

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

« Παρακολούθηση – Τύχη υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε
πιπεριές και κολοκυθάκια στον αγρό»



Τσούρα Ελένη

ΒΟΛΟΣ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2013



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 12216/1

Ημερ. Εισ.: 12/12/2013

Δωρεά: Συγγραφέα

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ-ΦΠΑΠ

2013

ΤΣΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**« Παρακολούθηση – Τύχη υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων σε
πιπεριές και κολοκυθάκια στον αγρό»**

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τσιρόπουλος Νικόλαος Νάνος Γεώργιος Πετρόπουλος Σπύρος
Καθηγητής Αναπληρωτής Καθηγητής Λέκτορας
(Επιβλέπων)

Τσούρα Ελένη

ΒΟΛΟΣ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2013

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αφιερώνεται

στον πατέρα μου,

που είναι πάντα δίπλα μου και με στηρίζει σε ό,τι κάνω!

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου διατριβής θεωρώ υποχρέωση μου να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κύριο Τσιρόπουλο Νικόλαο, Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την πολύτιμη βοήθεια του κατά την διεξαγωγή του πειράματος αλλά και κατά την διάρκεια της συγγραφής της εργασίας αυτής. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νάνο Γεώργιο και τον Λέκτορα κ. Πετρόπουλο Σπύρο για τον χρόνο που διέθεσαν στην διόρθωση της πτυχιακής μου εργασίας και για τις χρήσιμες υποδείξεις τους για την ολοκλήρωσή της.

Επίσης, ένα θερμό ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Φαρμακολογίας κα Παπαδή - Ψύλλου Ασημίνα, καθώς η συμβολή της στην περάτωση του πειράματος και στη συγγραφή του γραπτού κειμένου ήταν καιρική και ουσιώδης. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συμφοιτήτριες μου Νικολαΐδου Αναστασία για την άριστη συνεργασία μας στα πλαίσια του παρόντος πειράματος, την Αθανασιάδου Αναστασία και την Αγραφιώτη Παρασκευή για τη συνεχή υποστήριξη και βοήθεια τους σε όλα τα χρόνια των σπουδών μας.

Αφιερώνεται, ακόμη, στην φίλη μου Φαλλιά που «έφυγε» νωρίς και δεν πρόλαβε να ολοκληρώσει την δική της πτυχιακή διατριβή...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	5
Καλλιέργεια Πιπεριάς.....	6
Ανάπτυξη	6
Καλλιεργητικές εργασίες.....	8
Φυσιολογικές ασθένειες ή ανωμαλίες	9
Καλλιέργεια κολοκυθιού.....	11
Συγκαλλιέργεια κολοκυθιών	12
Ασθένειες – Έντομα εχθροί	12
Πρόσληψη και κίνηση φυτοφαρμάκων	13
Προστατευτικά και διασυστηματικά φυτοφάρμακα.....	13
Τοξικολογικές μελέτες.....	14
Σκευάσματα φυτοφαρμάκων.....	15
Υπολείμματα φυτοφαρμάκων.....	16
Μέγιστο ανώτατο ή αποδεκτό όριο υπολειμμάτων στα προϊόντα (MRL).....	16
Τα υπολείμματα στα προϊόντα και οι σχετικές νομοθεσίες τους.....	17
Οφέλη από την χρήση φυτοφαρμάκων	18
Κίνδυνοι και κόστος χρήσης των φυτοφαρμάκων.....	19
Χρωματογραφία	21
Αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography - GC).....	21
Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography System – HPLC).....	22
Στήλες HPLC – Υλικά πλήρωσης	23
Φασματογραφία μάζας (Mass Spectrometry - MS)	24
Ανοσοδοκμασίες	24
Προσδιορισμός υπολειμμάτων	24
Επικύρωση μεθόδου	25
Καθορισμός των αναλυτικών απαιτήσεων της επικύρωσης	26
Διαδικασία επικύρωσης μεθόδου.....	26
Εσωτερικός έλεγχος ποιότητας	28
Μελέτες υπολειμμάτων	30
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	34
Υλικά και μέθοδοι.....	35
Πείραμα αγρού.....	35

Δειγματοληψία στον αγρό	35
Εξοπλισμός εργαστηρίου	36
Χημικά αντιδραστήρια – Διαλύματα.....	37
Χρησιμοποιηθέντα φυτοφάρμακα.....	38
Mycloboutanil.....	38
Pirimicarb.....	39
Penconazole.....	40
Επεξεργασία του δείγματος	40
Διαδικασία εκχύλισης δειγμάτων	41
Αποτελέσματα – Συζήτηση	42
Ποιοτική ανάλυση	42
Ποσοτικός προσδιορισμός.....	44
Πρότυπες καμπύλες – Επίδραση υποστρώματος	44
Έλεγχος και αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου	48
Εξέλιξη υπολειμμάτων σε πιπεριές στον αγρό	50
Εξέλιξη υπολειμμάτων σε κολοκυθάκια στον αγρό	54
Συμπεράσματα	56
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	60

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έλαβε χώρα στην Σχολή Γεωπονικών Επιστημών του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στην πόλη του Βόλου. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου και στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Φαρμακολογίας. Το θέμα του πειράματος αφορά την τύχη των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε υπαίθριες καλλιέργειες πιπεριάς και κολοκυθιού. Συγκεκριμένα, ο τίτλος της πτυχιακής εργασίας είναι « Παρακολούθηση – Τύχη των γεωργικών φαρμάκων σε πιπεριές και κολοκυθάκια στον αγρό» . Το πείραμα υλοποιήθηκε στο αγρόκτημα της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών στο Ν. Μαγνησίας στην τοποθεσία Βελεστίνο, τον Ιούλιο του 2011. Εν συντομία, θα σας αναφέρω τα βήματα που ακολουθήθηκαν για την ολοκλήρωση του πειράματος. Αρχικά, περιποίηση της καλλιέργειας (άρδευση, ξεβοτάνισμα, ψεκασμός με τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα), δειγματοληψία και μεταφορά των λαχανικών στο εργαστήριο. Στην συνέχεια, δρομολογήθηκαν οι απαιτούμενες διαδικασίες επεξεργασίας και ανάλυσης των δειγμάτων για την παρακολούθηση των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα λαχανικά – στους φυτικούς ιστούς μας (πιπεριές και κολοκυθάκια). Αναλυτικότερα, αναφέρονται τα στάδια του πειράματος εντός της πτυχιακής εργασίας.

Η διάρθρωση της επιλέχθηκε, ώστε να είναι όσο το δυνατό περισσότερο κατανοητή και ευανάγνωστη. Αποτελείται από δύο βασικά σκέλη, τα οποία είναι το θεωρητικό μέρος και το πειραματικό μέρος. Στο θεωρητικό μέρος αναπτύσσεται η βιβλιογραφία που αφορά το συγκεκριμένο θέμα και παρέχει πληροφορίες στον αναγνώστη, που θα του χρησιμεύσουν στην κατανόηση της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθεί. Το πειραματικό μέρος καταγράφει όλα τα δεδομένα του πειράματος, τις μετρήσεις και τα αποτελέσματα από την αξιολόγηση της αναλυτικής μεθοδολογίας και την πορεία των υπολειμμάτων στα συλλεχθέντα δείγματα. Τέλος, παρατίθενται τα συμπεράσματα και η συζήτηση που αφορούν τα παραπάνω και αποσκοπούν να συμβάλλουν στην κατανόηση της υπεύθυνης χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για την διεξαγωγή το πειράματος επιλέχθηκαν δύο είδη καλλιεργειών, η πρώτη απαρτιζόταν από πιπεριές και η δεύτερη από κολοκυθάκια. Σκοπός του πειράματος είναι ο εντοπισμός και η παρακολούθηση, μέσω αναλυτικής μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε, των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν στη φυτοπροστασία των καλλιεργειών. Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες (φ.ο.) στόχοι ήταν τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil. Αφού έλαβε χώρα η εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στις καλλιέργειες στη συνέχεια λαμβάνονταν σε διάφορα χρονικά διαστήματα από την εφαρμογή δείγματα καρπών, οδηγούνταν στο εργαστήριο και ακολουθούσε επεξεργασία των δειγμάτων και ανάλυση για τον προσδιορισμό του υπολειμματικού φορτίου και τη διερεύνηση της τύχης των υπολειμμάτων των προαναφερθέντων φ.ο..

Συγκεκριμένα, τα συλλεχθέντα δείγματα κατηγοριοποιήθηκαν με βάση τις ημερομηνίες συγκομιδής μετά την κάθε επέμβαση και προσδιορίστηκε το φορτίο των υπολειμμάτων με σύστημα αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή αζώτου - φωσφόρου (GC - NPD) μετά από εκχύλιση των φυτικών δειγμάτων με οξικό αιθυλεστέρα και εξάνιο. Από τα πειράματα ανάκτησης προέκυψε ότι η αναλυτική μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των pirimicarb, penconazole και myclobutanil στα κολοκυθάκια και στις πιπεριές παρουσιάζεται αξιόπιστη καθόσον τόσο η ορθότητά της όσο και η ακρίβειά της είναι ικανοποιητικές, αφού και οι ανακτήσεις αλλά και οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης κυμαίνονται από 76 μέχρι 104% και από 3 μέχρι 17%, αντίστοιχα.

Από τα πειράματα στον αγρό προέκυψε ότι και στις δύο καλλιέργειες οι τιμές της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων των φ.ο. στόχων μειώνονται πολύ γρήγορα με χρόνους υποδιπλασιασμού των αρχικών συγκεντρώσεων μεταξύ 1 ημέρας και < 4 ημερών. Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στους καρπούς της πιπεριάς είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για τα pirimicarb και penconazole και σε 6 HME για το myclobutanil, ενώ στους καρπούς της πιπεριάς είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για όλες τις φ.ο. της μελέτης.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Καλλιέργεια Πιπεριάς

Βασίλειο:	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία:	Αγγειόσπαρμα (Magnoliophyta)
Ομοταξία:	Δικοτυλήδονα (Magnoliopsida)
Τάξη:	Στρυχνώδη (Solanales)
Οικογένεια:	Στρυχνοειδή (Solanaceae)
Γένος:	Καψικόν (<i>Capsicum</i>)

Η πιπεριά είναι μονοετές θαμνώδες φυτό, με περιορισμένη ανάπτυξη. Το ύψος και το μέγεθός της εξαρτώνται από τις συνθήκες καλλιέργειας. Ο κύριος βλαστός διακλαδίζεται μεταξύ των πρώτων 10 και 40 εκ., σε δύο ή τρεις βλαστούς. Οι δευτερεύοντες βλαστοί αναπτύσσονται από οφθαλμούς και στα σημεία διακλάδωσης σχηματίζεται ο καρπός. Οι μίσχοι και οι βλαστοί βοηθούν στην υποστήριξη των φύλλων, ανθέων και καρπών. Η πιπεριά έχει βαθύ ρίζωμα με πολλές δέσμες ριζιδίων που αναπτύσσονται οριζοντίως σε ακτίνα 30-50 εκ. Τα φύλλα φύονται εναλλάξ, είναι άτριχα, λογχοειδή και λαμπερά πράσινα με μυτερές άκρες. Τα άνθη είναι λευκά, μικρά, μονήρη (κάποτε και σε ταξιανθίες των δύο-τριών άνθεων) με τους μίσχους προς τα κάτω. Η στεφάνη είναι κατάλευκη. Ο κάλυκας σχηματίζεται από κολλημένα μεταξύ τους σέπαλα. Τα σέπαλα σκληραίνουν μέχρι να ωριμάσει ο καρπός. Τα άνθη είναι κυρίως αυτογονιμοποιούμενα. Ο καρπός είναι κοίλος με λαμπερή και λεία επιφάνεια. Οι ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για νωπή κατανάλωση, έχουν διάφορα σχήματα και χρώματα (κόκκινο ή κίτρινο όταν ωριμάζουν). Κάποιες ποικιλίες έχουν γεύση καυτερή γιατί περιέχουν το αλκαλοειδές καψαϊκίνη. Η πιπεριά έχει πολυάριθμους, στρογγυλούς, επίπεδους, κιτρινωπούς σπόρους. Οι σπόροι βλασταίνουν ύστερα από 3-4 ημέρες. Υπάρχουν περίπου 150-180 σπόροι/ γραμμάριο.

Ανάπτυξη

Η ανάπτυξη του φυτού της πιπεριάς επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, εκ των οποίων οι πέντε σημαντικότεροι είναι οι εξής:

Θερμοκρασία:

Η καλλιέργεια αυτή έχει ανάγκη από αυξημένη θερμοκρασία από το πρώτο στάδιο ανάπτυξης μέχρι την ωρίμανση, ενώ δεν επιτρέπονται οι απότομες αλλαγές θερμοκρασίας μεταξύ ημέρας και νύχτας. Για να επιτευχθεί σωστή βλάστηση και καλή παραγωγή, απαιτείται για ένα μήνα τουλάχιστον μέση θερμοκρασία μεταξύ 18 και 22°C. Η ιδανική θερμοκρασία πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 20–25°C στη διάρκεια της ημέρας και 16–18°C τη νύχτα. Σκλήρυνση του φυτού και πτώση των ανθέων προκύπτουν όταν υπάρχει μεγάλη διαφορά μεταξύ ημερήσιας και νυχτερινής θερμοκρασίας. Η ανάπτυξη του φυτού επιβραδύνεται όταν η θερμοκρασία είναι κάτω από τους 15°C. Στους 10°C η ανάπτυξη διακόπτεται, ενώ θερμοκρασίες κάτω των 0°C προκαλούν ζημιές από ψύχος. Από την άλλη πλευρά, θερμοκρασίες άνω των 35°C και ξηρό κλίμα, προκαλούν ανεπαρκή πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων. Η ιδανική θερμοκρασία για τη βλάστηση του σπόρου κυμαίνεται μεταξύ 20 και 30°C. Οι σπόροι δε βλαστάνουν σε θερμοκρασία κάτω των 13°C ή πάνω από 37°C. Στη διάρκεια της βλάστησης και της ανάπτυξης του φυτού, η θερμοκρασία δεν πρέπει να πέφτει κάτω από 18°C, διότι επηρεάζεται σοβαρά η παραγωγή.

Υγρασία:

Η σχετική υγρασία και η θερμοκρασία συμπεριφέρονται αντίστροφα και όταν η σχετική υγρασία είναι μέγιστη οι θερμοκρασιακές απαιτήσεις είναι ελάχιστες και το αντίστροφο. Η ιδανική σχετική υγρασία πρέπει να είναι περίπου 50 και 70%, σε κανονική θερμοκρασία. Αν η σχετική υγρασία υπερβεί το 70%, ενδέχεται να προκληθούν ασθένειες. Στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια, τα φυτά της πιπεριάς χρειάζονται μεγαλύτερη σχετική υγρασία απ' ό,τι στα μεταγενέστερα στάδια. Απαιτείται επαρκής αερισμός κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας και της καρπόδεσης, για να μεγιστοποιηθεί η βλαστική ανάπτυξη και να αυξηθεί η παραγωγή.

Φως:

Η καλλιέργεια της πιπεριάς έχει ανάγκη το φως καθ' όλη τη διάρκεια του βλαστικού κύκλου, ειδικά την εποχή της άνθισης. Τα άνθη είναι αδύναμα όταν το φως είναι ανεπαρκές κατά τη διάρκεια της άνθισης. Η έλλειψη φωτισμού προκαλεί ατελή ανάπτυξη του φυτού, με επιμήκυνση των μεσογονάτιων διαστημάτων και των μίσχων, με αποτέλεσμα τα φυτά να μην είναι παραγωγικά.

Φωτοπερίοδος:

Η καρποφορία της πιπεριάς έχει περισσότερα προβλήματα το φθινόπωρο επειδή η διάρκεια της ημέρας είναι μικρή, παρά την άνοιξη όπου η ημέρα είναι μεγαλύτερη, λόγω του μήκους της φωτοπερίοδου, που επηρεάζει τη βλάστηση και την καρποφορία της πιπεριάς. Η άνθιση φαίνεται να εξαρτάται περισσότερο από τη θερμοκρασία και το φως,

παρά από τη διάρκεια της φωτοπεριόδου. Το φθινόπωρο όμως, όταν η θερμοκρασία και το φως είναι ευνοϊκά, φαίνεται να πέφτουν περισσότερα άνθη απ' ό τι την άνοιξη.

Έδαφος:

Το ιδανικότερο έδαφος για την καλλιέργεια της πιπεριάς είναι αμμώδες, βαθύ, πλούσιο σε οργανική ουσία (γύρω στο 3,0-4,0%) και με καλή στράγγιση. Οι ιδανικές τιμές pH κυμαίνονται μεταξύ 6,5 και 7,0, αν και αυτή η καλλιέργεια αντέχει και σε όξινες συνθήκες, ακόμα και σε pH 5,5. Σε αμμώδη εδάφη, οι τιμές του pH μπορεί να φτάσουν το 8,0. Στο νερό του ποτίσματος το pH πρέπει να κυμαίνεται από 5,5 έως 7,0. Τα αλατούχα εδάφη δεν είναι κατάλληλα γι' αυτή την καλλιέργεια, διότι επιβραδύνεται η ανάπτυξη του φυτού. Αυτή η επιβράδυνση επηρεάζει το μέγεθος του καρπού και την ποσότητα της παραγωγής.

