ροδάκινο και δύο πορτοκάλι. Από το δείγμα λήφθηκε αντιπροσωπευτικό δείγμα. Ζυγίστηκαν και σε αυτή την περίπτωση 50g ($\pm 0,5$ g) από κάθε δείγμα σε γυάλινες φιάλες 250mL με βιδωτό καπάκι, στον εργαστηριακό ζυγό.

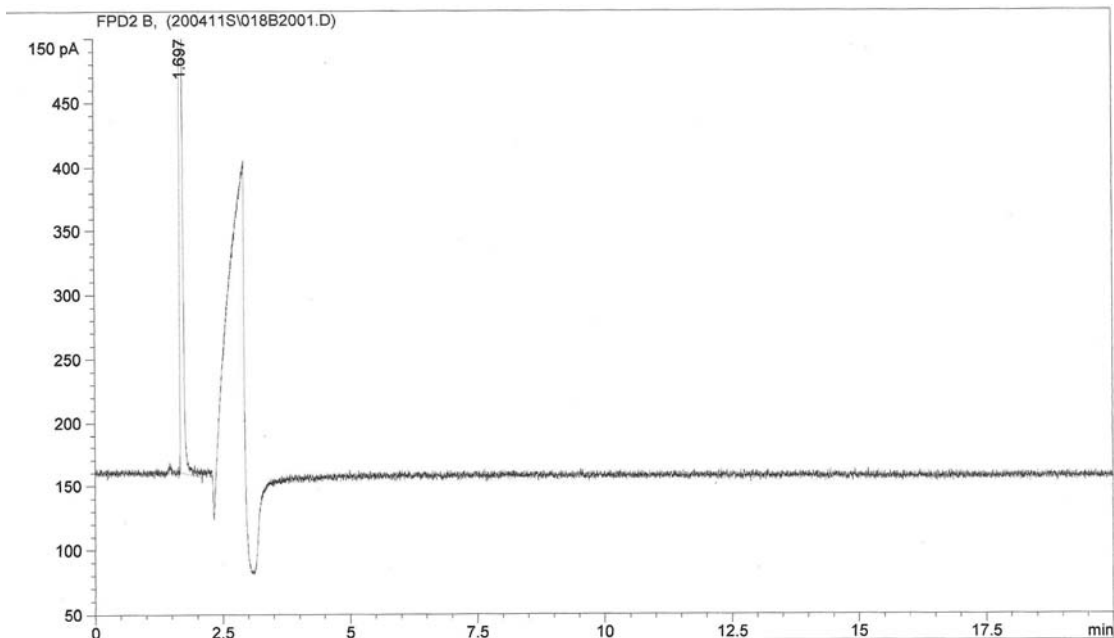
Ο εμβολιασμός έγινε με την βοήθεια μηχανικής πιέτας, προσπαθώντας να διαμοιραστεί σε ολόκληρη την ποσότητα δείγματος μέσα στην φιάλη. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τα εμβολιασμένα δείγματα ήταν η ίδια με τα υπόλοιπα δείγματα.

Τελικά, μετά την διεξαγωγή όλης της διαδικασίας και την συλλογή των χρωματογραφημάτων, τα εμβολιασμένα δείγματα έδωσαν τα αποτελέσματα του Πίνακα 8.

Εμβολιασμένο Δείγμα	Βάρος δείγματος	Ποσότητα εμβολιασμού	Εμβαδόν	Μέτρηση
Πορτοκάλι 1	50,06 g	1 ppm	5785,18750	1,015
Πορτοκάλι 2	50,02 g	0,2 ppm	211,47069	0,21527
Ροδάκινο 1	50,00 g	1 ppm	5318,2350	0,906
Ροδάκινο 2	50,05 g	0,2 ppm	257,0503	0,2119

Πίνακας.8. Ανάκτηση CS₂ σε πορτοκάλια και ροδάκινα μετά από εμβολιασμό 0,2 και 1ppm Thiram

