ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ: ΚΑΘ. Κ. ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ Μ. ΤΣΑΤΣΑΚΗΣ
ΜΟΝΑΔΑ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ & ΕΓΚΛΗΜΑΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Επιδημιολογική διερεύνηση περιβαλλοντικής υποβάθμισης και επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από τη χρόνια και εντατική χρήση φυτοφαρμάκων.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΟΚΚΙΝΑΚΗ Ν. ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2019

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΤΣΑΤΣΑΚΗΣ ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)
ΤΖΑΝΑΚΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΖΑΦΕΙΡΟΠΟΥΛΟΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΧΩΡΟΥ

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΟΥΤΣΟΛΕΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΣΑΤΣΑΚΗΣ ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΝΙΚΙΤΟΒΙΤΣ ΤΖΑΝΑΚΑΚΗ DRAGANA ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΖΑΝΑΚΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΡΙΖΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ
ΧΛΟΥΒΕΡΑΚΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ
ΖΑΦΕΙΡΟΠΟΥΛΟΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΟΥ ΧΩΡΟΥ

Στον αδελφό μου

Πρόλογος

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Αριστείδη Τσατσάκη Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιατροδικαστικών Επιστημών της Μονάδας Τοξικολογίας & Εγκληματικής Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης για την πολύτιμη βοήθεια του σε όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της διατριβής μου.

Ιδιαίτερα επίσης ευχαριστώ τον κ. Τζατζαράκη Μανώλη Επίκουρο Καθηγητή Τοξικολογίας και τον αδελφό μου κ. Κοκκινάκη Μανώλη Καθηγητή του ΤΕΙ Κρήτης για την συνεισφορά τους και τις πολύτιμες επιστημονικές τους συμβουλές σε όλη τη διάρκεια της διατριβής μου.

Ευχαριστώ όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Τοξικολογίας για την συνεργασία του και ειδικά τον κ. Ματθαίο Καββαλάκη.

Ευχαριστώ όλα τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής μου επιτροπής για την πρόθυμη συμμετοχή τους στην κρίση της διδακτορικής μου διατριβής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου που στάθηκε δίπλα μου από την αρχή στηρίζοντας την προσπάθεια μου.

The present study was designed to investigate the degree of environmental deterioration through the detection of pesticides residues in agricultural products and biological samples (human hair and urine), in order to explain the negative effects on human health by chronic and widespread use of pesticides in the primary agricultural sector, especially in the area of Ierapetra. The increase in health problems and in particular the increasing trend in several types of cancer in the region and in other European countries that follow intensive agricultural practices show an urgent need to investigate the deterioration in public health.
This study tries to answers questions such as: the degree of contamination of human population affected by the chronic and intensive use of pesticides (by detecting organophosphate metabolites in biological samples, hair and urine) and the consumption of agricultural products (by detecting common pesticides used in agriculture). Also, the possible correlation between the detected levels in biological samples of hair and urine was examined.

The main steps of this thesis was a)the detection of non-specific metabolites of organophosphorus pesticides in hair and urine samples of rural and professionally exposed population of Crete and b) the investigation of residual levels of pesticides in fresh agricultural products. The results were analyzed and a total assessment of the hazard exposure, on the population of Crete and especially in the area of Ierapetra, was estimated. The detection of pesticides in agricultural products was focused mainly on plant protection substances that are widely used in the area.

For the implementation of this study, hair and urine samples of sprayers and residents of Ierapetra were collected. The sprayers involved in this study were employed in greenhouse cultivations but they also involved themselves in sprays throughout the year (n=34). The residents of the area of Ierapetra were people who lived in the area, but not involved in agricultural activities (n=86). Because of the high rate of organophosphates pesticides in the area of Ierapetra, the samples that were collected, were analyzed by the technique of gas chromatography – mass spectrometry for the detection of non-specific metabolites of organophosphates (dialkylofosfines, dialkylphosphates DAPs). For the isolation of analytes from biological samples of hair, the technique of solid-liquid extraction with methanol in an ultrasonic bath was followed, while for the isolation of analytes from biological samples of urine the

technique of liquid-liquid extraction with a mixture of diethylether:acetonitrile was followed. The combined organic solvent from each sample was collected and evaporated to dryness under a nitrogen blander after added 15mg K2CO3. The resulting precipitate was followed by the derivatization procedure with 2, 3,4,5,6 pentafluorobenzyl bromide (PFBBr). To control methods for both hair and urine samples various analytical parameters were calculated and found satisfactory.

Differences were observed between the detected concentration of metabolites and the percentages of positive samples for both hair and urine samples between the two studies groups (sprayers and residents of the rural area of Ierapetra).

As far as it concerns the results of the detected levels of non-specific organophosphates pesticides differences were observed between the samples of sprayers and the residents of the rural area of Ierapetra. Statistically significant difference was observed for the metabolite DMP ($p<0,001$) and DETP ($p=0,007$). This could be the result of the extensive past use of application of plant protection substances of sprayers. The levels of metabolites DEP & DEDTP were higher for the sprayers than that of the residents of the area but the differences were not statistically significant ($p>0, 05$). The frequency of detection for the metabolites DMP, DEP and DETP was quite high for both sprayers (91-100%) and the residents (93-100%). In contrast, the frequency of detection for DEDTP was lower for both studies groups. For all the detected metabolites, hair samples of sprayers gave significantly higher levels than that of the residents ($p<0,001$).

Mean detected concentration of DAPs metabolites of urine samples of sprayers were higher than that of the residents ($p<0,001$). A statistically significant difference was observed between the two studied groups for DEP ($p=0,005$) and DETP ($p=0,001$). The difference between the 2 groups for DMP & DEDTP was not statistically significant ($p=0,244$ & $p=0,193$ respectively). The major difference shown in the first dialkylfosfines in urine samples of sprayers can be attributed to the fact that the urine of the participants were taken during spraying period. These facts makes them more exposed at that time. This is confirmed by the analysis of the urine. The detection rates of positive samples ranged from 90% to 100% for sprayers while for the residents ranged from 83% to 100%.

Furthermore, representative samples of fresh agricultural products grown in the area of Ierapetra were collected in order to analyze for the determination of residual quantities of pesticides. Specifically, 45 tomatoes, 50 cucumbers, 60 peppers and 45

aubergines were collected and analyzed. For extraction, the samples followed the QuEChERs method. The analysis was obtained by the technique of gas chromatography – mass spectrometry GC-MS. None of the samples analyzed exceeded the maximum residue levels (MRLs). Pesticide detection ranged from 11.1% (Carbendazim και Benomyl) to 22.2% (Oxamyl και Oxamyl-Oxine) for tomatoes, from 6% (Tolyfluanid) to 24.0% (Spinosad A + D) for cucumbers, from 3.3% (Endosulfan a, Endosulfan b, Endosulfan sulfate) to 18.3% (Thiacloprid) for peppers and from 8.9% (Cyprodinil και Thiacloprid) to 24.4% (Carbendazim και Benomyl) for aubergines.

In summary, the management and control of the application of plant protection substances is a necessary step by the actors as well as the producers. The biomonitoring of sprayers, residents and consumers in general is a useful tool for estimating the cost of using such products. The compliance with regulations is necessary as well as with the basic safety standards but is not enough. Information and awareness of all inputs is necessary and required by today's society through control, specialization and continuing education of those involved in agriculture.

Περιεχόμενα

Πρόλογος 4
Περιεχόμενα 9
Περίληψη 11
Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 15
1. Εισαγωγή 16
1.1. Φυτοφάρμακα 17
1.1.1. Κατηγοριοποίηση φυτοφαρμάκων 18
1.1.1.α. Οργανοχλωριομένοι υδρογονάνθρακες 19
1.1.1.β. Οργανοφωσφορικά 23
1.1.1.γ. Καρβαμιδικά 27
1.1.1.δ. Πυρεθροεϊδή 28
1.1.1.ε. Νεονικοτινοειδή 31
1.1.2. Χρησιμότητα φυτοφαρμάκων 33
1.1.3. Επιδράσεις στο περιβάλλον 34
1.1.3.α. Εκτίμηση επιβάρυνσης περιβάλλοντος 35
1.1.4. Συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου 35
1.1.4.α. Αξιολόγηση κινδύνου για τον άνθρωπο 39
1.1.5. Τυπικές οδηγίες, μέτρα φύλαξης και προστασίας 41
1.1.5.α. Τυπικές οδηγίες καλής χρήσης φυτοφαρμάκων 41
1.1.5.β. Τυπικά μέτρα φύλαξης κατά τη χρήση φυτοφαρμάκων 42
1.1.5.γ. Τυπικά μέτρα για τη προστασία του καταναλωτή αγροτικών προϊόντων 43
1.1.6. Βιολογική γεωργία 44
1.2. Η ανάλυση της ανθρώπινης τρίχας 45
1.2.1. Ανατομία και φυσιολογία της ανθρώπινης τρίχας 46
1.2.2. Χημική σύσταση των τριχών 48
1.2.3. Το θυλάκιο της τρίχας 48
1.2.4. Κύκλος και ρυθμός ανάπτυξης της τρίχας 49
Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 52
2. Εισαγωγή 53
2.1. Σκοπός και σπουδαιότητα της παρούσας μελέτης 54

ΜΕΛΕΤΗ Ι: Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα τριχών αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης. 56
Ι.α. Δειγματοληψία τριχών 56
Ι.β. Αντιδραστήρια 57
Ι.γ. Εκχύλιση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από τις τρίχες 57
Ι.γ.i. Πρότυπα διαλύματα 57
Ι.γ.ii.Φορτισμένα δείγματα 57
Ι.γ.iii.Εκχύλιση τριχών 58
Ι.γ.iv.Παραγωγοποίηση 58
Ι.δ. Ανάλυση με GC-MS 59
Ι.ε. Αναλυτικοί παράμετροι αξιολόγησης της εφαρμοζόμενης μεθόδου 62
Ι.στ. Αποτελέσματα 64
Ι.ζ. Συζήτηση 65
ΜΕΛΕΤΗ ΙΙ: Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα ούρων αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης. 67
ΙΙ.α. Δειγματοληψία ούρων 67
ΙΙ.β. Εκχύλιση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από τα ούρα 67
ΙΙ.β.i. Πρότυπα διαλύματα 67
ΙΙ.β.ii. Φορτισμένα δείγματα 67
ΙΙ.β.iii.Εκχύλιση ούρων 68
ΙΙ.β.iv.Παραγωγοποίηση 68
ΙΙ.γ. Αναλυτικοί παράμετροι αξιολόγησης της εφαρμοζόμενης μεθόδου 71
ΙΙ.δ. Αποτελέσματα και συζήτηση 72
ΜΕΛΕΤΗ ΙΙΙ: Ανίχνευση φυτοφαρμάκων σε νωπά αγροτικά προϊόντα παραγωγών της Κρήτης. 76
ΙΙΙ.α. Δειγματοληψία αγροτικών προϊόντων 76
ΙΙΙ.β. Αντιδραστήρια 77
ΙΙΙ.γ. Εκχύλιση φυτοφαρμάκων από τα δείγματα αγροτικών προϊόντων 77
ΙΙΙ.γ.i. Πρότυπα διαλύματα 77
ΙΙΙ.γ.ii. Φορτισμένα δείγματα 78
ΙΙΙ.γ.iii.Εκχύλιση δειγμάτων 78
ΙΙΙ.δ. Ανάλυση με GC-MS 79

ΙΙΙ.ε. Αποτελέσματα 80
ΙΙΙ.στ. Συζήτηση 87
Γενικά συμπεράσματα 88
Βιβλιογραφία 97
Παράρτημα 104
Π1. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ 105
Π2. ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ.....106
Π3. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ 108
Π4. ΕΝΤΥΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ…….111
Π5. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ 112

Περίληψη

Η παρούσα διατριβή είχε ως σκοπό τη διερεύνηση του βαθμού επιβάρυνσης του περιβάλλοντος μέσω της ανίχνευσης υπολειμματικών ποσοτήτων φυτοφαρμάκων σε αγροτικά προϊόντα και των επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία (συσσώρευση φυτοφαρμάκων στον ανθρώπινο οργανισμό), από τη χρόνια και ευρεία χρήση φυτοφαρμάκων στον πρωτογενή αγροτικό τομέα (εντατικές θερμοκηπιακές καλλιέργειες) και ειδικά στην περιοχή της Ιεράπετρας.

Η αύξηση των προβλημάτων υγείας και ειδικότερα η αυξητική τάση εμφάνισης διαφόρων ειδών καρκίνου στην περιοχή καθώς και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες που εφαρμόζουν εντατικές θερμοκηπιακές καλλιέργειες ή χρησιμοποιούν φυτοφάρμακα, καθιστούν επιτακτική την ανάγκη διερεύνησης της υποβάθμισης της Δημόσιας Υγείας στην ευρύτερη περιοχή της Ιεράπετρας.

Η συγκεκριμένη εργασία προσπαθεί να απαντήσει σε διάφορα ερωτήματα όπως: βαθμός επιμόλυνσης παραγομένων γεωργικών προϊόντων, επιβάρυνση της ανθρώπινης υγείας από την χρόνια και εντατική χρήση των φυτοφαρμάκων μέσω της ανίχνευσης μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε βιολογικά δείγματα (τρίχα και ούρα). Επίσης έγινε διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ των ανιχνευόμενων επιπέδων στα βιολογικά δείγματα των ούρων και της τρίχας.

Τα βασικά στάδια της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η ανίχνευση των μη-ειδικών μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα τριχών και ούρων αγροτικού και επαγγελματικά εκτεθειμένου πληθυσμού της Κρήτης και η διερεύνηση υπολειμματικών επιπέδων φυτοφαρμάκων σε νωπά αγροτικά προϊόντα παραγωγών της Κρήτης. Από τις παραπάνω επιμέρους μελέτες τα αποτελέσματα συγκεντρώθηκαν και αφού μελετήθηκαν μεμονωμένα, πραγματοποιήθηκε συνολική εκτίμηση της επιβάρυνσης του πληθυσμού της Κρήτης και ειδικότερα της Ιεράπετρας, ο οποίος αποτελεί ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα συνδυασμού εκτεθειμένων λόγω είτε επαγγελματικής χρήσης είτε λόγω εγγύτητας της οικίας τους σε αγροτικές εγκαταστάσεις. Η ανίχνευση των φυτοφαρμάκων στα νωπά αγροτικά προϊόντα επικεντρώθηκε κυρίως στις φυτοπροστατευτικές ουσίες οι οποίες βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στις καλλιέργιες της περιοχής.

Για την υλοποίηση της μελέτης αρχικά συλλέχθησαν δείγματα τριχών και ούρων από ψεκαστές αλλά και κατοίκους της ευρύτερης περιοχής της Ιεράπετρας. Οι

ψεκαστές της Ιεράπετρας που συμμετείχαν στη μελέτη, ήταν εργαζόμενοι σε θερμοκηπιακές καλλιέργιες αλλά ταυτόχρονα συμμετείχαν οι ίδιοι και σε ψεκασμούς κατά την διάρκεια του έτους (n=34). Οι κάτοικοι της ευρύτερης περιοχής της Ιεράπετρας ήταν κάτοικοι που διέμεναν στην περιοχή, χωρίς όμως να εμπλέκονται στις αγροτικές δραστηριότητες τόσο της καλλιέργιας όσο και της εφαρμογής φυτοφαρμάκων (n=86). Λόγω του μεγάλου ποσοστού εφαρμογής οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στην περιοχή της Ιεράπετρας (κυρίως θερμοκηπιακές καλλιέργιες οπωροκηπευτικών), τα δείγματα που συλλέχθησαν αναλύθηκαν με τεχνική της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας για την ανίχνευση των μη ειδικών μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών (διαλκυλοοφωσφίνες, dialkylphosphates, DAPs). Για την απομόνωση των αναλυόμενων ουσιών από τα βιολογικά δείγματα της τρίχας, ακολουθήθηκε στερεή-υγρή εκχύλιση με μεθανόλη σε λουτρό υπερήχων, ενώ από τα βιολογικά δείγματα των ούρων υγρή-υγρή εκχύλιση με μίγμα διαιθυλαιθέρα:ακετονιτριλίου. Το σύνολο των οργανικών διαλυτών που συλλέχθηκε από κάθε δείγμα εξατμίστηκε έως ξηρού υπό στρώμα αζώτου αφού πρώτα προστέθηκαν 15mg K_2CO_3, και το ίζημα που προέκυψε ακολούθησε τη διαδικασία παραγωγοποίησης με 2,3,4,5,6-pentafluorobenzylbromide (PFBBr). Για τον έλεγχο των μεθόδων που εφαρμόστηκαν τόσο για τα δείγματα των τριχών όσο και των ούρων, διάφοροι αναλυτικοί παράμετροι υπολογίστηκαν (γραμμικότητα, ανάκτηση, ακρίβεια, πιστότητα, όρια ανίχνευσης, όρια ποσοτικοποίησης) και βρέθηκαν ικανοποιητικοί.

Στα επίπεδα των DAPs που μετρήθηκαν, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ανιχνευομένων συγκεντρώσεων των μεταβολιτών αλλά και των ποσοστών των θετικών δειγμάτων τόσο για τα δείγματα των ούρων όσο και τα δείγματα των τριχών μεταξύ των δύο μελετούμενων ομάδων (ψεκαστών και των κατοίκων της αγροτικής περιοχής-ΚΑΠ).

Σχετικά με τα ανιχνευόμενα επίπεδα των μη ειδικών μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων (DMP, DEP, DETP, DEDTP), παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που προέρχονταν από ψεκαστές και από τους ΚΑΠ. Στατιστικά σημαντική διαφορά όμως παρατηρήθηκε για τον μεταβολίτη DMP ($p<0.001$) και το DETP ($p=0.007$). Αυτό θα μπορούσε κάλλιστα να αποδοθεί στην εκτεταμένη παρελθοντική χρήση και εφαρμογή φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων, από την ομάδα των ψεκαστών, που δίνουν τους συγκεκριμένους μεταβολίτες. Υψηλότερα ήταν και τα επίπεδα για τους μεταβολίτες DEP και DEDTP για τους

ψεκαστές σε σχέση με τους ΚΑΠ, χωρίς ωστόσο οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές ($p>0.05$). Η συχνότητα ανίχνευσης όμως για τους μεταβολίτες DMP, DEP και DETP ήταν αρκετά υψηλή, τόσο για τους ψεκαστές (91-100%) όσο και για τους κατοίκους (93-100%). Αντιθέτως για το DEDTP, η συχνότητα ανίχνευσης ήταν αρκετά χαμηλότερη και για τις δύο πληθυσμιακές ομάδες (3% ανίχνευση για τους ψεκαστές, 0% για τους κατοίκους). Για το σύνολο των ανιχνευόμενων μεταβολιτών (DMP, DEP, DETP, DEDTP) τα δείγματα τριχών των ψεκαστών έδωσαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα από αυτά των ΚΑΠ ($p<0.001$).

Οι μέσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών DAPs που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ούρων των ψεκαστών ήταν υψηλότερα από αυτά των ΚΑΠ ($p<0.001$). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των δύο μελετούμενων πληθυσμιακών ομάδων για το DEP ($p=0.005$) και το DETP ($p=0.001$). Η διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων για το DMP και το DEDTP δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική ($p=0.244$ και $p=0.193$, αντίστοιχα). Η σημαντικά παρουσιαζόμενη διαφορά των πρώτων διαλκυλοφωσφινών στα δείγματα ούρων των ψεκαστών μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι τα ούρα των συμμετέχοντων πάρθηκαν κατά την περίοδο ψεκασμών. Γεγονός που τους καθιστά ακόμα περισσότερο εκτεθειμένους εκείνη τη περίοδο, και επιβεβαιώνεται ξεκάθαρα από την ανάλυση των ούρων τους. Τα ποσοστά ανίχνευσης θετικών δειγμάτων κυμαίνονταν από 90% (για το DEDTP) έως 100% (για τα υπόλοιπα DAPs) για τους ψεκαστές, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά ανίχνευσης για τους ΚΑΠ κυμαίνονταν μόλις από 83% (για το DEDTP) έως 100% (για το DMP και το DETP).

Επιπλέον, συλλέχθησαν αντιπροσωπευτικά δείγματα αγροτικών προϊόντων που καλλιεργούνται στη περιοχή της Ιεράπετρας με σκοπό να αναλυθούν για το προσδιορισμό υπολειμματικών ποσοτήτων φυτοφαρμάκων. Συγκεκριμένα, συλλέχθησαν και αναλύθηκαν 45 ντομάτες, 50 αγγούρια, 60 πιπεριές και 45 μελιτζάνες. Για την εκχύλιση των δειγμάτων αυτών ακολουθήθηκε η μέθοδος QuEChERs, ενώ αναλύθηκαν με σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC-MS). Σε γενικές γραμμές κανένα από τα 200 δείγματα αγροτικών προϊόντων που αναλύθηκαν δεν υπερέβαινε τα Maximum Residue Levels (MRLs). Τα ποσοστά ανίχνευσης φυτοφαρμάκων κυμαίνονταν από 11.1% (Carbendazim και Benomyl) έως 22.2% (Oxamyl και Oxamyl-Oxine) για τις ντομάτες, από 6% (Tolyfluanid) έως 24.0% (Spinosad A + D) για τα αγγούρια, από 3.3% (Endosulfan a, Endosulfan b, Endosulfan sulfate) έως 18.3% (Thiacloprid) για τις πιπεριές και από

8.9% (Cyprodinil και Thiacloprid) έως 24.4% (Carbendazim και Benomyl) για τις μελιτζάνες.

Συνοψίζοντας, η διαχείριση και ο έλεγχος της εφαρμογής φυτοπροστατευτικών ουσιών είναι μια απαραίτητη ενέργεια όχι μόνο από φορείς, αλλά και από τους ίδιους τους παραγωγούς. Η βιοπαρακολούθηση των άμεσα εμπλεκόμενων (ψεκαστές, αγρότες κτλ), των κατοίκων που διαμένουν σε τοποθεσίες παρακείμενες των αγροτικών εγκαταστάσεων αλλά και των καταναλωτών γενικότερα, είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση της επιβάρυνσης αυτών από τα χημικά αυτά. Η εναρμόνιση με τους κανονισμούς αλλά και η τήρηση βασικών κανόνων ασφαλείας, αποδεικνύεται μέσα από τη παρούσα διατριβή ότι δεν επαρκεί αφού αφενός ανιχνεύσιμα επίπεδα βρέθηκαν σε αγροτικά προϊόντα – χωρίς να υπερβαίνουν βέβαια τα επιτρεπόμενα όρια και αφετέρου πιστοποιήθηκε η βαρύτερη έκθεση των ψεκαστών έναντι του αγροτικού πληθυσμού. Η ενημέρωση και η ευαισθητοποίηση όλων των συντελεστών παραγωγής είναι κάτι που συνεπάγεται και απαιτείται από τη σημερινή κοινωνία μέσω του ελέγχου, της εξειδίκευσης και της συνεχούς εκπαίδευσης των εμπλεκομένων με τη γεωργία.

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Ο άνθρωπος από τη στιγμή που εμφανίστηκε στον κόσμο και μέχρι σήμερα είναι στενά δεμένος με τη γη. Στη γη ζει, από τη γη παίρνει τα αγαθά, απ' αυτή τρέφεται. Τα πρώτα χρόνια της ύπαρξής του ο άνθρωπος έπαιρνε όλα τα αγαθά που χρειάζονταν, τρόφιμα ή άλλα, όπως τα έβρισκε χωρίς να επεμβαίνει σε αυτά. Με το πέρασμα όμως των χρόνων και με την ανακάλυψη των εργαλείων άρχισε να επεμβαίνει με διάφορους τρόπους σ' αυτή, με σκοπό βέβαια να καλυτερέψει τη ζωή του. Έτσι άρχισε σιγά σιγά να την καλλιεργεί, στην αρχή με πρωτόγονα μέσα κι αργότερα με τη χρήση ζώων και πιο εξελιγμένων εργαλείων. Η καλλιέργειά της μέχρι και πριν από λίγα χρόνια ήταν πολύ δύσκολη και απαιτούσε σκληρή δουλειά, ενώ σημαντικό ρόλο έπαιζαν και τα καιρικά φαινόμενα. Το φυσικό περιβάλλον το θεωρούσε συνεργάτη και φίλο του και δε σκέφτηκε ποτέ να κάνει κακό σ' αυτό για να ωφεληθεί ο ίδιος. Μπορεί οι καλλιέργειες να του απέδιδαν σε μικρή ποσότητα τα απαραίτητα τρόφιμα, του ήταν όμως αρκετά για να μπορεί να ζει, ενώ κι αυτά ήταν υγιεινά και νόστιμα.

Τα τελευταία όμως χρόνια με την αύξηση του πληθυσμού και την ανάπτυξη της τεχνολογίας, ο άνθρωπος άρχισε να επεμβαίνει αλόγιστα στο φυσικό περιβάλλον με σκοπό να παράγει περισσότερα αγαθά και με λιγότερο κόπο, έτσι ώστε όχι μόνο να ζει πιο άνετα, αλλά να μπορεί να μεγαλώσει το κέρδος του, χωρίς να σκέφτεται τις συνέπειες και τις βλάβες που μπορεί να προκαλέσει στο περιβάλλον το οποίο κινείται, αλλά και την ίδια του την υγεία. Έτσι σήμερα η καλλιέργεια της γης γίνεται με σύγχρονα μέσα, με τη βοήθεια των επιστημών και με τη χρήση διαφόρων μέσων. Μερικά απ' αυτά είναι η εντατικοποίηση των καλλιεργειών, η μονοκαλλιέργεια, η υπερβολική άντληση των υπόγειων νερών, η χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων. Οι συνέπειες της επέμβασης του ανθρώπου στη γη ήταν πολύ λιγότερες τα προηγούμενα χρόνια, σήμερα όμως τις ζούμε καθημερινά και όλο σε μεγαλύτερο βαθμό. Μεγάλο είναι το μερίδιο σ' αυτές τις συνέπειες της χρήσης των φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία. Η ατμόσφαιρα ρυπαίνεται, το νερό μολύνεται, το έδαφος καταστρέφεται, η χλωρίδα και η πανίδα εξαφανίζονται. Αλλά και η ίδια η υγεία του ανθρώπου κινδυνεύει. Τα τρόφιμα που παράγει τώρα η γη δεν

είναι τόσο ασφαλή, αφού οι χημικές ουσίες που περιέχουν τα σκευάσματα των φυτοφαρμάκων εισχωρούν σ' αυτά και δυνητικά βλάπτουν το περιβάλλον και τον οργανισμό του ανθρώπου.

1.1. Φυτοφάρμακα

Οποιαδήποτε ουσία ή μίγμα ουσιών προορίζεται για την πρόληψη, την καταστροφή, την απώθηση ή την μείωση πληθυσμού οποιουδήποτε εντόμου, τρωκτικού, νηματωειδούς, μήκυτα ή ζιζανίου καλείται με τον γενικό όρο φυτοφάρμακο (φυτοπροστατευτική ουσία). Παράσιτα είναι οι οργανισμοί αυτοί που βλάπτουν εμάς ή τα αγαθά μας. Τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται παγκοσμίως και ευρέως για τον έλεγχο των παρασίτων. Ακόμη και σκευάσματα που ρυθμίζουν την ταχύτερη ανάπτυξη των φυτών, μπορεί να θεωρηθούν ως φυτοφάρμακα.

Τα φυτοφάρμακα 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 της παροχής 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. Μόνο τα τελευταία χρόνια διατυπώνονται οι πρώτες ανησυχίες για τη δράση τους αφού σε ορισμένους τόπους εξαφανίζονται ομάδες φυτών και ζώων, ενώ επιστήμονες ανακαλύπτουν και δημοσιεύουν αποτελέσματα ερευνών με τις οποίες διαπιστώνονται βλάβες στην υγεία του ανθρώπου. Έτσι μερικά από τα πρώτα φυτοφάρμακα αποσύρονται από την κυκλοφορία στις σύγχρονες χώρες, εξακολουθούν όμως να κυκλοφορούν σε άλλες. Οι ανησυχίες όμως για την αλόγιστη χρήση των φυτοφαρμάκων, 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 και σταματώντας την υποβάθμιση του περιβάλλοντος αλλά και της ποιότητας ζωής του αθρώπου αλλά και της πανίδας. Μάλιστα υπάρχει μια στροφή των παραγωγών και των καταναλωτών στη βιολογική γεωργία, στην οποία δε χρησιμοποιούνται φυτοφάρμακα ή άλλες ουσίες. Είναι ίσως η λύση στο πρόβλημα και θα πρέπει όλοι μας να στραφούμε προς αυτήν την κατεύθυνση, με πρώτους τους αγρότες μας οι οποίοι όμως θα πρέπει να έχουν την συνεργασία και υποστήριξη του κράτους.

1.1.1. Κατηγοριοποίηση φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα ανάλογα με τον στόχο τους μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, τρωκτικοκτόνα, μυκητοκτόνα, αλγοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, βακτηριοκτόνα, μαλακιοκτόνα, νηματωδοκτόνα ή ιοκτόνα (Πίνακας 1). Επίσης, ανάλογα με την χημική οργανική κατηγορία που ανήκουν οι δομές τους μπορεί να κατηγοριοποιηθούν ως οργανοχλωριωμένα, οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, πυρεθροϊδή ή νεονικοτινοειδή (βλ. αναλυτικά 1.1.1.α έως 1.1.1.ε).

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση φυτοφαρμάκων με βάση τον στόχο δράσης τους.

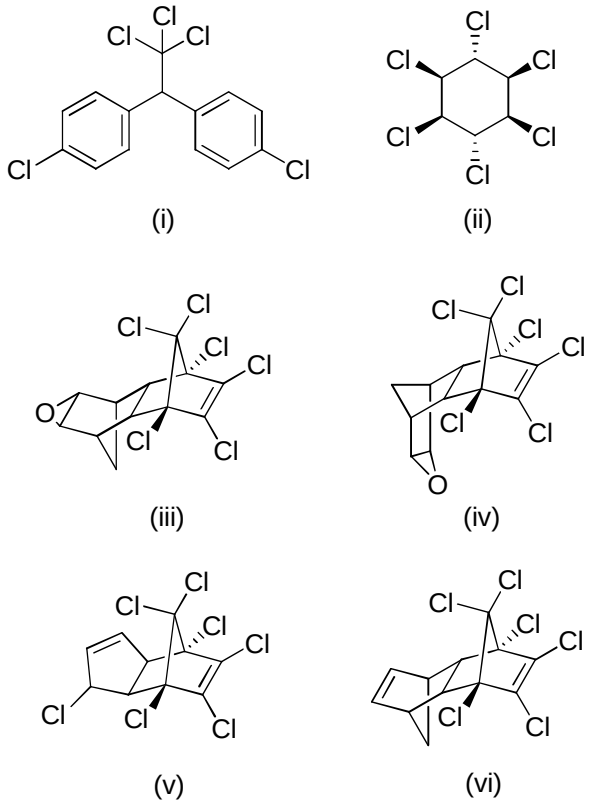
Φυτοφάρμακο	**Στόχος**
Εντομοκτόνα (instecticides)	Έντομα
Ακαρεοκτόνα (acaricides)	Ακάρεα
Τρωκτικοκτόνα (rodenticides)	Τρωκτικά
Μυκητοκτόνα (fungicides)	Μύκητες
Αλγοκτόνα (algaecides)	Άλγη
Ζιζανιοκτόνα (herbicides)	Ζιζάνια
Βακτηριοκτόνα (bactericides)	Βακτήρια
Μαλακιοκτόνα (molluscicides)	Μαλάκια

Νηματωδοκτόνα (nematicides)	Νηματώδεις
Ιοκτόνα (virucides)	Ιοί

Τα φυτοφάρμακα χαρακτηρίζονται ως δηλητήρια και για αυτό μπορεί να είναι τοξικά για ζωντανούς οργανισμούς σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις. Κατά κανόνα τα φυτοφάρμακα δρούν ως αναστολείς ενζύμων και παρεμβένουν στις συνήθεις βιοχημικές αντιδράσεις του μεταβολισμού του οργανισμού. Κάποια φυτοφάρμακα είναι νευροτοξικά, ενώ κάποια άλλα κυτταροτοξικά. Ένας οργανισμός έχει τη δυνατότητα να διασπάσει και να αποτοξικωθεί από αυτά σε περίπτωση έκθεσης με τη χρήση διαφόρων ενζύμων. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι οι dehydrochlorinases διασπούν τα οργανοχλωριωμένα, οι εστεράσες γενικότερα (όπως cholinesterases - ChEase, phosphomonoesterases – ACP, AKP, carboxylesterases και oxidases) διασπούν τα οργανοφωσφορικά, ενώ τα καρβαμιδικά και τα πυρεθροειδή επίσης διασπόνται από τα παραπάνω ένζυμα.