Καλλιεργητικές εργασίες

Κλάδεμα:

Το κλάδεμα εφαρμόζεται για να περιοριστεί ο αριθμός των βλαστών του φυτού (συνήθως 2-3). Αν είναι απαραίτητο, το φυτό καθαρίζεται και από φύλλα ή βλαστούς κάτω από τους βλαστούς που απομακρύνονται.

Στήριξη του φυτού:

Αυτή η εργασία είναι σημαντική στην καλλιέργεια θερμοκηπίου, για να διατηρηθεί η αυξητική πορεία του φυτού και να εμποδιστεί το σπάσιμο των βλαστών, καθώς και να διευκολυνθούν ο ψεκασμός, ο αερισμός αλλά και η συγκομιδή. Υπάρχουν δυο τρόποι στήριξης των φυτών, το παραδοσιακό σύστημα και το Ολλανδικό σύστημα. Το παραδοσιακό σύστημα συνίσταται στην τοποθέτηση σχοινιού στην κεφαλή και την άκρη κάθε γραμμής καλλιέργειας. Το σχοινί τοποθετείται σε δύο ή τρεις γραμμές, σε ύψος από 10 έως 30 εκ. από το έδαφος. Μακρόστενες δοκοί ενώνονται εγκάρσια στο ίδιο σχοινί. Στο Ολλανδικό σύστημα, αφήνουμε δύο ή τρεις βλαστούς ανά φυτό. Κάθε βλαστός τυλίγεται σε ένα κάθετο σπάγγο που το υποστηρίζει. Αυτός ο σπάγγος κρέμεται από ένα σύρμα, δεμένο στη στέγη ή το πλάι του θερμοκηπίου.

Απομάκρυνση βλαστών:

Απομακρύνονται οι μικρότεροι βλαστοί για να ενισχυθεί ο αερισμός των φυτών και η διείσδυση του φωτός. Αυτό το κλάδεμα πρέπει να είναι προσεκτικό για να αποφευχθεί η αναστολή της βλάστησης.

Αποφύλλωση:

Αυτή η εργασία συνιστάται για τα παλαιά φύλλα, ώστε να βελτιωθεί ο αερισμός και ο χρωματισμός των καρπών, καθώς και για τα ασθενή φύλλα, ώστε να απομακρυνθεί η οποιαδήποτε πηγή ενδεχόμενης μετάδοσης ασθενειών μέσα στο θερμοκήπιο.

Ξεκαθάρισμα καρπών:

Ο καρπός που δημιουργείται στην πρώτη διακλάδωση αποκόβεται ώστε να αποκτήσουν οι υπόλοιποι μεγαλύτερη διάμετρο, ομοιομορφία και πρωιμότητα (δεν εφαρμόζεται πάντα καθώς απαιτεί πολλά εργατικά).

Συγκομιδή:

Οι καρποί συγκομίζονται όταν αποκτήσουν το τελικό τους μέγεθος, το χρώμα τους είναι ζωνρό πράσινο-πρασινοκίτρινο, κίτρινο ή κόκκινο, το περικάρπιο είναι τραγανό και η επιδερμίδα γυαλιστερή. Η περίοδος καρποφορίας διαρκεί 30-50 ημέρες (συχνότητα συγκομιδής, τρόπος συγκομιδής, αποδόσεις).

Υπαίθρια καλλιέργεια:

Το έδαφος πρέπει να εξασφαλίζει την ομοιόμορφη κατανομή του νερού του ποτίσματος. Ένα μήνα πριν τη μεταφύτευση, το έδαφος προετοιμάζεται με σβάρνισμα, ίσιωμα και ξεβοτάνισμα. Απομακρύνονται τα ζιζάνια, προστίθενται τα λιπάσματα. Έπειτα, τα επιφανειακά στρώματα ψιλοχωματίζονται έτσι ώστε να καταστεί το έδαφος κατάλληλο για καλλιέργεια.

Φυσιολογικές ασθένειες ή ανωμαλίες

Ηλιόκαυμα

Αίτιο :

Συμπτώματα: εμφάνιση λευκού ιστού και βαθούλωμα, το χρώμα του καρπού γίνεται κίτρινο-πορτοκαλί. Οι καρποί είναι ακατάλληλοι για εμπορία

Γάπα ή σήψη κορυφής

Αίτιο :

Συμπτώματα: η κορυφή του καρπού δεν αναπτύσσεται και στην συνέχεια σαπίζει. Ο καρπός παίρνει πλακέ σχήμα. Οι καρποί είναι ακατάλληλοι για εμπορία.

Αφυδάτωση

Οι καρποί πρέπει να συγκομίζονται με τον ποδίσκο ακέραιο, διότι έτσι προστατεύονται από αφυδάτωση και δεν επιτρέπει την είσοδο μικροοργανισμών. Επίσης πρέπει να λαμβάνονται μετασυλλεκτικά μέτρα.

Μετασυλλεκτικές ασθένειες

Οι μετασυλλεκτικές ασθένειες της πιπεριάς προκαλούνται από προσβολές μυκήτων. Για παράδειγμα προβλήματα που δημιουργούν τα παθογόνα *Alternaria alternate*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*.

Καλλιέργεια κολοκυθιού

Βασίλειο:	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία:	Αγγειοσπέρμα (Magnoliophyta)
Ομοταξία:	Δικοτυλήδονα (Magnoliopsida)
Υφομοταξία:	Διλληνιίδες (Dilleniidae)
Τάξη:	Ιώδη (Violales)
Οικογένεια:	Κολοκυνθοειδή (Cucurbitaceae)
Γένος:	Κολοκύνθη (<i>Cucurbita</i>)

Αγγλική ονομασία: Zucchini, Courgette

Οι κολοκυθιές είναι ένα από τα πιο εύκολα στην καλλιέργεια φυτά. Τα κολοκυθάκια απαντώνται σε ποικιλία μεγεθών, χρωμάτων και σχημάτων. Κατά κανόνα κάθε κολοκυθιά παράγει μεγάλο αριθμό καρπών. Επίσης, σε πολλές περιοχές χρησιμοποιούν και μαγειρεύουν τα άνθη της κολοκυθιάς.

Εποχή σποράς για υπαίθριες καλλιέργειες: Μάρτιος, Απρίλιος, Μάιος, Ιούνιος

Εποχή μεταφύτευσης: Μάρτιος, Απρίλιος, Μάιος

Καλλιέργεια: Η καλλιέργεια της κολοκυθιάς είναι παρόμοια με του πεπονιού και του αγγουριού που είναι και αυτά μέλη της οικογένειας των κολοκυνθοειδών. Απαιτούν ζεστές ημέρες και νύχτες για να ωριμάσουν καλά.

Απαιτήσεις

Σπορά: 1,5-5,0 εκατοστά βάθος (αναλόγως την ποικιλία και το μέγεθος του σπόρου)

Απόσταση φύτευσης: Στις σειρές σε χωράφι: 60-70 εκ. Επί της γραμμής και 90-150 εκ.
Μεταξύ των γραμμών

Ημέρες βλάστησης: 5-10

Θερμοκρασία βλάστησης: 21-35°C

Προτεινόμενη εποχή σποράς για υπαίθρια καλλιέργεια: Μάρτιο - Αύγουστο

Έδαφος: Το χώμα πρέπει να διατηρείται υγρό και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με σάπια φύλλα και βρεγμένα άχυρα ή χόρτα όταν αρχίζουν οι ζέστες (κυρίως εφαρμόζεται η κάλυψη με μαύρο πλαστικό).

Συγκομιδή: Τα κολοκυθάκια, ανάλογα με την χρήση τους, γεμιστά ή τηγανιτά, συγκομίζονται σε διάφορα μεγέθη όταν ακόμη είναι τρυφερά διότι τρώγονται ολόκληρα με τον φλοιό. Τα καλοκαιρινά κολοκυθάκια συγκομίζονται όταν είναι μικρά για βραστά ή φρέσκα και μέχρι 20 εκατοστά για τηγανιτά. Τα μικρά κολοκυθάκια θα γίνουν υπερβολικά μεγάλα σχεδόν σαν κολοκύθες αν δε συγκομιστούν (εξαρτάται από την ποικιλία). Οι χειμωνιάτικες κολοκύθες είναι έτοιμες για συγκομιδή όταν ο φλοιός τους χάσει τη φυσική τους λάμψη. Μετά από το στάδιο της πλήρους ανάπτυξής τους, οι κολοκύθες αφήνονται άλλες 10-15 ημέρες να ωριμάσουν και συγκομίζονται κόβοντας το κοτσάνι 3,0 εκατοστά πάνω από την κολοκύθα. Χρειάζεται προσοχή να μην παγώσουν. Αποθηκεύονται σε καλά αεριζόμενο μέρος με θερμοκρασίες 7,0-16, 0°C. Για την παραγωγή σπόρων ή μεταποίηση συγκομίζονται όταν το μητρικό φυτό έχει ξεραθεί και οι καρποί είναι τελείως ώριμοι

Συγκαλλιέργεια κολοκυθιών

Τα κολοκύθια μπορούν να καλλιεργηθούν μαζί με καλαμπόκι – πεπόνι – τάτουλα – ραπανάκι – καπουτσίνο – κατιφέ – ρίγανη. Ο κατιφές αποτρέπει τους κάνθαρους και η ρίγανη παρέχει γενική προστασία από παράσιτα. Το νεροκάρδαμο αποτρέπει τα έντομα. Δεν καλλιεργούνται μαζί με πατάτες.

Ασθένειες – Έντομα εχθροί

Τετράνυχος: κιτρινωμένα φύλλα

Ωίδιο: κηλίδες με άσπρη σκόνη

Βακτηριώσεις: ελαιώδεις κηλίδες

Σάπισμα λαιμού

Μωσαϊκό του κολοκυθιού: τυπικό μωσαϊκό και κιτρίνισμα

Ανθράκωση: καστανές κηλίδες και κατόπιν νέκρωση

Έντομα: Ραβδωτά σκαθάρια, αλευρώδεις, μελίγκρες, παπαδίτσα πεπονιού

Πρόσληψη και κίνηση φυτοφαρμάκων

Η δυνατότητα εισόδου και μετακίνησης των φυτοφαρμάκων εντός των φυτών είναι δύο πολύ σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Η είσοδος των φυτοφαρμάκων στα φυτά μπορεί να γίνει από τα φύλλα, τα στελέχη, τις ρίζες και το σπόρο. Στην συνέχεια, οι χημικές ενώσεις μπορούν να μετακινηθούν εντός των φυτικών ιστών και οργάνων, είτε αποπλαστικά είτε συμπλαστικά. Κύριοι παράγοντες που συμβάλλουν στην πρόσληψη των φυτοφαρμάκων από τα φυτά είναι:

1. Η ικανότητα κίνησης των φυτοφαρμάκων διαμέσου της επιδερμίδας των φύλλων (διαμέσου των στοματίων).
2. Η διαλυτότητα των φυτοφαρμάκων.
3. Η μορφή τυποποίησης των φυτοφαρμάκων.

Προστατευτικά και διασυστηματικά φυτοφάρμακα

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα λόγω της ικανότητας κίνησής τους ή μη εντός των φυτών διακρίνονται σε διασυστηματικά και προστατευτικά, αντίστοιχα.

Προστατευτικά (protectives): Δεν εισέρχονται και δε μετακινούνται (τουλάχιστον σε σημαντικό βαθμό) στο εσωτερικό των φυτικών οργάνων και προστατεύουν μόνο το μέρος το φυτικό μέρος επί του οποίου έχουν εναποτεθεί. Η πρόσληψη τους από τα φυτά είναι σχεδόν αμελητέα και χρησιμοποιούνται μόνο σε προληπτικές επεμβάσεις.

Διασυστηματικά (systemics): Εισέρχονται και μετακινούνται μέσα στους φυτικούς ιστούς. Έτσι μεταφέρονται και σε άλλα όργανα του φυτού. Οπότε ένα τέτοιου είδους φυτοφάρμακο πρέπει να πληροί τις παρακάτω προϋποθέσεις .

1. Να παρουσιάζει κατάλληλη λιπόφιλη και υδρόφιλη ισορροπία
2. Να παρουσιάζει εκλεκτική τοξικότητα σε υποκυτταρικό επίπεδο για να μην παρουσιάζει φυτοτοξικότητα
3. Να μην διασπάται γρήγορα εντός των φυτικών ιστών

Τοξικολογικές μελέτες

Στόχος των τοξικολογικών μελετών είναι η απόκτηση γνώσεων για τυχόν επιβλαβείς επιδράσεις των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον άνθρωπο, λόγω έκθεσης στις χημικές ενώσεις που περιέχουν ή σε προϊόντα του μεταβολισμού τους, ή για να αποκλεισθούν κάποιες χρήσεις του, που εκθέτουν το χρήστη ή τον καταναλωτή σε υψηλούς κινδύνους. Ο Philippus Aureolus Thephrastus Bombastus von Hohenheim - Paracelsus, γνωστός ως ο πατέρας της τοξικολογίας έχει αναφέρει «Όλες οι ουσίες είναι δηλητήρια. Η σωστή δόση είναι αυτή που διαχωρίζει το δηλητήριο από το φάρμακο».

Τοξικότητα (toxicity)

Ως τοξικότητα ορίζεται η ενδογενής ιδιότητα (harmful effect) μίας χημικής ένωσης να προκαλεί βλάβες στον άνθρωπο και σε άλλους οργανισμούς μη στόχους αλλά και στην ισορροπία των οικοσυστημάτων υπό συγκεκριμένες συνθήκες.

Κίνδυνος τοξικότητας (hazard risk)

Είναι η πιθανότητα να προκληθεί βλάβη από ένα χημικό παράγοντα κατά τη χρήση ή την εφαρμογή του.

Οξεία τοξικότητα (acute toxicity)

Η οξεία τοξικότητα αναφέρεται σε αντιδράσεις οι οποίες προκαλούνται σε μικρό χρονικό διάστημα μετά από μια έκθεση σε μια χημική ουσία (σε αντίθεση με την χρόνια έκθεση).

Χρόνια τοξικότητα (chronic toxicity)

Χρόνια τοξικότητα είναι το αποτέλεσμα μακροχρόνιας επαφής με μερικές μη θανατηφόρες δόσεις.

Σκευάσματα φυτοφαρμάκων

Κατηγορίες σκευασμάτων

Φυτοπροστατευτικό προϊόν (Φ.Π.) είναι κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών συμπεριλαμβανομένων και επεξεργασμένων ή μη φυτικών προϊόντων, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέσο αντιμετώπισης των εχθρών και των ασθενειών των φυτών ή να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των εν λόγω ουσιών (Νόμος 721/ 1977).

Με βάση τον παραπάνω ορισμό, τα Φ. Π. Διακρίνονται στις εξής βασικές ομάδες: Εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα, βακτηριοκτόνα, νηματωδοκτόνα, ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών κλπ. Τα Φ.Π. διατίθενται σε σκευάσματα σε διάφορες μορφές (Παπαδοπούλου – Μουρκίδου, 1991), όπως:

- Υγρά σκευάσματα: Υδατικά διαλύματα (WS), Βρέξιμες σκόνες (WP), Πυκνά γαλακτοποιήσιμα σκευάσματα (EC), Κάψουλες ή μικροκάψουλες μεγέθους 10 μm, Σκευάσματα τύπου ULV (υπέρμικρου όγκου)
- Ξηρά σκευάσματα: Σκόνες, Κοκκώδη, Ξηρά φυράματα, Ξηρά καπνογόνα
- Καπνογόνα
- Αεροζόλ
- Λοιπά σκευάσματα: Δενδροκομικοί κηροί κλπ.

Κάθε Φ.Π. περιέχει τη δραστική ουσία που είναι υπεύθυνη για την δράση του προϊόντος, η οποία όμως σπάνια χρησιμοποιείται αυτή καθ' αυτή. Η δραστική ουσία αναμιγνύεται και επεξεργάζεται με τις βοηθητικές ουσίες, γίνεται δηλαδή τυποποίηση των Φ.Π. που οδηγεί στην παραγωγή του σκευάσματος που εφαρμόζεται στο χωράφι. (Καρπουζιάς, 2003).

Υπολείμματα φυτοφαρμάκων

Ως υπολείμματα (residues) γεωργικών φαρμάκων θεωρούνται ουσίες ή μίγματα ουσιών που βρίσκονται στην τροφή των ανθρώπων ή των ζώων και προέρχονται από την χρήση γεωργικών φαρμάκων. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται και οι ουσίες που είναι προϊόντα διάσπασης, μεταβολισμού (μεταβολίτες) ή χημικής αντίδρασης εφ' όσον είναι τοξικολογικά σημαντικές. (FAO, 1981).

Πρέπει βέβαια να επισημάνουμε ότι οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων για ένα δείγμα μιας περιοχής επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως η δόση και η μέθοδος εφαρμογής, η πυκνότητα των φυτών και η θέση τους στον χώρο, το στάδιο ανάπτυξης τους, οι μετεωρολογικές συνθήκες που επικρατούν κατά τη διάρκεια της εφαρμογής του φυτοφαρμάκου καθώς και από το χρόνο που μεσολαβεί από την εφαρμογή του σκευάσματος έως τη δειγματοληψία των καρπών (Ambrus, 1999).

