



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων
ΤΕΙ Δυτ.Ελλάδος)

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη της προετοιμασίας δειγμάτων φυτικού υλικού προς
ανάλυση, για την ανίχνευση υπολειμμάτων από τα
φυτοπροστατευτικά προϊόντα των διθειοκαρβαμιδικών**

**Πολυξένη Μανέλλα AM 11839
Γεράσιμος Κοσιαράς AM 11818**

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2021

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων

ΤΕΙ Δυτ.Ελλάδος)

**«Μελέτη της προετοιμασίας δειγμάτων φυτικού υλικού προς ανάλυση, για την
ανίχνευση υπολειμμάτων από τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα των
διθειοκαρβαμιδικών»**

Σπουδαστές: Πολυξένη Μανέλλα, ΑΜ 11839

Γεράσιμος Κοσιαράς, ΑΜ 11818

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή Πτυχίου του πρώην τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων Αμαλιάδας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά και να εκφράσουμε την ευγνωμοσύνη μας αρχικά στην Δρα Ελευθερία Μπεμπέλου, Ερευνήτρια στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, που ήταν υπεύθυνη μας στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, για την πολύτιμη βοήθεια, υποστήριξη και καθοδήγησή της στην εκπόνηση αυτής της πτυχιακής εργασίας αλλά και την αναπληρώτρια Καθηγήτρια της πτυχιακής Κυρία Ειρήνη Καραναστάση στην οποία οφείλουμε ιδιαίτερες ευχαριστίες για την αποδοχή της πτυχιακής μας.

Τέλος, να ευχαριστήσουμε θερμά τους ανθρώπους του οικογενειακού και φιλικού μας περιβάλλοντος που μας στήριξαν καθ' όλη τη διάρκεια της προσπάθειας μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα (DTCs) είναι φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται ευρέως παγκοσμίως σε ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών στη γεωργία, κυρίως λόγω της χαμηλής οξείας τοξικότητας τους σε συνδυασμό με την ισχυρή δράση, το χαμηλό κόστος παραγωγής και την χαμηλή περιβαλλοντική αντοχή. Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών βασίζεται στην ανίχνευση του κοινού προϊόντος αποικοδόμησης τους, το οποίο είναι ο διθειάνθρακας (CS_2). Υπάρχουν ορισμένα γεωργικά προϊόντα, όπως τα κραμβοειδή (λάχανο, κουνουπίδι, κλπ.) και τα βολβώδη, στα οποία ο διθειάνθρακας (CS_2) μπορεί να παραχθεί από ενώσεις φυσικώς ευρισκόμενες στο φυτό, με αποτέλεσμα την ψευδώς θετική ανίχνευσή του. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία για κάθε φυσικό υπόστρωμα-δείγμα πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά έλεγχος για την εύρεση και τον προσδιορισμό υπολειμμάτων διθειάνθρακα. Δοκιμάστηκαν 104 δείγματα βιολογικών λαχανικών από την λιανική αγορά με τυχαία επιλογή από διαφορετικές συστάδες που εμφανιστήκαν σε πάγκους πωλητών. Για την εκχύλιση, ελήφθησαν για ανάλυση 50 g οργανικού παραγόμενου δείγματος (ομογενοποιημένο ή μη) σε ένα δοχείο διάσπασης και προστεθήκαν 25ml ισοοκτανίου. Προστέθηκαν 150ml χλωριούχου κασσίτερου σε υδροχλωρικό οξύ και το δοχείο έκλεισε αμέσως με βιδωτό πώμα. Τα δείγματα τέθηκαν σε υδρόλουτρο για δυο ώρες στους 80°C. Το μείγμα της αντίδρασης ψύχθηκε και 1 ml της φάσης ισοοκτανίου μεταφέρθηκε με πιπέτα σε φιαλίδιο για ανάλυση με GC/FPD. Στη πλειοψηφία των οργανικών βολβών (κρεμμύδια, σκόρδα, κουνουπίδια και πράσα) λαχανικών που αναλύθηκαν, τα υπολείμματα CS_2 ήταν κάτω από το όριο αναλυτικού προσδιορισμού (Limit of Quantification, LOQ) (0,1mg/kg). Όσον αφορά τα κρεμμύδια το 20% των δειγμάτων που αναλύθηκαν έδειξαν υπολείμματα (μέγιστο 0,47mg/kg) μετά από ομογενοποίηση και ανάλυση μετά από 2 ώρες. Το ανώτατο όριο υπολειμμάτων (MRL) για διθειοκαρβαμιδικα στο κρεμμύδι είναι 1 mg/kg (κανονισμός 171/2017). Στην περίπτωση του σκόρδου, μόνο ένα δείγμα έδειξε διαφοροποίηση μεταξύ των τριών μεθόδων παρασκευής δειγμάτων, που σημαίνει από 0,15 mg/kg στην κοπή, σε 0,21 mg/kg μετά την ομογενοποίηση και ανάλυση των 15 λεπτών και σε 0,35 mg/kg μετά από αναμονή 2 ωρών. Το ανώτατο όριο υπολειμμάτων (MRL) για διθειοκαρβαμιδικα στο σκόρδο είναι 0,6 mg/kg (κανονισμός 17/2017). Η πλειοψηφία των βιολογικών δειγμάτων στα κραμβοειδή έδωσε μετρήσιμες συγκεντρώσεις CS_2 σε όλες τις επεξεργασίες με σημαντική

διακύμανση στα καθορισμένα επίπεδα με και χωρίς ομογενοποίηση ενώ στα καρικοειδή, από το σύνολο 4 δειγμάτων βιολογικών καρπών παπάγιας που αναλύθηκαν, μόνο σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας κατά το τρίτο στάδιο εκχύλισης. Ωστόσο, η συμμόρφωση με τα ισχύοντα MRL υποστηρίχτηκε σε όλες τις περιπτώσεις.

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι κυρίως στα κραμβώδη λαχανικά, τα υπολείμματα του διθειανθρακα που παράγεται από φυσικώς ευρισκόμενες ενώσεις μπορεί να προσδιοριστεί μετά την ανάλυση των συγκεκριμένων προϊόντων. Ωστόσο, πρέπει να ληφθούν πρόσθετα δεδομένα για να προταθεί μέγιστη συγκέντρωση CS₂, γεγονός που πρέπει ληφθεί υποψη κατά την αξιολόγηση των προϊόντων για διθειοκαρβαμιδικα και τον καθορισμό των ανώτατων ορίων υπολειμμάτων και ιδιαίτερα κατά την παρακολούθηση των υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικων στα βιολογικά λαχανικά των αντίστοιχων κατηγοριών.

Η παρούσα πτυχιακή έλαβε συμμετοχη κατά τη διάρκεια του 13th European Pesticide Residues Workshop, το οποίο παρουσιάστηκε στην Γρανάδα της Ισπανίας 11 έως 15 Μαΐου 2020.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Διθειοκαρβαμιδικά, κραμβοειδή, βολβώδη, παπάγια, αέριος χρωματογραφος με φλωγομετρικό ανιχνευτή.

ABSTRACT

Dithiocarbamate fungicides are pesticides extensively used worldwide on a wide range of crops in agricultural practice, mainly due to their low acute toxicity combined with strong action, low-cost production and low environmental persistence. The determination of dithiocarbamates residues is based on the detection of their common degradation product, which is carbon disulfide (CS₂). There are some agricultural products, such as brassica and bulb vegetables in which CS₂ may be produced from naturally occurring compounds resulting in its false positive detection. In the present study for each plant substrate sample a separate test was performed to find and determine CS₂ residues. One hundred and three samples of organic vegetables were sampled by the retail market by random selection from different clusters displayed on vendors' stalls. For the extraction 50 g of organic produced sample (homogenized or not) was taken for analysis into a cleavage vessel and 25mL isooctane was added. 150 mL of the hydrolysis reagent tin (II)-chloride in hydrochloric acid was added and the vessel was immediately closed with a screwcap with a septum. Samples were put into a shaking water bath for 2 hours at 80°C. The reaction mixture was cooled down and 1 mL of the isooctane-phase was pipetted into a vial for analysis with GC/FPD. In most of the organic bulb (onions, garlic and leek) vegetables analyzed, CS₂ residues were below LOQ (0.01 mg/kg). Regarding onions, 20% of the samples analysed showed determining residues (max 0.47 mg/kg) after homogenization and analysis after 2 h. The Maximum Residue Limit for dithiocarbamates in onions is 1 mg/kg (Reg 171/2017). In the case of garlic, only one sample showed differentiation between the three sample preparation techniques, meaning from 0.15 mg/kg in chopping, to 0.21 mg/kg after homogenization and analysis after 15 min and to 0.35 mg/kg after waiting of 2 h. The Maximum Residue Limit for dithiocarbamates in garlic is 0.6 mg/kg (Reg 171/2017). Most organic brassica samples gave measurable concentrations of CS₂ in all treatments with a significant variation in the determined levels with and without homogenization, while in the case of organic carica samples, out of the total of 4 samples of organic papaya fruits that were analyzed, only 1 sample of CS₂ was determined during the third extraction step. However, compliance with the in-force MRLs was supported in all cases. In conclusion our preliminary results show that mainly in brassica vegetables, residual carbon disulfide produced from naturally occurring compounds may be determined after the analysis

of those specific commodities. Additional data should be obtained in order to propose a maximum concentration of CS₂, a fact that has to be taken into account during the evaluation of products for dithiocarbamates and the setting of Maximum Residues Limits and especially during the monitoring of dithiocarbamate residues in organic vegetables of the respective categories.

This study has been participated and presented during the 13th European Pesticide Residues Workshop, in Granada Spain, on May 11 to 15, 2020.

KEYWORDS

Dithiocarbamate, brassica vegetables, bulb vegetables, papaya fruit, GC/FPD.

Πίνακας περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ	6
ABSTRACT	7
KEYWORDS	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1.1 ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	11
1.1.1 Ορισμός.....	11
1.1.2 Ιστορική αναδρομή	12
1.1.3 Χρήση φυτοφαρμάκων.....	13
1.1.3.1 Κίνδυνοι και οφέλη.....	13
1.1.3.1 Πρόσληψη και επιπτώσεις φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον άνθρωπο.....	16
1.1.4 Κατηγορίες Φυτοφαρμάκων.....	18
1.1.5 Διθειοκαρβαμιδικά	20
1.1.6 Μηχανισμός δράσης	23
1.2. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΚΑΙ ΦΡΟΥΤΑ	30
1.2.1 Ορισμοί.....	30
1.2.2 Ορισμός υπολείμματος για τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα.....	31
1.2.3 Δειγματοληψία φυτικού προϊόντος με στόχο την ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων	33
1.2.3.1 Πορεία δειγματοληψίας	33
1.2.3.2 Κανόνες ορθής εκτέλεσης δειγματοληψίας φυτικών προϊόντων.....	35
1.2.4 Μέθοδοι ανάλυσης και προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων	36
1.2.2.4 Ανάλυση φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία	38
1.3 Σκοπός.....	40
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	42
3.1 Δείγματα	42
3.2	44
3.3 Συσκευές και Βοηθητικά Μέσα	45
3.4 Δειγματοληψία, Προετοιμασία και συντήρηση δειγμάτων	45
3.5 Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων.....	46
3.6 Εκχύλιση.....	46

3.7	Αεριοχρωματογραφία.....	51
3.7.1	Ανιχνευσιμότητα (Detectability)	51
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	53
4.1	Προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS ₂) με το σύστημα αέριου χρωματογράφου με φλογωμετρικό ανιχνευτή (GC/FPD).	53
4.2	Έλεγχος γραμμικότητας	56
4.3	Ανιχνευσιμότητα- Ευαισθησία.....	57
4.4	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε φυτικά προϊόντα	59
4.6	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βολβώδη λαχανικά. 60	
4.6.1	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά σκόρδα	60
4.6.2	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά κρεμμύδια.....	62
4.6.3	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά πράσα	65
4.7	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε κράμβες.....	67
4.7.1	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό λάχανο	67
4.7.2	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό μπρόκολο.....	70
4.7.3	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό κουνουπίδι	73
4.7.4	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογική ρόκα 74	
4.8	Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε καρπούς παπάγιας... 76	
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	81
6.1	Ξένη βιβλιογραφία	81
6.2	Ελληνική βιβλιογραφία	83
6.3	Διαδικτυακές πηγές.....	83
7.	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	84
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1	84
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2	88

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

1.1.1 Ορισμός

Βάση κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1107 ως **φυτοπροστατευτικό προϊόν (φππ) ή γεωργικό φάρμακο** ορίζεται κάθε χημική ουσία ή μίγμα ουσιών που χρησιμοποιείται ως μέσο άμεσης ή έμμεσης πρόληψης, μείωσης, καταπολέμησης ή καταστολής των ζωικών εχθρών των φυτών, φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών και ζιζανίων, τόσο στον αγρό όσο και στους χώρους αποθήκευσης των γεωργικών προϊόντων. Ως γεωργικά φάρμακα νοούνται επίσης οι χημικές ουσίες που στρέφονται κατά κάθε οργανισμού του οποίου η παρουσία στον άνθρωπο είναι ανεπιθύμητη ή ο οποίος έχει επιβλαβή δράση στον άνθρωπο, τις δραστηριότητές του ή τα προϊόντα που χρησιμοποιεί.

Ένα γεωργικό φάρμακο αποτελείται από τη δραστική ουσία (active ingredient) η οποία συνήθως διαθέτει κοινό, χημικό και εμπορικό όνομα και το φορέα ή διαλύτη της δραστικής ουσίας (carriers or fillers), σε υγρή ή στερεή κατάσταση. Επίσης, απαραίτητες για τη δράση του φαρμάκου είναι και οι βοηθητικές ουσίες (spray supplements), οι οποίες κατηγοριοποιούνται σε:

- A) εξαπλωτικές ουσίες (spreading agents)
- B) προσκολλητικές ουσίες (sticking agents)
- Γ) διασπορικοί παράγοντες (dispersing agents)
- Δ) διαβρεκτικές ουσίες (humidifiers)
- E) γαλακτωματοποιητικές ουσίες (emulsifiers).

1.1.2 Ιστορική αναδρομή

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα αποτελούν προϊόντα υψηλής τεχνολογίας, που φτιάχνονται για την αποτελεσματική καταπολέμηση των παρασίτων και ζιζανίων των φυτών. Αναπτύχθηκαν τα τελευταία εξήντα περίπου χρόνια. Το 1942 ο Ελβετός Muller ανακαλύπτει το DDT, ενώ το 1946 τα εργαστήρια της εταιρίας φαρμάκων BAYER κατασκευάζουν το παραθείο. Τα πρώτα χρόνια της ανακάλυψής τους, η συμβολή τους στην προστασία της αγροτικής παραγωγής, γέννησε πολλές ελπίδες για τη λύση του προβλήματος έλλειψης τροφής που αντιμετώπιζε η ανθρωπότητα με την αύξηση του πληθυσμού. Ταυτόχρονα, η προσφορά τους ήταν μεγάλη και στην προστασία της δημόσιας υγείας με την καταπολέμηση ενοχλητικών εντόμων, που έφεραν διάφορες ασθένειες στον άνθρωπο και ανοίγονται νέοι ορίζοντες στη βελτίωση της ποιότητας της ανθρώπινης ζωής. Έτσι τα φυτοφάρμακα αντιμετωπίζονται απ' όλους μόνο από τη θετική τους πλευρά και οι βιομηχανίες φαρμάκων συναγωνίζονται μεταξύ τους για την παραγωγή νέων φυτοφαρμάκων με μεγαλύτερη δράση. (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007)

Τα τελευταία χρόνια, όμως, διατυπώνονται οι πρώτες ανησυχίες για τη δράση τους αφού σε ορισμένους τόπους παρατηρήθηκε η εξαφάνιση φυτών και ζώων, ενώ επιστήμονες ανακαλύπτουν και δημοσιεύουν αποτελέσματα ερευνών με τις οποίες διαπιστώνονται βλάβες στην υγεία του ανθρώπου. Έτσι μερικά από τα πρώτα φυτοφάρμακα αποσύρονται από την κυκλοφορία στις σύγχρονες χώρες, εξακολουθούν όμως να κυκλοφορούν σε άλλες. Οι ανησυχίες όμως των επιστημόνων πλέον μεγαλώνουν, διαπιστώνοντας καθημερινά τις αρνητικές τους επιπτώσεις στην υγεία και το περιβάλλον, χωρίς να παραβλέπουν βέβαια τη χρησιμότητά τους στη σύγχρονη γεωργία, η οποία χωρίς τη δράση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων δε θα είχε αυτή τη μεγάλη ανάπτυξη.

Σήμερα όλοι πλέον αναγνωρίζουν ότι τα φυτοφάρμακα κατέχουν σημαντικό μερίδιο στην αλλοίωση του φυσικού περιβάλλοντος και γίνεται προσπάθεια ώστε να παρθούν μέτρα για την καλύτερη αξιοποίησή τους, ελαχιστοποιώντας τις αρνητικές τους συνέπειες. Ενδεικτική είναι και η στροφή πολλών παραγωγών αλλά και των καταναλωτών στη βιολογική γεωργία, στην οποία δε χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα, αλλά άλλες ουσίες χαμηλού κινδύνου (low risk) (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007).

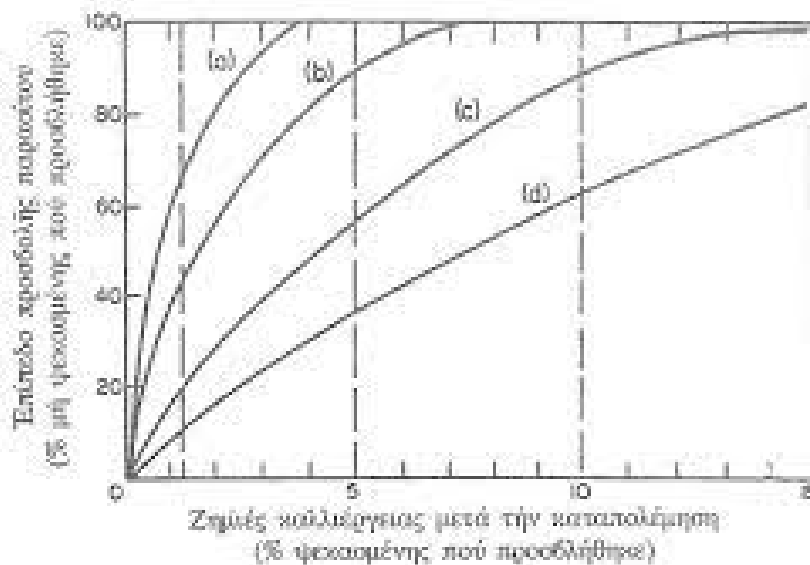
1.1.3 Χρήση φυτοφαρμάκων

1.1.3.1 Κίνδυνοι και οφέλη

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).

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 4 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 (Green, 1999).

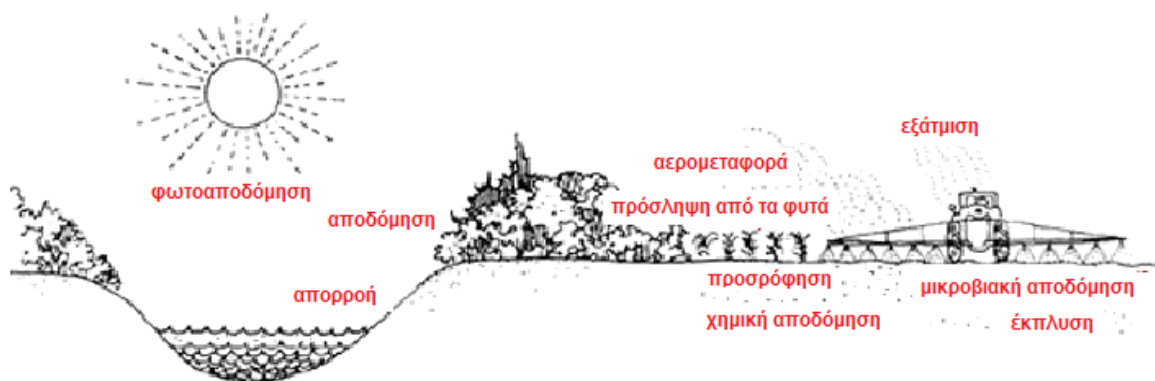


Σχήμα. 1 Συσχέτιση μεταξύ επιπέδου προσβολής του παρασίτου και αποτελεσματικότητας της προστασίας της καλλιέργειας μετά την καταπολέμηση.