1.1.1.α. Οργανοχλωριομένοι υδρογονάνθρακες

Οι οργανοχλωριομένοι υδρογονάνθρακες πρωτοεμφανίστηκαν το 1940. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται τα οργανικά χλωριούχα φυτοφάρμακα που είναι σε στερεή ή υγρή μορφή, με μικρή πτητικότητα, αλλά με μεγάλη χημική σταθερότητα και μεγάλο χρόνο ημιζωής στο περιβάλλον, χαρακτηριστικά που αποτέλεσαν αιτία να απαγορευτεί η χρήση τους στην Ευρώπη τη δεκαετία του 1970. Στην κατηγορία των οργανοχλωριομένων υδρογονανθράκων συμπεριλαμβάνονται τα DDT, Lindane, οι χλωριομένοι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες όπως οι διοξίνες, τα κυκλοδιένια Heptachlor, Aldrin, Dieldrin, Endrin και πολλά άλλα (**Εικόνα 1**). Επιπλέον τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (polychlorinated biphenyls, PCBs) ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία, αλλά δεν χρησιμοποιούνται ως φυτοφάρμακα, αλλά αντιθέτως χρησιμοποιούνται σε μετασχηματιστές και άλλα εξαρτήματα που έρχονται σε επαφή με υψηλές θερμοκρασίες. Οι διοξίνες αντίθετα, είναι παραπροϊόντα καύσης ή παραπροϊόντα διαφόρων βιομηχανικών δραστηριοτήτων και η συγκέντρωση τους είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε περιοχές με έντονη βιομηχανική δραστηριότητα.



Εικόνα 1. Χημική δομή των οργανοχλωριωμένων υδρογονανθράκων (i) DDT, (ii) Lindane, (iii) Dieldrin, (iv) Endrin, (v) Heptachlor και (vi) Aldrin.

Οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες έπαιξαν σημαντικό ρόλο στα τέλη του Β΄ παγκοσμίου πολέμου και κυρίως μετά το τέλος του πολέμου, στην καταπολέμηση σοβαρών εχθρών του ανθρώπου και της παραγωγής του. Η μεγάλη υπολειμματική διάρκεια, η εξ'επαφής εντομοτοξικότητα, το ευρύ φάσμα εντομοτοξικότητας και η σχετικά μικρή τιμή ορισμένων από αυτά όπως το DDT και το HCH (εξαχλωριούχο βενζόλιο), το οποίο κυκλοφορεί στην Ελλάδα σαν Lindane, έφεραν πραγματική επανάσταση στην καταπολέμηση των εντόμων, με συνέπεια την προσφορά στην αγορά πολλών άλλων οργανικών συνθετικών εντομοκτόνων που ανήκουν στην ίδια ή σε άλλες χημικές ομάδες. Όμως, η ευρεία χρήση ορισμένων χλωριωμένων υδρογονανθράκων, όπως το DDT, η αθροιστική τους ιδιότητα, η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας των εντόμων σε αυτά και η μόλυνση του περιβάλλοντος, έκαναν τον άνθρωπο να συνειδητοποιήσει τους πιθανούς κινδύνους που συνεπάγεται η χρήση ορισμένων τέτοιων ουσιών, με αποτέλεσμα οι υπηρεσίες και το κοινό ορισμένων κρατών να λάβουν μέτρα για τη μείωση των κινδύνων αυτών.

Τα φυτοφάρμακα αυτά ανήκουν στα εντομοκτόνα και είναι νευροτοξικά, θανατώνουν δηλαδή τα έντομα επιδρώντας στο νευρικό τους σύστημα. Ο μηχανισμός

τοξικής δράσης για ορισμένα δεν είναι γνωστός, ενώ για τα υπόλοιπα διαφέρει από τη μία ομάδα στην άλλη. Το DDT και η ομάδα του (methoxychlor) δρουν στους νευράξονες, διαταράσσοντας την κατά μήκος τους κανονική μετάδοση της νεκρικής ώσης σε έντομα και θηλαστικά. Δρουν, δηλαδή, ως «αξονικά» δηλητήρια. Δρώντας στη δίοδο νατρίου, προκαλούν απώλεια ιόντων νατρίου, με αποτέλεσμα μεγάλη νευρική διέγερση, συχνές ώσεις, σπασμούς και θάνατο. Το DDT δρα αργά και είναι πιο τοξικό σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες από ότι σε υψηλές, δηλαδή έχει αρνητική θερμοκρασιακή συσχέτιση.

Τα κυκλοδιένια (Aldrin, chlordane, Dieldrin, endrin, Heptachlor) και τα πολυχλωροτερπένια (toxaphene και strobane) έχουν και αυτά ως τελικό αποτέλεσμα επανειλημμένες και συχνές νευρικές ώσεις που καταλήγουν στο θάνατο του εντόμου. Δρουν στον παρεμποδιστικό μηχανισμό του νευρικού συστήματος, που είναι γνωστός ώς δέκτης του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και είναι υπεύθυνος να αυξάνει την περατότητα των μεμβρανών των νευρώνων σε ιόντα χλωρίου. Τα κυκλοδιένια εμποδίζουν την είσοδο ιόντων χλωρίου στους νευρώνες και έτσι ανταγωνίζονται την ηρεμιστική δράση του GABA. Έχουν θετική θερμοκρασιακή συσχέτιση, μικρότερη όμως του DDT.

Οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες έχουν μεγάλη λιποδιαλυτότητα, πολύ μικρή υδατοδιαλυτότητα και μικρή πτητικότητα. Ορισμένοι ενεργοποιούνται μέσα στο σώμα των εντόμων, άλλων ζώων, φυτών, μικροοργανισμών ή στο έδαφος, κυρίως με εποξείδωση. Η τοξικότητα τους για έντομα και θερμόαιμα ποικίλλει ανάλογα το εντομοκτόνο. Ορισμένα είναι από τα πιο σταθερά, χημικά, οργανικά συνθετικά εντομοκτόνα, όπως το DDT, το Dieldrin και το Heptachlor.

Τα πιο πολλά είναι αθροιστικά δηλητήρια, δηλαδή εναποτίθενται και συσσωρεύονται στο λιπώδη ιστό των εντόμων και άλλων ζώων, στο συκώτι τον ανώτερων σπονδυλωτών και σε ορισμένα άλλα όργανα, όπου μένουν σχεδόν αναλλοίωτα για πολύ καιρό. Έτσι, μικρές αβλαβείς δόσεις όταν ληφθούν πολλές φορές, δημιουργούν βλαβερές συγκεντρώσεις στους ιστούς όπου συσσωρεύονται. Η αθροιστική αυτή ιδιότητα, η σχετικά εύκολη είσοδος τους από το δέρμα και η χημική σταθερότητα τους, δημιουργούν κινδύνους για τον άνθρωπο και το περιβάλλον, οι οποίοι κατέληξαν στον περιορισμό ή και στην απαγόρευση της χρήσης τους σε πολλές χώρες. Η εισαγωγή και η διάθεση στην κατανάλωση των πιο επικίνδυνων μελών της ομάδας αυτής έχει απαγορευτεί και στην Ελλάδα, ενώ άλλων εντομοκτόνων στην ίδια κατηγορία επιτρέπεται με περιορισμούς.

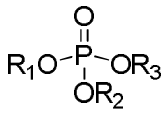
Υπάρχουν αποδείξεις ότι τα περισσότερα οργανικά χλωριωμένα φυτοφάρμακα διατηρούνται στο έδαφος και στο νερό για χρόνια ή δεκαετίες και ότι η συγκέντρωση τους απο τρισεκατομμυριοστά στο υδάτινο περιβάλλον, μπορεί να «βιομεγενθυθεί» 10^5-10^7 φορές στους ιστούς των σπονδυλοτών, ψαριών, πουλιών και θηλαστικών και να φτάσει σε εκατομμυριοστά (ppm) σε ζωντανά ζώα. Δηλαδή, τα πολύ σταθερά και λιποδιαλυτά οργανικά χλωριωμένα εντομοκτόνα και τοξικά προϊόντα της αποδόμησης τους μετακινούνται κατά μήκος των τροφικών αλυσίδων και δημιουργείται «οικολογική μεγένθυνση» της συγκέντρωσης τους σε έμβια όντα και κυρίως σε ανώτερα ζώα. Σε ένα από τα πολλά παραδείγματα που αναφέρονται στην σχτεική βιβλιογραφία, στις εκβολές ενός ποταμού όπου στο νερό η συγκέντρωση του DDT είναι 0,00005 ppm μεγεθύνθηκε διαδοχικά σε 0,04 ppm στο πλαγκτό, σε 0,10-0,42 ppm στα υδρόβια ασπόνδυλα, σε 0,17-0,07 ppm στα ψάρια και σε 3,15-75,5 ppm σε θηρευτικά πουλιά. Δηλαδή, η συγκέντρωση του DDT περίπου δεκαπλασιάστηκε από το ένα τροφικό επίπεδο στο επόμενο και η συνολική μεγέθυνση της συγκέντρωσης ήταν $1,2\times10^5$. Εκείνο όμως που επίσης ανυσηχεί τον άνθρωπο είναι η πιθανή καρκινογόνος δράση του DDT και των άλλων σταθερών χλωριωμένων εντομοκτόνων. Μετά από μια εντατική έρευνα η Επιτροπή Mrak έκρινε, το 1969, ότι τα Aldrin, Dieldrin, DDT, Chlorobenzilate, Heptachlor, Mirex και Strobane μπορεί να προκαλέσουν όγκους σε ένα ή περισσότερα είδη ζώων και συνέστησε να περιοριστεί στο ελάχιστο η έκθεση ανθρώπων στις ουσίες αυτές. Σχετικές έρευνες έδειξαν ότι μια φυλή μικρών ποντικών (Mus) δημιουργεί κακοήθεις όγκους όταν φάει DDT σε επίπεδα παραπλήσια με αυτά που βρίσκονται σε τρόφιμα και στους ιστούς του ανθρώπου. Ο μόνος τρόπος να περιοριστεί η απειλή στην υγεία μας από τις καρκινογόνες αυτές ουσίες, θεωρείται ότι είναι να τις εμποδίσουμε να μπουν στο περιβάλλον μας. Στις Η.Π.Α. η Επιτροπή Mrak συνέστησε «να σταματήσουν μέσα σε 2 χρόνια όλες οι χρήσεις DDT και DDD στις Η.Π.Α., εκτός από όσες ειναι απαραίτητες για την διατήρηση της υγείας και ευημερίας του ανθρώπου και να περιοριστεί η χρήση ορισμένων εντομοκτόνων μεγάλης διάρκειας σε ειδικές χρήσεις που δεν δημιουργούν γνωστούς κινδυνους στην υγεία του ανθρώπου ή στην ποιότητα του περιβάλλοντος». Παρ΄όλους τους κινδύνους, τα οργανικά χλωριωμένα εντομοκτόνα συμπεριλαμβανομένου και του DDT, χρησιμοποιούνται ακόμα σε πολλές χώρες, λόγω της μεγάλης τους χρησιμότητας για καταπολέμηση εντόμων υγειονομικής σημασίας. Ενδιαφερόμενα κράτη, σε συνεργασία με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), διατηρούν αποθέματα

ασφαλείας σταθερών χλωριωμένων υδρογονανθράκων, για να τα χρησιμοποιήσουν όταν χρειαστεί, για καταστολή σοβαρών επιδημιών που μεταδίδονται από έντομα. Σε ορισμένες δε χώρες, το DDT, λόγω της μέτριας οξείας δερματικής τοξικότητας του σε θερμόαιμα, επιτρέπεται, ακόμα και σήμερα, να χρησιμοποιείται στο δέρμα του ανθρώπου εναντίον των ψειρών και των ψύλλων. Τα Lindane και Methoxychlor, όπως και ορισμένα οργανοφωσφορούχα, καρβαμιδικά και πυρεθροειδή εντομοκτόνα είναι βέβαια ασφαλέστερα για αυτή τη χρήση.

Το DDT χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στη γεωργία και εναντίον εντόμων υγειονομικής σημασίας, το Dieldrin κυρίως εναντίον εντόμων και ακάρεων υγειονομικής σημασίας, ακρίδων και εντόμων κατοικιών, το Aldrin και το Heptachlor κυρίως εναντίον εντόμων εδάφους, το Chlordane κυρίως εναντίον εντόμων εδάφους και κατοικιών και το εξαχλωροκυκλοεξάνιο (HCH) κυρίως εναντίον εντόμων εδάφους, ποικίλων εντόμων του υπέργειου τμήματος των φυτών και εκτοπαρασίτων των αγροτικών ζώων. Το Lindane χρησιμοποιήθηκε στις ίδιες με το HCH περιπτώσεις, αλλά και εναντίον εντόμων αποθήκης και εκτοπαρασίτων του ανθρώπου και των κατοικιδίων ζώων, το Toxaphene εναντίων εντόμων φυλλώματος και ορισμένων εκτοπαρασίτων των βοοειδών, το Endosulfan εναντίον εντόμων φυλλώματος και το Methoxychlor, που είναι το λιγότερο τοξικό της κατηγορίας αυτή σε θερμόαιμα, αφού δεν είναι αθροιστικό, χρησιμοποιήθηκε κυρίως σε κτηνοτροφικά φυτά και σε αγροτικά ζώα και στον άνθρωπο εναντίον εκτοπαρασίτων τους. Στη χώρα μας επιτρέπεται η κυκλοφορία των Endosulfan, Lindane και Methoxychlor.

1.1.1.β. Οργανοφωσφορικά

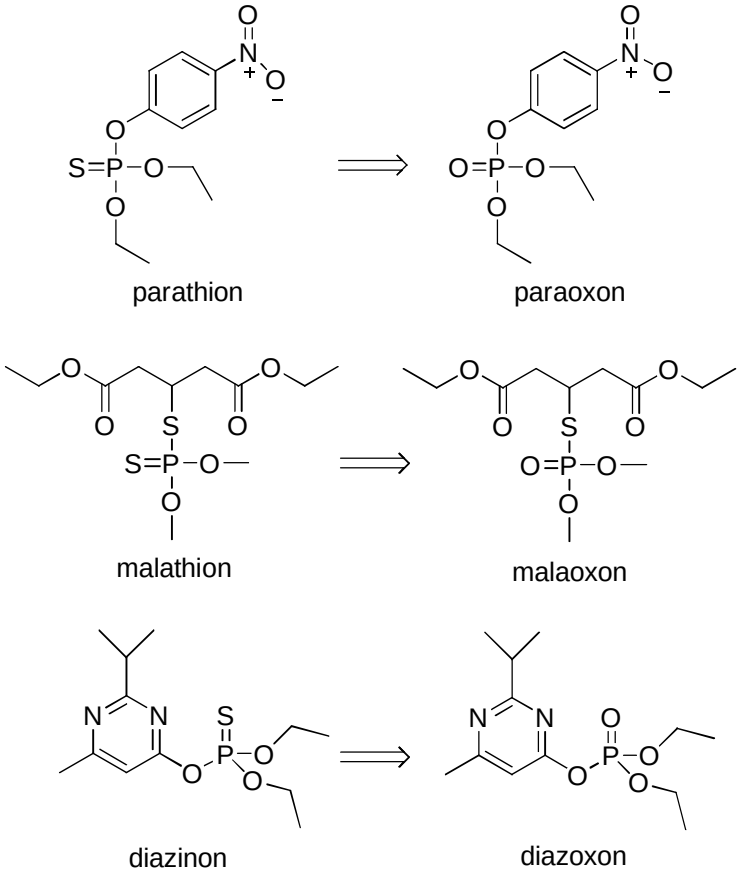
Τα οργανοφωσφορικά (**Εικόνα 2**) χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά το 1950 ως αποτέλεσμα βελτιστοποίησης των οργανοχλωριωμένων. Τα περισσότερα φυτοφάρμακα ανήκουν στην κατηγορία των ορφανοφωσφορικών. Πρόκειται για οργανικά φωσφορούχα εντομοκτόνα, όπου τα πιο πολλά είναι φωσφορικοί, φωσφοροθειϊκοί, φωσφωροθειονικοί και φωσφοροφειολικοί εστέρες.



Εικόνα 2. Γενική χημική δομή των οργανοφωσφορικών.

Ο κύριος τρόπος της τοξικής τους δράσης στα έντομα και σε άλλα ζώα είναι με παρεμπόδιση του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση, απαραίτητου για την σωστή λειτουργία του νευρικού συστήματος. Στο νευρικό σύστημα, η νευρική ώση μεταδίδεται από νευρικό σε νευρικό κύτταρο καθώς και από νευρικό σε μυϊκό κύτταρο, με την παρουσία της ακετυλοχολίνης. Αμέσως μετά τη μεταβίβαση της νευρική ώσης η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) υδρολύει την ακετυλοχολίνη, που είναι το φυσικό υπόστρωμα της, τα νευρικά κύτταρα ηρεμούν και είναι έτοιμα να δεχτούν νέα ώση. Πιο συγκεκριμένα η AChE που βρίσκεται στις νευρικές συνάψεις, πρώτα ενώνεται με την ακετυλοχολίνη και δημιουργεί ένα σύμπλοκο μαζί της, το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος. Στη συνέχεια η ακετυλοχολίνη ακετυλιώνει το ένζυμο και, σε τρίτη φάση, το ακετυλιωμένο ένζυμο υδρολύεται και ξαναδίνει το αρχικό ένζυμο ελεύθερο. Τα οργανοφωσφορούχα εντομοκτόνα αποτελούν στην ουσία υποστρώματα για το ένζυμο AChE, αντιδρούν δηλαδή μαζί του με τρόπο ανάλογο με την ακετυλοχολίνη. Δημιουργούν πρώτα σύμπλοκο με το ένζυμο, μετά το φωσφορυλιώνουν και ακολουθεί με βραδύ ρυθμό η αποφωσφορυλίωση, που μπορεί να διαρκέσει και μήνες. Το παρεμποδισμένο λοιπόν ένζυμο βρίσκεται κυρίως σε φωσφορυλιωμένη μορφή. Η φωσφορυλίωση γίνεται με ηλεκτρονιόφιλη προσβολή του φωσφόρου σε μία ομάδα αλκοόλης της σερίνης του ενζύμου. Η δέσμευση αυτή της AChE, έχει ως συνέπεια την περίσσεια της ακετυλοχολίνης, προκαλεί πληθώρα νευρομεταδόσεων στους νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα υπερδιέγερση, μεγάλη κινητικότητα, σπασμούς, παράλυση και τελικά θάνατο του εντόμου.

Ορισμένα οργανοφωσφορούχα εντομοκτόνα δεν είναι ισχυροί παρεμποδιστές του ενζύμου στην τεχνικώς καθαρή τους μορφή και στα σκευάσματα που κυκλοφορούν στην αγορά. Μέσα όμως στο σώμα των εντόμων ενεργοποιούνται, συνήθως με οξείδωση, σε ισχυρούς παρεμποδιστές του ενζύμου. Έτσι το Parathion μετατρέπεται σε Paraoxon, το Malathion σε Malaoxon, το Diazinon σε Diazoxon και το Dimethoate σε Dimethoxon (**Εικόνα 3**).



Εικόνα 3. Παραδείγματα των οργανοφωσφορικών parathion, malathion και diazinon που οξειδώνονται στους ισχυρούς παρεμποδιστές του ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης, paraoxon, malaoxon και diazoxon, αντίστοιχα.

Στις οργανοφωσφορούχες ενώσεις ανήκουν μερικά από τα πιο τοξικά εντομοκτόνα, χωρίς όμως να υπάρχουν εξαιρέσεις εντομοκτόνων που είναι λιγότερο τοξικά και επικίνδυνα για τον άνθρωπο. Δεν είναι όμως αθροιστικά, δεν συσσωρεύονται στο σώμα των ζώων, ούτε διατηρούνται εκεί αναλλοίωτα επ'αόριστον. Όταν όμως το ζώο και ο άνθρωπος λαμβάνουν υποθανατηφόρες δόσεις, τα οργανοφωσφορούχα παραμένουν δεσμευμένα με την AChE επί εβδομάδες ή μήνες. Το πόσο διαρκεί η δέσμευση, εξαρτάται από τη δομή του εντομοκτόνου και τη δόση που δέκτηκε το ζώο. Όταν ο ψεκαστής χρησιμοποιεί, επί σειρά ωρών ή και ημερών, ένα τέτοιο εντομοκτόνο χωρίς να λαμβάνει τα κατάλληλα μέτρα προφύλαξης, μπαίνει μέσα του το εντομοκτόνο και βαθμιαία μπλοκάρει ένα όλο και μεγαλύτερο ποσοστό της AChE που διαθέτει το σώμα του. Έχουμε, συνεπώς, αθροιστική δράση του εντομοκτόνου. Όταν η ποσότητα του ελεύθερου ενζύμου μειωθεί κάτω ενός ορισμένου ορίου, παρουσιάζονται απότομα τα συμπτώματα δηλητηρίασης και ο ψεκαστής κινδυνεύει. Γι'αυτό, άτομα που εκτίθενται συχνά σε

εντομοκτόνα-παρεμποδιστές της AChE πρέπει να ελέγχονται ως προς την αδέσμευτη ποσότητα του ενζύμου αυτού στο αίμα τους και να απέχουν από επαφή με οργανοφωσφορούχα ή καρβαμιδικά εντομοκτόνα για όσες εβδομάδες απαιτούνται για να επανέλθει η AChE τους σε κανονικά επίπεδα. Η αντιμετώπιση δηλητηρίασης από οργανοφωσφορούχα επιδιώκεται ή με αναδραστηριοποίηση του μπλοκαρισμένου ενζύμου ή με χρήση ουσιών που λειτουργούν ανταγωνιστικά στην ακετυλοχολίνη.

Τα οργανοφωσφορούχα είναι εντομοκτόνα επαφής, ορισμένα δε είναι και διασυστηματικά. Τα περισσότερα είναι λιγότερο σταθερά και περισσότερο πτητικά από τους χλωριωμένους υδρογονάνθρακες. Η εντομοκτόνος δράση τους εκδηλώνεται σχετικά γρήγορα, από μία ώρα ως και μερικές ώρες. Έχουν, τα περισσότερα, ευρύ φάσμα εντομοτοξικότητας, δηλαδή σκοτώνουν πολλά και ποικίλα είδη εντόμων, και πολλά μέλη της ομάδας έχουν και ακαρεοκτόνο δράση. Ορισμένα είναι και νηματωδοκτόνα και μαλακιοκτόνα και τα ίδια ή άλλα, λόγω της μεγάλης τοξικότητας τους για τα θερμόαιμα ζώα, είναι και τρωκτικοκτόνα, στις εντομοκτόνες δόσεις. Η υπολειμματική τους διάρκεια είναι από μικρή εώς μεγάλη. Είναι τα περισσότερα λιποδιαλυτά, αλλά όσα έχουν διασυστηματική δράση είναι υδατοδιαλυτά. Ορισμένα έχουν διεισδυτική ικανότητα σε φύλλα ή καρπούς. Λίγα είναι πτητικά σε τέτοιο βαθμό ώστε να δρουν και με τους ατμούς τους ως ασφυκτικά σε κλειστούς χώρους, εμποτισμένα σε κατάλληλα υλικά.

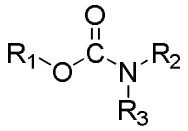
Ορισμένα είναι εκλεκτικά, ή μπορούν να δώσουν εκλεκτικό αποτέλεσμα όταν χρησιμοποιηθούν κατάλληλα. Συνεπώς, είναι παραδεκτά σε προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης εντόμων και ακάρεων σε καρποφόρα δέντρα και θάμνους.

Ακόμα και τα σταθερότερα οργανοφωσφορούχα είναι ασταθή σε αλκαλικό περιβάλλον. Γι’αυτό το λόγο πολύ λίγα είναι κατάλληλα για εφαρμογές στο έδαφος ή για ανάμιξη με σπόρο, όπως τα Chlorfenviphos, Chlorpyrifos, Disulfoton, Phorate και Thionazin.

Η οξεία τοξικότητα των πλείστων οργανοφωσφορούχων για τα θερμόαιμα είναι μεγάλη. Υπάρχουν όμως και λίγα που επιτρέπονται να χρησιμοποιούνται σε στάβλους και κατοικίες (Diazinon, Dichlorvos, Fenitrothion, Tetrachorvinphos) ή πάνω σε αγροτικά ζώα (Coumaphos, Ctoroxyphos, Dioxathion). Ορισμένα, όπως τα Iodofenphos, Malathion και Temephos είναι τα λιγότερα βλαβερά στον άνθρωπο και επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται στο δέρμα του εναντίον εκτοπαρασίτων, όπως ψειρών και ψύλλων.

1.1.1.γ. Καρβαμιδικά

Τα καρβαμιδικά (**Εικόνα 4**) είναι εστέρες ή οξίμες του καρβαμιδικού οξέος συνθέθηκαν για πρώτη φορά στη Νιγηρία από Βρετανούς επιστήμονες. Ο τρόπος τοξικής τους δράσης είναι κυρίως χολινεργικός, δηλαδή παρεμποδίζουν την ακετυλοχολινεστεράση κατά τρόπο ανάλογο με των οργανοφωσφορούχων εντομοκτόνων. Έχουμε δηλαδή δημιουργία συμπλόκου εντομοκτόνου και ενζύμου (AChE), στη συνέχεια καρβαμυλίωση ή ακετυλίωση του ενζύμου και στη συνέχεια υδρόλυση. Η αποκαρβαμυλίωση δεν είναι τόσο αργή όσο η αποφωσφορυλίωση με τα οργανοφωσφορούχα εντομοκτόνα, συνεπώς η AChE ελευθερώνεται πιο γρήγορα από όσο τα οργανοφωσφορούχα. Ορισμένα καρβαμιδικά εντομοκτόνα είναι ισχυροί παρεμποδιστές και αλιεστερασών (αλειφατικών εστερασών) και είναι εκλεκτικότερα στην παρεμπόδιση της AChE ορισμένων ειδών εντόμων από όσων άλλων.



Εικόνα 4. Γενική χημική δομή των καρβαμιδικών.

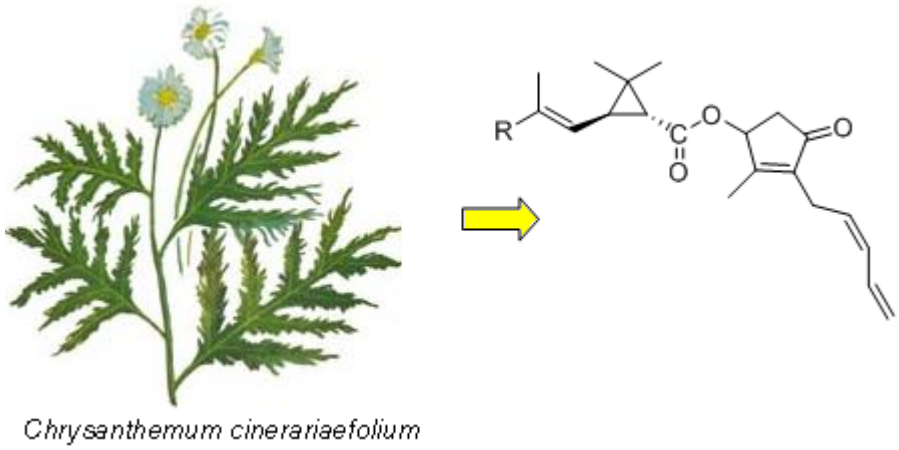
Η οξεία από του στόματος τοξικότητα τους για θερμόαιμα ζώα ποικίλει από πολύ μεγάλη, όπως στα Aldicarb και Carbofuran, σε σχετικά μεγάλη όπως σε Methomyl, σε μέτρια όπως στα Bendiocarb, Carbaryl (γνωστό και ως Sevin), Dioxacarb, Methiocarb και Propoxur (γνωστό περισσότερο ως Baygon). Ευτυχώς, τα πιο πολλά δεν μπαίνουν εύκολα από το δέρμα των θηλαστικών. Δεν είναι όμως σπάνιες οι δηλητηριάσεις εργατών σε αγρούς όπου χρησιμοποιήθηκαν επικίνδυνα μέλη της ομάδας των καρβαμιδικών, όπως τα Aldicarb, Carbofuran και Methomyl. Ορισμένα όπως τα Carbaryl και Carbofuran είναι πολύ μελισσοτοξικά. Τα καρβαμιδικά έντομοκτόνα δεν έχουν δυσάρεστη οσμή.

Τα περισσότερα καρβαμιδικά εντομοκτόνα έχουν μέτρια υπολειμματική διάρκεια σε ψεκασμένες επιφάνειες και είναι κατάλληλα για εφαρμογές και στο ύπαιθρο. Τα περισσότερα είναι εντομοκτόνα επαφής, ενώ τα Aldicarb, Carbofuran και Methomyl είναι διασυστηματικά. Το Aldicarb επιτρέπεται μόνο στο έδαφος πριν από τη σπορά και σε λίγες περιπτώσεις λίγο μετά το φύτρωμα. Το Carbofuran χρησιμοποιείται κυρίως στο έδαφος, ενώ τα περισσότερα άλλα κυρίως στο φύλλωμα

ή σε άλλες επιφάνειες. Λόγω κυρίως της μικρής δερματικής τους τοξικότητας, το Carbaryl και λιγότερο το Propoxur χρησιμοποιούνται και στο δέρμα κατοικίδιων ζώων και του ανθρώπου εναντίον εκτοπαρασίτων τους. Τα δύο αυτά εντομοκτόνα, καθώς και τα Bendiocarb και Dioxacarb, επιτρέπονται σε κατοικίες και στάβλους εναντίον κουνουπιών, μυγών, κοριών, κατσαρίδων και άλλων.

1.1.1.δ. Πυρεθροεϊδή

Τα πυρεθροεϊδή είναι μια κατηγορία που βρίσκει πολλές εφαρμογές τα τελευταία χρόνια και είναι λιγότερο τοξικά από άλλα φυτοφάρμακα για τα θηλαστικά, ενώ είναι αρκετά τοξικά για τα έντομα. Στην ομάδα αυτή ανήκουν τα φυσικά πυρεθροειδή, οι πυρεθρίνες, και τα συνθετικά πυρεθροειδή. Ήδη από τις αρχές του περασμένου αιώνα είχε διαπιστωθεί ότι τα ξερά άνθη ορισμένων Compositae του γένους *Chrysanthemum*, γνωστού άλλοτε με το όνομα *Pyrethrum*, είχαν εντομοκτόνες ιδιότητες. Από τα διάφορα είδη του γένους αυτού το *Chrysanthemum cinerariaefolium* είναι το κυριότερο και χρησιμοποιείται πάνω από 100 χρόνια για την παραγωγή «πυρέθρου» (**Εικόνα 5**). Οι ξερές ανθικές κεφαλές του περιέχουν 0,7-3% και κατά μέσο όρο 1,2% πυρεθρίνες, που είναι ένα μίγμα 4 ή 6 εντομοκτόνων ουσιών. Παλαιότερα κυκλοφορούσαν στο εμπόριο τα αλεσμένα ξηρά άνθη του φυτού, που ήταν γνωστά ως «δαλματική εντομοκτόνος σκόνη» ή «σκόνη πυρέθρου». Σήμερα κυκλοφορεί στο χοντρεμπόριο, ως τεχνικώς καθαρό προϊόν, πυκνό εκχύλισμα των άνθεων του πυρέθρου σε κατάλληλο οργανικό διαλύτη, που περιέχει συνήθως 25% πυρεθρίνες. Το *C. cinerariaefolium* καλλιεργήθηκε για την παραγωγή εντομοκτόνου πρώτα στη Γιουγκοσλαβία, μετά στην Ιαπωνία και τέλος στην Κένυα, λιγότερο στις γύρω αφρικανικές χώρες και στην Νέα Γουινέα. Οι πυρεθρίνες, ή φυσικά πυρεθροιειδή, είναι εστέρες των αλκοολών πυρεθρολόνης και κινερολόνης, με τα οξέα χρυσανθεμικό και πυρεθρικό.



Εικόνα 5. Η γενική χημική δομή των πυρεθρινών, των φυσικών πυρεθροεϊδών, που προέρχονται από τα άνθη φυτών γένους *Chrysanthemum cinerariaefolium*.

Οι πυρεθρίνες όπως και τα λοιπά πυρεθροειδή, είναι ουσίες νευροτοξικές. Επηρεάζουν τη μετάδοση των νευρικών ώσεων στους νευροάξονες, ανήκουν δηλαδή στα αξονικά δηλητήρια, αν και ίσως δρούν και στις συνάψεις. Δρουν στο δίαυλο νατρίου, μια μικρή οπή απ'όπου τα ιόντα νατρίου μπαίνουν στο νευροάξονα και προκαλούν την διέγερση του. Αποτέλεσμα είναι η διέγερση του νευρώνα, επανειλημμένες ώσεις και τελικά παράλυση. Ίσως η κύρια τοξική δράση των πυρεθρινών να οφείλεται σε μπλοκάρισμα του νευράξονα, δηλαδή σε μπλοκάρισμα της σωστής μετάδοσης των ώσεων κατά μήκος του. Φαίνεται όμως ότι οι πυρεθρίνες δρουν και στις συνάψεις, χωρίς να είναι γνωστές οι ακριβείς θέσεις όπου δρουν εκεί, ούτε ο μηχανισμός δράσης τους. Η ικανότητα κατάρριψης των εντόμων οφείλεται πιθανώς σε μυϊκή παράλυση του εντόμου.