Μέγιστο ανώτατο ή αποδεκτό όριο υπολειμμάτων στα προϊόντα (MRL)

Για να ελέγχεται αν τα φάρμακα χρησιμοποιούνται στις ενδεικνυόμενες δόσεις ώστε να προστατεύεται η υγεία των καταναλωτών και να διευκολύνεται το διεθνές εμπόριο, καθιερώθηκε ο όρος Ανώτατο Αποδεκτό Όριο Υπολειμμάτων (Maximum Residue Level, MRL) που εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας/ Kg προϊόντος για κάθε συνδυασμό καλλιέργειας - φυτοφαρμάκου. Ως MRL ορίζεται η μέγιστη ποσότητα της δραστικής ουσίας (μητρικών μορίων ή τοξικών μεταβολιτών), που παραμένει μετά από τη χρήση του σκευάσματος σύμφωνα με τους Κανόνες της Ορθής Γεωργικής Πρακτικής (Good Agricultural Practice, GAP), δηλαδή σύμφωνα με τις ενδείξεις της ετικέτας και φυσικά με βάση την έγκρισή του (Λιάπης, 1997, Παπαδοπούλου - Μουρκίδου, 1991).

Για πρακτικούς λόγους εκτίμησης της τοξικότητας κάθε δραστικής ουσίας έχει καθιερωθεί από τους διεθνείς οργανισμούς ο όρος Ημερήσια Αποδεκτή Δόση (Acceptable Daily Intake, ADI) που ορίζεται ως η ποσότητα της δραστικής ουσίας σε mg/ Kg σωματικού βάρους/ ημέρα που μπορεί να καταναλώσει ένας άνθρωπος ή άλλο ζώο, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του χωρίς να προκληθεί βλάβη στην υγεία του με βάση τα δεδομένα της επιστήμης την εποχή που γίνεται ο καθορισμός της (Λέντζα-Ρίζου, 1997, Παπαδοπούλου- Μουρκίδου, 1991).

Τα MRLs προκύπτουν από στοιχεία μετά από εποπτευόμενα πειράματα αγρού (supervised trials). Θα πρέπει να τονιστεί ότι τα MRLs και τα ADIs προκύπτουν από

τελείως διαφορετικά δεδομένα. Από πειράματα στον αγρό τα πρώτα και τοξικολογικά δεδομένα τα δεύτερα. Γενικά, ισχύει ότι τα MRLs πρέπει να είναι αποδεκτά από τοξικολογικής απόψεως, αν για παράδειγμα δεν έχει καθοριστεί ADI για μια δραστική ουσία δεν συνιστώνται MRLs. Για τον καθορισμό MRLs μιας δραστικής ουσίας σε κάποιο γεωργικό προϊόν λαμβάνεται υπόψη η τιμή της ADI, το βάρος του ανθρώπου και το ποσοστό συμμετοχής του προϊόντος στην καθημερινή διαίτα ενός πληθυσμού, θεωρώντας ότι ο μέσος όρος ισχύει και για κάθε άτομο. Λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό συμμετοχής της τομάτας, π.χ. στην διαίτα των Ελλήνων και των Γερμανών, τα MRLs θα έπρεπε να καθοριστούν σε διαφορετικές τιμές, αφού στην Ελλάδα καταναλώνονται πολύ μεγαλύτερες ποσότητες τομάτας και καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Το άθροισμα των MRLs μιας δραστικής ουσίας στα διάφορα προϊόντα μιας χώρας δεν πρέπει να υπερβαίνει την αντίστοιχη ADI (Λιάπης, 1997).

Τα υπολείμματα στα προϊόντα και οι σχετικές νομοθεσίες τους

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) σε συνεργασία με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO), σύστησαν ειδική επιτροπή την Codex Alimentarius Committee, που μελετά τα θέματα που σχετίζονται με την ποιότητα των τροφίμων γενικά. Τα υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων, ειδικότερα, αποτελούν αντικείμενο ειδικής υποεπιτροπής της Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR), αποτελούμενης από επιστήμονες όλων των χωρών. Η επιτροπή αυτή ύστερα από συντονισμένες έρευνες και μελέτες των τοξικολογικών ιδιοτήτων των δραστικών ουσιών, καθορίζει την ADI ή το MRL για κάθε μία από αυτές. Επίσης, η Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (Commission), έχει συμπεριλάβει στις δραστηριότητές της και το πρόγραμμα των υπολειμμάτων. Με ειδικές οδηγίες (directives), καθορίζει τα MRLs και επιβάλλει στα κράτη-μέλη την υπολειμματική παρακολούθηση (monitoring) των προϊόντων, έτσι ώστε να εξακριβώνουν αν τα προϊόντα ανταποκρίνονται στα όρια που θεσπίστηκαν. Τα θέματα που αφορούν τα γεωργικά φάρμακα εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης ρυθμίζονται βάσει της οδηγίας 91/414/EEC περί φυτοπροστατευτικών προϊόντων (Αθανασόπουλος, 1998).

Στην χώρα μας, για κάθε ουσία που χρησιμοποιείται ως φυτοπροστατευτικό προϊόν ακολουθείται διαδικασία αξιολόγησης σύμφωνα με το Ν.721/77 και το Π.Δ. 115/97 (συμμόρφωση με την οδηγία 91/414/ΕΟΚ όπως έχει συμπληρωθεί) και ακολουθεί απόφαση έγκρισης από το Α.ΣΥ.ΓΕ.Φ. (Ανώτατο Συμβούλιο Γεωργικών Φαρμάκων). Όμως, παρά την εφαρμογή των κανόνων ορθής γεωργικής πρακτικής και την πιστή

εφαρμογή της ετικέτας του φυτοπροστατευτικού προϊόντος από τους γεωργούς χρήστες, υπάρχει πιθανότητα να απομείνει στο γεωργικό προϊόν (επί ή και εντός) υπόλειμμα φυτοπροστατευτικού προϊόντος, που όμως θα πρέπει να είναι τέτοιας ποσότητας ώστε να μην δημιουργεί πρόβλημα στην υγεία του καταναλωτή. Η χώρα μας σε μεγάλο βαθμό έχει εναρμονίσει τη νομοθεσία της και εφαρμόζει τα Ανώτατα Αποδεκτά Όρια Υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων που έχουν θεσπιστεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση .

Οφέλη από την χρήση φυτοφαρμάκων

Η χρήση φυτοφαρμάκων συνεπάγεται σημαντικά οικονομικά οφέλη. Οι γεωργοί τα χρησιμοποιούν για τη βελτίωση ή τη διατήρηση της παραγωγής τους εξαλείφοντας ή μειώνοντας την επίδραση των ζιζανίων ή των παρασίτων, για την προστασία και την προφύλαξη των φυτικών προϊόντων από τους επιβλαβείς οργανισμούς με σκοπό τη βελτίωση ή την προστασία της ποιότητας της παραγωγής τους και την ελαχιστοποίηση των αναγκών τους σε εργατικό δυναμικό. Τα φυτοφάρμακα διαδραματίζουν επίσης ουσιαστικό ρόλο στην εξασφάλιση σταθερής παραγωγής γεωργικών προϊόντων κάθε χρόνο, συμβάλλοντας στην αποφυγή των διακυμάνσεων της ετήσιας απόδοσης. Πέραν τούτου, η συνετή χρήση τους συντελεί στην εξασφάλιση της διάθεσης, στην αγορά και σε χαμηλές τιμές, οπωροκηπευτικών καλής ποιότητας προσιτών σε όλους τους καταναλωτές.

Η χρήση μυκητοκτόνων συντελεί επίσης στη μείωση των μυκοτοξινών, όπως της αφλατοξίνης και της εργοταμίνης, στα τρόφιμα. Η Επιστημονική Επιτροπή Φυτών, όμως, η οποία εξέτασε τη σχέση που συνδέει τη χρήση φυτοφαρμάκων σε φυτά από τα οποία παράγονται τρόφιμα και την εμφάνιση μυκοτοξινών στα τρόφιμα, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι τα φυτοφάρμακα διαδραματίζουν ουσιαστικό και σταθερό ρόλο στην πρόληψη ή αναστολή της παραγωγής μυκοτοξινών από τοξινογόνους μύκητες. Τα στοιχεία που προέκυψαν από τις επιτόπιες μελέτες ήταν διφορούμενα και η Επιστημονική Επιτροπή Φυτών συνέστησε περαιτέρω διερεύνηση του θέματος.

Χάρη στη χρήση φυτοφαρμάκων μειώνονται οι ανάγκες σε αναζήτηση εκτάσεων γης κατάλληλης για την παραγωγή τροφίμων και καθίσταται δυνατή η παραγωγή μεγαλύτερης ποικιλίας τροφίμων σε περιφερειακό επίπεδο μειώνοντας έτσι το κόστος μεταφοράς, ενώ διατίθεται μεγαλύτερη έκταση γης για άλλες χρήσεις, όπως για αναψυχή, φυσικά πάρκα, προστασία της βιοποικιλότητας.

Κίνδυνοι και κόστος χρήσης των φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα είναι χημικά προϊόντα που απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή δεδομένου ότι τα περισσότερα από αυτά είναι, λόγω των ιδιοτήτων τους, επικίνδυνα για την υγεία και για το περιβάλλον. Οι κίνδυνοι (και το συνεπαγόμενο κόστος) της σκόπιμης απελευθέρωσής τους στο περιβάλλον κατά τη χρήση τους, ιδίως στο γεωργικό τομέα, γίνονται αποδεκτοί από την κοινωνία διότι το οικονομικό όφελος που προκύπτει από τη χρήση φυτοφαρμάκων είναι σημαντικό.

Οι κίνδυνοι για την υγεία του ανθρώπου είναι δυνατό να οφείλονται στην απευθείας έκθεση (εργαζόμενοι στις βιομηχανίες παραγωγής φυτοφαρμάκων και επαγγελματίες χρήστες των ουσιών αυτών) και στην έμμεση έκθεση (καταναλωτές και περιστασιακά εκτιθέμενοι). Σύμφωνα με έρευνα της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Συνδικάτων Αγροεργατών (EFA), οι πλέον συνηθισμένες ανεπιθύμητες επενέργειες των φυτοφαρμάκων που παρατηρήθηκαν σε εργαζόμενους και χρήστες είναι πονοκέφαλος, έμετος, πόνος στο στομάχι και διάρροια που προκλήθηκαν από τη χρήση (39% των αναφερθέντων περιστατικών), την παρασκευή ή ανάμειξη (28% των αναφερθέντων περιστατικών) και τη διακίνηση δοχείων (6% των αναφερθέντων περιστατικών). Μια έρευνα της αρμόδιας υπηρεσίας του Ηνωμένου Βασιλείου για την υγεία και την ασφάλεια (Health and Safety Executive) για το έτος 2000/ 2001 αναφέρει 170 περιστατικά οφειλόμενα σε φυτοφάρμακα, 71 από τα οποία περιελάμβαναν εικαζόμενες αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία.

Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στις ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού, όπως τα παιδιά (λόγω των ειδικών σχετικών παραγόντων με τη φυσιολογία και την ανάπτυξη), στους ηλικιωμένους (λόγω της ενδεχομένως μειωμένης μεταβολικής ικανότητάς τους), ή σε άλλες συγκεκριμένες ομάδες κινδύνου (άτομα με ανοσοβιολογικά προβλήματα, χρόνιες ασθένειες, κλπ.) και στους εργαζομένους (λόγω της ενδεχόμενης έντονης έκθεσής τους). Η επιστημονική κοινότητα παρατηρεί επί του παρόντος ενδεχόμενα κενά στις γνώσεις που αφορούν τα παιδιά τα οποία αποτελούν πιθανότατα την πλέον ευπαθή ομάδα όσον αφορά τις εικαζόμενες επιδράσεις των «κοκτέιλ» (δηλ. μίγματα πολλών ουσιών).

Οι κίνδυνοι για την υγεία του ανθρώπου και για το περιβάλλον συνίστανται σε οξείες ή/ και χρόνιες ανεπιθύμητες επενέργειες στον άνθρωπο και σε μη στοχοθετημένα είδη. Οι οξείες παρενέργειες οφείλονται κυρίως στην υψηλή τοξικότητα ορισμένων φυτοφαρμάκων. Οι χρόνιες παρενέργειες που δύνανται επίσης να επηρεάσουν την υγεία του εκτιθέμενου πληθυσμού περιλαμβάνουν εκείνες που οφείλονται στη βιοσυσσώρευση

και μη αποικοδόμηση των ουσιών, σε μη αντιστρέψιμες παρενέργειες, όπως η καρκινογένεση, η μεταλλαξιογένεση και η γονιδιοτοξικότητα ή σε ανεπιθύμητες παρενέργειες στο ανοσοβιολογικό ή στο ενδοκρινικό σύστημα των θηλαστικών, ιχθύων ή πτηνών. Αξίζει να σημειωθεί ότι, μέχρι σήμερα, καμία δραστική ουσία, ταξινομημένη στην κατηγορία I για οιαδήποτε από αυτές τις δράσεις, δεν έχει περιληφθεί στο παράρτημα I της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, οπωσδήποτε πάντως όχι αν οι παρενέργειες αυτές αναμένονται στις περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις και συνθήκες έκθεσης.

Η μετατόπιση του νέφους ψεκασμού, η απόπλυση ή η απορροή αποτελούν διάχυτες πηγές ανεξέλεγκτου διασκορπισμού των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον που οδηγεί στη ρύπανση τμημάτων του εδάφους και των υδάτινων πόρων (επιφανειακά και υπόγεια ύδατα) και που είναι δυνατόν να περιοριστεί στο ελάχιστο με ελέγχους και τήρηση ορθών πρακτικών χρήσης. Ρύπανση του περιβάλλοντος μπορεί επίσης να επέλθει κατά τη διάρκεια και μετά τη διασπορά των φυτοφαρμάκων, τον καθαρισμό του ψεκαστικού εξοπλισμού ή την ανεξέλεγκτη ή παράνομη διάθεση των φυτοφαρμάκων ή των δοχείων τους (σημειακές πηγές).

Η χρήση φυτοφαρμάκων μπορεί επιπλέον να έχει έμμεσες επιπτώσεις στο οικοσύστημα π.χ. απώλεια βιοποικιλότητας. Εάν περιοριστεί η αντιμετώπιση των ζιζανίων το αποτέλεσμα θα είναι η αύξηση του πληθυσμού των εντόμων από την οποία επωφελούνται τα τρεφόμενα με έντομα πτηνά. Μια «υπερβολικά αποτελεσματική» αντιμετώπιση των ζιζανίων μπορεί να συνεπάγεται έλλειψη τροφής για τα πτηνά αυτά. Η βιοποικιλότητα, ωστόσο, επηρεάζεται και από πολλούς άλλους παράγοντες, όπως οι γεωργικές πρακτικές, η έκταση των αγροτεμαχίων, το είδος της καλλιέργειας, κλπ.

Χρωματογραφία

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός μίγματος διαφόρων ουσιών είναι αποτέλεσμα ποικιλίας διεργασιών, που στηρίζονται στην διαφορετική εκλεκτική συνάφεια κάθε συστατικού του μίγματος ως προς δύο μη αναμιγνυόμενες φάσεις, οι οποίες βρίσκονται σε σχετική κίνηση η μία προς την άλλη. Η μία φάση παραμένει σταθερή και λέγεται στατική φάση (stationary phase). Επίσης αποκαλείται και στήλη (column) ή χρωματογραφικό υπόστρωμα. Η άλλη φάση διέρχεται μέσα ή πάνω από την επιφάνεια της στατικής φάσης και λέγεται κινητή φάση (mobile phase).

Η κινητή φάση προκαλεί εκλεκτική μετατόπιση των συστατικών του μίγματος σε διαφορετικές θέσεις μέσα στην σταθερή φάση με αποτέλεσμα το διαχωρισμό τους. Ο διαχωρισμός γίνεται με μηχανισμούς που βασίζονται σε φαινόμενα:

- Προσρόφησης
- Ανταλλαγής ιόντων
- Κατανομής
- Μοριακής διήθησης
- Συγγένειας

Συχνά το αποτέλεσμα του διαχωρισμού είναι αποτέλεσμα όχι ενός μόνο μηχανισμού αλλά συνεργίας αυτών. Είναι εμφανές ότι οι χρωματογραφικές τεχνικές είναι διαχωριστικές τεχνικές και η επιτυχία τους εξαρτάται από τον βαθμό διαχωρισμού των διαφόρων ουσιών που αναλύονται. Η ανάπτυξη μιας σειράς ανιχνευτών για την καταγραφή των διαχωρισθέντων ουσιών κατά την έξοδό τους από την χρωματογραφική στήλη έδωσε ιδιαίτερη ώθηση στην υγρή και την αέρια κυρίως χρωματογραφία.

Αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography - GC)

Με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας, μικρή ποσότητα (1,0 – 5,0 μL) από το καθαρό εκχύλισμα εγχύεται στην κορυφή της θερμαινόμενης ειδικής στήλης χρωματογραφίας που βρίσκεται τοποθετημένη σε φούρνο. Το εκχύλισμα μεταπίπτει σε αέρια φάση. Ένα αδρανές αέριο (συνήθως άζωτο, ήλιο ή αργό) κινείται μέσα στη στήλη και παρασύρει τους ατμούς του δείγματος. Ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας στη στήλη (χρόνος κατακράτησης – retention time) είναι συνάρτηση των ιδιοτήτων της και είναι το κριτήριο για τον ποιοτικό προσδιορισμό. Το μέγεθος του σήματος που καταγράφεται από κατάλληλα όργανα στην έξοδο στήλης είναι το κριτήριο για τον ποσοτικό προσδιορισμό.