Οι ετήσιες απώλειες απόδοσης που προκαλούνται από παράσιτα και παθογόνους μικροοργανισμούς υπολογίζονται μεταξύ 20 και 40 % της παγκόσμιας παραγωγής (FAO, 2017) και αυξάνονται από την κλιματική αλλαγή, τις ασθένειες (Zayan, 2019), τα έντομα (Canto et al., 2009; Salih et al., 2020), και τους ιούς ή την ανθεκτικότητα στα φυτοφάρμακα (Pu et al., 2020). Στη συνέχεια, αυτό οδηγεί σε αυξημένες εφαρμογές φυτοφαρμάκων (Heeb et al., 2019).

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 εδάδιμα φυτά ή σε φυτά που παράγουν εδάδιμα 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. Στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 2) περιγράφονται όλες οι οδοί δυνητικής απομάκρυνσης ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος έπειτα από την εφαρμογή του. Έτσι, λοιπόν, οι διαδικασίες οι οποίες είναι πιθανό να ακολουθηθούν είναι η εξάτμιση στην ατμόσφαιρα, η αερομεταφορά, η φωτοαποδόμηση, η απορροή, η πρόσληψη από τα φυτά, η προσρόφηση, η χημική αποδόμηση, η μικροβιακή αποδόμηση, η έκπλυση και η αποδόμηση.



Σχήμα 2. Τύχη ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος στο περιβάλλον έπειτα από την εφαρμογή του.

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). Παρ' όλα αυτά, η αύξηση της εφαρμογής φυτοφαρμάκων συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία (Larsen et al., 2019). Υπάρχουν αναφορές που συνδέουν την εφαρμογή φυτοφαρμάκων με την κατάρρευση πληθυσμών εντόμων (Basset and Lamarre, 2019; Goulson, 2019; van der Sluijs, 2020) ή την εξαφάνιση ειδών εντόμων παγκοσμίως (Sánchez-Bayo and Wyckhuys, 2019). Ωστόσο, εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες, όπως η απώλεια οικοτόπων λόγω της εντατικοποίησης της γεωργίας (κύριος παράγοντας αυτού του φαινομένου) (Sánchez-Bayo and Wyckhuys, 2019), διεισδυτικά είδη κλιματικής αλλαγής και ρύπανση (Lewis et al., 2020; Wagner, 2020).

1.1.3.1 Πρόσληψη και επιπτώσεις φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον άνθρωπο.

Τα περισσότερα φυτοφάρμακα ταξινομούνται από απλώς επικίνδυνα για τον άνθρωπο έως πάρα πολύ τοξικά. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη συνεχώς διευρυνόμενη χρήση των φυτοφαρμάκων τα καθιστούν μία από τις πιο επικίνδυνες ομάδες ουσιών για τη δημόσια υγεία. Οι κίνδυνοι που εμφανίζουν τα φυτοφάρμακα για τον άνθρωπο είναι παρόμοιοι με εκείνους που ισχύουν για τα υπόλοιπα θερμόαιμα ζώα. Έτσι οι τοξικολογικοί κίνδυνοι για τον άνθρωπο που είναι γνωστοί για κάθε φάρμακο είναι το αποτέλεσμα πειραματισμού πάνω σε θερμόαιμα πειραματόζωα (ινδικά χοιρίδια, ποντίκια, κουνέλια, κ.α.) και αντίστροφα, ό,τι είναι γνωστό σχετικά με την τοξικολογία ενός φαρμάκου για τον άνθρωπο έχει ισχύ και στα άλλα θερμόαιμα ζώα. Οι δηλητηριάσεις από φυτοφάρμακα συμβαίνουν όταν χημικές ουσίες που προορίζονται για τον έλεγχο παρασίτων και ζιζανίων, επηρεάζουν και οργανισμούς που δεν

είναι στόχοι, όπως τους ανθρώπους, τα άγρια ζώα, ή τις μέλισσες. Στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπως η Σρι Λάνκα, οι δηλητηριάσεις από φυτοφάρμακα από πολύ υψηλό επίπεδο έκθεσης (οξεία δηλητηρίαση) είναι το πιο ανησυχητικό είδος δηλητηρίασης. Ωστόσο, στις ανεπτυγμένες χώρες, όπως ο Καναδάς, είναι ακριβώς το αντίθετο. Οι Οξείες δηλητηριάσεις από φυτοφάρμακα είναι υπό έλεγχο, καθιστώντας έτσι το κύριο ζήτημα μακροπρόθεσμη έκθεση σε χαμηλά επίπεδα των φυτοφαρμάκων. Αριθμητικά οι δηλητηριάσεις από γεωργικά φάρμακα δεν είναι πάρα πολλές σε και αποτελούν το 5% περίπου του σύνολο των δηλητηριάσεων που αναφέρονται στο Εθνικό Κέντρο Δηλητηριάσεων, είναι όμως οι περισσότερο επικίνδυνες. Κάποια από τα γεωργικά φάρμακα είναι πολύ τοξικά και αρκούν πολύ μικρές ποσότητες για να προκαλέσουν βαριά ή θανατηφόρο βλάβη. Πολλά από αυτά μάλιστα χρησιμοποιούνται παράνομα παρότι έχει απαγορευτεί η κυκλοφορία και την χρήση τους λόγω της επικινδυνότητάς τους.

Οι οδοί οι οποίοι μπορούν να διεισδύσουν τα φυτοφάρμακα στο ανθρώπινο σώμα είναι, από το στόμα, το δέρμα και με την αναπνοή. Έτσι διακρίνουμε τις αντίστοιχες τοξικότητες στοματική, δερματική και αναπνευστική.

Ανάλογα με το χρονικό διάστημα για το οποίο εισέρχεται ο τοξικός παράγοντας μέσα στον οργανισμό διακρίνουμε:

- Την **οξεία τοξικότητα** που αφορά τις συνέπειες της χορήγησης του τοξικού παράγοντα μία φορά ή πολλές φορές μέσα σε ένα 24ώρο.
- Την **υποξεία ή ημιχρόνια τοξικότητα** που αφορά τις λειτουργικές ή και ανατομικές αλλοιώσεις που εμφανίζονται σ' ένα οργανισμό μετά από χορήγηση σ' αυτόν τοξικού παράγοντα για διάστημα από ολίγες ημέρες μέχρι και ένα έτος.
- Τη **χρόνια τοξικότητα** που αφορά μακροχρόνια χορήγηση του τοξικού παράγοντα σε πολύ μικρές δόσεις, ακίνδυνες από πλευράς οξείας και υποξείας τοξικότητας, που όμως προκαλούν λανθάνουσα δηλητηρίαση του οργανισμού, η οποία εκδηλώνεται με αλλοιώσεις στα κύτταρα, τους ιστούς και το μεταβολισμό γενικότερα.

Η οξεία και υποξεία τοξικότητα, εκτός από εγκληματικές ή ηθελημένες ενέργειες (αυτοκτονίες), αφορά έκθεση στα φυτοφάρμακα είτε εξαιτίας επαγγελματικής απασχόλησης

(παρασκευαστές φυτοφαρμάκων, γεωργοί), είτε από ατύχημα. Η χρόνια τοξικότητα αφορά το σύνολο του πληθυσμού και έχει άμεση σχέση με την κατανάλωση προϊόντων στην παραγωγική διαδικασία των οποίων έχουν χρησιμοποιηθεί φυτοφάρμακα

Ο κίνδυνος και η τοξικότητα όλων των χημικών ουσιών, στις οποίες εκτίθενται οι χρήστες, επισημαίνονται με διεθνή σύμβολα (UNEP/ILO/WHO1990). Επίσης ανάλογα με τον κίνδυνο καρκινογέννησης (group 1, 2, 2B, 3), ανάλογα με την μορφή τους (υγρά, σε σκόνη, σε κόκκους, κλπ), ανάλογα με τον τύπο τους (διαλύτες, adhesives, wetting), ανάλογα με την χημική τους ουσία (οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, κλπ).

1.1.4 Κατηγορίες Φυτοφαρμάκων

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι ταξινόμησης των γεωργικών φαρμάκων ανάλογα με τους οργανισμούς που προορίζονται να ελέγξουν:

Εντομοκτόνα: Είναι χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στην καταπολέμηση εντόμων, τα οποία είναι επιβλαβή για φυτά και ζώα. Ανάλογα με τη χημική τους σύνθεση κατατάσσονται σε διάφορες ομάδες, όπως οι καρβαμιδικοί εστέρες, οι νιτροφαινόλες, οι οργανοφωσφορικοί εστέρες και οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες.

Ζιζανιοκτόνα: Είναι χημικές ουσίες που μπορούν να διαταράξουν τη φυσιολογία ενός φυτού, με αποτέλεσμα την καταστροφή του. Διακρίνονται σε ζιζανιοκτόνα επαφής, με οξεία δράση στα τμήματα των φυτών που ψεκάζονται, σε διασυστημικά ζιζανιοκτόνα, τα οποία σε μικρό χρονικό διάστημα διαφοροποιούν την ανάπτυξη και τις λειτουργίες του φυτού και σε απολυμαντικά εδάφους, που αναστέλλουν την ανάπτυξη των φυτών στο έδαφος.

Μυκητοκτόνα: Είναι ουσίες που χρησιμοποιούνται για τη θανάτωση ή την αναστολή της ανάπτυξης των σπόρων ή των μυκήτων (Srinivasa J, et al 2005), (Whorton D, et al.1979).

Τρωκτικοκτόνα: Χρησιμοποιούνται για την εξόντωση των ποντικών και των αρουραίων.

Ανάλογα με την χημική τους δομή χωρίζονται σε βασικές ομάδες, όπως:

- 1) Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα
- 2) Καρβαμιδικά εντομοκτόνα
- 3) Διθειοκαρβαμιδικά ή καρβαμιδικά ζιζανιοκτόνα και μυκητοκτόνα
- 4) Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα
- 5) Πυρεθρίνες
- 6) Υπόλοιπα γεωργικά φάρμακα (τριαζίνες, χαλκός, φθαλιμιδικά, τριαζοπενταδιένες, νεονικοτινοειδή, θειάφι, κ.α.).

Ανάλογα με τη τοξικότητά τους τα φυτοφάρμακα που διατίθενται στο εμπόριο φέρουν τυποποιημένη σήμανση ανάλογα με την κατηγορία Τοξικότητας στην οποία υπάγονται. Η κατάταξη των φυτοφαρμάκων στις διάφορες Κατηγορίες Τοξικότητας γίνεται με κριτήριο την οξεία τοξικότητα. Αυτή εκφράζεται σαν LD₅₀ σε mg/kg ζώντος βάρους και ισοδυναμεί με την ποσότητα του φαρμάκου που είναι απαραίτητη για να θανατωθούν τα 50% των πειραματόζωων.

Acceptable daily intake (ADI): Μέγιστη αποδεκτή ημερήσια δόση, εκφρασμένη σε mg της ουσίας ανά kg ανθρώπινου σωματικού βάρους, η οποία δεν επιφέρει κίνδυνο στον άνθρωπο.

Acute reference dose (ARfD): Μέγιστη αποδεκτή δόση, που μπορεί να ληφθεί από τον άνθρωπο στη χρονική περίοδο των 24 ωρών, εκφρασμένη σε mg της ουσίας ανά kg ανθρώπινου σωματικού βάρους, η οποία δεν επιφέρει κίνδυνο στον άνθρωπο.

Ο κίνδυνος και η τοξικότητα όλων των χημικών ουσιών, στις οποίες εκτίθενται οι χρήστες, επισημαίνονται με διεθνή σύμβολα (UNEP/ILO/WHO1990). Επίσης ανάλογα με τον κίνδυνο καρκινογέννησης ταξινομούνται σε group 1, 2, 2B και 3.

Τέλος, ανάλογα με την μορφή τους (υγρά, σε σκόνη, σε κόκκους, κλπ), ανάλογα με τον τύπο τους (διαλύτες, adhesives, wetting) και ανάλογα με τον τρόπο που εφαρμόζονται με διάφορες μορφές και με διάφορα μέσα:επίπαση σκόνης, καπνισμό, ψεκασμό υγρού, άρδευση με αυλάκια ή κατάκλυση (Belitz et al., 2006).

1.1.5 Διθειοκαρβαμιδικά

Τα διθειοκαρβαμιδικά άλατα (DTCs), που αποκαλούνται και απλά διθειοκαρβαμιδικά, αποτελούν μια σημαντική κατηγορία συνθετικών μυκητοκτόνων με ευρύ φάσμα δράσης που χρησιμοποιείται στην καλλιέργεια μεγάλου αριθμού αγροτικών προϊόντων. Πρόκειται για μεταλλικά άλατα Ν-μονο-υποκατεστημένων και Ν,Ν-δι-υποκατεστημένων παραγώγων του διθειοκαρβαμιδικού οξέος. Η σύνθεση παραγώγων του διθειοκαρβαμιδικού οξέος με φυτοπροστατευτικές ιδιότητες ανάγεται στην δεκαετία του '40 και η εκτεταμένη εμπορική τους εξάπλωση στη δεκαετία του '60.

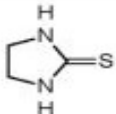
Στην κατηγορία των διθειοκαρβαμιδικών υπάγονται δύο ομάδες ενώσεων με σαφείς διαφορές ως προς τις χημικές ιδιότητες, το μηχανισμό δράσης, την τοξικότητα και την μεταβολική τύχη (Πίνακας 1.1 και Πίνακας 1.2):

- Τα αιθυλεν-bis-διθειοκαρβαμιδικά (ethylenebisdithiocarbamates, EBDCs). Στην ομάδα αυτή υπάγονται τα maneb, zineb, mancozeb και metiram.
- Τα Ν,Ν-διμεθυλδιθειοκαρβαμιδικά (dimethyldithiocarbamates, DMDTCs). Σημαντικότεροι εκπρόσωποι της ομάδας αυτής είναι τα ferbam, ziram και το προϊόν της οξείδωσής τους thiram.

Η οξεία τοξικότητα των διθειοκαρβαμιδικών είναι μικρή. Επιπλέον, πρόκειται για ενώσεις ασταθείς, εύκολα αποικοδομήσιμες στο περιβάλλον και με χαμηλή βιοσυσσωρευση. Ωστόσο, το κύριο προϊόν διάσπασης των EBDCs στο περιβάλλον, δια μεταβολικών οδών, αλλά και κατά την αποθήκευση των σκευασμάτων, είναι η αιθυλενοθειουρία (ethylenethiourea, ETU), ένωση η οποία έχει αποδειχθεί ότι έχει αντιθυρεοειδική, τερατογόνο και καρκινογόνο δράση σε πειραματόζωα. Ιδιαίτερη ανησυχία, για την πιθανή έκθεση των καταναλωτών στο τοξικό μεταβολίτη μέσω της διατροφής, προκαλεί το γεγονός ότι η επεξεργασία των πρωτογενών αγροτικών προϊόντων, και ιδιαίτερα οι θερμικές διεργασίες, μετατρέπουν σε μεγάλο ποσοστό τα EBDCs σε ETU.

Στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος τα τελευταία χρόνια βρίσκονται τα EBDCs, ακριβώς λόγω της μετατροπής τους στον τοξικό μεταβολίτη, ETU, σε συνδυασμό με την εκτεταμένη χρήση τους.

Πίνακας 1.1. Σημαντικότεροι εκπρόσωποι διθειοκαρβαμικών μυκητοκτόνων.

Όνομασία*	Δομή	CAS RN	Μοριακός τύπος	M.B.
EBDCs				
Maneb	$\begin{array}{c} \text{S} \qquad \qquad \text{S} \\ \qquad \qquad \quad \\ [-\text{S}-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{S}-\text{Mn}-]_x \end{array}$	12427-38-2	$\text{C}_4\text{H}_6\text{MnN}_2\text{S}_4$	265,29
Zineb	$\begin{array}{c} \text{S} \qquad \qquad \text{S} \\ \qquad \qquad \quad \\ [-\text{S}-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{S}-\text{Zn}-]_x \end{array}$	12122-67-7	$\text{C}_4\text{H}_6\text{ZnN}_2\text{S}_4$	275,73
Mancozeb	$\begin{array}{c} \text{S} \qquad \qquad \text{S} \\ \qquad \qquad \quad \\ [-\text{S}-\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{S}-\text{Mn}-]_x (\text{Zn})_\psi \end{array}$	8018-01-7	πολυμερές – περιέχει 20 % Mn και 2,5 % Zn	-
Metiram **	-	9006-42-2	πολυμερές	-
ETU †		96-45-7	$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_2\text{S}$	102,2
DMDTCs				
Ziram	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ [(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}-\text{S}-]_2 \text{Zn}^{2+} \end{array}$	137-30-4	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{ZnN}_2\text{S}_4$	305,81
Ferbam	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ [(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}-\text{S}-]_3 \text{Fe}^{3+} \end{array}$	14484-64-1	$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{FeN}_3\text{S}_6$	416,51
Thiram	$\begin{array}{c} \text{S} \quad \text{S} \\ \quad \\ (\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{C}-\text{S}-\text{S}-\text{C}-\text{N}-(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	137-26-8	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_4$	240,44

Όνομασία που έχει δοθεί στη δραστική ουσία από ISO (International Organisation for Standardisation). Δεν αποτελεί εμπορική ονομασία.

** Πολυμερές αμμωνιακών αλάτων του zinc-ethylene-bis-dithiocarbamate και του ethylene-bis-dithiocarbamic acid.

Η ETU (2-imidazolidinethione) είναι προϊόν διάσπασης και μεταβολίτης των EBDCs.

Πίνακας 1.2 Σημαντικότεροι εκπρόσωποι διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων και διαλυτότητα.

Όνομα	Τύπος	CAS No	Διαλ/τα σε νερό (g/L, 20ο 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
Polycarbamatel (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	$C_5 H_{10} N_2 S_2$	533-74-4	3	Chloroform, acetone, cyclohexane

¹Annex I, Council Directive 91/414/EEC [86]: περιέχεται (+), εκτός (-), εν αναμονή (p).

²Χρησιμοποιείται στην Κίνα.

³n.d.f.,(No data found) Κανένα δεδομένο δεν βρέθηκε.

⁴Πρακτικά αδιάλυτο.

⁵Χρησιμοποιείται στην Ιαπωνία προστατευτικό του φυτού και ως αντιρρυπαντικός παράγοντας (Cnogorac & Schwack, 2008).

1.1.6 Μηχανισμός δράσης

Τα διθειοκαρβαμιδικά χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση περίπου 400 μυκητιάκων παθήσεων σε περισσότερες από 100 καλλιέργειες. Μερικές αντιπροσωπευτικές φυτοπροστατευτικές χρήσεις των EBDCs αναφέρονται στον **Πίνακα 1.3**. Ο μηχανισμός δράσης των διθειοκαρβαμιδικών αφορά πολλαπλούς στόχους στους μικροοργανισμούς των μυκήτων και δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Οι μυκητοκτόνες ιδιότητες των DMDTCs σχετίζονται με το σχηματισμό μεταλλικών συμπλόκων, κυρίως με χαλκό, τα οποία δρουν παρεμποδιστικά στη δράση δευδρογονασών που περιέχουν λιποαμίδιο. Με την προσθήκη ιόντων χαλκού στα σκευάσματα των DMDTCs επιτυγχάνεται αύξηση της δραστηριότητας. Προκειμένου για τα EBDCs, εικάζεται ότι ο σχηματισμός ισοθειοκυανικών ή/και διθειάνθρακα κατά την αποικοδόμησή τους είναι καθοριστικής σημασίας καθώς οι ενώσεις αυτές στη συνέχεια αντιδρούν με πρωτεϊνικές σουλφυδρυλομάδες ενζυμικών συστημάτων, με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση/παρεμπόδιση των αντίστοιχων ενζύμων. Η δραστηριότητα των EBDCs είναι μεγαλύτερη από εκείνη των DMDTCs.

Πίνακας 1.3. Μερικές αντιπροσωπευτικές φυτοπροστατευτικές χρήσεις των EBDCs.