Οι πυρεθρίνες έχουν μεγάλη εντομοτοξικότητα, γρήγορη εντομοκτόνο δράση και ικανότητα κατάρριψης των εντόμων, μικρή τοξικότητα για τα θερμόαιμα και μεγάλη χημική αστάθεια στον αέρα και στο φως. Μέσα στον οργανισμό αποικοδομούνται, κυρίως οξειδωτικά, προς μη τοξικές ουσίες. Οι ιδιότητες αυτές κάνουν τις πυρεθρίνες κατάλληλες για χρήσεις όπου άλλα μεγαλύτερης διάρκειας και μικρότερης τιμής εντομοκτόνα δεν είναι κατάλληλα και εκεί όπου επιθυμούμε γρήγορη κατάρριψη των εντόμων. Οι πυρεθρίνες λοιπόν χρησιμοποιούνται κυρίως για ψεκασμούς χώρου κατοικιδίων, εστιατορίων, αποθηκών, αεροσκαφών, στάβλων, ζώων, σε τρόφιμα και ως διάλυμα σε ειδικό ορυκτέλαιο (παραφινέλαιο), για επένδυση σπόρων σε σκοτεινές αποθήκες. Χρησιμοποιήθηκαν και χρησιμοποιούνται εναντίον μυγών, κουνουπιών, γρύλλων, θυσανούρων, κοριών, μυρμηγκιών και κατσαρίδων, αν και για ορισμένα από τα έντομα αυτά, άλλα πιο σταθερά

εντομοκτόνα είναι πιο αποτελεσματικά, υπό τον όρο ότι τα έντομα δεν έχουν εθιστεί σε αυτά.

Τέλος, υπάρχουν και τα συνθετικά πυρεθρινοειδή. Τα συνθετικά πυρεθροειδή είναι η τελευταία μεγάλη ομάδα οργανικών συνθετικών εντομοκτόνων. Ο μηχανισμός εντομοτοξικής δράσης είναι ίδιος με αυτόν των πυρεθρινών. Είναι εντομοκτόνα με ευρύ φάσμα εντομοτοξικής δράσης, με υπολειμματική διάρκεια που ποικίλει με το κάθε πυρεθροειδές. Η εντομοτοξικότητα τους είναι εν γένει μεγάλη. Μέσα στο σώμα των ανώτερων ζώων αποδομούνται προς μη τοξικά προϊόντα. Από πλευράς ιδιοτήτων και χρήσεων κατατάσσονται στα ασταθή και στα σταθερά.

Η αποδόμηση αφορά σπάσιμο του εστερικού δεσμού, ή προσβολή ορισμένων θέσεων του μορίου τους από συστήματα οξειδασών μικτής δράσης. Αυτή η αποδόμηση είναι άσχετη με την σταθερότητα στο φως, δεδομένου ότι και τα σχετικά φωτοσταθερά πυρεθροειδή αποδομούνται μεταβολικά. Ενώ λοιπόν στο σώμα των εντόμων μπαίνουν γρήγορα και δρουν τοξικά επίσης γρήγορα, όταν δοθούν σε θηλαστικά με κατάποση ή στο δέρμα, αποβάλλονται ανέπαφα ή μεταβολισμένα πριν φτάσουν σε τοξικές συγκεντρώσεις σε ευπαθείς ιστούς του ζώου. Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο όταν δοθούν στα θηλαστικά με ένεση. Η τοξικότητα τους τότε είναι μεγάλη. Γενικά, η τοξικότητα των πυρεθροειδών για θερμόαιμα είναι μικρότερη από πολλών άλλων οργανικών συνθετικών εντομοκτόνων και ιδιαίτερα σε σχέση με την τοξικότητα τους για βλαβερά έντομα. Συνεπώς οι κίνδυνοι οξείας δηλητηρίασης που δημιουργούν στον άνθρωπο εξ'επαφής πρέπει να μην είναι γενικά σοβαροί. Ακόμα και τα σταθερότερα πυρεθροειδή που κυκλοφορούν σήμερα, αποδομούνται στο έδαφος, από μικροοργανισμούς, μέσα σε λίγες εβδομάδες και συνεπώς πιστεύεται ότι η τυχόν δυσμενής επίδραση τους στην εδαφική μικροχλωρίδα δεν θα είναι αξιόλογη.

Μια ιδιότητα πολλών πυρεθροειδών είναι η μικρή ως μέτρια εντομοδιωκτικότητα τους. Πολλά έντομα ενοχλούνται όταν βρεθούν σε επιφάνεια με συνθετικό πυρεθροειδές. Αυτό τα κάνει να απομακρυνθούν γρήγορα, με αποτέλεσμα ο πληθυσμός που μένει σε μια ψεκασμένη περιοχή να είναι συνήθως μικρότερος από ότι δικαιολογεί η τοξικότητα του πυρεθροειδούς και το εμφανές θανατηφόρο, για τα έντομα, αποτελέσματα. Ορισμένα πυρεθροειδή είναι και φαγοαποτρεπτικά σε βαθμό που ορισμένα άτομα του προνυμφικού πληθυσμού πεθαίνουν από ασιτία.

Το ευρύ φάσμα εντομοτοξικότητας και η μεγάλη υπολειμματική διάρκεια των συνθετικών πυρεθροειδών, ευνοούν τη δημιουργία ανθεκτικών σε αυτά φυλών βλαβερών εντόμων και ακάρεων. Φυλές των αρθροπόδων αυτών ανθεκτικές σε

εντομοκτόνα την ομάδας DDT παρουσίασαν έμμεση ανθεκτικότητα σε πυρεθροειδή. Επίσης, δεν αποκλείεται να παρατηρηθεί έμμεση ανθεκτικότητα σε πυρεθροειδή εντόμων, ανθεκτικών σε οργανοφωσφορούχα, αφού εστεράσες και οξυγονάσες αποδομούν και τις δύο αυτές ομάδες εντομοκτόνων. Συνεπώς, η χρήση των σταθερών συνθετικών πυρεθροειδών πρέπει να γίνεται με πολύ πιο συνετό τρόπο από ότι γίνεται ως τώρα. Οι ουσίες αυτές, πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο όταν χρειάζεται, σε σωστά επιλεγμένες δόσεις, για καταπολέμηση αξιόλογων πληθυσμών των εντόμων και όχι τακτικά σε εφαρμογές ρουτίνας.

1.1.1.ε. Νεονικοτινοειδή

Τα νεονικοτινοειδή είναι μια νέα κατηγορία συνθετικών φυτοφαρμάκων, τα οποία απο τη δεκαετία του 1990 είναι εμπορικά διαθέσιμα. Κυκλοφορούν λίγα νεονικοτινοειδή φυτοφάρμακα αλλά η χρήση τους αυξάνεται συνεχώς, εφόσον μπορούν να αντικαταστήσουν τα πιο τοξικά φυτοφάρμακα όπως τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά.

Η νικοτίνη απομονώθηκε από τα φυτά του καπνού *Nicotiana tabacum* (**Εικόνα 6**), και έχει χρησιμοποιηθεί ως φυτοφάρμακο εναντίον μυζητικών εντόμων. Ο νικοτινικός υποδοχέας των ιόντων Καλίου και Νατρίου του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι ο στόχος τους και οι συνέπειες από την τροποποιημένη χολινεργική νευροδιαβίβαση είναι ο μηχανισμός δράσης τους. Εφόσον η νικοτίνη είναι περισσότερο τοξική στα θηλαστικά παρά στα έντομα, είναι σημαντική η ανάπτυξη νέων φυτοφαρμάκων, εντομοκτόνων, με βάση την νικοτίνη αλλά με διαφοροποιημένες τις ομάδες που είναι τοξικές στον άνθρωπο και αντικαταθιστώντας τις με ομάδες πιο εκλεκτικές και τοξικές προς τα έντομα. Η νικοτίνη και τα ανάλογα της, όπως τα Nornicotine ή Anabasine, αποτελούν συνθετικά φυτοφάρμακα νέας γενιάς, έχοντας υψηλό βαθμό εκλεκτικότητας.

Εικόνα 6. Απεικόνιση του φυτού γένους *Nicotiana tabacum*.

Το Nithiazine αποτελεί το πρώτο νεονικοτινοειδές που παρασκευάστηκε από την Shell (στο Modesto, στις Η.Π.Α.) το 1970. Το Nithiazine είναι τοξικό στα έντομα αλλά η χρήση του είναι περιορισμένη εξαιτίας της χαμηλής φωτοσταθερότητας του. Είναι η πρώτη ένωση που συντέθηκε, γι'αυτό και πάνω σε αυτό βασίστηκαν για την σύνθεση του πρώτου εμπορικά διαθέσιμου νεονικοτινοειδούς με μεγάλη επιτυχία εφόσον επιτεύχθηκε η εντομοκτόνος δράση του και η σταθερότητα του στο περιβάλλον. Η ομάδα 6-χλωρο-3μέθυλοπυριδίνης είναι το χαρακτηριστικό των νεονικοτινοειδών ενώσεων. Το Imidacloprid αποτελεί το καλύτερο παράδειγμα των εντομοκτόνων πρώτης γενιάς.

Τα νεονικοτινοειδή δρούν ενάντια στον νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης στο νευρικό διεγερτικό χολινεργικό σύστημα των θηλαστικών και των εντόμων. Ο υποδοχέας περιορίζει την είσοδο ιόντων Νατρίου και Καλίου μέσω των μεμβρανών των νευρικών κυττάρων. Οι δομικές διαφορές μεταξύ των υποδοχέων στα θηλαστικά και στα έντομα καθορίζουν την εκλεκτικότητα της τοξικής τους δράσης.

Σε αντίθεση με τα νικοτινοειδή, τα νεονικοτινοειδή είναι μέτρια τοξικά στα θηλαστικά λόγω της μικρής συγγένειας με τον νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης στο νευρικό και μυϊκό σύστημα των θηλαστικών. Σε πειραματόζωα, οι υψηλές δόσεις φυτοφαρμάκου που πλησιάζει τις τιμές LD_{50} προκαλούν σπασμούς, αποσυντονισμό και υποθερμία, μετά από στοματική λήψη στις 2-6 ώρες. Τα συμπτώματα παύουν μέσα σε 24 ώρες εφόσον ακολουθήσει θεραπεία. Οι τιμές LD_{50}

των νεονικοτινοειδών κυμαίνονται από 170-2000 mg/Kg από στοματική λήψη και ≥ 2000 mg/Kg με δερματική επαφή, ανάλογα με τον είδος του ζώου και το είδος του φυτοφαρμάκου. Υψηλή δόση από στοματική λήψη μπορεί να επιφέρει και θάνατο μέσα σε 3-7 ώρες.

Τα νεονικοτινοειδή αποτελούν επίσης και μελισσοτοξικά εντομοκτόνα, εφόσον ο νικοτινικός υποδοχέας της ακετυλοχολίνης τους μοιάζει με αυτό των υπολοίπων εντόμων. Όμως τα νεονικοτινοειδή εμφανίζουν χαμηλές συγκεντρώσεις από ότι αναμένεται, σε έντομα που δεν αποτελούν στόχο του φυτοφαρμάκου και σε σπονδυλωτά είδη της άγριας πανίδας, όπως η ιριδίζουσα πέστροφα. Γενικά, τα νεονικοτινοειδή είναι πολύ περισσότερο φιλικά προς το περιβάλλον σε σχέση με άλλα εντομοκτόνα, όμως η χαμηλή φωτοσταθερότητα τους δεν τα καθιστά ικανά για να χρησιμοποιηθούν σε μυγοπαγίδες. Είναι δραστικά ενάντια σε κολεόπτερα και λεπιδόπτερα. Δρουν συστηματικά λόγω της σταθερότητας τους στο νερό και δρουν εξαιρετικά καλά ενάντιον μυζητικών εντόμων. Η σταθερότητα τους στο νερό, επίσης, τα καθιστά κατάλληλα στην εφαρμογή σε σπόρους. Η χαμηλή τοξικότητα τους στα θηλαστικά, επιτρέπει την χρήση τους σε κατοικίδια ζώα, καθώς και η περιβαλλοντική τους σταθερότητα σε ουδέτερα ή όξινα μέσα είναι χρήσιμη για εφαρμογές στο χώμα, όπως ενάντιον των τερμιτών.

1.1.2. Χρησιμότητα φυτοφαρμάκων

Η χρήση των φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία με τις σημερινές συνθήκες και με ορισμένες προϋποθέσεις είναι αναγκαία για την αγροτική παραγωγή. Τα φυτοφάρμακα όταν χρησιμοποιούνται στη σωστή αναλογία και με την καθοδήγηση ειδικών επιστημόνων, συμβάλλουν στην αύξηση της αγροτικής παραγωγής και στη βελτίωση της ποιότητας των αγροτικών προϊόντων, αφού καταστρέφουν τους βλαβερούς οργανισμούς που εμποδίζουν την ανάπτυξη των φυτών ή τους μικροοργανισμούς που μολύνουν τα προϊόντα και καταστρέφουν πολλές φορές ολόκληρη την παραγωγή. Η χρήση τους εξοικονομεί χρόνο, αφού χωρίς αυτά οι γεωργοί θα έπρεπε να δουλεύουν στις καλλιέργειές τους πολύ περισσότερο , και μάλιστα με αρκετά μικρότερη απόδοση. Επίσης για να καταπολεμηθούν οι διάφορες ασθένειες χωρίς τα φυτοφάρμακα θα απαιτούνταν περισσότερη και πιο κοπιαστική δουλειά από κάθε αγρότη. Με τη χρήση τους οι αγροτικές

δραστηριότητες γίνονται λιγότερο κουραστικές, ενώ δε χρειάζονται πολλά εργατικά χέρια για την επίτευξη μεγάλου αριθμού παραγωγής.

Ακόμα τα φυτοφάρμακα σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να καθυστερήσουν ή να κάνουν πιο γρήγορη την αγροτική παραγωγή, ανάλογα με τις επιθυμίες του παραγωγού, έτσι ώστε να μπορεί να προλάβει τις δυσμενείς για την παραγωγή του καιρικές συνθήκες.

1.1.3. Επιδράσεις στο περιβάλλον

Πολύ μεγάλες είναι και οι συνέπειες που προκαλούνται στο φυσικό περιβάλλον το οποίο επηρεάζεται και αλλοιώνεται σε μεγάλο βαθμό, με αποτέλεσμα να καταστρέφεται η ισορροπία του. Οι βλαβερές δραστικές ουσίες που περιέχονται στα φυτοφάρμακα επηρεάζουν και καταστρέφουν τη χλωρίδα και την πανίδα της περιοχής όπου γίνεται χρήση τους. Ολόκληρες ομάδες ζώων και εντόμων (όχι μόνο των βλαβερών αλλά και ωφέλιμων) εξαφανίζονται διαταράσσοντας τη φυσική ισορροπία. Πολλά χόρτα, μικρά φυτά και δέντρα απορροφούν αυτές τις ουσίες οι οποίες με το χρόνο συσσωρεύονται και έτσι καταστρέφονται. Ένα μέρος των ουσιών αυτών καταλήγει στο υπέδαφος και τα υπόγεια νερά τα οποία ρυπαίνονται.

Υπολείμματα φυτοφαρμάκων και άδειες συσκευασίες αντί να καταστραφούν όπως προβλέπεται από τον κατασκευαστή, πετιούνται ασυλλόγιστα σε μικρά ποτάμια και ρέματα με αποτέλεσμα να μολύνονται τα νερά τους, αλλά ταυτόχρονα μεταφέρονται και στη θάλασσα μολύνοντας έτσι και τα νερά των θαλασσών. Ο ψεκασμός με φυτοφάρμακα (ιδιαίτερα όταν γίνεται από τον αέρα με ειδικά αεροπλάνα) μολύνει και την ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα να έχει αρνητικές συνέπειες στη ζωή φυτών και ζώων. Η μόλυνση και η καταστροφή του φυσικού περιβάλλοντος είναι πολύ μεγάλη, ακόμα και όταν γίνεται κανονική χρήση των φυτοφαρμάκων, πολύ περισσότερο δε όταν γίνεται αλόγιστη χρήση τους. Γίνεται έτσι επιτακτική η ανάγκη να παρθούν πιο δραστικά μέτρα έτσι ώστε να περιοριστεί η χρήση τους και να γίνεται πιο σωστά, με έλεγχο και μέτρο γιατί τα φυτοφάρμακα μαζί με τους άλλους παράγοντες μόλυνσης (καυσαέρια, απόβλητα) συμβάλλουν στην υποβάθμιση του περιβάλλοντος.

1.1.3.α. Εκτίμηση επιβάρυνσης περιβάλλοντος

Η ευρεία χρήση των φυτοφαρμάκων σε συνδυασμό με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες αλλά και τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, έχει οδηγήσει πολλούς ερευνητές, στην αναζήτηση μεθόδων αξιολόγησης της έκθεσης του περιβάλλοντος και του ανθρώπου. Σχετικά με το περιβάλλον είναι αρκετά δύσκολο να γίνει μια συνολική εκτίμηση της έκθεσης του. Η μοναδική δυνατότητα είναι να μετρηθεί η επιβάρυνση ξεχωριστών περιβαλλοντικών διαμερισμάτων όπως το νερό, το έδαφος και ο αέρας ή οργανισμών που ζουν σε αυτό. Πολλοί ερευνητές μετρούν την επιβάρυνση σε διάφορα φυτοφάρμακα των επιφανειακών και υπόγειων νερών (Mangusson et al. 2013, Seeburueng et al. 2013, Masia et al. 2013, Yuan et al. 2013, Toan et al. 2013). Άλλοι καταγράφουν την επιβάρυνση φρούτων και λαχανικών που αποτελούν σημαντικούς κρίκους της τροφικής αλυσίδας (Chowdhury et al. 2013, Peter et al. 2005, Bhanti et al. 2007, Panseri et al. 2014, Forster et al. 1999). Άλλοι κάνουν μελέτες προκειμένου να διαπιστώσουν την τοξικότητα σε υδρόβιους οργανισμούς (Peterson et al. 1994, Ernst et al. 2001, Tremolada et al. 2004). Σε γενικές γραμμές, οι περισσότερες μέθοδοι ανάλυσης που αναφέρονται στη βιβλιογραφία και αφορούν περιβαλλοντικά δείγματα ανιχνεύουν μια σειρά φυτοφαρμάκων, τα οποία ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες.

1.1.4. Συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου

Όπως έχουν καταδείξει διάφορες επιστημονικές έρευνες οι συνέπειες των φυτοφαρμάκων στην υγεία του ανθρώπου μπορεί να είναι σημαντικές, μακροχρόνιες οι περισσότερες, αλλά και σε μερικές περιπτώσεις άμεσες. Οι άμεσες προέρχονται κυρίως από ατυχήματα δηλητηριάσεων με φυτοφάρμακα λόγω κακής χρήσης, φύλαξης ή άγνοιας και επιφέρουν το θάνατο ή προκαλούν ανεπανόρθωτες βλάβες στην υγεία όσων έχουν δηλητηριαστεί.

Επίσης έχουν συμβεί αρκετά ατυχήματα με διαρροή επικίνδυνων ουσιών που χρησιμοποιούνται σε εργοστάσια για την κατασκευή φυτοφαρμάκων με αποτέλεσμα το θάνατο πολλών ανθρώπων και την πρόκληση βλαβών στον οργανισμό πολύ περισσότερων (όπως στο Μοπάλντ της Ινδίας το 1984).

Στην Ελλάδα, οι δηλητηριάσεις από γεωργικά φάρμακα λόγω της ευρείας χρησιμοποίησης των ουσιών αυτών στη γεωργία εξακολουθούν να κατέχουν την πρώτη θέση στην επαρχία, ενώ στις αστικές περιοχές έχουν μειωθεί σημαντικά. Για παράδειγμα τη δεκαετία του ’70 έφθαναν στο 70% των θανατηφόρων δηλητηριάσεων, ενώ το 2000 μειώθηκαν στο 8% (Χουρδάκης Κ., 2004). Παρόλο που τα φυτοφάρμακα σκοπό έχουν να βλάψουν μόνο το στόχο-παράσιτο, αν αυτά δεν χρησιμοποιηθούν σωστά, μπορεί επίσης να βλάψουν τόσο τον άνθρωπο όσο και το περιβάλλον. Μια δηλητηρίαση οφειλόμενη σε φυτοφάρμακο μπορεί να οφείλεται σε κατά λάθος κατάποση, είτε σε εισπνοή αναθυμιάσεων, είτε σε επαφή με το δέρμα, είτε σε κατά λάθος επαφή με τα μάτια. Επίσης αρκετά συχνά στην Ελλάδα αλλά και σε άλλες χώρες, τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται ως μέσον αυτοκτονίας, ενώ οι εγκληματικές ενέργειες με αυτά είναι σπάνιες.

Οι μακροχρόνιες όμως αρνητικές συνέπειες που προκαλούνται στην υγεία μας από τη χρήση τους είναι περισσότερες και οι πλέον ανησυχητικές, αφού αφορούν το σύνολο της ανθρωπότητας. Τα υπολείμματα επικίνδυνων ουσιών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή φυτοφαρμάκων περνάνε, πριν προλάβουν να διασπαστούν, μέσα από την τροφική αλυσίδα στον ανθρώπινο οργανισμό με τη λήψη φυτικών ή ζωϊκών τροφών. Ακόμη και με τη λήψη νερού όμως μπορεί να προκληθούν βλάβες.

Οι κυριότερες επιπτώσεις που προκαλούνται στον ανθρώπινο οργανισμό είναι: προβλήματα στο νευρικό και αναπνευστικό σύστημα, βλάβες στο συκώτι και τα νεφρά, προβλήματα στην αναπαραγωγή, διάφορες αλλεργίες, επιδράσεις στο αίμα, πρόκληση καρκίνου διαφόρων μορφών κ.ά. Αυτές βέβαια οι επιπτώσεις γίνονται πιο ορατές και πιο άμεσες όταν γίνεται αλόγιστη χρήση των φυτοφαρμάκων, όταν δεν υπάρχει έλεγχος όσον αφορά την ποιότητα, την ποσότητα και τη χρονική διάρκεια χρήσης τους.

Η έκθεση σε φυτοφάρμακα μπορεί να επηρεάσει ένα μεγάλο μέρος του ανθρώπινου πληθυσμού (Salameh et al, 2004). Εκτός από αυτούς που ασχολούνται άμεσα με τις αγροτικές δραστηριότητες αλλά και τη παρασκευή των ουσιών αυτών, ένα μεγάλο μέρος του γενικού πληθυσμού, μπορεί να εκτεθεί μέσω οικιακής χρήσης, εγγύτητας σε αγροτικό περιβάλλον ή ακόμα και κατανάλωσης επιμολυσμένων τροφίμων και νερού. Η έκθεση σε φυτοφάρμακα σίγουρα αφορά πρώτιστα τους εργαζόμενους που εμπλέκονται στη παρασκευή, τη συσκευασία, τη διακίνηση και την εφαρμογή τους στη γεωργία ή αλλού. Η έκθεση διαφέρει σημαντικά μεταξύ των

εργαζομένων της βιομηχανίας και των άλλων χρηστών των φυτοφαρμάκων, αφού οι πρώτοι εκτίθενται σε μία ή περισσότερες ενώσεις για περισσότερο χρονικό διάστημα, ενώ οι εφαρμοστές στη γεωργία (αγρότες, ψεκαστές κτλ) συνήθως εκτίθενται σε φυτοφάρμακα για μικρές χρονικές περιόδους κατά τη διάρκεια του έτους. Ακόμη τα επίπεδα έκθεσης των τελευταίων πιθανόν να μεταβάλλονται ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες, τη μέθοδο εφαρμογής και προφανώς τις εφαρμοζόμενες πρακτικές εργασίας (Maroni et al, 2000).

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η οξεία έκθεση που οδηγεί σε δηλητηρίαση από φυτοφάρμακα αφορά ένα μικρό μόνο ποσοστό του πληθυσμού, το αντικείμενο της δημόσιας υγείας στρέφεται κυρίως γύρω από τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις της χρόνιας έκθεσης, οι οποίες περιλαμβάνουν διαταραχές στην αναπαραγωγή, νευροτοξικότητα, καρκίνο καθώς και πολλαπλές επιδράσεις πάνω στην ευπαθή ομάδα των παιδιών (Kamel & Hoppin, 2004).

Μερικές μελέτες χρόνιας επαγγελματικής έκθεσης σε φυτοφάρμακα κατηγοριοποίησαν ως εκτεθειμένα όλα τα μέλη μιας επαγγελματικής ομάδας όπως τους αγρότες και τους αγροτοεργάτες. Ωστόσο οι αγρότες που προσλαμβάνουν άλλους για την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειές τους, μπορεί να έχουν περιορισμένη έκθεση στα φυτοφάρμακα. Ακόμη και μεταξύ των ατόμων που εφαρμόζουν τα φυτοφάρμακα, η έκθεση μπορεί να ποικίλλει ευρέως. Παράδειγμα αποτελούν οι αγροτοεργάτες που έχουν ελλιπή ενημέρωση για τις πρακτικές ασφάλειας ή τον προστατευτικό εξοπλισμό και ενδεχόμενα να υφίστανται μεγαλύτερη έκθεση σε σχέση με καλά εκπαιδευμένους επαγγελματίες εφαρμοστές φυτοφαρμάκων (Kamel & Hoppin, 2004).

Γενικά, παράγοντες όπως η μέθοδος εφαρμογής του φυτοφαρμάκου, η χρήση προσωπικού προστατευτικού εξοπλισμού και η συμπεριφορά απέναντι στον κίνδυνο μπορούν να επηρεάσουν το βαθμό της έκθεσης του ατόμου. Στις αναπτυσσόμενες χώρες οι εργάτες είναι περισσότερο εκτεθειμένοι λόγω της αυξημένης χρήσης των συστημάτων εφαρμογής φυτοφαρμάκων προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή (Kamel & Hoppin, 2004, Salameh et al, 2004, Spiewak, 2001). Επίσης είναι σημαντική η εκτίμηση της παρελθοντικής και της τρέχουσας έκθεσης του ατόμου γιατί έτσι μπορούν να αιτιολογηθούν βλάβες που σχετίζονται με την υγεία ακόμη και σε άτομα που διατηρούν το ίδιο επάγγελμα, αλλά ο βαθμός έκθεσής τους αλλάζει λόγω εμφάνισης νέων προϊόντων και μεθόδων.

Σε μια προσπάθεια διαχείρισης του κινδύνου εξαιτίας της έκθεσης του ανθρώπου και του περιβάλλοντος σε χημικές ουσίες, οι χρησιμοποιούμενες ουσίες και πιο ειδικά τα φυτοφάρμακα, έχουν χωριστεί σε κατηγορίες ανάλογα με την οξεία τους τοξικότητα. Οι κατηγορίες είναι 4 (IPCS 2002) και κάθε μια συνοδεύεται από τις κατάλληλες ετικέτες και οδηγίες που αποβλέπουν στην ελαχιστοποίηση των κινδύνων από τη χρήση τους. Πιο αναλυτικά οι τέσσερις κατηγορίες στις οποίες χωρίζονται τα φυτοφάρμακα είναι:

Α) Υπερβολικά επικίνδυνα (ομάδα Ia) ενεργά συστατικά (technical grade) φυτοφαρμάκων με LD_{50} από 5 mg/kg σωματικού βάρους έως 40 mg/kg σωματικού βάρους.

Β) Πολύ επικίνδυνα (ομάδα Ib) ενεργά συστατικά (technical grade) φυτοφαρμάκων με LD_{50} από 5-50 έως 400 mg/kg σωματικού βάρους.

Γ) Μέτρια επικίνδυνα (ομάδα II) ενεργά συστατικά (technical grade) φυτοφαρμάκων με LD_{50} από 50-500 mg/kg σωματικού βάρους έως 4000 mg/kg σωματικού βάρους και

Δ) Λίγο επικίνδυνα (ομάδα III) ενεργά συστατικά (technical grade) φυτοφαρμάκων με LD_{50} πάνω από 500 mg/kg σωματικού βάρους έως πάνω από 4000 mg/kg σωματικού βάρους.

Για την αξιολόγηση κάθε ενεργού συστατικού έχει ληφθεί υπόψη η φυσική του κατάσταση και η οδός χορήγησης. Οι τιμές αφορούν τεστ οξείας τοξικότητας σε αρουραίους. Όταν υπάρχει ζώο πιο ευαίσθητο από τον αρουραίο, τότε λαμβάνεται υπόψη η χαμηλότερη τιμή της LD_{50}. Επίσης, υπάρχει μια λίστα με φυτοφάρμακα τα οποία έχουν απαγορευτεί ή η χρήση τους είναι εξαιρετικά περιορισμένη εξαιτίας των προβλημάτων που η πείρα έχει δείξει ότι προκαλούν.

Η μεγάλη σχετικά τοξικότητα των επιλεγμένων για την μελέτη μας ουσιών, αλλά και η χημική σταθερότητα κάποιων από αυτών έχει οδηγήσει τους υπεύθυνους τοξικολόγους να τις κατατάξουν σε κατηγορίες περιορισμένης χρήσης. Η χρήση του DDT έχει απαγορευτεί εντελώς στις ανεπτυγμένες χώρες (IPCS2002). Συνεχίζεται όμως σε χώρες όπου το πρόβλημα της ελονοσίας είναι έντονο (The Stockholm Convention, 2004). Μεγάλες ποσότητες οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται για την προστασία της γεωργικής παραγωγής παγκοσμίως (Echobicon 2001) και στη χώρα μας. Όσον αφορά τα οργανοχλωριομένα, εξαιτίας της μεγάλης χημικής τους σταθερότητας έχουν αποσυρθεί ή αποσύρονται σταδιακά μέχρι το 2010 (96/59/EC). Υπολείμματα όμως

εξακολουθούν να υπάρχουν στο περιβάλλον, μολύνοντας τα τρόφιμα που καταναλώνουμε. Μέσω της δίαιτας συγκεντρώνονται στους ανθρώπινους ιστούς, όπου και ανιχνεύονται.

Για την βελτιστοποίηση της στρατηγικής διαχείρισης των κινδύνων από τα φυτοφάρμακα είναι απαραίτητη η καταγραφή και αξιολόγηση της έκθεσης στις ουσίες αυτές του ανθρώπου και του περιβάλλοντος. Σημαντικό εργαλείο για το βήμα αυτό είναι η ανάπτυξη των κατάλληλων αναλυτικών τεχνικών για την ποσοτική αξιολόγηση της επιβάρυνσης οργανισμών ή τροφίμων.

1.1.4.α. Αξιολόγηση κινδύνου για τον άνθρωπο

Όσον αφορά την αξιολόγηση της έκθεσης του ανθρώπου, προτείνονται διάφοροι τρόποι. Καταρχήν είναι βασικό να ορίζεται το είδος της έκθεσης. Αυτή μπορεί να είναι επαγγελματική σε ανθρώπους που απασχολούνται στη χημική βιομηχανία ή σε αυτούς που ασχολούνται με την εφαρμογή των εντομοκτόνων. Μπορεί επίσης να υπάρχει έκθεση μέσω δίαιτας που αποτελείται από τρόφιμα επιβαρυμένα με εντομοκτόνα ή από παραμονή σε επιβαρημένο περιβάλλον. Ο τύπος της έκθεσης δίνει και μια ιδέα για τη διάρκεια, τη βαρύτητα των τυχόν αναπτυσσόμενων συμπτωμάτων, και γενικότερα της σοβαρότητας μιας ενδεχόμενης βλάβης. Τα πράγματα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκα στην περίπτωση χρόνιας και σε χαμηλά επίπεδα έκθεσης, όπου δεν υπάρχουν ξεκάθαρα συμπτώματα δηλητηρίασης.

Το κύριο μέλημα των επιστημόνων είναι η καθιέρωση ευαίσθητων εξειδικευμένων και αξιόπιστων βιοδεικτών έκθεσης. Ο πιο συνηθισμένος δείκτης έκθεσης στα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα είναι η μέτρηση της αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης, είναι όμως γενικά παραδεκτό ότι αυτός δεν είναι ένας ευαίσθητος δείκτης, ειδικά σε περιπτώσεις χρόνιας και σε χαμηλά επίπεδα έκθεσης.

Μελέτη που έχει γίνει από μια ομάδα Ούγγρων επιστημόνων (Desi et al, 1998) δείχνει ότι οι επαγγελματικά εκτιθέμενοι στα φυτοφάρμακα παρουσιάζουν ανωμαλίες στον αριθμό των χρωμοσωμάτων που προέρχονται από λεμφοκύτταρα του περιφερειακού αίματος. Κάποιοι επιστήμονες προκειμένου να αξιολογήσουν την έκθεση μετρούν την ποσότητα του αμετάβλητου χημικού που κυκλοφορεί στο αίμα, ενώ κάποιοι άλλοι αναπτύσσουν μεθόδους για τη μέτρηση μεταβολιτών στα

ούρα. Σε περιπτώσεις όπως των οργανοχλωριομένων έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι για την ανίχνευση τους στο λιπώδη ιστό, στο μητρικό γάλα, στο αίμα και σε τρίχες. Εκείνο που μένει σε εκκρεμότητα όμως είναι να βρεθεί κατά πόσο τα ανιχνευόμενα επίπεδα ουσιών σε αυτά τα υποστρώματα αντικατοπτρίζουν τη συνολική έκθεση του οργανισμού.

1.1.5. Τυπικές οδηγίες, μέτρα φύλαξης και προστασίας

1.1.5.α. Τυπικές οδηγίες καλής χρήσης φυτοφαρμάκων

Για την καλύτερη αποτελεσματικότητα αλλά και την αποφυγή ατυχημάτων ή δηλητηριάσεων κατά τη διάρκεια της χρήσης των φυτοφαρμάκων τα τυπικά μέτρα που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ως οδηγίες καλής χρήσης αυτών από τον εφαρμοστή τους, είναι τα παρακάτω.