Το σήμα καταγράφεται υπό μορφή κορυφής. Το μετρούμενο ύψος της κορυφής και η επιφάνεια της χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναλυθέντων δραστικών ουσιών (αναλύτες).

Η GC χρησιμοποιείται κυρίως για φυτοφάρμακα που έχουν ικανοποιητική πτητικότητα και θερμική σταθερότητα. Μόρια που θερμοδιασπώνται δε μπορούν να προσδιοριστούν με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας, παρά μόνο μετά από χημική τροποποίησή τους σε μόρια πτητικά και σταθερά (παραγωγοποίηση).



Εικόνα 1 : Αέριος χρωματογράφος

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography System - HPLC)

- Διαλύτες: Αποτελούν την κινητή φάση. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας διαλύτης ή σύστημα διαλυτών. Απαιτούνται υψηλής καθαρότητας διαλύτες (προδιαγραφών HPLC) και πρέπει να γίνεται απαέρωση πριν την χρήση τους. Αν η σύσταση της κινητής φάσης παραμένει σταθερή κατά την διάρκεια της ανάλυσης έχουμε ισοκρατική ανάλυση, ενώ αν η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται έχουμε βαθμωτή έκλυση (gradient elution).
- Αντλία (pump): Διοχετεύει την κινητή φάση στη στήλη υπό υψηλή πίεση και ελεγχόμενη ροή. Για την επίτευξη βαθμωτής έκλυσης απαιτείται σύστημα αντλιών.
- Βαλβίδα εισαγωγής (injection valve): Εισάγει το δείγμα στην στήλη
- Στήλη (column): Περιέχει τη στατική φάση στην οποία γίνεται ο διαχωρισμός των διαφόρων συστατικών του δείγματος. Συνήθως διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία.

- Ανιχνευτές (detectors): Υπεριώδους - ορατού, φθορισμού, δείκτη διάθλασης, φασματομετρίας μάζας, ηλεκτροχημικοί.
- Σύστημα καταγραφής και επεξεργασίας του σήματος (data system)



Εικόνα 2 : Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης - Χρωματογράφος

Στήλες HPLC – Υλικά πλήρωσης

Οι στήλες HPLC είναι από ανοξείδωτο χάλυβα μήκους συνήθως περίπου 250mm και διαμέτρου 1,0 – 4,0mm πληρωμένες με στατική φάση (η υγρή στατική φάση βρίσκεται προσδεμένη σε ένα σταθερό υπόστρωμα).

Χρωματογραφία κανονικής φάσης (Normal Phase Chromatography, NPC)

Αρχικά, πρέπει τα εκλουστικά διαλύματα να είναι μη πολικά ή λιγότερο πολικά από την στατική φάση. Οι ακινητοποιημένες μονάδες είναι συνήθως πολικές ομάδες όπως silica, CN, NH₂ κλπ . Τα πιο πολικά συστατικά του δείγματος αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με τις πολικές ομάδες της στατικής φάσης και εκλούνται αργότερα σε σχέση με τα άπολα.

Χρωματογραφία αντίστροφης φάσης (Reverse Phase Chromatography, RPC)

Τα εκλουστικά διαλύματα είναι πολικά ή περισσότερο πολικά από τη στατική φάση. Οι ακινητοποιημένες ομάδες είναι κυρίως ομάδες άπολης, όπως οκταδεκύλια (C-18) και οκτύλια (C-8), αλλά και ομάδες μέσης πολικότητας, όπως φαινύλια και κυανοομάδες. Τα λιγότερα πολικά συστατικά του δείγματος αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με τις μη πολικές

ομάδες της στατικής φάσης (κατακρατούνται ισχυρότερα) και με αυτόν τον τρόπο εκλούνται αργότερα από τα πολικά συστατικά του δείγματος.

Φασματογραφία μάζας (Mass Spectrometry - MS)

Η τεχνική αυτή αρχικά προτάθηκε ως μέθοδος ταυτοποίησης – επιβεβαίωσης των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από την αέρια και τελευταία από την υγρή χρωματογραφία. Αρχίζει όμως να χρησιμοποιείται και ως ανεξάρτητος ανιχνευτής για ποσοτικό προσδιορισμό. Το σύστημα GC-MS αποτελεί μία από τις πιο πετυχημένες συνδυαστικές τεχνικές ανάλυσης. Στην τεχνική αυτή, τα οργανικά μόρια οδηγούνται σε ένα χώρο όπου βομβαρδίζονται με ηλεκτρόνια με συνέπεια την αποδόμησή τους και τον σχηματισμό μοριακών ιόντων. Τα μοριακά ιόντα μετατρέπονται περαιτέρω σε κατιόντα και ουδέτερα μέρη. Τα θετικά φορτισμένα ιόντα διαχωρίζονται σε ένα μαγνητικό πεδίο και καταγράφονται ποσοτικά. Ο διαχωρισμός των ιόντων βασίζεται στη σχέση μάζας-ηλεκτρικού φορτίου και άρα στη μάζα της ουσίας. Η όλη διαδικασία οδηγεί στην καταγραφή του φάσματος (mass spectrum).

Ανοσοδοκιμασίες

Είναι οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι που γνωρίζουν αρκετή διάδοση τα τελευταία χρόνια.

Προσδιορισμός υπολειμμάτων

Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα, γνώρισε αλματώδη ανάπτυξη κατά τα τελευταία είκοσι χρόνια. Η καλύτερη γνώση της τοξικότητας των διαφόρων ουσιών και οι πιέσεις των καταναλωτών και των οικολογικών οργανώσεων προς τις κυβερνήσεις των ανεπτυγμένων χωρών και τους αρμόδιους φορείς ελέγχου, είχαν ως αποτέλεσμα την υποστήριξη της έρευνας με στόχο την ανάπτυξη των αναλυτικών δυνατοτήτων και τη μείωση των ορίων προσδιορισμού των παρασιτοκτόνων σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα από ότι τα παλαιότερα. Τα στάδια των εργασιών για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων είναι τα εξής:

- Δειγματοληψία
- Επεξεργασία και αποθήκευση
- Προετοιμασία αναλυτικού δείγματος
- Επιλογή αναλυτικής μεθόδου
- Εφαρμογή αναλυτικής μεθόδου
- Διασφάλιση ποιότητας των αναλυτικών μετρήσεων

Η αρτιότερη ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων απαιτεί την ύπαρξη μίας πολύπλοκης διαδικασίας, ώστε να επιτύχουμε τον ακριβέστερο προσδιορισμό των γεωργικών φαρμάκων. Αυτό συμβαίνει ακολουθώντας τα παρακάτω βήματα:

- Παραλαβή και πιθανώς σύντομη αποθήκευση του δείγματος
- Εκχύλιση δείγματος
- Καθαρισμός δείγματος
- Τελική ανάλυση (GC, HPLC, GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS κλπ)

Όσον αφορά την δειγματοληψία, το δείγμα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό, τυχαίο, σωστά συσκευασμένο και διατηρημένο και να συνοδεύεται από σωστές ενδείξεις της ταυτότητάς του.

Επικύρωση μεθόδου

Όπως αναφέραμε και προηγουμένως ανάλυση των δειγμάτων πρέπει να επιλέξουμε μία αναλυτική μέθοδο. Η επιλογή αυτής της μεθόδου γίνεται με βάση τα στοιχεία αξιοπιστίας της δηλαδή την ορθότητα της (accuracy), την ακρίβεια (precision), τα επιτυγχανόμενα όρια ανίχνευσης (limits of detection) και ποσοτικοποίησης (limits of quantification), την ανθεκτικότητα της (robustness) και την ευκολία εφαρμογής της. Το κύριο αντικείμενο της επικύρωσης (validation) μιας αναλυτικής μεθόδου είναι αυτός ακριβώς ο έλεγχος, της αξιοπιστίας και της καταλληλότητας της για τον σκοπό που προορίζεται, ώστε να γίνει αποδεκτή. Όταν η μέθοδος που επιλέγεται διαθέτει πρωτογενή στοιχεία επικύρωσης, δηλαδή από βιβλιογραφία κλπ, τότε η αξιοπιστία της πρέπει να επιβεβαιωθεί και στο εργαστήριο. Η επιβεβαίωση αποτελεί ένα βασικό στάδιο μετά την επιλογή και πριν την εφαρμογή της μεθόδου.

Καθορισμός των αναλυτικών απαιτήσεων της επικύρωσης

- Απαιτείται σαφής καθορισμός των ενώσεων που πρέπει να προσδιοριστούν.
- Καθορισμός του υποστρώματος.
- Καθορισμός του εύρους των συγκεντρώσεων για τις οποίες εφαρμόζεται η μέθοδος.
- Ορίζονται οι απαιτούμενες από την νομοθεσία ή την μέθοδο ορθότητα και ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Για μεθόδους που εφαρμόζονται σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων, οι απαιτήσεις αυτές είναι δυνατό να διαφέρουν ανάλογα με το επίπεδο συγκέντρωσης.
- Ορίζεται τρόπος έκφρασης των αποτελεσμάτων
- Καθορίζονται τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Διαδικασία επικύρωσης μεθόδου

1. Εκτίμηση της ορθότητας (accuracy): Η ορθότητα αναφέρεται στη διαφορά (σφάλμα) μεταξύ του μέσου όρου μιας σειράς μετρήσεων και της αληθούς τιμής της μετρούμενης ποσότητας. Εκφράζεται συνήθως με το ποσοστό ανάκτησης, όπως αυτό προκύπτει από τα πειράματα ανάκτησης.
2. Εκτίμηση της ακρίβειας (precision): Η ακρίβεια μετριέται με την επαναληψιμότητα, η οποία είναι το μέτρο της διασποράς μίας σειράς μετρήσεων μεταξύ τους και εκφράζεται με κάποιο στατιστικό μέτρο της διασποράς π.χ. με την τυπική απόκλιση s , που έχει τις μονάδες των επιμέρους αποτελεσμάτων (π.χ. $\mu\text{g}/\text{L}$, mg/Kg κλπ). Εκφράζεται με την σχετική τυπική απόκλιση (RSD) των επαναλήψεων στα πειράματα ανάκτησης ή από τις επαναλήψεις ανάλυσης του ίδιου δείγματος. Εκτός της επαναληψιμότητας στην εκτίμηση της ακρίβειας χρησιμοποιείται και η αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) που είναι το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων αναλύσεων με την ίδια μέθοδο και το ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες (αναλυτής, συσκευή, εργαστήριο, χρόνος).
3. Μελέτη της γραμμικότητας (linearity): Από τους ανιχνευτές άλλοι εμφανίζουν γραμμικότητα και άλλοι όχι. Αλλά και στους γραμμικούς ανιχνευτές η γραμμικότητα δεν είναι εξασφαλισμένη σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων. Η γραμμικότητα είναι επιθυμητή αλλά όχι απαραίτητη προϋπόθεση.
4. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης (limit of detection, LOD): Το όριο ανίχνευσης προσδιορίζεται ως το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης του αναλύτη, στο οποίο

αυτός μπορεί να ανιχνευθεί αξιόπιστα. Εξαρτάται από τον αναλύτη, το υπόστρωμα και τον ανιχνευτή.

5. Υπολογισμός του ορίου ποσοτικοποίησης (limit of quantification, LOQ): Το όριο ποσοτικοποίησης προσδιορίζεται ως το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης, στο οποίο ο αναλύτης μπορεί αξιόπιστα να προσδιοριστεί ποσοτικά, με αποδεκτή ακρίβεια και ορθότητα. Εξαρτάται και αυτό από τον αναλύτη, το υπόστρωμα και τον ανιχνευτή.
6. Ευαισθησία της μεθόδου: προκειμένου μία μέθοδος να θεωρείται ότι διαθέτει ικανοποιητική ευαισθησία στον προσδιορισμό υπολειμμάτων, η Ε.Ε. έχει καθορίσει την παρακάτω σχέση (Πίνακας 1):

Πίνακας 1: Συσχέτιση του MRL με το LOQ

MRL (mg/Kg)	LOQ (mg/Kg)
> 0,5	0,1
0,5 - 0,05	0,1 - 0,02
< 0,05	MRL x 0,5

7. Αξιολόγηση της ειδικότητας (specificity): Ο έλεγχος ειδικότητας συνίσταται στην αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου να διαχωρίσει τον αναλυτή από γνωστές προσμίξεις, μεταβολίτες, προϊόντα διάσπασης και συστατικά του υποστρώματος του δείγματος.
8. Αξιολόγηση της ανθεκτικότητας (robustness): Η ανθεκτικότητα δείχνει την αξιοπιστία (reliability) μιας ανάλυσης σε σχέση με προσχεδιασμένες μεταβολές στις πειραματικές παραμέτρους της μεθόδου. Αποδεικνύει δηλαδή ότι δεν υπάρχουν διαφορές που να οφείλονται στην εμπειρία του αναλυτή, σε αντιδραστήρια και στήλες από διαφορετικούς προμηθευτές και στις περιβαλλοντικές συνθήκες του εργαστηρίου.
9. Καταγραφή στοιχείων επικύρωσης: Τα στοιχεία επικύρωσης των μεθόδων καταγράφονται και φυλάσσονται στο αρχείο των μεθόδων μαζί με τα πειραματικά στοιχεία.

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα προκαθορισμένα όρια (FAO) για τις συγκεντρώσεις, τα οποία υπό συγκεκριμένες συνθήκες μπορούν να μεταβληθούν ελάχιστα.

Πίνακας 2: Συνδυασμός των ορίων των τιμών συγκέντρωσης με την επαναληψιμότητα (repeatability), την αναπαραγωγιμότητα (reproducibility) και την ακρίβεια (trueness).

Concentration	Repeatability		Reproducibility		Trueness Range of mean % recovery
	CV _A % ³	CV _L % ⁴	CV _A % ³	CV _L % ⁴	
≤ μg/Kg	35	36	53	54	50-120
>1μg/Kg ≤ 0,01mg/Kg	30	32	45	46	60-120
>0,01mg/Kg ≤ 0,1mg/Kg	20	22	32	34	70-120
>0,1mg/Kg ≤ 1mg/Kg	15	18	23	25	70-110
>1mg/Kg	10	14	16	19	70-110

Εσωτερικός έλεγχος ποιότητας

Ο εσωτερικός έλεγχος ποιότητας συνίσταται στη συστηματική παρακολούθηση της μεθόδου και της σωστής εκτέλεσης των αναλύσεων, ώστε να εξασφαλίζεται η ακρίβεια

και η σταθερότητα των παραγόμενων αποτελεσμάτων. Ο ρόλος του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας σε ένα εργαστήριο δοκιμών είναι η χρήση κατάλληλων τεχνικών, ώστε να εντοπίζονται και να αναιρούνται οι αιτίες που προκαλούν τα σφάλματα κατά την διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας. Οι τεχνικές που εφαρμόζονται για την επίτευξη αυτού του σκοπού είναι :

1. Ανάλυση λευκών (Blanks): Η τεχνική της ανάλυσης του λευκού, παράλληλα με την ανάλυση δείγματος, αποσκοπεί στον προσδιορισμό και την αναίρεση του συστηματικού σφάλματος που προκύπτει αν μηδενιστεί το σήμα του υπόβαθρου (background), το οποίο εμφανίζεται στην περιοχή μέτρησης ενός άγνωστου δείγματος.
2. Ανάλυση μάρτυρα (control sample): Δείγματος δηλαδή στο οποίο δεν έχουν γίνει επεμβάσεις με φυτοφάρμακα που καλούμαστε να προσδιορίσουμε και συνεπώς, το εκχύλισμα του δίνει χρωματογράφημα που κατά κανόνα δεν εμφανίζει παρεμποδίζουσες κορυφές στους χρόνους κατακράτησης των προς προσδιορισμό δραστικών ουσιών.
3. Ανάλυση εμβολιασμένων δειγμάτων (QC samples): Η ανάλυση εμβολιασμένων δειγμάτων, παράλληλα με την ανάλυση των αγνώστων δειγμάτων, έχει ως σκοπό τον εντοπισμό και την αναίρεση κυρίως των συστηματικών σφαλμάτων. Αποτελούν τα ονομαζόμενα QC δείγματα (quality control) και με αυτά βαθμονομούμε τις αναλυτικές μεθόδους.
4. Πολλαπλές αναλύσεις του δείγματος (replicates): Με την τεχνική αυτή ελέγχεται η επαναληψιμότητα της μεθόδου εντός του εργαστηρίου για μία ομάδα δειγμάτων. Δηλαδή ελέγχονται και εξουδετερώνονται κατά ένα μέρος τα τυχαία σφάλματα. Η πολλαπλή ανάλυση του δείγματος συνίσταται στην επανάληψη ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, από την ζύγιση του δείγματος ως τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι για να ελεγχθεί η ακρίβεια της μεθόδου με τις πολλαπλές αναλύσεις, ένας από τους οποίους είναι με έλεγχο της σχετικής τυπικής απόκλισης από τρεις τουλάχιστον επαναλήψεις. Οι τιμές της δεν πρέπει να ξεπερνούν τις τιμές του παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3: Όρια που δεν πρέπει να υπερβούν οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης σε συνδυασμό με τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων

Επίπεδο υπολειμμάτων (mg/Kg)	Σχετική Τυπική Απόκλιση (%)
0,01	50

0,1	25
1	12,5
>1	12,5

5. Χρήση υλικών αναφοράς και πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (certified reference materials): Τα πρότυπα υλικά αναφοράς (standard reference materials) είναι χημικές ενώσεις υψηλής καθαρότητας, των οποίων οι τιμές των ιδιοτήτων τους έχουν πιστοποιηθεί μέσα από μία τεχνικά έγκυρη διαδικασία και συνοδεύονται από πιστοποιητικό του φορέα πιστοποίησης. Τα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς (certified reference materials) είναι δείγματα όμοιου ή παρόμοιου υποστρώματος με τα άγνωστα δείγματα, τα οποία περιέχουν γνωστή συγκέντρωση του μετρούμενου συστατικού.
6. Δείγματα ελέγχου ποιότητας (ΔΕΠ): Είναι διαλύματα με γνωστή περιεκτικότητα του μετρούμενου αναλύτη, τα οποία παρασκευάζονται δευτερογενώς από πρότυπα υλικά αναφοράς και χρησιμοποιούνται για τον καθημερινό έλεγχο των αναλυτικών οργάνων.
7. Ενδοεργαστηριακές (intralaboratory) και διεργαστηριακές (interlaboratory) δοκιμές: Οι διεργαστηριακές εξετάσεις ελέγχου ικανότητας (Proficiency Testing Schemes), αλλά και οι ενδοεργαστηριακές εξετάσεις, είναι από τους καλύτερους τρόπους για ένα αναλυτικό εργαστήριο να ελέγξει την απόδοσή του έναντι των απαιτήσεων διαπίστευσης. Μέσω των εξετάσεων αυτών ελέγχεται η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ των εργαστηρίων και εντοπίζονται τα συστηματικά σφάλματα.