Γραμμή ακολουθείας (SeqLine) : 20
 Τοποθεσία (Location) : Φιαλίδιο 18
 Εγχυση (Injection) : 1
 Όγκος Έγχυσης (InjVolume) : 4μL



Περιοχή Αναφοράς Ποσοστών (Area Percent Report)

Ταξινόμηση βάσει (Sorted By) : Σημείου
 Πολλαπλασιαστής (Multiplier) : 1,0000
 Διάλυση (Dilution) : 1,0000

Χρήση πολλαπλασιαστή & συντελεστή διάλυσης με ISTDs
 (Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs)

Σημείο 1 (Signal 1) : FPD2 B,

Κορυφή (Peak) #	Χρόνος αποδ. (RetTime) [min]	Τύπος (Type)	Εύρος (Width) [min]	Εμβαδόν (Area) 150 pA*s	Ύψος (Height) [150 pA]	Εμβαδόν (Area) %
1	1,697	BBAS	0,0392	5785,1875	2307,5479	100

Συνολικά (Totals) : 5785,1875 2307,5479

Σχήμα.11. Ενδεικτικό χρωματογράφημα ανίχνευσης CS₂

Για να υπολογιστούν οι ανακτήσεις, το *Thiram* χρησιμοποιήθηκε ως “αντιπρόσωπος” όλων των διθειοκαρβαμιδικών. Χρησιμοποιήθηκε και ο διορθωτικός συντελεστής για το *Thiram*. Έτσι λοιπόν, βρέθηκαν 1,015ppm στο δείγμα «Πορτοκάλι 1» και με τον διορθωτικό συντελεστή για το *Thiram* 1,579, η ανιχνεύσιμη ποσότητα είναι 1,603ppm. Άρα στα 50,06g θα υπάρχουν 0,08ppm. Προστέθηκαν 0,1ppm και βρέθηκαν 0,08 ppm άρα η ανάκτηση είναι 80%. Αντίστοιχα για τα υπόλοιπα έχουμε τις ανακτήσεις του Πίνακα 9.

Εμβολιασμένο Δείγμα	Ανάκτηση
Πορτοκάλι 1	80 %
Πορτοκάλι 2	85 %
Ροδάκινο 1	71,5 %
Ροδάκινο 2	83,75 %

Πίνακας 9. Ανάκτηση CS₂ σε πορτοκάλια και ροδάκινα μετά από εμβολιασμό 0,2 και 1ppm *Thiram*

Οι ανακτήσεις βρέθηκαν πάνω από 70%, καθιστώντας την μέθοδο αξιόπιστη, και τοποθετώντας τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού της μεθόδου στα 0,2 mg/kg. Βιβλιογραφικά, οι ανακτήσεις κυμαίνονται από 70-110%.

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται οι ανακτήσεις και η μέθοδος προσδιορισμού διάφορων φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία, σε συγκεκριμένα δείγματα, καθώς και το μέσο εκχύλισής τους.

Γενικότερα, βιβλιογραφικά φαίνεται ότι η GC ανάλυση με MS-, FPD- ή ECD- ανιχνευτές έχει καλύτερη εκλεκτικότητα από την φασματοφωτομετρική μέθοδο (Kerpel) (De Kok et al.). Η χρωματογραφία με φωτομετρικό προσδιορισμό φλόγας εμφανίζεται πιο εκλεκτική μέθοδος και πιο συγκεκριμένη, με αποτέλεσμα να αποκτήσει αυξανόμενη δημοτικότητα και συνεπώς προτιμάται ευρέως μαζί με την φασματομετρία μάζας (με παγίδευση ιόντων) (GC- MS (ITD)) από εργαστήρια αναλύσεων.