- Δραστική ουσία Ziram με 4 Εγκεκριμένα σκευάσματα

Πεδίο εφαρμογής	Στόχος
Μηλιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia inaequalis</i>)
Αχλαδιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia inaequalis</i>)
	Καστανή κηλίδωση (<i>Stemphylium vesicarium</i>)
Ροδακινιά	Εξωασκός (<i>Taphrina deformans</i>)
	Κορόνιο (<i>Stigmina carpophila</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia laxa</i>)

- Δραστική ουσία Metiram με 6 Εγκεκριμένα σκευάσματα

Πεδίο εφαρμογής	Στόχος
Μηλιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia inaequalis</i>)
Αχλαδιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia pirina</i>)
Αμπέλι (επιτραπέζιες και οινοποιήσιμες ποικιλίες)	Περονόσπορος (<i>Plasmopara viticola</i>)
Τομάτα (Y-Θ)	Περονόσπορος (<i>Phytophthora infestans</i>)
Μαρούλι (Y)	Περονόσπορος (<i>Bremia lactucae</i>)
Πατάτα	Περονόσπορος (<i>Phytophthora infestans</i>)
Αγγούρι (Y-Θ)	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
Πεπόνι (Y)	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
Κολοκυθάκι (Y-Θ)	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
Καρπούζι (Y)	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)

- Δραστική ουσία Mancozeb με 98 Εγκεκριμένα σκευάσματα

Πεδίο εφαρμογής	Στόχος
-----------------	--------

Αμπέλι	Περονόσπορος (<i>Plasmopara viticola</i>)
	Φόμοψη (<i>Phomopsis viticola</i>)
Τομάτα	Μαύρη σήψη (<i>Guignardia bidwellii</i>)
	Περονόσπορος (<i>Phytophthora infenstans</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria solani</i>)
	Σεπτόρια (<i>Septoria lycopersici</i>)
Πατάτα	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum bromoides</i>)
	Περονόσπορος (<i>Phytophthora Infenstans</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria solani</i>)
Αγγούρι	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)
Πεπόνι	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
	Κλαδοσπορίωση (<i>Cladosporium cucumerinum</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)
Μαρούλι	Περονόσπορος (<i>Bremia lactucae</i>)
Καπνός	Περονόσπορος (<i>Peronospora tabacina</i>)
Κρεμμύδι	Περονόσπορος (<i>Peronospora destructor</i>)
	Σκωρίωση (<i>Puccinia alli</i>)
Κρεμμύδι (ξηρό)	Περονόσπορος (<i>Peronospora destructor</i>)
Μηλιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia inaequalis</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria mali</i>)
	Σεπτόρια (<i>Mycosphaerella pyri</i>)
	Σκωρίωση (<i>Gymnosporangium cornutum</i>)
	Φαία σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
Αχλαδιά	Στεμφύλιο (<i>Stemphylium vesicarium</i>)
	Φουζικλάδιο (<i>Venturia pyrina</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria mali</i>)
	Σεπτόρια (<i>Mycosphaerella pyri</i>)
	Σκωρίωση (<i>Gymnosporangium cornutum</i>)

	Σεπτορίωση (<i>Mycosphaerella Sentina</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
	Στεμφύλιο (<i>Stemphylium vesicarium</i>)
Καρότο	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria dauci</i>)
	Περονόσπορος (<i>Plasmopara nivea</i>)
Ασκαλώνια	Σκωρίωση (<i>Puccinia alli</i>)
Μελιτζάνα	Περονόσπορος (<i>Phytophthora infenstans</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria solani</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum bromoides</i>)
Πιπεριά	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria solani</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum capsici</i>)
Κολοκυθάκι	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)
Κολοκύθα	Περονόσπορος (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)
Σκόρδο	Σκωρίωση (<i>Puccinia alli</i>)
	Περονόσπορος (<i>Peronospora destructor</i>)
Κυδωνιά	Φουζικλάδιο (<i>Venturia inaequalis</i> V. <i>prima</i>)
Μουσμουλιά	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria mali</i>)
	Σεπτόρια (<i>Mycosphaerella pyri</i>)
	Σκωρίωση (<i>Gymnosporangium cornutum</i>)
Καρπούζι	Κλαδοσπορίωση (<i>Cladosporium cucumerinum</i>)
Ζαχαρότευτλα	Κερκόσπορα (<i>Cercospora beticola</i>)
Ροδάκινα	Σκωρίωση (<i>Tranzchelia prunispinose</i>)
	Εξωασκός (<i>Taphrina deformans</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
Νεκταρινιά	Σκωρίωση (<i>Tranzchelia prunispinose</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
Βερικοκιά	Σκωρίωση (<i>Tranzchelia prunispinose</i>)

	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
	Εξωασκός (<i>Taphrina deformans</i>)
	Μονίλια (<i>Monilia</i> sp.)
Δαμασκηλιά	Σκωρίωση (<i>Tranzchelia prunispinose</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
	Εξωασκός (<i>Taphrina deformans</i>)
	Μονίλια (<i>Monilia</i> sp.)
Κερασιά	Σκωρίωση (<i>Puccinia cerasi</i>)
	Φαιά σήψη (<i>Monilia</i> sp.)
	Κορόνιο (<i>Stgmia carpopila</i>)
Νεραντζιά	Φυτοφθόρα (<i>Phytophthora</i> sp.)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)
	Αλτερνάρια (<i>Alternaria</i> sp.)
Λεμονιά	Φυτοφθόρα (<i>Phytophthora</i> sp.)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)
	Αλτερνάρια (<i>Alternaria</i> sp.)
Μανταρινιά	Φυτοφθόρα (<i>Phytophthora</i> sp.)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)
	Αλτερνάρια (<i>Alternaria</i> sp.)
Γκρεπ φρουτ	Φυτοφθόρα (<i>Phytophthora</i> sp.)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)
	Αλτερνάρια (<i>Alternaria</i> sp.)
Ελιά	Κυκλοκόνιο (<i>Spilocaea oleagina</i>)
	Γλυοσπόριο (<i>Gloeosporium olivarum</i>)
Μπρόκολο	Περονόσπορος (<i>Peronospora brassicae</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria</i> sp.)
Πράσο	Περονόσπορος (<i>Peronospora</i> sp., <i>Dhytophthora porri</i>)
Σπαράγγι	Σκωρίωση (<i>Puccinia asparagi</i>)
Μπιζέλια	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum pisi</i>)

	Περονόσπορος (<i>Peronospora pisi</i>)
Φασόλια	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria</i> sp.)
	Ανθράκωση (<i>Colletotrichum</i> sp.)
	Περονόσπορος (<i>Phytophthora phaseoli</i>)
Σιτάρι	Σεπτορίωση (<i>Septoria tritici</i>)
	Σκωρίαση (<i>Puccinia</i> sp.)
Καλλωπιστικά φυτά και θάμνοι υπαίθρου	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria</i> sp.)
	Περονόσπορος (<i>Peronospora</i> sp., <i>Pseudoperonospora</i> sp.)
Καρυδιά	Ανθράκωση (<i>Gnomonia leptostyla</i>)
Κουνουπίδι	Περονόσπορος (<i>Peronospora brassicae</i>)
	Αλτερναρίωση (<i>Alternaria</i> sp.)
Λεύκα	Ανθράκωση (<i>Marssomina brunnea</i>)
Γαρύφαλλο	Σκωρίαση (<i>Unomyces</i> sp.) Puccinia sp (<i>Phragmidium</i> sp.)
Τριαντάφυλλο	Μαύρη κηλιδωση (<i>Diplocarpon rosae</i>)
Τριαντάφυλλο (Υ-Θ)	Περονόσπορος (<i>Peronospora destructor</i>)
Αρακάς	Περονόσπορος (<i>Peronospora pisi</i>)
Υπνοφόρος παπαρούνα	Περονόσπορος (<i>Peronospora destructor</i>)

1.2. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΚΑΙ ΦΡΟΥΤΑ

1.2.1 Ορισμοί

Παρακάτω παρουσιάζονται κάποιοι ορισμοί, οι οποίοι σχετίζονται με τα υπολείμματα, σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 396/2005 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης:

- «**υπολείμματα (κατάλοιπα) φυτοφαρμάκων**»: Τα υπολείμματα (κατάλοιπα) (residues), συμπεριλαμβανομένων των δραστικών ουσιών, των μεταβολιτών ή/και των προϊόντων αποδόμησης ή αντίδρασης δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται ή έχουν χρησιμοποιηθεί σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα, όπως ορίζονται στο άρθρο 2 σημείο 1 της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, τα οποία υπάρχουν εντός ή επί των προϊόντων που περιλαμβάνονται στο παράρτημα 1 του παρόντος κανονισμού, συμπεριλαμβανομένων ιδίως εκείνων τα οποία ενδέχεται να προκύψουν από τη χρήση τους για φυτοπροστασία, στην κτηνιατρική και ως βιοκτόνων.
- «**ορθή γεωργική πρακτική (ΟΓΠ)**»: Η σε εθνικό επίπεδο συνιστώμενη, εγκεκριμένη ή καταχωρισμένη ασφαλής χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων υπό πραγματικές συνθήκες σε οποιοδήποτε στάδιο της παραγωγής, της αποθήκευσης, της μεταφοράς, της διανομής και της μεταποίησης τροφίμων και ζωοτροφών. Συνεπάγεται επίσης την εφαρμογή, σύμφωνα με τις διατάξεις της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ των αρχών του ολοκληρωμένου ελέγχου παρασίτων σε συγκεκριμένη κλιματική ζώνη, καθώς και τη χρήση της ελάχιστης ποσότητας φυτοφαρμάκων και τον καθορισμό των ελάχιστων επιπέδων ΑΟΚ/προσωρινών ΑΟΚ που μπορούν να επιτύχουν το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα.
- «**ανώτατο όριο καταλοίπων/υπολειμμάτων (ΑΟΚ) - Maximum Residue Limit (MRL)**»: Το ανώτατο νόμιμο όριο συγκέντρωσης καταλοίπου φυτοφαρμάκου εντός ή επί τροφίμων ή ζωοτροφών, το οποίο ορίζεται σύμφωνα με τον παρόντα κανονισμό και βασίζεται στην ΟΓΠ και τη χαμηλότερη απαιτούμενη έκθεση του καταναλωτή για την προστασία των ευάλωτων καταναλωτών.

- «**οξεία δόση αναφοράς (Acute Reference Dose)**»: Η κατ' εκτίμηση ποσότητα της ουσίας στην τροφή, εκφραζόμενη βάσει του σωματικού βάρους, η οποία μπορεί να προσλαμβάνεται σε βραχύ χρονικό διάστημα, συνήθως κατά τη διάρκεια μιας ημέρας, χωρίς αξιόλογο κίνδυνο για τον καταναλωτή βάσει των στοιχείων που προκύπτουν από κατάλληλες μελέτες, λαμβανομένων υπόψη των ομάδων του πληθυσμού που είναι ευάλωτες (π.χ. παιδιά και έμβρυα).
- «**αποδεκτή ημερήσια λήψη (Acceptable daily Intake)**»: Η κατ' εκτίμηση ποσότητα της ουσίας στην τροφή, εκφραζόμενη βάσει του σωματικού βάρους, η οποία μπορεί να προσλαμβάνεται ημερησίως σε όλη τη διάρκεια της ζωής, χωρίς αξιόλογο κίνδυνο για οποιονδήποτε καταναλωτή βάσει όλων των γνωστών κατά τη στιγμή της αξιολόγησης στοιχείων, λαμβανομένων υπόψη των ομάδων του πληθυσμού που είναι ευάλωτες (π.χ. παιδιά και έμβρυα).

1.2.2 Ορισμός υπολείμματος για τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα

Σύμφωνα με τον ΚΑΝ 396/2005, ο ορισμός του υπολείμματος για τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα, εκφράζεται ως διθειάνθρακας συμπεριλαμβανομένων των δραστικών maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram and ziram (dithiocarbamates expressed as CS₂, including maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram and ziram). Ο διθειάνθρακας (carbon disulfide- CS₂) είναι το κοινό προϊόν διάσπασης όλων των παραπάνω δραστικών ουσιών.



Σχήμα 3. Διθειάνθρακας (carbon disulfide- CS₂).

Το ανώτατο όριο υπολειμμάτων MRL για τα υπό μελέτη φυτικά προϊόντα της παρούσας εργασίας (παπάγια, πράσο, κρεμμύδι, σκόρδο, λάχανο, μπρόκολο, κουνουπίδι και ρόκα), παρουσιάζεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 2.1: Ανώτατα όρια υπολειμμάτων (MRLs) των διθειοκαρβαμιδικών για τα φυτικά προϊόντα παπάγια, πράσο, κρεμμύδι, σκόρδο, λάχανο, μπρόκολο και ρόκα:

Φυτικό προϊόν	Ανώτατο Όριο Υπολειμμάτων (MRL, mg/kg)	Νομοθεσία
Παπάγια	7.0	KAN (EE) Νο 171/2017
Πράσο	3.0	KAN (EE) Νο 171/2017
Κρεμμύδι	1,0	KAN (EE) Νο 171/2017
Σκόρδο	0.6	KAN (EE) Νο 171/2017
Λάχανο	3.0	KAN (EE) Νο 171/2017
Μπρόκολο	1.0	KAN (EE) Νο 171/2017
Ρόκα	5.0	KAN (EE) Νο 171/2017
Κουνουπίδι	1,0	KAN (EE) Νο 171/2017

1.2.3 Δειγματοληψία φυτικού προϊόντος με στόχο την ανάλυση υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων

Αναπόσπαστο κομμάτι της ανίχνευσης υπολειμμάτων στα προϊόντα φυτικής προέλευσης αποτελεί η δειγματοληψία. Ο όρος δειγματοληψία αναφέρεται στην διαδικασία με την οποία λαμβάνεται ένα δείγμα ή περισσότερα δείγματα από ένα προϊόν με σκοπό την περαιτέρω εργαστηριακή ανάλυση αυτών. Η δειγματοληψία αποτελεί βασικό παράγοντα εύρεσης αληθών αποτελεσμάτων της χημικής εργαστηριακής ανάλυσης και για το λόγο αυτό πρέπει να ακολουθούνται πιστά οι κανόνες ορθής εκτέλεσης καθώς και το ισχύον νομοθετικό πλαίσιο αυτής.

Κατά συνέπεια είναι απαραίτητη προϋπόθεση η εφαρμογή των δύο βασικών κανόνων λήψης ενός δείγματος, οι κανόνες αυτοί αφορούν την ύπαρξη επαρκούς ποσότητας δείγματος ώστε το αποτέλεσμα να είναι αξιόπιστο, καθώς και την λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος, δηλαδή δείγματος με χαρακτηριστικά παρόμοια αυτών του πληθυσμού.

1.2.3.1 Πορεία δειγματοληψίας

Η πορεία της δειγματοληψίας αφορά την πορεία που ακολουθείται κατά τη διαδικασία της δειγματοληψίας με σκοπό από μία αρχική παρτίδα και το πρωταρχικό /στοιχειώδες δείγμα να πραγματοποιηθεί η τελική επιλογή του εργαστηριακού δείγματος και της αναλυτικής ποσότητας.

Η αρχική ποσότητα τροφίμου παραδιδόμενη όλη μαζί για την όποια ο δειγματολήπτης γνωρίζει ή υποθέτει ότι έχει ομοιόμορφα χαρακτηριστικά (προέλευση, παραγωγός, ποικιλία κ.λπ.) καλείται ως παρτίδα. Σε κάθε υπό έλεγχο παρτίδα πρέπει να γίνεται ξεχωριστή δειγματοληψία. Από την παρτίδα και συγκεκριμένα από μια θέση αυτής γίνεται η λήψη μιας ή περισσότερων μονάδων οι οποίες ονομάζονται πρωταρχικό στοιχειώδες δείγμα. Ο αριθμός των μονάδων του πρωταρχικού δείγματος προσδιορίζεται από το ελάχιστο μέγεθος αυτών και τον απαιτούμενο αριθμό των εργαστηριακών δειγμάτων.

Το αποτέλεσμα της συνένωσης και καλής ανάμειξης των πρωταρχικών δειγμάτων που λαμβάνονται από μια παρτίδα, ονομάζεται συνολικό δείγμα. Η αντιπροσωπευτική ποσότητα αυτού που αποστέλλεται και λαμβάνεται από τον εργαστήριο με σκοπό την ανάλυση αυτής ονομάζεται εργαστηριακό δείγμα, το εργαστηριακό δείγμα μπορεί να είναι ολόκληρο ή μέρος του συνολικού δείγματος.

Από το εργαστηριακό δείγμα παρασκευάζεται το αναλυτικό δείγμα. Τέλος από το αναλυτικό δείγμα λαμβάνεται αντιπροσωπευτική ποσότητα υλικού που ονομάζεται αναλυτική ποσότητα, η οποία έχει το κατάλληλο μέγεθος για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων (Οδηγία 2002/63, Επίσημη Εφημερίδα Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων).

Για το πρωταρχικό δείγμα / στοιχειώδες δείγμα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα εξής:

- Η θέση από την οποία λαμβάνεται ένα πρωταρχικό δείγμα στην παρτίδα θα πρέπει να επιλέγεται τυχαίως, όταν όμως αυτό είναι πρακτικώς αδύνατο, θα πρέπει να λαμβάνεται από τυχαία θέση στα προσβάσιμα μέρη της παρτίδας.
- Για φυτικά, γαλακτοκομικά ή προϊόντα αυγού, όταν από μια παρτίδα λαμβάνονται περισσότερα του ενός πρωταρχικά δείγματα, καθένα από αυτά θα πρέπει να συμβάλλει σε ίση σχετικά αναλογία στο σχηματισμό του συνολικού δείγματος.
- Όταν κατά τη διάρκεια φόρτωσης ή εκφόρτωσης μιας παρτίδας λαμβάνονται κατά διαστήματα πρωταρχικά δείγματα, η θέση δειγματοληψίας είναι ένα σημείο τη φορά.
- Οι μονάδες (η μικρότερη διακριτή ποσότητα παρτίδας η οποία λαμβάνεται για το σχηματισμό όλου ή μέρους του πρωταρχικού δείγματος) δεν πρέπει να κόβονται ή να θραύονται κατά την παρασκευή του ή των πρωταρχικών δειγμάτων, εκτός και αν προβλέπεται η υποδιαίρεση αυτών.

Ο ελάχιστος αριθμός πρωταρχικών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνεται από μια παρτίδα εξαρτάται από το είδος του προϊόντος (πχ πουλερικά ή κρέας). Για τα υπό μελέτη προϊόντα της παρούσας εργασίας, πρωτογενή τρόφιμα φυτικής προέλευση (τρόφιμα αποτελούμενα από μεγάλες μονάδες) ο ελάχιστος αριθμός των πρωταρχικών δειγμάτων θα πρέπει να είναι σύμφωνος με τον ελάχιστο αριθμό των μονάδων που απαιτούνται για το εργαστηριακό δείγμα (Οδηγία 2002/63, Επίσημη Εφημερίδα Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων).

1.2.3.2 Κανόνες ορθής εκτέλεσης δειγματοληψίας φυτικών προϊόντων

1.2.3.2.1 Δειγματολήπτης

Ο δειγματολήπτης είναι εκπαιδευμένο πρόσωπο σε διαδικασίες δειγματοληψίας όπου απαιτείται, εξουσιοδοτημένο από τις αρμόδιες αρχές για τη λήψη δειγμάτων. Είναι επίσης υπεύθυνος για όλες τις διαδικασίες που περιλαμβάνουν την παρασκευή, συσκευασία και μεταφορά του ή των εργαστηριακών δειγμάτων. Ο δειγματολήπτης πρέπει να κατανοεί ότι η συνεπής τήρηση των καθορισμένων διαδικασιών δειγματοληψίας είναι αναγκαία, να παρέχει πλήρη τεκμηρίωση για τα δείγματα και να συνεργάζεται στενά με το εργαστήριο.

1.2.3.2.2 Συσκευασία δείγματος

Το δείγμα τοποθετείται κατά προτίμηση σε περιέκτη που μπορεί να είναι από φελιζόλ είτε άλλο υλικό που εξασφαλίζει σταθερότητα θερμοκρασίας και υγρασίας κατά τη μεταφορά αλλά και την ασφάλεια του δείγματος. Όπου απαιτείται (π.χ. αποστολή 50 αργότερα των 24 ωρών) χρησιμοποιούνται παγωμένα ψυκτικά υγρά (coolers) που τοποθετούνται στον περιέκτη για τη διατήρηση της χαμηλής θερμοκρασίας του δείγματος. Ο περιέκτης πρέπει να σφραγίζεται. Κατά τη δειγματοληψία συμπληρώνεται απαραίτητα το συνημμένο Πληροφοριακό Δελτίο Δείγματος και Πρακτικό Δειγματοληψίας (Οδηγία 2002/63, Επίσημη Εφημερίδα Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων).