Μελέτες υπολειμμάτων

Υπάρχουν συγκεκριμένοι παράγοντες που πρέπει να έχουμε υπόψη μας για αυτές τις μελέτες, οι οποίοι είναι οι εξής:

1. Ποιές θα είναι οι προς παρακολούθηση ενώσεις (target compounds)
2. Η στρατηγική της δειγματοληψίας
3. Η αναλυτική στρατηγική

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4) παρουσιάζονται συνδυασμοί δραστικών ουσιών με γεωργικά προϊόντα. Τα στοιχεία αφορούν αναλύσεις που πραγματοποίησε το U.S.D.A. (United States Department of Agriculture) σε 9.000 δείγματα φυτικών προϊόντων από διάφορες χώρες σε ένα έτος. Αντίθετα, περιπτώσεις δραστικών ουσιών που

έχουν πολύ μικρή συχνότητα ανεύρεσης από τους πραγματοποιούμενους ελέγχους, όπως στον Πίνακα 5 μπορούν να εκτιμηθούν με τον σχεδιασμό μίας νέας μελέτης.

Πίνακας 4: Γεωργικά προϊόντα στα οποία ανιχνεύθηκαν υπολείμματα δραστικών ουσιών σε συχνότητα μεγαλύτερη από 20% (με εξαίρεση αυτά στα οποία δίνεται η σχετική τιμή). (Πηγή: U.S.D.A., έτος 1999, αριθμός δειγμάτων: περίπου 9.000)

azinphos methyl (E)	Μήλα, αχλάδια
benomyl (M)	Φράουλες
captan (M)	Φράουλες
carbaryl (E)	Χυμός σταφυλιού, φράουλες
chloropyrifos ethyl (E)	Μήλα, τομάτες (15%)
DDE (μεταβολίτης DDT)	Σπανάκι
dicofol (E)	Αχλάδια
dieldrin (E)	Αγγούρια (14%)
diphenylamine (M)	Αχλάδια (15%)
endosulfan (E)	Αγγούρια, πιπεριές , τομάτες, κολοκύθια
iprodione (M)	Φράουλες
λ – cyhalothrin (E)	Τομάτες
malathion (E)	Φράουλες
metalaxyl (M)	Πιπεριές (16%)
methamidophos (E)	Πιπεριές , τομάτες
methomyl (E)	Φράουλες, πιπεριές
myclobutanil (M)	Φράουλες
omethoate (μεταβολίτης dimethoate)	Πιπεριές (10%)
oxamyl (E)	Πιπεριές (10%)
permethrin (E)	Σπανάκι, τομάτες (15%), πιπεριές (10%)
o – phenylphenol (M)	Αχλάδια
phosmet (E)	Αχλάδια (13%), μήλα (10%)
thiabendazole (M)	Αχλάδια

(Πηγή: U.S.D.A., έτος 1999, αριθμός δειγμάτων: περίπου 9.000)

Πίνακας 5: Ορισμένες δραστικές ουσίες που ανιχνεύονται στα φυτικά προϊόντα με συχνότητα < 3%.

Δραστικές ουσίες	Συχνότητα ανίχνευσης (%)
acephate (E)	3,0
aldicarb (E)	0
aldrin (E)	0
atrazine (Z)	0,01
azinphos ethyl (E)	0
captafol (M)	0
carbofuran (E)	0,2
chlorothalonil (M)	1,5
chloropyrifos methyl (E)	0
cyfluthrin (E)	0,4
cypermethrin (E)	0,6
demeton – S (E)	0
diazinon (E)	0,6
dicofol (E)	2,5
disulfoton (E)	0
ethion (E)	0,3
fenamiphos (E)	0
fenthion (E)	0
imazalil (M)	0
λ – cyhalothrin (E)	3
lindane (E)	0,03
malathion (E)	1,5
methidathion (E)	0,03
myclobutanil (M)	2,6
parathion ethyl (E)	0,05
parathion methyl (E)	1,6
phorate & μεταβολίτες (E)	0
phosalone (E)	0

phosphamidon (E)	0,2
pirimiphos methyl (E)	0
procymidone (E)	0
propargite (E)	0,04
tetradifon (E)	0,03
triadimefon (M)	0,2
vinclozolin (M)	1,5

(Πηγή: U.S.D.A., έτος 1999, αριθμός δειγμάτων: περίπου 9.000)

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Υλικά και μέθοδοι

Πείραμα αγρού

Το πειραματικό μέρος αγρού πραγματοποιήθηκε στο αγρόκτημα της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Βελεστίνο του νομού Μαγνησίας. Έλαβε χώρα τον Ιούλιο του 2011. Οι καλλιέργειες που επιλέχθηκαν ήταν η πιπεριά και το κολοκυθάκι. Στον αγρό ακολουθήθηκαν οι εξής διαδικασίες : περιποίηση της καλλιέργειας (άρδευση, ξεβοτάνισμα), εφαρμογή παρασιτοκτόνων, δειγματοληψία των καρπών στις επιλεγμένες ημερομηνίες.

Στον παρακάτω πίνακα 6 αναφέρονται πληροφοριακά οι κλιματολογικές συνθήκες κατά την διάρκεια του πειράματος (μετεωρολογικός σταθμός Ν. Αγχιάλου).

Πίνακας 6 : κλιματολογικές συνθήκες κατά την διάρκεια του πειράματος

Έτος και Μήνας	Ημερήσια Μέγιστη Θερμοκρασία(° C)	Ημερήσια Ελάχιστη Θερμοκρασία(° C)	Μέση Υγρασία (%)	Ημερήσια
Ιούλιος 2011	32,8	20,1	38,8	

Δειγματοληψία στον αγρό

Για την παρακολούθηση της πορείας των υπολειμμάτων συλλέχθηκαν δείγματα μετά την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην καλλιέργεια σε ορισμένα χρονικά διαστήματα (Ιούνιος – Ιούλιος 2011). Συγκεκριμένα για την καλλιέργεια της πιπεριάς δείγματα συλλέχθηκαν σε 0 (τρεις ώρες μετά την εφαρμογή), 1, 4 και 6 ημέρες μετά την εφαρμογή (HME), ενώ στα κολοκυθάκια 0, 1 και 4 HME.

Στην περίπτωση των καρπών της πιπεριάς σε κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας συλλέχθηκαν τέσσερα δείγματα, ένα από κάθε επανάληψη (τέσσερις επαναλήψεις) . Το κάθε δείγμα αποτελούταν από 3 καρπούς πιπεριάς και οι συλλεχθέντες καρποί είχαν πάρει το τελικό μέγεθος καθώς βρισκονταν είτε στο στάδιο ωρίμανσης είτε στο εμπορικό στάδιο.

Με τον ίδιο τρόπο έλαβε χώρα και η δειγματοληψία των κολοκυθιών με την διαφορά ότι στα κολοκυθάκια πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις. Το κάθε δείγμα περιελάμβανε 10 κολοκυθάκια μεσαίου μεγέθους.

Εξοπλισμός εργαστηρίου

- Ψυγείο και καταψύκτης
- Κόπτες τροφών (ηλεκτρική συσκευή blender, μαχαίρι)
- Ομογενοποιητής Ultra Turax για την εκχύλιση φυτικών ιστών
- Φυγόκεντρος, για την φυγοκέντρωση των εκχυλισμάτων
- Συσκευή συμπύκνωσης με ρεύμα αζώτου στην ξήρανση
- Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή NPD

Για την ανίχνευση των pirimicarb, penconazole και myclobutanil στα εκχυλίσματα των δειγμάτων των καρπών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα έριας χρωματογραφίας τύπου Hewlett - Packard 6890 με ανιχνευτή αζώτου - φωσφόρου (NPD) και χρωματογραφική στήλη (25 m x 0,22 mm) τύπου BPX-35. Η καταγραφή και επεξεργασία του χρωματογραφικού σήματος έγινε σε H/Y με το πρόγραμμα Chem Station. Οι συνθήκες λειτουργίας ήταν οι ακόλουθες :

- Εγχυτής δείγματος σε λειτουργία « pulsed splitless»
- Θερμοκρασία εγχυτή 250° C
- Όγκος έγχυσης δείγματος 1 µL
- Θερμοκρασία ανιχνευτή 310 ° C
- Αέρια ανιχνευτή: H₂ (3mL/min), Air (60 mL/min), make up He (5mL/min)
- Φέρον αέριο ήλιο, με ροή 1,0 mL/ min.
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης: αρχική θερμοκρασία φούρνου στους 100 °C και διατήρησή της για 2,0 min. Αύξηση με ρυθμό 12 °C/ min μέχρι τους 230 °C, αύξηση με ρυθμό ανόδου 10 °C/ min μέχρι τους 270 °C και διατήρησή της για 2 min, αύξηση με ρυθμό 20 °C/ min μέχρι τους 280 °C και παραμονή για 6 min.. Ο συνολικός χρόνος του χρωματογραφικού προγράμματος της ανάλυσης ήταν 25,33 min.

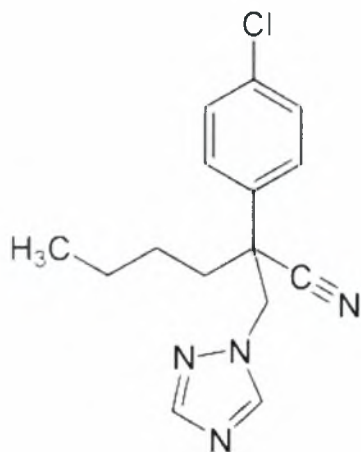
Χημικά αντιδραστήρια - Διαλύματα

- Διαλύτες : Χρησιμοποιήθηκαν διαλύτες κατηγορίας pesticide residues analysis, ο Οξικός αιθυλεστέρας, το Εξάνιο, η Μεθανόλη, το Τολουόλιο και το Τριμεθυλοπεντάνιο (Ισοοκτάνιο).
- Πρότυπα διαλύματα : Παρασκευάσθηκαν για κάθε μία ουσία μητρικά (stock) πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης 1000 µg/ml σε μεθανόλη. Από τα μητρικά πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας 50 και 100 µg/ml σε μεθανόλη τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων βαθμονόμησης συγκέντρωσης 0,10 – 10 µg/mL. Επίσης, παρασκευάστηκαν και μικτά πρότυπα διαλύματα εργασίας 10 µg/ml σε ακετόνη για τα πειράματα ανάκτησης. Μικτά πρότυπα διαλύματα των παραπάνω ουσιών σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς και κολοκυθιού παρασκευάστηκαν από τα μικτά πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης σε διαλύτη και χρησιμοποιήθηκαν για τη βαθμονόμηση του χρωματογραφικού σήματος. Η διαδικασία αυτή κρίθηκε αναγκαία για να ελεγχθεί το φαινόμενο της επίδρασης του υποστρώματος (matrix effect) στη χρωματογραφική ανάλυση.
- Πρότυπες ουσίες : pirimicarb (καθαρότητα 98,5 %), penconazole (καθαρότητα 98,5 %), myclobutanil (καθαρότητα 97,5 %)
- Φυτοπροστατευτικά σκευάσματα : Pirimor (Pirimicarb 50% β.β.), Douro (Penconazole 10% β.ο.) και Systhane (Myclobutanil 20% β.ο.).

Χρησιμοποιηθέντα φυτοφάρμακα

Mycloboutanil

Δράση προϊόντος: Μυκητοκτόνο



Χημικό όνομα: άλφα-βουτυλικός-άλφα (4-chlorophenyl) - 1H-1, 2, 4 τριαζόλη-1-propanenitrile

Μοριακός τύπος: C₁₅H₁₇ClN₄

Μοριακό βάρος: 288.78

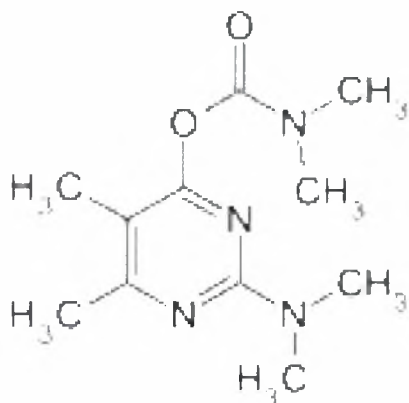
Το myclobutanil είναι μία τριαζόλη που χρησιμοποιείται ως μυκητοκτόνο. Είναι ένας αναστολέας στεροειδούς απομεθυλίωσης. Ειδικότερα, αναστέλλει τη βιοσύνθεση της εργοστερόλης. Έχει τη μορφή κίτρινης στερεάς σκόνης ή καφετί - κίτρινου διαφανούς υγρού.

Ιδιότητες: Χαρακτηρίζεται από διαλυτότητα στο νερό, στους κοινούς οργανικούς διαλύτες, στις κετόνες, στους εστέρες και σε αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Είναι αδιάλυτο στους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες.

Χρήσεις: Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο του ωιδίου στα μήλα και τα αχλάδια και για τη σήψη άνθων. Για τον έλεγχο του σπόρου και του εδάφους για ασθένειες σε καλλιέργειες όπως το κριθάρι, τον αραβόσιτο, το βαμβάκι, το ρύζι και το σίτο. Εφαρμογές του εντοπίζουμε και μετά την συγκομιδή του προϊόντος με εμβάπτιση ή ψεκάσμο.

Pirimicarb

Είναι ένα εκλεκτικό καρβαμιδικό εντομοκτόνο, που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των αφίδων σε λαχανικά, δημητριακά και οπωρώνες και λειτουργεί με αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης. Πρέπει να σημειώσουμε ότι δεν επηρεάζει έντομα τα οποία είναι ωφέλιμα για την καλλιέργεια, όπως οι πασχαλίτσες.

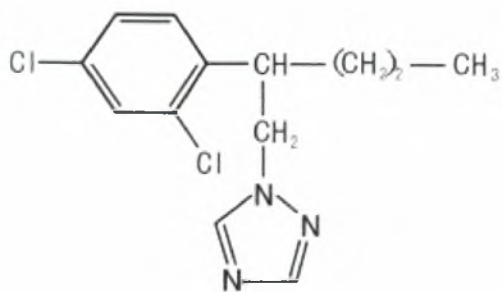


Μοριακός τύπος: C₁₁H₁₈N₂O₄

Μοριακή μάζα: 238,29 g/ mol

Χρήσεις: Ειδικό αφιδοκτόνο, που δρα με επαφή και με ατμούς, με διασυστηματική δράση. Διεisdύει στα φύλλα και απορροφάται από τις ρίζες. Δεν καταπολεμά ακάρεα και μύκητες και για αυτό είναι κατάλληλο για αφίδες σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης. Έχει ταχύτατη δράση. Χρησιμοποιείται στα οπωροφόρα, φασόλια, σταυρανθή, άλλα κηπευτικά, σακχαρότευτλα, πατάτες.

Penconazole



96% Min Technical

Μοριακός τύπος: C₁₃H₁₅Cl₂N₃

Χημικό όνομα: 1-(2-(2,4-διχλωρό-β-προπυλφαινεθυλ)-1H-1,2,4-τριαζόλη

Χρήσεις: Δρα κατά του ωιδίου και του φουζικλαδίου της μηλιάς και των μηλοειδών. Έχει σημαντική δράση κατά των ασκομυκήτων και των βασιδιομυκήτων. Επίσης προστατεύει πυρηνόκαρπα, καλλωπιστικά φυτά, τον λυκίσκο και διάφορα λαχανικά.