- Στις εργασίες ψεκασμού ο χρήστης να χρησιμοποιεί τα κατάλληλα ψεκαστικά μηχανήματα και εργαλεία για κάθε περίπτωση, και με τις δόσεις που αναγράφονται στη συσκευασία. Πρέπει να τονιστεί ότι μεγαλύτερη δόση όχι μόνο δε φέρνει καλύτερα αποτελέσματα, αλλά πιθανό να επιφέρει αντίθετα αποτελέσματα.
- Ο ψεκασμός να γίνεται πάντα τις κατάλληλες ώρες της μέρας, με τη φορά του ανέμου και την κατάλληλη χρονική περίοδο. Αν χρειάζεται επανάληψη του ψεκασμού πρέπει να προσεχτεί το ενδιάμεσο χρονικό διάστημα που απαιτείται.
- Ο αριθμός των ψεκασμών να είναι ο απολύτως αναγκαίος και ο κατάλληλος για κάθε παράσιτο και ασθένεια.
- Τα ψεκαστικά βυτία δεν πρέπει να γεμίζονται από τις βρύσες της ύδρευσης, αλλά από κατάλληλες και ειδικές δημοτικές ή ιδιωτικές εγκαταστάσεις.
- Ο χρήστης πρέπει να παίρνει τα κατάλληλα μέτρα (ειδική αδιάβροχη στολή, γάντια, μάσκα και μπότες). Δεν πρέπει να τρώει, να πίνει ή να καπνίζει τόσο όταν ασχολείται με την προετοιμασία όσο και κατά τη διάρκεια του ψεκασμού.
- Τα κουτιά όπως και τα υπολείμματα των φυτοφαρμάκων δεν πρέπει να πετιούνται σε τυχαία μέρη. Πρέπει να καταστρέφονται σε ειδικό μέρος, γιατί υπάρχει σοβαρός κίνδυνος δηλητηρίασης και μόλυνσης του περιβάλλοντος.
- Μετά τη χρήση, όσα είδη ρουχισμού χρησιμοποιήθηκαν θα πρέπει να μαζευτούν και να πάνε για καθάρισμα, ενώ ο χρήστης θα πρέπει να κάνει μπάνιο.

1.1.5.β. Τυπικά μέτρα φύλαξης κατά τη χρήση φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα όπως διαπιστώσαμε χρησιμοποιούνται ευρέως στην αγροτική παραγωγή. Η συνύπαρξή μας μαζί τους δεν μπορεί να αποφθεχθεί, για αυτό θα πρέπει να γνωρίζουμε ποια μέτρα προφύλαξης πρέπει να παίρνουμε για την αποφυγή ατυχημάτων, ιδιαίτερα από τα μικρά παιδιά.

- Τα φάρμακα που αγοράζονται και μεταφέρονται με το αυτοκίνητο του χρήστη πρέπει να τοποθετούνται στο χώρο αποσκευών και όχι των επιβατών, όπου θα παραμείνουν μόνο για το χρονικό διάστημα της μεταφοράς τους.
- Πρέπει να δίνουμε ιδιαίτερη προσοχή σε συσκευασίες ελαττωματικές (όχι καλά κλεισμένα κουτιά, συσκευασίες που στάζουν).
- Τα φυτοφάρμακα δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα ή με άλλα αντικείμενα καθημερινής χρήσης, όπως εφημερίδες, ρούχα, παιχνίδια κ.ά.
- Η αποθήκευσή τους πρέπει να γίνεται σε απομονωμένο και καλά αεριζόμενο χώρο που κλειδώνει. Ο χώρος αυτός να είναι έξω από το σπίτι, χωρίς υγρασία και υψηλές θερμοκρασίες, ενώ δεν πρέπει να τοποθετούνται εκεί άλλα σκεύη ή είδη του σπιτιού, όπως ρούχα, απορυπαντικά κ.ά.
- Θα πρέπει να απαγορευτεί εντελώς στο χώρο αυτό η πρόσβαση στα παιδιά για παιχνίδι ή για οποιαδήποτε άλλη ασχολία τους.
- Μετά την αποθήκευσή τους ο χρήστης θα πρέπει να πλένει πολύ καλά τα χέρια του.

1.1.5.γ. Τυπικά μέτρα για τη προστασία του καταναλωτή αγροτικών προϊόντων

Υπάρχουν ορισμένες απλές ενέργειες που μπορούν να προστατεύσουν τον καταναλωτή από το κίνδυνο ύπαρξης υπολειμμάτων βλαβερών ουσιών στα τρόφιμα. Μερικές από αυτές είναι:

- Τα φρούτα και τα λαχανικά πρέπει να πλένονται καλά με αραιωμένο σαπούνι ή ξίδι.
- Η αποφλοίωση δεν είναι απαραίτητη, όταν γίνεται όμως μειώνει τα υπολείμματα που πιθανόν να υπάρχουν.
- Πριν το στύψιμο ορισμένων φρούτων καλό είναι να απομακρύνεται η φλούδα.
- Η αφαίρεση των εξωτερικών φύλλων από διάφορα λαχανικά όπως λάχανο, μαρούλι κ.ά. είναι χρήσιμη ενέργεια.
- Το ζεμάτισμα ή ο βρασμός πολλών λαχανικών μειώνει τα επίπεδα φυτοφαρμάκου σε αυτά.
- Η διατροφή μας με ποικιλία φρούτων ή λαχανικών μειώνει τον κίνδυνο αφού δε θα καταναλώνουμε ένα είδος στο οποίο μπορεί να υπάρχει συγκέντρωση ενός φυτοφαρμάκου.
- Δεν πρέπει με κανένα τρόπο να τρώμε φρούτα ή λαχανικά τα οποία θα συλλέξουμε από κάποιο χωράφι, χωρίς να ξέρουμε αν και πότε έχουν ραντιστεί με φυτοφάρμακα.
- Ιδιαίτερα τα παιδιά που μένουν σε χωριά και παίζουν κοντά σε περιοχές με δέντρα, θα πρέπει να αποφεύγουν να τρώνε φρούτα από τα δέντρα αυτά.

1.1.6. Βιολογική γεωργία

Η ανάγκη προστασίας του περιβάλλοντος σε συνδυασμό με τις απαιτήσεις των καταναλωτών για ασφαλή και υγιεινά προϊόντα έχουν οδήγησει τα τελευταία μόλις χρόνια στην προώθηση της βιολογικής γεωργίας. Σε μια βιολογική καλλιέργεια δεν χρησιμοποιούνται χημικές ή άλλες επικίνδυνες ουσίες και η προστασία των φυτών από τους εχθρούς τους γίνεται με βιολογικά μέσα.

Η βιολογική προστασία μιας αγροτικής καλλιέργιας στηρίζεται κυρίως στη βοήθεια των ωφέλιμων εντόμων ή άλλων οργανισμών (π.χ. πουλιά) τα οποία καταναλώνουν τους παρασιτικούς οργανισμούς. Ένα παράδειγμα αποτελούν οι πασχαλίτσες (Κοκκινέλλη η επτάστικτος, *Coccinella septempunctata*) και οι νύμφες-χρυσόπιλοι τα οποία τρώνε τη μελίγκρα.

Οι βιοκαλλιεργητές έχουν επίσης δοκιμάσει με πολύ καλά αποτελέσματα διάφορα εκχυλίσματα άγριων βοτάνων. Τα εκχυλίσματα αυτά είναι ακίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου, δεν αφήνουν υπολείμματα στα αγροτικά προϊόντα ενώ είναι δυνατό να παρασκευαστούν από τους ίδιους τους καλλιεργητές με μηδαμινά έξοδα.

Με τη βιολογική καλλιέργεια η διατηρήση της γονιμότητας του εδάφους, η αποφυγή της μόλυνσης και της ρύπανσης του περιβάλλοντος και η παραγωγή τροφίμων υψηλής βιολογικής αξίας μοιάζουν να συνδιάζονται, καθιστώντας την μια δραστηριότητα που ολοένα θα κερδίζει έδαφος τα επόμενα χρόνια. Οι παραγωγοί βλέπουν στη βιολογική γεωργία μια διέξοδο από τον ανταγωνισμό που θέλει να παράγουν όσο το δυνατό φθηνότερα γιατί δεν απαιτεί μεγάλα κεφάλαια ή τεχνογνωσία και γιατί τα προϊόντα βρίσκουν εύκολη διέξοδο στις αγορές, αφού τα τελευταία χρόνια αυξάνεται η ζήτησή τους.

Με τη βιολογική γεωργία βελτιώνεται η ποιότητα της καθημερινής ζωής των ανθρώπων και αναπτύσσεται θετική σχέση με το περιβάλλον. Η προώθηση της βιολογικής γεωργίας από το κράτος ή τους αρμόδιους φορείς και οργανισμούς ίσως στο μέλλον οδηγήσει στην ελαχιστοποίηση της επιβάρυνσης του περιβάλλοντος από τη χρήση των φυτοφαρμάκων, αλλά βελτιώσει και το βιοτικό επίπεδο των ανθρώπων.

1.2. Η ανάλυση της ανθρώπινης τρίχας

Η ανάλυση μη συνηθισμένων βιολογικών δειγμάτων (τρίχες, σάλιο, ιδρώτας, σπέρμα) έχει ήδη αποκτήσει ολοένα και περισσότερη βαρύτητα και βρίσκει εφαρμογές τόσο στην ιατρική και την εγκληματολογία, όσο και σε περιβαλλοντικές επιστήμες. Τα δείγματα αυτά μπορούν να παρέχουν επιπλέον πληροφορίες και έχουν αρκετά πλεονεκτήματα συγκρινόμενα με τα συνηθισμένα βιολογικά δείγματα, όπως το αίμα και τα ούρα (Kavvalakis and Tsatsakis, 2012). Πιο συγκεκριμένα η ανάλυση της τρίχας έχει το πλεονέκτημα ότι η λήψη του δείγματος δεν είναι επεμβατική, είναι εύκολη χωρίς να προκαλεί πόνο και σε περίπτωση που χρειαστεί είναι εφικτή η λήψη ένος δεύτερου δείγματος που θα παρέχει τις ίδιες πληροφορίες με το πρώτο. Τέλος τα δείγματα τρίχας μπορούν να φυλαχτούν για πολύ καιρό σε θερμοκρασία δωματίου, γεγονός που διασφαλίζει την μη αλλοίωση των ενδείξεων ανάλογα με την έρευνα που εκτελείται.

Βασικό χαρακτηριστικό των τριχών είναι ότι οι ουσίες που αποθηκεύονται εκεί παραμένουν παγιδευμένες στο υπόστρωμα για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Αυτό έγινε γνωστό, όταν αναλύθηκαν τρίχες από μούμιες που η ηλικία τους υπολογίζεται στα 4000 χρόνια και ανιχνεύτηκαν μεταβολίτες της κοκαΐνης (Baez *et al* 2000). Υπάρχουν δυο μηχανισμοί απορρόφησης και παγίδευσης ουσιών στην τρίχα. Ο ένας συμβαίνει κατά την κερατινοποίηση των καινούριων κυττάρων της τρίχας. Οι ουσίες που κυκλοφορούν στο αίμα εισχωρούν στην τρίχα μέσω του θυλακίου και παραμένουν παγιδευμένες σε συγκεκριμένα σημεία της τρίχας. Ο άλλος μηχανισμός έχει να κάνει με την εξωτερική εναπόθεση ουσιών που βρίσκονται είτε στο περιβάλλον είτε είναι διαλυμένες στον ιδρώτα ή στο σμήγμα που εκκρίνουν οι σμηγματογόνοι αδένες. Οι ουσίες που παγιδεύονται με το δεύτερο μηχανισμό, απομακρύνονται κατά την περιποίηση των μαλλιών (λούσιμο, κόψιμο, κτλ).

Η τεχνική της ανάλυσης της τρίχας, μετά από πολλές έρευνες που οδήγησαν στην επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας και την αξιοπιστία της ανάλυσης αυτής, βρίσκει ήδη εφαρμογή και διευκολύνει την έρευνα σε εγκληματολογικές περιπτώσεις, σε ιστορική έρευνα, σε περιπτώσεις αυτοψίας, σε περιπτώσεις υιοθεσίας, σε περιπτώσεις βιασμού, σε περιπτώσεις ελέγχου doping και σαν βοηθητικό στοιχείο σε μια σειρά δικαστικών υποθέσεων. Εκτός από τα παραπάνω, η ανάλυση τριχών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην ιατρική, σαν μέσο ελέγχου της συμμόρφωσης

ασθενών με χρόνια θεραπεία για διάφορες ασθένειες, ενώ έρευνες έχουν χρησιμοποιήσει αυτή τη τεχνική για την εκτίμηση επιβάρυνσης διαφόρων χημικών ουσιών στον άνθρωπο και τα ζώα (Tsatsakis et al. 2010, Kavvalakis and Tsatsakis 2012, Kavvalakis et al. 2013, Maravgakis et al. 2012).

Ο ρυθμός ανάπτυξης της τρίχας ποικίλει και ρόλο παίζουν διάφοροι παράγοντες, όπως για παράδειγμα το μέρος του σώματος που φύονται. Ένας μέσος ρυθμός ανάπτυξης που είναι γενικά αποδεκτός, ειδικά για τις τρίχες της κεφαλής είναι 1.0 ± 0.3 cm/μήνα. Αυτός ο ρυθμός χρησιμοποιείται ως δεδομένο στην τμηματική ανάλυση τριχών προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για την έκθεση σε χημικές ουσίες σε βάθος χρόνου. Για παράδειγμα, η ανάλυση μιας τρίχας συνολικού μήκους 10 cm μας δίνει πληροφορίες για την έκθεση του ατόμου τους 10 τελευταίους μήνες. Σε αυτό το παράδειγμα, στη ρίζα (1^{ο} εκατοστό) αντιστοιχεί η πιο πρόσφατη έκθεση ενώ στην άκρη (10^{ο} εκατοστό) εκείνη που έγινε στο απώτερο παρελθόν.

1.2.1. Ανατομία και φυσιολογία της ανθρώπινης τρίχας

Παρακάτω παρατίθενται στοιχεία που αφορούν στην ανατομία και φυσιολογία της τρίχας προκειμένου να γίνει πιο κατανοητός ο πιθανός μηχανισμός εναπόθεσης ουσιών σε αυτήν, καθώς και οι παράμετροι που ενδεχομένως επηρεάζουν την συγκέντρωση των ανιχνευόμενων ουσιών.

Σε ένα μη ειδικευμένο παρατηρητή η τρίχα μπορεί να φανεί σαν μια ομοιογενής δομή, η οποία διαφέρει ανάμεσα στους ανθρώπους μόνο στην ποσότητα και στο χρώμα. Στην πραγματικότητα όμως η τρίχα αποτελεί ένα πολύπλοκο τμήμα της ανθρώπινης ανατομίας, του οποίου η φυσιολογία και λειτουργία είναι μόνο μερικώς κατανοητά. Είναι απαραίτητο όμως να γνωρίζουμε στοιχειωδώς την ανατομία και φυσιολογία της ανθρώπινης τρίχας, προκειμένου να κατανοήσουμε και να αξιολογήσουμε σωστά τους παράγοντες που επηρεάζουν τα αποτελέσματα της ανάλυσης τριχών.

Η τρίχα αποτελείται από κυλινδρικές δομές ή στελέχη. Τα στελέχη δημιουργούνται από συμπιεσμένα κύτταρα που αναπτύσσονται από μικρά όργανα που μοιάζουν με σάκους και αποκαλούνται θυλάκια. Στον άνθρωπο η διάμετρος του κάθε στελέχους κυμαίνεται από 15-120 μm, ανάλογα με τον τύπο της τρίχας και την περιοχή του σώματος που εντοπίζεται το κάθε θυλάκιο. Η τρίχα περιέχει μια

οικογένεια πρωτεϊνών πλούσια σε θείο, τις κερατίνες. Μέσα στο στέλεχος η κερατίνη δημιουργεί μακριά ινίδια τα οποία δένονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς, καθώς και με δεσμούς άλλων τύπων που αναπτύσσονται ανάμεσα στις κερατίνες και σε άλλες πρωτεΐνες, δημιουργώντας μια πολύ σταθερή και ανθεκτική δομή.

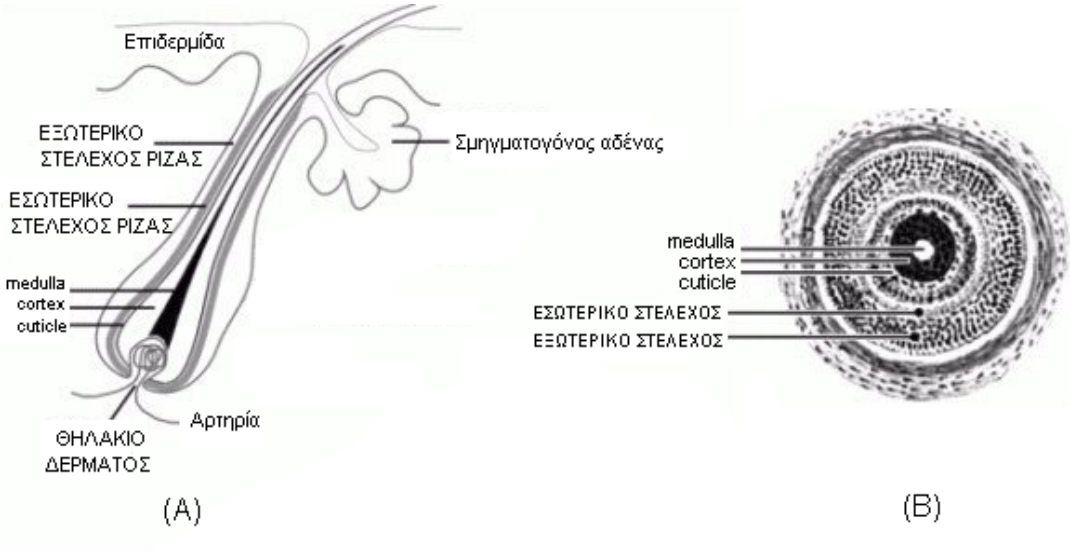
Κάθε στέλεχος αποτελείται από τρεις διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Ένα εξωτερικό φλοιό (cuticle) που περικλείει ένα κεντρικό cortex το οποίο με τη σειρά του περικλείει μια κεντρική medulla. Ο φλοιός της ανθρώπινης τρίχας αποτελείται από μακριά κύτταρα τα οποία βρίσκονται το ένα πάνω στο άλλο. Κάθε τέτοιο κύτταρο είναι περίπου 0.5-1.0 μm στο πάχος και περίπου 45 μm στο μήκος. Ο ρόλος του είναι να κρατά το στέλεχος στερεωμένο στο θυλάκιο και να προστατεύει τα εσωτερικά ινίδια. Ο φλοιός όμως μπορεί να καταστραφεί από χημικά, το φως τη θερμότητα αλλά και από μηχανικά αίτια. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια της συνέχειας της προστατευτικής μεμβράνης και την καταστροφή του στελέχους στο πιο απομακρυσμένο άκρο της τρίχας. Το cortex απαρτίζει τον κύριο όγκο του στελέχους και αποτελείται από μακριά κερατινοποιημένα κύτταρα, τα οποία σχηματίζουν ίνες μήκους περίπου 100 μm. Οι ίνες αυτές κρατούνται μαζί με ένα συγκολλητικό στρώμα που είναι γνωστό σαν σύμπλεγμα κυτταρικής μεμβράνης (Cell Membrane Complex). Ανάμεσα στα κύτταρα του cortex υπάρχουν μικρά διαστήματα αέρος. Στο ζωντανό μέρος της ρίζας της τρίχας αυτά τα διαστήματα είναι γεμάτα με υγρό, όσο όμως αναπτύσσεται η τρίχα και προχωρεί η διαδικασία της κερατινοποίησης, στεγνώνουν. Χρωμοφόρα σωματίδια είναι επίσης διάσπαρτα στο cortex. Ο τύπος των χρωστικών και η διάταξη τους δίνει το χρώμα στην τρίχα. Η μελανίνη, η κύρια χρωστική των μαλλιών των ματιών και του δέρματος συντίθεται σε ειδικά οργανίδια, τα μελανοσώματα, τα οποία εντοπίζονται στο θυλάκιο της τρίχας σε σωμάτια γνωστά σαν μελανοκύτταρα. Η μελανίνη συντίθεται από το αμινοξύ τυροσίνη με τη δράση του ενζύμου τυροσινάση. Το χρώμα των ανθρώπινων τριχών από άσπρο στο μαύρο, παράγεται από διαφορετικές ποσότητες, κατανομή και τύπο χρωστικών. Τα κύτταρα της medulla αυξάνουν σε αριθμό όσο αυξάνει η διάμετρος της τρίχας. Στην ανθρώπινη τρίχα τα κύτταρα αυτά αποτελούν μόνο ένα μικρό ποσοστό της συνολικής μάζας της τρίχας, και σε περιπτώσεις ιδιαίτερα λεπτών τριχών μπορεί και να απουσιάζουν εντελώς.

1.2.2. Χημική σύσταση των τριχών

Ουσιαστικά η τρίχα είναι ένα διασταυρούμενο, μερικώς κρυσταλλικό πολυμερές που περιέχει μεγάλο αριθμό λειτουργικών χημικών ομάδων (όξινοι, βασικοί και πεπτιδικοί δεσμοί) οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να δεσμεύουν μικρά μόρια. Η ανθρώπινη τρίχα αποτελείται περίπου από 65-95% πρωτεΐνες (λαμβάνοντας υπ' όψιν το ποσοστό υγρασίας), 15-35% νερό και 1-9% λιπίδια. Τα λιπίδια των τριχών προέρχονται από το σμήγμα και τις εκκρίσεις των αποκρινών αδένων και αποτελούνται από ελεύθερα λιπαρά οξέα, μόνο, δι- και τριγλυκερίδια, κηρούς υδατάνθρακες και αλκοόλες. Η ανθρώπινη τρίχα περιέχει αμινοξέα με πλευρικές αλυσίδες υδατανθράκων, θρεονίνη, ασπαρτικό και γλουταμικό οξύ, λυσίνη, κυστίνη, και τυροσίνη.

1.2.3. Το θυλάκιο της τρίχας

Τα θυλάκια των τριχών εντοπίζονται στο επιθήλιο της επιδερμίδας, σε βάθος 3-4 mm κάτω από την επιφάνεια του δέρματος (**Εικόνα 7**). Τα θυλάκια βρίσκονται σε στενή επαφή με δυο τύπους αδένων, τον σμηγματογόνο και τον αποκρινή. Στις περιοχές της μασχάλης και του εφηβαίου τα θυλάκια βρίσκονται σε επαφή και με άλλο ένα είδος ιδρωτοποιού αδένα, τον αποκρινή αδένα. Ο αποκρινής και ο σμηγματογόνος αδένας εκκρίνουν μέσα στο θυλάκιο. Αντίθετα ο εξωκρινής βρίσκεται κοντά στο θυλάκιο αλλά δεν εκκρίνει σε αυτό. Το θυλάκιο μπορεί να διαχωριστεί λειτουργικά σε τρεις ζώνες, κατά μήκος του άξονα του στελέχους της τρίχας. Η πρώτη ζώνη, μέσα και γύρω από το βολβό είναι το σημείο της βιολογικής σύνθεσης των κυττάρων των τριχών. Η επόμενη ζώνη αμέσως πάνω από το βολβό είναι αυτή της κερατινοποίησης, στην οποία η τρίχα κερατινοποιείται και σκληραίνει. Η τελική ζώνη είναι αυτή της μόνιμης τρίχας. Εδώ το στέλεχος αποτελείται από σκληρά, άνυδρα κύτταρα, τα οποία σχηματίζουν ινίδια που συγκρατούνται μεταξύ τους από εξωκυττάριο συνδετικό υλικό.



Εικόνα 7. Απεικόνιση (Α) τομής κατά μήκος του βολβού της τρίχας και (Β) διατομής της τρίχας.

Η ανάπτυξη της τρίχας ξεκινά στη βάση του θυλακίου. Καθώς τα κύτταρα διαιρούνται και μεγαλώνουν σε όγκο και μήκος ανεβαίνουν πάνω στην κερατογενή ζώνη. Εδώ τα κύτταρα συνθέτουν μελανίνη και αρχίζουν να κερατινοποιούνται. Σχηματίζονται ινίδια τα οποία σταθεροποιούνται με δισουλφιδικούς δεσμούς ανάμεσα σε αμινοξέα όπως η κυστίνη.

Τα θυλάκια περιστοιχίζονται από δύο πυκνά δίκτυα τριχοειδών αγγείων, το σχήμα των οποίων είναι διαφορετικό στα δραστήρια και τα αδρανή θυλάκια.. Το κατώτατο τρίτο ενός δραστήριου θυλακίου (από τη βάση μέχρι λίγο πάνω από το βολβό) περικλείεται από ένα πλούσιο πλέγμα αγγείων. Υπάρχει ένα επίσης πλούσιο πλέγμα αγγείων στο επίπεδο του σμηγματογόνου αδένα, το οποίο επεκτείνεται στην επιφάνεια του δέρματος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα και ο βολβός αλλά και ο σμηγματογόνος αδένας να έχουν πλούσια παροχή αίματος. Κατά την τελογεννή φάση ο βολβός της τρίχας δεν έχει την ίδια παροχή αίματος (Wolfarm 2003).

1.2.4. Κύκλος και ρυθμός ανάπτυξης της τρίχας

Η τρίχα δεν μεγαλώνει συνεχώς αλλά σε κύκλους οι οποίοι εναλλάσσονται ανάμεσα σε περιόδους ανάπτυξης και περιόδους ανάπαυσης. Η φάση του κύκλου της κάθε τρίχας είναι ανεξάρτητη από εκείνη ενός γειτονικού θυλάκου και είναι γνωστή ως μωσαϊκή ανάπτυξη. Υπάρχουν τρεις φάσεις:

Αναγενής - ανάπτυξη. Πολλαπλασιάζονται τα μητρικά κύτταρα του βολβού. Διαρκεί περισσότερο από τα άλλα στάδια. Κυμαίνεται από 2-6 έτη.

Καταγενής – αναστολή ανάπτυξης. Ο πολλαπλασιασμός των μητρικών κυττάρων σταματά, ο βολβός συρρικνώνεται και ανέρχεται προς την επιφάνεια. Διαρκεί από 2-3 εβδομάδες.

Τελογενής – περίοδος ηρεμίας. Ο κερατινοποιημένος βολβός του θυλάκου βρίσκεται πλέον ψηλά κοντά στην επιφάνεια της επιδερμίδας και σε αυτό το στάδιο νέος βολβός εμφανίζεται πίσω από τον προηγούμενο και ενώνεται με την παλιά θηλή στην οποία μεγαλώνει μια νέα τρίχα η οποία κατά την ανάπτυξη της σπρώχνει την παλιά μέχρι να πέσει.

Από το σύνολό τους, υπολογίζεται ότι ένα ποσοστό 80-85% βρίσκεται στην πρώτη φάση, 1-2% στη δεύτερη και 15-20% στην τρίτη. Εννοείται ότι σε παθολογικές καταστάσεις τα ποσοστά αλλάζουν με το πρώτο να υποχωρεί και τα άλλα δύο να αυξάνονται αντίστοιχα. Ο φυσιολογικός ρυθμός τριχόπτωσης είναι γύρω στις 100 ανά 24ωρο, ενώ μεγαλύτερα νούμερα θεωρούνται παθολογικά. Σε αρκετά άτομα η πτώση των τριχών μπορεί να παρουσιάζει μια εποχιακή διακύμανση.

Είναι συνήθως αποδεκτό ότι η τρίχα μεγαλώνει με ρυθμό περίπου 1 cm/μήνα. Αυτό όμως αποτελεί μια υπεραπλούστευση. Είναι δύσκολο να έχουμε ακριβείς τιμές για το ρυθμό ανάπτυξης των τριχών στους ανθρώπους. Δεν αναπτύσσονται όλες οι τρίχες με τον ίδιο ρυθμό και το ποσοστό των θυλακίων στην αναγενή φάση εξαρτάται από το σημείο του σώματος που βρίσκεται το θυλάκιο και την ηλικία. Για τις τρίχες της κεφαλής μόνο, υπάρχουν αναφορές για ρυθμό ανάπτυξης που ποικίλει από 0.6-3.36 cm/μήνα (Hops, 1977, Giovanoli-Jakubezak and Berg, 1974). Ο τύπος της τρίχας και το σημείο του σώματος που αναπτύσσεται το θυλάκιο είναι οι πιο σπουδαίοι παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης. Οι τρίχες της κεφαλής αναπτύσσονται γρηγορότερα από τις τρίχες στη μασχάλη ή στην ηβική χώρα, που με τη σειρά τους αναπτύσσονται γρηγορότερα από τις τρίχες της γενειάδας. Επιπλέον ο ρυθμός ανάπτυξης φαίνεται να εξαρτάται από τη φυλή, το φύλο και την ηλικία. Οι τρίχες της κεφαλής στις γυναίκες αναπτύσσονται γρηγορότερα από τις αντίστοιχες στους άντρες. Οι τρίχες της καυκάσιας φυλής αναπτύσσονται γρηγορότερα από τις αντίστοιχες των Ασιατών και γενικά ο ρυθμός ανάπτυξης φαίνεται να μειώνεται με την ηλικία. Σαν σημείο δειγματοληψίας έχει επικρατήσει το πίσω μέρος της κεφαλής επειδή εκεί υπάρχουν περισσότερα θυλάκια στην αναγενή φάση (περίπου 85%) και οι

τρίχες αναπτύσσονται με ταχύτερο ρυθμό από άλλα σημεία του σώματος. (Harkey, 1993).

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. Εισαγωγή

Η μαζική χρήση των φυτοφαρμάκων έδωσε νέα ώθηση στη γεωργία, η οποία αύξησε μεν το γεωργικό εισόδημα, αλλά παράλληλα δημιούργησε προβλήματα τόσο στην αγροτική εκμετάλλευση όσο και στο ευρύτερο περιβάλλον (νερό, έδαφος, άνθρωπος) (Abbott 1999, Abou-Arab 1999, Bai et al. 2006, Berdegui et al. 2005, Blasco et al. 2006, Conacher and Mess 1993, Toft et al. 2004, Tsatsakis and Tutudaki 2004). Κρατικοί και διεθνείς οργανισμοί έχουν θεσπίσει μέγιστα όρια υπολειμματικών ποσοτήτων (MRLs: Maximum Residue Levels) σε μια προσπάθεια ορθολογικής χρήσης των φυτοφαρμάκων και μείωσης της μεταφοράς υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στον ανθρώπινο οργανισμό (ΚΥΑ300481/1984, ΚΥΑ290341/1988, ΚΥΑ352654/1995, 2002/63/ΕΚ, ΚΥΑ85532/2001, ΚΥΑ236429/1983, 2005/396/ΕΚ, 86/362/EEC, 90/642/EEC, 91/414/EEC, Maroni et al. 2000, Covaci et al. 2002). Η έκθεση στα φυτοφάρμακα μπορεί να επηρεάσει ένα μεγάλο μέρος του ανθρώπινου πληθυσμού, όπως τους παραγωγούς και τις οικογένειες τους, αλλά και το τμήμα εκείνο του γενικού πληθυσμού που εκτίθεται σε αυτά (εμπορία φυτοφαρμάκων, οικιακή χρήση, εγγύτητα σε αγροτικό περιβάλλον και κατανάλωση επιμολυσμένων τροφίμων και νερού) (Toft et al. 2004, Maroni et al. 2000, Covaci et al. 2002). Η ελλιπής πληροφόρηση ή η λανθασμένη εκτίμηση επικινδυνότητας των φυτοφαρμάκων από τους παραγωγούς, είναι δυνατόν να επιβαρύνουν την προσωπική τους υγεία (Toft et al. 2004).

Ειδικά για την περιοχή της Ιεράπετρας (Λασιθίου, Κρήτης) όπου υπάρχει ευρεία χρήση των φυτοφαρμάκων λόγω εντατικών θερμοκηπιακών καλλιεργειών εδώ και 30 χρόνια περίπου και μεγάλο μέρος του πληθυσμού ασχολείται με τον πρωτογενή τομέα, υπάρχει μεγάλη πυκνότητα θερμοκηπίων πολλές φορές δίπλα σε κατοικίες, ρυάκια ή ποτάμια, είναι δυνατόν να υπάρχει πολλαπλάσια επικινδυνότητα και επιβάρυνση στον πληθυσμό αλλά και στο περιβάλλον ευρύτερα.

Η ευρύτερη περιοχή της Ιεράπετρας θα αποτελέσει το πεδίο διερεύνησης και δειγματοληψίας για τη συγκεκριμένη διατριβή, λόγω του μεγάλου αριθμού θερμοκηπίων (περίπου 15000 στρέμματα), του μεγάλου αριθμού παραγωγών (περίπου 2000) που ασχολούνται με τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες και λόγω της μεγάλης εξαγωγικής δραστηριότητας των παραγόμενων κηπευτικών σε χώρες της βόρειας Ευρώπης αλλά και στο εσωτερικό της Ελλάδας.