1.2.4 Μέθοδοι ανάλυσης και προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειοκαρβαμδικών μυκητοκτόνων

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. Προτιμώνται οι πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι (Multi Residue Methods- MRMs) για την ανάλυση των φυτοφαρμάκων, διότι παρέχουν τη δυνατότητα προσδιορισμού μεγάλου αριθμού υπολειμμάτων δραστικών ουσιών 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 αναμειγμένο με διαλύτη, ακολουθούμενο από ένα βήμα καθαρισμού, με οργανικό διαλύτη περιορισμένης χωρητικότητας νερού, για να επιτευχθεί η απομάκρυνση των προσμείξεων που υπάρχουν στο εκχύλισμα δείγμα ή/και τον καθαρισμό της στερεής φάσης με διοξείδιο του πυριτίου ή florisol. 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 10^8 - 10^{10} 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).

Η ανάλυση και ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων στηρίζεται σε μέθοδο ανάλυσης εξειδικευμένου υπολείμματος (Single Residue Method- SRM).

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 (CS₂) που αναπτύσσεται κατά την

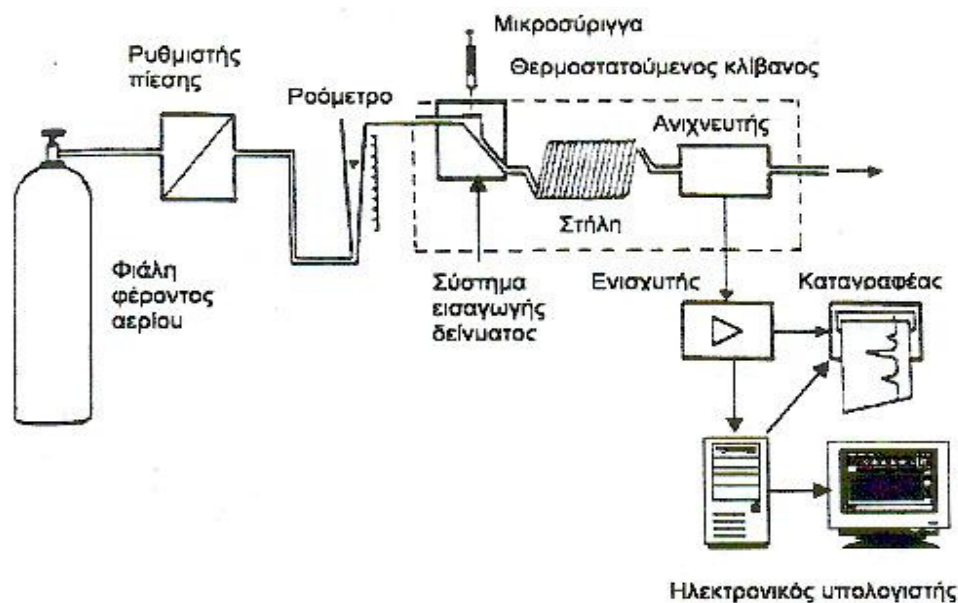
διάρκεια της όξινης επεξεργασίας των διθειοκαρβαμιδικών υπολειμμάτων. Οι Jongen et al. (1991) χρησιμοποίησαν υψηλής πίεσης υγρή χρωματογραφία (HPLC) και αέρια χρωματογραφία (GC) για να προσδιορίσουν την επαγγελματική έκθεση (δερματική και αναπνευστική) στα αιθυλενοδισδιθειοκαρβαμιδικά *maneb* και *zineb*. Η ανάλυση με HPLC 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 25 mL από το εκχύλισμα εμποτίστηκε σε φίλτρα GF/A που περιέχονταν 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, Bempelou et al., 2012).

1.2.2.4 Ανάλυση φυτοφαρμάκων με αέρια χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού αέριων ενώσεων ή ενώσεων ανθεκτικών στην εξάτμιση και στην θέρμανση (δεν διασπώνται σε υψηλές θερμοκρασίες). Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας φαίνονται στην εικόνα 1 και πιο αναλυτικά στην εικόνα 2 που ακολουθεί. Το δείγμα εισέρχεται στο σύστημα από τον εισαγωγέα, εξατμίζεται και εισχωρεί στην στήλη με την βοήθεια του φέροντος αερίου. Στην στήλη διαχωρίζονται οι ενώσεις οι οποίες διαδοχικά καταλήγουν στον ανιχνευτή και τα αποτελέσματα είτε τυπώνονται στον καταγραφέα είτε αποθηκεύονται σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή. Τέσσερα είναι τα σημαντικότερα κομμάτια του συστήματος τα οποία είναι:

- i) Αέριο
- ii) Σύστημα εισαγωγής του δείγματος
- iii) Στήλη χρωματογραφίας
- iv) Ανιχνευτής



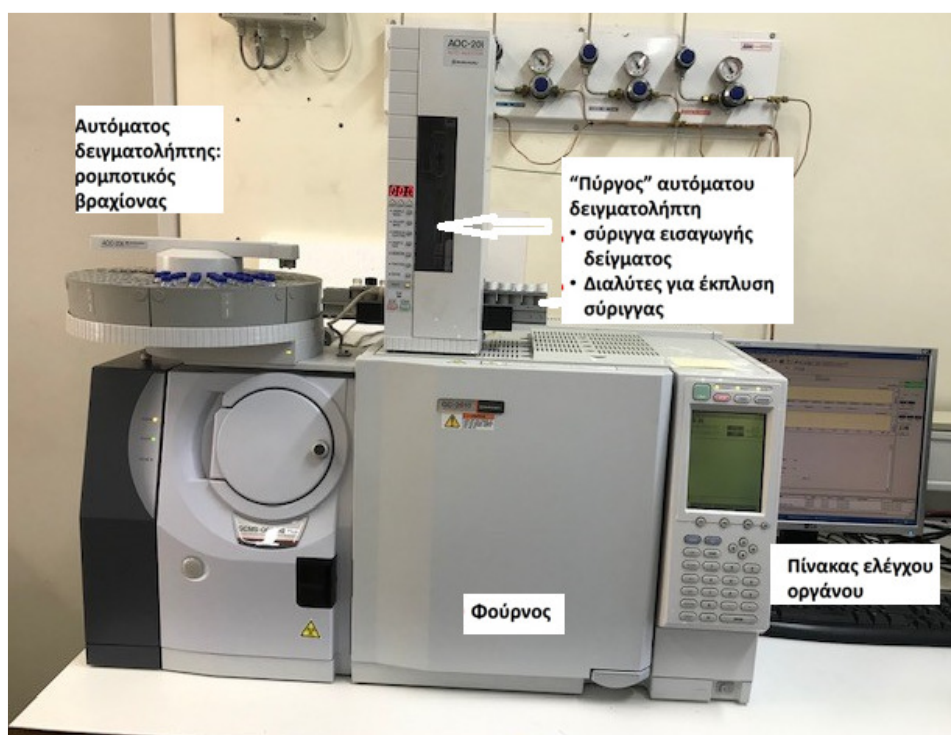
Εικόνα 1. Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας

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).

- Φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής (FPD)

Ο προσδιορισμός υπολειμμάτων με φλογομετρικό ανιχνευτή βασίζεται στην αρχή ότι ουσίες που θα προσδιοριστούν περιέχουν θείο ή φωσφόρο στο μόριό τους και όταν καίγονται παράγουν ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος η οποία και μετρείται. Η επιλογή του μήκους κύματος (526 nm για P και 393 nm για S) γίνεται με χρήση φίλτρου. Ο ανιχνευτής FPD είναι καταστροφικός για το δείγμα, ενώ η ευαισθησία του βελτιστοποιείται με ρύθμιση της αναλογίας υδρογόνου προς αέρα και τη θερμοκρασία λειτουργίας του.



Εικόνα 2. Σύστημα αέριας χρωματογραφίας με φλογομετρικό ανιχνευτή (FPD)

1.3 Σκοπός

Όπως έχει αποδειχτεί, υπάρχουν κάποια αγροτικά φυτικά προϊόντα τα οποία περιέχουν φυσικώς ευρισκόμενα συστατικά που αποτελούνται από ενώσεις θείου. Οι ενώσεις αυτές είναι πιθανό κατά τη διαδικασία της ανάλυσης για την παρουσία ή μη υπολειμμάτων διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων να μετατραπούν σε διθειάνθρακα και συνεπώς να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα (false positive results). Το γεγονός αυτό εγκυμονεί κινδύνους τόσο στην περίπτωση των βιολογικών προϊόντων, αλλά όσο και των συμβατικών.

Σχηματισμός διθειάνθρακα από φυσικώς ευρισκόμενα συστατικά σε βιολογικά προϊόντα θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποχαρκτηρισμό τους από βιολογικά, δεδομένου ότι τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα δεν επιτρέπονται στη βιολογική γεωργία.

Από την άλλη, ο σχηματισμός διθειάνθρακα από φυσικώς ευρισκόμενα συστατικά σε συμβατικά προϊόντα είναι πιθανόν να οδηγήσει σε υπέρβαση των ανώτατων ορίων υπολειμμάτων όπως αυτά έχουν οριστεί από τον Κανονισμό 396/2005.

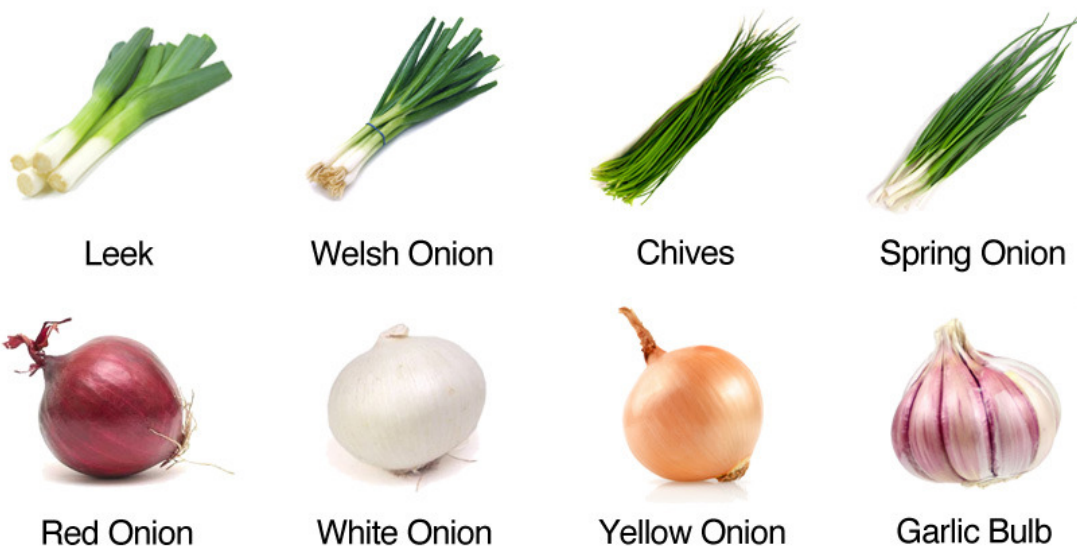
Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, στην παρούσα πτυχιακής εργασίας στόχος ήταν η διερεύνηση του πιθανού σχηματισμού διθειάνθρακα σε βολβώδη προϊόντα (κρεμμυδι, σκόρδο, πράσο), σε κράμβες (λάχανο, μπρόκολο, κουνουπίδι, ρόκα) και την παπάγια, τα οποία είναι γνωστό ότι περιέχουν θειούχες ενώσεις.

Τα δείγματα που αναλύθηκαν ήταν όλα προϊόντα βιολογικής γεωργίας και προέρχονταν από διάφορες περιοχές της ελληνικής επικράτειας αλλά και χώρες του εξωτερικού (πχ παπάγια). Ο προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων βασίστηκε σε ποσοτικοποίηση του διθειάνθρακα (CS₂), χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του ισοοκτανίου και διαφορετικές συνθήκες μεταχείρισης και εκχύλισης των δειγμάτων. Τα σύμπλοκα του CS₂ που δημιουργήθηκαν, ανιχνεύτηκαν με αέριο χρωματογράφο με φωτομετρικό αναλυτή φλόγας (FPD).

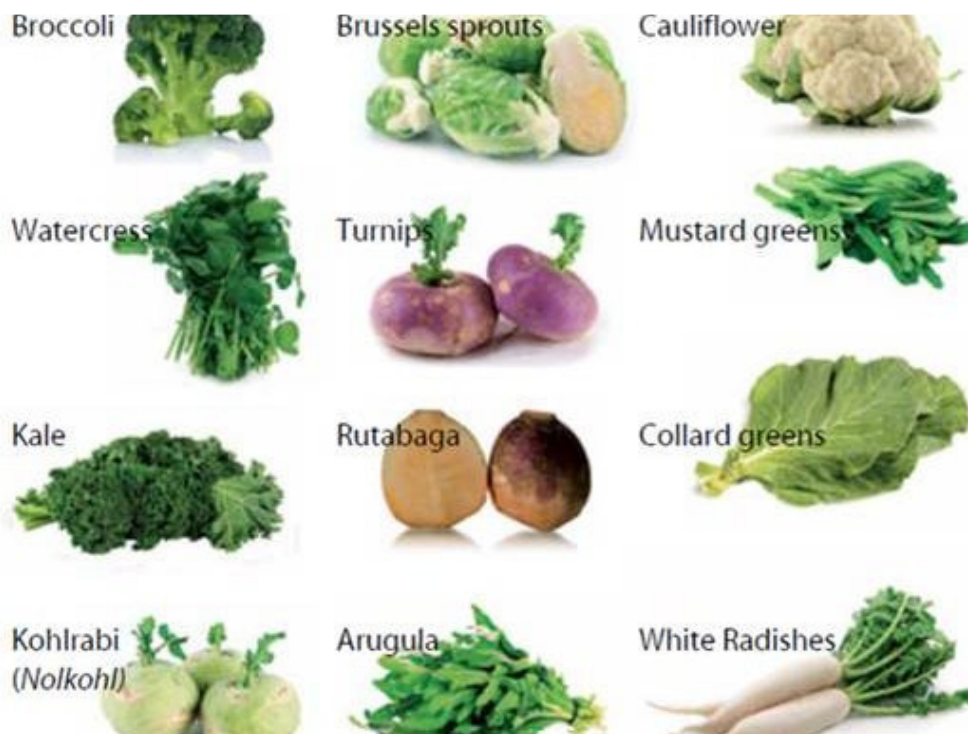
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Δείγματα

Τα φυτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν ρόκα, μπρόκολο, λάχανο, κουνουπίδι, κρεμμύδια, σκόρδα, πράσο και παπάγια (Εικ. 3, 4, 5). Χρησιμοποιήθηκαν δείγματα για κάθε προϊόν από διαφορετικούς παραγωγούς διαφόρων περιοχών της Ελλάδας αλλά και του εξωτερικού. Όλα τα δείγματα προμηθεύτηκαν από αγορές λιανικής πώλησης βιολογικών προϊόντων. Ήταν όλα μεγέθους 1.5-2 kg και έφεραν κατάλληλη συσκευασία και σήμανση πιστοποίησης βιολογικής γεωργίας. Έπειτα από την είσοδό τους στο εργαστήριο, γινότανε ο απαραίτητος διαχωρισμός και επεξεργασία για κάθε φυτικό προϊόν ανάλογα με τη μεταχείριση που ακολουθούσε κατά το στάδιο εκχύλισης (όπως περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω).



Εικόνα 3. Φυτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη



Εικόνα 4. Φυτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη



Εικόνα 5. Φυτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη

3.2 Αντιδραστήρια και Υλικά

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθαρότητας ‘analytical grade’ ή ‘pro analysi’ και οργανικοί διαλύτες ‘pesticide residue analysis grade’, ενώ το νερό αποσταγμένο ή απιονισμένο. Παρακάτω περιγράφονται αναλυτικά:

A1. Διθειάνθρακας περιεκτικότητας $\geq 99\%$. Αποθηκεύεται στους $4-8^{\circ}\text{C}$

A2. Hydrochloric acid fuming 37% (πχ. 1.00317.2501 2.5L MERCK)

A3. Ethanol absolute PA 121086.1212

A4. Ένυδρος διχλωριούχος Κασσίτερος, $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, proanalysisi.

A5. Διάλυμα παρακαταθήκης CS_2 : Σε φιάλη με εσφυρισμένο πώμα (πχ. ογκομετρική των 100 mL). Προσθέτουμε με ακρίβεια (σιφόνιο και μικροπιπέτα) 63ml 2,2,4-trimethylpentane και στην συνέχεια 50 μl CS_2 (63mg), περιστρέφουμε ήπια, 2-3φορές τη φιάλη και ποματίζουμε. Αποθηκεύεται ως 2 ημέρες στους -18°C .

A6. Διάλυμα εργασίας $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. Σε ογκομετρική φιάλη των 2L με τη βοήθεια του χωνιού ρίχνουμε 30g $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. Προστίθενται με το χωνί περίπου 1L H_2O , 800 ml HCL φορώντας προστατευτικά γυαλιά και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Διατηρείται μέχρι 3 μήνες.

A7. 2,2,4-Trimethylpentane (isooctane) καθαρότητας pesticide residue.

A8. Διαλύματα προτύπου υλικού αναφοράς CS_2 . Τα διαλύματα του προτύπου υλικού αναφοράς χρησιμοποιούνται α) για την ποσοτικοποίηση των αναλυτών που ανιχνεύονται στα δείγματα και β) για τη βαθμονόμηση των αναλυτικών συσκευών.

A9. Γυάλινα φιαλίδια των 8ml με πώμα από Teflon (PTFE).

A10. Χωνιά, μικρά γυάλινα.

A11. Γυάλινες σφαιρικές φιάλες των 250 ml.

A14. Συνθετικός αέρας, ελεύθερος υδρογονανθράκων.

A15. Υδρογόνο (H₂), καθαρότητας χρωματογραφίας ECD και FPD (99,999%).

A16. Ογκομετρικά σιφώνια των 20 και των 25 ml.

A17. Ογκομετρική φιάλη των 2L.

A18. Ογκομετρικό κύλινδρο των 1L και των 250mL.

A19. 1 μεγάλο χωνί

A20. Κωνικές φιάλες για το υδρόλουτρο

A21. Πώματα για τις κωνικές φιάλες.

3.3 Συσκευές και Βοηθητικά Μέσα

- Υδρόλουτρο με αναταράκτη (π.χ. Nuve ST402).
- Αεριοχρωματογράφος τριχοειδών στηλών με εγχυτή τύπου split/splitless, και ανιχνευτή FPD με φίλτρο θείου και κατάλληλο σύστημα επεξεργασίας αποτελεσμάτων.
- Στήλη DB-5 ή ισοδύναμη, 50m, 0,32mm και πάχους υμένα 1μm.

3.4 Δειγματοληψία, Προετοιμασία και συντήρηση δειγμάτων

Τα δείγματα βολβώδων λαχανικών, κραμβών και παπάγιας δεν ομογενοποιήθηκαν, αλλά υπόκειται σε κατάλληλη μέθοδο υποδειγματοληψίας. Αυτό γίνεται τεμαχίζοντας το δείγμα σε μεγάλα κομμάτια. Επειδή τα υπολείμματα των διθειοκαρβαμιδικών παραμένουν στην επιφάνεια του καρπού η υποδειγματοληψία αυτή συνεισφέρει σημαντικά στην αβεβαιότητα του αποτελέσματος. Για να μειωθεί, όσο είναι εφικτό, η συνεισφορά αυτή διαιρείται το δείγμα σε τέσσερα μέρη και λαμβάνονται από τα μέρη αυτά τα δύο διαγωνίως αντίθετα.

Επιπλέον, λόγω της ευαισθησίας και της μικρής μοριακής μάζας των διθειοκαρβαμιδικών, η εκχύλιση τους πρέπει να γίνεται γρήγορα και σε δείγματα που κατά προτίμηση δεν είναι ομογενοποιημένα.

3.5 Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η παρασκευή προτύπων διαλυμάτων διθειάνθρακα. Για την παρασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματοποιήθηκε η παραγωγή προτύπων διαλυμάτων του μίγματος σε επτά συγκεντρώσεις: 0,1 μg/ml, 0,2 μg/ml, 0,5 μg/ml, 1 μg/ml, 2 μg/ml, 5 μg/ml και 10 μg/ml σε ισοοκτάνιο.

Τα παρασκευασθέντα πρότυπα διαλύματα προήλθαν αρχικά από επιμέρους διαλύματα παρακαταθήκης της κάθε δραστικής σε συγκέντρωση 1000 μg/ml. Μετά την Παρασκευή τους, τα διαλύματα τοποθετήθηκαν και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη στους -20 °C.