Επεξεργασία του δείγματος

Τα λαχανικά (πιπεριές και κολοκυθάκια) μετά τη δειγματοληψία έπρεπε να υποστούν συγκεκριμένα στάδια επεξεργασίας, ώστε να είναι στην κατάλληλη μορφή που δέχεται ο χρωματογράφος και να λάβουν χώρα οι απαραίτητες μετρήσεις. Τα στάδια είναι τα εξής :

1. Ζύγιση και καταγραφή μεγέθους
2. Τεμαχισμός των λαχανικών με μαχαίρι (Παράρτημα 1)
3. Πολτοποίηση των λαχανικών με την χρήση ηλεκτρικής συσκευής blender
4. Τοποθέτηση μέρους του πολτού των λαχανικών (200 g περίπου) σε αποστειρωμένα σακουλάκια δειγμάτων κατηγοριοποιημένα ανάλογα την ημερομηνία και την ημέρα ψεκασμού. Πάνω στο σακουλάκι αναγραφόταν τα στοιχεία του δείγματος.
5. Το δείγμα φυλασσόταν στην κατάψυξη στους - 22 ° C μέχρι την ανάλυσή τους

Διαδικασία εκχύλισης δειγμάτων

Για την ανάλυση δειγμάτων της πιπεριάς και του αγγουριού για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φ.ο., ακολουθήθηκε η παρακάτω πορεία στα πλαίσια της αναλυτικής μεθοδολογίας προσδιορισμού υπολειμμάτων.

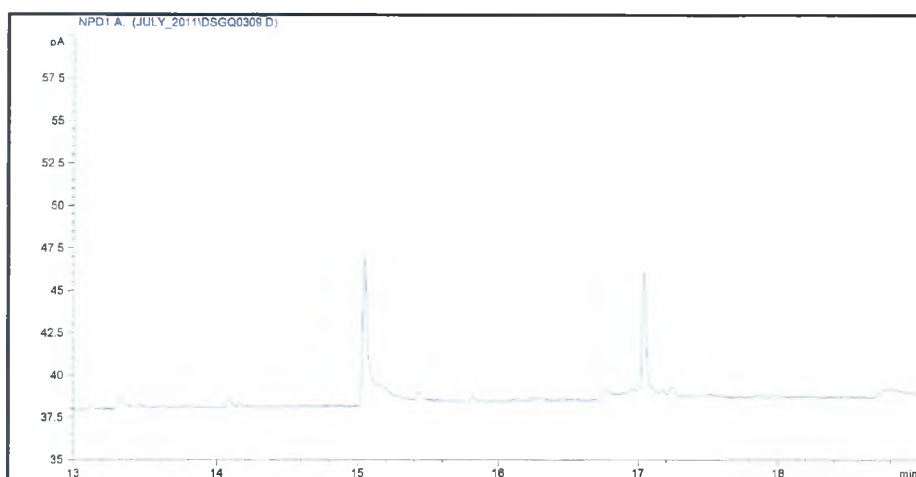
- ✓ Ζύγιση 5,00 g ιστού ομογενοποιημένου δείγματος καρπών μέσα σε γυάλινο σωλήνα φυγοκέντρησης
- ✓ Προσθήκη 10 mL μίγματος οξικού αιθυλεστέρα (EtAc) και εξαního (Hx) (10/10 v/v) και ομογενοποίηση σε Ultra Turax (8000 στρ./ min) για 1 min.
- ✓ Φυγοκέντρηση των σωλήνων στις 4000 στρ./ min για 5 min περίπου.
- ✓ Λήψη 2 mL εκχυλίσματος και μεταφορά τους σε γυάλινα φιαλίδια των 5mL.
- ✓ Συμπύκνωση μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου.
- ✓ Προσθήκη 0,5mL (500μL) μίγματος ισοκτάνιο/τολουόλιο (90/10 v/v), ανακίνηση και μεταφορά του τελικού εκχυλίσματος σε φιαλίδια χρωματογραφίας. (Παράρτημα 4)
- ✓ Χρωματογραφική ανάλυση.

Αποτελέσματα – Συζήτηση

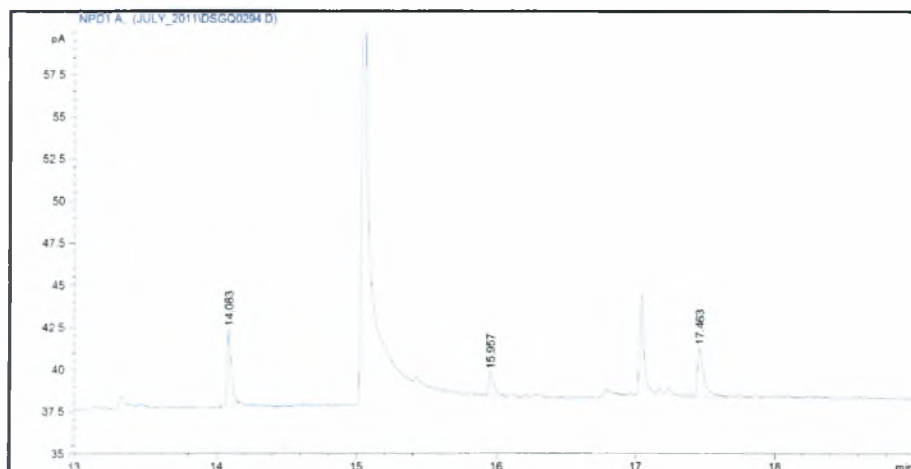
Ποιοτική ανάλυση

Η ταυτοποίηση των παρασιτοκτόνων στα χρωματογραφήματα του συστήματος GC – NPD έγινε με βάση το χρόνο κατακράτησής τους. Οι χρόνοι κατακράτησης είναι 14,1 για το pirimicarb, 16,0 για το penconazole και 17,5 για το myclobutanil (Χρωματογραφήματα 3 και 5).

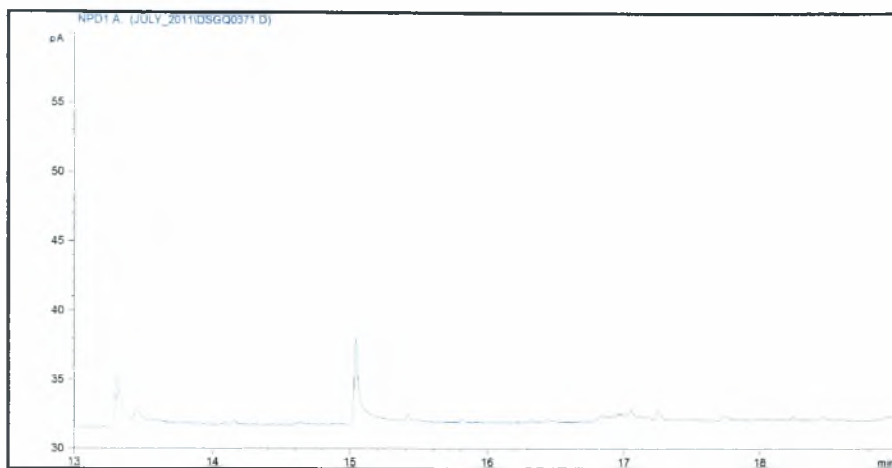
Η ανάλυση των δειγμάτων του μάρτυρα, τόσο για τις πιπεριές όσο και για τα κολοκυθάκια, δεν εμφάνισε παρεμποδίζουσες κορυφές στους χρόνους κατακράτησης των κορυφών των παραπάνω δραστικών ουσιών, όπως και αναμενόταν (Χρωματογραφήματα 2 και 4).



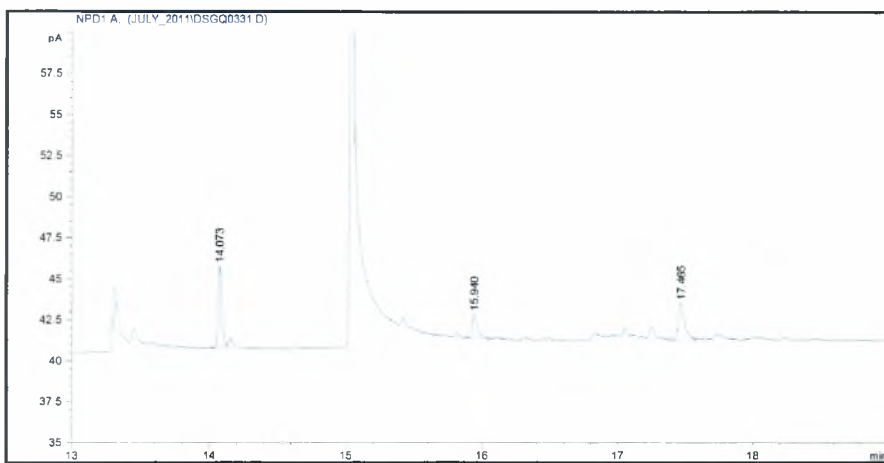
Χρωματογράφημα 2 : Χρωματογράφημα εκχύλισματος υποστρώματος πιπεριάς (αναλυτικός μάρτυρας)



Χρωματογράφημα 3 : Χρωματογράφημα διαλύματος πρότυπων ουσιών σε εκχύλιση υποστρώματος πιπεριάς συγκέντρωσης 0,2 μg/mL



Χρωματογράφημα 4 : Χρωματογράφημα εκχύλισματος υποστρώματος κολοκυθιού (αναλυτικός μάρτυρας)



Χρωματογράφημα 5 : Χρωματογράφημα διαλύματος πρότυπων ουσιών σε εκχύλιμα υποστρώματος κολοκυθιού συγκέντρωσης 0,2 $\mu\text{g/mL}$

Ποσοτικός προσδιορισμός

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των pirimicarb, penconazole και myclobutanil στα δείγματα έγινε με την τεχνική του εξωτερικού προτύπου με τη χρήση καμπύλης αναφοράς. Κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για πρότυπα διαλύματα σε διαλύτη και για πρότυπα διαλύματα σε εκχύλισμα του κάθε υποστρώματος και μελετήθηκαν η γραμμικότητα του ανιχνευτή και η επίδραση του κάθε υποστρώματος.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων στα δείγματα λαχανικών χρησιμοποιήσαμε την ακόλουθη εξίσωση :

$$C_s = C_i / F_c$$

Όπου : C_{sample} : η συγκέντρωση στο υπόστρωμα του δείγματος (mg / kg)

$C_{injection}$: η συγκέντρωση ($\mu\text{g} / \text{mL}$) σε δραστική ουσία φυτοφαρμάκου στο διάλυμα, όπως προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς ($y = a C_i + b$), όπου y το ύψος της χρωματογραφικής κορυφής και a η κλίση της καμπύλης.

F_c : ο συντελεστής συμπύκνωσης του υποστρώματος, ο οποίος είναι 2 g ιστού/mL ενέσιμου διαλύματος

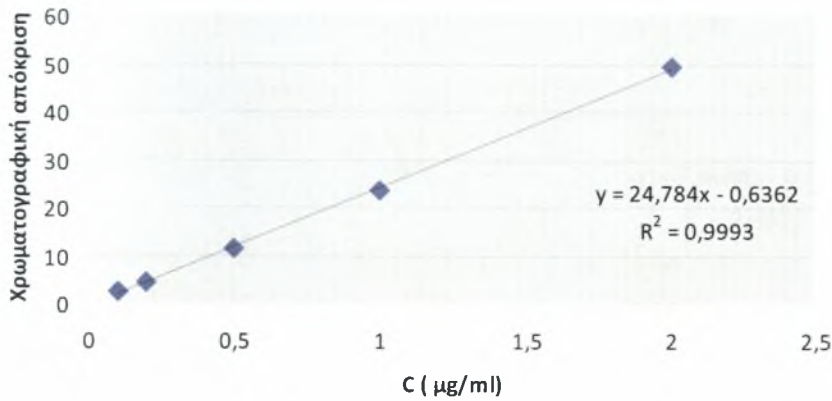
Για την ποσοτικοποίηση των χρωματογραφικών κορυφών χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες αναφοράς των πρότυπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος καθώς παρατηρήθηκε εμφάνιση επίδρασης υποστρώματος όπως και παρατίθενται παρακάτω.

Πρότυπες καμπύλες - Επίδραση υποστρώματος

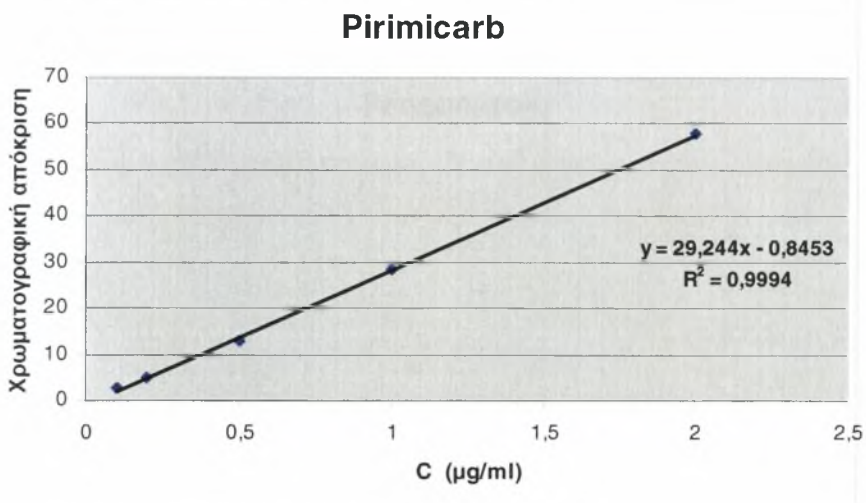
Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται τα γραφήματα των καμπύλων αναφοράς (βαθμονόμησης), των pirimicarb, penconazole και myclobutanil με χρήση πρότυπων διαλυμάτων σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς (Διαγράμματα 1, 3 5) και κολοκυθιού (Διαγράμματα 2, 4, 6) για το σύστημα GC – NPD.

Επίσης, στις εικόνες παρουσιάζονται και οι εξισώσεις συσχέτισης του χρωματογραφικού σήματος με τη συγκέντρωση καθώς και ο συντελεστής συσχέτισης R^2 , όπως προέκυψαν από την επεξεργασία των αποκρίσεων με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

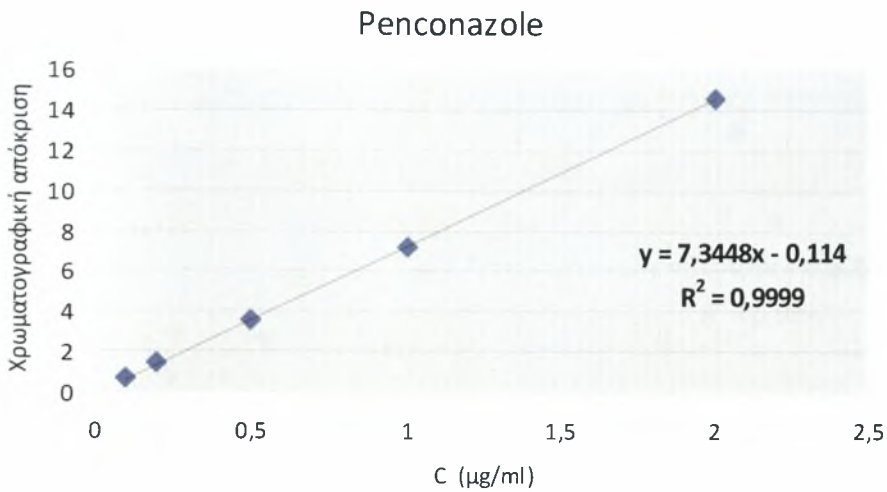
Pirimicarb



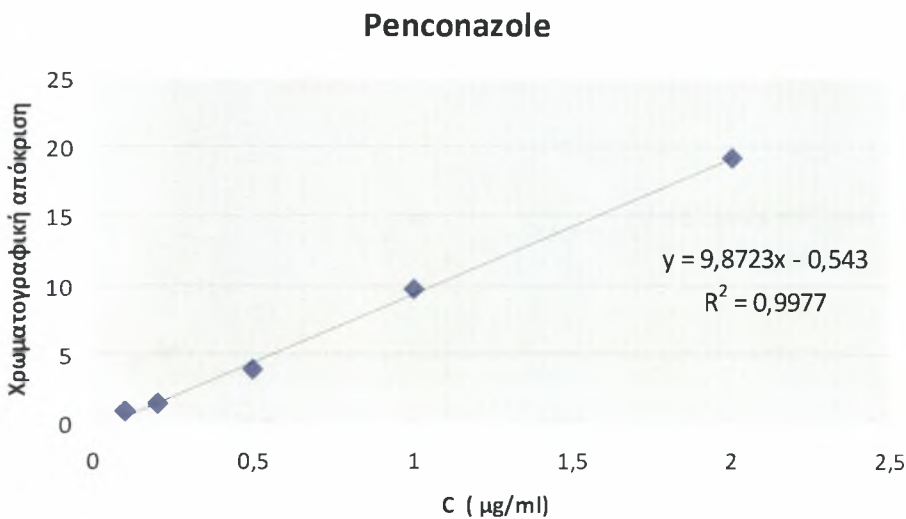
Διάγραμμα 1 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC – NPD για πρότυπα διαλύματα pirimicarb συγκεντρώσεων 0,10 – 2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς.