Πίνακας 10. Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία (Fodor- Csorba, 1992)

ΕΝΩΣΗ	ΔΕΙΓΜΑ	ΕΚΧΥΛΙΣΗ	ΕΚΚΑΘΑΡΙΣΗ	ΑΝΑΚΤΗΣΗ(%)	ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
Dimethoate	Φρούτα	(1) CH ₃ CN-H ₂ O	Partition	(1) 82-140	ECD	Chromosorb W
Lindane		(2) Acetone	Sep-Pak	(2) 87-129	NPD	SPB-5
Fenitrothion		(3) Acetone-MeOH	C 18	(3) 81-130	FPD	cGC
Malathion		(4) CH ₃ CN, Na ₂ S ₀₄		(4) 81-129	GC-MS	
Chlorpyrifos						
Methidathion						
Tetradifon						
Tetradithion						
Phenthoate						
Parathion-methyl	Έλαια λεμονιού	Εκχύλιση πίεσης			NPD	cGC
Parathion-ethyl		Σύστημα On-line εκχύλισης				
Methidathion						
Quinalphos						
Diazinon						
Fenitrothion						
Malathion						
Bromophos-ethyl						
Chorpyrifos	Πιπέρι	EtOAc	Florisil	>80	ECD	Dimethylpolysiloxane
Dichlofluanid	Αγγούρι	Na ₂ S ₀₄				
Dichloran						cGC
Endosulfan						
γ-HCH						
Procymidon						
Vinclozolin						
α-BHC	Ρύζι	Acetone-MeOH	Bio-Beads S-X3	>83	ECD	BP-1
Carbaryl	Σπόροι σόγιας		Cyclohexylamine-CH ₂ Cl ₂ , (1:1)	>81	NPD	cGC
19 Pesticides	Πεπόνι, Γλυκό πιπέρι, Αγγούρια, Μαρούλι, Κολοκύθι					HP-17 BP- 1 SPB- 1
C-, P-, Cl-, F-, N-, S-containing pesticides	12 Βασικά Γεωργικά προϊόντα		Χωρίς εκκαθάριση		AES	cGC
Cl-, F-, P-containing pesticides					ECD, ED, NPD, FPD	
Bromoxynil	Κρεμμύδι	80% EtOH, NaOH, hydrolysis	NaCl satd.soln.Diethyl ether Florisil	94- 117	Derivatization CH ₂ N ₂	HP-1 cGC
Triadimenol	Φρούτα, Δημητριακά	Acetylation	Florisil Light petroleum-diethyl ether (96:4) Light petroleum-EtOAc(3:2)	83-96	TID	5% ov-101 Chromosorb W HP
Paraquat	Πατάτες	Deriv.NaBH ₄	Partition	86-100	NPD	5% Apiezon L
Diquat	Κραμβόσποροι				GC-MS	3% KOH on Interton Super
Ethoprop	Φύλλα μέντας, Λάδι, Δυόσμος, Μέντα	Hexane	Charcoal Florisil		GC GC-MS	7% ov-17 Chromosorb W HP DB-5 capillary
Carbaryl	Μήλο			73-120	GC-CI-MS	DB-1 Methyl fused silica
Captan	Ροδάκινο					
Dichloran	Ντομάτα					
Dimethoate	Πατάτα					
Methamidophos						
Phosmet						
Dicamba	Ξηρός καπνός	Hexane-diethyl ether (1:1)	Derivatization		On-line LC-GC UV ECD	LC Spherisorb S-5-W OV-16-OH ID fused silica
OC	Butter	Melting Na ₂ S ₀₄			LC- GC ECD	Biol-Sil ODS-10 Capillary SE-52

5.3. Απόβλητα.

Το περιεχόμενο των φιαλών ανήκει στα επικίνδυνα τοξικά απόβλητα. Έτσι μετά το τέλος της διαδικασίας οι φιάλες αδειάζονται σε ειδικά δοχεία και πλένονται καλά χωρίς να έρθει το περιεχόμενο σε επαφή με το περιβάλλον. Στη συνέχεια δέχεται την κατάλληλη βιολογική επεξεργασία ώστε να είναι ακίνδυνο προς το περιβάλλον.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εκχύλιση του διθειάνθρακα από ισοοκτάνιο που ακολουθείται από άμεση ανάλυση GC, είναι μια αποδοτική μέθοδος για τον προσδιορισμό των διθειοκαρβαμιδικών (ως διθειάνθρακα CS₂), δεν εμφανίζει δυσκολία στην διεξαγωγή της και το κόστος της δεν είναι υψηλό. Είναι μια γρήγορη μέθοδος, δίνοντας την δυνατότητα να αναλύεται μεγάλη ποσότητα δειγμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Οι ανακτήσεις κυμαίνονται από 70-110% διατηρώντας χαμηλά το επίπεδο του ορίου αναφοράς.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