3.6 Εκχύλιση

Η εκχύλιση είναι μία ευρέως διαδεδομένη μέθοδος για τον διαχωρισμό ενώσεων. Η αρχή της βασίζεται στη διαφορετική διαλυτότητα που παρουσιάζουν οι ενώσεις αυτές, σε δύο διαλύτες που δεν αναμειγνύονται. Εξαιτίας της διαφορετικής διαλυτότητας οι ενώσεις που βρίσκεται διαλυμένες στον ένα διαλύτη, μεταβαίνουν στον άλλο διαλύτη, που ονομάζεται διαλύτης εκχύλισης, και με αυτόν το τρόπο διαχωρίζονται. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία 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.

Τα προς ανάλυση δείγματα των φυτικών προϊόντων (κρεμμύδια, σκόρδα, πράσα, παπάγια,ρόκα,λάχανο,μπρόκολο,κουνουπίδι) έφτασαν στο εργαστήριο σε ποσότητα μεγαλύτερη από 1kg. Επεξεργάστηκαν σε νωπή κατάσταση χωρίς να πλυθούν και χωρίς να ξεφλουδιστούν. 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.

Στην παρούσα μελέτη η εκχύλιση των δειγμάτων ακολούθησε τρία στάδια, τα οποία παρουσιάζονται παρακάτω:

Στο πρώτο στάδιο ζυγίζονται $50 \pm 0,5$ g τεμαχίων δείγματος και τα τοποθετούμε σε κωνική φιάλη των 250mL. Προσθέτουμε 25ml ισοοκτάνιο και 150ml του διαλύματος εργασίας SnCl_2 και HCl . Κλείνουμε αμέσως καλά με πώμα τη φιάλη και την τοποθετούμε σε υδρόλουτρο στους 80°C για δύο ώρες.

Στο δεύτερο στάδιο ζυγίζονται πάλι $50 \pm 0,5$ g τεμαχίων δείγματος και τα τοποθετούμε σε κωνική φιάλη των 250mL με την διαφορά όμως ότι ομογενοποιούμε και αναλύουμε το δείγμα έπειτα από 15 min. Μετά την ολοκλήρωση των 15', προσθέτουμε 25ml ισοοκτάνιο και 150ml του διαλύματος εργασίας SnCl_2 και HCl , κλείνουμε αμέσως καλά με πώμα τη φιάλη και την τοποθετούμε σε υδρόλουτρο στους 80°C για δύο ώρες.

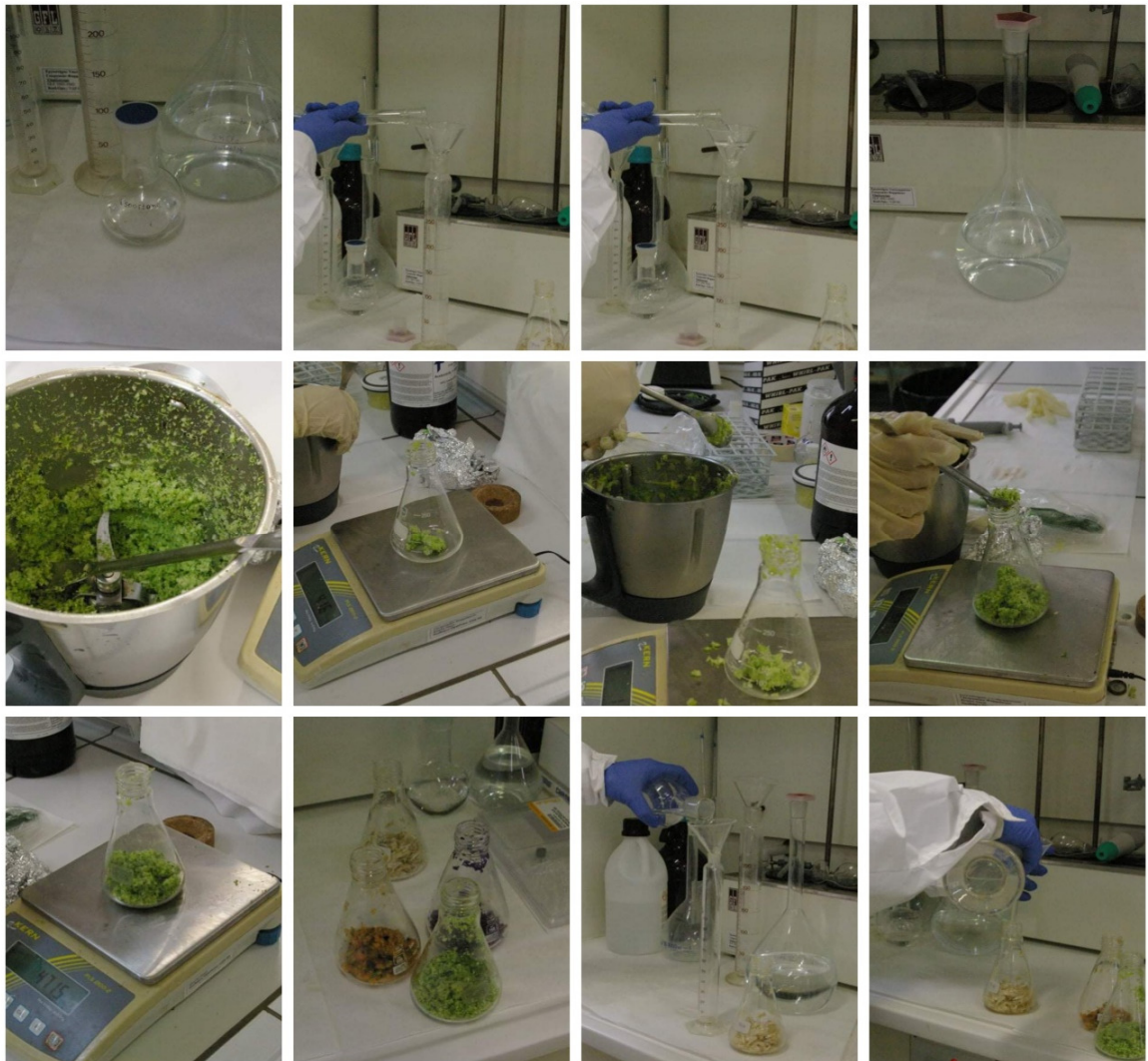
Τέλος, στο **τρίτο** και τελευταίο **στάδιο** ζυγίζονται πάλι $50 \pm 0,5$ g τεμαχίων δείγματος και τα τοποθετούμε σε κωνική φιάλη των 250mL με την διαφορά όμως ότι ομογενοποιούμε και αναλύουμε το δείγμα έπειτα από 2h. Μετά την ολοκλήρωση των 2h, προσθέτουμε 25ml ισοοκτάνιο και 150ml του διαλύματος εργασίας SnCl_2 και HCl , κλείνουμε αμέσως καλά με πώμα τη φιάλη και την τοποθετούμε σε υδρόλουτρο στους 80°C για δύο ώρες.

Αφού και τα τρία στάδια ολοκληρώσουν την διαδικασία του υδρόλουτρου και εφόσον έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, μεταφέρονται 4 ml από το υπερκείμενο υγρό σε γυάλινο φιαλίδιο των 8 ml με πώμα από Teflon (PTFE). 1ml του υγρού αυτού μεταφέρεται σε φιαλίδιο autosampler για έγχυση στον αεριοχρωματογράφο FPD.

Η δειγματοληψία και η εκχύλιση όλων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε μέσα σε απαγωγό εστία, με χρήση ειδικής μάσκας και προστατευτικών γυαλιών, ώστε να παρέχεται η κατάλληλη προστασία από τυχών έκλυση αερίων ή σταγονιδίων από τα δείγματα.

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

Στις εικόνες που ακολουθούν φαίνεται η διαδικασία που ακολούθησαν τα δείγματα.



Εικόνα 6. Προετοιμασία δειγμάτων.



Εικόνα 7. Προετοιμασία δειγμάτων.

3.7 Αεριοχρωματογραφία

Ο προσδιορισμός του διθειάνθρακα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αέριου χρωματογράφου του οίκου Shimadzu GC-2010 με αυτόματο δειγματολήπτη τύπου splitless, αναλυτική στήλη τύπου DB-5 column (5%- phenylmethylpolysiloxane, 50m, 0.32mm i.d. and 1µm fi 1m thickness), ο οποίος είναι συνδεδεμένος με φλωγομετρικό ανιχνευτή (flame photometric detector (FPD) με φίλτρο θείου. Εφαρμόστηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό πρόγραμμα: 45°C(1min), άνοδος στους 250°C με ρυθμό ανόδου 20°C/min, όπου και παραμένει για 5 min.

Εγχύεται 1µL του τελικού εκχυλίσματος του δείγματος. Στην περίπτωση που στο χρωματογράφημα δεν εμφανιστεί χρωματογραφική κορυφή σε χρόνο πλησίον ($\pm 0,5\%$) του χρόνου κατακράτησης (t_R) του CS₂ που προκύπτει από την έγχυση των προτύπων διαλυμάτων του, τότε το δείγμα δεν περιέχει ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις. Συνήθεις τιμές για τον t_R είναι περί τα 4,5 min. Σε αντίθετη περίπτωση υπάρχουν ενδείξεις ύπαρξης διθειοκαρβαμιδικών στο δείγμα και απαιτείται ταυτοποίηση.

3.7.1 Ανιχνευσιμότητα (Detectability)

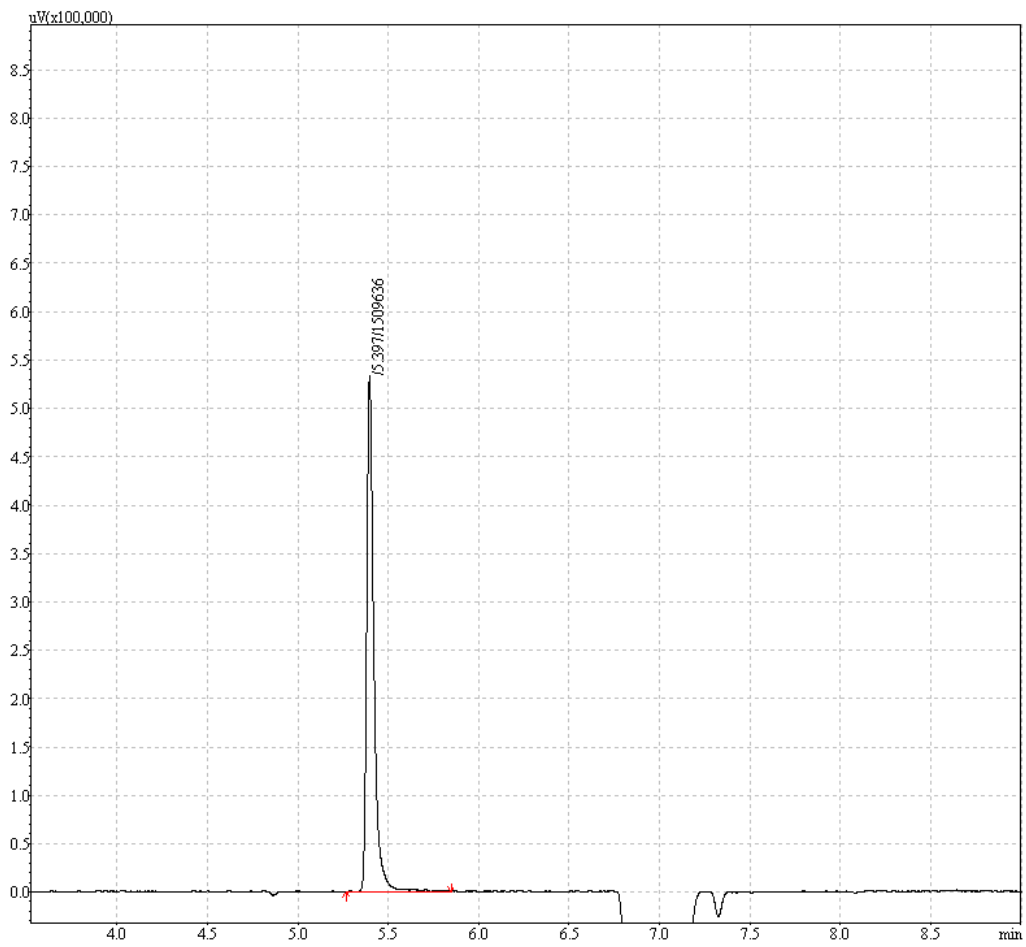
Η ανιχνευσιμότητα περιλαμβάνει τους όρους, όριο ανίχνευσης (Detection Limit, DL ή LOD) και όριο ποσοτικοποίησης (Quantification Limit, QL ή LOQ). Γενικά, η ανιχνευσιμότητα αναφέρεται στην ικανότητα της μεθόδου να ανιχνεύει πολύ μικρές συγκεντρώσεις του αναλύτη (δραστικής ουσίας). Ως όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) ονομάζεται η ελάχιστη συγκέντρωση μιας ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί με έναν βαθμό βεβαιότητας δηλαδή να γίνεται αξιόπιστος διαχωρισμός μεταξύ του σήματος που οφείλεται στη συγκέντρωση της δραστικής και του σήματος του θορύβου του οργάνου. Στην αναλυτική μέθοδο που εφαρμόσαμε στην παρούσα εργασία, το LOD ήταν 0,01 mg/ml. Το όριο ποσοτικοποίησης αναφέρεται στην ικανότητα του οργάνου όχι μόνο να ανιχνεύει άλλα και να ποσοτικοποιεί χαμηλές συγκεντρώσεις του αναλύτη. Σύμφωνα με το κανονισμό SANTE/12571/2013 για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφάρμακων το όριο

ποσοτικοποίησης (LOQ) της μεθόδου ορίζεται ως η μικρότερη συγκέντρωση φυτοφαρμάκου που παρουσιάζει μέση ανάκτηση από 70% έως 110% και $RSD \leq 20\%$. Μόνο σε περιπτώσεις χαμηλής αλλά σταθερής ανάκτησης μπορεί να γίνουν αποδεκτές και ανακτήσεις κάτω του 70%. Στην αναλυτική μέθοδο που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία το LOD ήταν 0,05 mg/ml.

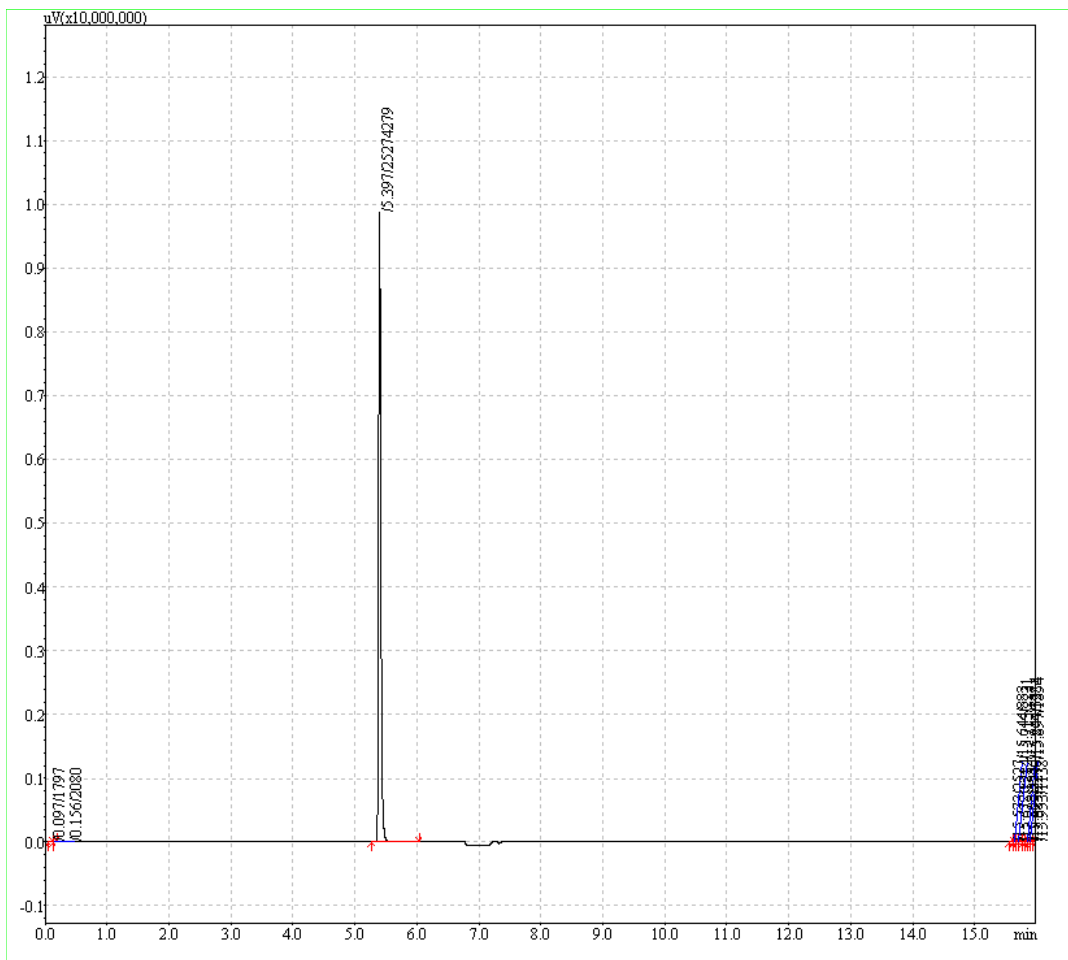
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS₂) με το σύστημα αέριου χρωματογράφου με φλογωμετρικό ανιχνευτή (GC/FPD).

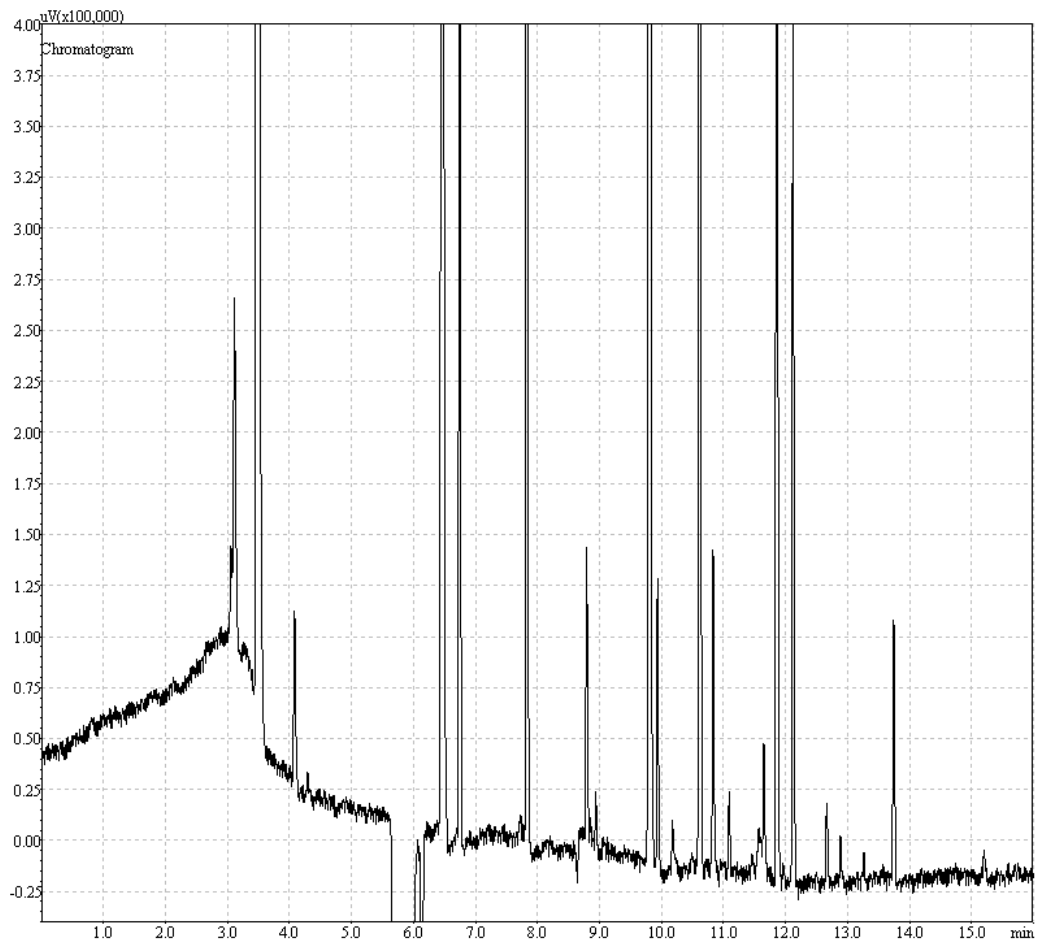
Ο προσδιορισμός της δραστικής ουσίας του διθειάνθρακα (CS₂) πραγματοποιήθηκε στο σύστημα αέριου χρωματογράφου με φλογωμετρικό ανιχνευτή (GC/FPD). Η ουσία παρουσίασε σταθερό χρόνο κατακράτησης (Retention time - RT) στα 5,4 min τόσο στα δείγματα πρότυπης δραστικής ουσίας όσο και στα δείγματα φυτικού ιστού. Στα παρακάτω χρωματογραφήματα παρουσιάζεται η κορυφή του διθειάνθρακα σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 0,5 mg/kg, σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 2 mg/kg και σε τελικό εκχύλισμα δείγματος λάχανου.