Το σχέδιο εργασίας της μελέτης χωρίζεται σε 3 φάσεις: Δειγματοληψία, Ανάλυση, Συσχέτιση - Πρόταση, ενώ το εργαστηριακό έργο θα γίνει στο Εργαστήριο Ποιότητας Τροφίμων (ΕΠΟΙΟΤ) του Κέντρου Τεχνολογικής Έρευνας (ΚΤΕ) του ΤΕΙ Κρήτης και στο Εργαστήριο Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Οι δαπάνες του έργου καλύφθηκαν από τις πιστώσεις του έργου «Υποστήριξη Πιστοποίησης Αγροτικών & Κτηνοτροφικών Προϊόντων», που διαχειρίζεται το Κέντρο Τεχνολογικής Έρευνας (ΚΤΕ) του ΤΕΙ Κρήτης και χρηματοδοτείται από τη Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Λασιθίου και το Δήμο Ιεράπετρας. Οι ανάγκες του έργου, όσον αφορά τον εργαστηριακό εξοπλισμό και τα αναλώσιμα, καλύφθηκαν από τα ήδη υπάρχοντα των προαναφερθέντων Εργαστηρίων.

2.1. Σκοπός και σπουδαιότητα της παρούσας μελέτης

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είχε ως σκοπό τη διερεύνηση του βαθμού επιβάρυνσης του περιβάλλοντος και των επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία (συσσώρευση φυτοφαρμάκων στον ανθρώπινο οργανισμό), από τη χρόνια και ευρεία χρήση φυτοφαρμάκων στον πρωτογενή αγροτικό τομέα (εντατικές θερμοκηπιακές καλλιέργειες) και ειδικά στην περιοχή της Ιεράπετρας.

Η αύξηση των προβλημάτων υγείας και ειδικότερα η αυξητική τάση εμφάνισης διαφόρων ειδών καρκίνου στην περιοχή καθώς και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες που εφαρμόζουν εντατικές θερμοκηπιακές καλλιέργειες ή χρησιμοποιούν φυτοφάρμακα (Carreno et al. 2007, Nasterlack 2007, Lo et al. 2006, Lee et al. 2006, Irigaray et al. 2006, Lauria et al. 2006, Bretveld et al.), καθιστούν επιτακτική την ανάγκη διερεύνησης της υποβάθμισης της Δημόσιας Υγείας στην ευρύτερη περιοχή της Ιεράπετρας.

Η συγκεκριμένη εργασία θα προσπαθήσει να απαντήσει σε διάφορα ερωτήματα όπως: βαθμός επιμόλυνσης παραγομένων γεωργικών προϊόντων, επιβάρυνση του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας από την χρόνια και εντατική χρήση των φυτοφαρμάκων.

Τα βασικά στάδια της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν τα παρακάτω:

I. Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα τριχών αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης.

II. Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα ούρων αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης.

III. Ανίχνευση φυτοφαρμάκων σε νωπά αγροτικά προϊόντα παραγωγών της Κρήτης.

Από τις παραπάνω επιμέρους μελέτες τα αποτελέσματα συγκεντρώθηκαν και αφού μελετήθηκαν μεμονωμένα, έγινε μια συνολική εκτίμηση της επιβάρυνσης του πληθυσμού της Κρήτης, ο οποίος αποτελεί ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα συνδιασμού εκτεθειμένων λόγω επαγγελματικής χρήσης και μη εκτεθειμένων κατοίκων σε φυτοφάρμακα.

Η ανίχνευση των δειγμάτων των νωπών αγροτικών προϊόντων επικεντρώθηκε κυρίως στις δυο βασικές κατηγορίες φυτοφαρμάκων: οργανοχλωριωμένα και οργανοφωσφορικά, τα οποία βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στις καλλιέργιες της περιοχής από όπου συλλέχθησαν. Από την άλλη μεριά, στα βιολογικά δείγματα που συλλέχθησαν (ούρα και τρίχες) των κατοίκων της περιοχής δόθηκε βάρος στην ανίχνευση των μη ειδικών μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών (DMP, DMTP, DEP, DETP).

ΜΕΛΕΤΗ Ι: Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα τριχών αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης.

Ι.α. Δειγματοληψία τριχών

Η δειγματοληψία τριχών σε αντιπροσωπευτικό δείγμα παραγωγών και κατοίκων της περιοχής της Ιεράπετρας πραγματοποιήθηκε κατά τη περίοδο 2008-2009. Κατά τη φάση της δειγματοληψίας συμπληρώθηκαν συγκεκριμένα ερωτηματολόγια που στόχευαν την διερεύνηση σε θέματα όπως: γνώσεις για φυτοφάρμακα και απαιτήσεις νομοθεσίας, χρήση φυτοφαρμάκων και προσωπική υγιεινή, διατροφικές συνήθειες, προσωπικά προβλήματα υγείας, ενώ φυσικά μέσω αυτού του ερωτηματολογίου καταγράφονταν και τα βασικά δημογραφικά στοιχεία κάθε συμμετέχοντα (βλ. Παράρτημα Π1, Π3). Οι συμμετέχοντες στη δειγματοληψία ενημερώθηκαν για το σκοπό της έρευνας και συνέναισαν εγγράφως για τη συμμετοχή τους σε αυτή.

Συνολικά συλλέχθησαν 120 δείγματα τριχών, εκ των οποίων 34 προέρχονταν από παραγωγούς-ψεκαστές (22 άνδρες και 12 γυναίκες) και 86 από κατοίκους (18 άνδρες και 68 γυναίκες) της περιοχής της Ιεράπετρας (ΚΑΠ). Η μέση ηλικία των ψεκαστών ήταν 53.6 ± 15.1 και των κατοίκων που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν 30.1 ± 12.0. Από τους ψεκαστές ένα μικρό ποσοστό 8.9% κατείχε δίπλωμα ανώτατης εκπαίδευσης (ΑΕΙ ή ΤΕΙ), ενώ το 52.9% είχε δευτερεύουσα μόρφωση (γυμνάσιο) και το 38.2% είχε είτε τη βασική (δημοτικό) ή καθόλου εκπαίδευση. Κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας, τρίχες κεφαλής κόπηκαν από το πίσω μέρος της κεφαλής του συμμετέχοντος και κοντά από τη ρίζα (βλ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Π2). Η ποσότητα που παραλήφθηκε ήταν αρκετή για την εργαστηριακή ανάλυση (τουλάχιστον 200 mg), τοποθετήθηκε σε φάκελο μαζί με το αντίστοιχο ερωτηματολόγιο και με κατάλληλη σήμανση μεταφέρθηκε στο εργαστήριο Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας (Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης) όπου και φυλάχθηκε σε θερμοκρασία δωματίου, μέχρι την ανάλυση. Το μέσο μήκος των δειγμάτων τριχών που συλλέχθησαν από τους ψεκαστές ήταν 8.2 cm (από 2 έως 20 cm), ενώ για τους κατοίκους της αγροτικής περιοχής ήταν 21.7 cm (από 1 έως 40 cm).

Ι.β. Αντιδραστήρια

Ο μη-ειδικός μεταβολίτης dimethyl phosphate (DMP, καθαρότητας 98%) προμηθεύτηκε από την εταιρία Acros Organics (Βέλγιο). Ο μεταβολίτης diethyl phosphate (DEP, καθαρότητας 98.9%) αγοράστηκε από την Chem Service (Η.Π.Α.). Οι μεταβολίτες και τα αντιδραστήρια O,O-diethylthiophosphate potassium salt (DETP, καθαρότητας 98%), diethyldithiophosphate salt (DEDTP, 95%), ανθρακικό κάλιο (K_2CO_3, καθαρότητας 99%) και 2,3,4,5,6-pentafluorobenzylbromide (PFBBr, καθαρότητας 99%) αγοράστηκαν από την εταιρία Sigma–Aldrich (Η.Π.Α). Ο διαλύτης toluene (C_7H_8, καθαρότητας 99.5%) προμηθεύτηκε από την Merck (Γερμανία). Ο διαλύτης acetonitrile (CH_3CN, καθαρότητας HPLC) αγοράστηκε από την Roth (Γερμανία). Και τέλος το dibutyl phosphate (DBP, καθαρότητας 97%) το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο αγοράστηκε από την εταιρία Fluka (Γερμανία).

Ι.γ. Εκχύλιση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από τις τρίχες

Ι.γ.i. Πρότυπα διαλύματα

Πρότυπα μεθανολικά διαλύματα συγκέντρωσης 1 mg/ml από κάθε αναλύτη ετοιμάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -20°C. Ένα επίσης μεθανολικό πολυσυστατικό διάλυμα των αναλυτών (DMP, DEP, DETP και DEDTP) παρασκευάστηκε σε συγκέντρωση 10 μg/ml. Από αυτό με τις απαραίτητες αραιώσεις ετοιμάστηκαν μεθανολικά διαλύματα των αναλυτών στο εύρος των συγκεντρώσεων 0 έως 500 ng/ml (και πιο αναλυτικά στις συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250 και 500 ng/ml), τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα διαλύματα κατά την ανάλυση. Όλα τα παραπάνω διαλύματα φυλάσσονταν στους 4°C, μακρυά από φως.

Ι.γ.ii.Φορτισμένα δείγματα

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Society of Hair Testing (SoHT 2004) ετοιμάστηκαν και φορτισμένα (spiked) δείγματα τριχών. Δείγματα τριχών που είχαν

ελεγχθεί προηγουμένως και δεν περιείχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα των μετρούμενων ουσιών χρησιμοποιήθηκαν ώς τυφλά δείγματα (blank). Αφού τα δείγματα αυτά ομογενοποιήθηκαν και πλύθηκαν όπως περιγράφεται παρακάτω στο στάδιο της απομάκρυνσης της εξωτερικής επιμόλυνσης, ζυγίστηκαν 100 mg τρίχας για κάθε φορτισμένο δείγμα. Συνολικά ετοιμάστηκαν 6 φορτισμένα δείγματα με συγκεντρώσεις αναλυτών 0, 25, 50, 100, 250 και 500 pg/mg. Τα φορτισμένα δείγματα ακολούθησαν την ίδια διαδικασία με τα πραγματικά δείγματα και χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.

Ι.γ.iii.Εκχύλιση τριχών

Για την εκχύλιση των μετρούμενων ουσιών από τα πραγματικά δείγματα τριχών ακολουθήθηκε η πειραματική διαδικασία που προτείνεται από την μελέτη του Τσατσάκη και των συνεργατών του (Tsatsakis et al. 2010). Συγκεκριμένα, πριν την εκχύλιση των δειγμάτων προηγήθηκε ένα στάδιο απομάκρυνσης τυχών εξωτερικών επιμολύνσεων της τρίχας. Το στάδιο αυτό συμπεριλάμβανε ένα δεκάλεπτο πλύσιμο κάθε δείγματος με απιονισμένο νερό και έπειτα ένα γρήγορο ξέπλυμα με μεθανόλη. Κατόπιν κάθε δείγμα τρίχας στέγνωσε σε φούρνο σε θερμοκρασία περίπου 50°C. Μετά το στάδιο αυτό, 100 mg δείγματος τρίχας ζυγίστηκαν και επωάστηκαν σε ένα υδατόλουτρο υπερήχων με προσθήκη 2 ml μεθανόλης για 4 ώρες. Κατόπιν ακολούθησε μηχανική υγρή-στερεή εκχύλιση για 30 λεπτά. Το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στις 4000 rpm για 5 λεπτά και το υπερκείμενο πέρασε διαμέσου φίλτρων πόρων διαμέτρου 0.2 μm. Ο διαλύτης εξατμίστηκε πλήρως υπό στρώμα αζώτου (σε θερμοκρασία δωματίου), αφού πρώτα είχαν προστεθεί 15 mg K_2CO_3.

Εκτός από τα πραγματικά δείγματα τριχών, η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα φορτισμένα δείγματα τριχών.

Ι.γ.iv.Παραγωγοποίηση

Στο στερεό υπόλλειμα που είχε προκύψει από την παραπάνω πειραματική διαδικασία, προστέθηκαν άλλα 15 mg K_2CO_3, 1 ml ακετονιτρίλιο και 0.1 ml διαλύματος pentafluorobenzylbromide σε ακετονιτρίλιο (αναλογία 1:3, v/v) και το

μίγμα επωάστηκε σε υδατόλουτρο στους 80ºC για 30 λεπτά. Ενδιάμεσα το μίγμα ανακινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά τη πάροδο των 30 λεπτών το μίγμα επανήλθε σε θερμοκρασία δωματίου και τελικά εξατμίστηκε έως ξηρού υπό στρώμα αζώτου. Το τελικό ίζημα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε 100 μl τολουενίου και 1 μl εισήχθει στο σύστημα GC-MS για χρωματογραφική ανάλυση.

Εκτός από τα πραγματικά δείγματα τριχών, η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε τόσο για τα πρότυπα διαλύματα όσο και για τα φορτισμένα δείγματα τριχών.

Ι.δ. Ανάλυση με GC-MS

Για την ανάλυση των τελικών παραγωγοποιημένων εκχυλισμάτων από τα δείγματα των τριχών χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC–MS) με electron ionization (EI) (GC–MS system QP-2010, Shimadzu). Το σύστημα αυτό ήταν εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη (AOC-5000) ενώ η παραμετροποίηση του οργάνου και επεξεργασία των χρωματογραφημάτων και φασμάτων μάζας έγινε με χρήση του λογισμικού LabSolutions (Version 2.70, Shimadzu).

Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των ουσιών ήταν τύπου BPX5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) τριχοειδής στήλη της εταιρίας SGE (Αυστραλία). Ήλιο υψηλής καθαρότητας (99.999%) και με γραμμική ταχύτητα 1 ml/min χρησιμοποιήθηκε σαν το φέρον αέριο. Ένα μικρόλιτρο του τελικού διαλύματος εισήχθη με ένεση σε splitless mode και αναλύθηκε κάτω από τις ακόλουθες συνθήκες:

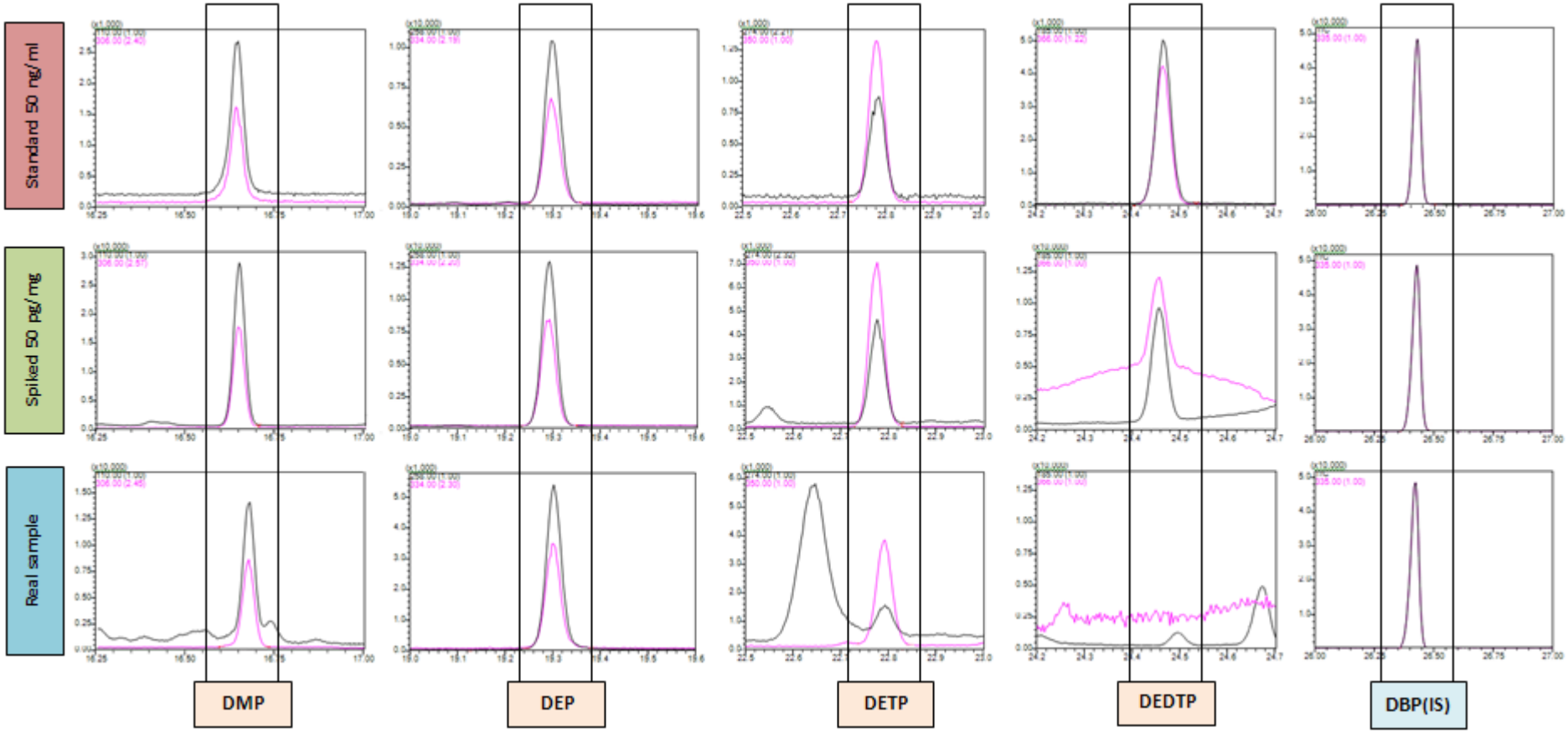
Το πρόγραμμα θερμοκρασίας της στήλης ξεκινούσε από τους 60ºC όπου και παρέμενε για 1 min, αυξανόταν στους 180ºC με βήμα 20ºC/min, σταθερό για 1 min, έπειτα αυξανόταν στους 250ºC με βήμα 4ºC/min, σταθερό για 1 min, και τελικά αυξάνονταν στους 300ºC, με βήμα 25ºC/min, όπου και παρέμενε για 2 min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 270ºC. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς (transfer line) ήταν 300ºC. Όσον αφορά το φασματογράφο μάζας η θερμοκρασία της πηγής ιόντων (ion source) ήταν 230ºC. Ο φασματογράφος μάζας ήταν προγραμματισμένος να ανιχνεύει συγκεκριμένα ιόντα (selected ion monitoring mode ή SIM) τα οποία ορίστηκαν m/z 306 και 110 για το DMP, 258 και 334 για το DEP, 350 και 274 για το DETP, 366 και 185 για το DEDTP και 335 για το DBP (Πίνακας

2). Κάτω από τις προαναφερόμενες συνθήκες ο χρόνος έκλουσης για το DMP ήταν 17.3 min, για το DEP ήταν 19.8 min, για το DETP ήταν 23.4 min, για το DEDTP ήταν 25.0 min, ενώ για το DBP που ήταν το εσωτερικό standard (IS) ήταν 27.0 min (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Χρόνος έκλουσης και ιόντα ποσοτικοποίησης και επιβεβαίωσης για κάθε ουσία προς ανάλυση.

Σύντμηση	**Αναλύτης**	**Rt (min)**	**m/z ποσοτικοποίησης**	**m/z επιβεβαίωσης**
DMP	Dimethylphosphate	17.3	306	110
DEP	Diethylphosphate	19.8	258	334
DETP	Diethylthiophosphate	23.4	350	274
DEDTP	Diethyldithiophosphate	25.0	366	185
DBP (Ε.Π.)	Dibutylphosphate	27.0	335	-

Ενδεικτικά παρατίθενται στην Εικόνα 8, χρωματογραφήματα ενός πρότυπου διαλύματος μίγματος των αναλυόμενων μεταβολιτών συγκέντρωσης 50 ng/ml, ενός φορτισμένου δείγματος με το σύνολο των αναλυόμενων μεταβολιτών στο επίπεδο συγκέντρωσης 50 pg/mg και χρωματογράφημα από ένα τυχαίο πραγματικό δείγμα τριχών θετικό για τους μεταβολίτες DMP, DEP, DETP και DEDTP.



Εικόνα 8. Χρωματογραφήματα ενός πρότυπου διαλύματος μίγματος DMP, DEP, DETP, DEDTP συγκέντρωσης 50 ng/ml (πάνω), ενός φορτισμένου δείγματος με τους παραπάνω μεταβολίτες σε συγκέντρωση 50 pg/mg (μέση) και ενός πραγματικού δείγματος τριχών (κάτω) θετικό για DMP, DEP και DETP .

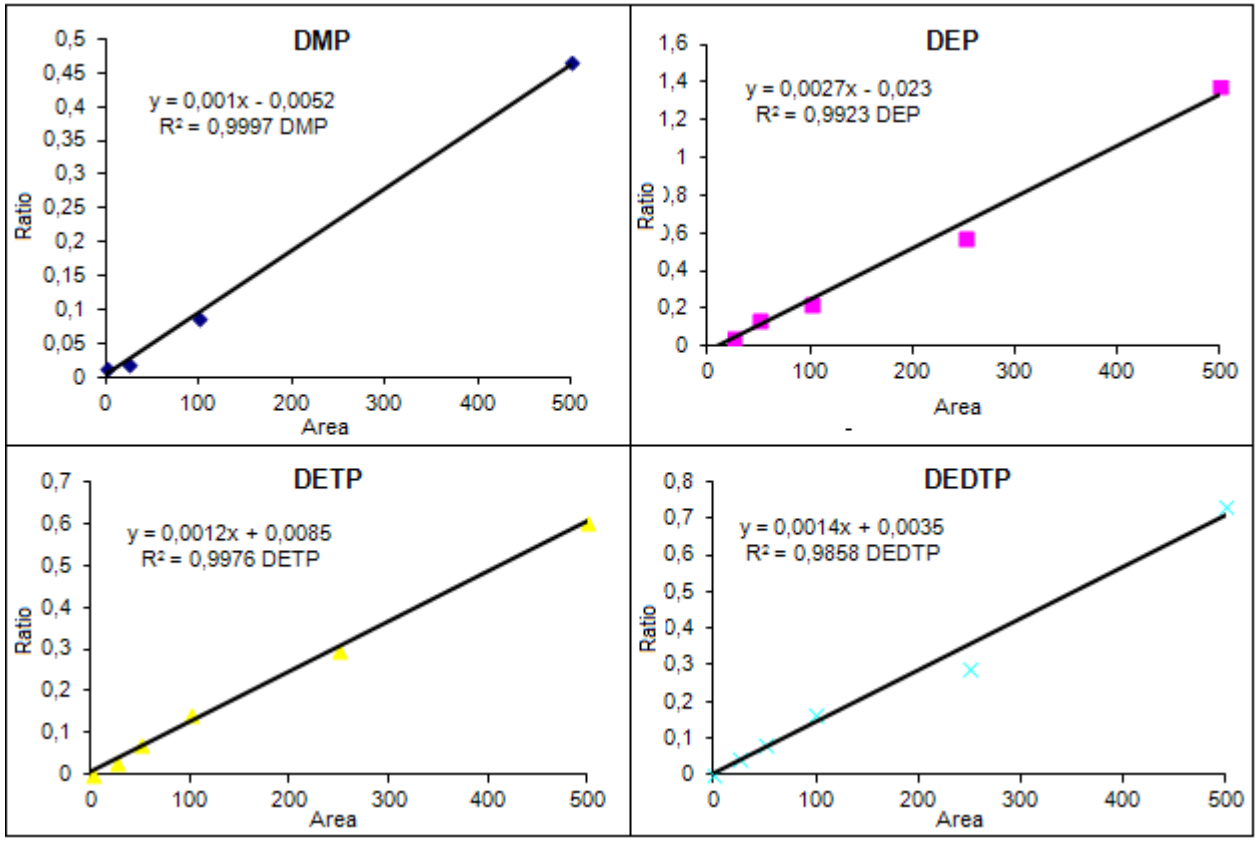
Ι.ε. Αναλυτικοί παράμετροι αξιολόγησης της εφαρμοζόμενης μεθόδου

Διάφοροι αναλυτικοί παράμετροι ελέγχθηκαν πριν και κατά την διάρκεια των αναλύσεων των δειγμάτων τριχών για τον έλεγχο της εφαρμοζόμενης αναλυτικής μεθόδου, σύμφωνα με αντίστοιχες δημοσιεύσεις παρόμοιων εργασιών (Tsatsakis et al. 2010). Συγκεκριμένα, οι παράμετροι που ελέγχθηκαν ήταν: όρια ανίχνευσης (limits of detection, LOD), όρια ποσοτικοποίησης (limis of qualification, LOQ), γραμμικότητα πρότυπων διαλυμάτων (linearity, r^2), γραμμικότητα φορτισμένων δειγμάτων (linearity, r^2) (Εικόνα 9), ανακτήσεις εκχύλισης (% recovery), ακρίβεια (% accuracy) και πιστότητα (precision). Οι παραπάνω παράμετροι κρίθηκαν ικανοποιητικοί για την ανάλυση των πραγματικών δειγμάτων τριχών και παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Βασικοί αναλυτικοί παράμετροι της εφαρμοζόμενης μεθόδου για τα δείγματα τριχών.

Αναλύτης	**r^2 πρότυπων**	**r^2 φορτισμένων**	**LOD#**	**LOQ#**	**ανάκτηση (%)**	**Πιστότητα (%RSD)**	**ακρίβεια (%)**
DMP	0.9998	0.9997	4.2	9	106.8	16.3	102.8
DEP	0.9988	0.9923	2.6	5.5	92.0	14.3	109.9
DETP	0.9989	0.9976	2.4	5.2	89.1	8.8	104.0
DEDTP	0.9995	0.9858	1.4	2.6	74.9	22.7	109.8

pgmg



Εικόνα 9. Πρότυπες καμπύλες φορτισμένων δειγμάτων τρίχας για τους μη ειδικούς μεταβολίτες DMP, DEP, DETP και DEDTP.

Ι.στ. Αποτελέσματα

Οι μέσες ανιχνεύομενες συγεκντρώσεις των μεταβολιτών DMP, DEP, DETP και DEDTP στα συλλεχθήσαν δείγματα τριχών ψεκαστών ήταν 113.4 ± 71.1 pg/mg για το DMP, 29.1 ± 38.4 pg/mg για το DEP, 43.0 ± 58.7 pg/mg για το DETP και 1.0 ± 0.8 pg/mg για το DEDTP. Οι αντίστοιχες μέσες συγκεντρώσεις για την ομάδα των ΚΑΠ ήταν 32.6 ± 17.2, 14.0 ± 13.1, 9.1 ± 8.1 και <LOD pg/mg, αντίστοιχα. Για το σύνολο των ανιχνευόμενων μεταβολιτών (ΣDAPs) η μέση ανιχνευόμενη τιμή για τους ψεκαστές ήταν 186.4 pg/mg, ενώ για τους ΚΑΠ 56.5 pg/mg (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Αποτελέσματα ανιχνευόμενων τιμών για τους μη ειδικούς μεταβολίτες οργανοφωσφορικών μεταβολιτών (DMP, DEP, DETP, DEDTP) για τα δείγματα τριχών ψεκαστών και κατοίκων αγροτικής περιοχής.

Αναλύτης	Πληθυσμιακή ομάδα	% θετικά δείγματα	Μέση συγκέντρωση*	*p* value
DMP	*Ψεκαστές*	100	113.4±71.1	<0.001
	ΚΑΠ	100	32.6±17.2	
DEP	*Ψεκαστές*	100	29.1±38.4	0.014
	ΚΑΠ	100	14.0±13.1	
DETP	*Ψεκαστές*	91	43.0±58.7	0.002
	ΚΑΠ	93	9.1±8.1	
DEDTP	*Ψεκαστές*	9	1.0±0.8	0.005
	ΚΑΠ	ND	ND	
ΣDAPs	*Ψεκαστές*	100#	186.4±99.7	<0.001
	ΚΑΠ	100#	56.5±23.6	

ΣDAPs: σύνολο των DMP, DEP, DETP και DEDTP, ΚΑΠ: Κάτοικοι Αγροτικής Περιοχής

**pg/mg, #θετικό τουλάχιστον για έναν μεταβολίτη*

Ι.ζ. Συζήτηση

Σχετικά με τα ανιχνευόμενα επίπεδα των μη ειδικών μεταβολιτών των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων (DMP, DEP, DETP, DEDTP), παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που προέρχονταν από ψεκαστές και από ΚΑΠ (Πίνακας 4). Αυτό θα μπορούσε κάλλιστα να αποδοθεί στην εκτεταμένη παρελθοντική χρήση και εφαρμογή φυτοπροστατευτικών, από την ομάδα των ψεκαστών, που δίνουν τους συγκεκριμένους μεταβολίτες. Πρέπει να σημειωθεί εδώ, ότι οι άλλες δύο μεθυλικές διαλκυλοφωσφίνες (DMTP και DMDTP), δεν συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση των δειγμάτων, λόγω προηγούμενων σχετικών μελετών που τόνισαν ότι η ανίχνευση του DMP είναι πιο αντιπροσωπευτική για την ομάδα των διμεθυλοφωσφινών, μιας και είναι ο πιο κοινώς και ευρέως ανιχνευόμενος μεταβολίτης από αυτούς της κατηγορίας του [Kavvalakis and Tsatsakis 2012, Maravgakis et al. 2012].

Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε επίσης και για το σύνολο των μεταβολιτών (ΣDAPs) ($p<0.001$) μεταξύ των δύο ομάδων πληθυσμού.

Η συχνότητα ανίχνευσης όμως για τους μεταβολίτες DMP, DEP και DETP ήταν αρκετά υψηλή, τόσο για τους ψεκαστές (91-100%) όσο και για τους κατοίκους (93-100%). Αντιθέτως για το DEDTP, η συχνότητα ανίχνευσης ήταν αρκετά χαμηλότερη και για τις δύο πληθυσμιακές ομάδες (9% ανίχνευση για τους ψεκαστές, 0% για τους κατοίκους).

ΜΕΛΕΤΗ ΙΙ: Ανίχνευση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων σε δείγματα ούρων αγροτικού πληθυσμού της Κρήτης.

ΙΙ.α. Δειγματοληψία ούρων

Συνολικά συλλέχθησαν 68 δείγματα ούρων, εκ των οποίων 31 προέρχονταν από παραγωγούς και 37 από κατοίκους της περιοχής της Ιεράπετρας (ΚΑΠ). Κάθε συμμετέχων κλήθηκε μετά την συμπλήρωση του ερωτηματολογίου (συνέντευξη), να παραδώσει δείγμα ούρων σε ειδικά αποστειρωμένο πλαστικό δοχείο. Τα δοχεία συγκεντρώθηκαν με το πέρας της διαδικασίας και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας (Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης) όπου και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία -20°C, μέχρι την ανάλυση.

ΙΙ.β. Εκχύλιση μη-ειδικών μεταβολιτών οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων από τα ούρα

ΙΙ.β.i. Πρότυπα διαλύματα

Πρότυπα μεθανολικά διαλύματα συγκέντρωσης 1 mg/ml από κάθε αναλύτη ετοιμάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -20°C. Ένα επίσης μεθανολικά διάλυμα μίγμα των αναλυτών (DMP, DEP, DETP και DEDTP) παρασκευάστηκε σε συγκέντρωση 10 μg/ml. Από αυτό με τις απαραίτητες αραιώσεις ετοιμάστηκαν μεθανολικά διαλύματα των αναλυτών στο εύρος των συγκεντρώσεων 0 έως 500 ng/ml (και πιο αναλυτικά στις συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250 και 500 ng/ml), τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα διαλύματα κατά την ανάλυση. Όλα τα παραπάνω διαλύματα φυλάσσονταν στους 4°C, μακρυά από φως.

ΙΙ.β.ii. Φορτισμένα δείγματα

Εκτός από τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν και φορτισμένα (spiked) δείγματα ούρων. Δείγματα ούρων που είχαν ελεγχθεί προηγουμένως και περιείχαν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα των μετρούμενων ουσιών (<LOD) χρησιμοποιήθηκαν ως τυφλά

δείγματα (blank). Συνολικά παρασκευάστηκαν 6 φορτισμένα δείγματα με συγκεντρώσεις αναλυτών 0, 1.0, 2.5, 5.0, 10, 20 και 100 ng/ml. Τα φορτισμένα δείγματα ακολούθησαν την ίδια διαδικασία με τα πραγματικά δείγματα και χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.

ΙΙ.β.iii.Εκχύλιση ούρων

Σε 2 ml δείγματος ούρων προστέθηκαν 4 g χλωριούχο νάτριο, 1 ml υδροχλωρικό οξύ 6 M και 50 mg $Na_2S_2O_5$. Ακολούθησε εκχύλιση με 4 ml μίγματος οργανικών διαλυτών διαιθυλαιθέρας:ακετονιτρίλιο (αναλογία 1:1, v/v) για 5 λεπτά. Απομονώθηκε η οργανική στοιβάδα με φυγοκέντριση στις 4000 rpm για 5 min και επαναλήφθηκε άλλη μια φορά η υγρή-υγρή εκχύλιση με άλλα 4 ml διαιθυλαιθέρα:ακετονιτριλίου (αναλογία 1:1, v/v) για 5 λεπτά. Οι δύο οργανικές στοιβάδες αναμίχθηκαν και αφού προστέθηκαν σε αυτές 15 mg K_2CO_3, εξατμίστηκαν στους 35°C κάτω από στρώμα αζώτου μέχρι ξηρού.