- Belitz H.D., Grosch W. & Schieberle P. (2006). Χημεία Τροφίμων, 3^η έκδοση, pp775- 789, Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη
- Caldas E.D., Miranda M.C.C., Conceicao M.H. & de Souza L.C.K.R. (2004). Dithiocarbamates residues in Brazilian food and the potential risk for consumers. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1877–1883
- Coldwell M.R., Pengelly I. & Rimmer D.A. (2003). Determination of dithiocarbamate pesticides in occupational hygiene sampling devices using the iso-octane method and comparison with an automatic thermal desorption (ATD) method. *Journal of Chromatography A*, 984, 81–88
- Crnogorac G. & Schwack W. (2009) Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *Trends in Analytical Chemistry*, 28,
- De Kok A., Volp T. & Verwaal W. (2006) Validation of 3 chromatographic methods (GC-ECD, GC-FPD and GC-MS) for the determination of dithiocarbamates (as CS₂) in fruits and vegetables. *European Pesticide Residue Workshop, York, UK*
- De Kok, A., van Bodegraven, P., 2000. The determination of dithiocarbamate pesticides in fruits, vegetables and cereals via iso-octane extraction of carbondisulfide and subsequent GC–ECD analysis. *European Pesticide Residue Workshop, York, UK, July 3–5.*
- Fodor-Csorba K., (1992) Chromatographic methods for the determination of pesticides in foods. *Journal of Chromatography*, 624, 353-367
- Green M.B. (1999), Φυτοφάρμακα: Ευλογία ή Κατάρα; Σύλλογος προς διάδοσιν ωφέλιμων βιβλίων, Αθήνα
- Schwedt G. (1996). Εγχειρίδιο των φυσικών και χημικών μεθόδων ανάλυσης. pp 142,164-165, Επιστημονικές εκδόσεις Παρισσιανός Γ. & Παρισσιανού Μ., Αθήνα
- Skoog D.A., Holler F.J. & Nieman T. A. (2003) Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης μετάφραση 5ης έκδοσης, Εκδόσεις Κωσταράκη, Αθήνα
- Torres C.M, Picó Y. & Mafies J. (1996) Determination of pesticide residue in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 754, 301-331
- Zweig G. (1964). Analytical Methods for Pesticides Plant growth regulators and food additives- Volume III. Academic press, New York, London.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Ιατρού Ε. (2009). Μελέτη φωτοδιάσπασης φυτοφαρμάκων και εκτίμηση της συνδυασμένης τοξικότητας τους στη *Lemna minor*. Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη
- Καϊδατζής Ι. (1998). Πολύ- υπολειμματικός προσδιορισμός εντομοκτόνων και μυκητοκτόνων στα φρούτα και στα λαχανικά με αέρια χρωματογραφία, Σχολή Θετικών επιστημών, ΑΠΘ
- Λεμπέση Μ. & Τσιβακάς Σιδέρης (2008). Έλεγχος φυτοφαρμάκων σε φυτικά προϊόντα με GC/MS και με την εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης

Διαδικτυακές πηγές

- http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/srm/meth_DithiocarbamatesCs2_EurlSrm.PDF
Analysis of dithiocarbamate residues in foods of plant origin involving cleavage into carbon disulfide, partitioning into isooctane and determinative analysis by GC- ECD. Community Reference Laboratories for residues of pesticides, Germany

Προσωπική επικοινωνία

Καϊδατζής Ιωάννης, Προϊστάμενος εργαστηρίου αναλύσεων τροφίμων AGROLAB