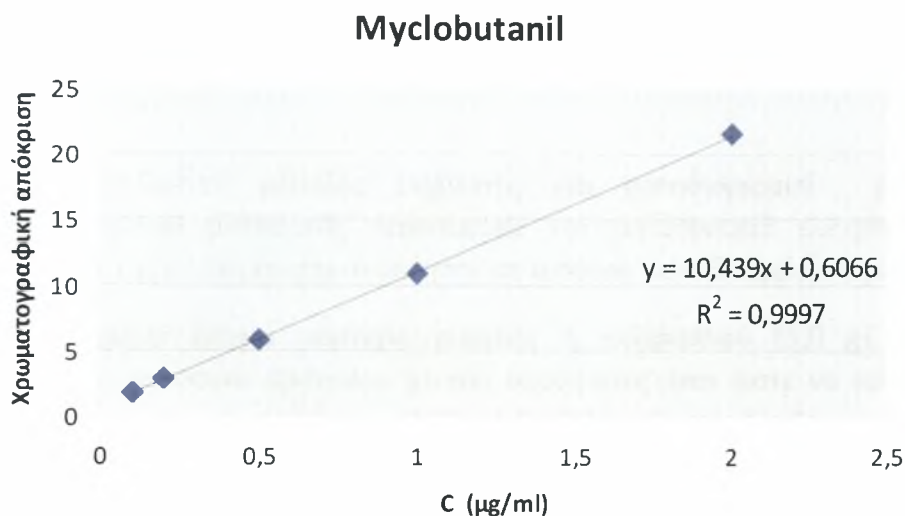
Διάγραμμα 2 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC – NPD για πρότυπα διαλύματα pirimicarb συγκεντρώσεων 0,10 – 2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος κολοκυθιού.



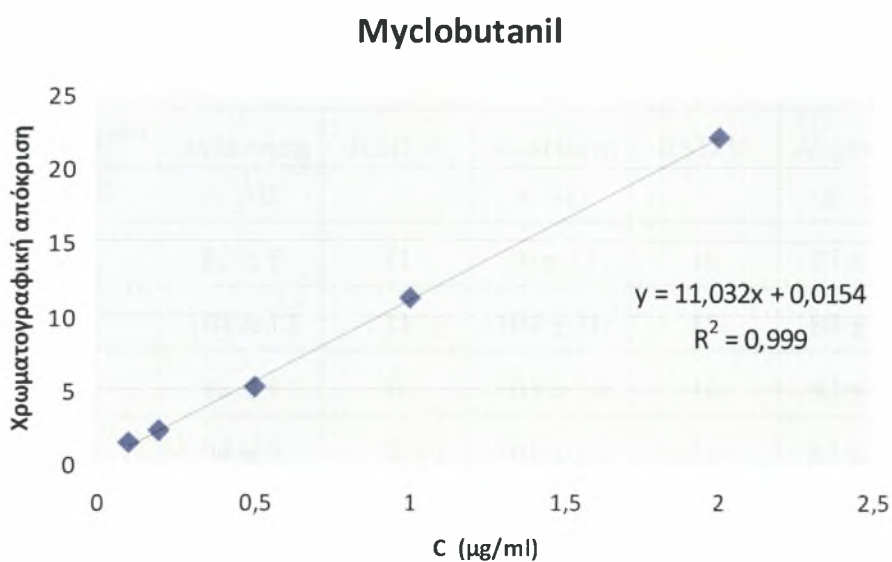
Διάγραμμα 3 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC – NPD για πρότυπα διαλύματα penconazole συγκεντρώσεων 0,10 – 2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς.



Διάγραμμα 4 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC – NPD για πρότυπα διαλύματα penconazole συγκεντρώσεων 0,10–2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος κολοκυθιού.



Διάγραμμα 5 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC – NPD για πρότυπα διαλύματα myclobutanil συγκεντρώσεων 0,10– 2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς.



Διάγραμμα 6 : Καμπύλη αναφοράς του συστήματος GC–NPD για πρότυπα διαλύματα myclobutanil συγκεντρώσεων 0,10–2,0 µg/ml σε εκχύλισμα υποστρώματος κολοκυθιού.

Από την παρατήρηση της τιμής της κλίσης των καμπυλών αναφοράς για κάθε ουσία σε εκχύλισμα υποστρώματος πιπεριάς σε σχέση με την τιμή της κλίσης για κάθε ουσία σε εκχύλισμα υποστρώματος κολοκυθιού προκύπτει η επίδραση υποστρώματος. Συγκεκριμένα εμφανίζεται υψηλότερη χρωματογραφική απόκριση για τις ουσίες όταν αυτές βρίσκονται σε εκχύλισμα κολοκυθιού. Πιο έντονο το φαινόμενο αυτό παρουσιάζεται για το penconazole με 33% περίπου θετική επίδραση, ενώ το φαινόμενο ατονεί για το myclobutanil (εμφανίζει 6 % θετική επίδραση).

Έλεγχος και αξιολόγηση της αναλυτικής μεθόδου

Η αναλυτική μέθοδος εκχύλισης και προσδιορισμού με GC-NPD των παρασιτοκτόνων pirimicarb, penconazole και myclobutanil ελέγχθηκε ως προς την αξιοπιστία της με πειράματα ανάκτησης σε τέσσερα επίπεδα εμβολιασμού .

Συγκεκριμένα δείγμα μάρτυρα πιπεριάς ή κολοκυθιού (5,0 g) εμβολιάστηκε με κατάλληλη ποσότητα πρότυπου μικτού διαλύματος έτσι ώστε να προκύψουν δείγματα φορτισμένα με συγκεντρώσεις 0,05, 0,1, 0,2, 1,0 mg δ.ο./kg ιστού. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η προαναφερόμενη μέθοδος εκχύλισης και ανάλυσης του δείγματος, προσδιορίστηκε η ποσότητα δραστικής ουσίας που ανακτήθηκε και συγκρίθηκε με αυτή που εμβολιάστηκε για να προκύψει το ποσοστό ανάκτησης. Το πείραμα επαναλήφθηκε 3 φορές και τα αποτελέσματά του, δηλαδή η ανάκτηση (%) και η επαναληψιμότητα (RSD) της μεθόδου για την δραστική ουσία, φαίνεται στους Πίνακες 7 και 8.

Πίνακας 7 : Μέση τιμή ανάκτησης και σχετική τυπική απόκλιση για τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil σε εμβολιασμένα δείγματα πιπεριάς (n=3) .

Επίπεδο εμβολιασμού mg / Kg	Pirimicarb		penconazole		myclobutanil	
	Ανάκτηση ± SD	RSD %	Ανάκτηση ± SD	RSD %	Ανάκτηση ± SD	RSD %
0,05	82 ± 9	11	76 ± 11	14	77 ± 16	21
0,10	104 ± 12	11	104 ± 16	15	80 ± 17	21
0,20	91 ± 9	10	103 ± 15	14	82 ± 11	13
1,0	94 ± 7	7	103 ± 12	12	83 ± 11	13

Πίνακας 8 : Μέση τιμή ανάκτησης και σχετική τυπική απόκλιση για τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil σε εμβολιασμένα δείγματα κολοκυθιού (n=3) .

Επίπεδο εμβολιασμού mg / Kg	Pirimicarb		penconazole		myclobutanil	
	Ανάκτηση ± SD%	RSD %	Ανάκτηση ± SD	RSD %	Ανάκτηση ± SD	RSD %
0,05	104 ± 13	13	99 ± 18	18	77 ± 14	18
0,10	87 ± 10	11	95 ± 11	12	81 ± 12	15
0,20	95 ± 12	13	88 ± 7	8	91 ± 15	16
1,0	92 ± 11	12	98 ± 3	3	89 ± 12	15

Στους πίνακες 7 και 8 οι ανακτήσεις των παρασιτοκτόνων κυμαίνονται από 76 έως 104 % για το υποστρώμα της πιπεριάς και από 77 έως 104 % . Οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης (RSD%) κυμαίνονται για την πιπεριά από 7 μέχρι 21 % και για το κολοκυθάκι από 3 μέχρι 18% .

Οι τιμές ανάκτησης που προέκυψαν είναι ικανοποιητικές, καθώς είναι γνωστό ότι όταν η ανάκτηση κυμαίνεται μεταξύ 70% και 110% της συγκέντρωσης με την οποία φορτίστηκε ο μάρτυρας τότε θεωρείται αποδεκτή και η μέθοδος είναι αξιόπιστη (Council Directive 94/43/EC, Greve, 1984). Επίσης οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι πολύ καλές (< 25%) και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος που εφαρμόσαμε εμφανίζει ικανοποιητική ακρίβεια.

Τα όρια ποσοτικοποίησης (Limits of Quantitation LOQ) ορίστηκαν με βάση το δεκαπλάσιο του θορύβου χρωματογραφημάτων εκχυλισμάτων των υποστρωμάτων της μελέτης, αλλά και λαμβάνοντας υπόψη τη χαμηλότερη συγκέντρωση των πειραμάτων ανάκτησης με ικανοποιητική ορθότητα και ακρίβεια. Έτσι ως LOQ για τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο ανάλυσης πιπεριάς και κολοκυθιού και για τα παρασιτοκτόνα της μελέτης ορίζονται τα 0,05 mg a.i. /kg για τα *pirimicarb*, *penconazole* και *myclobutanil*. Με βάση τις τιμές MRL για τα παρασιτοκτόνα της μελέτης για τα αντίστοιχα υποστρώματα (Πίνακας 9) προκύπτει ότι οι ορισθείσες τιμές LOQ για τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο είναι αρκετά χαμηλές και επιτρέπουν τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων σε συγκεντρώσεις τουλάχιστον υποδιπλάσιες των τιμών MRL.

Πίνακας 9 : Τιμές MRL (mg/kg) για τα παρασιτοκτόνα και τα υποστρώματα της μελέτης

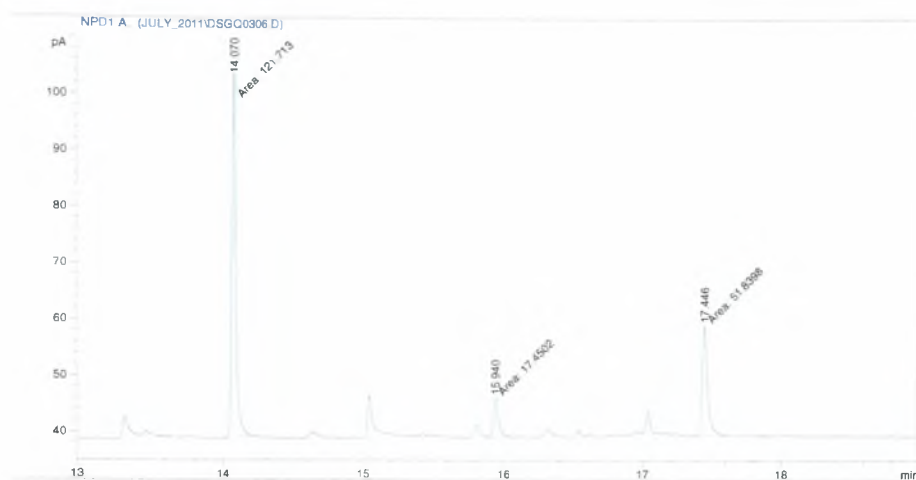
	pirimicarb	penconazole	myclobutanil
Πιπεριά	1,0	0,2	0,5
κολοκύθι	1,0	0,1	0,1

Εξέλιξη υπολειμμάτων σε πιπεριές στον αγρό

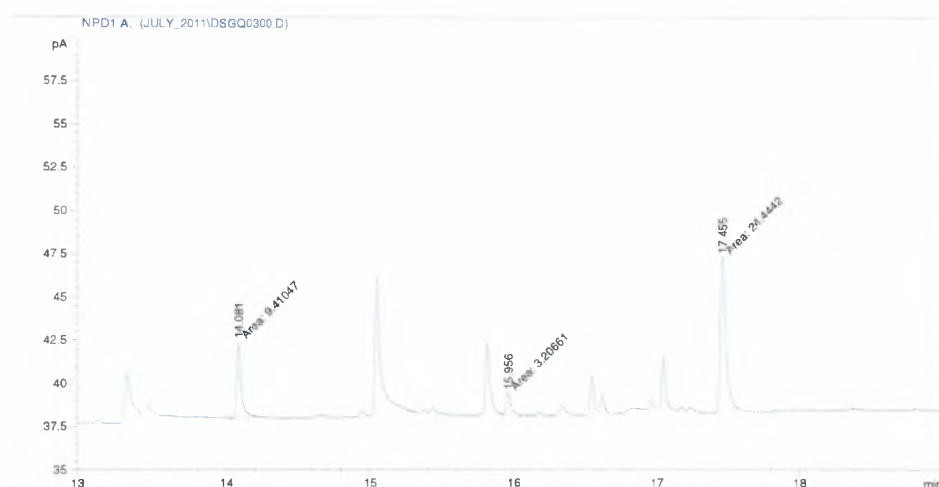
Οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων των παρασιτοκτόνων σε πιπεριές που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από την εφαρμογή τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 10, ενώ στα Χρωματογραφήματα 6 και 7 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα των εκχυλισμάτων δειγμάτων πιπεριάς που συλλέχτηκαν αμέσως μετά την εφαρμογή (0 ΗΜΕ) και 4 ΗΜΕ, αντίστοιχα.

Πίνακας 10: Μέση συγκέντρωση (n=3), σχετική τυπική απόκλιση (RSD) υπολειμμάτων pirimicarb, penconazole και myclobutanil σε καρπούς πιπεριάς υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή (ΗΜΕ) των παρασιτοκτόνων

	Ημέρες μετά την εφαρμογή (ΗΜΕ)	Συγκέντρωση (mg/kg)	SD	RSD (%)
Pirimicarb	0	1,28	0,05	3,7
	1	0,52	0,16	28
	4	0,10	0,03	26
	6	0,04	0,01	15
Penconazole	0	0,48	0,04	8
	1	0,26	0,07	27
	4	0,10	0,02	23
	6	0,06	0,01	10
Myclobutanil	0	0,96	0,05	5
	1	0,85	0,14	17
	4	0,49	0,08	19
	6	0,20	0,05	26



Χρωματογράφημα 6 : Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος πιπεριάς σε 0 ΗΜΕ



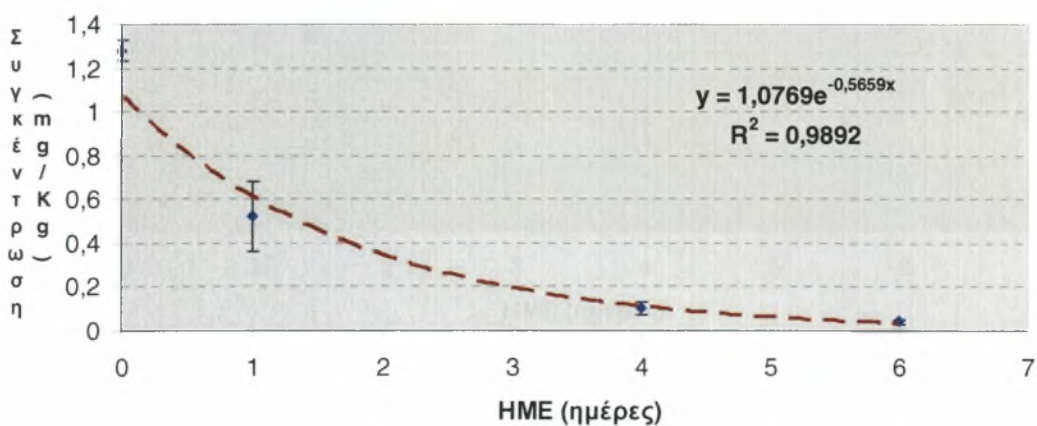
Χρωματογράφημα 7 : Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δείγματος πιπεριάς σε 4 ΗΜΕ

Επίσης στα διαγράμματα 7, 6 και 9 απεικονίζεται η πορεία των υπολειμμάτων των pirimicarb, penconazole και myclobutanil, αντίστοιχα καταγράφοντας τις καμπύλες υποβάθμισης και τις εξισώσεις που αντιστοιχούν σε κινητική πρώτου βαθμού. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρούνται υψηλές τιμές του συντελεστή συσχέτισης που φανερώνουν την ικανοποιητική περιγραφή της απομείωσης των υπολειμμάτων των pirimicarb, penconazole και myclobutanil σε καλλιέργεια πιπεριάς στον αγρό με κινητική πρώτου βαθμού.

Από τα διαγράμματα αυτά προκύπτει ότι οι χρόνοι υποδιπλασιασμού της αρχικής συγκέντρωσης είναι περίπου 1, 1,5 και 3 ημέρες για τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil, αντίστοιχα φανερώνοντας ταχείς ρυθμούς μείωσης των υπολειμμάτων στις πιπεριές. Η μείωση των υπολειμμάτων αποδίδεται είτε σε παράγοντες χημικής διάσπασης των μορίων (φωτοχημική, θερμική, υδρόλυση), είτε σε παράγοντες απώλειας λόγω πτητικοποίησης, είτε στο φαινόμενο της αραίωσης λόγω της γρήγορης αύξησης των καρπών της πιπεριάς.