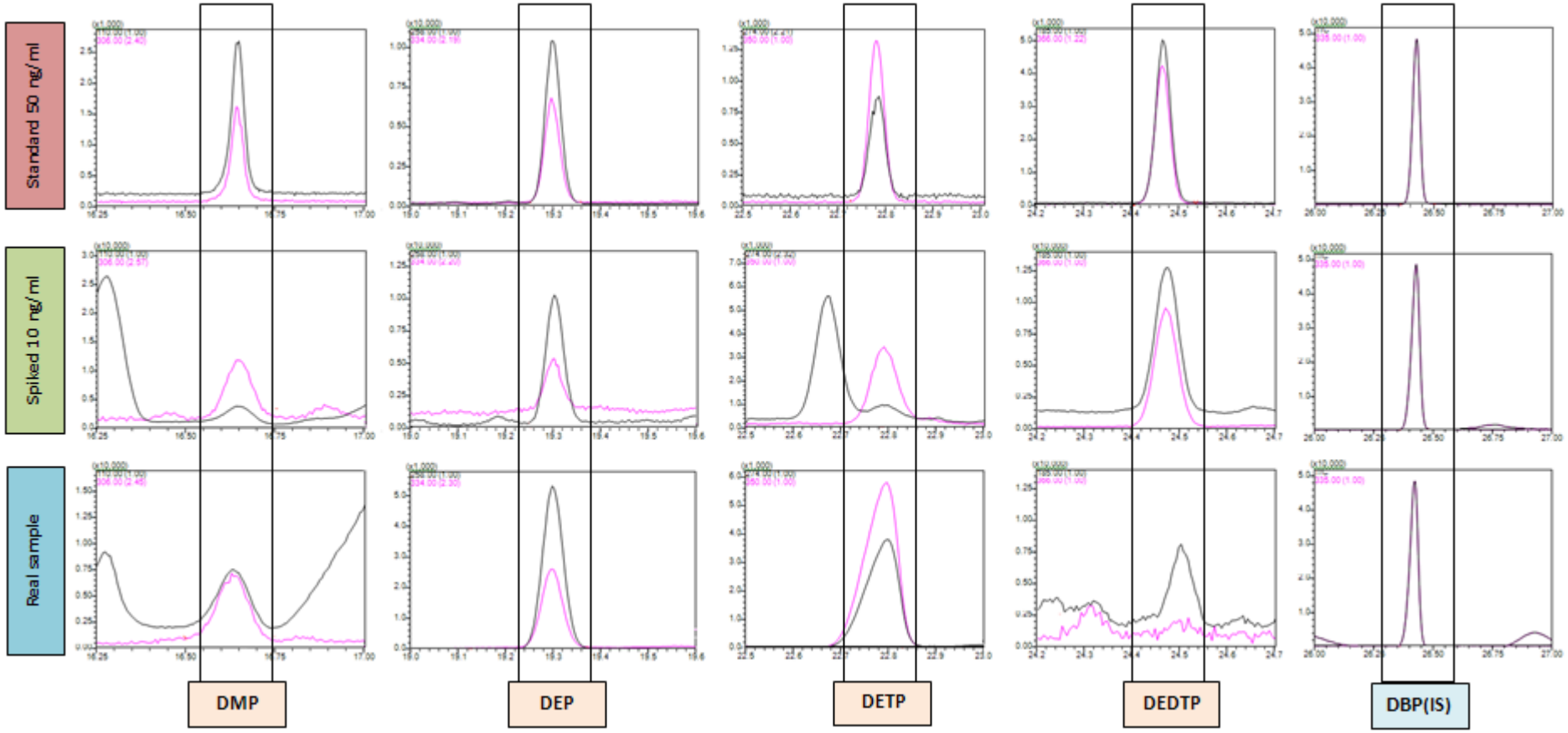
ΙΙ.β.iv.Παραγωγοποίηση

Στο στερεό υπόλειμμα που είχε προκύψει από την παραπάνω πειραματική διαδικασία, προστέθηκαν άλλα 15 mg K_2CO_3, 1 ml ακετονιτρίλιο και 0.1 ml διαλύματος pentafluorobenzylbromide σε ακετονιτρίλιο (αναλογία 1:3,v/v) και το μίγμα επωάστηκε σε υδατόλουτρο στους 80°C για 30 λεπτά. Ενδιάμεσα το μίγμα ανακινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Μετά τη πάροδο των 30 λεπτών το μίγμα ήρθε σε θερμοκρασία δωματίου με τη βοήθεια παγόλουτρου και τελικά εξατμίστηκε έως ξηρού υπό στρώμα αζώτου. Το τελικό ίζημα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε 100 μl τολουενίου και 1 μl εισήχθει στο σύστημα GC-MS για χρωματογραφική ανάλυση.

Εκτός από τα πραγματικά δείγματα ούρων, η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε τόσο για τα πρότυπα διαλύματα όσο και για τα φορτισμένα δείγματα ούρων. Οι παράμετροι ανάλυσης παραμένουν οι ίδιοι με αυτούς της διαδικασίας της τρίχας.

Ενδεικτικά παρατίθενται στην Εικόνα 10, χρωματογραφήματα ενός πρότυπου διαλύματος μίγματος των αναλυόμενων μεταβολιτών συγκέντρωσης 50 ng/ml, ενός φορτισμένου δείγματος με το σύνολο των αναλυόμενων μεταβολιτών στο επίπεδο

συγκέντρωσης 10 ng/ml και χρωματογράφημα από ένα τυχαίο πραγματικό δείγμα τριχών.



Εικόνα 10. Χρωματογραφήματα ενός πρότυπου διαλύματος μίγματος DMP, DEP, DETP, DEDTP συγκέντρωσης 50 ng/ml (πάνω), ενός φορτισμένου δείγματος με τους παραπάνω μεταβολίτες σε συγκέντρωση 10 ng/ml (μέση) και ενός πραγματικού δείγματος ούρων (κάτω)

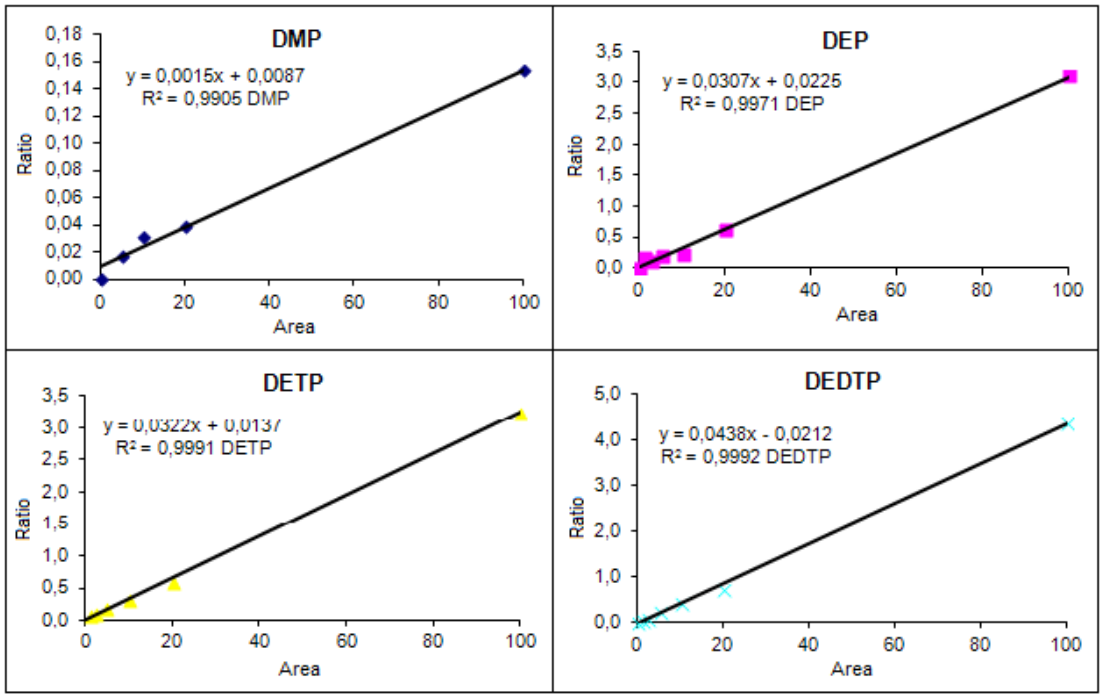
ΙΙ.γ. Αναλυτικοί παράμετροι αξιολόγησης της εφαρμοζόμενης μεθόδου

Διάφοροι αναλυτικοί παράμετροι ελέγχθηκαν πριν και κατά την διάρκεια των αναλύσεων των δειγμάτων ούρων για τον έλεγχο της εφαρμοζόμενης αναλυτικής μεθόδου, σύμφωνα με αντίστοιχες δημοσιεύσεις παρόμοιων εργασιών (Ueyama et al. 2006). Συγκεκριμένα, οι παράμετροι που ελέγχθηκαν ήταν: όρια ανίχνευσης (limits of detection, LOD), όρια ποσοτικοποίησης (limis of qualification, LOQ), γραμμικότητα πρότυπων διαλυμάτων (linearity, r^2), γραμμικότητα φορτισμένων δειγμάτων (linearity, r^2) (Εικόνα 11), ανακτήσεις εκχύλισης (% recovery), ακρίβεια (% accuracy) και πιστότητα (precision). Οι παραπάνω παράμετροι κρίθηκαν ικανοποιητικοί για την ανάλυση των πραγματικών δειγμάτων τριχών και παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Βασικοί αναλυτικοί παράμετροι της εφαρμοζόμενης μεθόδου για τα δείγματα ούρων.

Αναλύτης	r^2 πρότυπων	r^2 φορτισμένων	LOD#	LOQ #	Ανάκτηση (%)	Πιστότητα (%RSD)	Ακρίβεια (%)
DMP	0.9998	0.9905	0.06	0.20	83.0	15.1	116.4
DEP	0.9988	0.9971	0.02	0.08	92.0	18.7	92.9
DETP	0.9989	0.9991	0.03	0.10	101.7	19.0	94.1
DEDTP	0.9995	0.9992	0.05	0.18	90.7	9.7	93.4

ng/ml



Εικόνα 11. Πρότυπες καμπύλες φορτισμένων δειγμάτων ούρων για τους μη ειδικούς μεταβολίτες DMP, DEP, DETP και DEDTP.

ΙΙ.δ. Αποτελέσματα και συζήτηση

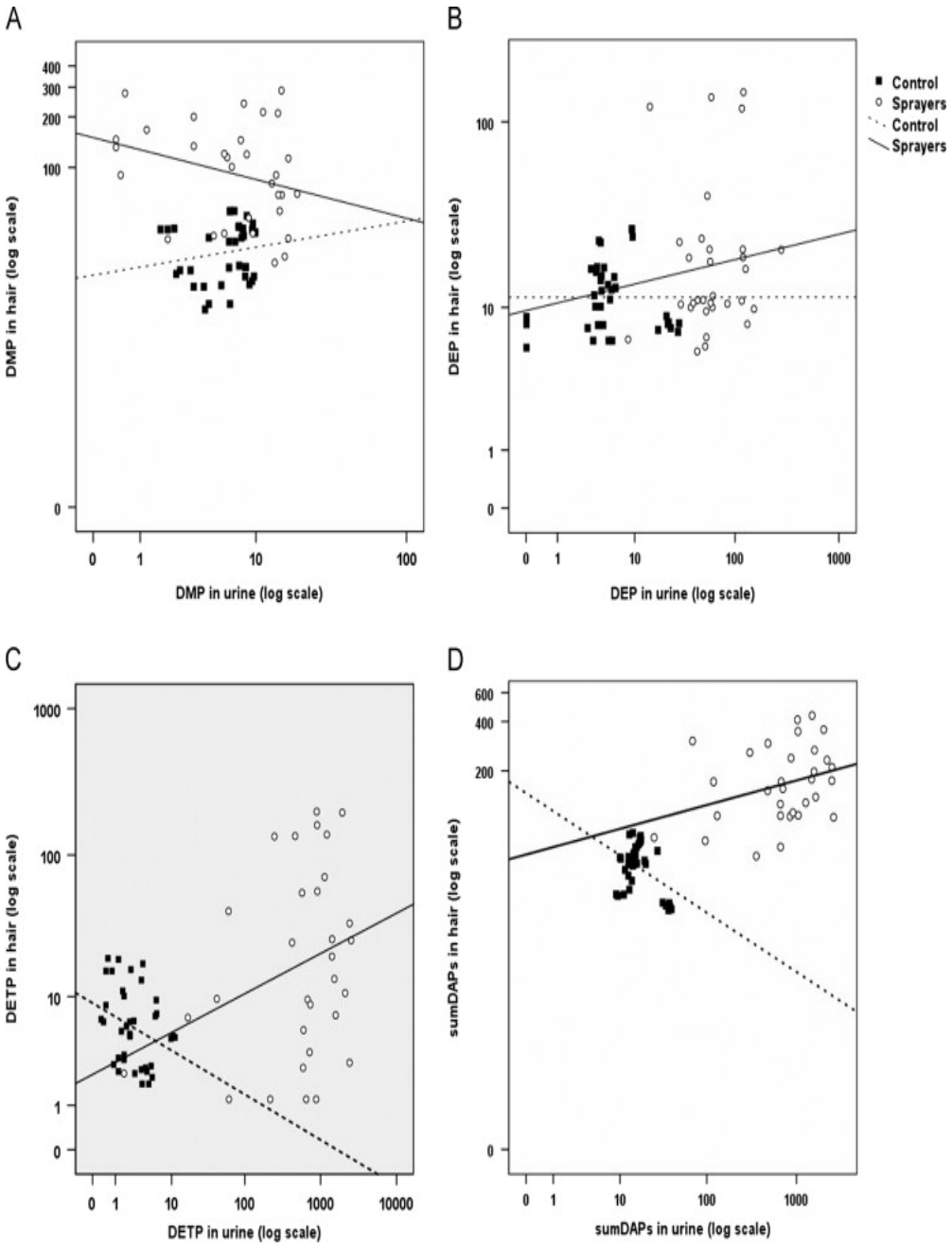
Οι μέσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις για τους μεταβολίτες DMP, DEP, DETP και DEDTP στα δείγματα ούρων των ψεκαστών ήταν 9.0 ± 5.8, 74.2 ± 53.8, 944.7 ± 746.4 και 0.3 ± 0.2 ng/ml αντίστοιχα, τα επίπεδα των παραπάνω μεταβολιτών για τους ΚΑΠ ήταν 6.6 ± 2.5, 8.1 ± 7.8, 3.1 ± 2.8 και 0.5 ± 0.3 ng/ml. Για το σύνολο των υπό ανίχνευση μεταβολιτών (DMP, DEP, DETP, DEDTP) τα επίπεδα κυμαίνονταν στα 1028.2 ng/ml για τους ψεκαστές, ενώ για τους ΚΑΠ στα 18.2 ng/ml (Πίνακας 7).

Οι μέσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις των μεταβολιτών DAPs που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ούρων των ψεκαστών ήταν υψηλότερα από αυτά των ΚΑΠ ($p<0.001$). Εξετάζοντας ξεχωριστά κάθε έναν μη ειδικό μεταβολίτη (Πίνακας 6), παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μελετούμενων πληθυσμιακών ομάδων για το DEP,το DETP ($p<0.001$) αλλά και το DEDTP ($p=0.014$). Η διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων για το DMP δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική ($p=0.119$). Η σημαντικά παρουσιαζόμενη διαφορά των πρώτων

διαλκυλοφωσφινών στα δείγματα ούρων των ψεκαστών μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι τα ούρα των συμμετέχοντων πάρθηκαν κατά την περίοδο ψεκασμών. Γεγονός που τους καθιστά ακόμα περισσότερο εκτεθειμένους εκείνη τη περίοδο, και επιβεβαιώνεται ξεκάθαρα από την ανάλυση των ούρων τους.

Τα ποσοστά ανίχνευσης θετικών δειγμάτων κυμαίνονταν από 90% (για το DEDTP) έως 100% (για τα υπόλοιπα DAPs) για τους ψεκαστές, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά ανίχνευσης για τους ΚΑΠ κυμαίνονταν από 83% (για το DEDTP) έως 100% (για το DMP και το DETP).

Προκειμένου να γίνει μια συσχέτιση μεταξύ των ανιχνευόμενων επιπέδων στα δείγματα ούρων και τρίχας των υπό εξέταση πληθυσμιακών ομάδων, εξετάστηκαν τα επίπεδα των ανιχνευόμενων μεταβολιτών ανά άτομο τόσο για τους ψεκαστές όσο και για τους ΚΑΠ. Στην εικόνα 12, παρουσιάζεται σχηματικά η συσχέτιση των ανιχνευόμενων επιπέδων για το DMP (A), το DEP (B), το DETP (C) αλλά και το ΣDAPs (D). Αναλυτικά, οι παράμετροι συσχέτισης Spearman για κάθε αναλύτη αλλά και για το σύνολο αυτών, παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6).



Εικόνα 12. Συσχέτιση των ανιχνευόμενων επιπέδων για τους μη ειδικούς μεταβολίτες DMP (A), DEP (B), DETP (C) και ΣDAPs(D) μεταξύ των δύο υπο εξέταση πληθυσμιακών ομάδων ανά δείγμα (τρίχα-ούρα).

Πίνακας 6. Παράμετροι συσχέτισης Spearman's για κάθε αναλύτη χωριστά ανά δείγμα (τρίχα-ούρα). (Άνω/Κάτω διαγώνιος: συσχέτιση μεταβολιτών μεταξύ τρίχας και ούρων. Διαγώνιος: συσχέτιση συγκεκριμένου μεταβολίτη μεταξύ τρίχας και ούρων)

		Spearman's	DMP	DEP	DETP	DEDTP	ΣDAPs
Τρίχα	DMP	*rho*	**0.087**	0.477	0.593	−0.348	0.541
		p	**0.483**	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	DEP	*rho*	0.116	**0.205**	0.205	0.214	0.229
		p	0.346	**0.094**	0.094	0.602	0.060
	DETP	*rho*	0.230	0.226	**0.312**	0.004	0.325
		p	0.059	0.064	**0.010**	0.973	0.007
	DEDTP	*rho*	−0.018	0.166	0.190	**−0.228**	0.190
		p	0.883	0.176	0.121	**0.062**	0.121
	ΣDAPs	*rho*	0.197	0.633	0.748	−0.316	**0.728**
		p	0.108	<0.001	<0.001	0.009	**<0.0**

Πίνακας 73. Αποτελέσματα ανιχνευόμενων τιμών για τους μη ειδικούς μεταβολίτες οργανοφωσφορικών μεταβολιτών (DMP, DEP, DETP, DEDTP) για τα δείγματα ούρων ψεκαστών και κατοίκων αγροτικής περιοχής.

Αναλύτης	Πληθυσμιακή ομάδα	% θετικά δείγματα	Μέση συγκέντρωση*	*p* value
DMP	*Ψεκαστές*	100	9.0±5.8	0.119
	ΚΑΠ	100	6.6±2.5	
DEP	*Ψεκαστές*	100	74.2±53.8	<0.001
	ΚΑΠ	92	8.1±7.8	
DETP	*Ψεκαστές*	100	944.7±746.4	<0.001
	ΚΑΠ	100	3.1±2.8	
DEDTP	*Ψεκαστές*	90	0.3±0.2	0.014
	ΚΑΠ	83	0.5±0.3	
ΣDAPs	*Ψεκαστές*	100#	1028.2±752.0	<0.001
	ΚΑΠ	100#	18.2±9.0	

*ΣDAPs: σύνολο των DMP, DEP, DETP και DEDTP, ΚΑΠ: Κάτοικοι Αγροτικής Περιοχής, *ng/ml, #θετικό τουλάχιστον για έναν μεταβολίτη*

ΜΕΛΕΤΗ ΙΙΙ: Ανίχνευση φυτοφαρμάκων σε νωπά αγροτικά προϊόντα παραγωγών της Κρήτης.

ΙΙΙ.α. Δειγματοληψία αγροτικών προϊόντων

Η διαδικασία της δειγματοληψίας αγροτικών προϊόντων πραγματοποιήθηκε σε δύο φάσεις (Α' και Β' εξάμηνο) κατά τη διάρκεια του έτους 2010, δεδομένου της εντατικής καλλιέργειας των κηπευτικών σε όλη τη διάρκεια του χρόνου. Κατά την δειγματοληψία ελήφθη η απαραίτητη ποσότητα του δείγματος (με ελάχιστο μέγεθος κάθε εργαστηριακού δείγματος το 1 kg) και ακολούθησαν όλες οι απαραίτητες διαδικασίες σήμανσης και μεταφοράς του δείγματος. Κατά τη δειγματοληψία συμπληρώθηκαν συγκεκριμένα ερωτηματολόγια που στόχευαν την διερεύνηση σε θέματα όπως: γνώσεις για φυτοφάρμακα και απαιτήσεις νομοθεσίας, χρήση φυτοφαρμάκων και προσωπική υγιεινή, διατροφικές συνήθειες, προσωπικά προβλήματα υγείας, ενώ φυσικά μέσω αυτού του ερωτηματολογίου καταγράφονταν και τα βασικά δημογραφικά στοιχεία κάθε συμμετέχοντα (βλ. Παράρτημα Π1, Π3). Οι συμμετέχοντες στη δειγματοληψία ενημερώθηκαν για το σκοπό της έρευνας και συνέναισαν εγγράφως για τη συμμετοχή τους σε αυτή. Επίσης συμπληρώθηκε σχετικό εντύπο δειγματοληψίας, στο οποίο συμπληρωνόταν η ημερομηνία της δειγματοληψίας, το είδος του προϊόντος, ο τόπος προέλευσης και κάθε άλλη σχετική πληροφορία ή παρατήρηση (βλ. Παράρτημα Π4). Το συγκεκριμένο έντυπο συνόδευε το κάθε δείγμα στο Εργαστήριο Ποιότητας Τροφίμων (ΕΠΟΙΟΤ) του ΤΕΙ Κρήτης (Ιεράπετρα), όπου και πραγματοποιήθηκαν οι αναλύσεις. Η μεταφορά γινόταν το συντομότερο δυνατό, με ισοθερμικό ψυγείο, για την αποφυγή οποιασδήποτε αλλοίωσης ή φθοράς (2002/63/ΕΚ).

Ελήφθησαν δείγματα κηπευτικών (αγγούρι, μελιτζάνα, ντομάτα, πιπεριά) από διάφορα σημεία συλλογής και μεταπώλησης (δημοπρατήρια, συσκευαστήρια, λαϊκές αγορές) της ευρύτερης περιοχής της Ιεράπετρας. Τα δείγματα κηπευτικών που συλλέχθηκαν ήταν αντιπροσωπευτικά των καλλιεργούμενων ειδών, των κηπευτικών που εξάγονται αλλά και των κηπευτικών που πωλούνται σε λαϊκές αγορές ή μεταπωλούνται και σε άλλες περιοχές της Ελλάδας.

Συνολικά ελήφθησαν και αναλύθηκαν 200 δείγματα, εκ των οποίων 50 αγγούρια, 45 μελιτζάνες, 45 ντομάτες και 60 πιπεριές (Πίνακας 9). Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Ποιότητας Τροφίμων (ΕΠΟΙΟΤ) του ΤΕΙ Κρήτης (Ιεράπετρα) και αποθηκεύτηκαν σε κατάλληλο χώρο (θερμοκρασιακά ελεγχόμενη ψύξη – κατάψυξη) μέχρι την ανάλυση τους. Η ανάλυσή τους γινόταν μία ή το πολύ δύο μέρες μετά τη δειγματοληψία.

ΙΙΙ.β. Αντιδραστήρια

Οι παρακάτω δραστικές ουσίες φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων αγοράστηκαν από την εταιρία Dr. Ehrenstorfer (Ausburg, Γερμανία): Carbendazim, Benomyl, Diethofencarb, Famoxadone, Mepanipyrim, Oxamyl και Oxamyl-Oxine, Pyrimethanil, Thiacloprid, Azoxystrobin, Bifenthrin, CS2, Dimethomorph, Endosulfan a, Endosulfan b, Endosulfan sulfate, Ioprodione, Metalaxyl, Methamidophos, Spinosad A και D, Tolyfluanid, Cypermethrin, Cyprodinil, Fludioxonil, Iprodione, Myclobutamil και Thiamethoxam. Όλες οι παραπάνω ουσίες ήταν καθαρότητας >75% (technical grade) και χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπες ουσίες για την ανίχνευση των αντίστοιχων φυτοφαρμακευτικών σκευασμάτων στα νωπά αγροτικά προϊόντα ανά κατηγορία χρήσης.

ΙΙΙ.γ. Εκχύλιση φυτοφαρμάκων από τα δείγματα αγροτικών προϊόντων

ΙΙΙ.γ.i. Πρότυπα διαλύματα

Πρότυπα μεθανολικά διαλύματα συγκέντρωσης 1 mg/ml από κάθε αναλύτη ετοιμάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -20°C. Ένα επίσης πολυσυστατικό μεθανολικό διάλυμα των αναλυτών παρασκευάστηκε σε συγκέντρωση 10 μg/ml. Από αυτό με τις απαραίτητες αραιώσεις ετοιμάστηκαν μεθανολικά διαλύματα των αναλυτών στο επίπεδο των MRLs, στο διπλάσιο και υποδιπλάσιο για κάθε αναλύτη (0, MRL/2, MRL, 2*MRL), τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα διαλύματα κατά την ανάλυση. Όλα τα παραπάνω διαλύματα φυλάσσονταν στους 4°C, μακρυά από φως.

ΙΙΙ.γ.ii. Φορτισμένα δείγματα

Εκτός από τα πρότυπα διαλύματα ετοιμάστηκαν και φορτισμένα (spiked) δείγματα. Δείγματα των αγροτικών προϊόντων που είχαν ελεγχθεί προηγουμένως και δεν περιείχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα των μετρούμενων ουσιών χρησιμοποιήθηκαν ώς τυφλά δείγματα (blank). Συνολικά ετοιμάστηκαν 4*4 φορτισμένα δείγματα για κάθε διαφορετικό είδος (ντομάτα, πιπεριά, αγγούρι, μελιτζάνα) με συγκεντρώσεις αναλυτών 0, MRL/2, MRL και 2*MRL ng/ml για κάθε αναλύτη. Τα φορτισμένα δείγματα ακολούθησαν την ίδια διαδικασία με τα πραγματικά δείγματα και χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.

ΙΙΙ.γ.iii.Εκχύλιση δειγμάτων

Λαμβάνεται ποσότητα από κάθε δείγμα (πιπεριά, ντομάτα, αγγούρι, μελιτζάνα) και αφού ξεπλυθεί με νερό τεμαχίζεται σε μικρά κομμάτια. Ζυγίζονται 15 g δείγματος και μεταφέρονται σε πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό καπάκι χωρητικότητας 50 ml (FEP extraction tube). Προστίθενται 15 ml διαλύματος οξικού οξέος (1% v/v σε ακετονιτρίλιο) και 75 μl TPP (40 ng/μl σε ακετονιτρίλιο). Αφού ανακινηθούν καλά, προστίθενται 6 g $MgSO_4$ και 1.5 g NaAc (οξικό νάτριο), (εξώθερμη αντρίδραση, ~45° C. Ανακινούνται καλά για 5 λεπτά και ακολουθεί φυγοκέντριση για 5 λεπτά στις 3000 rpm. Από το υπερκείμενο, μεταφέρονται 11 ml σε πλαστικό φιαλίδιο που περιέχει 300 mg PSA, 900 mg $MgSO_4$ και 150 mg C18. Ανακινούνται καλά για 30 δευτερόλεπτα και ακολουθεί φυγοκέντριση για 5 λεπτά στις 3000 rpm. Μεταφέρονται 5 ml από το υπερκείμενο σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα και εξατμίζονται έως ξηρού. Έπειτα το ίζημα επαναδιαλυτοποιείται σε 0.9 ml μίγματος διαλυτών (εξάνιο:ακετόνη, 9:1 v/v) και προστίθενται και 100 μl diethyl-d10-parathion (10 ng/μl σε εξάνιο:ακετόνη, 9:1 v/v). Επιπλέον σε αυτόν το δοκιμαστικό ακολουθεί ένα ακόμα βήμα καθαρισμού, προσθέτοντας 50 mg PSA, 150 mg $MgSO_4$ και 50 mg C18. Αφού ανακινηθούν πολύ καλά και φυγοκεντρηθεί το μίγμα για 5 λεπτά στις 3000 rpm, μεταφέρεται η οργανική φάση σε ένα φιαλίδιο χωρητικότητας 1.5 ml για ανάλυση.

ΙΙΙ.δ. Ανάλυση με GC-MS

Για την ανάλυση των τελικών εκχυλισμάτων από τα δείγματα των νωπών αγροτικών δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα GC–MS (GC–MS system Trace DSQ II, Thermo Scientific). Το σύστημα αυτό ήταν εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη (AS-3000).

Οι προς ανάλυση ουσίες ιονίστηκαν με ηλεκτρονικό ιονισμό. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των ουσιών ήταν τύπου TRACE TR-Pesticide (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) τριχοειδής στήλη με Integra-Guard προκολώνα (5 m x 0.25 mm) της εταιρίας Thermo Scientific (ΗΠΑ). Ήλιο υψηλής καθαρότητας (99.999%) και με γραμμική ταχύτητα 1 ml/min χρησιμοποιήθηκε σαν το φέρον αέριο. Δύο μικρόλιτρα του τελικού διαλύματος εισήχθησαν με ένεση σε splitless mode και αναλύθηκαν κάτω από τις ακόλουθες συνθήκες:

Το πρόγραμμα θερμοκρασίας της στήλης ξεκινούσε από τους 40°C όπου και παρέμενε για 1.5 λεπτό, αυξανόταν στους 150°C με βήμα 25°C/λεπτό, έπειτα αυξανόταν στους 225°C με βήμα 7°C/λεπτό και τελικά αυξάνονταν στους 290°C, με βήμα 25°C/λεπτό, όπου και παρέμενε για 10 λεπτά. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 270°C. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς (transfer line) ήταν 250°C. Οσον αφορά το φασματογράφο μάζας η θερμοκρασία της πηγής ιόντων (ion source) ήταν 250°C. Ο φασματογράφος μάζας ήταν προγραμματισμένος να ανιχνεύει συγκεκριμένα ιόντα (selected ion monitoring mode -SIM) τα οποία ορίστηκαν όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Τα φυτοφάρμακα που αναλύθηκαν με τα ιόντα m/z ποσοτικοποίησης (target) και ταυτοποίησης (qualifier).

Αναλύτης	**m/z (Target, Qualifier)**
Azoxystrobin	344, 388
Benomyl	191, 159
Bifenthrin	181, 165
Carbendazim	159, 191
CS2	74, 44
Cypermethrin	163, 181
Cyprodinil	224, 210

Diethofencarb	268, 226
Dimethomorph	301, 165
Endosulfan a	241, 195
Endosulfan b	195, 241
Endosulfan sulfate	387, 272
Famoxadone	397, 261
Fenarimol	139, 107
Fludioxonil	248, 127
Iprodione	56, 43
Malathion	125, 173
Mepanipyrim	226, 224
Metalaxyl	206, 45
Methamidophos	94, 141
Myclobutamil	179, 150
Oxamyl και Oxamyl-Oxine	72, 42
Pymetrozine	98, 113
Pyrimethanil	198, 183
Pyriproxifen	166, 77
Spinosad A και D	388, 345
Thiacloprid	253, 163
Thiamethoxam	292, 211
Tolyfluanid	137, 238

ΙΙΙ.ε. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση των δειγμάτων που συλλέχθησαν συνοψίζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα ανά δραστική ουσία για κάθε νωπό αγροτικό προϊόν που συλλέχθηκε (πιπεριά, ντομάτα, αγγούρι, μελιτζάνα).