Σχήμα 3. Προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS_2) σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 1 mg/kg σε ισοοκτάνιο.



Σχήμα 4. Προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS_2) σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 5 mg/kg σε ισοοκτάνιο.



Σχήμα 5. Τελικό εκχύλισμα δείγματος λάχανου.

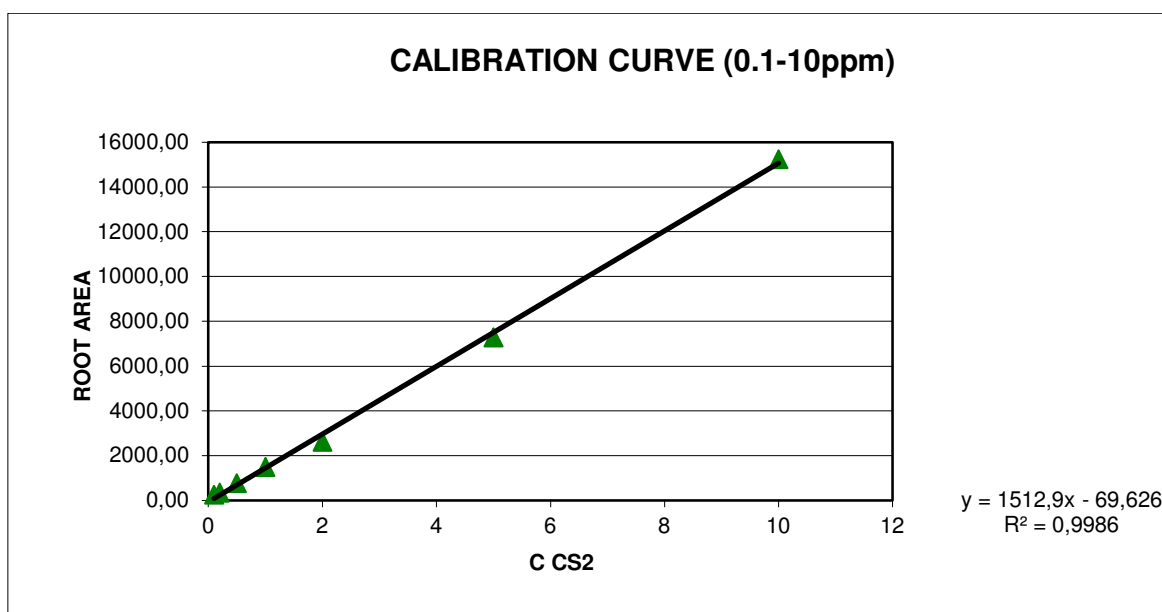
4.2 Έλεγχος γραμμικότητας

Ο έλεγχος της γραμμικότητας της μεθόδου πραγματοποιήθηκε κάθε φορά που αναλύονταν μία νέα παρτίδα δειγμάτων. Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, για την παρασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματοποιήθηκε η παραγωγή προτύπων διαλυμάτων του μίγματος σε επτά συγκεντρώσεις: 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 0,2 $\mu\text{g/ml}$, 0,5 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$ και 10 $\mu\text{g/ml}$ σε ισοοκτάνιο.

Με βάση την καταλληλότητα της καμπύλης, αν δηλαδή ο συντελεστής συσχέτισης (correlation coefficient, R^2) ήταν μεγαλύτερος 0,98 και συνεπώς η γραμμικότητα κρίνονταν

αποδεκτή, χρησιμοποιούσαμε την εξίσωση της ευθείας που πρόκυψε για να υπολογίσουμε τη συγκέντρωση του CS₂ (διθειάνθρακα) στα υπό εξέταση δείγματα.

Παρακάτω παρουσιάζεται ενδεικτικά μία από τις καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης.



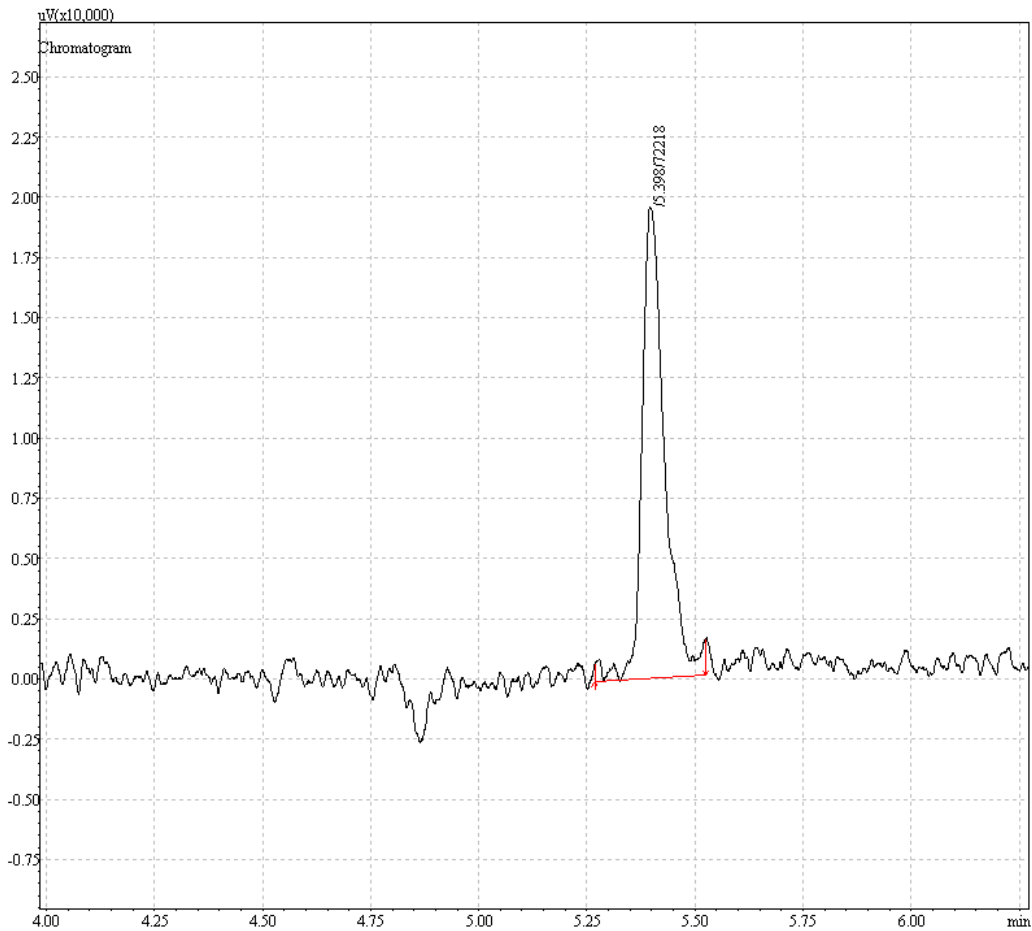
Σχήμα 6: Καμπύλη βαθμονόμησης για τη δραστική ουσία του διθειάνθρακα σε επτά επίπεδα συγκεντρώσεων στο χρωματογραφικό σύστημα GC/FPD.

Ο συντελεστής συσχέτισης R^2 για το διθειάνθρακα ήταν υψηλότερος του 0,99 και αποδεικνύεται έτσι γραμμική συσχέτιση.

4.3 Ανιχνευσιμότητα- Ευαισθησία

Η ευαισθησία του οργάνου κρίθηκε αρκετά ικανοποιητική δεδομένου ότι ο ποσοτικός προσδιορισμός του διθειάνθρακα ήταν ευφικτός στη χαμηλότερη συγκέντρωση των 0,1 mg/kg, το οποίο αποτέλεσε και το όριο αναλυτικού προσδιορισμού της μεθόδου (Limit of

Determination, LOQ) Όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 2, ανώτατα όρια υπολειμμάτων (MRLs) είναι όλα υψηλότερα και συνεπώς η αναλυτική μέθοδος θεωρείται συμμορφούμενη με τη νομοθεσία, δεδομένου ότι καλύπτει τα θεσπισμένα νομοθετικά όρια, σύμφωνα με τον ΚΑΝ (ΕΕ) Νο 171/2017.



Σχήμα 7. Προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS_2) σε πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 0,1mg/kg σε ισοοκτάνιο, το οποίο ήταν και το όριο αναλυτικού προσδιορισμού της αναλυτικής μεθόδου.

4.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε φυτικά προϊόντα

Για κάθε φυτικό υπόστρωμα δείγμα πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά έλεγχος για την εύρεση και τον προσδιορισμό υπολειμμάτων διθειάνθρακα. Ο συνολικός αριθμός δειγμάτων που εκλέχθηκαν ήταν 104, τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στο πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας Α. Αναλυτική παρουσίαση αριθμού δειγμάτων κηπευτικών της οικογένειας *Alliaceae* και της οικογένειας *Brassicaceae* και καρπών παπάγιας (*Caricaceae*) και συνολικός αριθμός δειγμάτων.

Alliaceae	Αριθμός δειγμάτων	Brassicaceae	Αριθμός δειγμάτων	Caricaceae	Αριθμός δειγμάτων
Κρεμμύδι	20	Λάχανο	30	Παπάγια	4
Σκόρδο	10	Κουνουπίδι	13		
Πράσο	10	Μπρόκολο	12		
		Ρόκα	5		
Σύνολο	40	Σύνολο	60	Σύνολο	4

4.6 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βολβώδη λαχανικά

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, από την κατηγορία των βολβώδων λαχανικών (*Alliaceae*) αναλύθηκαν συνολικά 40 δείγματα. Όλα τα δείγματα ήταν βιολογικά και όλα εγχώρια.

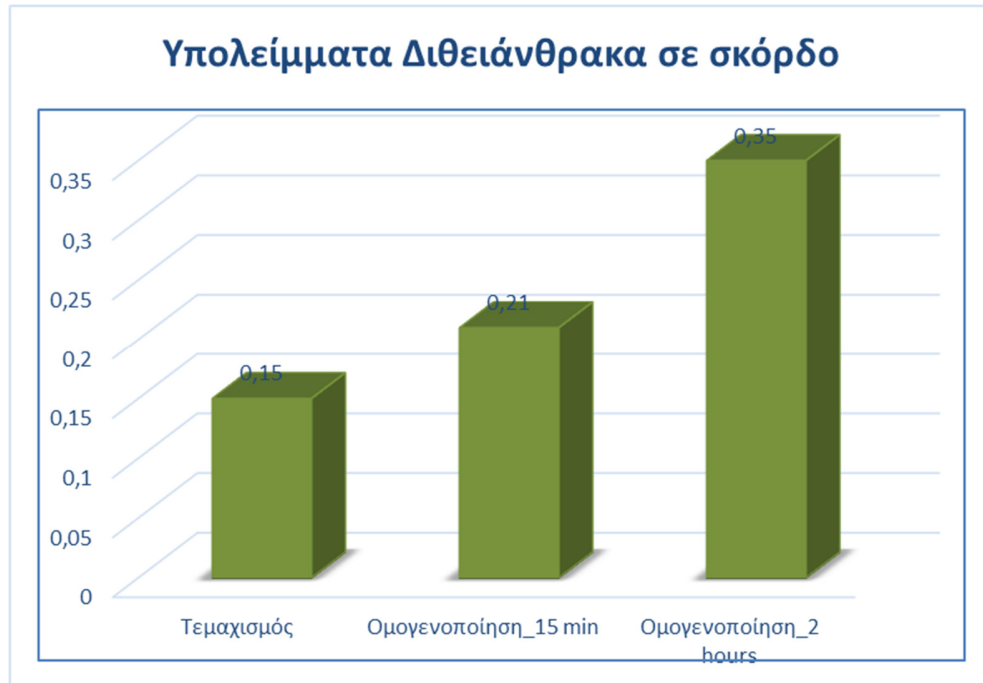
Τα αποτελέσματα θα παρουσιαστούν ανά φυτικό υπόστρωμα.

4.6.1 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά σκόρδα

Από το σύνολο των 10 δειγμάτων που αναλύθηκαν, μόνο σε ένα δείγμα προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα.

Πίνακας Β. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικών σκόρδων που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Σκόρδο 1	-	-	-
2	Σκόρδο 2	-	-	-
3	Σκόρδο 3	-	-	-
4	Σκόρδο 4	-	-	-
5	Σκόρδο 5	-	-	-
6	Σκόρδο 6	-	-	-
7	Σκόρδο 7	0,15	0,21	0,35
8	Σκόρδο 8	-	-	-
9	Σκόρδο 9	-	-	-
10	Σκόρδο 10	-	-	-



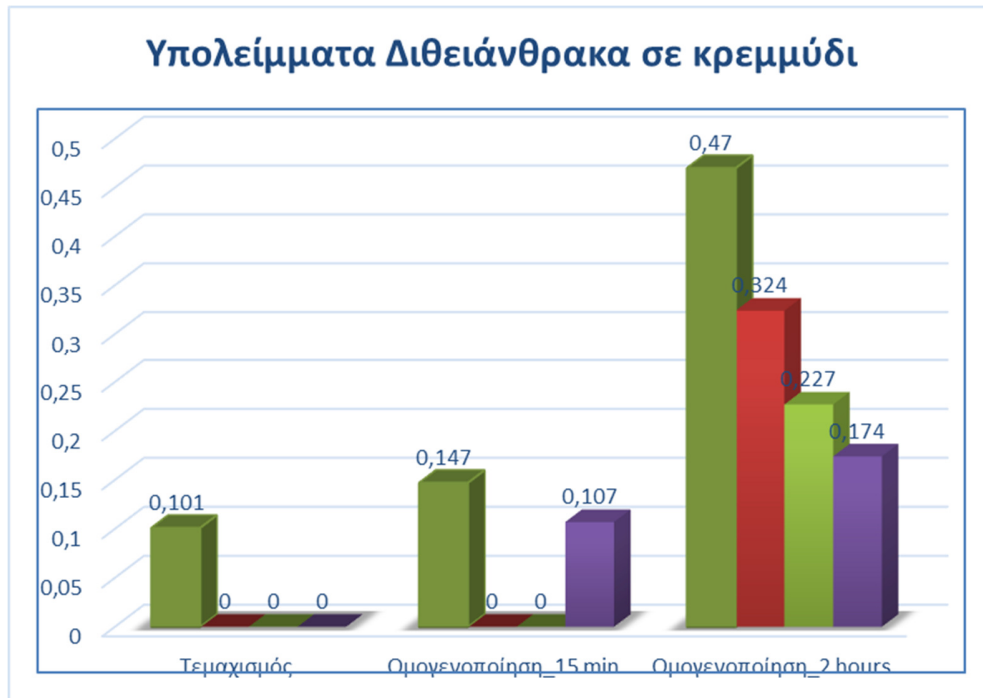
Σχήμα Β1. Προσδιορισμός υπολειμμάτων υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg σε 1 από τα 10 δείγματα βιολογικών σκόρδων που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.6.2 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά κρεμμύδια

Από το σύνολο των 20 δειγμάτων βιολογικών κρεμμυδιών που αναλύθηκαν, σε 4 δείγματα (ποσοστό 20%) προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα. Σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας μόνο στο δεύτερο και το τρίτο στάδιο της εκχύλισης, στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα, ενώ σε 2 δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας μόνο στο τρίτο στάδιο εκχύλισης (ομογενοποίηση και αναμονή και 2 ώρες).

Πίνακας Γ. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικών κρεμμυδιών που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Κρεμμύδι 1	-	-	-
2	Κρεμμύδι 2	-	-	-
3	Κρεμμύδι 3	-	-	-
4	Κρεμμύδι 4	-	-	-
5	Κρεμμύδι 5	-	-	-
6	Κρεμμύδι 6	-	-	-
7	Κρεμμύδι 7	0,101	0,147	0,47
8	Κρεμμύδι 8	-	-	-
9	Κρεμμύδι 9	-	-	-
10	Κρεμμύδι 10	-	-	-
11	Κρεμμύδι 11			
12	Κρεμμύδι 12	-	-	0,324
13	Κρεμμύδι 13	-	-	-
14	Κρεμμύδι 14			
15	Κρεμμύδι 15	-	-	0,227
16	Κρεμμύδι 16	-	-	-
17	Κρεμμύδι 17	-	-	-
18	Κρεμμύδι 17	-	0,107	0,174
19	Κρεμμύδι 19	-	-	-
20	Κρεμμύδι 20	-	-	-



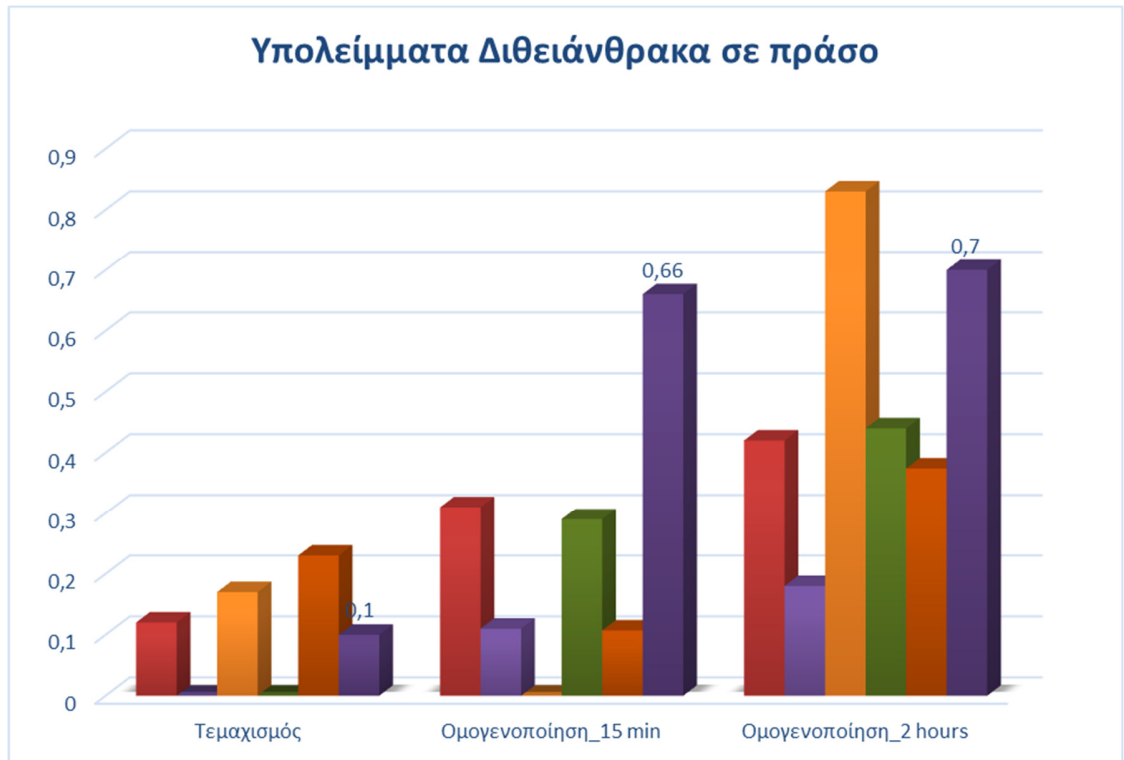
Σχήμα Γ1. Προσδιορισμός υπολειμάτων υπολειμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg σε 4 από τα 20 δείγματα βιολογικών κρεμμυδιών που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.6.3 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικά πράσα

Από το σύνολο των 10 δειγμάτων βιολογικών πράσων που αναλύθηκαν, σε 6 δείγματα προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε 4 δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα. Σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας μόνο στο δεύτερο και το τρίτο στάδιο της εκχύλισης, στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα, ενώ σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας μόνο στο τρίτο στάδιο εκχύλισης (ομογενοποίηση και αναμονή και 2 ώρες).