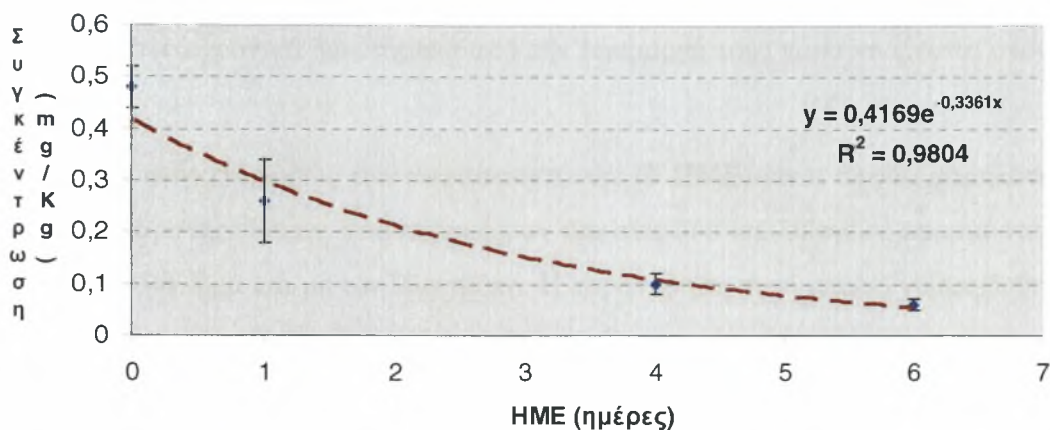
Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στους καρπούς της πιπεριάς είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για τα pirimicarb και penconazole και σε 6 HME για το myclobutanil. Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με τα προτεινόμενα όρια της τελευταίας επέμβασης πριν τη συγκομιδή (ΤΕΠΣ, Preharvest Interval, PHI), τα οποία έχουν ορισθεί σε 21 ημέρες για το pirimicarb , 3 ημέρες για το penconazole και 5 ημέρες για το myclobutanil.

Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων pirimicarb σε υπαίθρια καλλιέργεια πιπεριάς



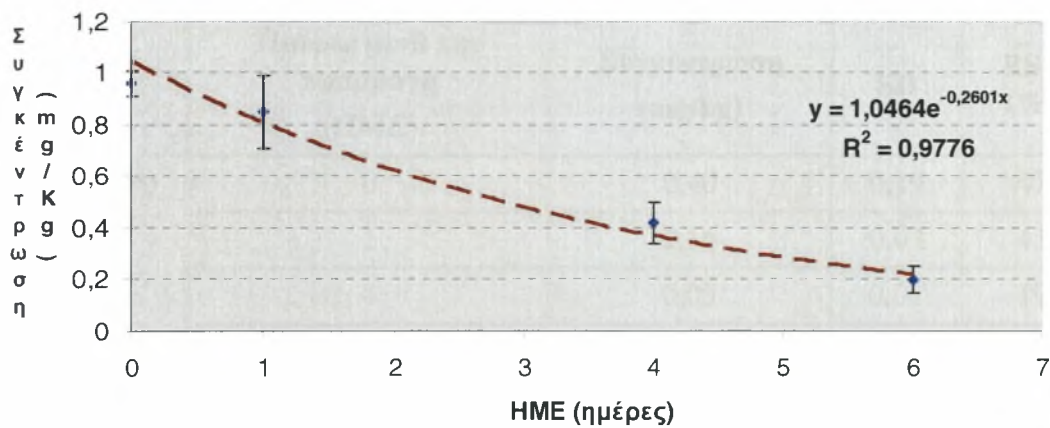
Διάγραμμα 7 : Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων pirimicarb σε πιπεριά στον αγρό

Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων penconazole σε υπαίθρια καλλιέργεια πιπεριάς



Διάγραμμα 8 : Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων penconazole σε πιπεριά στον αγρό

Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων myclobutanil σε υπαίθρια καλλιέργεια πιπεριάς



Διάγραμμα 9 : Καμπύλη υποβάθμισης υπολειμμάτων myclobutanil σε πιπεριά στον αγρό

Εξέλιξη υπολειμμάτων σε κολοκυθάκια στον αγρό

Οι μέσες τιμές των υπολειμμάτων των παρασιτοκτόνων σε κολοκυθάκια που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα από την εφαρμογή τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις των παρασιτοκτόνων (0 HME) είναι σαφώς χαμηλότερες από αυτές που παρατηρήθηκαν στις πιπεριές, αν και στις δύο καλλιέργειες εφαρμόστηκε κοινό ψεκαστικό διάλυμα και με τον ίδιο τρόπο. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στο ότι η επιφάνεια σε σχέση με το βάρος του ιστού είναι μεγαλύτερη στις πιπεριές από στα κολοκυθάκια και έχει σχολιαστεί και σε άλλες εργασίες, όπου οι αρχικές τιμές των υπολειμμάτων των μυκητοκτόνων myclobutanil, fenhexamid και boscalid στις πιπεριές βρέθηκαν να είναι υψηλότερες (20-100%) από αυτές στις τομάτες (Sherif et al., 2010).

Πίνακας 11: Μέση συγκέντρωση (n=3) υπολειμμάτων pirimicarb, penconazole και myclobutanil σε κολοκυθάκια υπαίθριας καλλιέργειας σε διάφορα χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή (HME) των παρασιτοκτόνων

	Ημέρες μετά την εφαρμογή (HME)	Συγκέντρωση (mg/kg)	SD	RSD (%)
Pirimicarb	0	0,40	0,19	47
	1	0,16	0,07	43
	4	0,05	0,01	19
Penconazole	0	0,11	0,05	45
	1	0,08	0,02	20
	4	0,05	0,003	6
Myclobutanil	0	0,21	0,11	52
	1	0,13	0,04	1
	4	< LOQ (< 0,05)		

Επίσης ιδιαίτερη αναφορά, ως παρατήρηση, θα πρέπει να γίνει και στις υψηλές τιμές σχετικής τυπικής απόκλισης που προέκυψαν από τις αναλύσεις στα κολοκυθάκια σε σχέση με αυτές που προέκυψαν για τις πιπεριές. Προκύπτει λοιπόν μια μεγαλύτερη παραλλακτικότητα στα κολοκυθάκια, που εν μέρει σχετίζεται με τη διαφορά μεγέθους των καρπών που συλλέχθηκαν ως δείγμα και ενισχύει στην περίπτωση αυτή την αναγκαιότητα μελέτης των υπολειμμάτων ανά μονάδα καρπού.

Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στα κολοκυθάκια είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για όλα τα παρασιτοκτόνα της μελέτης. Μάλιστα για το pirimicarb ακόμη και η αρχική συγκέντρωση (0 HME) είναι χαμηλότερη από την τιμή MRL στα κολοκυθάκια, που είναι 1,0 mg/kg.

Από τα αποτελέσματα στον Πίνακα 11 προκύπτει ότι οι χρόνοι υποδιπλασιασμού της αρχικής συγκέντρωσης είναι περίπου 1 ημέρα για τα pirimicarb και myclobutanil, και <4 ημέρες για το penconazole, φανερώνοντας ταχείς ρυθμούς μείωσης των υπολειμμάτων στα κολοκυθάκια. Η μείωση των υπολειμμάτων αποδίδεται είτε σε παράγοντες χημικής διάσπασης των μορίων (φωτοχημική, θερμική, υδρόλυση), είτε σε παράγοντες απώλειας λόγω πτητικοποίησης, ή στο φαινόμενο της αραίωσης λόγω της γρήγορης αύξησης των καρπών.

Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία η αναλυτική μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των pirimicarb, penconazole και myclobutanil στα κολοκυθάκια και στις πιπεριές παρουσιάζεται αξιόπιστη καθόσον τόσο η ορθότητά της όσο και η ακρίβειά της είναι ικανοποιητικές, αφού και οι ανακτήσεις αλλά και οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης που προέκυψαν από τα πειράματα ανάκτησης κυμαίνονται από 76 μέχρι 104% και από 3 μέχρι 17%, αντίστοιχα. Επίσης τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού των υπολειμμάτων βρέθηκαν να είναι 0,05-0,10 mg/kg, τιμές αρκετά χαμηλές, ώστε να είναι δυνατή η παρακολούθηση της εξέλιξης των υπολειμμάτων τους αλλά και η σύγκρισή τους με τις Ανώτατες Επιτρεπόμενες Τιμές (MRL) των ουσιών αυτών για τα κολοκυθάκια και τις πιπεριές.

Από τα πειράματα στον αγρό προέκυψε ότι και στις δύο καλλιέργειες οι τιμές της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων των παρασιτοκτόνων της μελέτης μειώνονται πολύ γρήγορα με χρόνους υποδιπλασιασμού των αρχικών συγκεντρώσεων μεταξύ 1 ημέρας και < 4 ημερών.

Συγκεκριμένα στην καλλιέργεια της πιπεριάς οι αρχικές συγκεντρώσεις στους καρπούς αμέσως μετά την εφαρμογή των παρασιτοκτόνων βρέθηκαν να είναι $1,28 \pm 0,05$ mg/kg, $0,48 \pm 0,04$ mg/kg και $0,96 \pm 0,05$ mg/kg για τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil, αντίστοιχα, ενώ σε 6 ημέρες μετά την εφαρμογή (HME) βρέθηκαν να είναι $0,04 \pm 0,01$ mg/kg, $0,06 \pm 0,01$ mg/kg και $0,20 \pm 0,05$ mg/kg, αντίστοιχα. Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στους καρπούς της πιπεριάς είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για τα pirimicarb και penconazole και σε 6 HME για το myclobutanil.

Στην καλλιέργεια του κολοκυθιού οι αρχικές συγκεντρώσεις στους καρπούς, αμέσως μετά την εφαρμογή των παρασιτοκτόνων, βρέθηκαν να είναι $0,40 \pm 0,19$ mg/kg, $0,11 \pm 0,05$ mg/Kg και $0,21 \pm 0,11$ mg/Kg για τα pirimicarb, penconazole και myclobutanil, αντίστοιχα, εμφανίζοντας υψηλές τιμές παραλλακτικότητας ($RSD \leq 50\%$), ενώ σε 4 ημέρες μετά την εφαρμογή (HME) βρέθηκαν να είναι $0,05 \pm 0,01$ mg/kg, $0,05 \pm 0,003$ mg/kg και $< 0,05$ mg/kg, αντίστοιχα. Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση των υπολειμμάτων στους καρπούς της πιπεριάς είναι χαμηλότερη των αντίστοιχων τιμών MRL σε 4 HME για όλα τα παρασιτοκτόνα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βασιλακάκης Μ., «Μετασυλλεκτική Φυσιολογία Μεταχείριση Οπωροκηπευτικών και Τεχνολογία, Διαιτητική Αξία Οπωροκηπευτικών», Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, 2006
- Ζιώγας Β. και Μαρκόγλου Α., 2010, Γεωργική Φαρμακολογία, Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων, Αθήνα
- Καρούζας Δ., 2003, Γεωργική Φαρμακολογία, Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, Βόλος
- Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 2001, Εγχειρίδιο Ποιότητας Εργαστηρίου Υπολειμμάτων και Γεωργικών Φαρμάκων
- Μπέλη Αικατερίνη, 2005, Πτυχιακή Διατριβή, «Συγκριτική παρακολούθηση υποβάθμισης υπολειμμάτων δύο σκευασμάτων fenitrothion σε σταφύλια σε αμπελώνα της περιοχής Ν. Αγχιάλου». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος
- Παπαδή – Ψύλλου Ασημίνα, Απρίλιος 2007, Πτυχιακή Διατριβή, «Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων του εντομοκτόνου rygiproxyfen σε λαχανικά. Παρακολούθηση της υποβάθμισης του rygiproxyfen σε λαχανικά σε πειράματα αγρού». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος
- Οργανική Χημεία, 7^η Έκδοση, L.G. Wade, JR , Εκδόσεις Τζιόλα
- Σεμινάριο από το Ανθρώπινο Δίκτυο Διάδοσης της Ε&Τ Γνώσης – ΕΠΕΤ II, 1998 ΑΔ60, « Μεθοδολογία και προτεραιότητες στην εργαστηριακή παρακολούθηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων από την χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων», Αθήνα – Θεσσαλονίκη 25-27 Ιουνίου 2001
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 149 - 2008 της Επιτροπής (MRLs)
- Λόλας Π., 2003, Ζιζανιολογία, Ζιζάνια – Ζιζανιοκτονία, Τύχη και Συμπεριφορά στο Περιβάλλον, Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη
- Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, 2007, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ΠΜΣ, Περιβαλλοντική Υγιεινή – Ενόργανη Ανάλυση
- Οδηγία 91 / 414 / ΕΟΚ σχετικά με την διάθεση στην αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων
- Ιμπραχίμ – Αβρααμ Χα, 2007, Στοιχεία Γενικής & Ειδικής Καλλιέργειας Κηπευτικών, Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, Βόλος
- Οργανική Χημεία, 7^η Έκδοση, L.G. Wade, JR , Εκδόσεις Τζιόλα
- Μ.Ε. Τζανακάκης – Β.Ι. Κατσόγιαννος, 2003, Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου, Εκδόσεις ΑΓΡΟΤΥΠΟΣ, σελίδες 186 – 189
- Τζάμος Ε., 2004, Φυτοπαθολογία, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα
- Φυσιολογία Φυτών, Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger, επιμέλεια ελληνικής έκδοσης Θάνος Κων., Εκδόσεις Utopia, σελίδες 160 – 162

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arienzo M., Cataldo D., Ferrara L., 2013, Pesticides residues in fresh-cut vegetables from integrated pest-management by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, *Food Control*, 31, pages 108-115
- Chen T., Fu F., Chen Z., Li D., Zhang L., Chen G., 2009, Study on the photodegradation and microbiological degradation of pirimicarb insecticide by using liquid chromatography coupled with ion-trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, pages 3217-3222
- European Union, legislation on pesticide residues, Luis Martin Plaza
- Fenoll J., Hellin P., Martinez C., Miguel M., Flores P., 2010, Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen – phosphorus detection, *Food Chemistry*, 105, pages 711-719
- Hem L., Choi J., Park J., Md.I.R.Mamun, Cho S., A.M.Abd El-Aty, Shim J., 2011, Residual pattern of fenhexamid on pepper fruits grown under greenhouse conditions using HPLC and confirmation via tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 126, pages 1533 – 1538
- I. Iswaldi, A.M. Gomez – Caravace, D. Arraez- Roman, J. Segura- Carretero, A. Fernandez – Gutierrez, 2013, Profiling of phenolic and other polar compounds in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by reverse-phase high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time – flight mass spectrometry, *Food Research International*, 50, pages 77 – 84
- Gondar D., Lopez R., Antelo J., Fiol S., Arce F., 2013, Effect of organic matter and pH on the absorption of metalaxyl and penconazole by soils. *Journal of Hazardous Materials*, 260, pages 627- 633.
- A. Lucera, C. Costa, M. Mastromatteo, A. Conte, M.A. Del Nobile, 2010, Influence of different packaging systems on fresh – cut zucchini, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11, pages 361 – 368
- Lian Y., Wang W., Shen Y., Liu Y., Liu J., 2012, Effects of home preparation on organophosphorus pesticide residues in raw cucumber. *Food Chemistry*, Volume 133, pages 636-640.
- Malik A., Blasco C., Pico Y., 2010, Liquid chromatography – mass spectrometry in food safety, *Journal of Chromatography A*, 1217, Pages 4018-4040
- Multi – residue Method 1 – Pesticides amenable to gas chromatography, General Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare and Sport, The Netherlands, June 1996
- Nougadere A., Sirot V., Kadar A., Fastier A., Truchot E., Vergnet C., Hommet F., Bayle J., Gros P., Leblanc, 2012, Total diet study on pesticide residues in France : Levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers, *J. Environment International*, 45, pages 135-150
- Puglese P., J.C.Molto, P.Damiani, R. Marin, L. Cossignani, J. Manos, 2004, Gas chromatographic evaluation of pesticide residue contents in nectarines after non-toxic washing treatments. *Journal of Chromatography A*, 1050, pages 185-191.

- Pico Y., Fernandez M., Ruiz M., Font G., 2007, Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70 (2), Pages 117-131
- Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis, Guidelines for residues monitoring in the European Union, Second Edition, 1999 – 2000, Document No. SANCO / 3103 / 2000 .
- Radicetti E., Mancinelli R., Campiglia E., 2013, Influence of winter cover crop residue management on weeds and yield in pepper in a Mediterranean environment, *Crop Protection*, 52, pages 64-71.
- United States Department of Agriculture, Pesticide data program, 1999, Annual summary, 1999
- Sepril Yenisoý – Karakas, 2006, Validation and uncertainty assessment of rapid extraction and clean-up methods for the determination of 16 organochlorine pesticide residues in vegetables. *Analytica Chimica Acta*, 571, pages 298-307.
- Rueegg J., Siegfried W., 1996, Residues of difenoconazole and penconazole on apple leaves and grass and soil in an apple orchard in north-eastern Switzerland, *Crop Protection*, 15, pages 27-31.
- Sams C., Jone K., 2011, Human volunteer studies investigating the potential for toxicokinetic interactions between the pesticides deltamethrin, pirimicarb, chlorpyrifos – methyl following oral exposure at the acceptable daily intake, *Toxicology Letters*, 200, pages 41-45
- Sherif B., Abdel G., Hanafi., Nasir I.N., 2010, Non-toxic washing solutions for decreasing Myclobutanil, Fenhexamid and Boscalid residues in sweet pepper and cherry tomatoes, *Australian Journal of basic and applied sciences*, 4 (8), pages: 3360-3365

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

- www.minagric.gr
- www.pesticideformulations.com
- www.europa.eu.int/comm/foods
- www.codexalimentarius.net
- www.fao.org
- www.food.gov.au
- <http://www.hb-p.com/en/7-penconazole.html>
- <http://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/home.asp?LabID=300&Lang=EN>
- <http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/EUPT-GeneralProtocol-3rdEd-Jan2012-Final.pdf>
- <http://www.bpi.gr/section.aspx?id=6&subid=150>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα 1 :



Παράρτημα 2 :



Παράρτημα 3 :





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000115028