Αγροτικό προϊόν	Σύνολο δειγμάτων	Δραστική ουσία	Αριθμός δειγμάτων που ανιχνεύτηκε η δραστική	Ποσοστό θετικών δειγμάτων (%) (< MRL)	Μέση Συγκέντρωση δραστικής (mg/kg)	MRL (mg/kg)
Πιπεριά	**60**	**Endosulfan a**	2	3.3	0.01	**0.05**
		Endosulfan b	2	3.3	0.02	**0.05**
		Endosulfan sulfate	2	3.3	0.04	**0.05**
		Fenarimol	4	6.7	0.02	**0.02**
		Indoxacarb	5	8.3	0.02	**0.03**
		Malathion	3	5.0	0.01	**0.10**
		Oxamyl+Oxamyl-Oxine	10	16.7	0.02	**0.02**

		Pyrimiphos methyl	5	8.3	0.02	**-**
		Pymetrozine	5	8.3	0.05	**1**
		Pyriproxyfen	7	11.7	0.02	**1**
		Spinosad A+D	8	13.3	0.01	**2**
		Spinosad A+D	8	13.3	0.61	**2**
		Thiachloprid	11	18.3	0.01	**1**
		Thiacloprid	10	16.7	0.03	**1**
		Thiacloprid	10	16.7	0.04	**1**
		Thiamethoxam	5	8.3	0.01	**0.5**
Ντομάτα	**45**	**Carbendazim + Benomyl**	5	11.1	0.02	**0.5**

		Carbendazim + Benomyl	5	11.1	0.04	**0.5**
		Diethofencarb	8	17.8	0.02	**1**
		Diethofencarb	8	17.8	0.01	**1**
		Famoxadone	5	11.1	0.03	**1**
		Mepanipyrim	5	11.1	0.03	**1**
		Oxamyl+Oxamyl-Oxine	8	17.8	0.01	**0.02**
		Oxamyl+Oxamyl-Oxine	17	11.1	0.02	**0.02**
		Thiacloprid	5	11.1	0.05	**1**
Αγγούρι	**50**	**Azoxystrobin**	10	20.0	0.01	**1**
		Bifenthrin	5	10.0	0.02	**0.1**

	Carbendazim + Benomyl	7	14.0	0.02	**0.1**
	CS2	10	20.0	0.33	**-**
	Dimethomorph	5	10.0	0.02	**1**
	Endosulfan a	10	20.0	0.01	**0.05**
	Endosulfan b	11	22.0	0.01	**0.05**
	Endosulfan sulfate	10	20.0	0.04	**0.05**
	Endosulfan sulfate	5	10.0	0.01	**0.05**
	Iprodione	8	16.0	0.05	**-**
	Metalaxyl	4	8.0	0.02	**0.5**
	Metalaxyl	6	12.0	0.03	**0.5**

		Methamidophos	5	10.0	0.01	**0.01**
		Oxamyl+Oxamyl-Oxine	7	14.0	0.02	**0.02**
		Pyrimethanil	5	10.0	0.43	**1**
		Pyrimethanil	5	10.0	0.06	**1**
		Spinosad A+D	12	24.0	0.06	**1**
		Tolyfluanid	3	6.0	0.01	**2**
Μελιτζάνα	**45**	**Carbendazim + Benomyl**	11	24.4	0.03	**0.5**
		Cypermethrin	5	11.1	0.02	**0.5**
		Cyprodinil	4	8.9	0.07	**1**
		Fludioxonil	6	13.3	0.03	**1**

		Iprodione	5	11.1	0.13	**5**
		Myclobutamil	5	11.1	0.02	**-**
		Thiacloprid	5	11.1	0.01	**0.5**
		Thiacloprid	4	8.9	0.06	**0.5**
		Thiamethoxam	10	22.2	0.01	**0.2**
Σύνολο:	**200**					

III.στ. Συζήτηση

Η ευρύτερη περιοχή της Ιεράπετρας (Λασιθίου, Κρήτης) όπως προαναφέρθηκε αποτελέσε το πεδίο διερεύνησης και δειγματοληψίας για τη συγκεκριμένη εργασία, λόγω του μεγάλου αριθμού θερμοκηπίων (περίπου 15000 στρέμματα), του μεγάλου αριθμού παραγωγών (περίπου 2000) που ασχολούνται με τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες και λόγω της μεγάλης εξαγωγικής δραστηριότητας των παραγόμενων κηπευτικών σε χώρες της βόρειας Ευρώπης αλλά και στο εσωτερικό της Ελλάδας.Τα δείγματα κηπευτικών που ελήφθησαν ήταν αντιπροσωπευτικά των καλλιεργούμενων ειδών, των κηπευτικών που εξάγονται αλλά και των κηπευτικών που πωλούνται σε λαϊκές αγορές ή μεταπωλούνται σε άλλες περιοχές της Ελλάδας. Οι παραγωγοί της περιοχής παράγουν και εξάγουν κυρίως ντομάτες, αγγούρια, πιπεριές και μελιτζάνες, αγροτικά προϊόντα που καλλιεργούνται σχεδόν όλη τη διάρκεια του έτους εντός θερμοκηπίων.

Από την ανάλυση των δειγμάτων που συλλέχθησαν για τη παρούσα εργασία κανένα αγροτικό προϊόν δεν είχε επίπεδα των προς μελέτη φυτοπροστατετυικών ουσιών μεγαλύτερα από αυτά που ορίζουν ως μέγιστα επιτρεπόμενα όρια ανίχνευσης υπολειμμάτων (Maximum Residue Limits, MRL) Ωστόσο, από τα 200 δείγματα που αναλύθηκαν ένα αξιόλογο ποσοστό αυτών ήταν θετικό για τουλάχιστον ένα από τα προς μελέτη φυτοφάρμακα. Πιο συγκεκριμένα, για τις πιπεριές τα ποσοστά ανίχνευσης 3.3% για τα Endosulfan a, Endosulfan b, Endosulfan sulfate, 5.0% για το Malathion, 6.7% για το Fenarimol, 8.3% για τα Indoxacarb, Pyrimiphos methyl, Pymetrozine και Thiamethoxam, 11.7% για το Pyriproxyfen, 13.3% για τα Spinosad A και D, 16.7% για τα Oxamyl και Oxamyl-Oxine και τέλος 18.3% για το Thiachloprid.

Για τις ντομάτες τα ποσοστά ανίχνευσης κυμαίνονταν από 11.1% για τα Carbendazim και Benomyl, Famoxadone, Mepanipyrim και Thiacloprid έως και 22.2% για τα Oxamyl και Oxamyl-Oxine. Για τα αγγούρια, τα ποσοστά ανίχνευσης κυμαίνονταν από 6.0% για το Tolyfluanid έως και 24.0% για τα Spinosad A και D. Τέλος για τις μελιτζάνες, τα ποσοστά ανίχνευσης κυμαίνονταν από 8.9% για τα Cyprodinil και Thiacloprid έως και 24.4% για τα Carbendazim και Benomyl (Πίνακας 9).

Γενικά συμπεράσματα

Στη παρούσα διατριβή δύο πλήρως επικυρωμένες αναλυτικές μέθοδοι εφαρμόστηκαν για την ανίχνευση μη ειδικών μεταβολιτών, διαλκυλοφωσφίνων (dialkylphosphates, DAPs), σε βιολογικά δείγματα τριχών και ούρων πληθυσμού που κατοικεί στην ευρύτερη περιοχή της Ιεράπετρας (Κρήτη, Ελλάδα). Ο πληθυσμός που συμμετείχε διαχωρίστηκε και χαρακτηρίστηκε ως ψεκαστές και ως κάτοικοι αγροτικής περιοχής. Χρησιμοποιήθηκε υγρή-στερεή εκχύλιση για τα δείγματα τριχών και υγρή-υγρή εκχύλιση για τα δείγματα ούρων, ενώ τα εκχυλίσματα και των δύο παραγωγοποιήθηκαν με 2,3,4,5,6-pentafluorobenzylbromide (PFBBr) πριν την ανάλυσή τους με σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC-MS). Και οι δύο μέθοδοι που εφαρμόστηκαν, ελέχθηκαν με διάφορες αναλυτικές παραμέτρους (γραμμικότητα, ανάκτηση, πιστότητα, ακρίβεια, όρια, όρια ποσοτικοποίησης) που βρέθηκαν ικανοποιητικοί.

Σχετικά με τα επίπεδα των DAPs που μετρήθηκαν, παρατηρήθηκαν διαφορές στις ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις τόσο για τα δείγματα των ούρων όσο και τα δείγματα των τριχών ανάμεσα στις δύο μελετούμενες ομάδες των ψεκαστών και των ΚΑΠ. Σχετικά με τα δείγματα τριχών, παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα των DAPs στους ψεκαστές από ότι στους ΚΑΠ, με στατιστικά σημαντική διαφορά για τα DMP ($p<0.001$) και DETP ($p=0.007$). Αυτό είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στην παρελθοντική και εντατική χρήση σκευασμάτων οργανοφωσφορικών που δίνουν τους μη ειδικούς μεταβολίτες αυτούς και την ούτως η άλλως πολύωρη ενασχόληση των ψεκαστών σε αγροτικές δραστηριότητες. Μάλιστα από τις αντλούμενες από τα ερωτηματολόγια πληροφορίες, προκύπτει ότι πολλοί απασχολούνταν σε αγροτικές δραστηριότητες μέχρι και 84 ώρες την εβδομάδα. Όπως είχε αναφερθεί και σε άλλες μελέτες (Kavvalakis and Tsatsakis, 2012), οι μεταβολίτες DMTP και DMDTP, δεν συμπεριλήφθησαν στην ανάλυση μιας και το DMP είναι μια από τις πιο αντιπροσωπευτικές διμεθυλοφωσφίνες (dimethylphosphates, DMPs), και προκύπτει από αρκετά οργανοφωσφορικά σκευάσματα.

Ωστόσο, υψηλότερα επίπεδα και για τα DEP και DETP παρατηρήθηκαν μεταξύ των δειγμάτων τριχών των ψεκαστών και των ΚΑΠ, αλλά οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p>0.05$). Για τους μεταβολίτες DMP, DEP και DETP τα ποσοστά ανίχνευσης στα δείγματα τριχών και των δύο πληθυσμιακών ομάδων ήταν πολύ υψηλά (91-100%). Ωστόσο για το DEDTP, τα ποσοστά ήταν από

πολύ χαμηλά (3%) για τους ψεκαστές έως και μηδενικά για τους ΚΑΠ. Για το σύνολο των DAPs (DMP, DEP, DETP, DEDTP) τα επίπεδα στις τρίχες των ψεκαστών ήταν υψηλότερα από αυτά στις τρίχες των ΚΑΠ με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.001$).

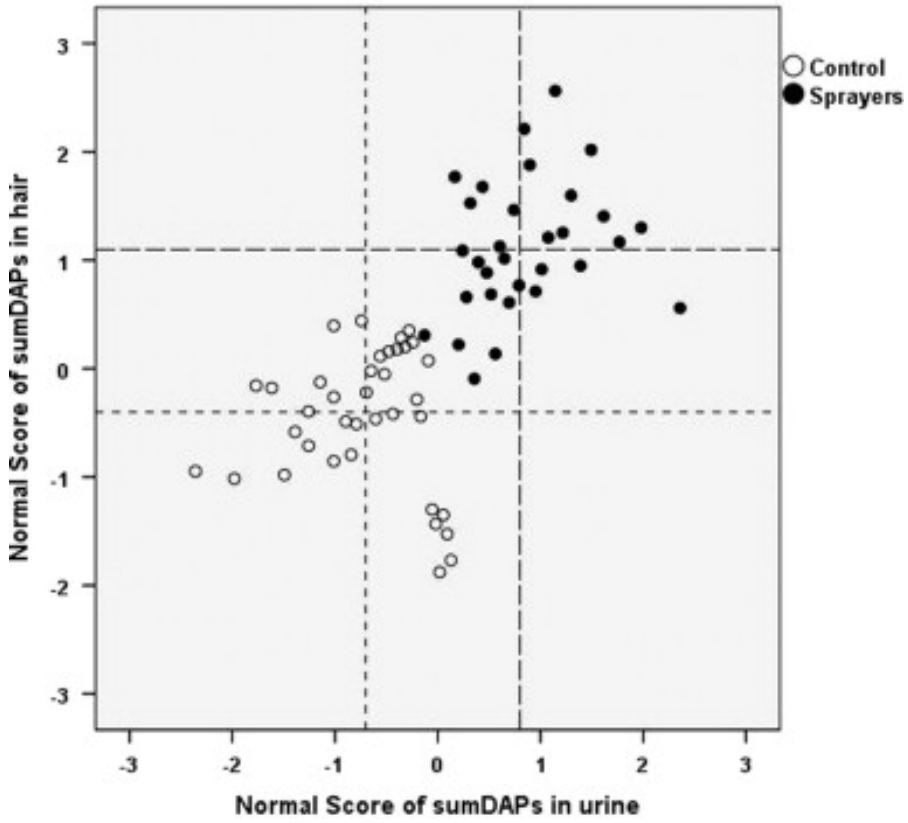
Για τα δείγματα των ούρων, οι παρατηρήσεις στα ανιχνευόμενα επίπεδα των DAPs ήταν παρόμοιες με αυτές των τριχών. Για το σύνολο των DAPs (DMP, DEP, DETP, DEDTP) τα επίπεδα των ούρων των ψεκαστών ήταν υψηλότερα από αυτά στα ούρα των ΚΑΠ με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.001$). Στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά για τα DEP ($p=0.005$) και DETP ($p=0.001$). Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι η δειγματοληψία συνέπεσε με περίοδο ψεκασμών, άρα οι ψεκαστές ήταν σίγουρα πολύ περισσότερο από άλλες φορές εκτεθειμένοι λόγω της πρόσφατης εφαρμογής οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων. Επιπλέον, οι ψεκαστές παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα για το DMP στα ούρα από τους ΚΑΠ, χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική ($p>0.05$). Τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονταν από 90% (για το DEDTP) έως και 100% (για τα υπόλοιπα DAPs) για τους ψεκαστές, ενώ για τους ΚΑΠ από 85% (για το DEDTP) έως 100% (για τα DMP και DEP).

Για τη συσχέτιση μεταξύ μετρούμενων επιπέδων των DAPs στα ούρα και τις τρίχες, χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι συμμετέχοντες που παρείχαν κατά τις δειγματοληψίες και τα δύο βιολογικά δείγματα (ένας συμμετέχοντας και ούρα και τρίχα). Έτσι λοιπόν για την σύγκριση-συσχέτιση μεταξύ των δύο υποστρωμάτων, λήφθηκαν υπόψην 31 ψεκαστές και 37 ΚΑΠ. Οι μέσες τιμές αυτών παρουσιάζονται στον Πίνακα 10. Τόσο για τους ψεκαστές όσο και για τους ΚΑΠ, παρατηρήθηκε συσχέτιση για τα DMP, DETP, DEDTP αλλά και το άθροισμα των DAPs. Η εμφανής διαφοροποίηση επιβάρυνσης μέσω των ανιχνεύμενων επιπέδων μεταξύ ψεκαστών και ΚΑΠ, παρουσιάζεται στην Εικόνα 13.

Πίνακας 10. Σύγκριση-συσχέτιση μεταξύ ανιχνευόμενων επιπέδων για τα δείγματα τριχών και ούρων ανά πληθυσμιακή ομάδα.

		DMP		DEP		DETP		DEDTP		ΣDAPs	
Ομάδα	**Δείγμα**	***C*[&]**	***p***	***C*[&]**	***p***	***C*[&]**	***p***	***C*[&]**	***p***	***C*[&]**	***p***
Ψεκαστές (n=31)	*Τρίχα**	113.4	0.003	29.1	0.084	43.0	0.004	1.0	0.027	186.4	0.007
	Ούρα[#]	9.0		74.2		944.7		0.3		1028.2	
ΚΑΠ (n=37)	*Τρίχα**	32.6	<0.001	14.0	0.118	9.1	0.039	ND	0.033	56.5	<0.001
	Ούρα[#]	6.6		8.1		3.1		0.5		18.2	

[&] ***ανιχνευόμενη*** συγκέντρωση *: pg/mg, [#]*: ng/ml, ΚΑΠ: Κάτοικοι Αγροτικής Περιοχής*



Εικόνα 13. Ανιχνευόμενα επίπεδα ΣDAPs (normal score) στα δείγματα ούρων και τριχών, ψεκαστών και ΚΑΠ.

Συνοψίζοντας, από την μελέτη ανίχνευσης DAPs στα βιολογικά δείγματα πληθυσμιακών ομάδων ψεκαστών και ΚΑΠ, παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στα υπό μελέτη υποστρώματα (Εικόνα 13). Από τις γνώσεις μας, οι ψεκαστές είχαν υψηλή έκθεση σε φυτοφάρμακα, και συγκεκριμένα οργανοφωσφορικά, όχι μόνο λόγω της εφαρμογής τους από τους ίδιους αλλά και λόγω της καθημερινά πολύωρης και μακροπρόθεσμης ενασχόλισής τους μέσα σε θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις. Για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις μελέτες I και II της διατριβής αυτής, χαρακτηρίζονται ως αναμενόμενα. Ειδικότερα τα πολύ υψηλά επίπεδα των DAPs στα δείγματα ούρων των ψεκαστών, επιβεβαιώνουν τους ισχυρισμούς αυτών μέσω των ερωτηματολογίων για εφαρμογή των φυτοφαρμάκων εκείνη τη περίοδο. Από την άλλη μεριά, οι ΚΑΠ λόγω ύπαρξης της παρακείμενης της διαμονής τους εγκατάστασης θερμοκηπιακών και ανοικτών καλλιεργειών, παρουσίασαν ανιχνεύσιμα και αξιολογήσιμα επίπεδα των DAPs. Ένα κοινός παράγοντας έκθεσης τόσο για τους ψεκαστές όσο και για τους ΚΑΠ είναι αυτός της έκθεσης σε φυτοφάρμακα μέσω της διατροφής. Αφού και οι δύο ομάδες προέρχονταν από κοινή τοποθεσία, η διαφοροποίηση στις διατροφικές πηγές τους ως προς τα βασικά καταναλωτικά αγαθά δεν ήταν μεγάλη. Ωστόσο, η διατροφική έκθεση δεν φαίνεται να επηρεάζει αισθητά, την διαφοροποίηση στα μετρούμενα επίπεδα DAPs ανάμεσα στις δύο πληθυσμιακές μελέτες.

Η ανάλυση των βιολογικών δειγμάτος τρίχας προσέφερε την σε βάθος χρόνου εικόνα έκθεσης για τους συμμετέχοντες στη μελέτη, ενώ η ανάλυση των ούρων έδωσε μια εικόνα πρόσφατης έκθεσης στα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα. Συγκριτικά με άλλες παρόμοιες δημοσιευμένες εργασίες σε αντίστοιχες πληθυσμιακές ομάδες (Πίνακας 11), τα ανιχνευόμενα επίπεδα του DETP στα ούρα για τους ψεκαστές ήταν πολύ υψηλότερα στη παρούσα μελέτη. Αυτό κατά πάσα πιθανότητα οφείλεται τόσο στη συστηματική έκθεση στα οργανοφωσφορικά μέσω της ενασχόλησης σε εργασίες εντός θερμοκηπίου όσο και για την έλλειψη μέτρων ασφαλείας κατά τη διάρκεια τόσο των ψεκασμών όσο και της εργασίας.

Πίνακας 11. Παράθεση αποτελεσμάτων παρούσας μελέτης και αντίστοιχων δημοσιευμένων ερευνών ανά πληθυσμιακή ομάδα.

Πληθυσμιακή ομάδα	N	DMP	DEP	DETP	DEDTP	Τιμή	Αναφορά
Ούρα (ppb=ng/ml)							
Γενικός πληθυσμός	54	30	4	ND	ND	Μ.Τ.	Hardt and Angerer 2000
	1338	1.7	1.1	0.9	ND	Δ.	Castorina et al. 2003
	23	17.7	0.7	1	NA	Γ.Μ.	Ueyama et al. 2006
Αγροτικός πληθυσμός	60	5.14	8.58	1.41	0.06	Μ.Τ.	Arcury et al. 2006
	19	20.1	4.5	ND	ND	Δ.	Dulaurent et al. 2006
	37	6.6	8.1	3.1	0.5	Μ.Τ.	Παρούσα διατριβή
Επαγγελματικά εκτεθειμένος πληθυσμός	332	160	410	370	240	Μ.Τ.	Griffith and Duncan 1985
	262	390	90	70	60	Μ.Τ.	Griffith and Duncan 1985
	28	250	NA	90	110	Μ.Τ.	Garcia et al. 2000
	18	8.11	ND	7.98	ND	Μ.Τ.	Mills and Zahm 2001
	25	22.7	0.4	1.5	NA	Γ.Μ.	Ueyama et al. 2006
	31	9.0	74.2	944.7	0.3	Μ.Τ.	Παρούσα διατριβή
Τρίχες (pg/mg)							
Γενικός πληθυσμός	27	165	51.2	54	40	Δ.	Tsatsakis et al. 2010
Αγροτικός πληθυσμός	30	240	360	NA	NA	Μ.Τ.	Margariti et al. 2009
	86	32.6	14.0	9.1	ND	Μ.Τ.	Παρούσα διατριβή
Επαγγελματικά εκτεθειμένος πληθυσμός	6	181.7	812.9	660.1	60.6	Δ.	Tsatsakis et al. 2010
	34	113.4	29.1	43.0	1.0	Μ.Τ.	Παρούσα διατριβή

ND: Μη ανισχνεύσιμο (<LOD); NA: Μη αναλυμένο ή μη διαθέσιμο; Μ.Τ.: Μέση τιμή, Δ.: Διάμεση τιμή, Γ.Μ.: Γεωμετρική μέση τιμή

Όσον αφορά την ανάλυση και ανίχνευση φυτοπροστατευτικών ουσιών στα δείγματα αγροτικών προϊόντων που παράγονται, καταναλώνονται αλλά και εξάγονται από την ευρύτερη περιοχή ενδιαφέροντος της μελέτης, κανένας αναλύτης δεν ήταν πάνω από τα διεθνή οριζόμενα MRL. Όμως υπήρχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα διάφορων φυτοφαρμάκων στα υπό μελέτη προϊόντα, κάτι που εξηγεί και ενισχύει την υπόθεση της διατροφικής έκθεσης σε αυτά. Επιπλέον, η ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών ουσιών σε αγροτικά προϊόντα-καταναλωτικά προϊόντα είναι ένα σημείο ένδειξης της υποβάθμισης τόσο του περιβάλλοντος όσο και της ανθρώπινης υγείας, αφού εκτείθεται σε διάφορα χημικά σκευάσματα.

Η εκτίμηση της επιβάρυνσης του περιβάλλοντος, όπως συζητήθηκε και στην εισαγωγή της παρούσας διατριβής, αποτελεί ίσως ένα δύσκολο και πολυπαραγοντικό εγχείρημα. Σίγουρα όμως με την μελέτη ΙΙΙ της παρούσας διατριβής, αυτό που επιβεβαιώνεται είναι η ύπαρξη των φυτοφαρμάκων σε προϊόντα που καταλήγουν στον καταναλωτή. Παρά τα μειονεκτήματα της χημικής καταπολέμησης των φυτοπαράσιτων και τις αρνητικές επιπτώσεις της στα αγροοικοσυστήματα, αλλά και στο περιβάλλον γενικότερα, και παρά τα ενθαρρυντικά επιτεύγματα των ερευνητικών φορέων στην προσπάθεια εξεύρεσης εναλλακτικών μεθόδων φυτοπροστασίας χωρίς παρενέργειες, τα φυτοφάρμακα συνεχίζουν να διαδραματίζουν το σημαντικότερο ρόλο στην προστασία της φυτικής παραγωγής, ενώ αναγνωρίζεται διεθνώς η ανάγκη συνέχισης της ευρείας χρησιμοποίησής τους. Αυτό φαίνεται αναπόφευκτο για το παρόν και, τουλάχιστον, το άμεσο μέλλον εξαιτίας των αυξανόμενων επισιτιστικών αναγκών του πληθυσμού της γης και των υψηλών απαιτήσεων του σύγχρονου καταναλωτή, για την ικανοποίηση των οποίων η χημική καταπολέμηση είναι η πιο άμεσα αποτελεσματική μέθοδος προστασίας της γεωργικής παραγωγής στο μέγιστο ποσοστό των περιπτώσεων. Και αυτό μοιάζει αναπόφθεχτο, παρόλη την προσπάθεια διάδοσης και προώθησης της βιολογικής γεωργίας, όπως συζητήθηκε στην εισαγωγή. Σήμερα, στην επιστήμη της φυτοπροστασίας γίνεται μια συνεχής και εντατική προσπάθεια προς δύο κατευθύνσεις. Αφενός, την αποτελεσματική χρήση των φυτοφαρμάκων με την καλύτερη δυνατή αξιοποίηση των διαθέσιμων εναλλακτικών μεθόδων φυτοπροστασίας και με τις ελάχιστες παρενέργειες των φυτοφαρμάκων στον άνθρωπο (καλλιεργητή, ψεκαστή, καταναλωτή), στο αγροοικοσύστημα και στο περιβάλλον γενικότερα και αφετέρου την έρευνα για εύρεση εναλλακτικών μεθόδων φυτοπροστασίας με σκοπό της σταδιακή

αντικατάσταση των φυτοφαρμάκων για ένα οικονομικά και οικολογικά αποδεκτό αποτέλεσμα. Με το σκεπτικό αυτό η έννοια της καταπολέμησης εχθρών και ασθενειών των φυτών παίρνει ευρύτερες διαστάσεις. Η μέθοδος της καταπολέμησης ασφαλείας ή θεραπείας, της εφαρμογής δηλαδή ενός ή περισσοτέρων φυτοφαρμάκων εναντίον ενός μεμονωμένου φυτοπαράσιτου για την πρόληψη ή την καταστολή της προσβολής του, δεν θεωρείται πια επιστημονικά σωστή μολονότι συνεχίζει ακόμα να έχει πλατειά εφαρμογή στην πράξη της φυτοπροστασίας. Με τα σημερινά δεδομένα και απαιτήσεις επιβάλλεται για κάθε αγροοικοσύστημα να υπάρχει μια νέα στρατηγική για την αντιμετώπιση των εχθρών και ασθενειών των καλλιεργούμενων φυτών συνολικά με μια συντονισμένη, πολυδιάστατη και ορθολογικά προγραμματισμένη μεθοδολογία, γνωστή σαν Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση (ή Ολοκληρωμένη Διαχείριση) των Φυτοπαράσιτων (Integrated Pest Management, IPM) (USEPA 2014, USAID 2014).

Για την κατάστρωση και εφαρμογή μιας τέτοιας μεθοδολογίας σε δεδομένο αγροοικοσύστημα είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι οικολογικοί παράγοντες, η καλλιεργητική τεχνική, οι ιδιότητες των καλλιεργούμενων φυτών και των εχθρών τους, καθώς και το σύνολο των μεθόδων αντιμετώπισης των εχθρών αυτών που είναι τεχνικά και οικονομικά εφικτές ώστε όλοι οι χειρισμοί του καλλιεργητή στο αγροοικοσύστημα να εξασφαλίζουν την προστασία της παραγωγής με τρόπο οικονομικά ικανοποιητικό και οικολογικά αποδεκτό.

Στα φυσικά οικοσυστήματα, που αποτελούν σύμπλοκα μεγάλου αριθμού ειδών, φυτικών και ζωικών, υπάρχουν μηχανισμοί αυτορρύθμισης και διατήρησης της βιολογικής ισορροπίας. Σε ένα αγροοικοσύστημα όμως η βιολογική ισορροπία διαταράσσεται δραστικά με την μονοκαλλιέργεια. Έτσι όλες οι καλλιεργητικές τεχνικές πρέπει να εντάσσονται στη μεθοδολογία της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης των Φυτοπαράσιτων με σκοπό τη διατήρηση μιας τέτοιας ισορροπίας ώστε οι πληθυσμοί των παράσιτων της καλλιέργειας να είναι τόσο χαμηλοί που η ζημία που καθένα από αυτά προκαλεί στην καλλιέργεια να βρίσκεται κάτω από το οικονομικό όριο. Το μοντέλο που θα εξασφαλίζει μια τέτοια οικολογική ισορροπία, οικονομικά αποδοτική και περιβαλλοντικά αποδεκτή, θα πρέπει να είναι διαφορετικό για κάθε είδος καλλιέργειας και συνθήκες περιβάλλοντος.

Με την ολοκληρωμένη μέθοδο λοιπόν επιδιώκεται η μικρότερη δυνατή διατάραξη του οικοσυστήματος, ώστε να διατηρηθούν κατά το δυνατό οι φυσικοί

μηχανισμοί που στα φυσικά οικοσυστήματα ελέγχουν τους πληθυσμούς των βλαβερών για τη γεωργία ειδών. Επιπλέον, όταν οι πληθυσμοί των ειδών αυτών σημειώνουν εξάρσεις, τότε χρησιμοποιούνται οι πιο εκλεκτικές από τις διαθέσιμες μεθόδους καταπολέμησης.

Όταν είναι ανάγκη να χρησιμοποιηθεί φυτοφάρμακο επιλέγεται και πάλι το περισσότερο εκλεκτικό ώστε, αν είναι δυνατό, να μειωθεί μόνο ο πληθυσμός του φυτοπαράσιτου που σημείωσε έξαρση χωρίς να ενοχληθούν άλλα είδη, ούτε τα είδη εκείνα που είναι δυνητικά ζημιογόνα, εφ' όσον τότε βρίσκονται σε επίπεδο πληθυσμού κάτω από το οικονομικό όριο, ούτε βέβαια τα ωφέλιμα είδη, εκείνα δηλαδή που ελέγχουν τον πληθυσμό των φυτοπαράσιτων.

Τα πλεονεκτήματα της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης είναι ότι περιορίζει σημαντικά τους κινδύνους για τον άνθρωπο και το περιβάλλον από τα φυτοφάρμακα και, συνήθως, περιορίζει το κόστος της φυτοπροστασίας. Όμως η μέθοδος αυτή έχει και απαιτήσεις από τα οποίες οι κύριες είναι η καλή γνώση των βιολογικών, οικολογικών και καλλιεργητικών παραμέτρων του αγροοικοσυστήματος καθώς και η ύπαρξη ειδικευμένου και ευσυνείδητου προσωπικού για την παρακολούθηση των παραμέτρων αυτών και την τροποποίηση τους, σε όποιες είναι δυνατό. Άρα δεν αρκεί μόνο η τήρηση ή ο χαρακτηρισμός μιας καλλιέργειας ως «Ολοκληρωμένη», αλλά απαιτείται ο έλεγχος, η εξειδίκευση και η συνεχής εκπαίδευση του προσωπικού που ασχολείται με όλους τους τομείς της παραγωγής και διανομής τέτοιων καταναλωτικών αγαθών.

Συνοψίζοντας, η διαχείριση και ο έλεγχος της εφαρμογής φυτοπροστατευτικών ουσιών είναι μια απαραίτητη ενέργεια όχι μόνο από φορείς αλλά και από τους ίδιους τους παραγωγούς. Η βιοπαρακολούθηση των άμεσα εμπλεκόμενων (ψεκαστές, αγρότες κτλ), των κατοίκων που διαμένουν σε τοποθεσίες παρακείμενες των αγροτικών εγκαταστάσεων αλλά και των καταναλωτών γενικότερα, είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση της επιβάρυνσης αυτών από τα χημικά αυτά. Η εναρμόνιση με τους κανονισμούς αλλά και η τήρηση βασικών κανόνων ασφαλείας, αποδεικνύεται μέσα από τη παρούσα διατριβή ότι δεν επαρκεί αφού αφενός ανιχνεύσιμα επίπεδα βρέθηκαν σε αγροτικά προϊόντα – χωρίς να υπερβαίνουν βέβαια τα επιτρεπόμενα όρια και αφετέρου πιστοποιήθηκε η βαρύτερη έκθεση των ψεκαστών έναντι του αγροτικού πληθυσμού. Η ενημέρωση και η ευαισθητοποίηση όλων των συντελεστών παραγωγής είναι κάτι που συνεπάγεται και

απαιτείται από τη σημερινή κοινωνία μέσω του ελέγχου, της εξειδίκευσης και της συνεχούς εκπαίδευσης των εμπλεκομένων με τη γεωργία.

Βιβλιογραφία

96/59/EC – European Council Directive of 16 Sept 1996. Official Journal L243, 24/09/1996, pp0031-0035.

Abbott J.A. Quality measurement of fruits and vegetables. Postharvest Biology and Technology 15 (1999) 207–225.

Abou-Arab A.A.K. Behavior of pesticides in tomatoes during commercial and home preparation. Food Chemistry 65 (1999) 509-514.

Arcury, T.A., Grzywacz, J.G., Davis, S.W., et al. 2006. Organophosphorus pesticide urinary metabolite levels of children in farmworker households in eastern North Carolina. Am. J. Indust. Med., 49, 751–760.

Baez, H., Castro, M. M., Benavente, M. A., Kintz, P., Cirimele, V., Camargo, C. & Thomas, C. (2000) Drugs in prehistory: chemical analysis of ancient human hair. Forensic Science International, 108(3), 173-179.

Bai Y., Zhou L. And Wang J. Organophosphorus pesticide residues in market foods in Shaanxi area, China. Food Chemistry 98 (2006) 240–242.

Berdegui J. A., Balsevich F., Flores L. And Reardon T. Central American supermarkets' private standards of quality and safety in procurement of fresh fruits and vegetables. Food Policy 30 (2005) 254–269.

Bhanti Mayank, Taneja Ajay, Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India, Chemosphere, Volume 69, Issue 1, August 2007, Pages 63-68

Blasco C., Font G. And Pico Y. Evaluation of 10 pesticide residues in oranges and tangerines from Valencia (Spain). Food Control 17 (2006) 841–846.

Bretveld W R, Hooiveld M, Zielhuis A G, Pellegrino A, van Rooij I and Roeleveld N. Reproductive disorders among male and female greenhouse workers.

Carreno J, Rivas A, Granada A, Lopez-Espinosa J M, Mariscal M, Olea N and Serrano F. Exposure of young men to organochlorine pesticides in Southern Spain. Environmental Research 103 (2007) 55-61.

Castorina, R., Bradman, A., McKone, T.E., et al. 2003. Cumulative organophosphate pesticide exposure and risk assessment among pregnant women living in an agricultural community: a case study from the CHAMACOS cohort. Environ. Health Perspect., 111, 1640–1648.

Chowdhury M. Alamgir Zaman, Fakhruddin A.N.M., Islam Md. Nazrul, Moniruzzaman Mohammed, Gan Siew Hua, Alam Md. Khorshed, Detection of the residues of nineteen pesticides in fresh vegetable samples using gas chromatography–mass spectrometry, Food Control, Volume 34, Issue 2, December 2013, Pages 457-465

Conacher H.B.S. and Mess J. Assessment of human exposure to chemical contaminants in foods. Food Additives and Contaminant 10 (1993) 5-15.

COUNCIL DIRECTIVE of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. (91/414/EEC).

COUNCIL DIRECTIVE of 24 July 1986 on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on cereals. (86/362/EEC).

COUNCIL DIRECTIVE of 27 November 1990 on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on certain products of plant origin, including fruit and vegetables. (90/642/EEC).

Covaci A., Tutudaki M, Tsatsakis M. A. and Schepens P. Hair analysis : another approach for the assessment of human exposure to selected persistent organochlorine pollutants. Chemosphere 46 (2002) 413-418.