Πίνακας Δ. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικών κρεμμυδιών που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Πράσο 1	0,12	0,31	0,42
2	Πράσο 2	-	-	-
3	Πράσο 3	-	0,11	0,18
4	Πράσο 4	-	-	-
5	Πράσο 5	-	-	-
6	Πράσο 6	-	-	-
7	Πράσο 7	0,17	0,47	0,83
8	Πράσο 8	0,23	0,29	0,44
9	Πράσο 9	0,1	0,66	0,7
10	Πράσο 10	-	-	0,23



Σχήμα Δ1. Προσδιορισμός υπολειμμάτων υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg σε 6 από τα 10 δείγματα βιολογικών πράσων που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.7 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε κράμβες

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, από την κατηγορία των κραμβών (*Brassicaceae*) αναλύθηκαν συνολικά 60 δείγματα. Όλα τα δείγματα ήταν βιολογικά και σε ποσοστό 82% ήταν εγχώρια, ενώ το 18% ήταν εισαγωγής (Πορτογαλία και Ιταλία).

Τα αποτελέσματα θα παρουσιαστούν ανά φυτικό υπόστρωμα:

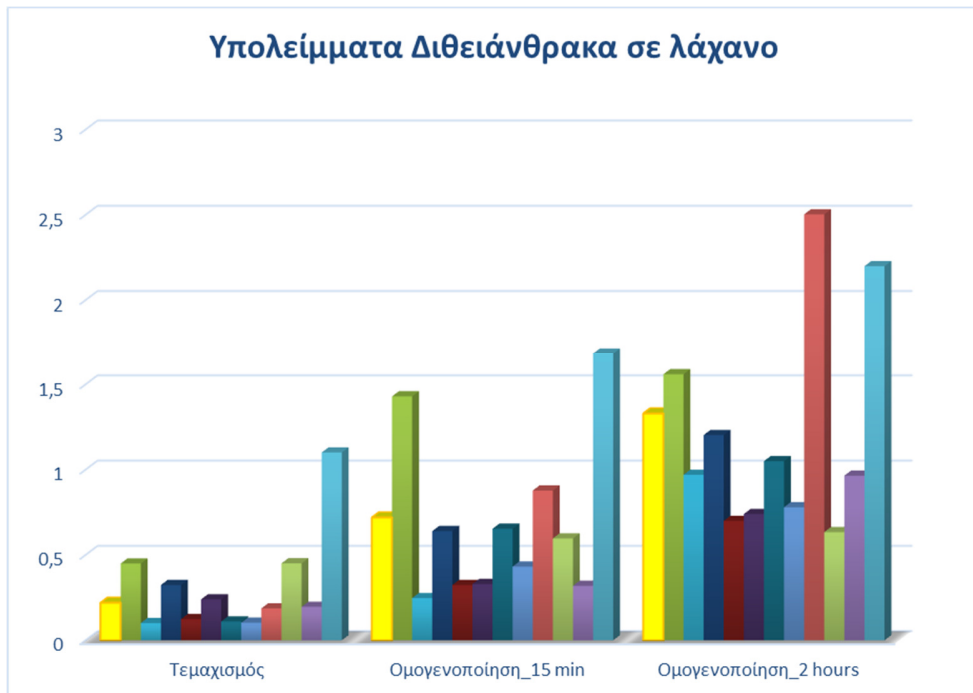
4.7.1 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό λάχανο

Από το σύνολο των 30 δειγμάτων βιολογικού λάχανου που αναλύθηκαν, σε 20 δείγματα (ποσοστό 66,67 %) προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε 12 ποσοστό 20 %) δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα. Σε 8 δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας μόνο στο δεύτερο και το τρίτο στάδιο της εκχύλισης, στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα.

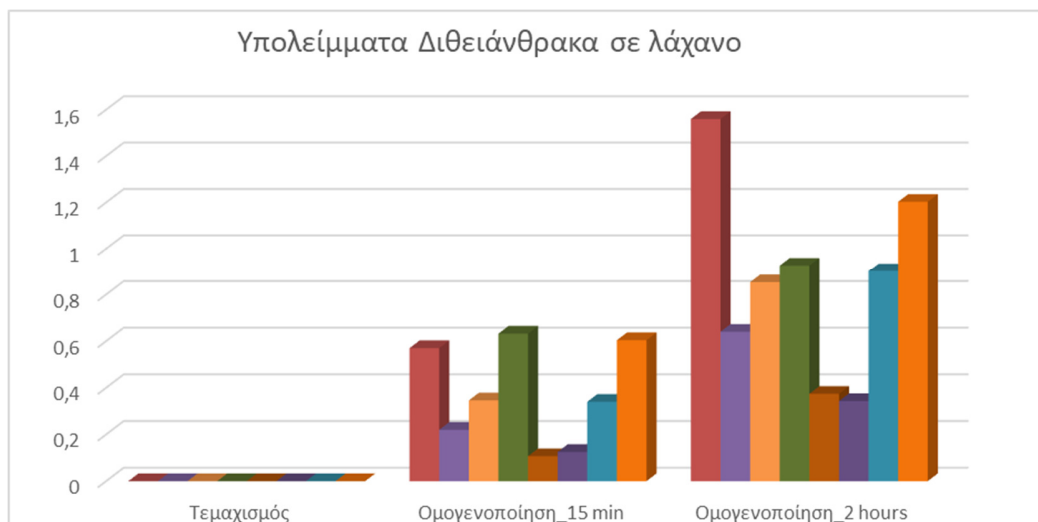
Πίνακας Ε. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικού λάχανου που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Λάχανο 1	0,22	0,72	1,33
2	Λάχανο 2	-	0,57	1,56
3	Λάχανο 3	-	-	-
4	Λάχανο 4	0,45	1,43	1,56
5	Λάχανο 5	-	0,22	0,64
6	Λάχανο 6	-	-	-
7	Λάχανο 7	0,101	0,247	0,97
8	Λάχανο 8	-	-	-
9	Λάχανο 9	-	0,346	0,853
10	Λάχανο 10	-	-	-
11	Λάχανο 11	-	-	-
12	Λάχανο 12	0,324	0,640	1,203
13	Λάχανο 13	0,124	0,324	0,700
14	Λάχανο 14	-	-	0,482
15	Λάχανο 15	-	0,632	0,927
16	Λάχανο 16	0,24	0,33	0,74
17	Λάχανο 17	0,11	0,654	1,05
18	Λάχανο 17	-	0,107	0,374
19	Λάχανο 19	-	-	-
20	Λάχανο 20	-	-	-
21	Λάχανο 21	0,103	0,432	0,78
22	Λάχανο 22	0,187	0,878	2,503
23	Λάχανο 23	0,451	0,597	0,634
24	Λάχανο 24	0,196	0,319	0,965
25	Λάχανο 25	1,101	1,686	2,199
26	Λάχανο 26	-	-	-
27	Λάχανο 27		0,125	0,343

28	Λάχανο 27	-	0,340	0,902
29	Λάχανο 29	-	-	-
30	Λάχανο 30	-	0,604	1,203



Σχήμα Ε1. Προσδιορισμός διθειάνθρακα σε mg/kg σε 12 από τα 30 δείγματα βιολογικού λάχανου που εμφάνισαν υπολείμματα και στις τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).



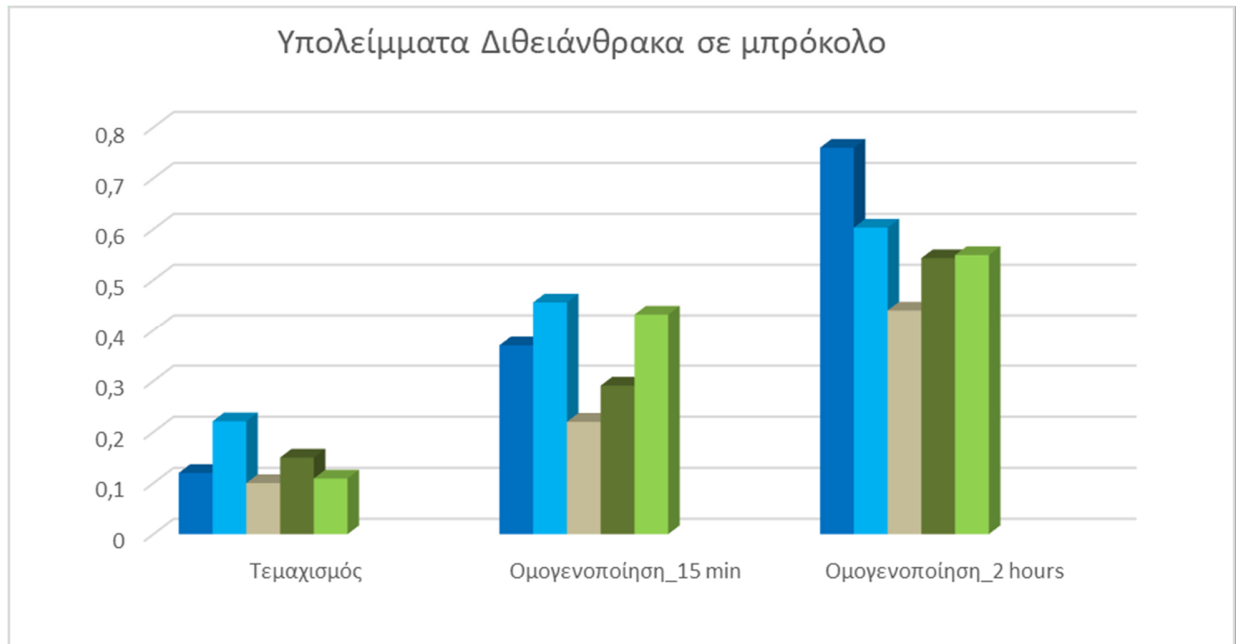
Σχήμα Ε2. Προσδιορισμός διθειάνθρακα σε mg/kg σε 8 από τα 30 δείγματα βιολογικού λάχανου που εμφάνισαν υπολείμματα και έπειτα από την ομογενοποίηση του πρωτογενούς δείγματος.

4.7.2 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό μπρόκολο

Από το σύνολο των 12 δειγμάτων βιολογικού μπρόκολου που αναλύθηκαν, σε 5 δείγματα (ποσοστό 41,7 %) προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε όλα από αυτά τα δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα.

Πίνακας Ζ. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικού μπρόκολου που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Μπρόκολο 1	-	-	-
2	Μπρόκολο 2	0,12	0,37	0,76
3	Μπρόκολο 3	-	-	-
4	Μπρόκολο 4	0,221	0,456	0,603
5	Μπρόκολο 5	0,1	0,22	0,44
6	Μπρόκολο 6	-	-	-
7	Μπρόκολο 7	0,15	0,291	0,543
8	Μπρόκολο 8	-	-	-
9	Μπρόκολο 9	-	-	-
10	Μπρόκολο 10	-	-	-
11	Μπρόκολο 11	0,109	0,432	0,549
12	Μπρόκολο 12	-	-	-



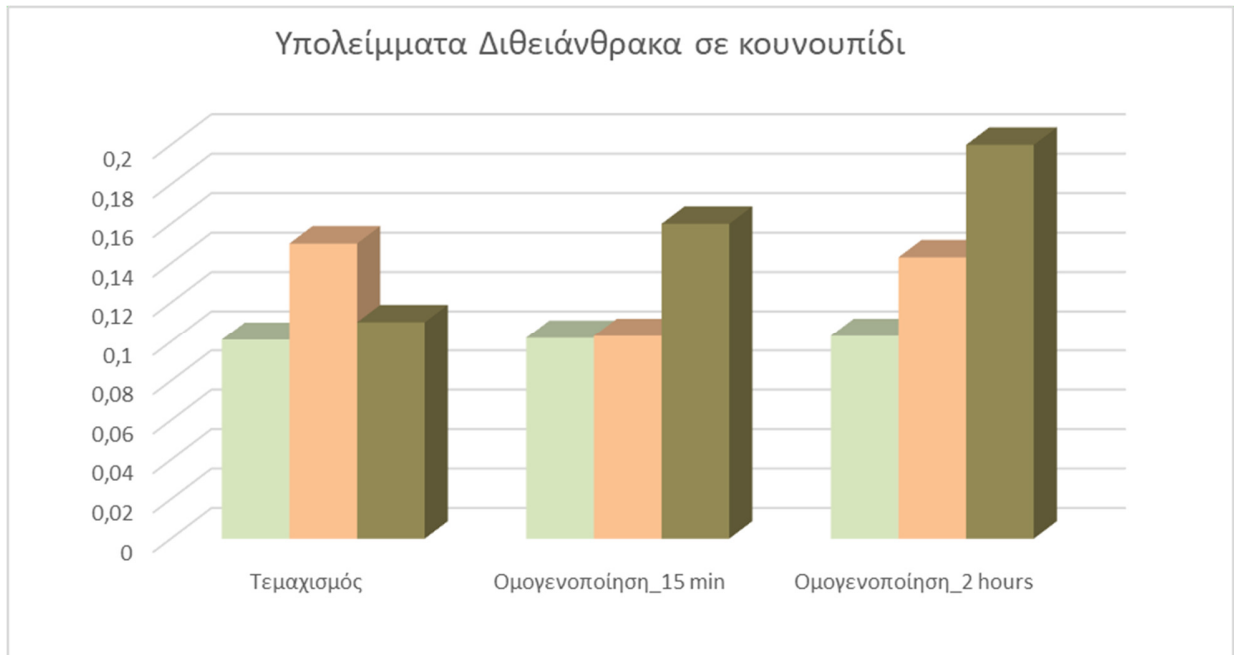
Σχήμα Ζ1. Προσδιορισμός διθειάνθρακα σε mg/kg σε 5 από τα 12 δείγματα βιολογικού μπρόκολου που εμφάνισαν υπολείμματα και στις τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.7.3 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογικό κουνουπίδι

Από το σύνολο των 13 δειγμάτων βιολογικού μπρόκολου που αναλύθηκαν, μόνο σε 3 δείγματα (ποσοστό 23,1 %) προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε όλα αυτά τα δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα.

Πίνακας Η. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικού μπρόκολου που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Κουνουπίδι 1	-	-	-
2	Κουνουπίδι 2	-	-	-
3	Κουνουπίδι 3	-	-	-
4	Κουνουπίδι 4	-	-	-
5	Κουνουπίδι 5	-	-	-
6	Κουνουπίδι 6	0,101	0,102	0,103
7	Κουνουπίδι 7	0,15	0,103	0,143
8	Κουνουπίδι 8	-	-	-
9	Κουνουπίδι 9	-	-	-
10	Κουνουπίδι 10	0,11	0,16	0,20
11	Κουνουπίδι 11	-	-	-
12	Κουνουπίδι 12	-	-	-
13	Κουνουπίδι 13			



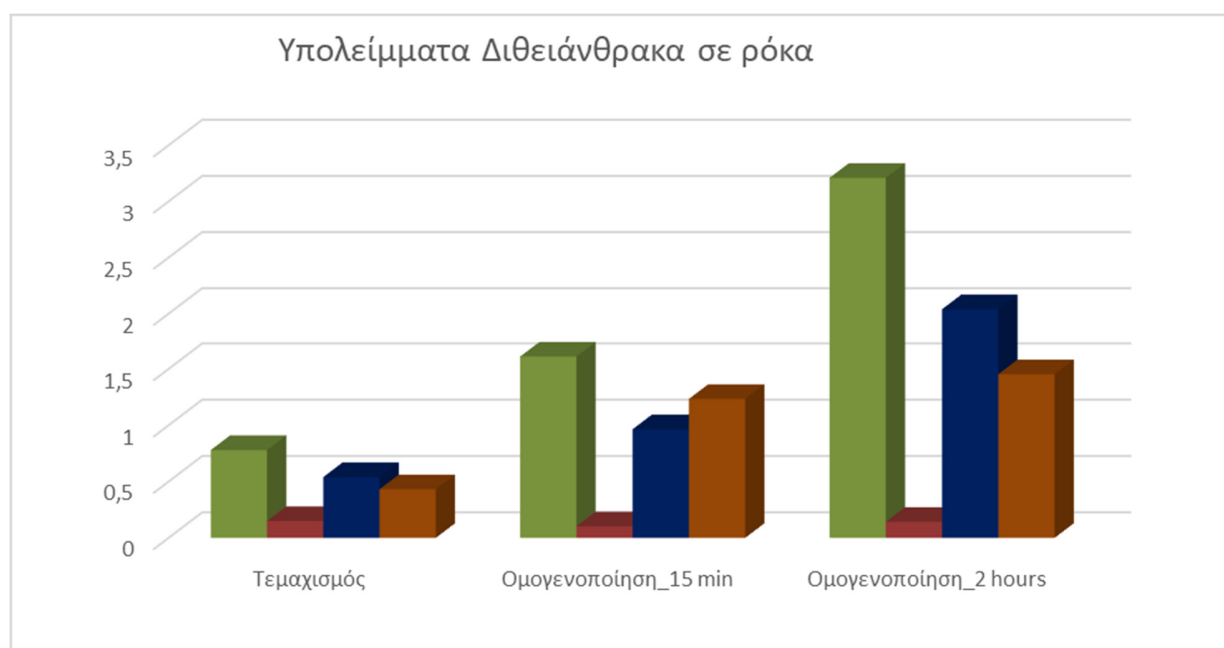
Σχήμα Η1. Προσδιορισμός διθειάνθρακα σε mg/kg σε 3 από τα 13 δείγματα βιολογικού κουνουπιδιού που εμφάνισαν υπολείμματα και στις τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.7.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε βιολογική ρόκα

Από το σύνολο των 5 δειγμάτων βιολογικού μπρόκολου που αναλύθηκαν, σε 4 δείγματα (ποσοστό 80 %) προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα. Σε όλα αυτά τα δείγματα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας τόσο στο πρώτο στάδιο εκχύλισης με τεμαχισμό του δείγματος, όσο και στα δύο επόμενα στα οποία είχε γίνει ομογενοποίηση του δείγματος και είχαμε αναμονή 15 λεπτά και 2 ώρες αντίστοιχα.

Πίνακας Θ. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικής ρόκας που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Ρόκα 1	0,78	1,61	3,21
2	Ρόκα 2	0,35	1,03	1,876
3	Ρόκα 3	-	-	-
4	Ρόκα 4	0,540	0,965	2,04
5	Ρόκα 5	0,432	1,234	1,453



Σχήμα Θ1. Προσδιορισμός διθειάνθρακα σε mg/kg σε 4 από τα 5 δείγματα βιολογικού κουνουπιδιού που εμφάνισαν υπολείμματα και στις τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

4.8 Αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε καρπούς παπάγιας

Στην περίπτωση των καρπών παπάγιας παρατηρήθηκε δυσκολία στη εύρεση τους στις αγορές βιολογικών προϊόντων κατά το χρονικό διάστημα που πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία της παρούσας μελέτης. Τελικά κατέστη δυνατή η εύρεση μόνο 4 δειγμάτων βιολογικής παπάγιας. Τα 2 δείγματα ήταν εγχώριας παραγωγής, από την Κρήτη και το άλλα 2 δείγματα ήταν εισαγωγής από τη Βραζιλία.

Από το σύνολο 4 δειγμάτων βιολογικών καρπών παπάγιας που αναλύθηκαν, μόνο σε 1 δείγμα προσδιορίστηκε διθειάνθρακας κατά το τρίτο στάδιο εκχύλισης (ομογενοποίηση και αναμονή και 2 ώρες).

Πίνακας 3. Αποτελέσματα υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg για τα δείγματα βιολογικών κρεμμυδιών που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

α/α	Είδος δείγματος	Τεμαχισμός (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών (mg/kg)	Ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών (mg/kg)
1	Παπάγια 1	-	-	-
2	Παπάγια 2	-	-	0,578
3	Παπάγια 3	-	-	-
4	Παπάγια 4	-	-	-



Σχήμα ΙΙ. Προσδιορισμός υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε mg/kg σε 1 από τα 4 δείγματα βιολογικών καρπών παπάγιας που αναλύθηκαν και με τρεις μεταχειρίσεις (τεμαχισμός, ομογενοποίηση και αναμονή 15 λεπτών και ομογενοποίηση και αναμονή 2 ωρών).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη στόχος ήταν η διερεύνηση του πιθανού σχηματισμού διθειάνθρακα σε βολβώδη προϊόντα (σκόρδο, κρεμμύδι, πράσο), σε κράμβες (λάχανο, μπρόκολο, κουνουπίδι, ρόκα) και σε καρπούς παπάγια, τα οποία είναι γνωστό ότι περιέχουν θειούχες ενώσεις. Από αναλύσεις υπολειμμάτων σε διάφορα αναλυτικά εργαστήρια έχουν προκύψει ενδείξεις πως κατά την εκτέλεση της αναλυτικής μεθόδου οι ενδογενώς αυτές ευρισκόμενες θειούχες ενώσεις είναι πιθανό να μετατραπούν σε διθειάνθρακα, δίνοντας ψευδώς θετικούς προσδιορισμούς για διεθειάνθρακα τόσο σε βιολογικά όσο και συμβατικά φυτικά προϊόντα.

Κατά την εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας, εφαρμόστηκε μία αναλυτική μέθοδος για τον προσδιορισμό 104 δειγμάτων. Ο προσδιορισμός διθειάνθρακα (CS_2) έγινε με το σύστημα αέριου χρωματογράφου με φλωγομετρικό ανιχνευτή (GC/FPD), όπου η ουσία παρουσίασε σταθερό χρόνο κατακράτησης τόσο στα δείγματα πρότυπης δραστικής ουσίας όσο και στα δείγματα φυτικού ιστού.

Με την πραγματοποίηση του ελέγχου γραμμικότητας (όπου κάθε φορά αναλύονταν μία νέα παρτίδα δειγμάτων), κατασκευάστηκε η καμπύλη βαθμονόμησης με βάση την παραγωγή και ανάλυση προτύπων διαλυμάτων του διεθειάνθρακα σε επτά συγκεντρώσεις. Με βάση τη καταλληλότητα της καμπύλης (δηλαδή αν ο συντελεστής ήταν μεγαλύτερος από 0,98 κάτι που συνέβη) όπου ήταν 0,99, η γραμμικότητα κρίθηκε αποδεκτή όλες τις ημέρες χρωματογραφικής ανάλυσης και χρησιμοποιήσαμε την εξίσωση της ευθείας για να υπολογίσουμε τη συγκέντρωση του διθειάνθρακα στα υπό εξέταση δείγματα.

Τα αποτελέσματα προσδιορισμού υπολειμμάτων στα βολβώδη λαχανικά (όπου συνολικά εξετάστηκαν 40 δείγματα), η πλειοψηφία έδειξαν ότι τα υπολείμματα CS_2 ήταν κάτω από το LOQ (0,1 mg/kg). Όσον αφορά τα κρεμμύδια, το 20% των δειγμάτων που αναλύθηκαν έδειξαν υπολείμματα διθειάνθρακα (μέγιστο 0,47 mg/kg) μετά από ομογενοποίηση και ανάλυση μετά από 2 ώρες. Το ανώτατο όριο υπολειμμάτων διθειάνθρακα σε κρεμμύδια είναι 1 mg/kg (Κανον.171/2017).

Στη περίπτωση του σκόρδου, από τα 10 δείγματα μόνο 1 δείγμα έδειξε διαφοροποίηση μεταξύ των τριών μεθόδων παρασκευής δείγματος, που σημαίνει από 0,15 mg/kg στη κοπή, σε 0,21 mg/kg μετά την ομογενοποίηση και ανάλυση των 15' και σε 0,35 mg/kg μετά την αναμονή 2 ωρών. Το ανώτατο όριο υπολειμμάτων για διθειάνθρακα στο σκόρδο είναι 0,6 mg/kg.

Τέλος, στα πράσα από τα 10 δείγματα έδειξαν 6 δείγματα υπολείμματα διθειάνθρακα απο τα οποία τα 4 έδειξαν και στα τρία στάδια Παρασκευής, το 1 στο δεύτερο και στο τρίτο στάδιο και 1 στο τρίτο μόνο.

Όσον αφορά τα κραμβοειδή, η πλειοψηφία των δειγμάτων έδωσε μετρήσιμες συγκεντρώσεις CS₂ σε όλες τις επεξεργασίες με σημαντική διακύμανση στα καθορισμένα επίπεδα με και χωρίς ομογενοποίηση.

Στα λάχανα από το σύνολο 30 δειγμάτων, το 66,67% προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα ενώ το 20% των δειγμάτων προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα τόσο στο πρώτο όσο και στα δυο επόμενα στάδια εκχύλισης.

Στα μπρόκολα από τα 12 δείγματα προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα σε δείγματα δηλαδή 41,7% και στα τρία στάδια εκχύλισης.

Στην συνέχεια, το κουνουπίδι από τα 13 δείγματα, μόνο 3 δείγματα προσδιορίστηκαν υπολείμματα διθειάνθρακα δηλαδή 23,1% ενώ στη ρόκα από τα 5 δείγματα τα 4 δηλαδή το 80%.

Τέλος, το αποτέλεσμα προσδιορισμού της παπάγιας από τα 4 δείγματα, μόνο 1 δείγμα έδειξε και μόνο στο τελευταίο στάδιο εκχύλισης.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας μας δείχνουν ότι κυρίως στην περίπτωση των βιολογικών κραμβών παρατηρείται μία τάση ανίχνευσης υπολειμμάτων διθειάνθρακα τα οποία παράγονται από φυσικές ενώσεις και είναι πιθανό να προσδιοριστούν έπειτα από την ανάλυση των συγκεκριμένων προϊόντων. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί και σε καρπούς τομάτας στην Ουγκάντα (Atuhaire, 2017) και σε βερίκοκα στην Τουρκία (Sinan Arslan, 2019).

Ωστόσο, η συμμόρφωση με τα ισχύοντα MRL υποστηρίχθηκε σε όλες τις περιπτώσεις των φυτικών υποστρωμάτων.

Η εκχύλιση του διθειάνθρακα από ισοοκτάνιο που ακολουθείται από άμεση ανάλυση GC, είναι μία 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.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 Ξένη βιβλιογραφία

Aggrey Atuhaire, Emmanuel Kaye, Innocent Louis Mutambuze, Graham Matthews, Theodor Friedrich and Erik Jors. (2017). Assessment of Dithiocarbamate Residues on Tomatoes Conventionally Grown in Uganda and the Effect of Simple Washing to Reduce Exposure Risk to Consumers. *Environmental Health Insights*. Volume 11: 1–8.

Arslan Sinan, Ilkem Demirkesen Merta, Sema Yiğitkaya, Ozlem Dagaşan, Feridun Nihat Sakall and Selma Oztürk. (2019). The false positive effect of residue of sulphur sources on dithiocarbamate analysis based on CS₂ measurement. *FOOD ADDITIVES & CONTAMINANTS: PART A. VOL. 36, NO. 1, 131–140.* <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1562235>.

Basset and Lamarre (2019), Challenges and ways forward in pesticide emission and toxicity characterization modeling for tropical conditions.

Belitz H.D., Grosch W. & Schieberle P. (2006). Χημεία Τροφίμων, 3η έκδοση, pp775- 789, Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη.

Canto, T., Aranda, M.A., Fereres, A., 2009. Climate change effects on physiology and population processes of hosts and vectors that influence the spread of hemipteran-borne plant viruses. *Glob. Chang. Biol.* 15 (8), 1884–1894. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01820.x>.

Coldwell M.R., Pengelly I. & Rimmer D.A. (2003). Determination of dithiocarbamate pesticides in occupational hygiene sampling devices using the isooctane method and comparison with an automatic thermal desorption (ATD) method. *Journal of Chromatography*.

Crnogorac G. & Schwack W. (2009) Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *Trends in Analytical Chemistry*.

Fishel, F. (1997). *Pesticides and the Environment*. Agricultural MU Guide, Extension G7520, Department of Agronomy, University of Missouri-Columbia.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 2017.

Green M.B. (1999), Φυτοφάρμακα: Ευλογία ή Κατάρα; Σύλλογος προς διάδοσιν ωφέλιμων βιβλίων, Αθήνα.

Goulson, D., 2019. The insect apocalypse, and why it matters. *Curr. Biol.* 29 (19), R967–R971. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.06.069>.

Heeb, L., Jenner, E., Cock, M.J.W., 2019. Climate-smart pest management: building resilience of farms and landscapes to changing pest threats. *J. Pest. Sci.* 92 (3), 951–969. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01083-y>.

Larsen, A.E., Patton, M., Martin, E.A., 2019. High highs and low lows: elucidating striking seasonal variability in pesticide use and its environmental implications. *Sci. Total Environ.* 651, 828–837. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.206>.

Lewis, S.M., Wong, C.H., Owens, A.C.S., Fallon, C., Jepsen, S., Thancharoen, A., et al., 2020. A global perspective on firefly extinction threats. *BioScience* 70 (2), 157–167. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz157>.

Pu, J., Wang, Z., Chung, H., 2020. Climate change and the genetics of insecticide resistance. *Pest Manag. Sci.* 76 (3), 846–852. <https://doi.org/10.1002/ps.5700>.

Schwedt G. (1996). Εγχειρίδιο των φυσικών και χημικών μεθόδων ανάλυσης. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισσιανός Γ. & Παρισσιανού Μ., Αθήνα.

Torres C.M, Picó Y. & Mafies J. (1996) Determination of pesticide residue in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography*.

Sahar Zayan (ARC), (2019). IFPRI Egypt - WB “Innovations for Agricultural Development in Egypt.

Salih, A.A.M., Baraibar, M., Mwangi, K.K., Artan, G., 2020. Climate change and locust outbreak in East Africa. *Nat. Clim. Chang.* 10 (7), 584–585. <https://doi.org/10.1038/s41558-020-0835-8>.

Sánchez-Bayo, F., Wyckhuys, K.A.G., 2019. Worldwide decline of the entomofauna: a review of its drivers. *Biol. Conserv.* 232, 8–27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>.

Wagner, D.L., 2020. Insect declines in the anthropocene. *Annu. Rev. Entomol.* 65, 457–480. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025151>.

Whorton D, et al. (1979). Testicular function in DBCP exposed pesticide workers.

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

Ζιώγας, Β. και Μαρκόγλου, Α. (2007). Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί δράσης και Χρήσεις Φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Ελληνικής Έκδοσης 2007, Ζιώγας, Β. και Μαρκόγλου, Α.

6.3 Διαδικτυακές πηγές

<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/products/?event=details&p=154>

<https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>

7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Πίνακας Δ1: Καταγραφή διαδικασίας δειγμάτων

ΔΕΙΓΜΑ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΚΑΝ	15 ΛΕΠΤΩ N	2 ΩΡΩΝ
Κρεμμύδια ξερά Βοιωτίας	28/05/19-04/06/19- 04/06/19	K1	+	+	+
Κρεμμύδια Βοιωτίας	28/05/19	K2	+	+	+
Σκόρδα Κίνας					
Σκόρδα Ημαθίας	30/05/19	Σκορδο Ημαθιας	+	+	
Κρεμμύδια ξερά Ευβοίας	30/05/19-24/06/19- 24/06/19	Κρεμ. Ευβοιας	+	+	+
Κρεμμύδια ξερά Φθιώτιδας	02/07/19-01/07/19- 01/07/19	K3	+	+	+
Σκόρδο ξερό Έβρου	2/7/2019-17/07/19- 17/07/19	A1	+	+	+
Πράσο Εύβοιας	05/07/19-05/07/19- 05/07/19	Π1	+	+	+
Παπάγια Βραζιλίας	02/07/19-03/07/19- 03/07/19	B1	+	+	+
Παπάγια Βραζιλίας	15/07/19-17/07/19- 17/07/19	B2	+	+	+
Κρεμμύδι χλωρό Λάρισας	10/07/19-17/07/19- 17/07/19	K4	+	+	+
Κρεμμ. ξερά κόκκινα Λακωνια	22/07/19-25/07/19- 25/07/19	K5	+	+	+
Κρεμμύδια στιφάδο αχαΐας	22/07/19-29/07/19- 29/07/19	κ6	+	+	+
Σκόρδα Έβρου	24/07/19-29/07/19	ΣΚ2	+	+	- (μουχλα)
Κρεμμ. Ξερά ξανθά Βοιωτίας	24/07/19-29/07/19- 29/07/19	K7	+	+	+

Κρεμμύδια ξανθά Βοιωτίας	30/07/19-30/07/19- 30/07/19	κ8	+	+	+
Κρεμμ.ξερα κόκκινα Λακωνίας	30/07/19-30/07/19- 30/07/19	κ9	+	+	+
Σκόρδα Ημαθίας	06/08/19-06/08/19- 06/08/19	σκ3	+	+	+
Παπάγια Κρήτης	06/08/19-06/08/19- 06/08/19	β3	+	+	+
Κρεμμυδάκια Ευβοίας	08/08/19-19/08/19	κ10	+	+	-
Κρεμ. ξερα κοκ. Λακωνίας	08/08/19-09/08/19- 09/08/19	κ11	+	+	+
Σκόρδα Λάρισας	16/10/19-18/10/19- 18/10/19	σκ7	+	+	+
Παπάγια Κρήτης	27/09/19-27/09/10-	β4	+	+	καταψυξ η
Σκόρδα Έβρου	26/09/19-26/09/19- 26/09/19	σκ6	+	+	+
Πράσσο Ολλανδίας	26/09/19-26/09/19- 27/09/19	π3	+	+	+
Πράσσο Αργολίδας	22/10/19-22/10/19- 23/10/19	π4	+	+	+
Σκόρδο Ημαθίας	23/10/19	σκ8	+	+	+
Παπάγια Κρήτης	04/11/19-06/11/19- 08/11/19	β5	+	+	+
Σκόρδο Έβρου	06/11/19-08/11/19- 04/12/19	σκΑ	+	+	+
Πράσσο Ρέθυμνο	15/11/19-18/11/19- 18/11/19	π5	+	+	+
Σκόρδο Έβρου	18/11/19	Σκβ	+	+	+
Σκόρδο Λάρισας	18/11/19	Σκγ	+	+	+

Πίνακας Δ2: Καταγραφή διαδικασίας δειγμάτων

ΔΕΙΓΜΑ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΚΑΝ.	15 ΛΕΠΤΩΝ	2 ΩΡΩ N
Ρόκα Ιταλίας	24/6/2019	Γ0001	-	-	+
Μπρόκολο Αργολίδας	07/03/2019	Γ0002	+	+	+
Λάχανο κόκκινο Κρήτης	07/05/2019	Γ0003	+	+	+
Λάχανο Πορτογαλίας	15/7/2019	Γ0004	+	+	+
Λάχανο Ευβοίας	22/7/2019	Γ0005	+	+	+
Λάχανο κόκκινο Ρεθύμνου	22/7/2019	Γ0006	+	+	+
Ρόκα Ιταλίας	30/7/2019	Γ0007	+	+	+
Μπρόκολο Κορινθίας	08/06/2019	Γ0008	+	+	+
Λάχανο κόκκινο Ρεθύμνου	08/07/2019	Γ0009	+	+	+
Λάχανο Αρκαδίας	08/07/2019	Γ0010	+	+	+
Λάχανο Κρήτης	21/8/2019	Γ0011	+	+	+
Μπρόκολο Αρκαδίας	09/09/2019	Γ0012	+	+	+
Λάχανο Κοζάνης	18/9/2019	Γ0013	+	-	-

Μπρόκολο Αρκαδίας	18/9/2019	Γ0014	+	-	-
Λάχανο κόκκινο Αργολίδας	26/9/2019	Γ0015	+	+	+
Ρόκα Αρκαδίας	26/9/2019	Γ0016	+	-	+
Λάχανο Αργολίδας	27/9/2019	Γ0017	+	+kata	+ κατα
Ρόκα	14/10/2019	Γ0018	+	+	+
Μπρόκολο Λάρισα	16/10/2019	Γ0019	+	+	+
Λάχανο κόκκινο Ευβοίας	31/10/19	Γ0020	+	+	+
Μπρόκολο λάρισα	01/11/19	Γ0021	+	+	+
Μπρόκολο αργολίδας	04/11/19-04/11/19- 08/11/19	Γ0022	+	+	+
Μπρόκολο Βοιωτίας	15/11/19-19/11/19- 22/11/19	Γ0023	+	+	+
Λάχανο Αργολίδας	15/11/19-19/11/19- 22/11/19	Γ0024	+	+	+
Λάχανο Καστοριάς	15/11/19-19/11/19- 19/11/19	Γ0025	+	+	+
Λάχανο Τρικήλων	25/11/19	Γ0026	+	+	+
Λάχανο Τρικήλων	25/11/19	Γ0027	+	+	+

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

(Παρουσίαση στο 13th European Pesticide Residues Workshop)

Determination of Carbon Disulphide (CS₂) residues in organic brassica and bulb vegetables

Polyxeni Manella¹, Kossiaras Gerassimos¹, Eleftheria Bempelou² and Konstantinos Liapis²

¹ School of Agricultural Sciences, University of Patras, Department of Agriculture, Terma Theodoropoulou, 27200 Amaliada (Ilia), Greece.

² Laboratory of Pesticide Residues, Benaki Phytopathological Institute, 8 St. Delta str., GR 145 61 Kifissia, Greece.

Introduction

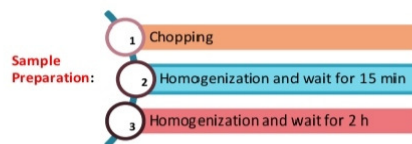
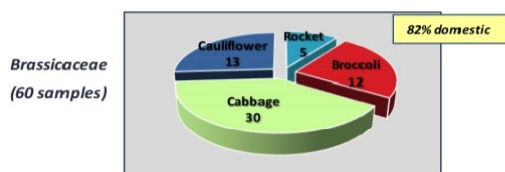
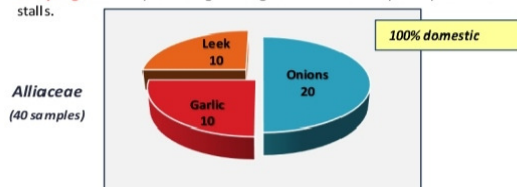
Dithiocarbamate fungicides are pesticides extensively used worldwide on a wide range of crops in agricultural practice, mainly due to their low acute toxicity combined with strong action, low cost production and low environmental persistence. The determination of dithiocarbamate residues is based on the detection of their common degradation product, which is carbon disulfide (CS₂).

Project objective

There are some agricultural products, such as brassica and bulb vegetables in which CS₂ may be produced from natural occurring compounds resulting in its false positive detection.

Materials and Methods

Sampling: 100 samples of organic vegetables were sampled by retail market by random selection from different clusters displayed on vendors' stalls.



Extraction:

50 g of organic produced sample (homogenized or not) was taken for analysis into a deavage vessel and 25mL isoootane was added.

150 mL of the hydrolysis reagent tin (II)-chloride in hydrochloric acid was added and the vessel was immediately closed with a screwcap with septum.

Samples were put into a shaking water bath for 2 hours at 80°C.

The reaction mixture was cooled down and 1 mL of the isoootane-phase was pipetted into a vial for analysis with GC/FPD.

Results



In the majority of the organic bulb (onions, garlic and leek) vegetables analysed, CS₂ residues were below LOQ (0.01 mg/kg).

Regarding onions, 20% of the samples analysed showed determined residues (max 0.47 mg/kg) after homogenization and analysis after 2 h. The Maximum Residue Limit for dithiocarbamates in onions is 1 mg/kg (Reg 171/2017).

In the case of garlic, only one sample showed a differentiation between the three sample preparation techniques, meaning from 0.15 mg/kg in chopping, to 0.21 mg/kg after homogenization and analysis after 15 min and to 0.35 mg/kg after waiting of 2 h. The Maximum Residue Limit for dithiocarbamates in garlic is 0.6 mg/kg (Reg 171/2017).

Commodity	MRL (mg/kg) Reg 2017/171	n	CS ₂ (mg/kg)		
			Chopping	Homogenization	
				15'	2 h
Leek	3	10	0.12 ± 0.3	0.31 ± 0.02	0.42 ± 0.4

The majority of organic brassica samples gave measurable concentrations of CS₂ in all treatments with a significant variation in the determined levels with and without homogenization. However, compliance with the in force MRLs was supported in all cases.

Commodity	MRL (mg/kg) Reg 2017/171	n	CS ₂ (mg/kg)		
			Chopping	Homogenization	
				15'	2 h
Cabbage	3	30	0.22 ± 0.04	0.72 ± 0.07	1.33 ± 0.12
Cauliflower	1	13	0.07 ± 0.3	0.06 ± 0.04	0.08 ± 0.06
Broccoli	1	12	0.24 ± 0.04	0.33 ± 0.34	0.47 ± 0.1
Rocket/ rucola/ arugula	5	5	0.78 ± 0.06	1.61 ± 0.2	3.21 ± 0.16

Conclusions

Our preliminary results show that mainly in brassica vegetables, residual carbon disulfide produced from natural occurring compounds may be determined after the analysis of those specific commodities. Additional data should be obtained in order to propose a max concentration of CS₂, a fact that has to be taken into account during the evaluation of products for dithiocarbamates and the setting of Maximum Residues Limits and especially during the monitoring of dithiocarbamate residues in organic vegetables of the respective categories.