Desi I., Nagymajtenyi L., Schulz H. and Nehez M. Epidemiological investigations and experimental model studies on exposure of pesticides. Toxicology Letters 1998; 96, 97:351-359.

Dulaurent, S., Gaulier, J.M., Baudel, J.L., et al. 2008. Hair analysis to document non-fatal pesticide intoxication cases. For. Sci. Int. 176(1), 72-75.

Ecobichon D.J. Pesticide u Ecobichon D.J. Pesticide use in the developing countries. Toxicology 2001; 160: 27-33.

Ernst W, Jackman P, Doe K, Page F, Julien G, MacKay K, Sutherland T, Dispersion and Toxicity to Non-target Aquatic Organisms of Pesticides Used to Treat Sea Lice on Salmon in Net Pen Enclosures , Marine Pollution Bulletin, Volume 42, Issue 6, June 2001, Pages 432-443

Förster M., Vorkamp K., Taube J., R. Herrmann, Contribution of southern fruit peels to the contamination of biological waste, Water Science and Technology, Volume 40, Issue 1, 1999, Pages 371-377

Garcia, A.M., Sabater, M.C., Mendoza, M.T., et al. 2000. Exposure to organophosphate pesticides in a general population living in a rice growing area: an exploratory study. Bullet. Environ. Contam. Toxicol., 65, 764–771.

Giovanoli-Jakubezak and Berg. Measurement of mercury in human hair. Arch. Enironm. Health, 1974; 28: 239-144.

Griffith, J.G., Duncan, R.C. 1985. Alkyl phosphate residue values in the urine of Florida citrus fieldworkers compared to the National-Health-and-Nutrition-Examination-Survey (Hanes) sample. Bullet. Environ. Contam. Toxicol., 3, 210–215.

Hardt, L., Angerer, J. 2000. Determination of dialkyl phosphates in human urine using gas chromatography–mass spectrometry. J. Anal. Toxicol., 24, 678–684.

Harkey, Anatomy and physiology of the hair Forensic Science International 1993; 63: 9-18

Hops. The biological basis for using hair and nail for analysis of trace elements. Sci Total Environ. 1977; 7: 71-89

IPCS The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2000-2002

Irigaray P, Newby J A, Clapp R, Hardell L, Sasco A J, Howard V, Montagnier L, Epstein S and Belpomme D. Risk factors and environmental agents causing cancer: an overview. Biomedicine & Pharmacotherapy. Doi : 10.1016/j.biopha.2007.10.006

Kamel F. and. Hoppin J.A. Association of Pesticide Exposure with Neurologic Dysfunction and Disease Environ Health Perspect. 2004; 112(9): 950–958

Kavvalakis Matthaios P., Tsatsakis Aristidis M., The atlas of dialkylphosphates; assessment of cumulative human organophosphorus pesticides' exposure, Forensic Science International, Volume 218, Issues 1–3, 10 May 2012, Pages 111-122

Kavvalakis Matthaios P., Tzatzarakis Manolis N., Theodoropoulou Eleftheria P., Barbounis Emmanouil G., Tsakalof Andreas K., Tsatsakis Aristidis M., Development and application of LC–APCI–MS method for biomonitoring of animal and human exposure to Imidacloprid, Chemosphere, Volume 93, Issue 10, November 2013, Pages 2612-2620

Lauria L, Settimi L, Spinelli A and Figa-Talamanca I. Exposure to pesticides and time to pregnancy among female greenhouse workers. Reproductive Toxicology 22 (2006) 425-430.

Lee J W, Baccarelli A, Tretiakova M, Gorbanev S, Lomtev A, Klimkina I, Tchibissov V, Averikna O and Dosemeci M. Pesticide exposure and lung cancer mortality

in Leningrad province in Russia. Environment International 32 (2006) 412-416.

Lo S, King I, Allera A and Klingmuller D. Effects of various pesticides on human 5^{α}-reductase activity in prostate and LNCaP cells. Toxicology in vitro. Doi: 10.1016/j.tiv.2006.10.016.

Magnusson Marie, Heimann Kirsten, Ridd Michael, Negri Andrew P., Pesticide contamination and phytotoxicity of sediment interstitial water to tropical benthic microalgae, Water Research, Volume 47, Issue 14, 15 September 2013, Pages 5211-5221

Maravgakis George, Tzatzarakis Manolis N., Alegakis Athanasios K., Stivaktakis Polychronis D., Tsatsakis Aristidis M., Diethyl phosphates accumulation in rabbits' hair as an indicator of long term exposure to diazinon and chlorpyrifos, Forensic Science International, Volume 218, Issues 1–3, 10 May 2012, Pages 106-110

Margariti, M.G., Tsatsakis, A.M. 2009. Assessment of long-term subacute exposure to dimethoate by hair analysis of dialkyl phosphates DMP and DMTP in exposed rabbits: The effects of dose, dose duration and hair colour. Environ. Res., 109, 821-829.

Maroni M, Colosio C, Ferioli A. and Fait A. Biological Monitoring of Pesticide Exposure: a review. Introduction. Toxicology. 2000 Feb 7;143(1):1-118. Review.

Masiá Ana, Campo Julián, Vázquez-Roig Pablo, Blasco Cristina, Picó Yolanda, Screening of currently used pesticides in water, sediments and biota of the Guadalquivir River Basin (Spain), Journal of Hazardous Materials, Volume 263, Part 1, 15 December 2013, Pages 95-104

Mills, P.K., Zahm, S.H. 2001. Organophosphate pesticide residues in urine of farmworkers and their children in Fresno County, California. Am. J. Indust. Med., 40, 571–577.

Nasterlack M. Pesticides and childhood cancer: an update. International Journal of Hygiene and Environmental Health 210 (2007) 645-657.

Panseri S., A. Catalano, A. Giorgi, F. Arioli, A. Procopio, D. Britti, L.M. Chiesa, Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources, Food Control, Volume 38, April 2014, Pages 150-156

Peter J. Ng, Graham H. Fleet, Gillian M. Heard, Pesticides as a source of microbial contamination of salad vegetables, International Journal of Food Microbiology, Volume 101, Issue 2, 25 May 2005, Pages 237-250

Peterson Hans G., Boutin Céline, Martin Pamela A., Freemark Kathryn E., Ruecker Norma J., Moody Mary J., Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations , Aquatic Toxicology, Volume 28, Issues 3–4, April 1994, Pages 275-292

Salameh P., Baldi I.Brochard P., and Abi Saleh B., Pesticides in Lebanon: a knowledge, attitude and practice study. Environmental Research 2004; 94:1-6.

Seebunrueng Ketsarin, Santaladchaiyakit Yanawath, Srijaranai Supalax, Vortex-assisted low density solvent based demulsified dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water samples, Chemosphere, In Press, Corrected Proof, Available online 13 December 2013

Society of Hair Testing (2004), Recommendations for hair testing in forensic cases, Forensic Sci. Int., 145: 83-84

Spiewak R. Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers. Ann Agric Environm Med 2001; 8:1-5.

The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) http://www.ciel.org 2004

Toan Pham Van, Sebesvari Zita, Bläsing Melanie, Rosendahl Ingrid, Renaud Fabrice G., Pesticide management and their residues in sediments and surface and drinking water in the Mekong Delta, Vietnam, Science of The Total Environment, Volumes 452–453, 1 May 2013, Pages 28-39

Toft G., Hagmar L., Giwercman A. and Bonde J.P. 'Epidemiological evidence on reproductive effects of persistent organochlorines in humans'. 2004.

Tremolada Paolo, Finizio Antonio, Villa Sara, Gaggi Carlo, Vighi Marco, Quantitative inter-specific chemical activity relationships of pesticides in the aquatic environment , Aquatic Toxicology, Volume 67, Issue 1, 30 March 2004, Pages 87-103

Tsatsakis A. and Tutudaki M. Progress in pesticide and POPs hair analysis for the assessment of exposure. Forensic Science International 145 (2004) 195-199.

Tsatsakis A.M., Barbounis M.G., Kavalakis M., Kokkinakis M., Terzi I., Tzatzarakis M.N., Determination of dialkyl phosphates in human hair for the

biomonitoring of exposure to organophosphate pesticides, Journal of Chromatography B, Volume 878, Issues 17–18, 15 May 2010, Pages 1246-1252

Tutudaki M., Tsakalof K. A. and Tsatsakis M A. Hair analysis used to assess chronic exposure to the organophosphate diazinon : a model study with rabbits. Human & Experimental Toxicology (2003) 00: 1-6.

U.S. Environmental Protection Agency, Integrated Pest Management (IPM) Principles, http://www.epa.gov/opp00001/factsheets/ipm.htm, (accessed February 2014)

Ueyama J., Saito I., Kamijima M., Nakajima T., Gotoh M., Suzuki T., Shibata E., Kondo T., Takagi K., Miyamoto K., Takamatsu J., Hasegawa T., Takagi K. (2006) Simultaneous determination of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides using gas chromatography–mass spectrometry, J. Chromatogr. B, 832(1): 58-66

USAID, Office of International Research, Education and Development, Integrated Pest Management: Collaborative Research Support Program, http://www.oired.vt.edu/ipmcrsp/?src=draft_home, (accessed February 2014)

Wolfarm L.J. Human hair: A unique physicochemical composite. J. Am. Acad. Dermatol 2003; 48:S106-S114.

Yuan Linxi, Qi Shihua, Wu Xiaoguo, Wu Chenxi, Xing Xinli, Gong Xiangyi, Spatial and temporal variations of organochlorine pesticides (OCPs) in water and sediments from Honghu Lake, China , Journal of Geochemical Exploration, Volume 132, September 2013, Pages 181-187

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 396/2005 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 23ης Φεβρουαρίου 2005 για τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων μέσα η πάνω στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές φυτικής και ζωικής προέλευσης και για την τροποποίηση της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου.

ΟΔΗΓΙΑ (ΕΚ) αριθ. 2002/63/ΕΚ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 11ης Ιουλίου 2002 για την καθιέρωση κοινοτικών μεθόδων δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μέσα και πάνω σε προϊόντα φυτικής και ζωικής προέλευσης για την κατάργηση της οδηγίας 79/700/ΕΟΚ του Συμβουλίου.

Τη με αριθμό 290341/20-7-88 (Β΄560) Κοινή Υπουργική Απόφαση, που αφορά στον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων στα σιτηρά

που προορίζονται για ανθρώπινη διατροφή, σε συμμόρφωση προς την οδηγία 86/362/ΕΟΚ.

Τη με αριθμό 300481/28-9-84 (Β΄724) Κοινή Υπουργική Απόφαση, που αφορά στον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων επί και εντός των οπωροκηπευτικών, σε συμμόρφωση προς την οδηγία 76/895/ΕΟΚ.

Τη με αριθμό 352654/10-5-95 (Β΄518) Κοινή Υπουργική Απόφαση, που αφορά στον καθορισμό ανωτάτων ορίων υπολειμμάτων Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων επί και εντός ορισμένων προϊόντων φυτικής προέλευσης συμπεριλαμβανομένων των οπωροκηπευτικών, σε συμμόρφωση προς την οδηγία 90/642/ΕΟΚ.

Την ΚΥΑ 236429/1983 (Β106), για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων επί και εντός των οπωροκηπευτικών.

Την ΚΥΑ 85532/2001 (Β141), για τον καθορισμό Ανώτατων Ορίων Υπολειμμάτων Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων επί και εντός ζωικής και φυτικής προέλευσης προϊόντων, σε συμμόρφωση προς τις οδηγίες: 97/41/ΕΚ του Συμβουλίου και 1999/65/ΕΚ της Επιτροπής.

Την οδηγία 2002/63/ΕΚ της Επιτροπής, της 11ης Ιουλίου 2002 (L 187/30/16-7-2002), για την καθιέρωση κοινοτικών μεθόδων δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μέσα και πάνω σε προϊόντα φυτικής και ζωικής προέλευσης και κατάργηση της οδηγίας 79/700/ΕΟΚ.

Χουρδάκης Μ. Κωνσταντίνος. Τοξικολογία του Ανθρώπου (2η έκδοση), ISBN 960-12-0524-1, University Studio Press, Θεσσαλονίκη 2004, σελ. 178

Παράρτημα

Π1. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ

Π2. ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ

Π3. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Π4. ΕΝΤΥΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Π5. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Π1. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ

Πρωτόκολλο Δειγματοληψίας τριχών

Ονοματεπώνυμο_____

Ηλικία _____ Κιλά/ύψος_____Φύλλο_____Οικ. κατάσταση_____

Τόπος διαμονής_____αστική αγροτική

Επάγγελμα _____Έτη _____

Είδος καλλιέργειας _____

Ενασχόληση με ανοικτές γεωργικές ασχολίες _____

Συχνότητα _____έτη_____

Ενασχόληση με θερμοκηπιακές ασχολίες_____

Χρόνος σε θερμοκήπια,

ώρες ημερησίως_____έτη_____ημέρες ανά εβδομάδα_____

Συμμετοχή κατά την διάρκεια ψεκασμών_____

Προφύλαξη κατά την διάρκεια των ψεκασμών_____

_____

_____

Ιατρικό ιστορικό_____

Οικογενειακό ιατρικό ιστορικό _____

Οικιακή έκθεση_____

Π2. ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΤΡΙΧΩΝ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Η παρούσα Οδηγία Εργασίας περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο γίνεται η λήψη και η αποστολή δειγμάτων ανθρώπινων τριχών, καθώς και τα απαραίτητα έντυπα τα οποία συμπληρώνονται και συνοδεύουν τα δείγματα στο εργαστήριο.

2. ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1 Λήψη δείγματος τριχών

1. Τα δείγματα τριχών λαμβάνονται από την περιοχή της κεφαλής, εφηβαίου, μασχάλης και στήθους.
2. Η δειγματοληψία τριχών από την περιοχή του κεφαλιού λαμβάνει χώρα συνήθως από το πίσω μέρους ή από την κορυφή του κεφαλιού.
3. Ποσότητα τριχών (ίση με την διάμετρο μύτης μολυβιού) λαμβάνεται και επισημαίνεται η ρίζα της τρίχας, όπως φαίνεται παρακάτω (εικόνα 1), με την χρήση κλωστής. Δεν χρησιμοποιείται κολλητική ταινία για την συγκράτηση των τριχών. Η δειγματοληψία γίνεται έτσι ώστε το δείγμα τριχών να είναι διαθέσιμο προς ανάλυση σε όλο το μήκος της τρίχας.
4. Συνολικά λαμβάνονται 2 δείγματα τριχών από την περιοχή της κεφαλής και 1 δείγμα από την περιοχή του εφηβαίου, μασχάλης και στήθους.
5. Η ποσότητα τριχών που απαιτείται για την ανάλυση είναι συνολικά 400 mg τριχών από την περιοχή της κεφαλής και 200 mg τριχών από τις υπόλοιπες προαναφερθείσες περιοχές.
6. Το κάθε δείγμα τοποθετείται σε χάρτινο φάκελο και διατηρείται σε χώρο ξηρό σε θερμοκρασία δωματίου (εικόνα 2).

2.2 Συμπλήρωση απαραίτητων εντύπων

1. Συμπληρώνεται το πρωτόκολλο δειγματοληψίας **Ε 5.8.1, Πρωτόκολλο Δειγματοληψίας Τριχών,** από το άτομο που πραγματοποιεί τη δειγματοληψία. Το πρωτόκολλο δειγματοληψίας υπογράφεται από το άτομο που διενεργεί την δειγματοληψία, τον ιατρό που παρευρίσκεται και το άτομο από το οποίο γίνεται η δειγματοληψία.

2. Επίσης συμπληρώνεται η αντίστοιχη αίτηση, **Ε 5.8.2, Αίτηση Εργαστηριακής Εξέτασης**, η οποία υπογράφεται από τον ενδιαφερόμενο, και η οποία επιτρέπει στο εργαστήριο Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής, του Πανεπιστημίου Κρήτης να προβεί στην ανάλυση των ληφθέντων δειγμάτων τριχών για τυχών ύπαρξη ναρκωτικών ουσιών όπως επίσης να ανακοινώσει τα αντίστοιχα αποτελέσματα στο άτομο ή στην υπηρεσία, που ο εξεταζόμενος θα υποδείξει.

2.3 Λήψη και αποστολή δείγματος τριχών

Το συμπληρωμένο πρωτόκολλο δειγματοληψίας, η αίτηση και τα ληφθέντα δείγματα τριχών σφραγίζονται σε χάρτινο φάκελο και αποστέλλονται στο εργαστήριο Τοξικολογίας της Ιατρικής Σχολής, του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Εικόνα 1.

Εικόνα 2.

Π3. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Α. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Α/Α ..... ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ (δεν είναι υποχρεωτικό) .....

Ηλικία : ..... *Άνδρας* □ *Άγαμος* □ *Γυναίκα* □ *Έγγαμος* □ *Παιδιά* .....

Σπουδές: *Δημοτικό* □ *Γυμνάσιο* □ *Λύκειο* □ *Άλλο* .....

Έχετε κάποιο πρόβλημα υγείας που θα θέλετε να αναφέρετε :

.....

Β. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ

1 Με τι συχνότητα καταναλώνετε τα παρακάτω λαχανικά (την εβδομάδα) ;

Ντομάτα …… Αγγούρι ….. Πιπεριά ….. Μελιτζάνα ….. Μαρούλι …..

Καρότο ….. Κουνουπίδι ….. Λάχανο …..

2 Με τι συχνότητα καταναλώνετε τα παρακάτω τρόφιμα (την εβδομάδα) ;

Γάλα ..... Αυγά ..... Ψωμί ..... Όσπρια ..... Ζυμαρικά ..... Τηγανητές Πατάτες ..... Χοιρινό ..... Μοσχάρι ..... Αρνί ..... Κατσίκι ..... Κοτόπουλο ..... Ψάρι ..... Γλυκά ..... Αναψυκτικά με ζάχαρη ..... Φρούτα .....

3 Χρησιμοποιείτε ελαιόλαδο στην κουζίνα σας, αν ναι πόσο συχνά; Σημειώστε από το 1, 2, 3, 4 ως 5 .

Καθημερινά □ Συχνά □ Μερικές φορές □ Σπάνια □ Καθόλου □

4 Τι άλλο είδος λίπους χρησιμοποιείτε ;

Ζωικό βούτυρο □ Φυτικό βούτυρο □ Σπορέλαιο □ Άλλο …….....……

5 Από πού προμηθεύεστε κηπευτικά προϊόντα (όταν δεν παράγετε οι ίδιοι) ;

Λαϊκή □ Super market □ Καταστήματα βιολογικών προϊόντων □

Άλλο …….....….....

6 Γνωρίζετε ότι στα κηπευτικά προϊόντα που αγοράζετε μπορεί να υπάρχουν υπολείμματα από τα φυτοφάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια τους; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

7 Εάν ναι από πού το έχετε πληροφορηθεί:

Τηλεόραση □ Ραδιόφωνο □ Εφημερίδες – Περιοδικά □ Άλλο …….....……...

8 Πού πιστεύετε ότι οφείλετε το γεγονός ότι βρίσκονται υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα κηπευτικά προϊόντα;

Υποβάθμιση περιβάλλοντος □ Λάθος των παραγωγών □ Έλλειψη κρατικών ελέγχων □

Άλλο .....

Γ. ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ(ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥΣ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ)

9 Προϊόντα τα οποία καλλιεργείτε : .....

10 Στρέμματα τα οποία καλλιεργείτε : .....

11 Χρησιμοποιείτε φυτοφάρμακα στην καλλιέργειά σας και αν ναι τι είδους;

Μυκητοκτόνα □ Εντομοκτόνα □ Ακαρεοκτόνα □ Απολυμαντικά εδάφους □

12 Αναφέρετε κάποια φυτοφάρμακα τα οποία χρησιμοποιείτε περισσότερο :

.....

13 Συμβουλεύεστε τις οδηγίες που αναγράφονται πάνω στα φυτοφάρμακα ; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

14 Η επιλογή των φυτοφαρμάκων γίνεται από :

Γεωπόνο □ Προσωπική εμπειρία □ Καθοδήγηση από άλλους παραγωγούς □

Άλλο .....……

15 Έχετε χρησιμοποιήσει φυτοφάρμακα χωρίς την καθοδήγηση του γεωπόνου; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

16 Με ποιο τρόπο κάνετε την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων ;

Διαφυλλικά □ Διασυστηματικά □

17 Με ποιο μέσο γίνεται η εφαρμογή των φυτοφαρμάκων ; Αντλιτικό □ Ψεκαστικό □

18 Χρησιμοποιείτε εξοπλισμό ψεκάσματος (πχ φόρμα, μάσκα, γαλότσες, γάντια) ;

.....

19 Κατά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων καπνίζετε; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

20 Μετά την εφαρμογή των φυτοφαρμάκων τηρείτε τους κανόνες υγιεινής;

Πλένεστε □ Ξεπλένετε τις φόρμες □ Κρεμάτε τις φόρμες στον φοριαμό □

Άλλο .....…….

21 Αν σας μείνει διάλυμα ψεκάσματος τι το κάνετε;

Το γυρνάτε ξανά πίσω □ Το ρίχνετε σε ειδικό δοχείο □ Το χύνετε στο χώμα □

Άλλο .....…….…….

22 Σας μένουν φυτοφάρμακα στην αποθήκη σας; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

23 Έχετε ειδικά διαμορφωμένο χώρο για την φύλαξη των φυτοφαρμάκων; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

24 Τα προϊόντα σας είναι πιστοποιημένα; ΝΑΙ □ ΟΧΙ □

Π4. ΕΝΤΥΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΕΤΑΙΡΙΑ/ΠΑΡΑΓΩΓΟΣ: ..... **ΗΜ. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:** .....
ΠΕΡΙΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ: .....

ΣΕΛ. ..... /.....
ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΛΤΙΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ: .....

<u>ΣΥΝΟΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΠΡΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗ:</u>

ΤΡΟΦΙΜΑ: ..... ΝΕΡΑ: ..... ΑΛΛΟ: .....

Α/Α	ΤΑΥΤΟΤΗΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:
.....
.....
.....
.....
.....

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ: ..... **ΥΠΕΥΘ. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:** .....

ΠΑΡΑΓΩΓΟΣ: ..... ΗΜ.ΕΙΣΟΔΟΥ:.....

Π5. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Αικατερίνη Κοκκινάκη

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ	21/06/1975
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	ΕΓΓΑΜΗ
ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ	ΕΛΛΗΝΙΚΗ

ΣΠΟΥΔΕΣ

1990-1993 Δεύτερο Γενικό Λύκειο Ιεράπετρας, Ιεράπετρα

1993-1994 Πανεπιστήμιο Ουαλίας, Swansea
Προπαρασκευαστικές Σπουδές (Foundation Course) στο χημικό τμήμα του Πανεπιστημίου Ουαλίας, Swansea.

1994-1995 Πανεπιστήμιο Ουαλίας, Swansea
Σπουδές στο βιοχημικό τμήμα του Πανεπιστημίου Ουαλίας, Swansea.

1998-2001 Πανεπιστήμιο Middlesex, Λονδίνο
Πτυχίο Επιστήμες Υγείας (B.Sc. Of Health Sciences), στο τμήμα Υγείας, Βιολογίας και Περιβαλλοντολογίας του Πανεπιστημίου Middlesex του Λονδίνου.

2000-2001 Scheidegger Training. Business Administration & Computer Skills.

ΓΝΩΣΕΙΣ COMPUTER

- Microsoft Office (Word, Excel, Power Point).
- SPSS
- Nutri-Calc Plus 1.2
- Internet
- Basic Programming
- Multi-Media (Cell Editor, Background Editor, Movie Editor).

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλικά πολύ καλά (First Certificate in English, Επίπεδο Proficiency).
- Γαλλικά.

ΠΡΟΥΠΗΡΕΣΙΑ

- Ιούνιος-Σεπτέμβριος 2000

Συνεργασία με το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης για τη συγγραφή εγχειριδίων προληπτικής υγιεινής (HACCP-Hazard Analysis of Critical Control Points) για τη Βιομηχανία Τροφίμων και Εταιρείες Μαζικής Εστίασης στην περιοχή της Κρήτης.

- Σεπτέμβριος 2000-Ιανουάριος 2001

Συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Middlesex του Λονδίνου για τη δημιουργία και συγγραφή ενός προγράμματος προληπτικού και μορφωτικού περιεχομένου (Health Education Programme).

- Ιανουάριος 2002-Απρίλιος 2002

Εκπαίδευση στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο, ΠΕΠΑΓΝΗ (Βακτηριολογικό Τμήμα).

- Μάιος 2002-Ιούλιος 2002

Εκπαίδευση στην Μονάδα Μικροβιολογίας Τροφίμων, Υδάτων και Περιβάλλοντος του Εργαστηρίου Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής (μικροβιολογικές αναλύσεις υδάτων και τροφίμων).

- Αύγουστος 2002-Απρίλιος 2004

Εργαστήριο ρικετσιών. Αναλύσεις ρικετσιών και λεγιονέλλας με κλασσική, PCR και real time PCR μεθοδολογία.

- Μάιος 2004 –2005

Στέλεχος γεωπονικής εταιρίας, με αντικείμενο τον σχεδιασμό – εξοπλισμό σε νέες γεωργικές εκμεταλλεύσεις.

- Φεβρουάριος 2006 – έως τώρα

ΤΕΙ Κρήτης, Τμήμα Εμπορίας & Διαφήμισης, εκπαιδευτικό και ερευνητικό έργο.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

- Σεπτέμβριος 2000-Ιανουάριος 2001

Συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Middlesex του Λονδίνου για τη δημιουργία και συγγραφή ενός προγράμματος προληπτικού και μορφωτικού περιεχομένου (Health Education Programme).

- Ιανουάριος-Ιούνιος 2001

Μέλος ομάδας του τμήματος Health Science του Πανεπιστημίου Middlesex του Λονδίνου με στόχο τη δημιουργία και παρουσίαση ενός Health Event με θέμα τον τρόπο ζωής των φοιτητών του Πανεπιστημίου και την καλύτερη αντιμετώπιση προβλημάτων υγείας αυτών.

- Σεπτέμβριος 2000-Ιούνιος 2001

Έρευνα για τη μηνιγγίτιδα και τα εμβόλια που υπάρχουν διαθέσιμα στην αγορά. Στόχος της έρευνας η σωστή πληροφόρηση του κόσμου για τη μηνιγγίτιδα. Απαραίτητη συνεργασία με τα νοσοκομεία του Λονδίνου για ακριβείς πληροφορίες

σχετικά με κρούσματα μηνιγγίτιδας στην περιοχή καθώς επίσης συνεργασία με τα Health Authorities και τα Health Promotion Centres του Λονδίνου για ακριβείς πληροφορίες πάνω στον εμβολιασμό κατά της μηνιγγίτιδας.

- Νοέμβριος 2001

Παρακολούθηση εβδομαδιαίου επιδημιολογικού σεμιναρίου με τίτλο «European Programme for Intervention Epidemiology Training» (διοργάνωση από Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και Πανεπιστήμιο Κρήτης).

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ Η ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΚΑΙ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

1. Biomonitoring of dialkylphosphate metabolites (DAPs) in urine and hair samples of sprayers and rural residents of Crete, Greece
Aikaterini Kokkinaki, Manolis Kokkinakis, Matthaios P.Kavvalakis, Manolis N.Tzatzarakis Athanasios K.Alegakis, George Maravgakis, Fotoula Babatsikou, Georgios A.Fragkiadakis Aristidis M.Tsatsakis
Environmental Research 2014, 134, pp. 181-187

2. Hair and urine testing to assess organophosphorus pesticides burden in sprayers and rural residents during a spraying period: Application in residents of Greece
Aikaterini Kokkinaki, Manolis Kokkinakis, Matthaios Kavvalakis, Manolis Tzatzarakis GeorgeMaravgakis, Elisavet Renieri, GeorgiosFragkiadakis, Fotoula Babatsikou, Aristidis Tsatsakis
Toxicology Letters 2014, pp. S227-S228

3. Pesticide training as a major factor sustaining public health, during farming of certified produce
Aikaterini N. Kokkinaki, Emmanuel N.Kokkinakis, Georgia Tavladaki, Georgia Panagiotaki, Sofia Niniraki, Giannakoudakis Konstantinos, Tsakiris Ioannis, Kavvalakis P. Mathaios, Aristidis M.Tsatsakis
Toxicology Letters 2013, pp. S201

4. Organophosphates used in agriculture and produce export
Aikaterini N. Kokkinaki, Emmanuel N. Kokkinakis, Tzatzarakis Manolis, Fragkiadaki Persefoni, Tsakiris N. Ioannis, Vynias Dionisios, Georgios Maravgakis, Matthaios Kavvalakis, Aristidis M. Tsatsakis
Toxicology Letters 2013, pp. S201

5. Assessment of PCBs exposure in human hair using double focusing high resolution mass spectrometry and single quadrupole mass spectrometry

Barbounis, E.G., Tzatzarakis, M.N., Alegakis, A.K., Kokkinaki A, Karamanos, A., Tsakalof, A., Tsatsakis, A.M.
Toxicology Letters 2012, 210(2), pp. 225-231

6. A new, simple and efficient method for the detection and quantification of imidacloprid and its major metabolite 6-chloronicotinic acid in rabbit hair using LC–MS
Matthaios Kavvalakis, Manolis Tzatzarakis, Michail Panagiotakis, Polychronis Stivaktakis, Georgios Maravgakis, Aikaterini Kokkinaki, Elisavet Renieri, Michalis Kiriakakis, Aristidis Tsatsakis
Toxicology Letters, 2012, pp S 171

7. Liquid chromatography-mass spectrometry of polychlorinated biphenyls (PCBs) using dopant assisted atmospheric pressure photoionization
Emmanouil Barbounis, Athanassios Moukas, Anastasia Xiskia, Manolis Tzatzarakis, Polychronis Stivaktakis, Aikaterini Kokkinaki, Aristidis Tsatsakis
Toxicology Letters, 2012, pp S 52-53

8. Dietary exposure of Greek consumers to pesticides by a nutrition based on Mediterranean diet
Ioannis Tsakiris, Aikaterini Kokkinaki, Manolis Tzatzarakis, Athanasios Alegakis, Manolis Kokkinakis, Persefoni Fragkiadaki, Dionysios Vynias, Paraskevi Mitlianga, Aristidis Tsatsakis
Toxicology Letters, 2012, pp S 126

9. HACCP implementation in public hospitals: a survey in Crete, Greece
Emmanouil Kokkinakis, Aikaterini Kokkinaki, Grigorios Kyriakidis, Anastasia Markaki, Georgios A. Fragkiadakis
Procedia Food Science, 2011, pp 1073-1078

10. HACCP implementation in local food industry: a survey in Crete, Greece
Emmanouil Kokkinakis, Aikaterini Kokkinaki, Grigorios Kyriakidis, Anastasia Markaki, Georgios A. Fragkiadakis
Procedia Food Science, 2011, pp 1079-1083

11. Pesticide residue assessment of Organically Cultivated Greek Virgin Olive Oil, during 2009
I.Tsakiris, C.Favas, A.Tsatsakis, M.Kokkinakis, M.Mparbounis, A.Kokkinaki
Toxicology Letters, 2010, pp S 336

12. Changes in vegetable microbiological quality introduced by processing methods

Emmanuel Kokkinakis, Georgios Boskou, Georgios A. Fragkiadakis & Aikaterini Kokkinaki
International Journal of Food Science and Technology, 2008, Volume 43, Issue 4, April 2008, Pages : 603-609

13. Συστήματα υποστήριξης αποφάσεων στην προώθηση κρασιού
Παπαναστασίου Π., Κοκκινάκης Ε., Κοκκινάκη Α.,
2ο Διεθνές Συνέδριο για την Ποιότητα και την Εμπορία των Αγροτικών Προϊόντων, CRETACERT,
Χερσόνησος Κρήτη, 25-27 Σεπτεμβρίου 2008

14. Pesticide sampling methodology in order to sustain agricultural food quality-control, according to Eurepgap protocols
Emmanuel N Kokkinakis, Aikaterini Kokkinaki, Maria Tutudaki, Emmanuel Tzatzarakis, Aristidis Tsatsakis
Toxicology Letters, Volume 180, Supplement 1, 5 October 2008, Page S69

15. Monitoring microbial quality of bottled water as suggested by HACCP methodology
Emmanuel N Kokkinakis, Georgios A. Fragkiadakis, AIkaterini N. Kokkinaki
Food Control, Volume 19, Issue 10, October 2008, Pages : 957-961

16. Microbiological quality of ice cream after HACCP implementation: a factory case study
Kokkinakis E. N., Fragkiadakis G. A., Ioakeimidi S. H., Giankoulof I. B., Kokkinaki A. N.
Czech J. Food Sci. 26 (2008): 383-391

17. Key elements for HACCP implementation in public hospitals
Emmanuel N. Kokkinakis, Georgios A. Fragkiadakis, Ioanna Maliotaki, Stiliani Pateraki, Maria Terzidaki, Aikaterini Kokkinaki
1st International Chester Food Science & Technology Conference April 2007

18. Microbiological quality of tomatoes and peppers produced under the Good Agricultural Practices protocol AGRO 2-1 & 2-2 in Crete, Greece
Emmanuel Kokkinakis, Georgios Boskou, Georgios A. Fragkiadakis, Aikaterini Kokkinaki, Nikolaos Lapidakis
Food Control, 2007, Volume 18, Issue 12, 2007, Pages : 1538-1546

19. European super markets' demand of Good Agricultural Practices (GAP) protocols.
The case of Ierapetra, Crete, Greece